(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) **1-0052151**

(51)[2020.01] **A61P 31/06**; C07K 16/12; C07D 498/18 (13) **B**

(21) 1-2021-04388 (22) 20/12/2019
(86) PCT/US2019/067914 20/12/2019 (87) WO2020/132483 25/06/2020
(30) 62/783,506 21/12/2018 US; 62/844,860 08/05/2019 US
(45) 27/10/2025 451 (43) 25/11/2021 404A
(73) REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. (US)
777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, New York 10591, United States of America
(72) NITTOLI, Thomas (US); CHOI, Seungyong Sean (US); SAHA, Mrinmoy (IN).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT, DƯỢC PHẨM, DẠNG LIỀU LƯỢNG DƯỢC VÀ THỂ LIÊN HỢP KHÁNG THỂ-THUỐC

(21) 1-2021-04388

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất tương tự rifamyxin, hợp chất trung gian và tiền chất của nó, và dược phẩm có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn (ví dụ, sự phát triển của *S. aureus*) và điều trị bệnh nhiễm khuẩn (ví dụ, bệnh nhiễm *S. aureus*). Sáng chế cũng đề cập đến thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa hợp chất tương tự rifamyxin và kháng thể, ví dụ, kháng thể đặc hiệu đối với đích liên quan đến bệnh lây nhiễm như thụ thể glycoprotein màng (MSR1), axit teichoic trong vách (WTA) hoặc Protein A, và để ức chế sự phát triển của vi khuẩn và điều trị các bệnh nhiễm khuẩn.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất tương tự rifamyxin và dược phẩm có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn và điều trị bệnh nhiễm khuẩn, cũng như thể liên hợp kháng thể-thuốc của hợp chất tương tự rifamyxin và kháng thể, ví dụ, kháng thể đặc hiệu đối với đích liên quan đến bệnh lây nhiễm, và phương pháp sử dụng chúng.

Danh mục trình tự

Sáng chế bao gồm Danh mục trình tự được đăng ký điện tử dưới định dạng ASCII và được kết hợp toàn bộ vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn. Bản sao của ASCII này, tạo vào ngày 19/12/2019, tên là 250298_000145_SL.TXT và có kích thước là 409310 byte.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) là vi khuẩn gram dương có dạng tròn là thành viên của họ Firmicutes, và nó là thành viên thông thường của hệ sinh vật vùng trong cơ thể, thường được tìm thấy trong đường hô hấp trên và trên da. Vi khuẩn này thường tích cực làm giảm catalaza và nitrat và là vi khuẩn yếm khí tùy ý mà có thể sinh trưởng không cần oxy. Mặc dù *S. aureus* thường có vai trò như dạng cộng sinh trong hệ sinh vật vùng trên người, nó cũng có thể trở thành thể gây bệnh cơ hội, một nguyên nhân phổ biến gây nhiễm khuẩn da gồm áp xe, nhiễm khuẩn hô hấp như viêm xoang, và ngộ độc thức ăn. Các chủng gây bệnh thường thúc đẩy lây nhiễm do sản sinh ra các yếu tố có độc lực như độc tố protein có hoạt lực, và sự biểu hiện của protein trên bề mặt tế bào mà gắn kết và bất hoạt kháng thể.

Ước tính khoảng từ 20% đến 30% quần thể người là đối tượng mang *S. aureus* dài hạn, có thể được xem là một phần trong hệ vi khuẩn da thông thường, trong lỗ mũi

và là sinh vật sinh sống bình thường trong hệ hô hấp dưới ở phụ nữ. *S. aureus* có thể gây bệnh trên phạm vi từ nhiễm khuẩn da thứ yếu, như mụn mủ, chốc lở, mụn đầu đinh, viêm tế bào, viêm nang lông, nhọt, hội chứng da tróc vảy, và áp xe, đến các bệnh đe dọa cuộc sống như viêm phổi, viêm màng não, viêm tủy xương, viêm nội mạc tim, hội chứng sốc độc, nhiễm trùng huyết, và nhiễm trùng. Nó vẫn là một trong năm nguyên nhân phổ biến nhất gây lây nhiễm mắc phải trong bệnh viện và thường là nguyên nhân gây nhiễm trùng vết thương sau phẫu thuật. Ở Mỹ, mỗi năm có khoảng 500000 bệnh nhân nằm viện bị lây nhiễm khuẩn tụ cầu, nguyên nhân chủ yếu là do *S. aureus*. Có đến 50000 ca tử vong có liên quan đến lây nhiễm *S. aureus* ở Mỹ mỗi năm. Schlecht LM et al, 2015, *Microbiology*, 161, *1*, 168–181. Dù có nhiều nghiên cứu và phát triển, hiện vẫn chưa có vắc xin cho *S. aureus* được phê chuẩn.

Ban đầu, thuốc được chọn để điều trị bệnh nhiễm *S. aureus* là penixilin. Tính kháng kháng sinh ở *S. aureus* vẫn chưa phổ biến vào thời điểm penixilin lần đầu tiên được giới thiệu vào năm 1943. Trước năm 1950, 40% thể phân lập *S. aureus* trong viện kháng penixilin; trước năm 1960, mức này tăng lên 80%. Chambers HF, 2001, *Emerging Infectious Diseases*, 7, *2*, 178–82. Ngày nay, *S. aureus* đã trở nên kháng nhiều thuốc kháng sinh hay được sử dụng.

Sự xuất hiện của các chủng kháng kháng sinh của *S. aureus* như *S. aureus* (MRSA) kháng methixilin là vấn đề toàn cầu đối với ngành dược lâm sàng. Chủng MRSA được tìm thấy nhiều nhất liên quan đến các cơ quan như bệnh viện, nhưng đang trở nên ngày càng phổ biến trong lây nhiễm mắc phải trong cộng đồng. MRSA là một trong một số chủng đáng ngại nhất của *S. aureus*, chủng này kháng hầu hết các kháng sinh β-lactam. Lây nhiễm MRSA ở cả bệnh viện và môi trường cộng đồng thường được điều trị bằng các thuốc kháng sinh không phải β-lactam, như clindamyxin (lincosamin) và co-trimoxazol (còn có tên thông dụng là trimetoprim/sulfametoxazol). Tính kháng các kháng sinh này cũng đã khiến phải sử dụng các thuốc kháng sinh mới, phổ rộng kháng Gram dương, như linezolit, do tính khả dụng của nó dưới dạng thuốc dùng qua đường miệng. Liệu pháp bước đầu đối với các lây nhiễm xâm lấn nghiêm trọng do

MRSA hiện đang là kháng sinh glycopeptit (vancomyxin và teicoplanin). Có một số vấn đề với các kháng sinh này như cần phải dùng trong tĩnh mạch (chế phẩm dùng qua đường miệng không có sẵn), độc tính, và cần theo dõi nồng độ thuốc thường xuyên bằng cách thử máu. Ngoài ra, các kháng sinh glycopeptit không thâm nhập tốt lắm vào các mô bị lây nhiễm (đây là mối quan tâm đặc biệt đối với các lây nhiễm ở não và màng não và đối với viêm nội mạc tim). Vì vậy, hiện có nhu cầu lớn chưa được đáp ứng về các kháng sinh mới nhằm điều trị *S. aureus* nói chung, và hướng đến các lây nhiễm *S. aureus* nội bào nói riêng.

Rifamyxin, nhóm con của họ kháng sinh ansamyxin, là nhóm các kháng sinh được tổng hợp trong tự nhiên bởi vi khuẩn *Amycolatopsis rifamycinica* hoặc bằng phương pháp nhân tạo. Rifamyxin đặc biệt hữu hiệu chống lại mycobacteria, và do đó được sử dụng để điều trị bệnh lao phổi, bệnh phong, và bệnh nhiễm phức hợp mycobacterium avium (MAC). Nhóm rifamyxin bao gồm các dược chất rifamyxin "cổ điển" cũng như các chất tương tự rifamyxin như rifampixin (hoặc rifampin), rifabutin, rifapentin, rifalazil và rifaximin. Rifamyxin SV, được bán dưới tên thương mại Aemcolo, được FDA phê chuẩn để điều trị chứng tiêu chảy du lịch trong một số trường hợp.

Các kháng sinh nhóm rifamyxin ức chế ARN polymeraza vi khuẩn (RNAP) và có hoạt lực kháng *S. aureus*. Tuy nhiên, liệu pháp đơn mô thức dùng nhóm các kháng sinh này có thể dẫn đến việc chọn lọc quần thể có tính kháng trong quá trình điều trị. Do đó, các kháng sinh rifamyxin có thể được sử dụng kết hợp với các kháng sinh hàng đầu nhằm cải thiện các hậu quả, thường là đối với các lây nhiễm liên quan đến các bộ phận giả hoặc các thiết bị ngoại lai.

Thụ thể scavenger 1 của đại thực bào (Macrophage scavenger receptor 1-MSR1) là thụ thể trime nhận diện hình mẫu glycoprotein truyền tín hiệu xuyên màng đơn typ II mà điều tiết sự hấp thụ của hàng loạt phối tử tích điện âm/polyanion, bao gồm lipoprotein cải biến mật độ thấp (LDL) (Krieger, M. 1994. *Annu. Rev. Biochem.* 63:601-637; Platt, N. and S. Gordon. 2001. *J Clin Invest.* 108(5):649-654) và các sản phẩm glycat hóa bền

vững của albumin huyết thanh bò (AGE-BSA) (Smedsrød *et al.* 1997. *Biochem J.* 322(Pt 2):567-573.) Các thụ thể MSR1 liên quan đến nhiều quy trình sinh lý và bệnh học liên quan đến đại thực bào bao gồm chứng xơ vữa động mạch, bệnh Alzheimer, và chứng bảo vệ vật chủ.

Ban đầu thì sự biểu hiện MSR1 được xem là đặc hiệu đối với đại thực bào. Tuy nhiên, gần đây nó đã được chứng minh là có mặt trên các nhóm khác nhau của tế bào đuôi gai (Herber et al. 2010. *Nat. Med.* 16(8): 880–886). Ngoài ra, MSR1 được cho là như được biểu hiện trong các tế bào nội mô và tế bào cơ trơn. Nó được nhập bào thông qua các cấu trúc túi bao ở bề mặt tế bào và giải phóng phối tử của nó ở độ pH axit trước khi được tuần hoàn lại bề mặt tế bào từ thiết bị trans-Golgi (Doi *et al.* 1994. *Journal of Biological Chemistry;* Mori, T. 1994. *Lab Invest.*). Thụ thể này thúc đẩy các đại thực bào thu được từ bạch cầu đơn nhân chuyển hóa thành các tế bào bọt, đây là bước quyết định đối với sự tiến triển chứng xơ vữa động mạch.

S. aureus là vi khuẩn nội bào tùy ý mà có thể sống sót qua quá trình thực bào bởi đại thực bào và các loại tế bào khác (Horn et al. 2018. Int. J. Med. Microbiol. 308(6): 607-624; Jubrail et al. 2016. Cell Microbiol. 18(1): 80-96; Mitchell et al. 2016. Microbiol. Spectr. 4(3)). Chụp hình sinh tồn đã cho thấy rằng các đại thực bào có thể hoạt động như ổ chứa trong đó *S. aureus* sao chép và sau đó gieo giống các cơ quan khác trong khi lây nhiễm (Surewaard et al. 2016. J. Exp. Med. 213(7): 1141-51). Hầu hết các kháng sinh không thâm nhập tốt vào tế bào, gồm cả đại thực bào, chỉ ra rằng ổ chứa *S. aureus* nội bào có thể lẩn tránh việc điều trị bằng các kháng sinh điều trị tiêu chuẩn (Lehar et al. 2015. Nature. 527(7578): 323-8). Tuy nhiên, dạng phối trộn liposom của vancomyxin làm tăng khả năng thâm nhập của kháng sinh vào đại thực bào và làm giảm gánh nặng của *S. aureus* lên cơ quan một cách hiệu quả hơn so với vancomyxin điều trị tiêu chuẩn (Surewaard et al. 2016. J. Exp. Med. 213(7): 1141-51).Cùng với đó, các dữ liệu này chỉ ra rằng việc phân phối kháng sinh vào đại thực bào có thể là phương pháp hiệu quả để loại bỏ ổ chứa *S. aureus* nội bào.

Các axit teichoic là phân tử giàu phosphat được tìm thấy trên nhiều protein gắn

kết glycan bên trong thành tế bào của hầu hết vi khuẩn Gram dương gồm cả *S. aureus*. Axit teichoic, cũng như các glycoprotein khác, tạo thành một lớp dày chứa các vỏ peptidoglycan bao quanh vi khuẩn mà không những làm ổn định màng tế bào mà còn tạo ra nhiều điểm gắn để các phân tử khác gắn vào đó. Axit teichoic trong vách (Wall teichoic acids "WTA") là một loại axit teichoic, được gắn cộng hóa trị với peptidoglycan và kéo dài qua và ra ngoài thành tế bào. WTA có thể chiếm đến 60% trong tổng số khối lượng thành tế bào trong protein gắn kết glycan. Do đó, nó là kháng nguyên bề mặt tế bào biểu hiện ở mức cao cho vi khuẩn Gram dương bao gồm *S. aureus*.

S. aureus cũng biểu hiện một số kháng nguyên quyết định bề mặt, bao gồm protein A của *S. aureus* (SpA) và polysacarit poly-N-axetylglucosamin (PNAG), các protein quyết định bề mặt điều hòa sắt IsdA, IsdB, IsdC, IsdE và IsdH, các protein yếu tố kết cụm ClfA và ClfB, polysacarit nang typ (CP) 5 và CP8, các protein lặp axit serin-aspartic SdrC, SdrD, và SdrE, các protein gắn kết fibronectin A và B (FnBpA, FnBpB), Cna (protein gắn kết colagen), và SasG (protein bề mặt G của *S. aureus*). Các kháng nguyên bề mặt này có vai trò trong việc xâm chiếm mô vật chủ, tránh đáp ứng miễn dịch của vật chủ, và phù hợp với vi khuẩn.

Vì thế việc phát triển ADC chứa các chất tương tự rifamyxin sẽ cho phép phân phối đặc hiệu đích các chất tương tự rifamyxin bên trong đại thực bào, hoặc buộc các chất tương tự rifamyxin này lên trên bề mặt của vi khuẩn. Ngoài ra, các ADC này có thể tạo ra hoạt tính cải thiện chống lại ví dụ, đích vi khuẩn có tính kháng, độ sinh khả dụng cải thiện, và cửa sổ trị liệu cải thiện. Do đó, vẫn đang có nhu cầu có các phương pháp hiệu quả để điều trị vi khuẩn kháng kháng sinh bằng cách sử dụng thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa chất tương tự rifamyxin.

Vì vậy, hiện vẫn có nhu cầu lớn chưa được đáp ứng nhằm phát triển các chất tương tự hiệu quả của rifamyxin để chống lại vấn đề đang ngày càng tăng của vi khuẩn kháng kháng sinh, bao gồm chủng *S. aureus* kháng kháng sinh. Các kháng thể MSR1 có thể cung cấp phương tiện để hướng đích đặc hiệu các phân tử trị liệu như chất tương tự của rifamyxin để giảm thiểu tối đa các tác dụng phụ không mong muốn phát sinh từ việc

dùng toàn thân các hợp chất đó cũng như hỗ trợ các hợp chất này nhập bào vào đại thực bào. Theo một cách khác, việc liên hợp với các kháng thể hướng đích kháng nguyên bề mặt tế bào (ví dụ, WTA, Protein A) có thể cải thiện tác dụng trị liệu của các chất tương tự rifamyxin.

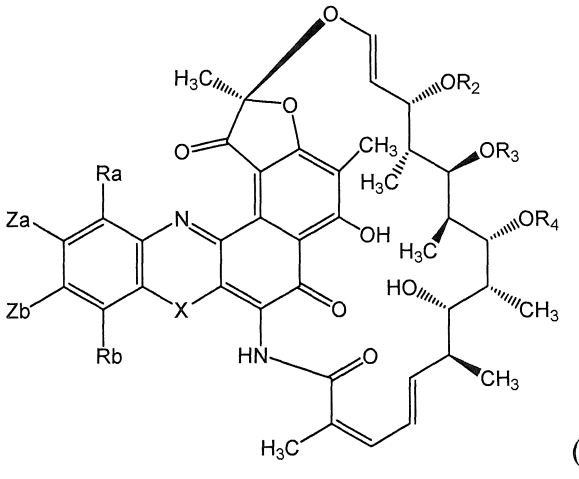
Phần mô tả trên đây chỉ được trình bày nhằm giúp hiểu rõ hơn bản chất của các vấn đề đối đầu với tình trạng kỹ thuật và không nên được hiểu theo cách bất kỳ là kết hợp vào tình trạng kỹ thuật cũng như việc trích dẫn bất kỳ tài liệu tham khảo nào ở đây cũng không nên được hiểu là sự kết hợp trong đó tài liệu tham khảo này biến "tình trạng kỹ thuật" thành một phần của sáng chế.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Như được mô tả ở đây, có nhu cầu lớn đối với việc phát triển các phương pháp hiệu quả để điều trị bệnh nhiễm khuẩn nói chung và nhiễm *S. aureus* nói riêng. Sáng chế giải quyết nhu cầu này và cả các nhu cầu khác nữa bằng cách đề xuất hợp chất tương tự rifamyxin mới, các hợp chất trung gian và tiền chất của nó, thể liên hợp kháng thể-thuốc, dược phẩm, và phương pháp điều trị dựa trên các hợp chất và dược phẩm này.

Các khía cạnh và phương án không làm giới hạn phạm vi của sáng chế được mô tả dưới đây.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất tương tự rifamyxin, hợp chất trung gian hoặc tiền chất của nó có cấu trúc có công thức (A):



(A)

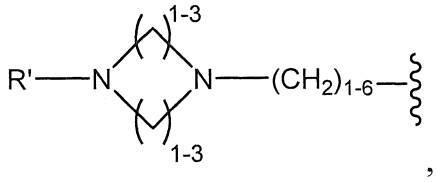
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

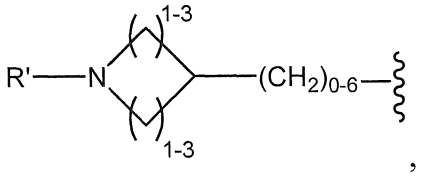
X được chọn từ -O- và -NR*-;

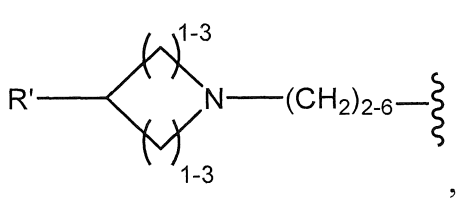
Za và Zb độc lập được chọn từ hydro, -Cl, -Br, -OR_1 và -R_N; với điều kiện ít nhất một trong số Za hoặc Zb không phải là hydro; trong đó:

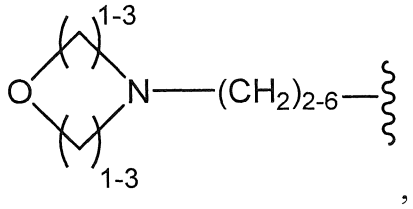
R_1 được chọn từ hydro, R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, -O-$N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*,-(C=O)-NH_2, -(C=O)-$N(R^*)_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-$N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R^*, -SO_2-$N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -$Si(R^*)_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, thì R_1 không phải là hydro;

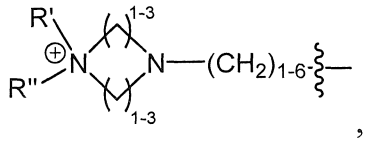
R_N được chọn từ:



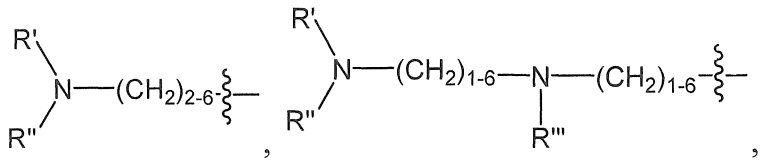
,


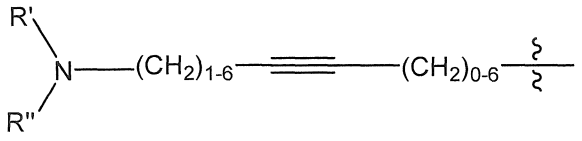
,


,


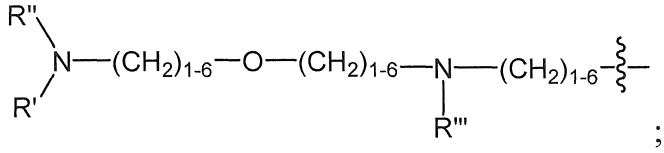
,


,


,



và


; trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R"' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ Florenylmetyloxycacbonyl (FMOC) và *tert*-Butyloxycacbonyl (BOC), hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

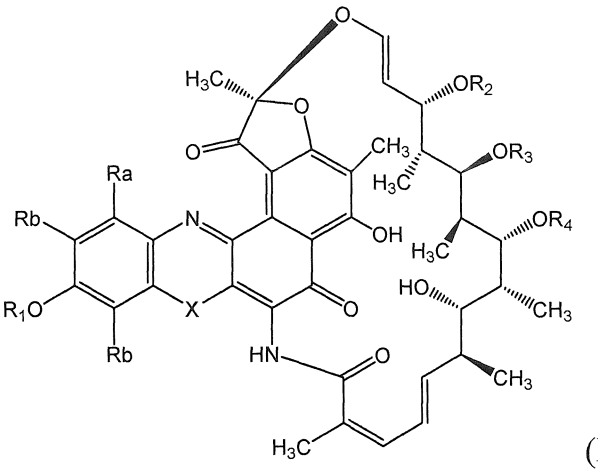
R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, và -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

R_a được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -SR*, $-SO_2R^*$, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R_b được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, và S, và trong đó R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (I):



(I)

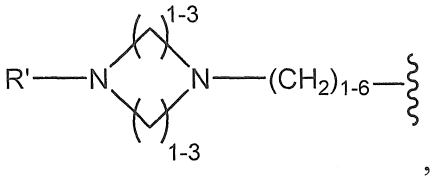
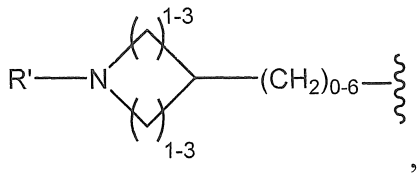
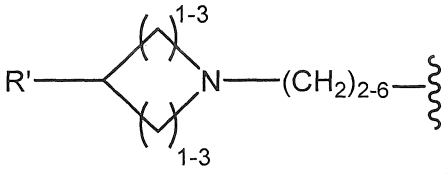
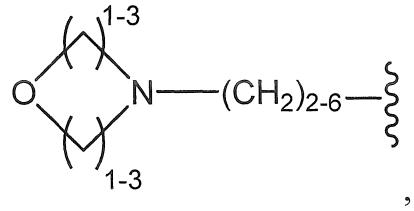
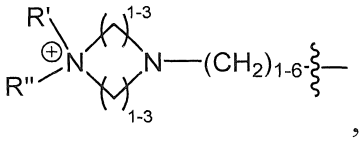
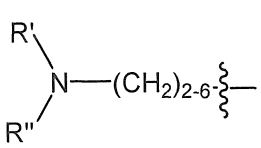
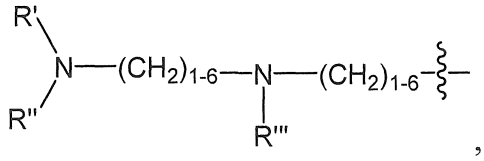
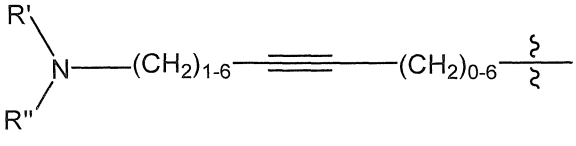
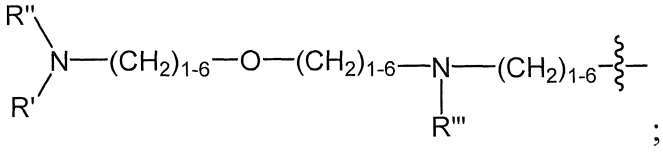
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

X được chọn từ -O- và -NR*-;

R_1 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, $-NO_2$, $-NO_3$, -O-NO, $-N_3$, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, $-O-N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, $-(C=O)-NH_2$, $-(C=O)-N(R^*)_2$, $-(C=O)-NHNH_2$, $-O-(C=O)-NHNH_2$, $-(C=S)-NH_2$, $-(C=S)-N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO,

-N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, $-SO_2R^*$, $-SO_2-N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, $-Si(R^*)_3$, $-CF_3$, $-O-CF_3$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, thì R_1 không phải là hydro;

R_N được chọn từ:









và

; trong đó ký hiệu 〰 trượng trưng cho điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và $B_{OC,}$ hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

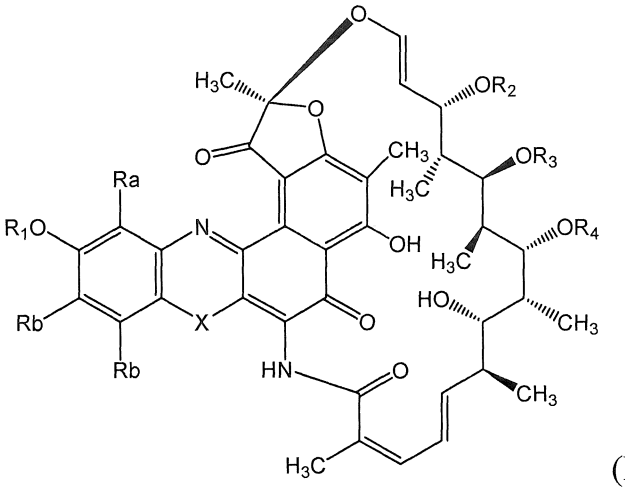
R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, hoặc -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

R_a được chọn từ hydro, F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^*, -SR*, -SO_2R^*, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó

R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R_b được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R* và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, và S, và trong đó R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*; và R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (I'):



(I')

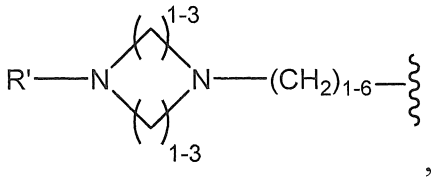
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

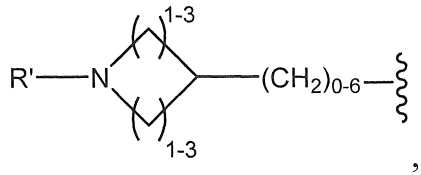
X được chọn từ -O- và -NR*-;

R_1 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -N(R*)$_2$,

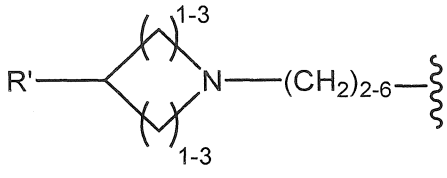
$-N(R^*)_3^+$, $-N(R^*)-OH$, $-O-N(R^*)_2$, $-N(R^*)-O-R^*$, $-CN$, $-NC$, $-(C=O)-R^*$, $-CHO$, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, $-(C=O)-S-R^*$, $-O-(C=O)-H$, $-O-(C=O)-R^*$, $-S-(C=O)-R^*$, $-(C=O)-NH_2$, $-(C=O)-N(R^*)_2$, $-(C=O)-NHNH_2$, $-O-(C=O)-NHNH_2$, $-(C=S)-NH_2$, $-(C=S)-N(R^*)_2$, $-N(R^*)-CHO$, $-N(R^*)-(C=O)-R^*$, $-SCN$, $-NCS$, $-NSO$, $-SSR^*$, $-SO_2R^*$, $-SO_2-N(R^*)_2$, $-S(=O)-OR^*$, $-S(=O)-R^*$, $-Si(R^*)_3$, $-CF_3$, $-O-CF_3$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, thì R_1 không phải là hydro;

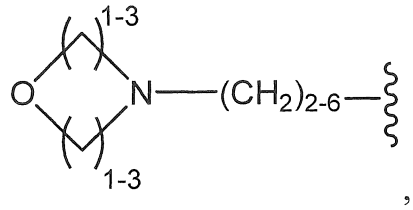
R_N được chọn từ:



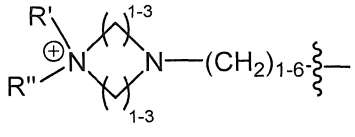
,


,

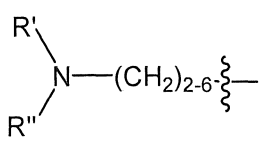


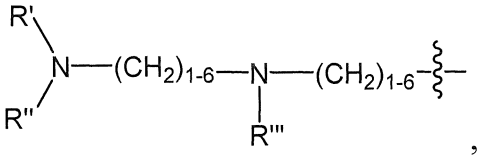
,


,

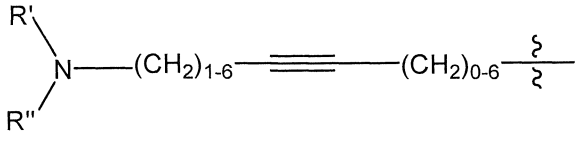


,

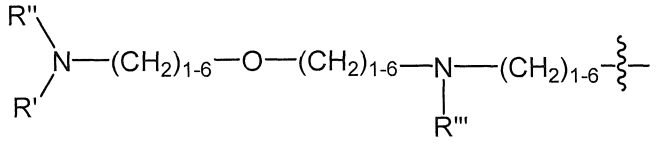


,


,



và



; trong đó ký hiệu 〰 dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng

béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, hoặc -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

R_a được chọn từ hydro, F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -SR*, $-SO_2R^*$, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R_b được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, và S, và trong đó R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*; và R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, hợp chất có các công thức (A), (I), hoặc (I'), X là -O-, R_1 là C_1-C_3 hydrocacbon béo, R_2 là nhóm metyl, R_3 là Ac (-(C=O)-CH_3), R_4 là hydro, và R_a là hydro.

Theo một phương án, hợp chất có các công thức (A), (I), hoặc (I'), X là -O-, R_1 là nhóm benzyl, R_2 là nhóm metyl, R_3 là Ac (-(C=O)-CH_3), R_4 là hydro; R_a là hydro và R_b là hydro.

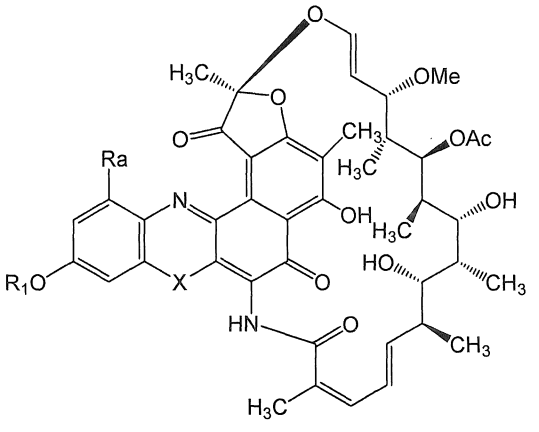
Theo một phương án, hợp chất có các công thức (A), (I), hoặc (I'), X là -O-, R_1 là C_1-C_8 hydrocacbon béo bao gồm từ 1 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ O và N, R_2 là nhóm metyl, R_3 là Ac (-(C=O)-CH_3), R_4 là hydro; R_a là hydro và R_b là hydro.

Theo một phương án, hợp chất có các công thức (A), (I), hoặc (I'), X là -O-; R_1 là C_1-C_8 hydrocacbon béo được thế bằng một hoặc nhiều trong số $-NH_2$, -NHR*, -

$N(R^*)_2$; R* là hydro hoặc C_1-C_3 hydrocacbon béo; R_2 là nhóm metyl; R_3 là Ac (-(C=O)-CH_3); R_4 là hydro; R_a là hydro và R_b là hydro.

Theo một phương án, hợp chất có các công thức (A), (I), hoặc (I'), X là -NCH_3-, R_1 là -OH, R_2 là nhóm metyl, R_3 là Ac (-(C=O)-CH_3), R_4 là hydro, R_a là hydro và R_b là hydro.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc có công thức (II):



(II)

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

X được chọn từ -O- và -NR*-;

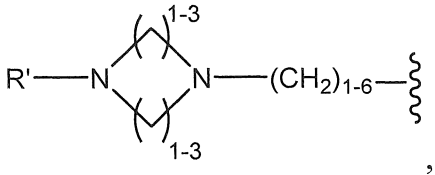
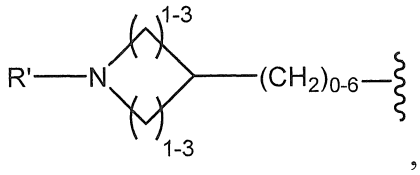
R_a được chọn từ hydro, -Cl, và -OR*;

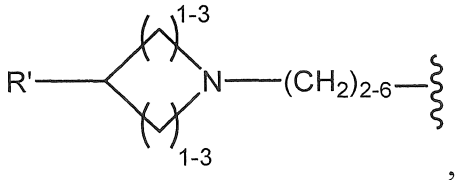
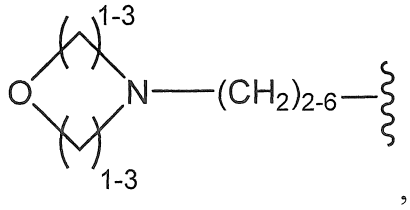
R_1 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, -O-$N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, -(C=O)-NH_2, -(C=O)-$N(R^*)_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-$N(R^*)_2$, -

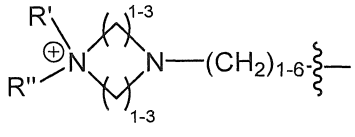
N(R*)-CHO,

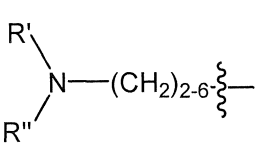
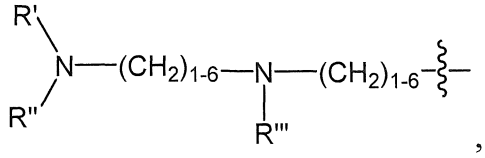
-N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R*, -SO_2-N(R*)$_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -Si(R*)$_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl;

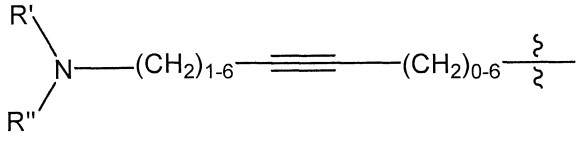
R_N được chọn từ:

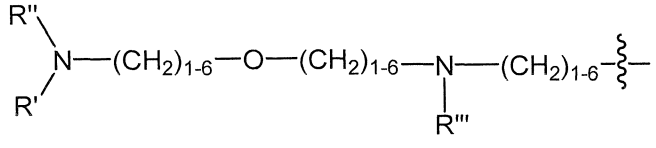

,

,


,

,


,


,

,

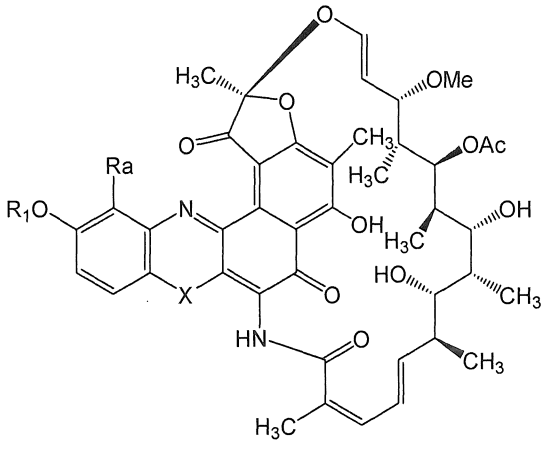

và


; trong đó ký hiệu 〰 dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20}

hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc có công thức (II'):



(II')

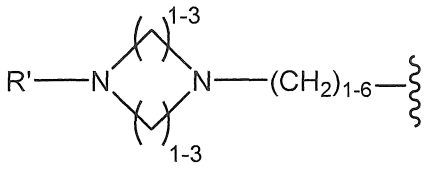
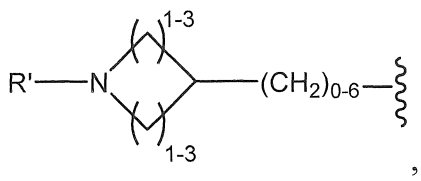
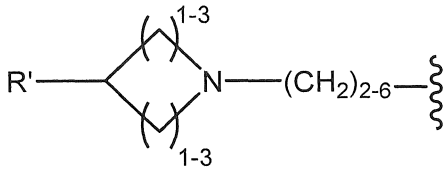
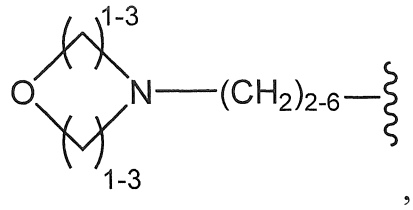
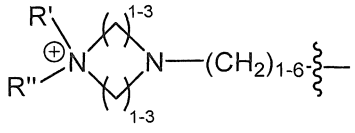
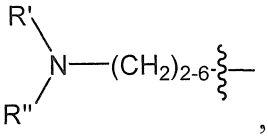
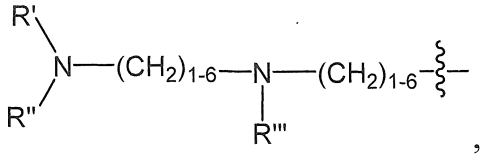
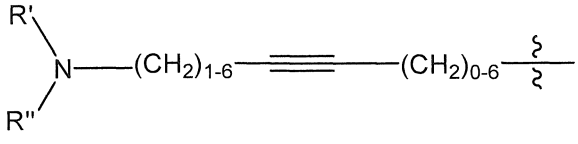
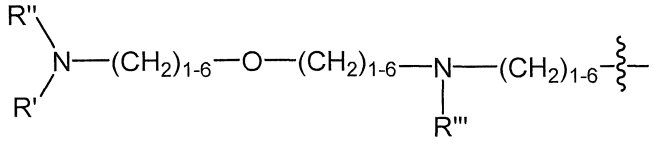
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

X được chọn từ -O- và -NR*-;

R_a được chọn từ hydro và -OR*;

R_1 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, $-NO_2$, $-NO_3$, -O-NO, $-N_3$, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, $-O-N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, $-(C=O)-NH_2$, $-(C=O)-N(R^*)_2$, $-(C=O)-NHNH_2$, $-O-(C=O)-NHNH_2$, $-(C=S)-NH_2$, $-(C=S)-N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, $-SO_2R^*$, $-SO_2-N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, $-Si(R^*)_3$, $-CF_3$, $-O-CF_3$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1

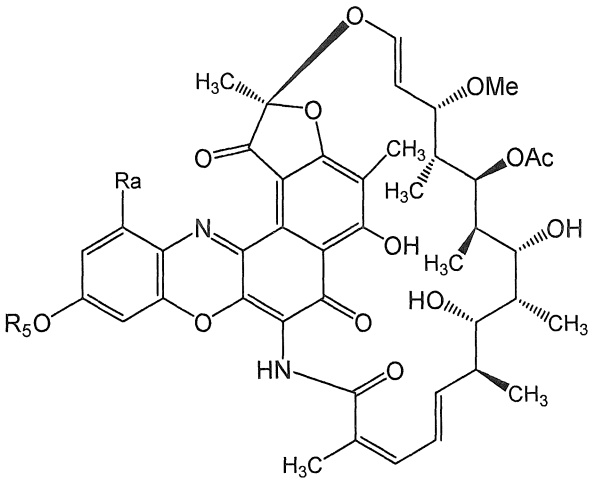
không phải là nhóm n-butyl; R_N được chọn từ:


,

,

,

,

,

,

,

và

; trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và $B_{OC,}$ hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc có

công thức (III):



(III)

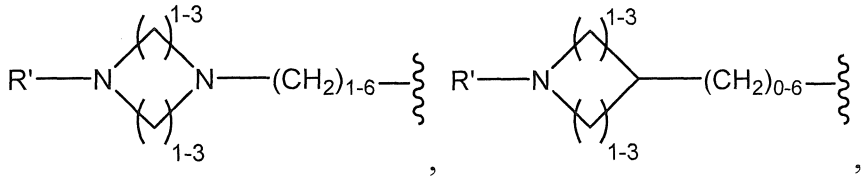
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

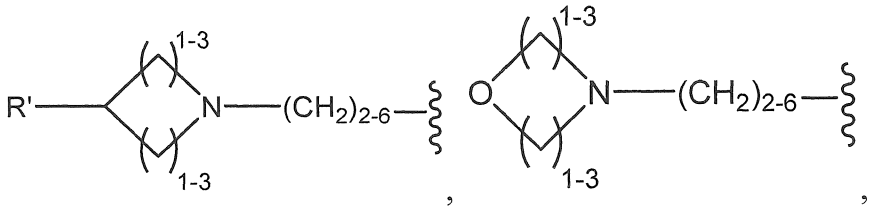
R_a được chọn từ hydro và -OR*;

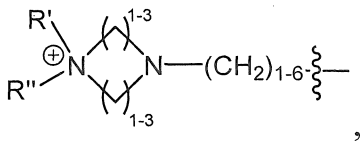
R_5 được chọn từ R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_5 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-(C=O)-R*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_5 không phải là nhóm n-butyl;

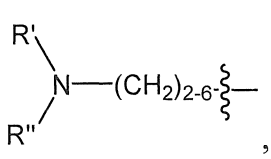
R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng; và

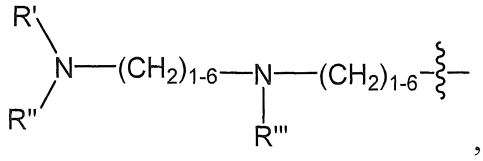
R_N được chọn từ:

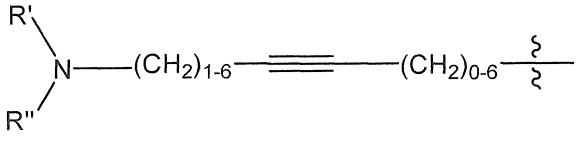


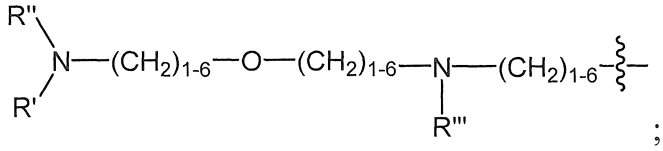

,


,

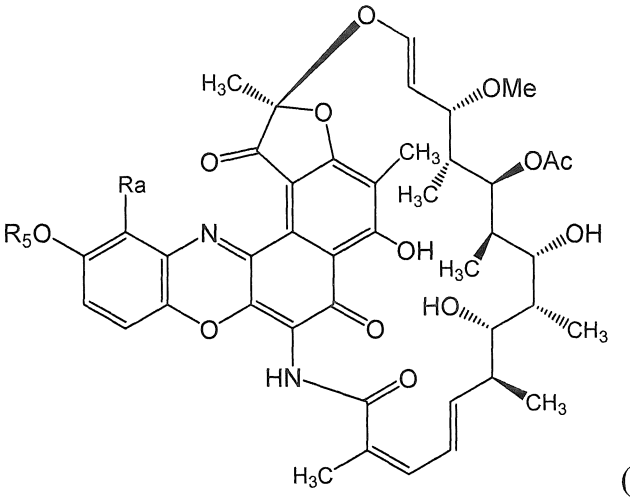

,


,


và


; trong đó ký hiệu 〰 dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc có công thức (III'):



(III')

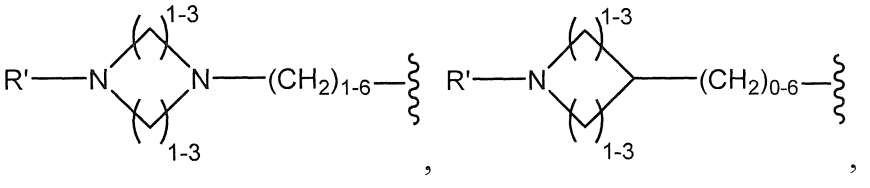
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

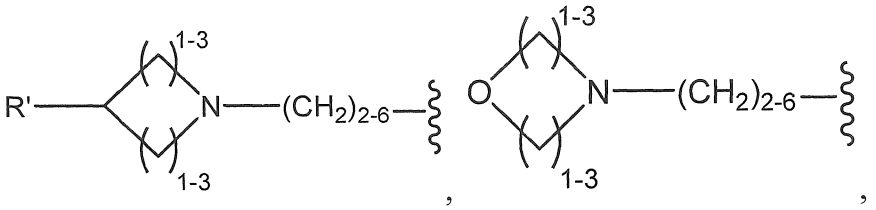
R_a được chọn từ hydro và -OR*;

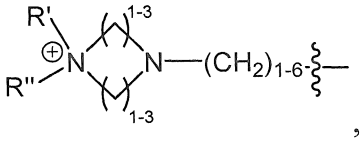
R_5 được chọn từ R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_5 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-(C=O)-R*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_5 không phải là nhóm n-butyl;

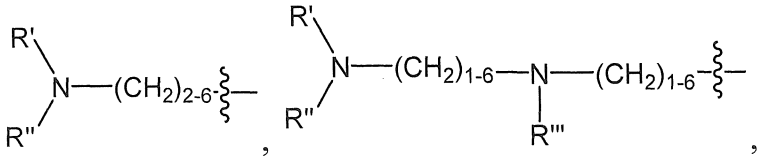
R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng; và

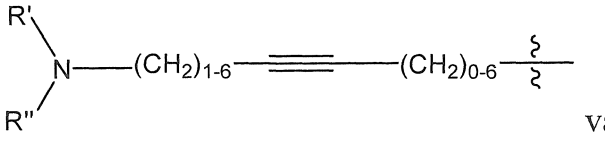
R_N được chọn từ:



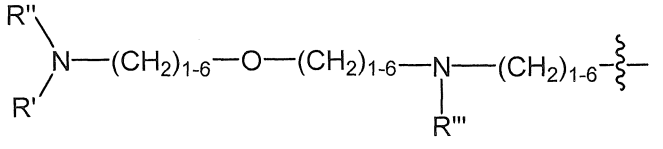






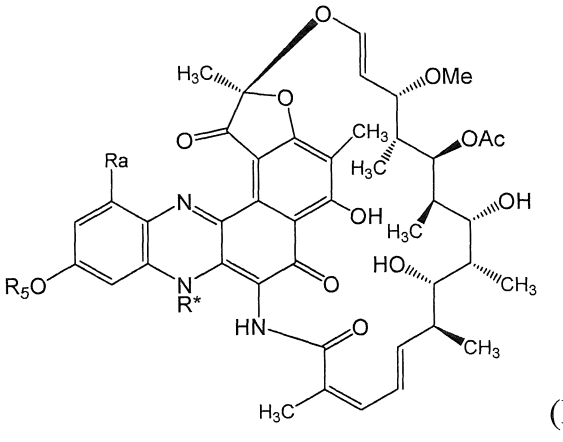


và



trong đó ký hiệu 〰 dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc có công thức (IV):



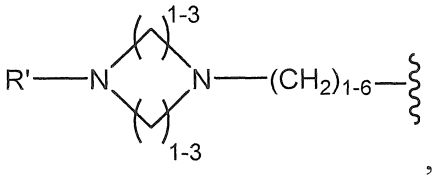
(IV)

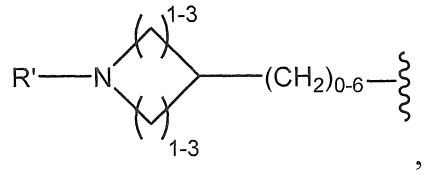
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

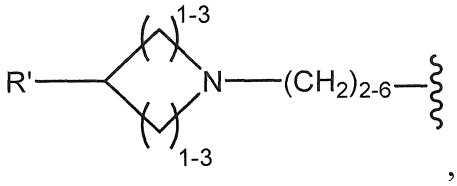
R_a được chọn từ hydro và -OR*;

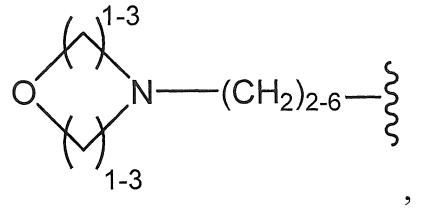
R_5 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_5 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -N(R*)-(C=O)-R*, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^* và hỗn hợp của chúng;

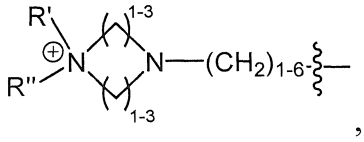
R_N được chọn từ:

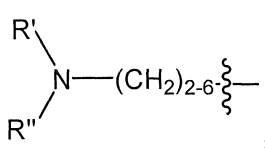

,

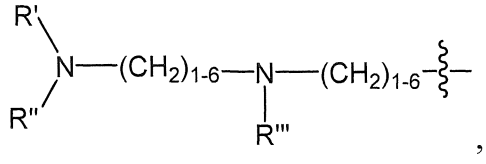

,

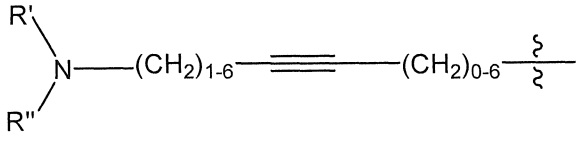

,

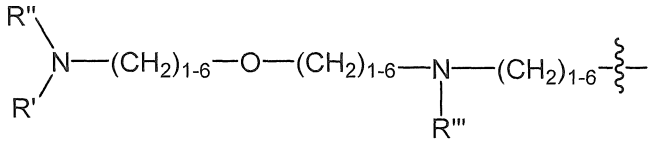

,


,


,


,

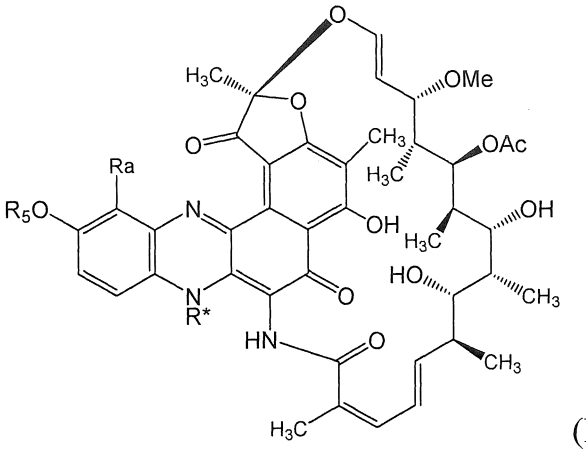

và



trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc có công thức (IV'):



(IV')

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

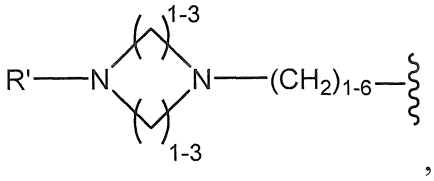
R_a được chọn từ hydro và -OR*;

R_5 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_5 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$,

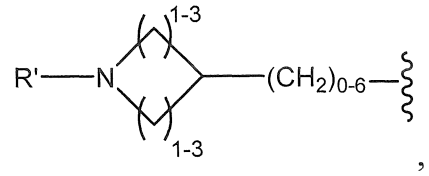
-N(R*)-(C=O)-R*,

-(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R* và hỗn hợp của chúng;

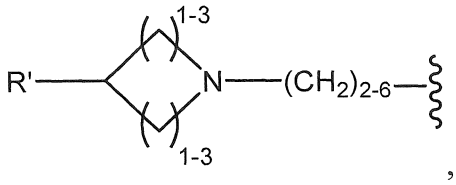
R_N được chọn từ:



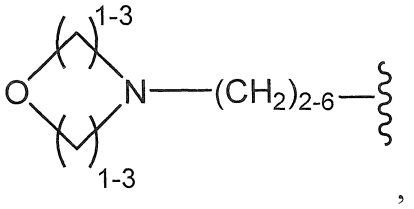
,



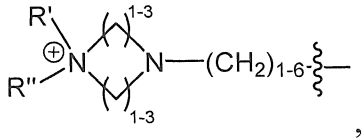
,



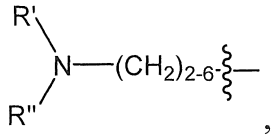
,



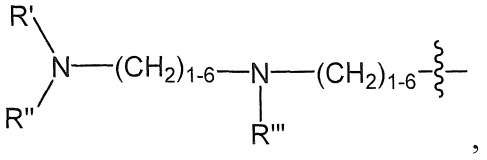
,



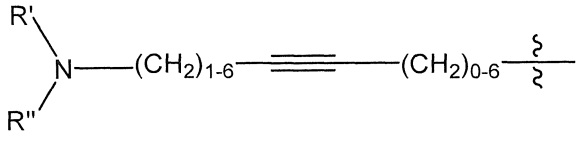
,



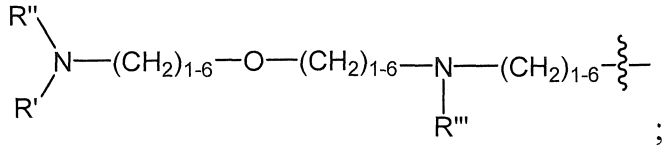
,



,



và

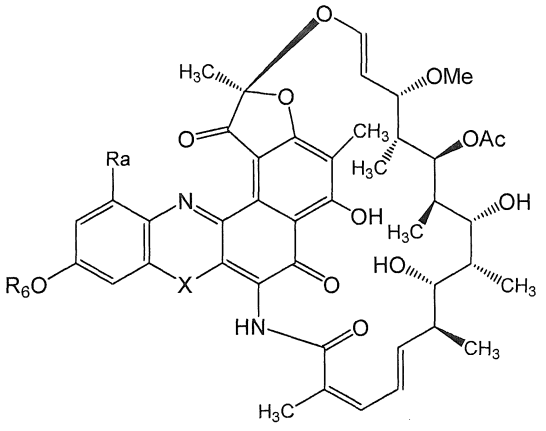


; trong đó ký hiệu 〰 dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo,

C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc có công thức (V):



(V)

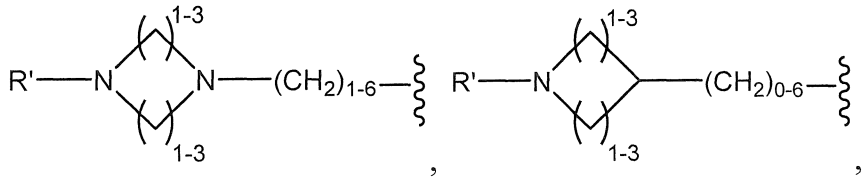
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

X được chọn từ -O- và -NR*-;

R_a được chọn từ hydro và -OR*;

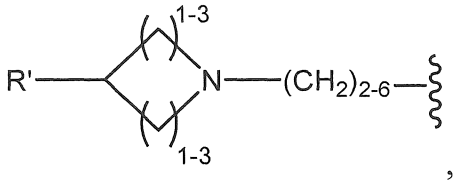
R_6 được chọn từ R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_6 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-(C=O)-R*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_6 không phải là nhóm n-butyl;

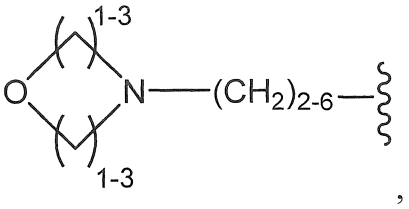
R_N được chọn từ:

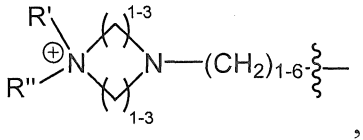


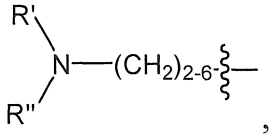
,

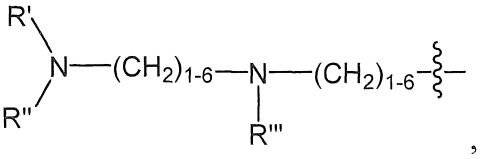
,

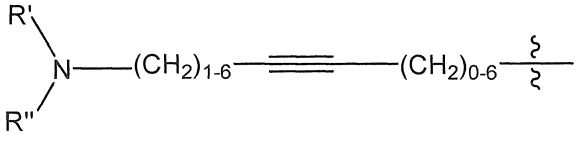

,

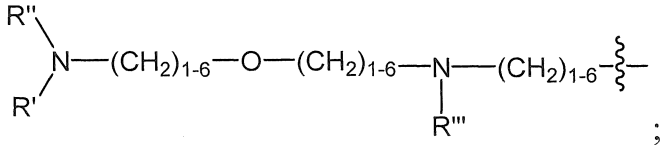

,


,


,

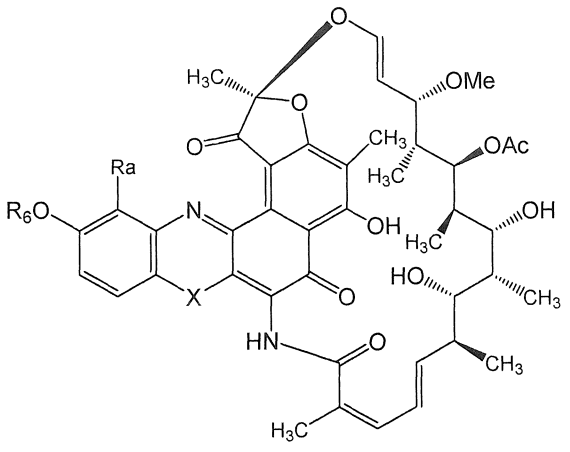

,


và


; trong đó ký hiệu 〰 dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc có công thức (V'):



(V')

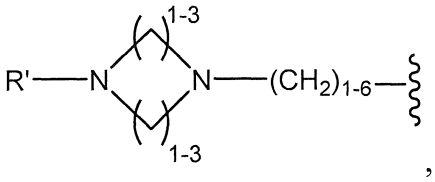
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

X được chọn từ -O- và -NR*-;

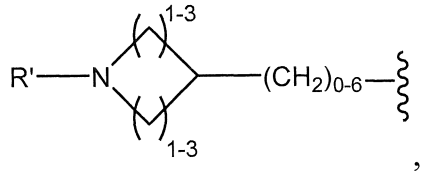
R_a được chọn từ hydro và -OR*;

R_6 được chọn từ R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_6 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, $-N(R^*)-(C=O)-R^*$, $-(C=O)-R^*$, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_6 không phải là nhóm n-butyl;

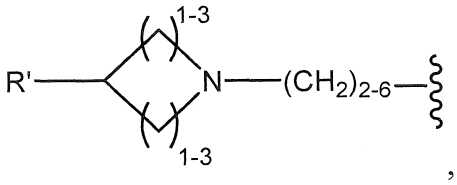
R_N được chọn từ:



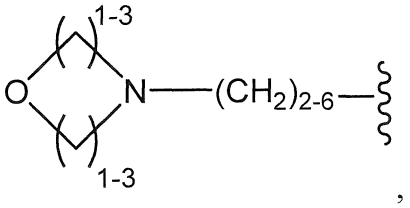
,



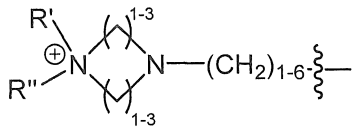
,



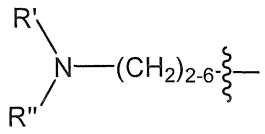
,



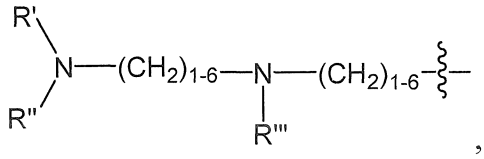
,



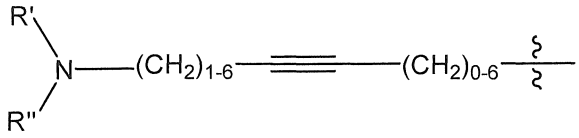
,



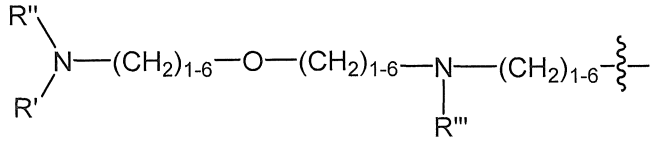
,



,



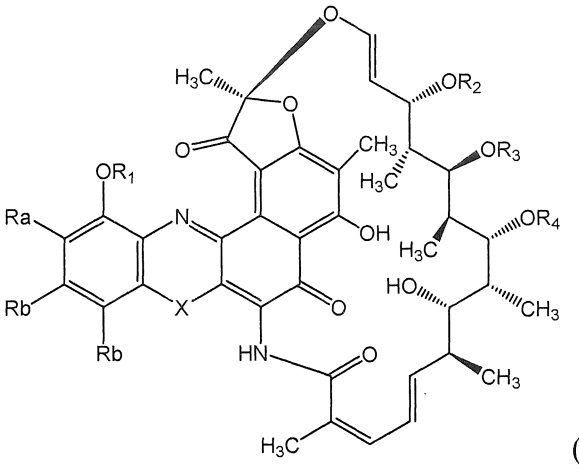
và



trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R"' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất tương tự rifamyxin, hợp chất trung gian hoặc tiền chất của nó có cấu trúc có công thức (B):



(B),

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

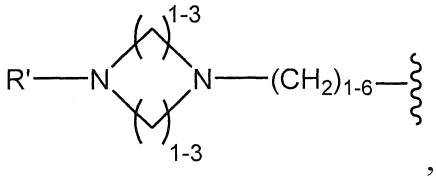
X được chọn từ -O- và -NR*-;

R_1 được chọn từ hydro, R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, $-NO_2$, $-NO_3$, -O-NO, $-N_3$, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$,

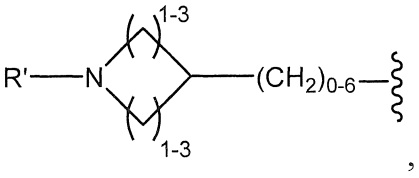
$-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, $-O-N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*,$-(C=O)-NH_2$, $-(C=O)-N(R^*)_2$, $-(C=O)-NHNH_2$, $-O-(C=O)-NHNH_2$, $-(C=S)-NH_2$, $-(C=S)-N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO,

-N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, $-SO_2R^*$, $-SO_2-N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, $-Si(R^*)_3$, $-CF_3$, $-O-CF_3$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, R_1 không phải là hydro;

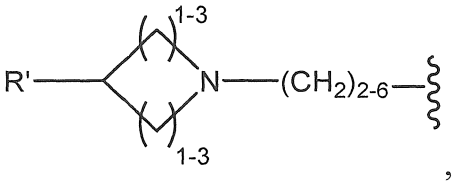
R_N được chọn từ:



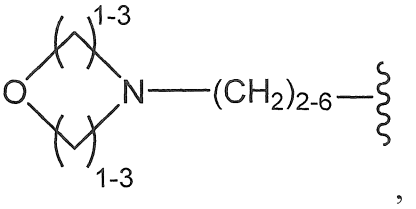
,



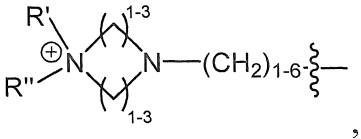
,



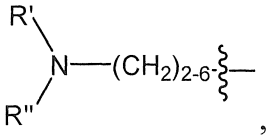
,



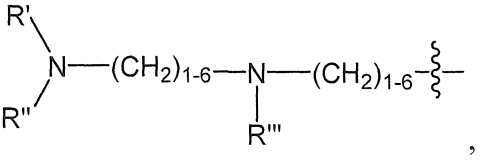
,



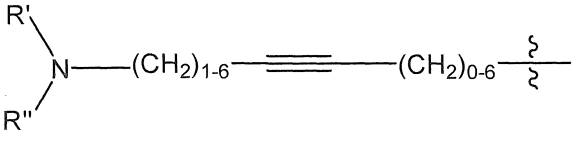
,



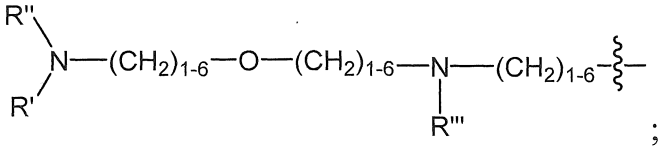
,



,



và



; trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ Florenylmetyloxycacbonyl (FMOC) và *tert*-Butyloxycacbonyl (BOC), hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, và -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

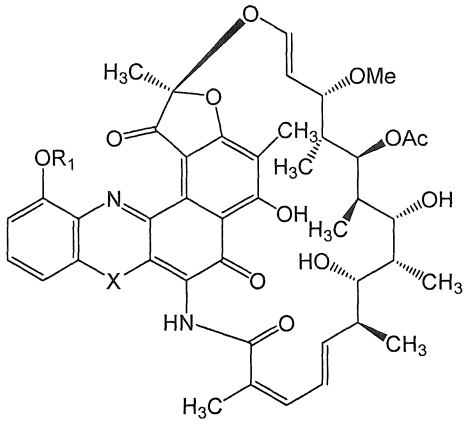
R_a được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -SR*, $-SO_2R^*$, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R_b được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$

và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, và S, và trong đó R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (B-1):



(B-1)

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

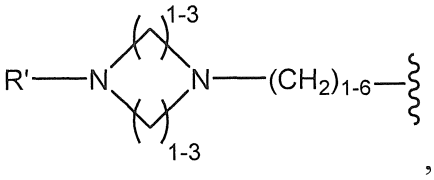
X được chọn từ -O- và -NR*-;

R_1 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, $-NO_2$, $-NO_3$, -O-NO, $-N_3$, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, $-O-N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, $-(C=O)-NH_2$, $-(C=O)-N(R^*)_2$, $-(C=O)-NHNH_2$, $-O-(C=O)-NHNH_2$, $-(C=S)-NH_2$, $-(C=S)-N(R^*)_2$, -

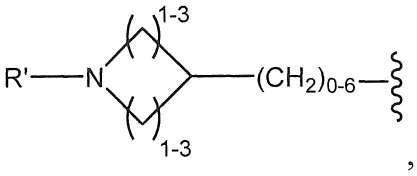
N(R*)-CHO,

-N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R*, -SO_2-N(R*)$_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -Si(R*)$_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl;

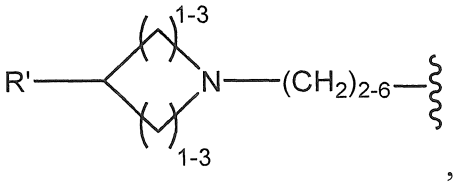
R_N được chọn từ:



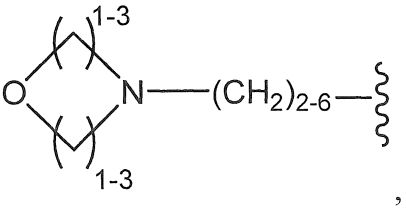
,



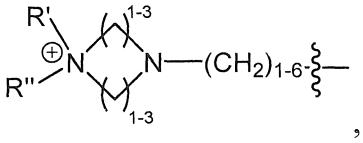
,



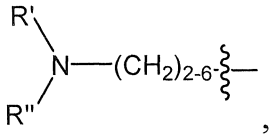
,



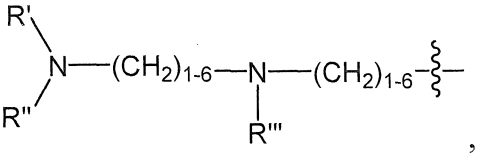
,



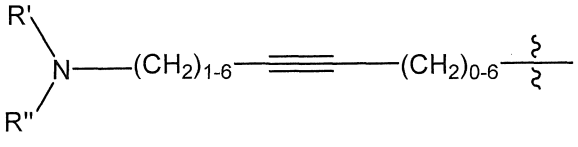
,



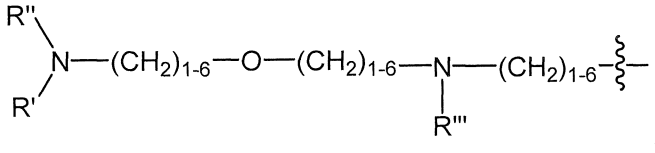
,



,



và

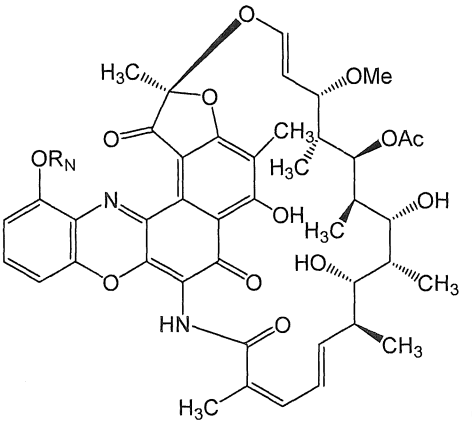


; trong đó ký hiệu 〰 dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20}

hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

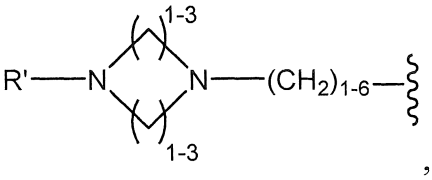
Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (B-2):



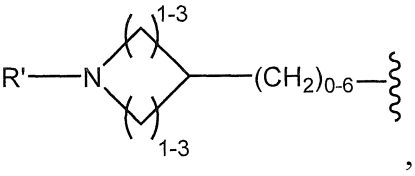
(B-2)

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

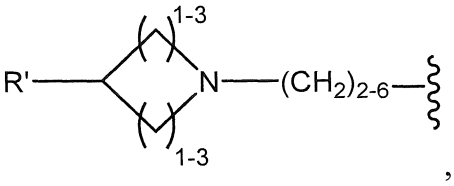
R_N được chọn từ:



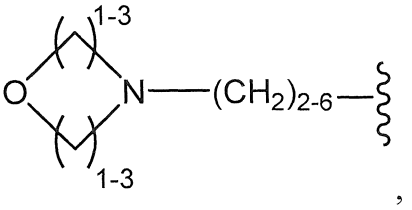
,



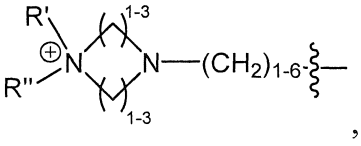
,



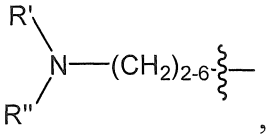
,

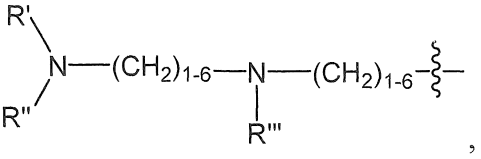


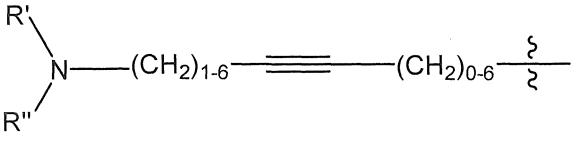
,

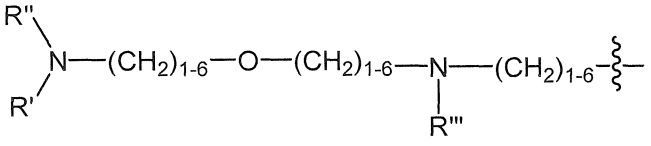


,

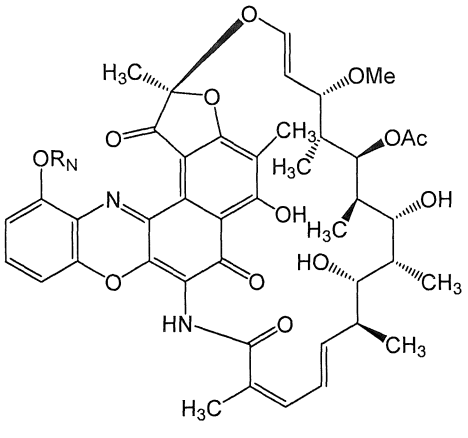

,


,

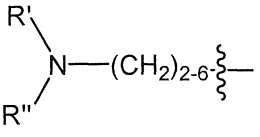

và


trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R"' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo.

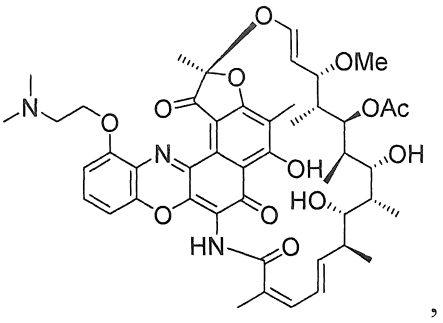
Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (B-2):


(B-2)

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

R_N là  trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R' và R" được chọn từ hydro và C_1-C_6 hydrocacbon béo.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc theo công thức sau:



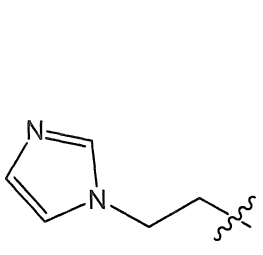
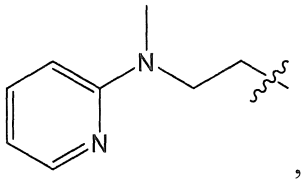
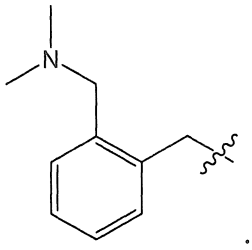
hoặc muối dược dụng của nó.

Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề xuất hợp chất trong đó R_1 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ O và N, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, C_{1-3} alkoxit, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, $-O-N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -N(R*)-(C=O)-R*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, $-(C=O)-NH_2$, $-(C=O)-N(R^*)_2$, $-Si(R^*)_3$, $-CF_3$, $-O-CF_3$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O-, thì R_1 không phải là hydro.

Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề xuất hợp chất trong đó R_1 là tổ hợp của C_1-C_{20} hydrocacbon béo và C_1-C_{20} hydrocacbon thơm.

Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề xuất hợp chất trong đó R_1 là tổ hợp của C_1-C_{20} hydrocacbon béo và C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại.

Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề xuất hợp chất trong đó R_1 được chọn từ:


, 
, và 
.

Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề xuất hợp chất trong đó R_1 là C_1-C_{20} hydrocacbon béo được thế bằng một hoặc nhiều trong số -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$,, hoặc -N(R*)-(C=O)-R*.

Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề xuất hợp chất trong đó R_1 là C_1-C_{20} hydrocacbon béo được thế bằng -NH-(C=O)-CH_3 hoặc -$N(CH_3)$-(C=O)-CH_3.

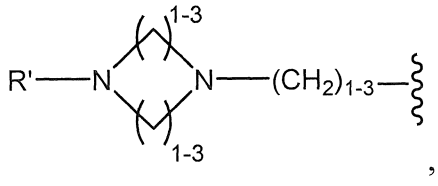
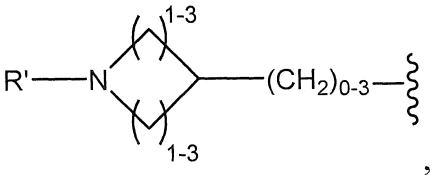
Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề xuất hợp chất trong đó R_a là hydro.

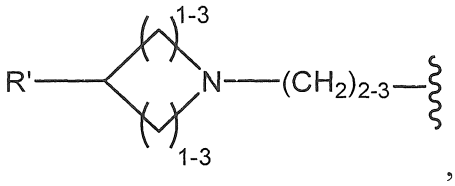
Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề xuất hợp chất trong đó R_a là -OH.

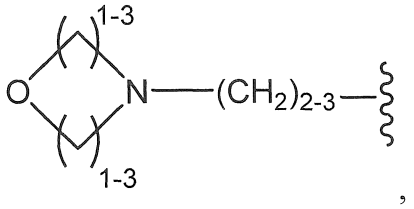
Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề xuất hợp chất trong đó R_a là -Cl.

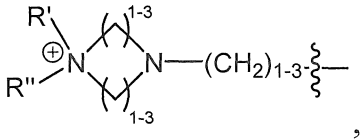
Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề xuất hợp chất trong đó R_a là -OR*, và R* được chọn từ C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, và hỗn hợp của chúng.

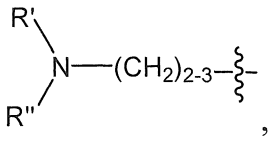
Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề xuất hợp chất trong đó R_N được chọn từ:

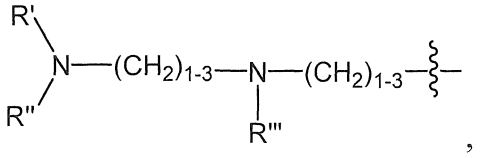

, 
,

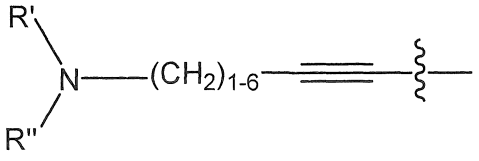

,

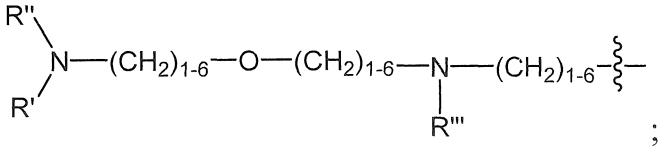

,


,


,

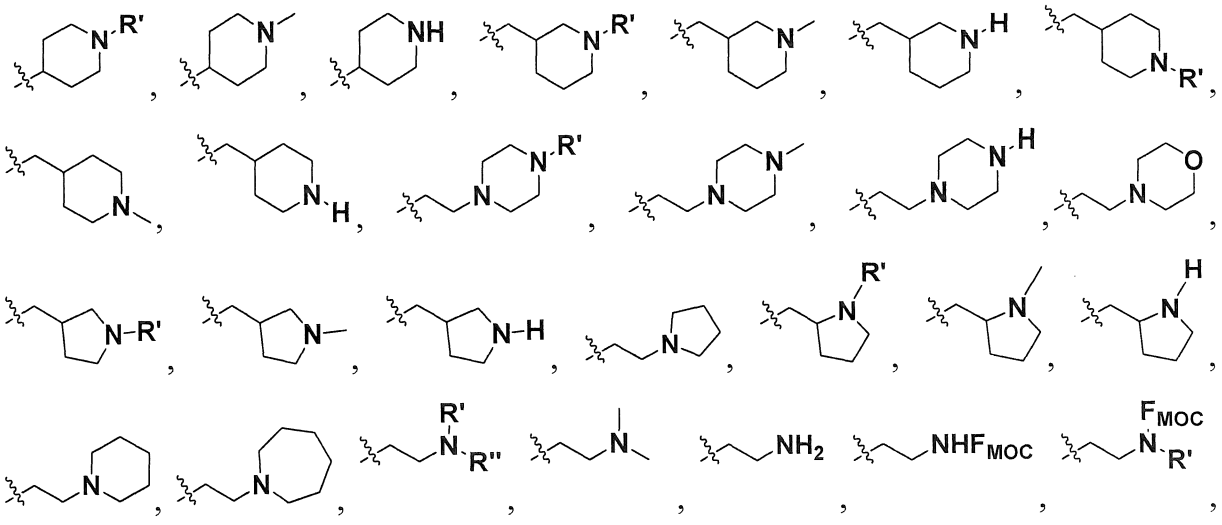

,

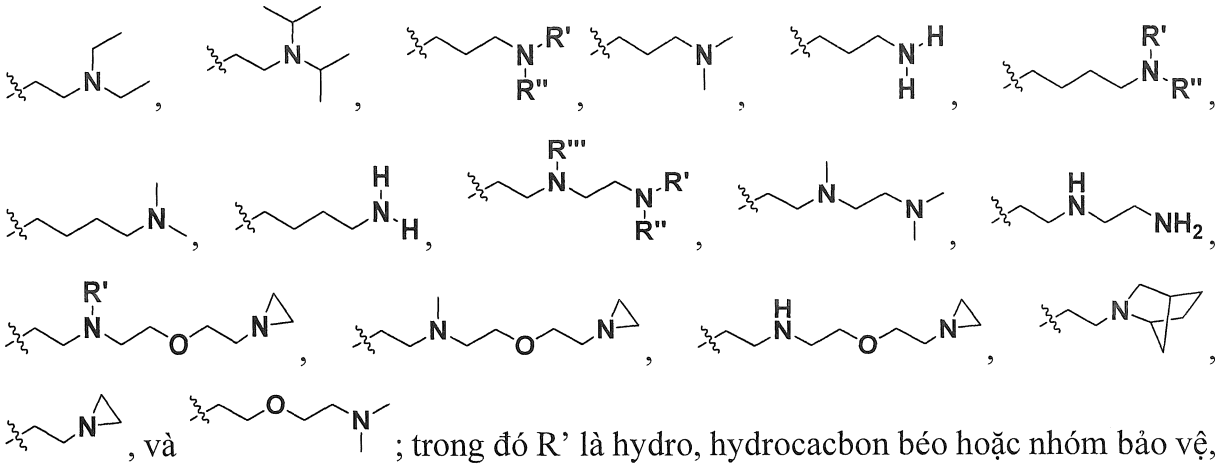

và


;

trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo.

Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề xuất hợp chất trong đó R_N được chọn từ:

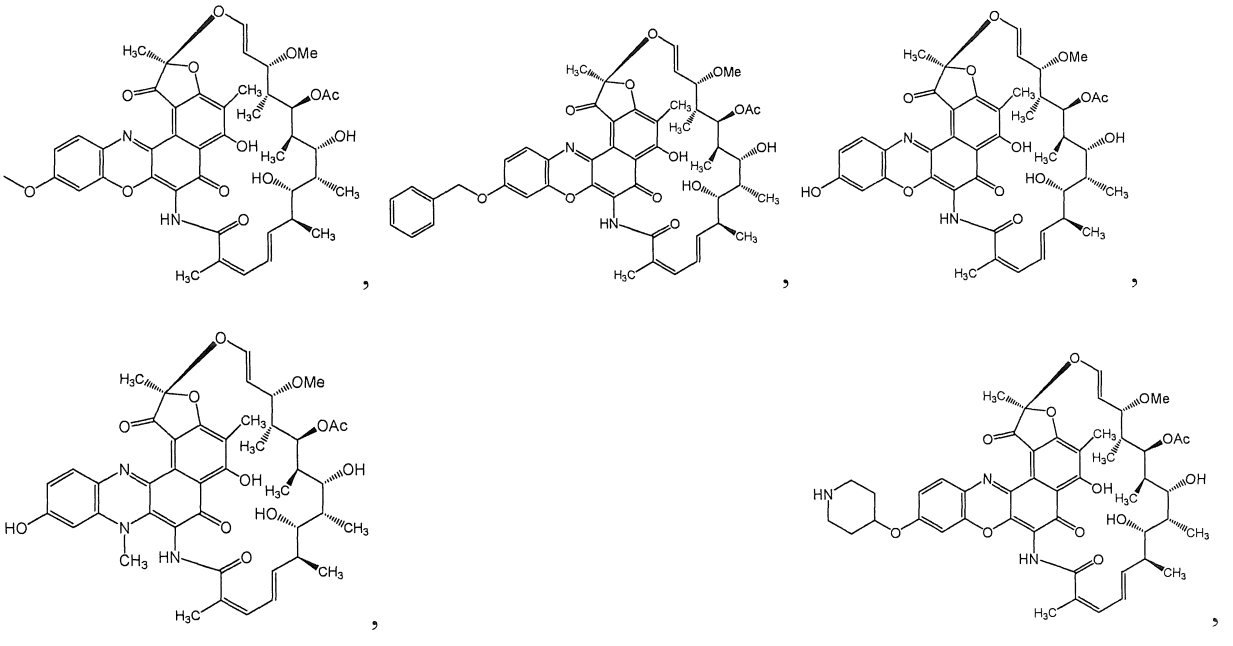


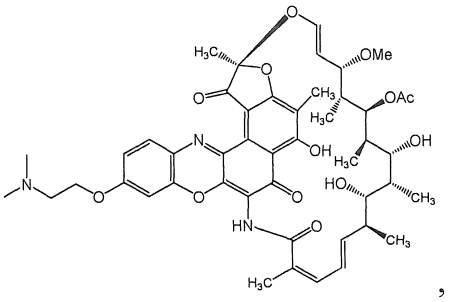


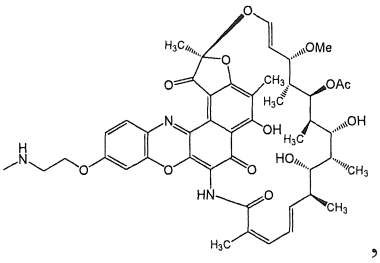
; trong đó R' là hydro, hydrocacbon béo hoặc nhóm bảo vệ, và trong đó ký hiệu 〰 dùng để chỉ điểm gắn.

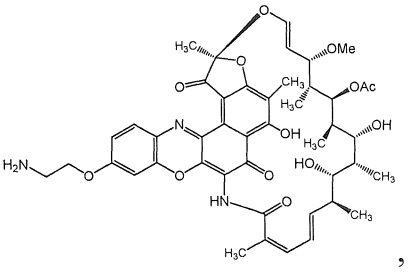
Theo một phương án, hợp chất có công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề xuất hợp chất trong đó R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, C_4-C_6 hydrocacbon thơm, và hỗn hợp của chúng, mà tùy ý bao gồm từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ O, N và hỗn hợp của chúng.

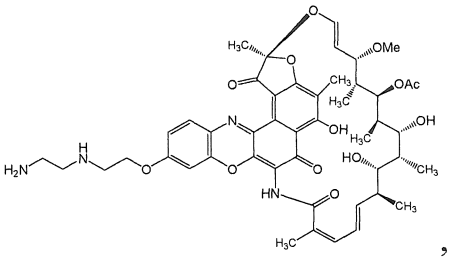
Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc được chọn từ nhóm bao gồm:

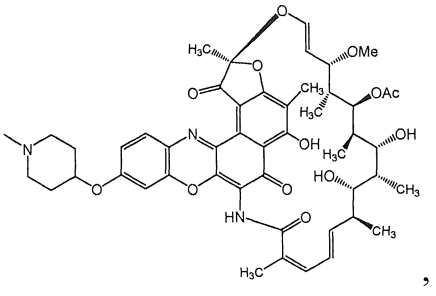


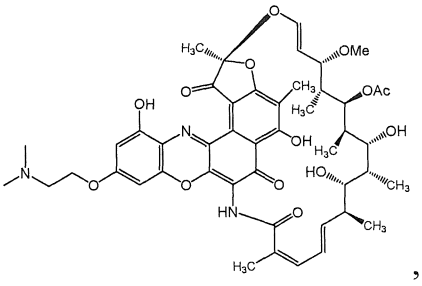

,

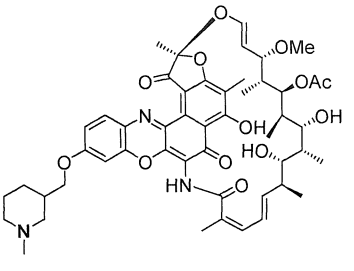

,

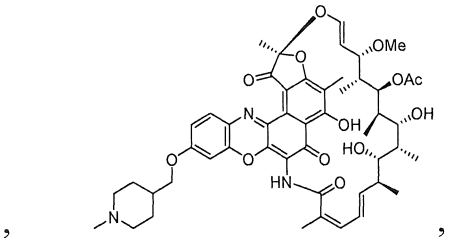

,

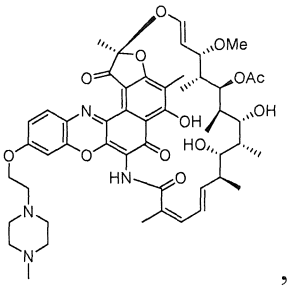

,

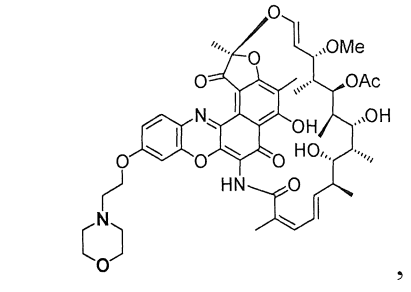

,

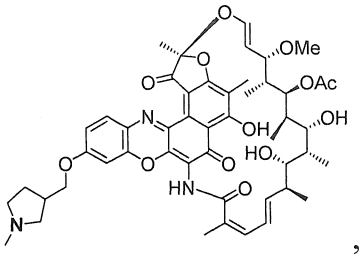
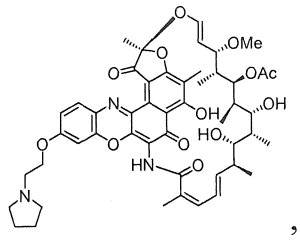
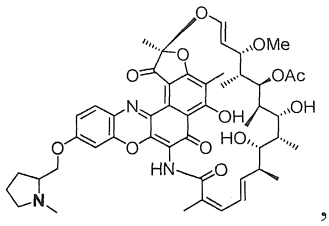
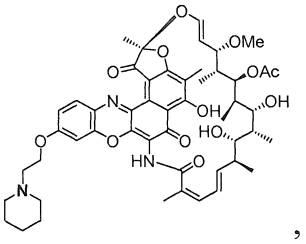
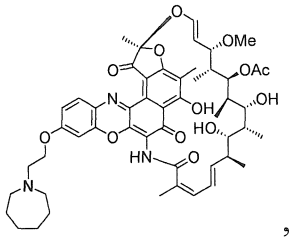
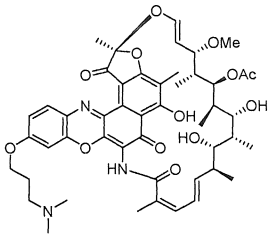
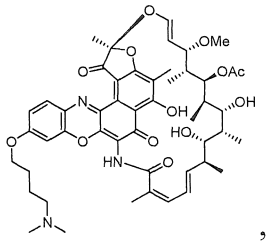
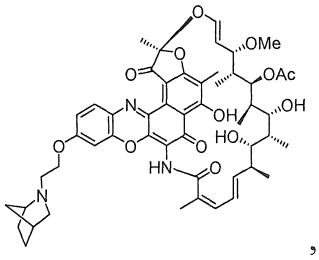
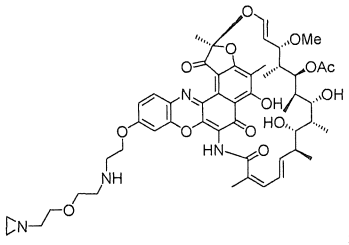
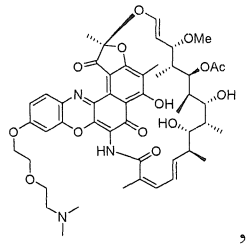
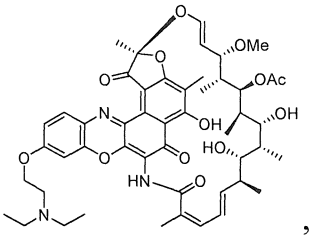
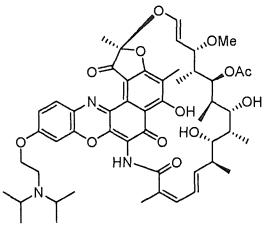
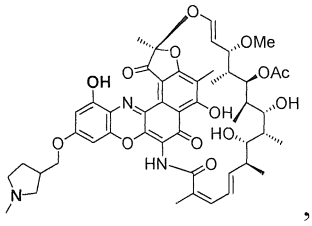
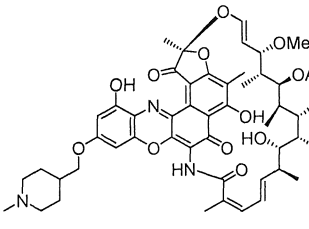
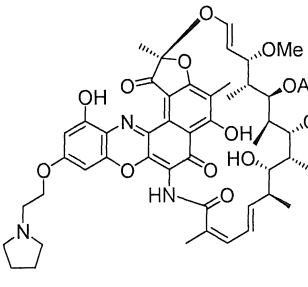
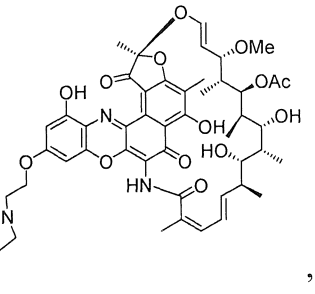
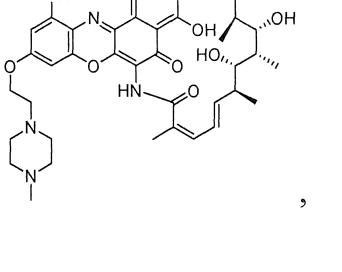
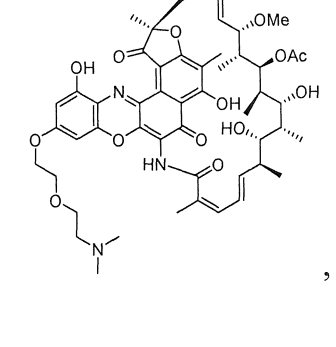
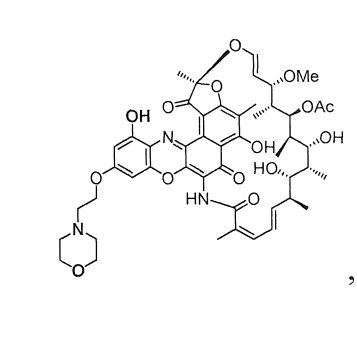

,

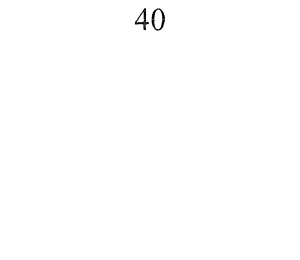

,


,

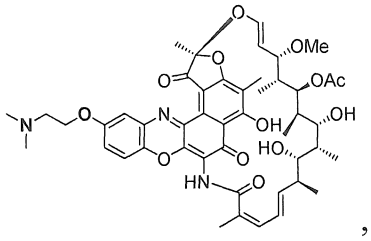

,

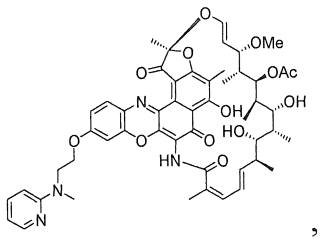

,

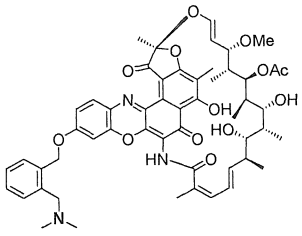

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

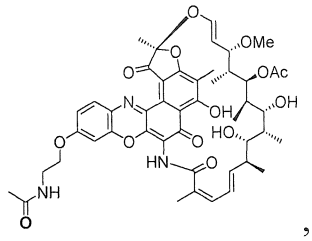
,

,

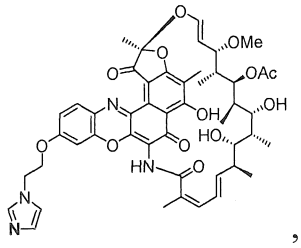
,

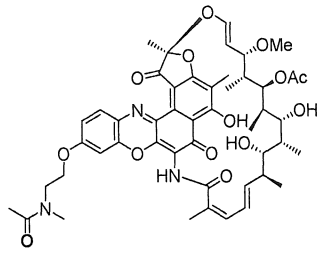

,

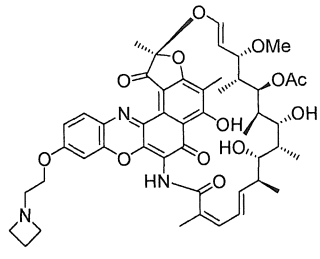

,

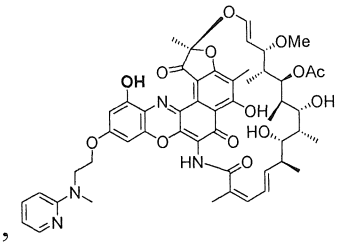

,

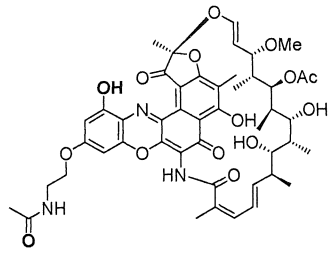

,

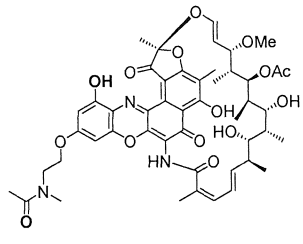

,

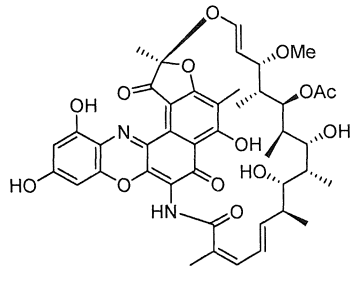

,

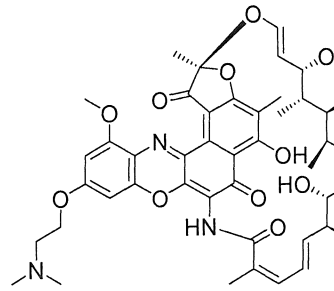

,

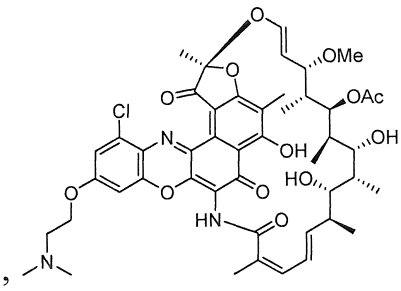

,

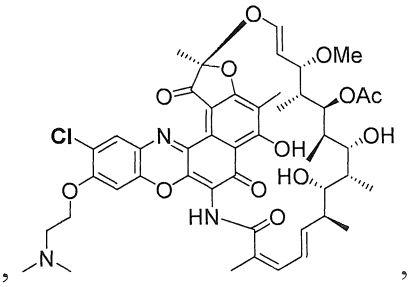

,

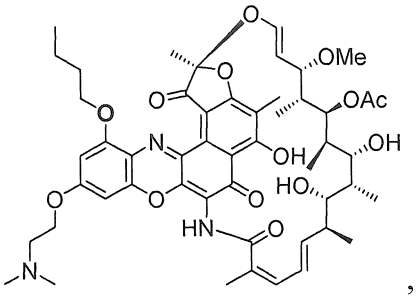
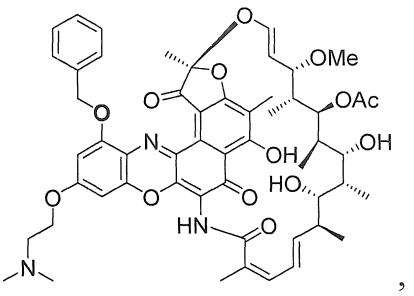
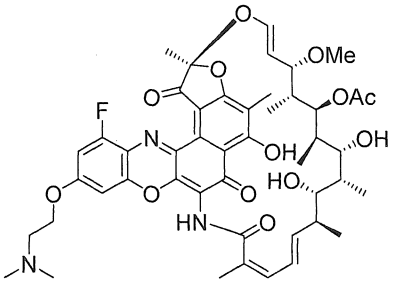
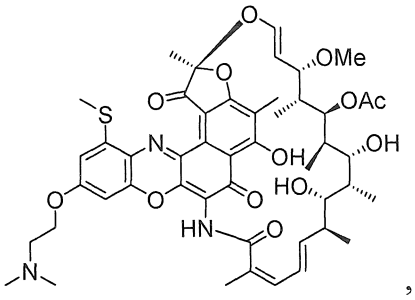
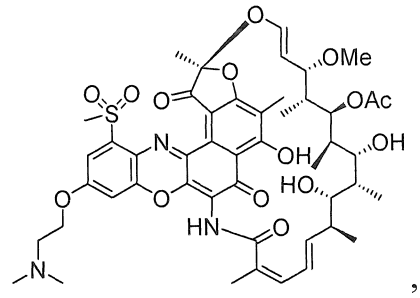
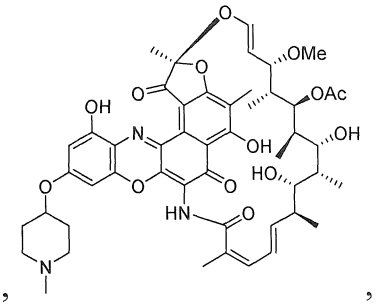
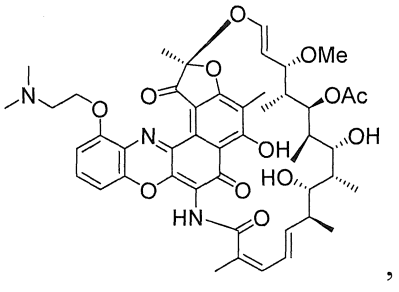
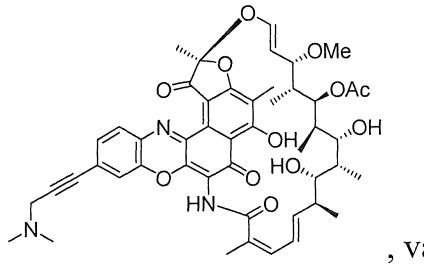
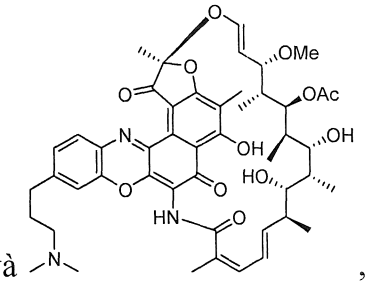

,


,


,

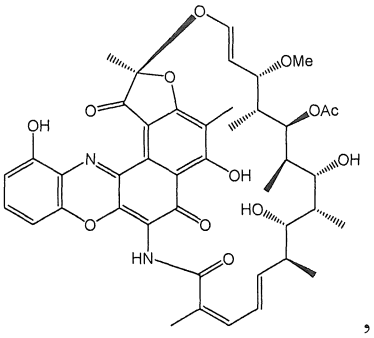
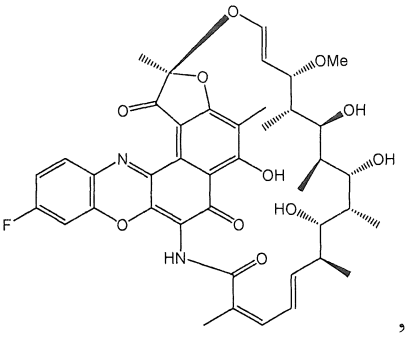
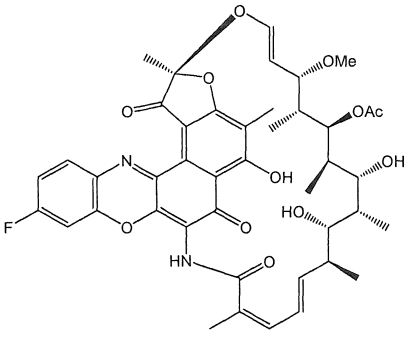

,


,


,

,


,

,

,

,

, và

,

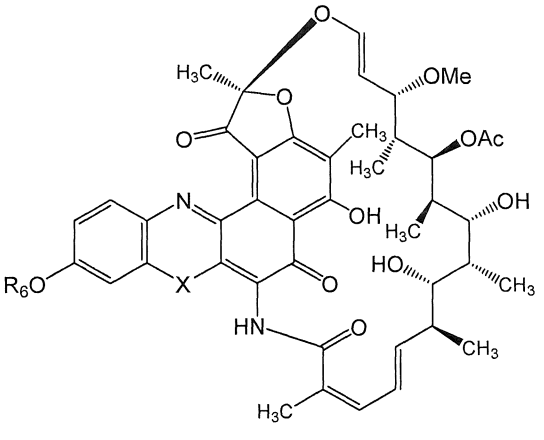
hoặc muối dược dụng của nó.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc được chọn từ nhóm bao gồm:



và


hoặc muối dược dụng của nó.

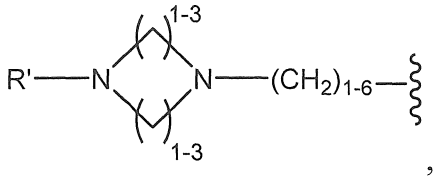
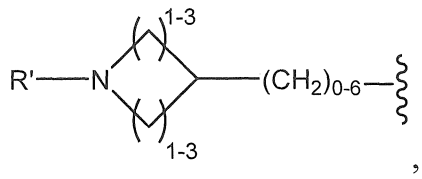
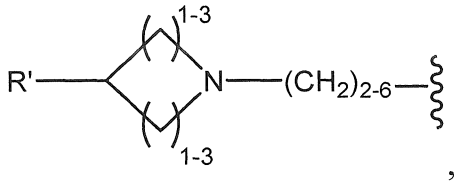
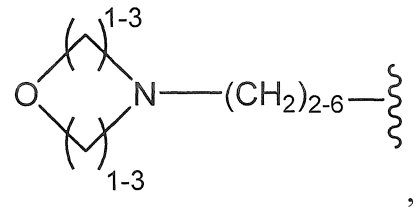
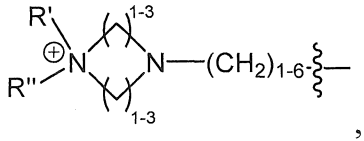
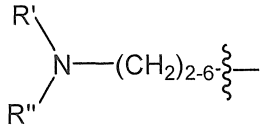
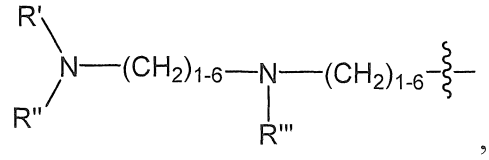
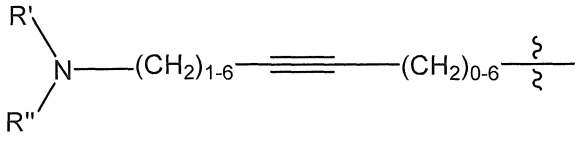
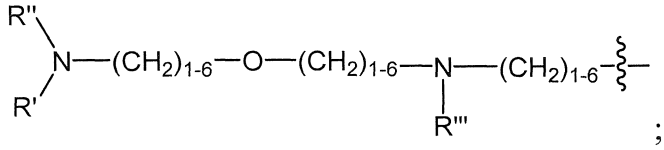
Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (V):


(V),

trong đó X được chọn từ -O- và NR*-;

R_6 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng,

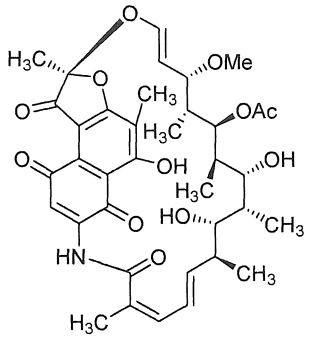
R_N được chọn từ:









và

; trong đó ký hiệu 〰 dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

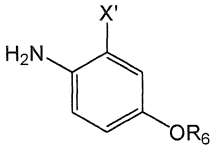
R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng,

bao gồm các bước:

(a) cho rifamyxin S có cấu trúc:



tiếp xúc với hợp chất có cấu trúc có công thức (VI):

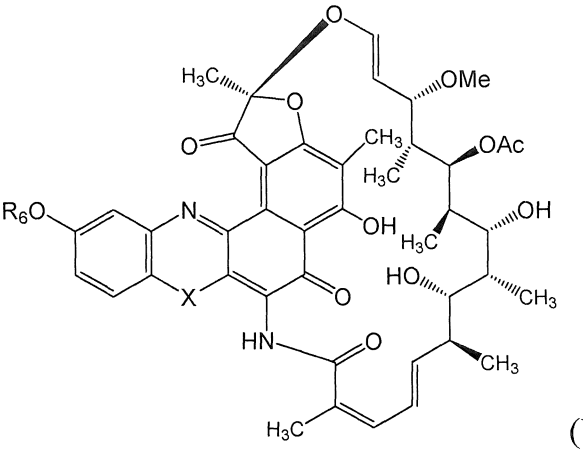


(VI),

trong đó X' được chọn từ -OH và -NHR*, và

(b) xử lý sản phẩm trong bước (a) bằng chất oxy hóa.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (V'):

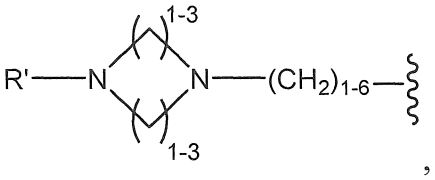
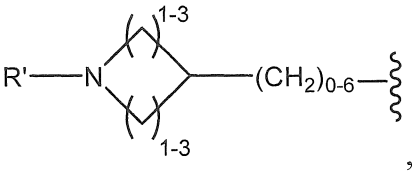
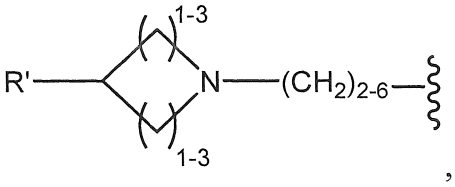
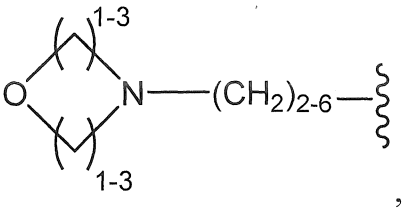
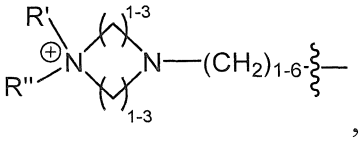
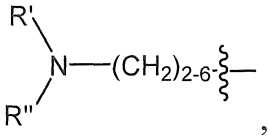
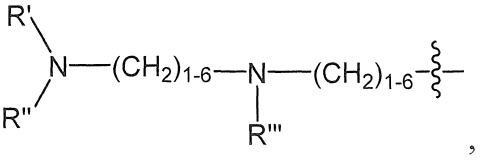
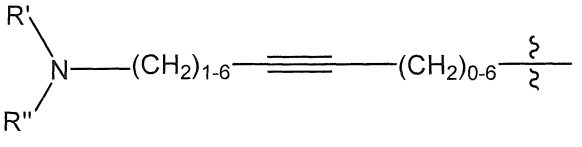
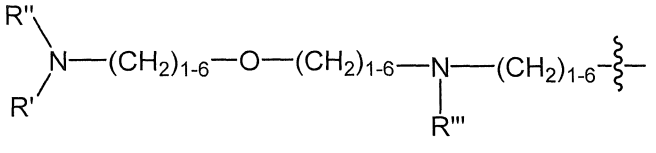


(V'),

trong đó X được chọn từ -O- và NR*-;

R_6 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng,

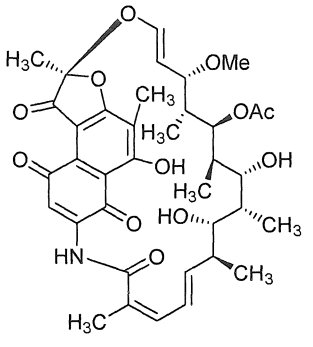
R_N được chọn từ:









và

trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R"' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

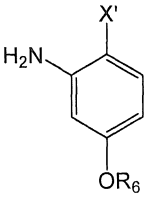
R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng,

bao gồm các bước:

(a) cho rifamyxin S có cấu trúc:



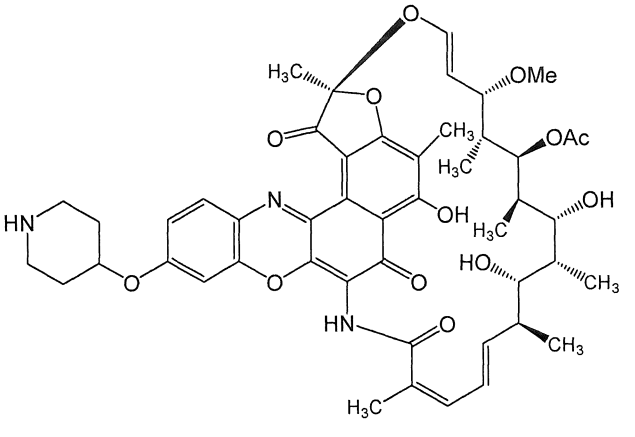
tiếp xúc với hợp chất có cấu trúc có công thức (VI'):



trong đó X' được chọn từ -OH và -NHR*, và

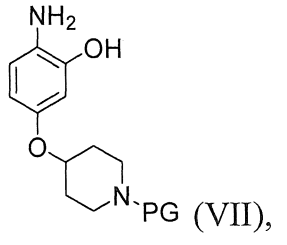
(b) xử lý sản phẩm trong bước (a) bằng chất oxy hóa.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất hợp chất có cấu trúc:



bao gồm các bước:

(a) cho rifamyxin S tiếp xúc với hợp chất có cấu trúc có công thức (VII):

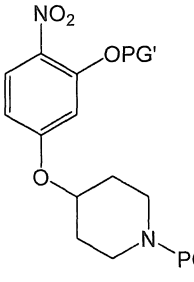


trong đó PG là nhóm bảo vệ;

(b) xử lý sản phẩm trong bước (a) bằng chất oxy hóa, và

(c) loại bỏ nhóm bảo vệ PG.

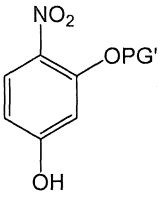
Theo một phương án, hợp chất có công thức (VII) được điều chế bằng cách loại bỏ nhóm bảo vệ PG' khỏi hợp chất có công thức (VIII):



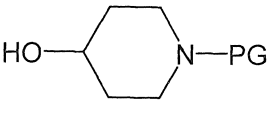
(VIII),

trong đó nhóm bảo vệ PG và PG' có thể giống nhau hoặc khác nhau.

Theo một phương án, hợp chất có công thức (VIII) được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (IX):



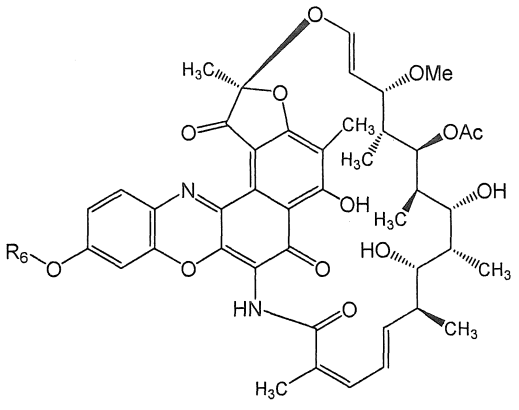
(IX) tiếp xúc với hợp chất có công thức (X):



(X),

trong đó nhóm bảo vệ PG và PG' có thể giống nhau hoặc khác nhau.

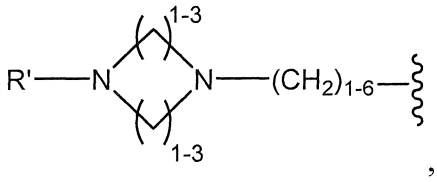
Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất hợp chất có cấu trúc có công thức (XI):



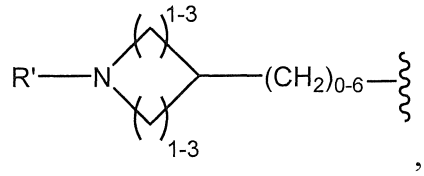
(XI)

trong đó R_6 được chọn từ R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng và trong đó R_6 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F-Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, $-NO_2$, $-NO_3$, -O-NO, $-N_3$, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, $-O-N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, $-(C=O)-NH_2$, $-(C=O)-N(R^*)_2$, $-(C=O)-NHNH_2$, $-O-(C=O)-NHNH_2$, $-(C=S)-NH_2$, $-(C=S)-N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, $-SO_2R^*$, $-SO_2-N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, $-Si(R^*)_3$, $-CF_3$, $-O-CF_3$ và hỗn hợp của chúng;

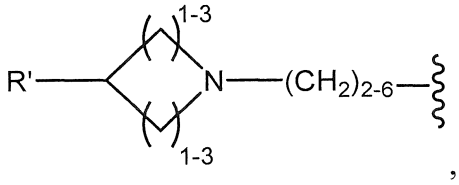
R_N được chọn từ:



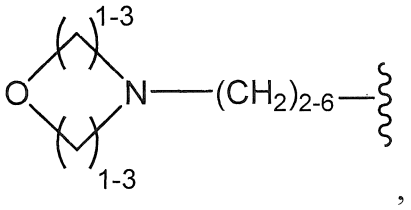
,



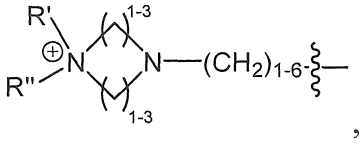
,



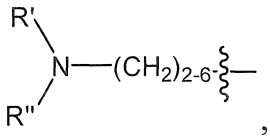
,



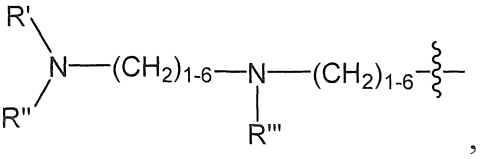
,



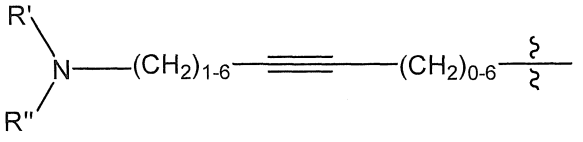
,



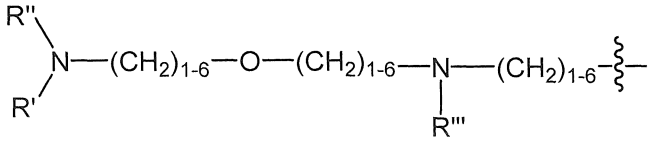
,



,

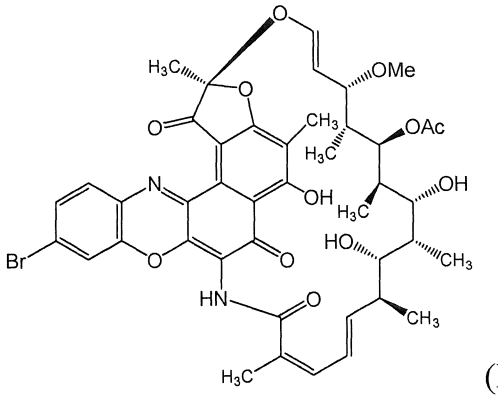


và



trong đó ký hiệu 〰 dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

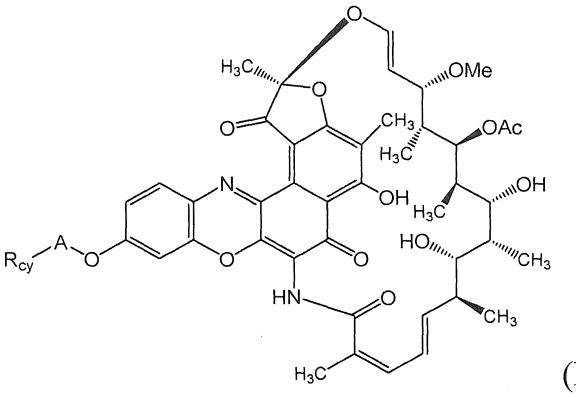
R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng, bao gồm bước cho hợp chất có cấu trúc có công thức (XII):



(XII)

tiếp xúc với rượu có cấu trúc R_6-OH.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất hợp chất có cấu trúc có công thức (XIII):



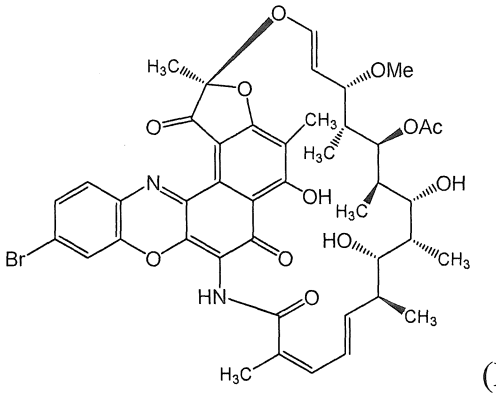
(XIII)

trong đó A được chọn từ liên kết (A không có mặt) hoặc C_1-C_{20} hydrocacbon béo;

R_{cy} là C_3-C_{14} xyclohydrocacbon béo mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng và trong đó R_{cy} tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -N(R*)$_2$, -N(R*)$_3^+$, -N(R*)-OH, -O-N(R*)$_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, -(C=O)-NH_2, -(C=O)-N(R*)$_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-N(R*)$_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R*, -SO_2-N(R*)$_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -Si(R*)$_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng;

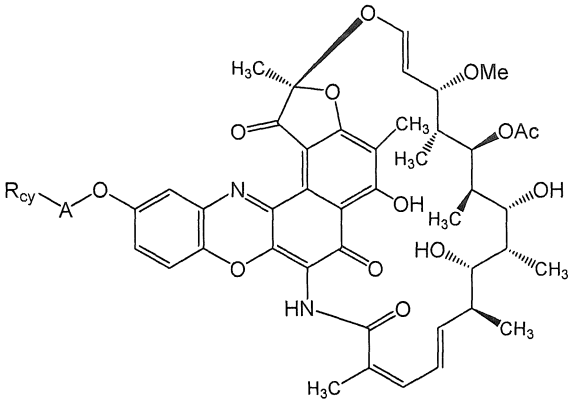
bao gồm bước cho hợp chất có cấu trúc có công thức (XII):



(XII)

tiếp xúc với rượu có cấu trúc R_{cy}-A-OH.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất hợp chất có cấu trúc có công thức (XIII'):



(XIII')

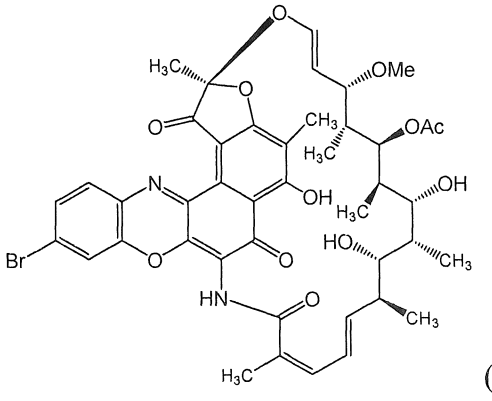
trong đó A được chọn từ liên kết (A không có mặt) hoặc C_1-C_{20} hydrocacbon béo;

R_{cy} là C_3-C_{14} xyclohydrocacbon béo mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng và trong đó R_{cy} tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, -O-$N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, -(C=O)-NH_2, -(C=O)-$N(R^*)_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-$N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R^*, -SO_2-$N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -$Si(R^*)_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn

hợp của chúng; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng;

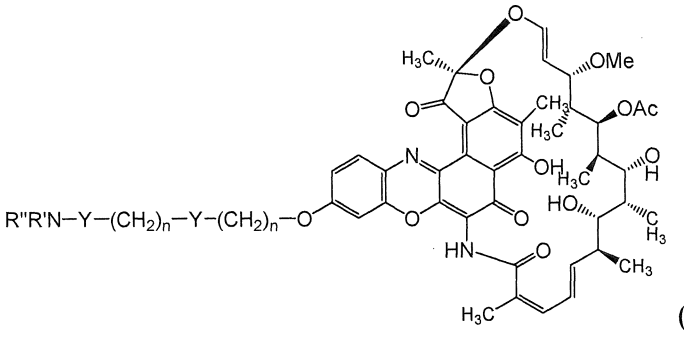
bao gồm bước cho hợp chất có cấu trúc có công thức (XII):



(XII)

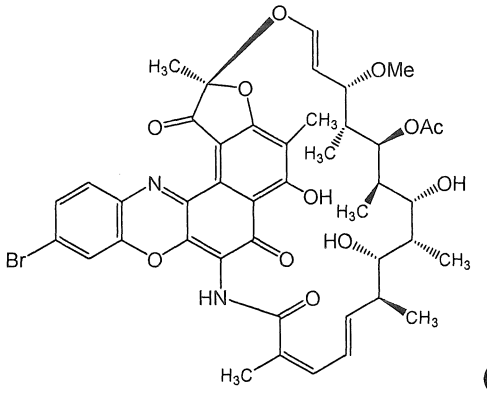
tiếp xúc với rượu có cấu trúc R_{cy}-A-OH.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất hợp chất có cấu trúc có công thức (XIV):



(XIV),

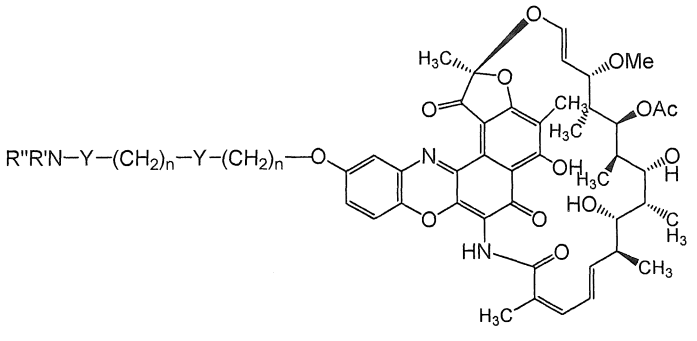
trong đó Y mỗi khi có mặt được chọn từ -O- và -NR'R''-; n mỗi khi có mặt độc lập là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 6, và mỗi trong số R', R'', và R''' độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo; trong đó phương pháp này bao gồm bước cho hợp chất có cấu trúc có công thức (XII):



(XII)

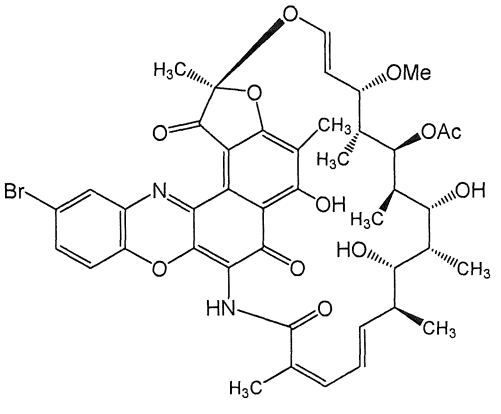
tiếp xúc với rượu có cấu trúc $R''R'N-Y-(CH_2)_n-Y-(CH_2)_n-OH$.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất hợp chất có cấu trúc có công thức (XIV'):



(XIV'),

trong đó Y mỗi khi có mặt được chọn từ -O- và -NR'R"-; n mỗi khi có mặt độc lập là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 6, và mỗi trong số R', R'', và R''' độc lập được chọn từ hydro và C_1-C_{20} hydrocacbon béo; trong đó phương pháp này bao gồm bước cho hợp chất có cấu trúc có công thức (XII'):



(XII')

tiếp xúc với rượu có cấu trúc $R''R'N-Y-(CH_2)_n-Y-(CH_2)_n-OH$.

Theo một phương án, hợp chất có công thức (XII) được điều chế bằng cách cho rifamyxin S tiếp xúc với 2-amino-5-bromophenol, và xử lý sản phẩm bằng chất oxy hóa.

Theo một phương án, hợp chất có công thức (XII') được điều chế bằng cách cho rifamyxin S tiếp xúc với 2-amino-4-bromophenol, và xử lý sản phẩm này bằng chất oxy hóa.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa một hoặc nhiều hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất như được mô tả ở trên, hoặc muối dược dụng của nó, và chất mang dược dụng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dạng liều lượng dược chứa một hoặc nhiều hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất như được mô tả ở trên, hoặc muối dược dụng của nó, hoặc dược phẩm như được mô tả ở trên.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa hoặc ức chế sự phát triển của vi khuẩn bao gồm bước dùng một lượng hữu hiệu của hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc theo công thức bất kỳ trong số các công thức (A), (B), (I), (I'), (II), (II'), (III), (III'), (IV), (IV'), (V), (V') như được đề xuất trong bản mô tả.

Theo một phương án, vi khuẩn là vi khuẩn gram dương.

Theo một phương án, vi khuẩn là vi khuẩn kháng penixilin.

Theo một phương án, vi khuẩn là *Staphylococcus aureus*.

Theo một phương án, vi khuẩn là *Staphylococcus aureus* kháng methixilin (MRSA).

Theo một phương án, vi khuẩn là *Staphylococcus aureus* kháng vancomyxin (VRSA).

Theo một phương án, vi khuẩn là *Staphylococcus aureus* nhạy methixilin (MSSA).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh nhiễm

khuẩn ở đối tượng cần điều trị bao gồm bước cho đối tượng này dùng một lượng hữu hiệu của hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc theo công thức bất kỳ trong số các công thức (A), (B), (I), (I'), (II), (II'), (III), (III'), (IV), (IV'), (V), (V') như được đề xuất trong bản mô tả.

Theo một phương án, bệnh nhiễm khuẩn là bệnh nhiễm khuẩn gram dương.

Theo một phương án, bệnh nhiễm khuẩn là bệnh nhiễm khuẩn kháng penixilin.

Theo một phương án, bệnh nhiễm khuẩn là bệnh nhiễm *Staphylococcus aureus*.

Theo một phương án, bệnh nhiễm khuẩn là bệnh nhiễm *Staphylococcus aureus* (MRSA) kháng methixilin.

Theo một phương án, bệnh nhiễm khuẩn là bệnh nhiễm *Staphylococcus aureus* (VRSA) kháng vancomyxin.

Theo một phương án, trong đó bệnh nhiễm khuẩn là bệnh nhiễm *Staphylococcus aureus* (MSSA) nhạy methixilin.

Theo một phương án, bệnh nhiễm khuẩn là bệnh nhiễm khuẩn nội bào.

Theo một phương án, đối tượng là người.

Theo một phương án, phương pháp này còn bao gồm bước dùng chất trị liệu thứ hai.

Theo một phương án, chất trị liệu thứ hai là kháng sinh thứ hai.

Theo một phương án, kháng sinh thứ hai có hiệu quả chống lại *Staphylococcus aureus*.

Theo một phương án, kháng sinh thứ hai được chọn từ aminoglycosit, beta-lactam, macrolit, peptit vòng, tetraxyclin, floquinolin, floquinolon, và oxazolidinon.

Theo một phương án, kháng sinh thứ hai được chọn từ clindamyxin, novobioxin, retapamulin, daptomyxin, sitafloxaxin, teicoplanin, triclosan, naptyridon, radezolid, doxorubixin, ampixilin, vancomyxin, imipenem, doripenem, gemxitabin, dalbavanxin,

và azithromyxin.

Theo một phương án, hợp chất này được dùng cho đối tượng qua đường miệng, khu trú, trong mũi, trong tĩnh mạch, trong cơ, hoặc dưới da.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa các kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể, và còn chứa chất tương tự rifamyxin. Theo một số phương án của thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể, gắn kết với đích liên quan đến bệnh lây nhiễm. Các đích liên quan đến bệnh lây nhiễm hữu ích trong sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, thụ thể scavenger 1 của đại thực bào (MSR1), axit teichoic trong vách (WTA), kháng nguyên *S. aureus* như Protein A, IsdA, IsdB, IsdC, IsdE, IsdH, ClfA, ClfB, CP5, CP8, SdrC, SdrD, SdrE, FnBpA, FnBpB, Cna, polysacarit poly-N-axetytlglucosamin (PNAG), và SasG.

Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể gắn kết với MSR1. Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể gắn kết với WTA. Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể gắn kết với Protein A.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa các kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể, mà gắn kết thụ thể glycoprotein màng được biết đến là MSR1, và còn chứa chất tương tự rifamyxin. Các kháng thể này hữu ích, không kể các kháng thể khác, trong việc hướng đích các tế bào biểu hiện MSR1, như đại thực bào.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa các kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể, mà gắn kết axit teichoic trong vách (WTA), và còn chứa chất tương tự rifamyxin.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa các kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể, mà gắn kết Protein A, và còn chứa chất tương tự rifamyxin.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể người tái tổ hợp hoặc mảnh của nó, còn chứa chất tương tự rifamyxin, và chất mang dược dụng. Theo một số phương án, kháng thể người tái tổ hợp hoặc mảnh của nó gắn kết đặc hiệu đích liên quan đến bệnh lây nhiễm. Theo một số phương án, kháng thể người tái tổ hợp hoặc mảnh của nó gắn kết đặc hiệu MSR1, WTA hoặc Protein A. Theo một khía cạnh liên quan, các phương án đề xuất chế phẩm mà là tổ hợp của thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể được mô tả ở đây và còn chứa chất tương tự rifamyxin, và chất trị liệu thứ hai. Theo một phương án, chất trị liệu thứ hai là chất bất kỳ kết hợp thuận lợi được với thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể được mô tả ở đây. Theo một phương án, chất trị liệu thứ hai là thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể được mô tả ở đây được liên hợp với thuốc thứ hai hoặc chất trị liệu. Các liệu pháp kết hợp lấy làm ví dụ, dạng đồng phối trộn, và ADC chứa kháng thể được bộc lộ trong bản mô tả này.

Sáng chế còn đề xuất tác nhân liên kết-tải lượng phản ứng chứa chất tương tự rifamyxin, ví dụ, hợp chất có cấu trúc theo phương án bất kỳ của các công thức (A), (B), (I), (I'), (II), (II'), (III), (III'), (IV), (IV'), (V), (V'), (B-1), (B-2) như được đề xuất trong bản mô tả, hữu ích để tạo ra thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể. Sáng chế còn đề xuất kháng thể được cải biến và mảnh gắn kết kháng nguyên được cải biến hữu ích để tạo ra thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa chất tương tự rifamyxin. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó gắn kết đặc hiệu đích liên quan đến bệnh lây nhiễm. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó gắn kết đặc hiệu MSR1, WTA hoặc Protein A.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp ngăn ngừa hoặc ức chế sự phát triển của vi khuẩn bao gồm bước dùng một lượng hữu hiệu của thể liên hợp kháng thể-thuốc (ADC) chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó và chất tương tự rifamyxin. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó gắn kết đặc hiệu đích liên quan đến bệnh lây nhiễm. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó gắn kết đặc hiệu MSR1, WTA hoặc Protein A.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp trị liệu bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu của ADC chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó và chất tương tự rifamyxin. Phương pháp trị liệu này bao gồm bước cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu điều trị bệnh của dược phẩm chứa ADC chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó và chất tương tự rifamyxin. Rối loạn được điều trị là bệnh hoặc tình trạng bệnh lý bất kỳ được cải thiện, được làm tốt lên, được ức chế hoặc được ngăn ngừa bằng cách hướng đích đích liên quan đến bệnh lây nhiễm và/hoặc bằng cách dùng chất kháng sinh. Theo một số phương án, bệnh hoặc tình trạng bệnh lý là bệnh tăng sinh, bệnh chuyển hóa, bệnh viêm, bệnh thoái hóa thần kinh, hoặc bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh lý liên quan đến sự truyền tín hiệu thụ thể glucocorticoit. Theo một số phương án trong số các phương án này, các tác dụng phụ liên quan đến việc dùng chất tương tự rifamyxin không được liên hợp được làm giảm. Sáng chế đề xuất việc sử dụng kháng thể, phần gắn kết kháng nguyên của nó, hoặc ADC chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được mô tả ở đây, để điều trị bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý bất kỳ được mô tả ở đây. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó gắn kết đặc hiệu đích liên quan đến bệnh lây nhiễm. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó gắn kết đặc hiệu MSR1, WTA hoặc Protein A.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp trị liệu để điều trị, làm suy giảm, hoặc làm tốt lên bệnh hoặc rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý liên quan đến lây nhiễm Staphylococcal, ví dụ, lây nhiễm *S. aureus* và/hoặc để làm tốt lên ít nhất một triệu chứng liên quan đến bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý đó, bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị dùng chất tương tự rifamyxin hoặc ADC chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó và chất tương tự rifamyxin. Bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý như vậy có thể là viêm tế bào, nhiễm trùng huyết, hoại tử da, nhiễm trùng mi mắt, nhiễm trùng mắt, viêm kết mạc sơ sinh, viêm tủy xương, chốc lở, nhọt, hội chứng da tróc vảy, ngộ độc thức ăn, viêm phổi, nhiễm trùng do phẫu thuật, nhiễm trùng đường niệu, bỏng nhiễm khuẩn, viêm màng não, viêm nội mạc tim, nhiễm khuẩn máu, hội chứng sốc độc, hoặc

viêm khớp nhiễm khuẩn. Theo một số phương án, đối tượng có khớp giả và chất tương tự rifamyxin hoặc ADC chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó và chất tương tự rifamyxin được bộc lộ ở đây được sử dụng để điều trị và/hoặc ngăn ngừa sự lây lây nhiễm *S. aureus* ở mô bao quanh khớp giả. Theo một số phương án, đối tượng có ống thông và chất tương tự rifamyxin hoặc ADC chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó và chất tương tự rifamyxin được bộc lộ ở đây được sử dụng để điều trị và/hoặc ngăn ngừa sự lây nhiễm *S. aureus* ở ống thông và/hoặc mô bao quanh ống thông. Theo một số phương án, đối tượng có phần cơ thể được ghép từ ngoài, và chất tương tự rifamyxin hoặc ADC chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó và chất tương tự rifamyxin được bộc lộ ở đây được sử dụng để điều trị và/hoặc ngăn ngừa sự lây nhiễm *S. aureus* ở phần cơ thể từ ngoài và/hoặc mô bao quanh phần cơ thể từ ngoài này. Theo một số phương án, đối tượng mắc viêm vú, và kháng thể được bộc lộ ở đây hữu ích để điều trị viêm vú. Phương pháp trị liệu bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu điều trị bệnh của dược phẩm chứa chất tương tự rifamyxin hoặc ADC chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó và chất tương tự rifamyxin. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó gắn kết đặc hiệu đích liên quan đến bệnh lây nhiễm. Theo một số phương án, kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó gắn kết đặc hiệu MSR1, WTA hoặc Protein A.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất tương tự rifamyxin theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế thông qua tác nhân liên kết hoặc thông qua tác nhân liên kết-tác nhân đệm.

Theo nhiều phương án khác nhau, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn kết thụ thể scavenger 1 của đại thực bào (MSR1). Theo nhiều phương án khác nhau, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn kết axit teichoic trong vách (WTA). Theo nhiều phương án khác nhau, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn kết Protein A của *S. aureus*.

Theo một phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm: (a) vùng quyết định tính bổ thể (complementarity determining region-CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (heavy chain variable region-HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 9; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (light chain variable region-LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 9.

Theo một phương án, kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 4, 36, 52, 92, và 284;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 6, 38, 54, 94, và 286;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 8, 40, 56, 96, và 288;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 12, 44, 60, 100, và 292;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 14, 46, 62, 102, và 294; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 16, 48, 64, 104, và 296.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2A; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2A.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các

SEQ ID NO: 470, 476, 482, và 488;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 471, 477, 483, và 489;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 472, 478, 484, và 490;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 467, 473, 479, và 485;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 468, 474, 480, và 486; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 469, 475, 481, và 487.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2B; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2B.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 502, 508, 514, 520, 526, 532, 538, 544, 550, 556, 562, 568, và 574;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 503, 509, 515, 521, 527, 533, 539, 545, 551, 557, 563, 569, và 575;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 504, 510, 516, 522, 528, 534, 540, 546, 552, 558, 564, 570, 576, và 584;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 499, 505, 511, 517, 523, 529, 535, 541, 547, 553, 559, 565, và 571;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 500, 506, 512, 518, 524, 530, 536, 542, 548, 554, 560, 566, và 572; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 501, 507, 513, 519, 525, 531, 537, 543, 549, 555, 561, 567, và 573.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến V205C (đánh số theo EU) trong chuỗi nhẹ.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 3A; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 3A.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 632, 652, và 672;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 634, 654, và 674;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 636, 656, và 676;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 640, 660, và 680;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 642 và 662; và

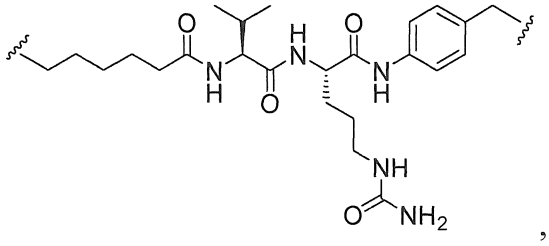
(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 644, 664, và 683.

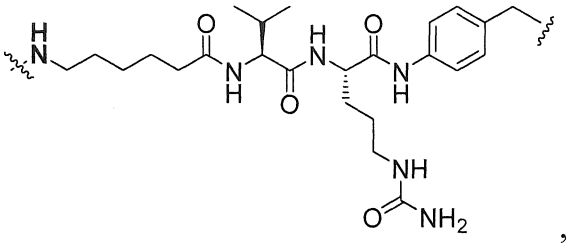
Theo một số phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến H435R và đột biến Y436F (đánh số theo EU) trong Fc chuỗi nặng.

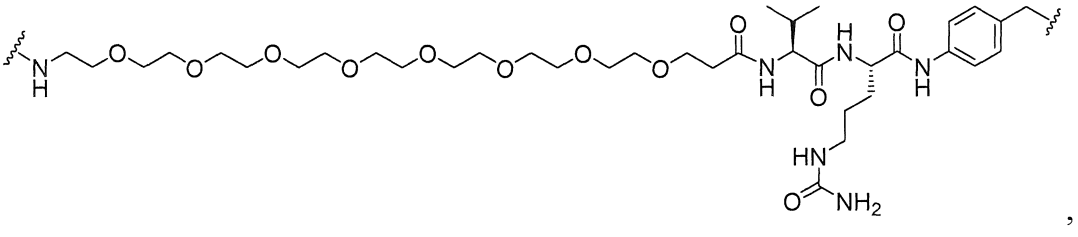
Theo nhiều phương án khác nhau, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến C103S trong chuỗi nhẹ.

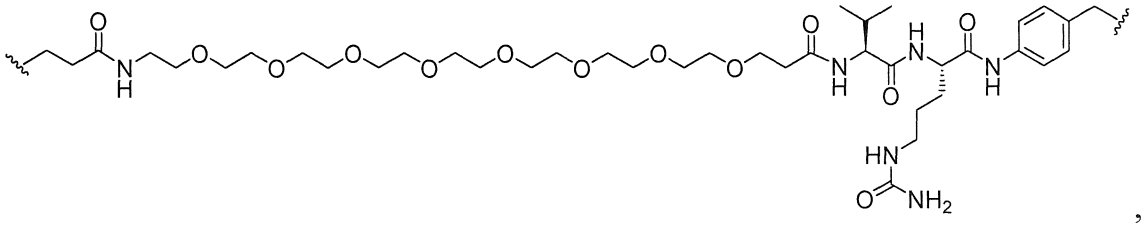
Theo nhiều phương án khác nhau, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất theo sáng chế ở vị trí 103 của chuỗi nhẹ.

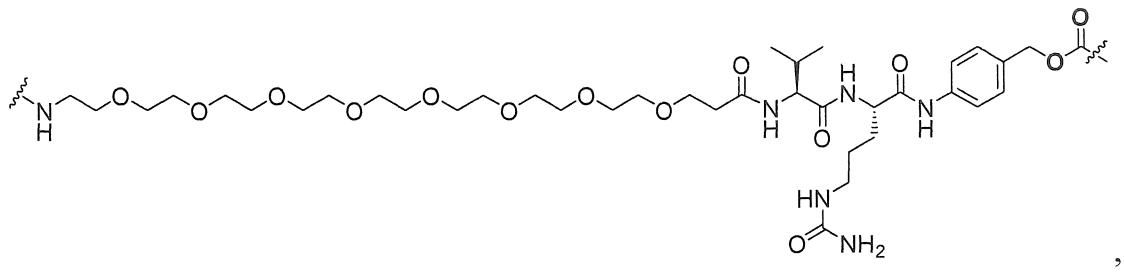
Theo một phương án, tác nhân liên kết hoặc tác nhân liên kết-tác nhân đệm được chọn từ


,

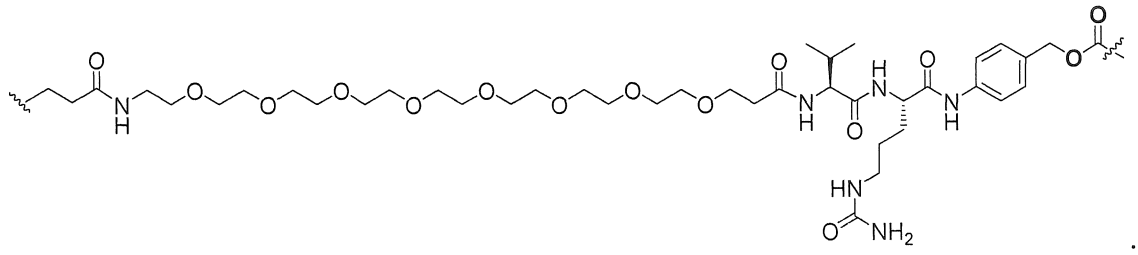

,


,


,

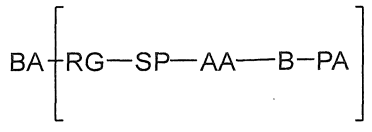


, và



.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất thể liên hợp kháng thể-thuốc có cấu trúc theo công thức (XVIII):



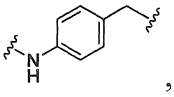
(XVIII), trong đó

BA là kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó;

RG là nhóm phản ứng được chọn từ maleimit, N-hydroxy sucxinimit, hoặc sucxinimit;

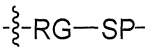
SP không có mặt hoặc là gốc nhóm đệm được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-6} alkyl, -NH-, -C(O)-, $-CH_2-CH_2-C(O)-NH-$, $-(CH)_u-C(O)-NH-$, $(-CH_2-CH_2-O)_e$, $-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$, $-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$, $-C(O)-NH-(CH_2)_v-$, $-(CH)_u-C(O)-NH-(CH_2-CH_2-O)_e-(CH)_u-C(O)-NH-$, $-(CH)_2-C(O)-NH-(CH_2-CH_2-O)_8-(CH)_2-C(O)-NH-$, và hỗn hợp của chúng, trong đó mỗi khi có mặt thì chỉ số dưới e độc lập là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 20, chỉ số dưới u là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8, và chỉ số dưới v là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8;

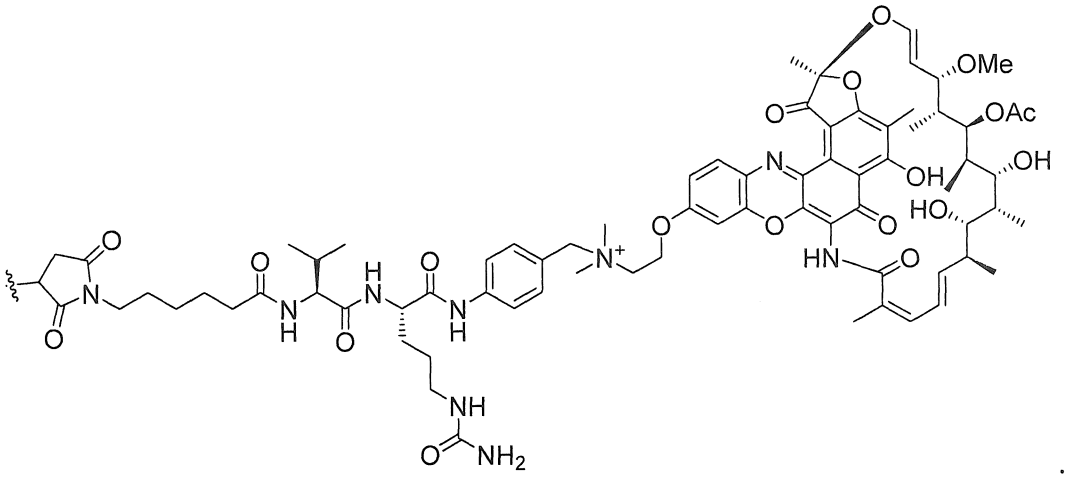
AA là tác nhân liên kết được chọn từ valin-xitrulin; xitrulin-valin; valin-alanin; alanin-valin; valin-glyxin, hoặc glyxin-valin;

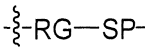
B không có mặt hoặc là  , trong đó chỉ nguyên tử mà thông qua đó B được liên kết với các nhóm liền kề trong công thức;

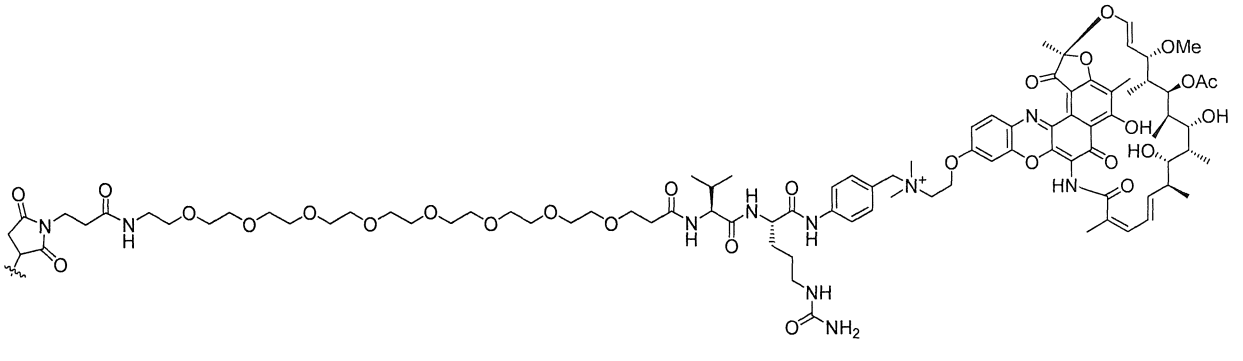
n là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 30, và

PA là chất tương tự rifamyxin theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế.

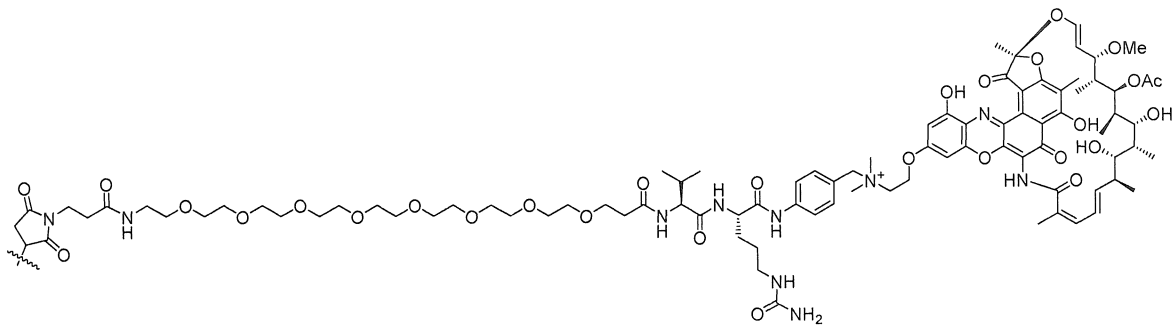
Theo một phương án,  là



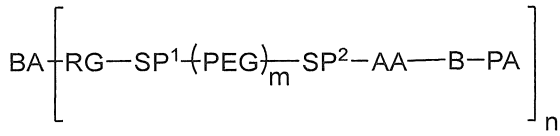
Theo một phương án,  là



Theo một phương án, là



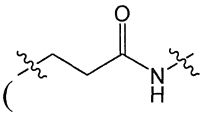
trong đó là liên kết với kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó. Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất thể liên hợp kháng thể-thuốc có cấu trúc theo công thức (XIX):



(XIX), trong đó

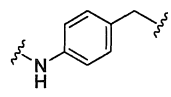
BA là kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó;

RG được chọn từ maleimit, N-hydroxy sucxinimit, hoặc sucxinimit;

SP^1 và SP^2 độc lập không có mặt hoặc là nhóm đệm được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-6} alkyl, -NH-, -C(O)-, $-CH_2-CH_2-C(O)-NH-$ (), $-(CH)_u-C(O)-NH-$, $(-CH_2-CH_2-O)_e$, $-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$, $-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$, $-C(O)-NH-(CH_2)_v-$, và hỗn hợp của chúng, trong đó chỉ số dưới e là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 4, chỉ số dưới u là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8, và chỉ số dưới v là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8;

AA là tác nhân liên kết được chọn từ valin-xitrulin; xitrulin-valin; valin-alanin; alanin-valin; valin-glyxin, hoặc glyxin-valin;

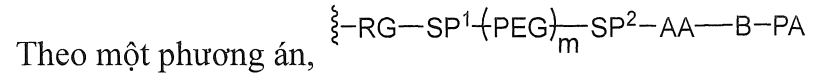
PEG là chuỗi polyetylen glycol chứa từ 1 đến 30 gốc polyetylen glycol;

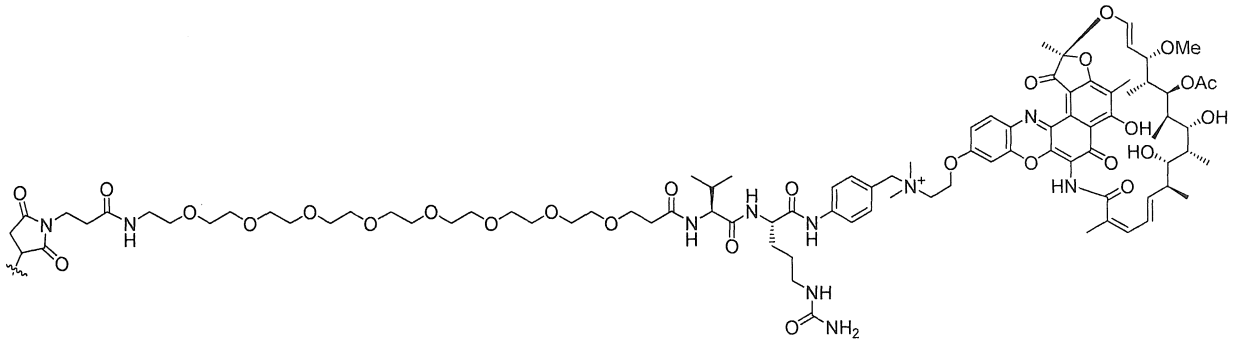
B không có mặt hoặc là  , trong đó chỉ nguyên tử mà qua đó B được liên kết với các nhóm liền kề trong công thức;

n là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 30;

m là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 20,

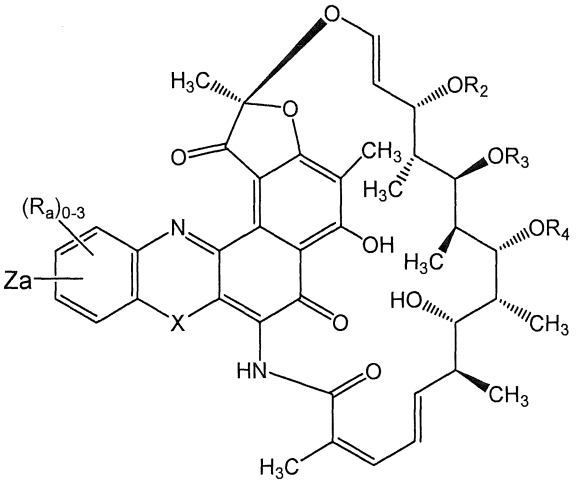
và PA là chất tương tự rifamyxin theo phương án bất kỳ trong số các phương án của sáng chế.

Theo một phương án,  là



.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp thông qua tác nhân liên kết hoặc thông qua tác nhân liên kết-tác nhân đệm với tải lượng chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (XX):



(XX),

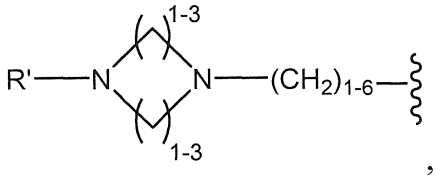
trong đó:

X được chọn từ -O-, -S-, và -NR*-;

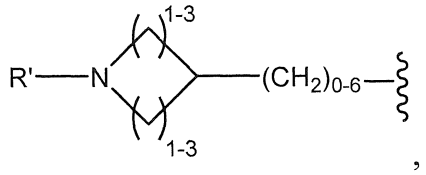
Za được chọn từ $-OR_1$ và $-R_N$;

R_1 được chọn từ liên kết; C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F; -Cl; -Br; -I; -OH, -OR*; -NO; $-NO_2$; $-NO_3$; -O-NO; $-N_3$; $-NH_2$; -NHR*; $-N(R^*)_2$; $-N(R^*)_3^+$; -N(R*)-OH; $-O-N(R^*)_2$; -N(R*)-O-R*; -CN; -NC; -(C=O)-R*; -CHO; $-CO_2H$; $-CO_2R^*$; -(C=O)-S-R*; -O-(C=O)-H; -O-(C=O)-R*; -S-(C=O)-R*; $-(C=O)-NH_2$; $-(C=O)-N(R^*)_2$; $-(C=O)-NHNH_2$; $-O-(C=O)-NHNH_2$; $-(C=S)-NH_2$; $-(C=S)-N(R^*)_2$; -N(R*)-CHO; -N(R*)-(C=O)-R*; -SCN; -NCS; -NSO; -SSR*; $-SO_2R^*$; $-SO_2-N(R^*)_2$; -S(=O)-OR*; -S(=O)-R*; $-Si(R^*)_3$; $-CF_3$; $-O-CF_3$ và hỗn hợp của chúng;

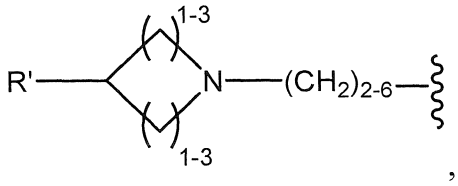
R_N được chọn từ:



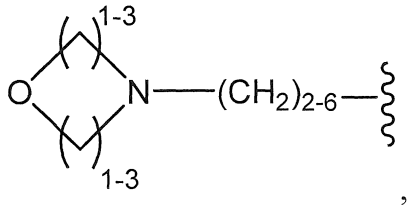
,



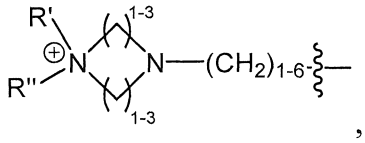
,



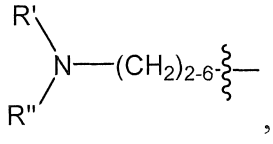
,



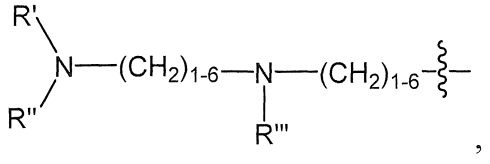
,



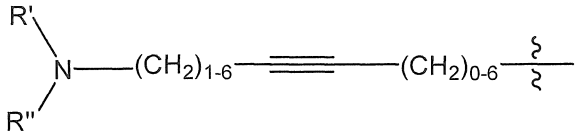
,



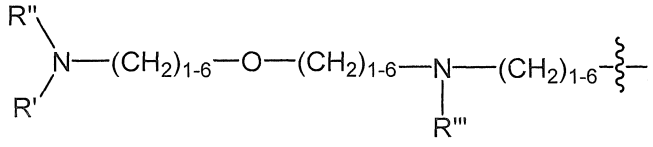
,



,



và



trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

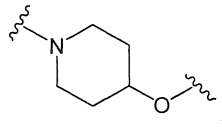
R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon mạch thẳng, phân nhánh hoặc vòng béo, hoặc -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

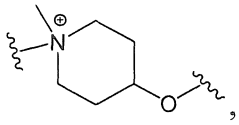
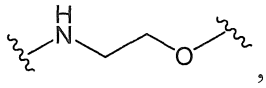
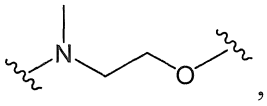
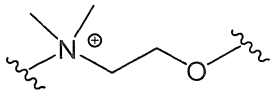
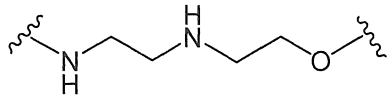
R_a mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -SR*, $-SO_2R^*$, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

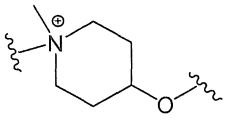
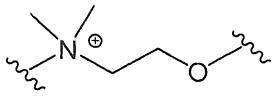
R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng, và

trong đó nhóm Za được liên kết với tác nhân liên kết.

Cần hiểu rằng nhóm R_1 là liên kết (tức là, R_1 không có mặt), hoặc nhóm hóa trị hai, tức là R_1 có khả năng liên kết với -O- của chất tương tự rifamyxin cũng như với tác nhân liên kết.

Theo một phương án, $-OR_1$ là –O– (tức là, R_1 không có mặt),  ,

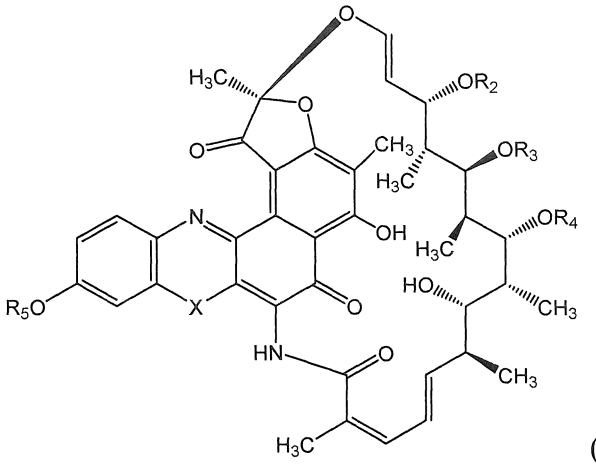
 ,  ,  ,  , hoặc  .

Theo một phương án, X là -O-, và -OR_1 bao gồm amin bậc ba. Theo một số phương án trong số các phương án này, -OR_1 là  hoặc  .

Theo một số phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa tải lượng tác nhân liên kết-chất tương tự rifamyxin chứa muối amoni có một hoặc nhiều đối ion. Bất kỳ đối ion dược dụng nào cũng có thể thích hợp. Ví dụ, theo một phương án theo sáng chế, đối ion thích hợp có thể là anion được chọn từ F^-, Cl^-, Br^-, I^-, OH^-, $^-BF_4$, $CF_3SO_3^-$, monobazơ sulfat, dibazơ sulfat, monobazơ phosphat, dibazơ phosphat, hoặc tribazơ phosphat, NO_3^-, PF_6^-, NO_2^-, carboxylat, $C_eF_fSO_3^-$, (trong đó e=2-10 và f=2e+1), axetat, aspartat, benzensulfonat, benzoat, besylat, bicarbonat, bitartrat, camsylat, carbonat, xitrat, decanoat, edetat, esylat, fumarat, gluxeptat, gluconat, glutamat, glycolat, glycollyalarsanilat, hexanoat, hydrabamin, hydroxynaphtoat, isthionat, lactat, lactobionat, malat, maleat, mandelat, mesylat, metylbromua, metylnitrat, mucat, napsylat, octanoat, oleat, pamoat, pantothenat, polygalacturonat, propionat, salixylat, stearat, subaxetat, sucxinat, tartrat, teoclat, tosylat, hoặc triethiiodit.

Theo một số phương án, R_a không có mặt. Theo một số phương án, R_a là -OH và có mặt trong một lần xuất hiện.

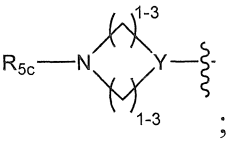
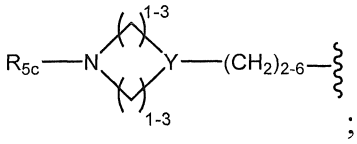
Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp thông qua tác nhân liên kết hoặc thông qua tác nhân liên kết-tác nhân đệm với chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (XXI)



(XXI),

trong đó:

X được chọn từ -O-, -S-, và -NR*-;

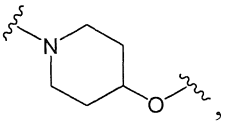
R_5 được chọn từ liên kết; C_1-C_{20} hydrocacbon béo mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;  ; hoặc  ; trong đó Y là C hoặc N;

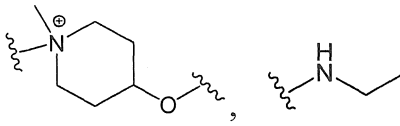
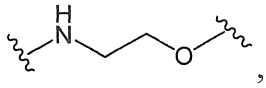
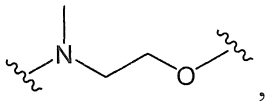
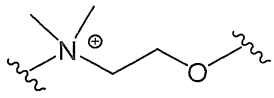
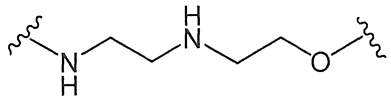
R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon mạch thẳng, phân nhánh hoặc vòng béo, hoặc -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và

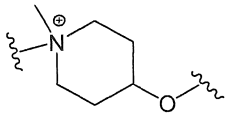
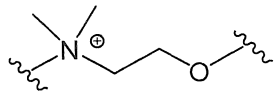
R_{5c} là liên kết hoặc C_1-C_8 hydrocacbon béo,

trong đó nhóm R_5 được liên kết với tác nhân liên kết.

Cần hiểu rằng nhóm R_5 là liên kết (tức là, R_5 không có mặt), hoặc nhóm hóa trị hai, tức là R_5 có khả năng liên kết với -O- của rifamyxin cũng như với tác nhân liên kết.

Theo một phương án, -OR_5 là –O– (tức là, R_5 không có mặt),  ,

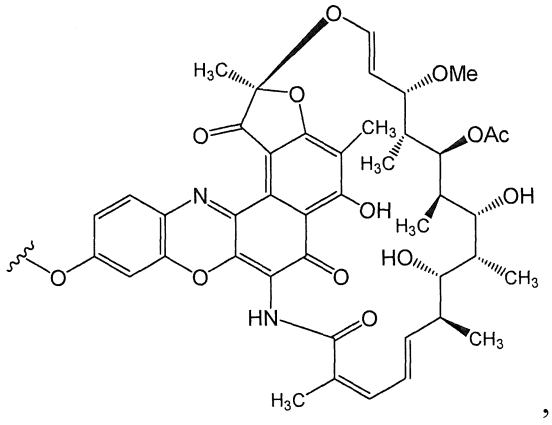
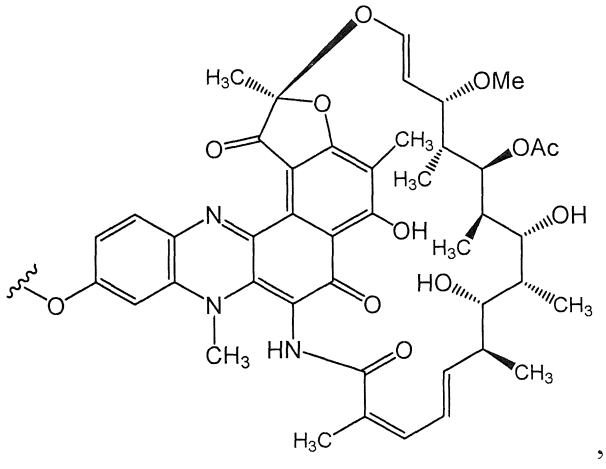
 ,  ,  ,  , hoặc  .

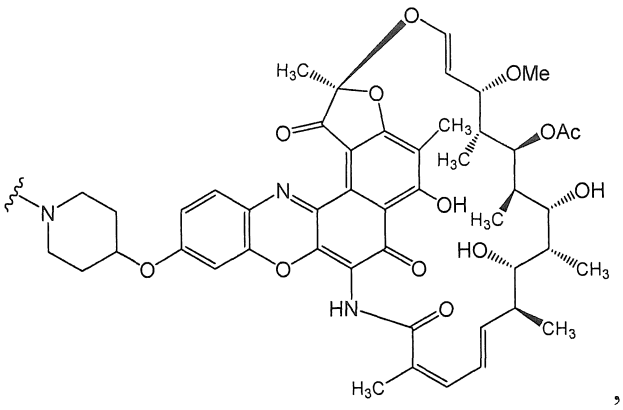
Theo một phương án, X là O, và -OR_5 bao gồm amin bậc ba. Theo một số phương án trong số các phương án này, -OR_5 là  hoặc  .

Theo một phương án trong số các phương án nêu trên, R_2 là metyl, etyl, propyl hoặc isopropyl; R_3 là nhóm CH_3-(C=O)- (axetyl), CH_3CH_2-(C=O)-, $CH_3CH_2CH_2$-(C=O)-, hoặc $(CH_3)_2CH$-(C=O)-, và R_4 là hydro.

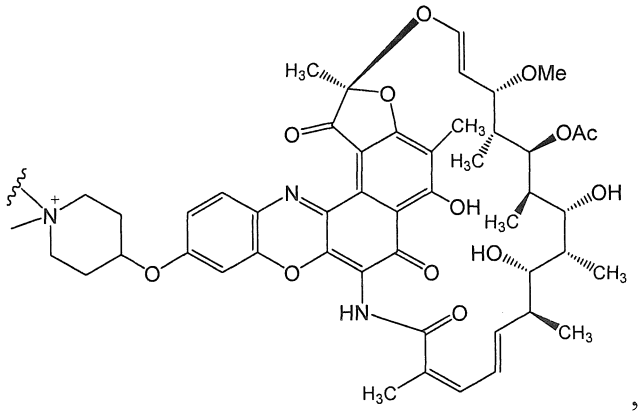
Theo một phương án trong số các phương án nêu trên, R_2 là metyl, R_3 là axetyl, và R_4 là hydro.

Theo một phương án trong số các phương án nêu trên, hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:

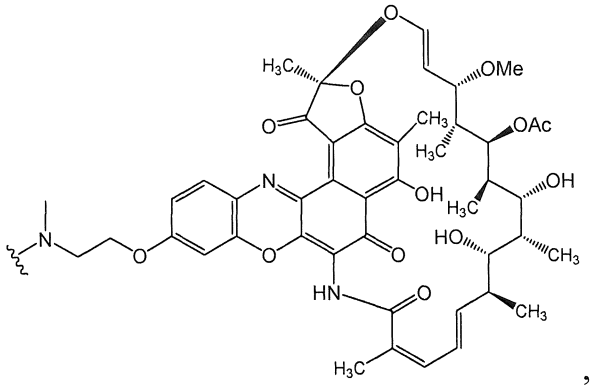
 ,  ,



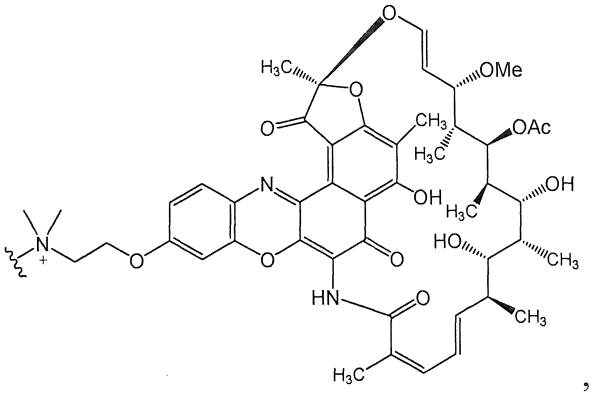
,



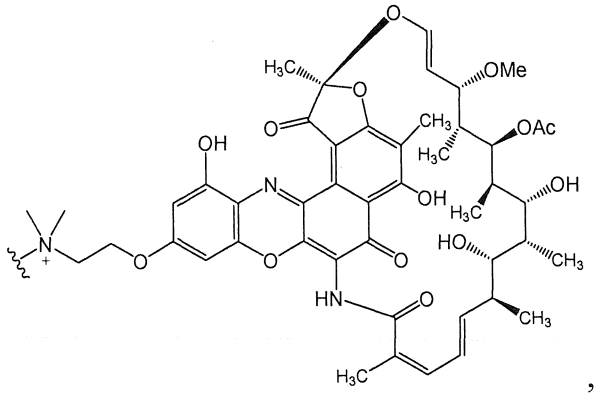
,



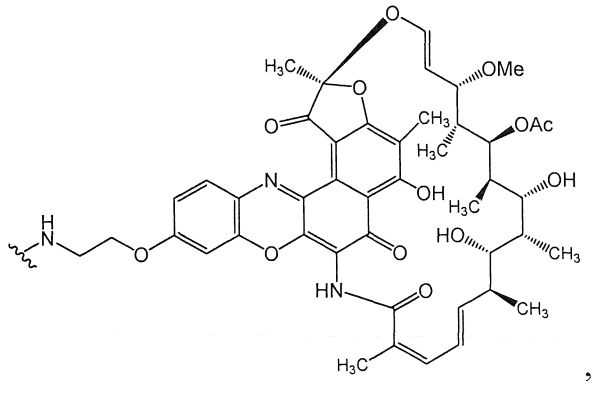
,



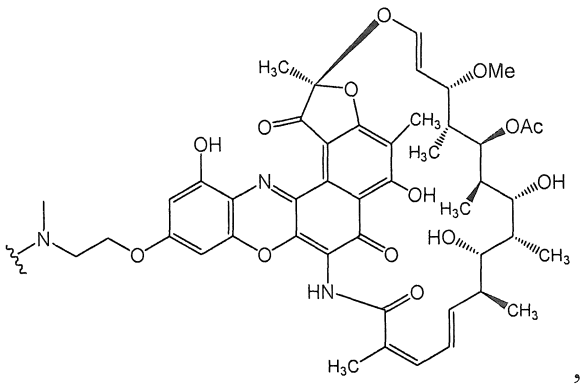
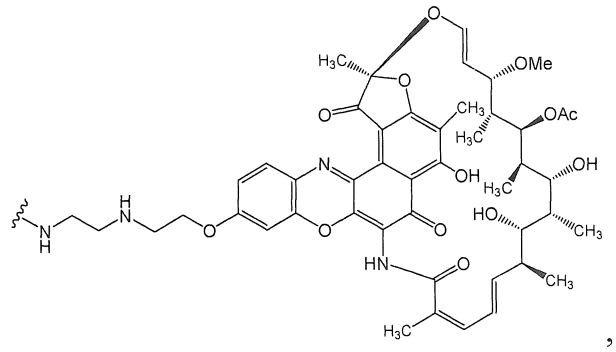
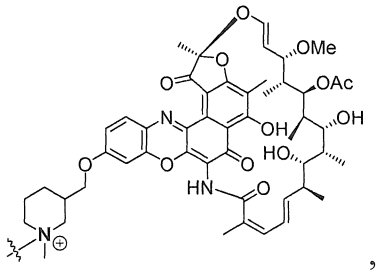
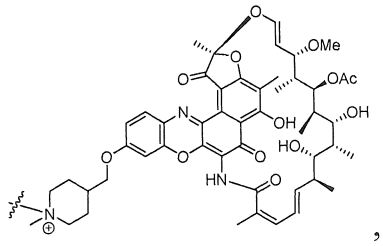
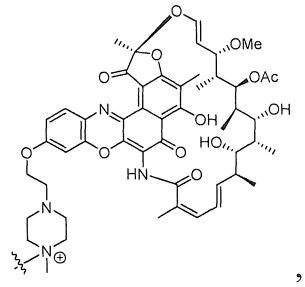
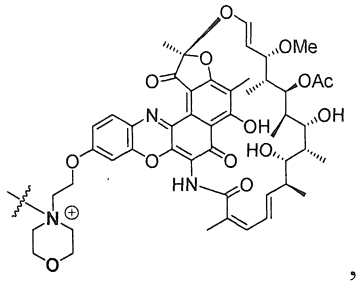
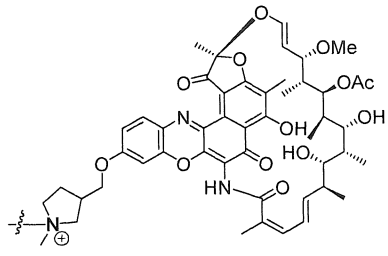
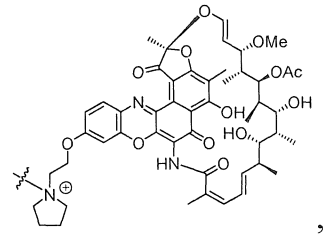
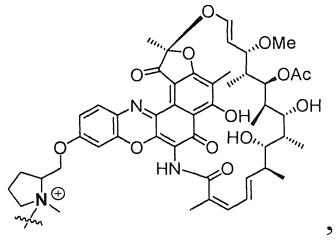
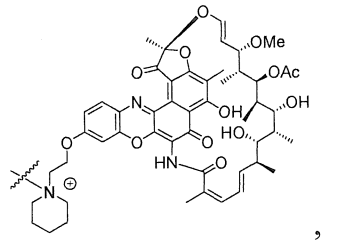
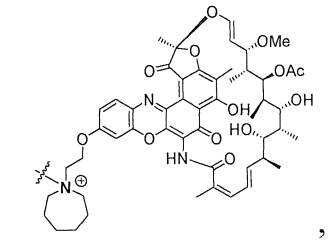
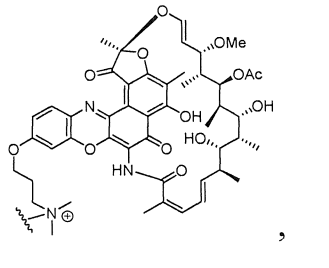
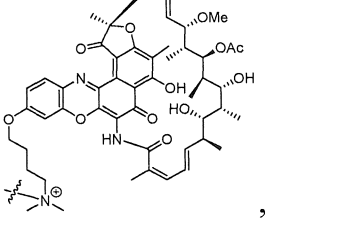
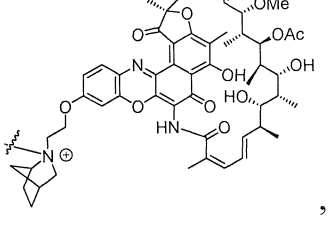
,



,



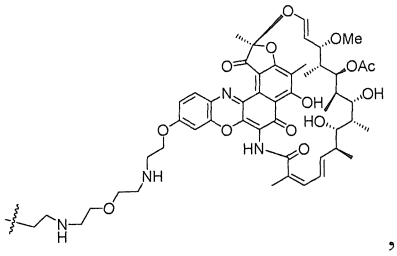
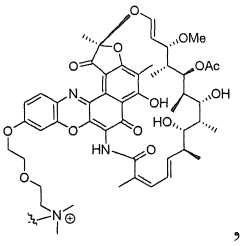
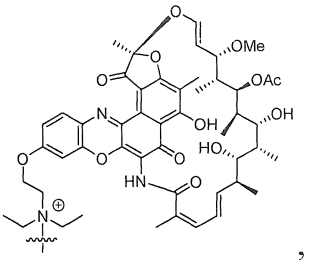
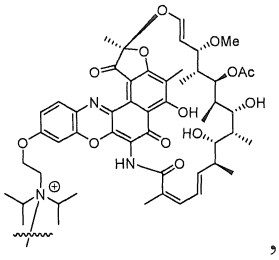
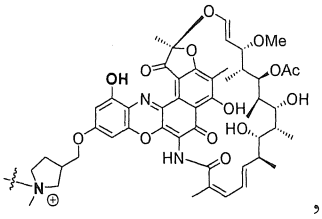
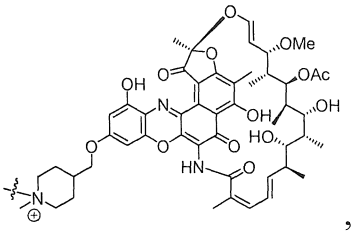
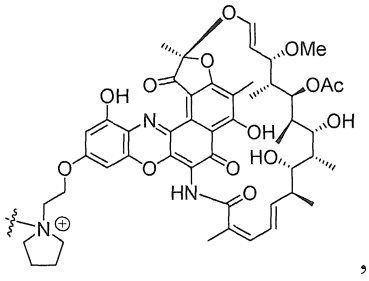
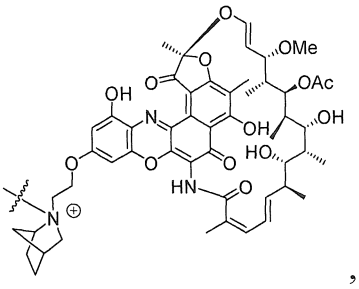
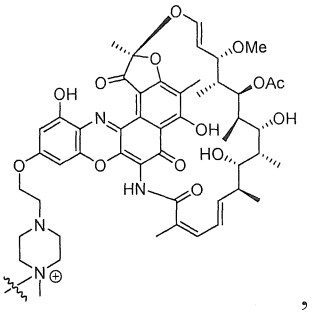
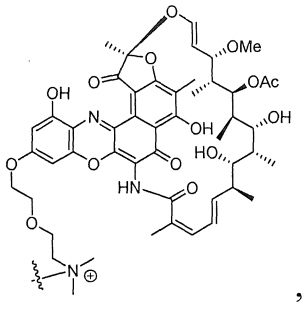
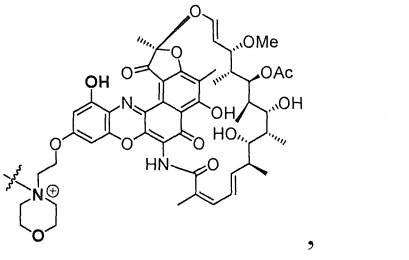
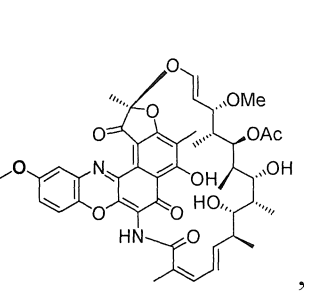
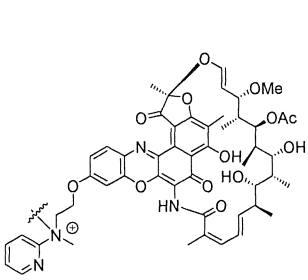
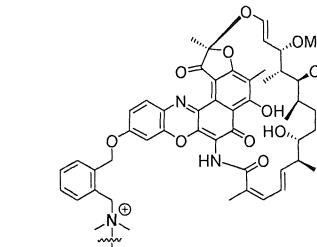
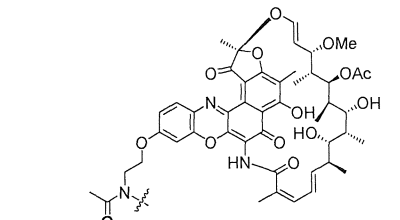
,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

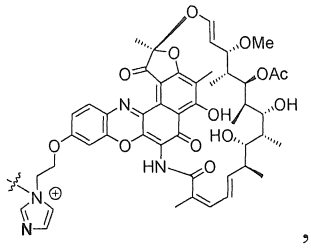
,

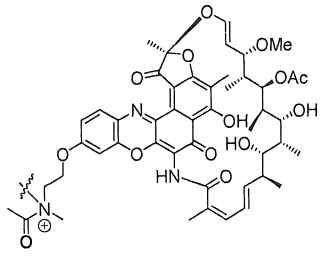

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

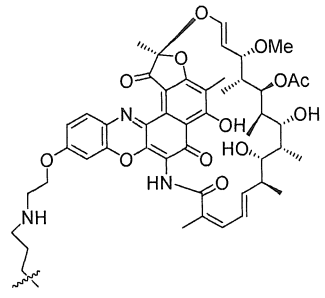
,

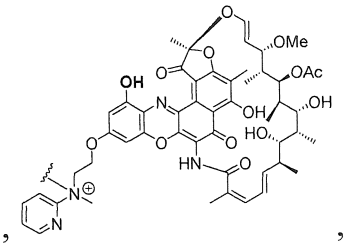
,

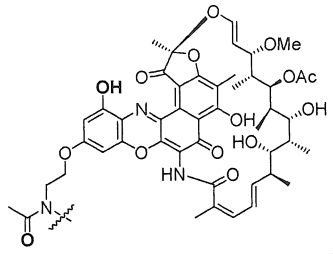
,

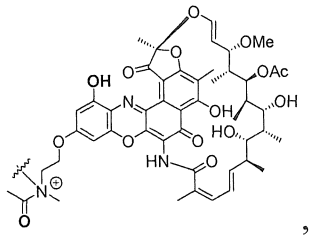

,

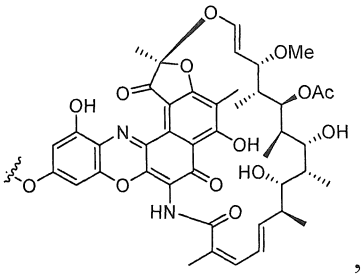

,

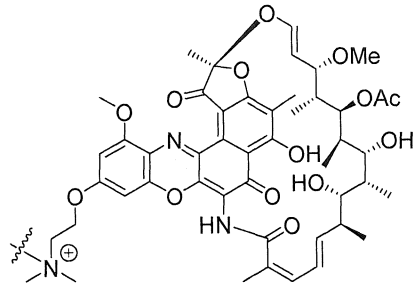

,

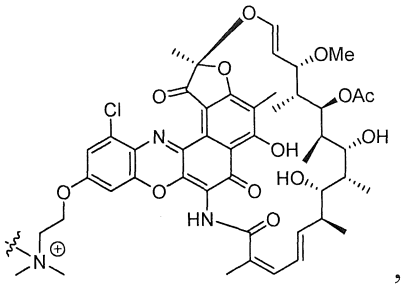

,

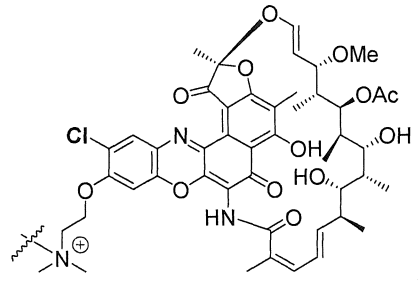

,

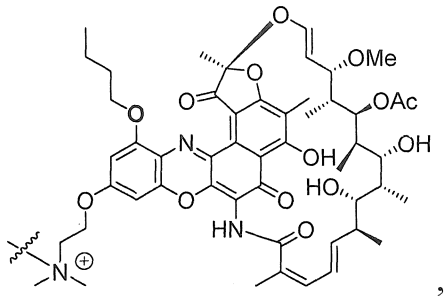
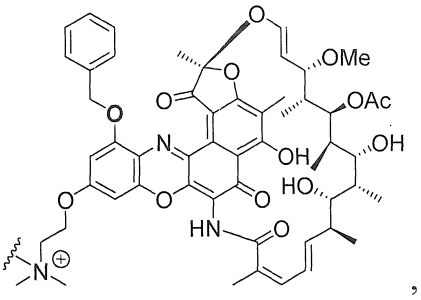
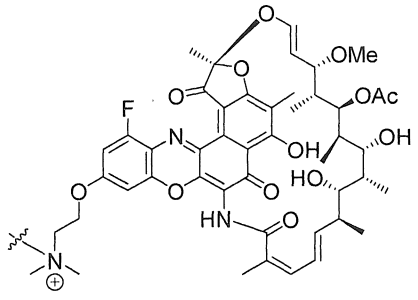
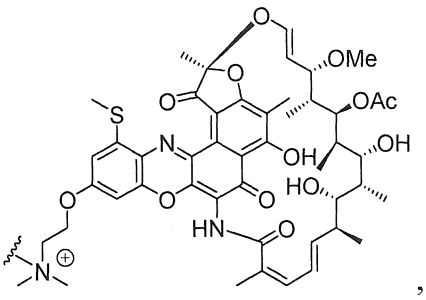
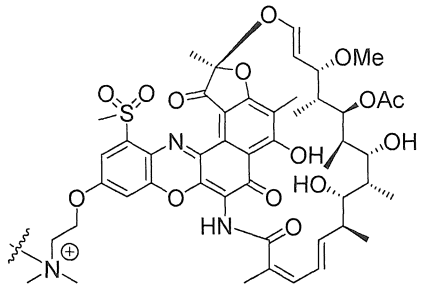
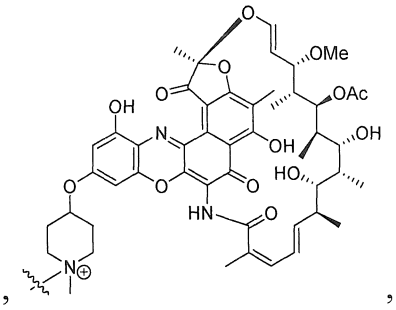
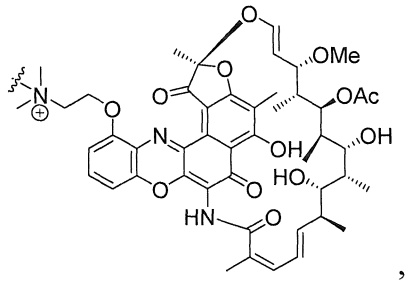
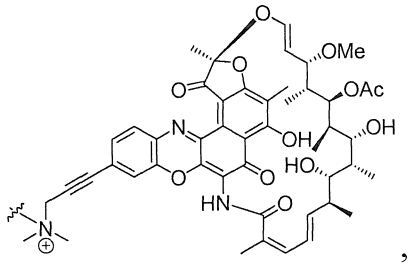
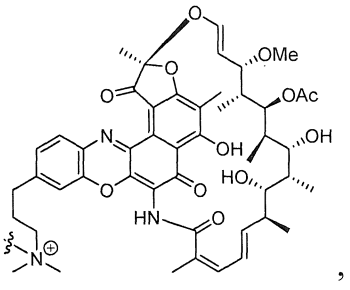

,


,


,

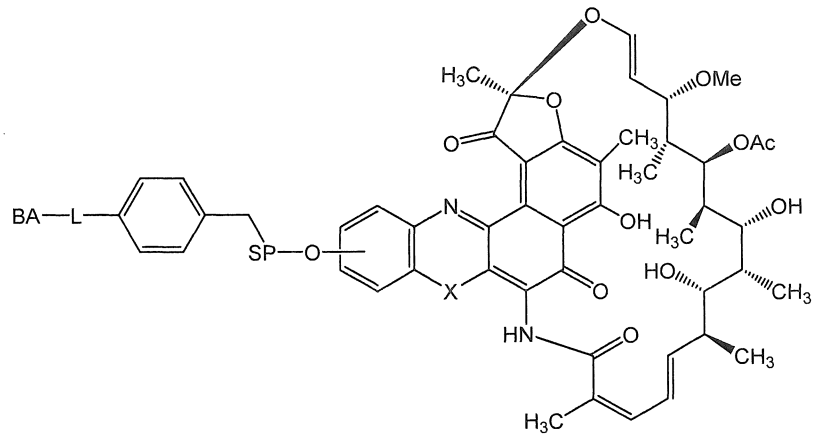

,


,


,

,

,

,

,

,

,

, và

,

trong đó là liên kết với tác nhân liên kết.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất thể liên hợp kháng thể-thuốc có cấu trúc có công thức (XXII):

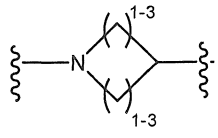
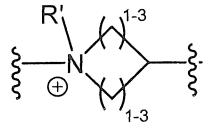
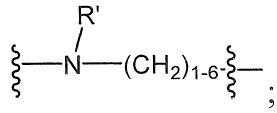


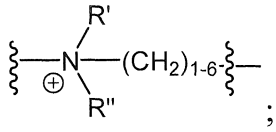
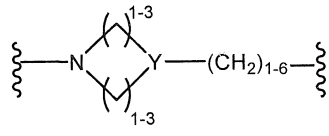
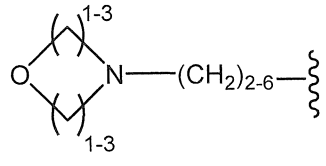
(XXII)

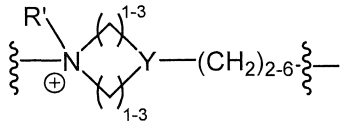
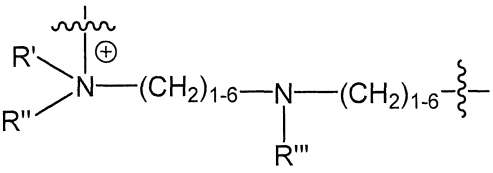
trong đó:

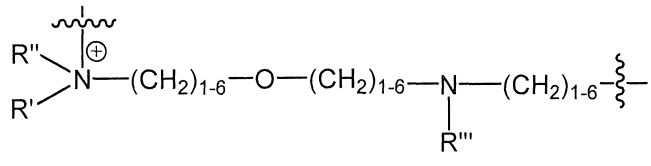
BA là kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó;

L là tác nhân liên kết;

SP là nhóm đệm được chọn từ  ;  ;  ;

 ;  ;  ;

 ;  , và



trong đó ký hiệu 〰 dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ Florenylmetyloxycacbonyl (FMOC) và *tert*-Butyloxycacbonyl (BOC), hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

Y là C hoặc N;

R' và R" mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro và C_{1-6} alkyl, và

X được chọn từ -O-, -S-, và -NR*.

Theo một phương án, kháng thể là kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 9; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 9.

Theo một phương án, kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 4, 36, 52, 92, và 284;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 6, 38, 54, 94, và 286;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 8, 40, 56, 96, và 288;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 12, 44, 60, 100, và 292;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 14, 46, 62, 102, và 294; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 16, 48, 64, 104, và 296.

Theo một phương án, kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 52;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 54;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 56;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 64.

Theo một phương án, kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến N297Q.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2A; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2A.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 470, 476, 482, và 488;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 471, 477, 483, và 489;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 472, 478, 484, và 490;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 467, 473, 479, và 485;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 468, 474, 480, và 486; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 469, 475, 481, và 487.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2B; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2B.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 502, 508, 514, 520, 526, 532, 538, 544, 550, 556, 562, 568, và 574;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 503, 509, 515, 521, 527, 533, 539, 545, 551, 557, 563, 569, và 575;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 504, 510, 516, 522, 528, 534, 540, 546, 552, 558, 564, 570, 576, và 584;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 499, 505, 511, 517, 523, 529, 535, 541, 547, 553, 559, 565, và 571;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 500, 506, 512, 518, 524, 530, 536, 542, 548, 554, 560, 566, và 572; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 501, 507, 513, 519, 525, 531, 537, 543, 549, 555, 561, 567, và 573.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến V205C (đánh số theo EU) trong chuỗi nhẹ.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có nguồn gốc từ kháng thể 4497 được mô tả trong Công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 20140356375 (mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ). Theo một phương án, kháng thể kháng WTA có nguồn gốc từ kháng thể 4497 và

còn chứa đột biến V205C trong chuỗi nhẹ.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 nêu trong các SEQ ID NO: 568-569-570-565-566-567.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nặng (HCDR1, HCDR2, và HCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) nêu trong các SEQ ID NO: 586; và ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nhẹ (LCDR1, LCDR2, và LCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) nêu trong SEQ ID NO: 585.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin HCVR nêu trong SEQ ID NO: 586, và LCVR có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 585.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA chứa trình tự axit amin của chuỗi nặng nêu trong các SEQ ID NO: 602 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 587 hoặc SEQ ID NO: 589. Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa đột biến V205C trong chuỗi nhẹ.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 3A; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 3A.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 632, 652, và 672;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các

SEQ ID NO: 634, 654, và 674;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 636, 656, và 676;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 640, 660, và 680;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 642 và 662; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 644, 664, và 683.

Theo một số phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến H435R và đột biến Y436F (đánh số theo EU) trong Fc chuỗi nặng.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nặng (HCDR1, HCDR2, và HCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) nêu trong các SEQ ID NO: 630; và ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nhẹ (LCDR1, LCDR2, và LCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) nêu trong SEQ ID NO: 638. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) gồm các SEQ ID NO: 632-634-636-640-642-644.

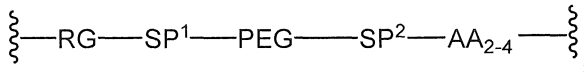
Theo một phương án, kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin HCVR nêu trong SEQ ID NO: 630; và trình tự axit amin LCVR nêu trong SEQ ID NO: 638.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A chứa trình tự axit amin của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 666 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 668. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, còn chứa đột biến H435R và đột biến Y436F (đánh số theo EU) trong Fc chuỗi nặng. Theo một phương án, kháng

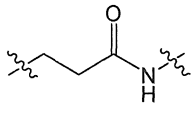
thể kháng protein A còn chứa đột biến C103S trong chuỗi nhẹ. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất theo sáng chế ở vị trí chuỗi nhẹ 103.

Theo nhiều phương án khác nhau, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến C103S trong chuỗi nhẹ.

Theo nhiều phương án khác nhau, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất theo sáng chế ở vị trí 103 của chuỗi nhẹ.

Theo một phương án, L là tác nhân liên kết có công thức  , trong đó

RG được chọn từ maleimit, N-hydroxy sucxinimit, hoặc sucxinimit;

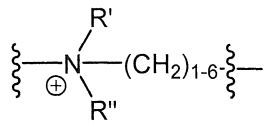
SP^1 và SP^2 độc lập không có mặt hoặc nhóm đệm được chọn từ nhóm bao gồm  ; C_{1-6} alkyl, -NH-, -C(O)-, $-CH_2-CH_2-C(O)-NH-$, $-(CH)_u-C(O)-NH-$, $(-CH_2-CH_2-O)_e$, $-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$, $-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$, $-C(O)-NH-(CH_2)_v-$, và hỗn hợp của chúng, trong đó chỉ số dưới e là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 4, chỉ số dưới u là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8, và chỉ số dưới v là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8;

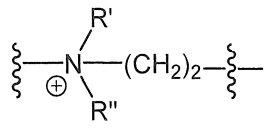
AA_{2-4} là đơn vị peptit chứa từ 2 đến 4 axit amin, và

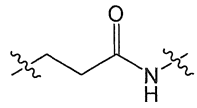
PEG là chuỗi polyetylen glycol chứa từ 1 đến 30 gốc polyetylen glycol.

Theo một phương án, AA_{2-4} là dipeptit được chọn từ valin-xitrulin; xitrulin-valin; valin-alanin; alanin-valin; valin-glyxin, glyxin-valin, hoặc alanin-glyxin, alanin-alanin.

Theo một phương án, AA_{2-4} là valin-xitrulin.

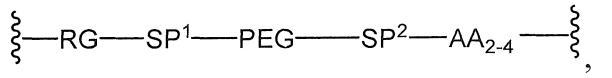
Theo một phương án, SP là  và mỗi trong số R' và R" là C_{1-6} alkyl.

Theo một phương án, SP là  và mỗi trong số R' và R" là metyl.

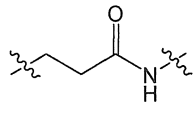
Theo một phương án, mỗi trong số SP^1 và SP^2 là  .

Theo một phương án, PEG chứa 8 đơn vị polyetylen glycol.

Theo một phương án, BA là kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó;

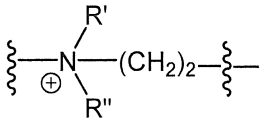
L là tác nhân liên kết có công thức  , trong đó

RG được chọn từ maleimit hoặc sucxinimit;

mỗi trong số SP^1 và SP^2 là  ;

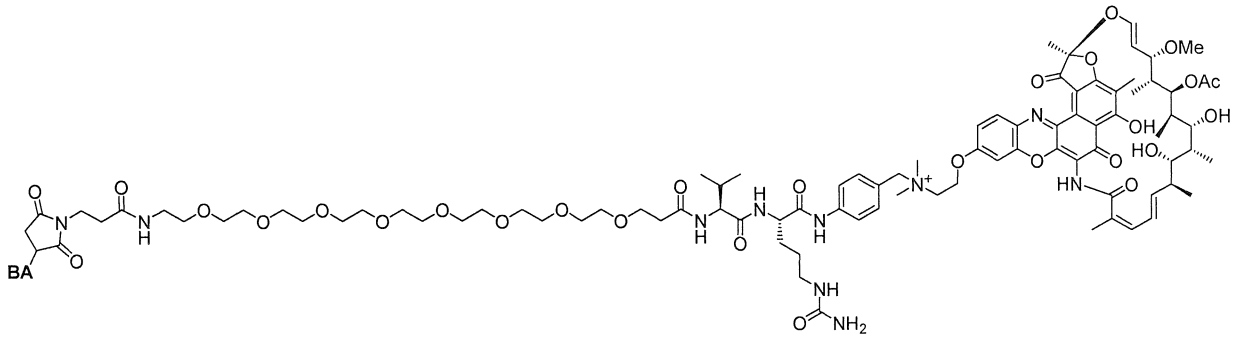
AA_{2-4} là valin-xitrulin;

PEG là chuỗi polyetylen glycol chứa 8 gốc polyetylen glycol

SP là  và mỗi trong số R' và R" là metyl, và

X là -O-.

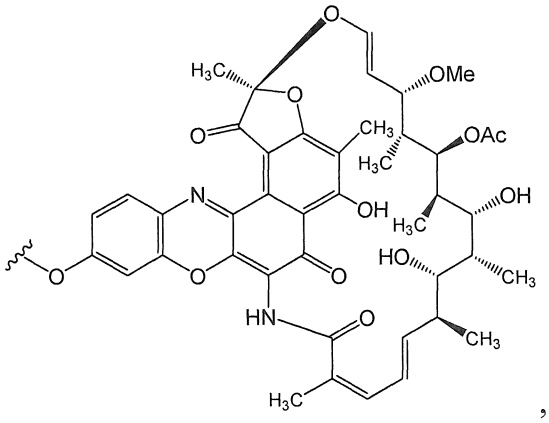
Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc có cấu trúc:

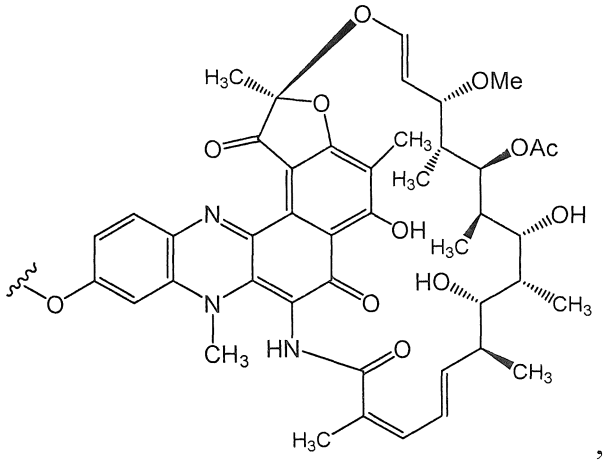


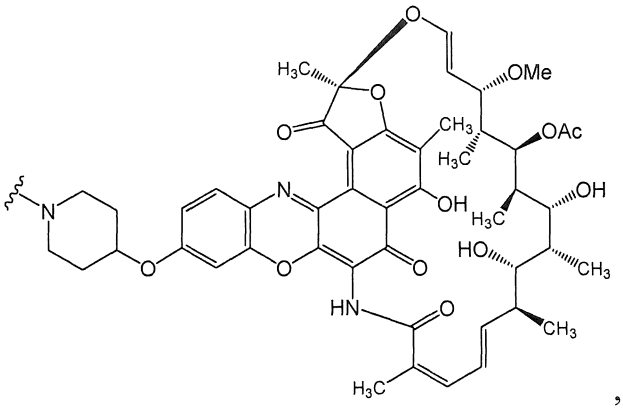
,

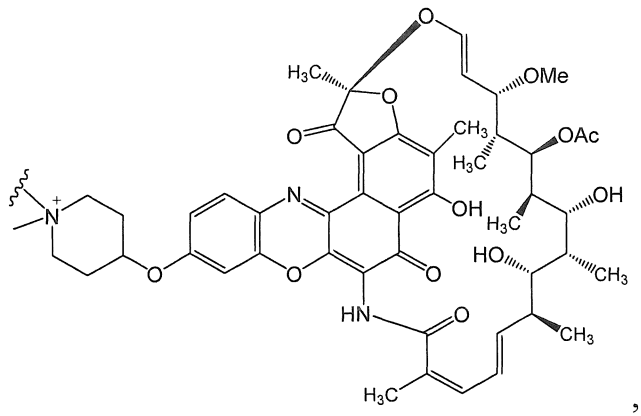
trong đó BA là kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kháng thể được phân lập hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó được liên hợp, trực tiếp hoặc thông qua tác nhân liên kết hoặc tác nhân liên kết-tác nhân đệm, đến tải lượng có cấu trúc được chọn từ nhóm bao gồm:

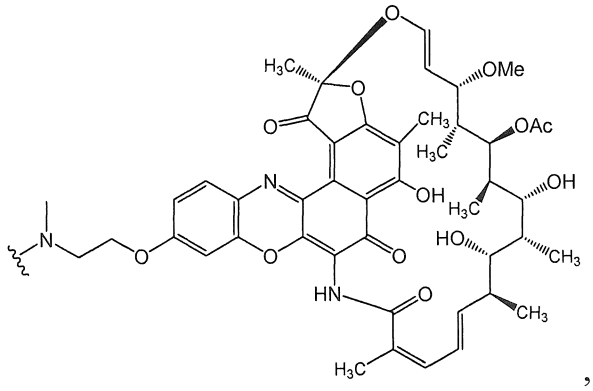

,


,

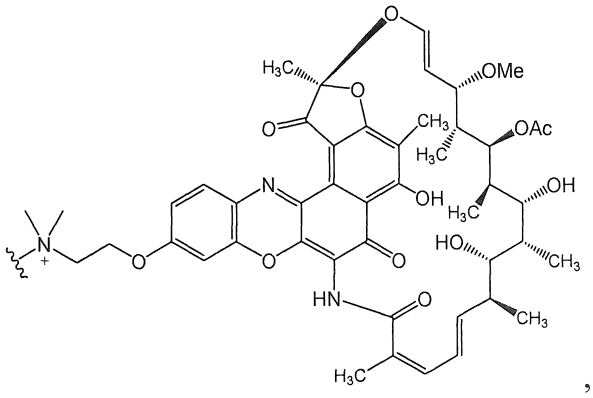

,



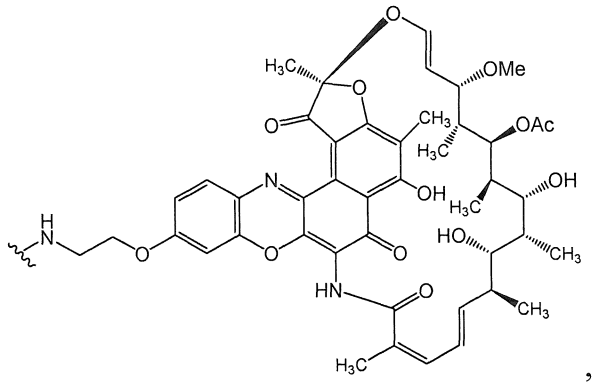
,



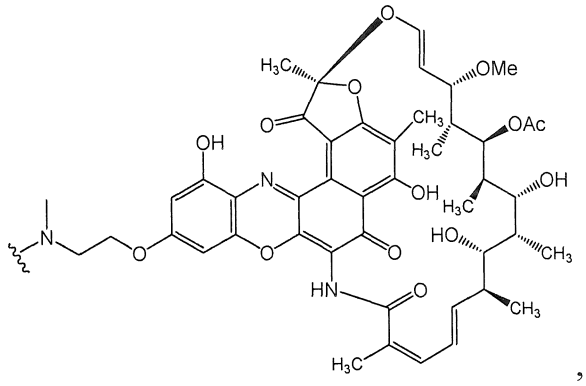
,



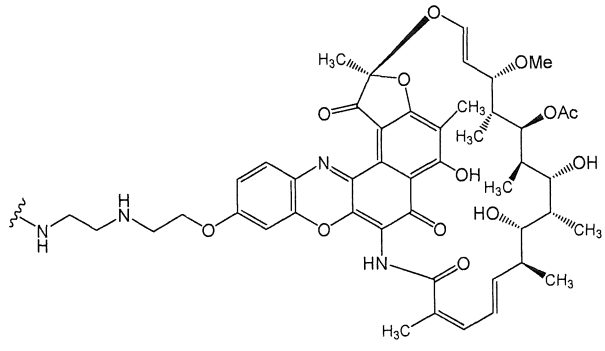
,



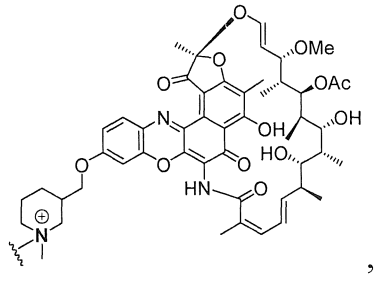
,



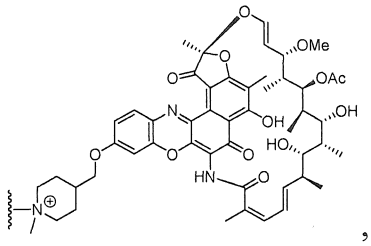
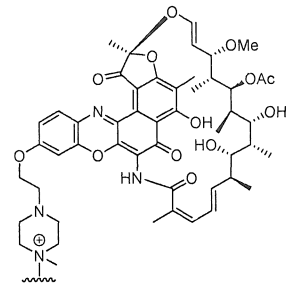
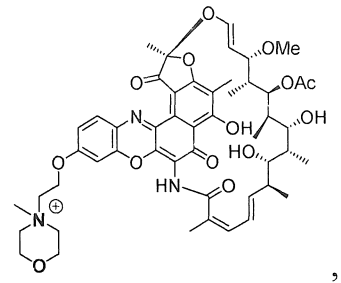
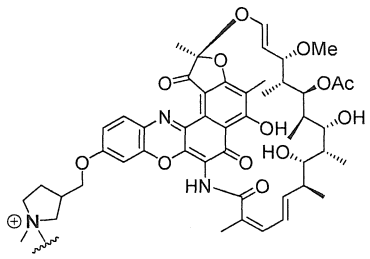
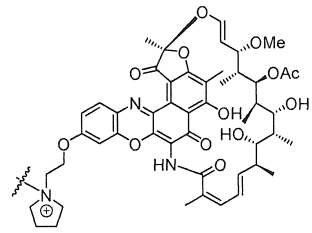
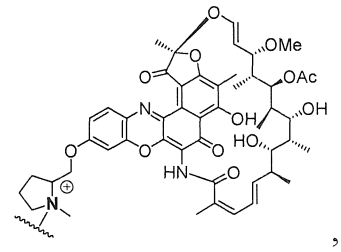
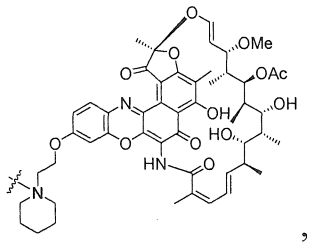
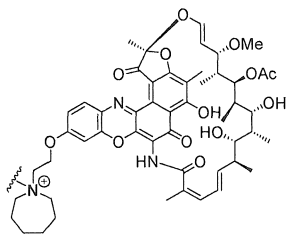
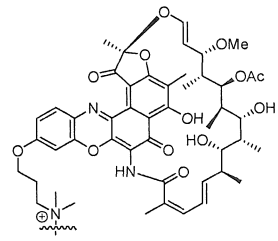
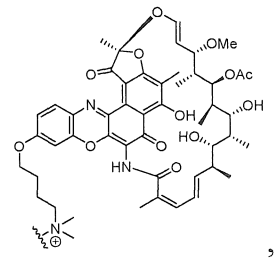
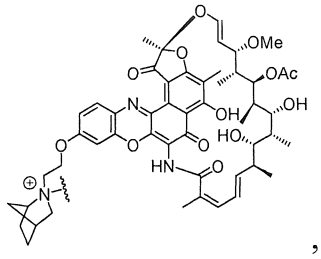
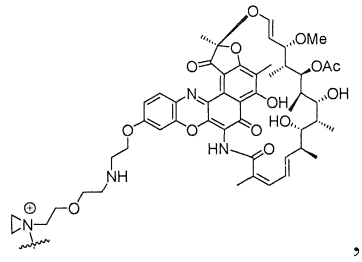
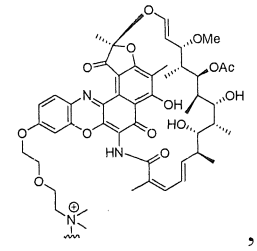
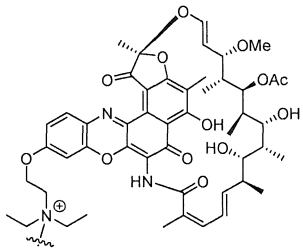
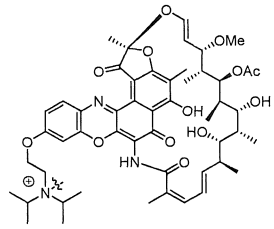
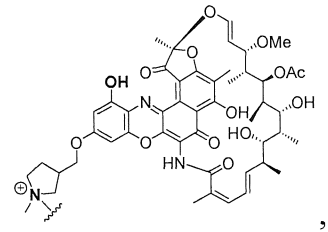
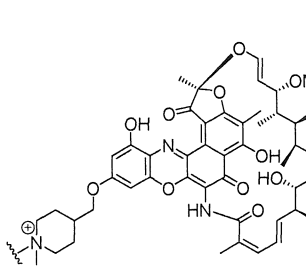
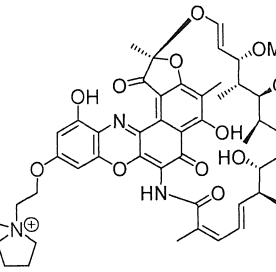
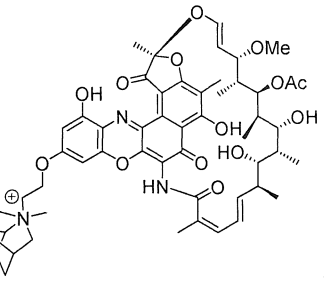
,

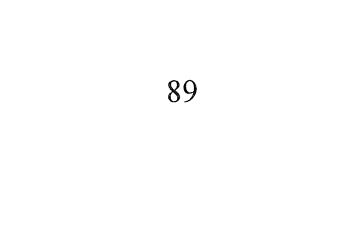


,

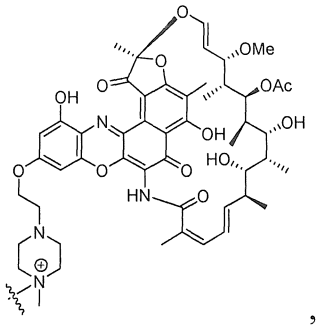
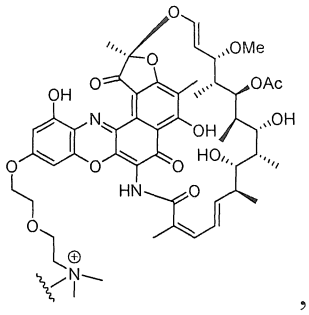
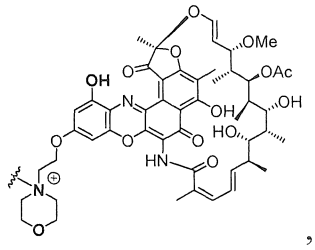
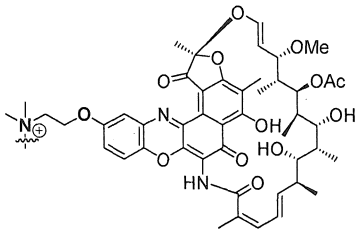
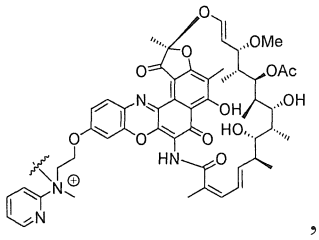
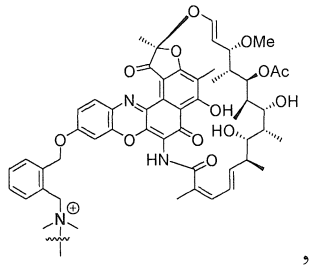
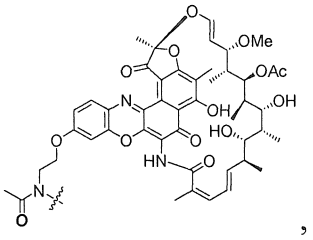
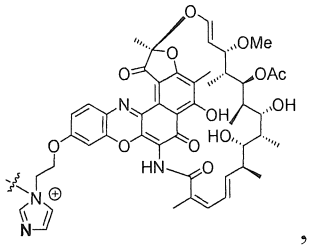
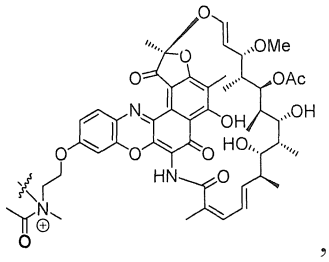
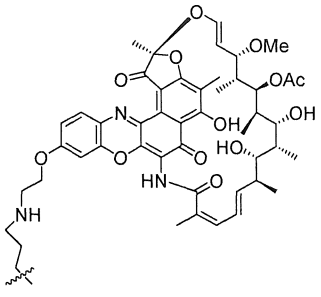
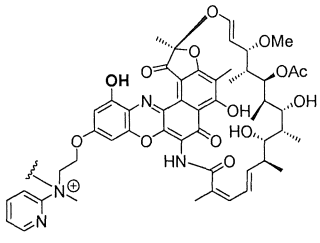
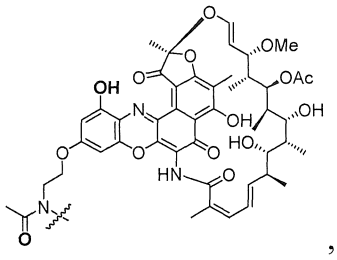
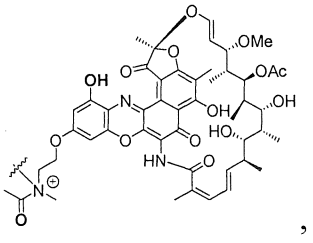
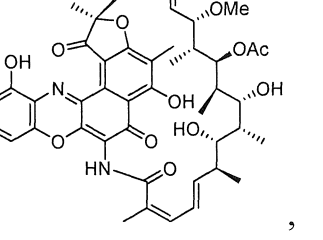
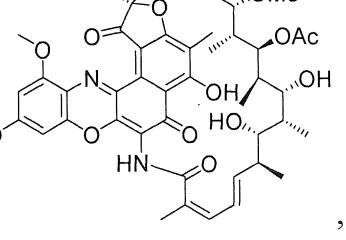


,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

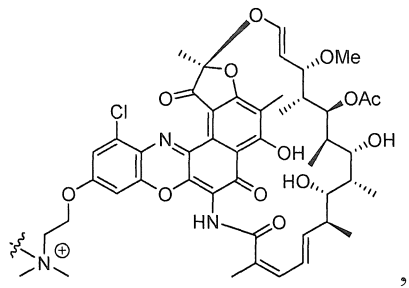
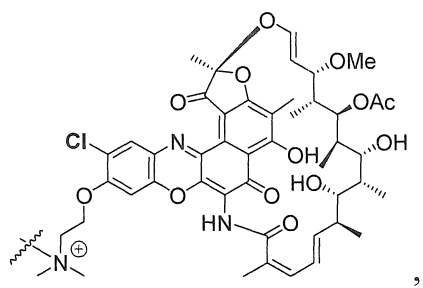
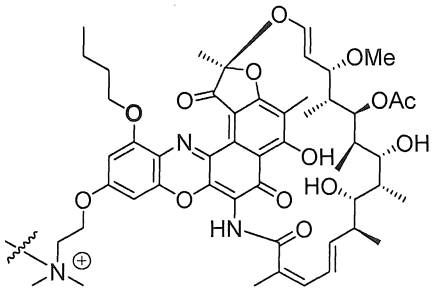
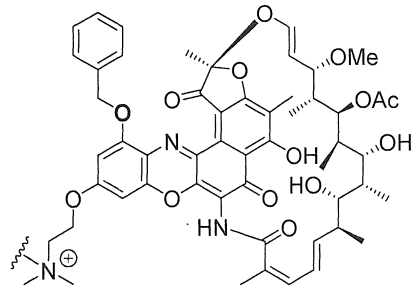
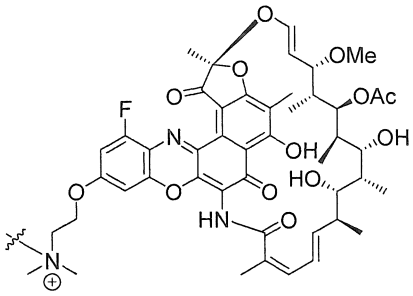
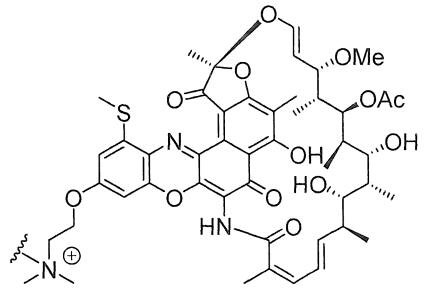
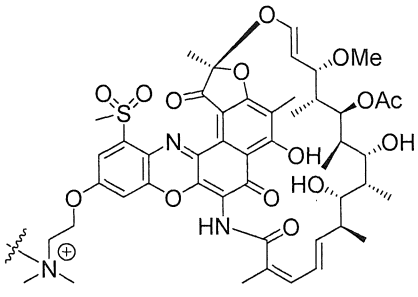
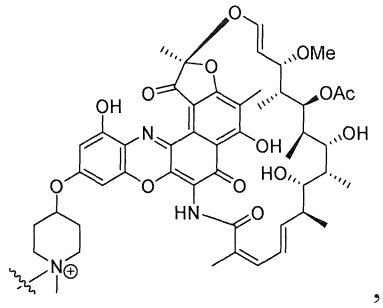
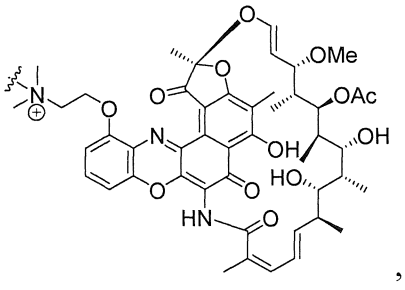
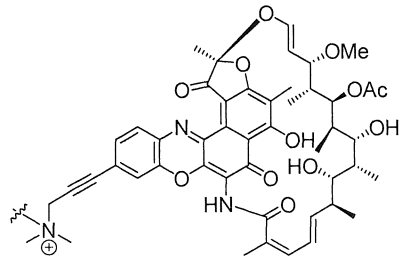
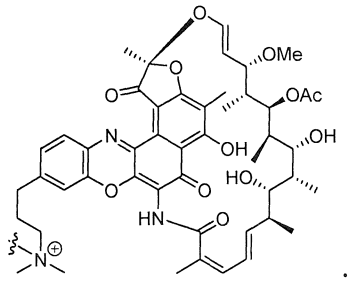
,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

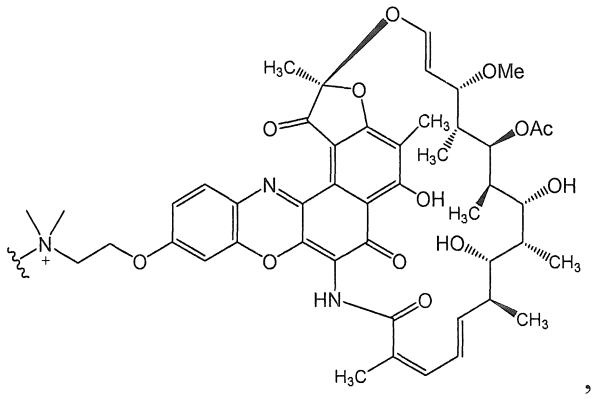
,

,

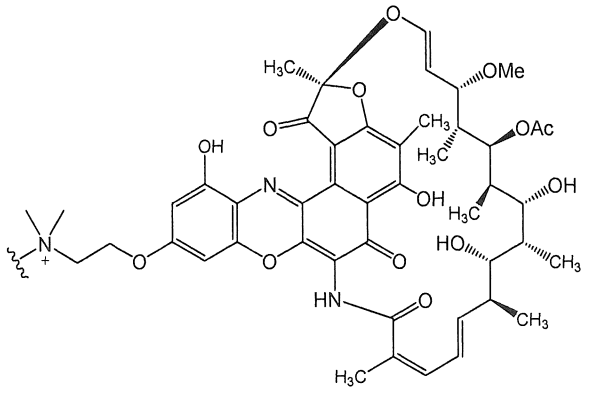
,


,

,

,

,


,

,

,

,

, và

.

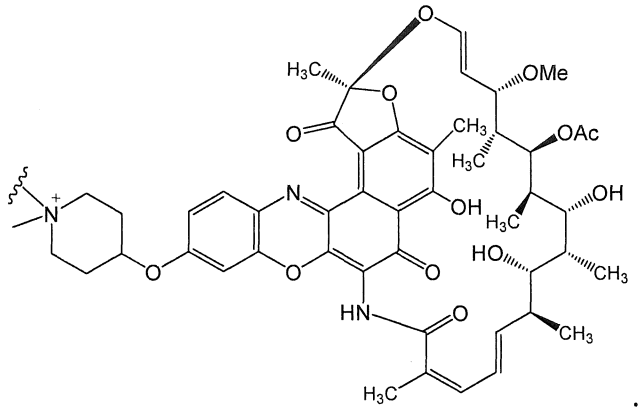
Theo một phương án, tải lượng có cấu trúc được chọn từ:



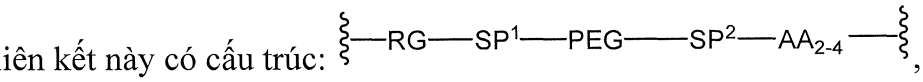
,



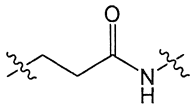
và



.

Theo một phương án, tải lượng này được liên hợp thông qua tác nhân liên kết, tác nhân liên kết này có cấu trúc:  , trong đó

RG được chọn từ maleimit hoặc sucxinimit;

SP^1 và SP^2 độc lập không có mặt hoặc nhóm đệm được chọn từ nhóm bao gồm  ; C_{1-6} alkyl, -NH-, -C(O)-, $-CH_2-CH_2-C(O)-NH-$, $-(CH)_u-C(O)-NH-$, (-

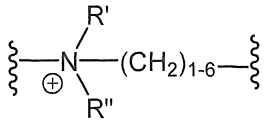
CH_2-CH_2-O)$_e$, -NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)$_e$-C(O)-, -C(O)-(CH_2)$_u$-C(O)-, -C(O)-NH-(CH_2)$_v$-, và hỗn hợp của chúng, trong đó chỉ số dưới e là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 4, chỉ số dưới u là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8, và chỉ số dưới v là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8;

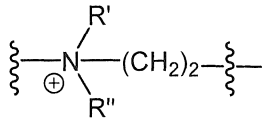
AA_{2-4} là đơn vị peptit chứa từ 2 đến 4 axit amin, và

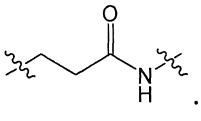
PEG là chuỗi polyetylen glycol chứa từ 1 đến 30 gốc polyetylen glycol.

Theo một phương án, AA_{2-4} là dipeptit được chọn từ valin-xitrulin; xitrulin-valin; valin-alanin; alanin-valin; valin-glyxin, hoặc glyxin-valin.

Theo một phương án, AA_{2-4} là valin-xitrulin.

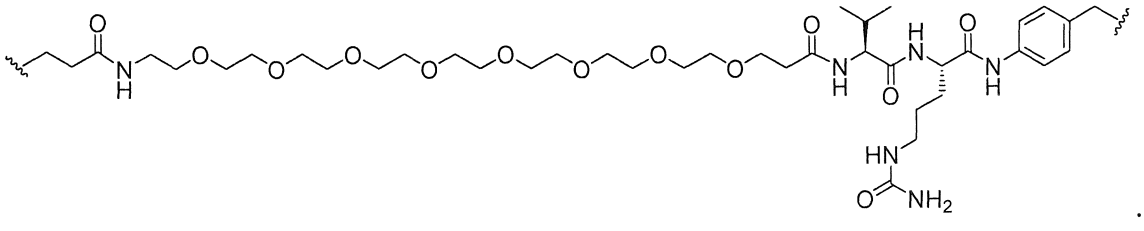
Theo một phương án, SP là  và mỗi trong số R' và R" là C_{1-6} alkyl.

Theo một phương án, SP là  và mỗi trong số R' và R" là metyl.

Theo một phương án, mỗi trong số SP^1 và SP^2 là  .

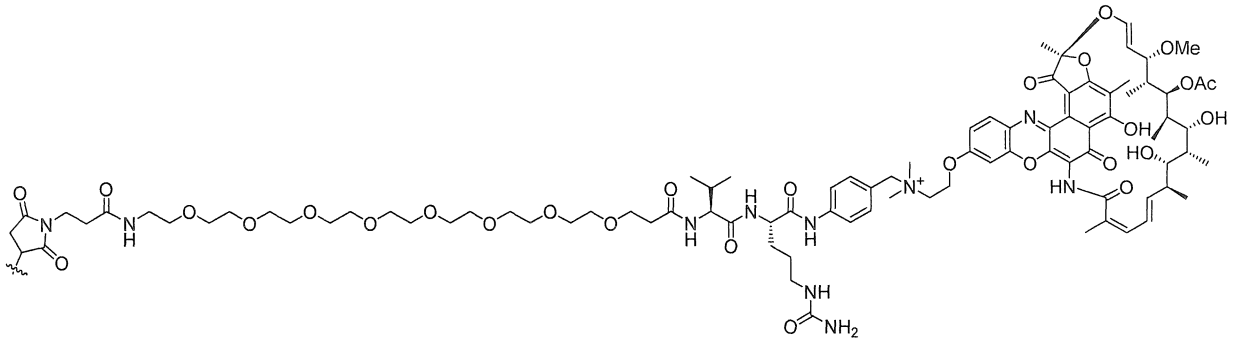
Theo một phương án, PEG chứa 8 đơn vị polyetylen glycol.

Theo một phương án, tải lượng được liên hợp thông qua tác nhân liên kết có cấu trúc:



Theo một phương án, tải lượng được liên hợp thông qua tác nhân liên kết, tác

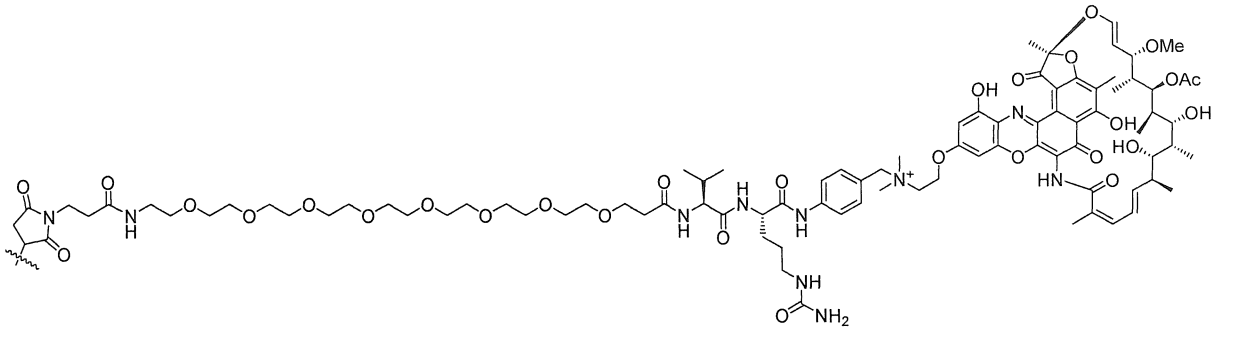
nhân liên kết-tải lượng có cấu trúc:



,

trong đó ~— là liên kết với kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

Theo một phương án, tải lượng được liên hợp thông qua tác nhân liên kết, tác nhân liên kết-tải lượng có cấu trúc:



,

trong đó ~— là liên kết với kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

Theo một phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, mà gắn kết thụ thể scavenger 1 của đại thực bào (MSR1) bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 9; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 9.

Theo một phương án, kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 4, 36, 52, 92, và 284;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 6, 38, 54, 94, và 286;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 8, 40, 56, 96, và 288;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 12, 44, 60, 100, và 292;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 14, 46, 62, 102, và 294; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 16, 48, 64, 104, và 296.

Theo một phương án, kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 52;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 54;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 56;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 64.

Theo một phương án, kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến N297Q.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2A; và (b) các CDR

của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2A.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 470, 476, 482, và 488;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 471, 477, 483, và 489;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 472, 478, 484, và 490;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 467, 473, 479, và 485;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 468, 474, 480, và 486; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 469, 475, 481, và 487.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2B; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2B.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 502, 508, 514, 520, 526, 532, 538, 544, 550, 556, 562, 568, và 574;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 503, 509, 515, 521, 527, 533, 539, 545, 551, 557, 563, 569, và 575;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các

SEQ ID NO: 504, 510, 516, 522, 528, 534, 540, 546, 552, 558, 564, 570, 576, và 584;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 499, 505, 511, 517, 523, 529, 535, 541, 547, 553, 559, 565, và 571;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 500, 506, 512, 518, 524, 530, 536, 542, 548, 554, 560, 566, và 572; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 501, 507, 513, 519, 525, 531, 537, 543, 549, 555, 561, 567, và 573.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến V205C (đánh số theo EU) trong chuỗi nhẹ.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có nguồn gốc từ kháng thể 4497 được mô tả trong Công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 20140356375 (mà được kết hợp toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn). Theo một phương án, kháng thể kháng WTA có nguồn gốc từ kháng thể 4497 và còn chứa đột biến V205C trong chuỗi nhẹ.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 nêu trong các SEQ ID NO: 568-569-570-565-566-567.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nặng (HCDR1, HCDR2, và HCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) nêu trong các SEQ ID NO: 586; và ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nhẹ (LCDR1, LCDR2, và LCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) nêu trong SEQ ID NO: 585.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin HCVR nêu trong các SEQ ID NO: 586, và trình tự axit

amin LCVR nêu trong SEQ ID NO: 585.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA chứa trình tự axit amin của chuỗi nặng nêu trong các SEQ ID NO: 602 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 587 hoặc SEQ ID NO: 589. Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa đột biến V205C trong chuỗi nhẹ.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 3A; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 3A.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 632, 652, và 672;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 634, 654, và 674;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 636, 656, và 676;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 640, 660, và 680;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 642 và 662; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 644, 664, và 683.

Theo một số phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến H435R và đột biến Y436F (đánh số theo EU) trong Fc

chuỗi nặng.

Theo một số phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến H435R và đột biến Y436F (đánh số theo EU) trong Fc chuỗi nặng.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nặng (HCDR1, HCDR2, và HCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) nêu trong SEQ ID NO: 630; và ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nhẹ (LCDR1, LCDR2, và LCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) nêu trong SEQ ID NO: 638. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 632-634-636-640-642-644.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin HCVR nêu trong SEQ ID NO: 630; và trình tự axit amin LCVR nêu trong SEQ ID NO: 638.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A chứa trình tự axit amin của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 666 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 668. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, còn chứa đột biến H435R và đột biến Y436F (đánh số theo EU) trong Fc chuỗi nặng. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A còn chứa đột biến C103S trong chuỗi nhẹ. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất theo sáng chế ở vị trí chuỗi nhẹ 103.

Theo nhiều phương án khác nhau, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến C103S trong chuỗi nhẹ.

Theo nhiều phương án khác nhau, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất theo sáng chế ở vị trí 103 của chuỗi nhẹ.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa hoặc ức chế sự

phát triển của vi khuẩn bao gồm bước dùng một lượng hữu hiệu của thể liên hợp kháng thể-thuốc như được mô tả ở đây.

Theo một phương án, vi khuẩn là vi khuẩn gram dương.

Theo một phương án, vi khuẩn là vi khuẩn kháng penixilin.

Theo một phương án, vi khuẩn là *Staphylococcus aureus*.

Theo một phương án, vi khuẩn được chọn từ *Staphylococcus aureus* kháng methixilin (MRSA), *Staphylococcus aureus* kháng vancomyxin (VRSA), và *Staphylococcus aureus* nhạy methixilin (MSSA).

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh nhiễm khuẩn ở đối tượng cần điều trị bao gồm bước cho đối tượng này dùng một lượng hữu hiệu của thể liên hợp kháng thể-thuốc như được mô tả ở đây.

Theo một phương án, bệnh nhiễm khuẩn là bệnh nhiễm khuẩn gram dương.

Theo một phương án, bệnh nhiễm khuẩn là bệnh nhiễm khuẩn kháng penixilin.

Theo một phương án, bệnh nhiễm khuẩn là bệnh nhiễm *Staphylococcus aureus*.

Theo một phương án, bệnh nhiễm khuẩn được chọn từ bệnh nhiễm *Staphylococcus aureus* kháng methixilin (MRSA), bệnh nhiễm *Staphylococcus aureus* kháng vancomyxin (VRSA), và bệnh nhiễm *Staphylococcus aureus* nhạy methixilin (MSSA).

Theo một phương án, bệnh nhiễm khuẩn là bệnh nhiễm khuẩn nội bào.

Theo một phương án, đối tượng là người.

Theo một phương án, phương pháp này còn bao gồm bước dùng chất trị liệu thứ hai.

Theo một phương án, chất trị liệu thứ hai là kháng sinh thứ hai.

Theo một phương án, kháng sinh thứ hai có hiệu quả chống lại *Staphylococcus aureus*.

Theo một phương án, kháng sinh thứ hai được chọn từ aminoglycosit, beta-lactam, macrolit, peptit vòng, tetraxyclin, floquinolin, floquinolon, và oxazolidinon.

Theo một phương án, kháng sinh thứ hai được chọn từ clindamyxin, novobioxin, retapamulin, daptomyxin, sitafloxaxin, teicoplanin, triclosan, naptyridon, radezolid, doxorubixin, ampixilin, vancomyxin, imipenem, doripenem, gemxitabin, dalbavanxin, và azithromyxin.

Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc được dùng cho đối tượng qua đường miệng, khu trú, trong mũi, trong tĩnh mạch, trong cơ, hoặc dưới da.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị viêm tế bào, nhiễm trùng huyết, hoại tử da, nhiễm trùng mi mắt, nhiễm trùng mắt, viêm kết mạc sơ sinh, viêm tủy xương, chốc lở, nhọt, hội chứng da tróc vảy, ngộ độc thức ăn, viêm phổi, nhiễm trùng phẫu thuật, nhiễm trùng đường niệu, bỏng nhiễm khuẩn, viêm màng não, viêm nội mạc tim, nhiễm khuẩn máu, hội chứng sốc độc, viêm khớp nhiễm khuẩn, viêm vú, nhiễm khuẩn liên quan đến khớp giả, nhiễm khuẩn liên quan đến ống thông, hoặc nhiễm khuẩn liên quan đến mảnh ghép, ở đối tượng bao gồm bước cho đối tượng này dùng một lượng cho tác dụng điều trị bệnh của hợp chất, thể liên hợp kháng thể-thuốc, hoặc dược phẩm như được mô tả ở đây.

Các khía cạnh này và các khía cạnh khác của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật liên quan sau khi đọc phần mô tả sau đây của sáng chế, gồm cả các điểm yêu cầu bảo hộ đi kèm.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là biểu đồ thể hiện kết quả của thử nghiệm ức chế sự phát triển của *S. aureus* được thực hiện với chất tương tự rifamyxin theo sáng chế.

Fig.2 là biểu đồ cột thể hiện kết quả của thử nghiệm tiêu diệt nội bào *S. aureus* được thực hiện với chất tương tự rifamyxin theo sáng chế.

Fig.3 là biểu đồ thể hiện kết quả của thử nghiệm tiêu diệt nội bào *S. aureus* được thực hiện với chất tương tự rifamyxin theo sáng chế.

Fig.4 là giản đồ thể hiện bốn ngày mô hình nhiễm *S. aureus*.

Fig.5 là biểu đồ thể hiện đơn vị tạo khuẩn lạc của ADC kháng *Staphylococcus aureus* theo sáng chế trong thử nghiệm tiêu diệt nội bào bằng cách sử dụng tế bào THP.

Fig.6 thể hiện gánh nặng trung bình trên thận của *S. aureus* ở chuột nhắt được điều trị bằng đối chứng isotyp và ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA (thể liên hợp kháng thể-thuốc) theo sáng chế ở nồng độ 2mg/kg kết hợp với vancomyxin.

Fig.7 thể hiện gánh nặng trung bình trên thận của *S. aureus* ở chuột nhắt được điều trị bằng đối chứng isotyp và ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng Protein A theo sáng chế ở nồng độ 2mg/kg kết hợp với vancomyxin.

Fig.8 thể hiện gánh nặng trung bình trên thận của *S. aureus* ở chuột nhắt được điều trị bằng đối chứng isotyp và ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA theo sáng chế ở nồng độ 5mg/kg kết hợp với vancomyxin.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các phương án chi tiết của sáng chế được bộc lộ trong bản mô tả; tuy nhiên, cần hiểu rằng các phương án được bộc lộ này chỉ nhằm minh họa cho sáng chế mà có thể được lấy làm phương án dưới nhiều hình thức khác nhau. Ngoài ra, mỗi ví dụ thực hiện sáng chế nêu kết hợp với nhiều phương án khác nhau theo sáng chế cũng chỉ nhằm minh họa, và không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế. Do đó, phần mô tả chi tiết về cấu trúc và chức năng cụ thể được bộc lộ ở đây không được diễn giải là giới hạn, mà chỉ là cơ sở tiêu biểu để chỉ dẫn cho người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật liên quan thực hiện sáng chế theo nhiều cách khác nhau.

Các định nghĩa

Trừ khi có quy định khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng ở đây có nghĩa giống như thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế thuộc lĩnh vực đó.

Như được sử dụng trong bản mô tả này và các điểm yêu cầu bảo hộ đi kèm, dạng

số ít "một" bao gồm cả dạng tham khảo số nhiều trừ khi ngữ cảnh rõ ràng chỉ khác đi. Vì vậy, ví dụ, khi đề cập đến "một phương pháp" sẽ bao gồm một hoặc nhiều phương pháp, và/hoặc các bước thuộc loại được mô tả ở đây và/hoặc sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật liên quan khi đọc bản mô tả.

Thuật ngữ "điều trị" hoặc "sự điều trị" trạng thái, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý bao gồm: (1) ngăn ngừa, trì hoãn, hoặc làm giảm tỷ lệ mắc và/hoặc khả năng xuất hiện ít nhất một triệu chứng lâm sàng hoặc cận lâm sàng của trạng thái, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý phát triển ở đối tượng mà có thể bị đau đớn hoặc phải chịu đựng trạng thái, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý nhưng chưa trải qua hoặc biểu hiện triệu chứng lâm sàng hoặc cận lâm sàng của trạng thái, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý; hoặc (2) ức chế trạng thái, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý, tức là, làm ngừng, làm giảm hoặc trì hoãn sự phát triển của bệnh hoặc sự tái phát bệnh hoặc ít nhất một triệu chứng lâm sàng hoặc cận lâm sàng của nó; hoặc (3) làm thuyên giảm bệnh, tức là, giúp đẩy lùi trạng thái, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý hoặc ít nhất một trong các triệu chứng lâm sàng hoặc cận lâm sàng của nó. Lợi ích đối với đối tượng cần điều trị là có ý nghĩa thống kê hoặc ít nhất là có thể nhận thấy được đối với bệnh nhân hoặc đối với bác sĩ.

"Đối tượng" hoặc "bệnh nhân" hoặc "cá thể" hoặc "động vật", như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ người, động vật thú y (ví dụ, mèo, chó, bò, ngựa, cừu, lợn, v.v.) và mô hình động vật thử nghiệm cho các bệnh (ví dụ, chuột nhắt, chuột cống). Theo một phương án, đối tượng này là người.

Như được sử dụng ở đây thuật ngữ "hữu hiệu" áp dụng cho liều hoặc lượng dùng để chỉ lượng hợp chất hoặc dược phẩm đủ để có được hoạt tính mong muốn khi dùng cho đối tượng cần điều trị. Lưu ý rằng khi sử dụng tổ hợp của nhiều hoạt chất thì lượng hữu hiệu của tổ hợp này có thể có hoặc có thể không bao gồm lượng của từng thành phần mà sẽ hữu hiệu nếu được dùng riêng rẽ. Lượng cần dùng chính xác sẽ thay đổi tùy từng đối tượng, tùy thuộc vào loài, độ tuổi, và tình trạng chung của đối tượng, độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh lý đang được điều trị, thuốc hoặc các thuốc cụ thể được sử dụng, cách thức dùng, và yếu tố tương tự.

Cụm từ "dược dụng", như được sử dụng kết hợp với chế phẩm theo sáng chế, dùng để chỉ phân tử và các thành phần khác của chế phẩm này mà dễ dung nạp sinh lý và thường không tạo ra các phản ứng không mong muốn khi dùng cho động vật có vú (ví dụ, người). Tốt hơn là, như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "dược dụng" nghĩa là được phê duyệt bởi cơ quan quản lý thuộc Liên bang hoặc chính quyền sở tại hoặc được liệt kê trong Dược điển Mỹ hoặc các dược điển đã biết thông thường khác để sử dụng cho động vật có vú, và cụ thể hơn là người.

Cụm từ "lượng hữu hiệu điều trị bệnh", như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ lượng tạo ra tác dụng mong muốn khi được sử dụng. Lượng chính xác sẽ phụ thuộc vào mục đích điều trị, và có thể xác định được bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật liên quan bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết (xem tài liệu, ví dụ, Lloyd (1999) The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding).

Các khoảng có thể được biểu diễn ở đây dưới hình thức là từ "khoảng" hoặc "xấp xỉ" một giá trị cụ thể và/hoặc đến "khoảng" hoặc "xấp xỉ" một giá trị cụ thể khác. Khi khoảng này được biểu diễn, thì một phương án khác bao gồm từ một giá trị cụ thể và/hoặc đến giá trị cụ thể khác.

Cụm từ "có chứa" hoặc "chứa" hoặc "gồm" nghĩa bằng ít nhất là hợp chất, phần tử, hạt, hoặc bước của phương pháp được nêu có mặt trong chế phẩm hoặc vật dụng hoặc phương pháp, nhưng không loại trừ sự có mặt của các hợp chất, vật liệu, hạt, hoặc các bước của phương pháp khác, mặc dù các hợp chất, vật liệu, hạt, hoặc bước của phương pháp khác này có cùng chức năng như những gì được nêu ra.

Hợp chất theo sáng chế bao gồm các hợp chất được mô tả chung ở đây, và cũng được minh họa bởi nhóm, nhóm phụ, và loài được bộc lộ ở đây. Như được sử dụng trong bản mô tả, các định nghĩa sau đây sẽ áp dụng trừ khi có quy định khác. Nhằm mục đích của sáng chế, các nguyên tố hóa học được định danh theo Bảng tuần hoàn các nguyên tố hóa học, phiên bản CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed. Ngoài ra, các nguyên tắc chung của hóa hữu cơ được mô tả trong mục "Organic chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, và "March's Advanced Organic

chemistry", 5th Ed., Ed.: Smith, M.B. and March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001, toàn bộ nội dung của các tài liệu này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn. Hóa học của nhóm bảo vệ có thể được xem trong tài liệu, ví dụ, Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., John Wiley & Sons: New York, 2006.

Thuật ngữ "hydrocacbon" được sử dụng ở đây để bao gồm các gốc hydrocacbon (hay còn được gọi là "nhóm") chứa cacbon và hydro và bao gồm cả các dẫn xuất của chúng trong đó một hoặc nhiều nguyên tử cacbon đã được thay thế bằng nguyên tử khác loại bất kỳ, như oxy, nitơ, lưu huỳnh và phospho. Hydrocacbon theo sáng chế tùy ý được thế bằng các nhóm chứa oxy, nitơ, lưu huỳnh và phospho hoặc bằng halogen mà không bị giới hạn. Thuật ngữ hydrocacbon bao hàm cả nhóm béo vòng hoặc nhiều vòng, mạch thẳng, phân nhánh cũng như nhóm thơm và thơm khác loại như được mô tả chi tiết hơn dưới đây.

Thuật ngữ "tùy ý được thế" có nghĩa giống như trong đó phần tử được thế "còn bao gồm từ 0 đến n" phần tử tùy ý, trong đó n là số nguyên, thường nằm trong khoảng từ 0 đến 20, hoặc từ 0 đến 10, hoặc từ 1 đến 3. Ví dụ, khi hydrocacbon béo tùy ý chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, thì điều này có nghĩa giống như trong đó hydrocacbon béo còn chứa từ 0 đến 20 nguyên tử khác loại.

Thuật ngữ "béo" hoặc "nhóm béo", như được sử dụng ở đây, nghĩa là chuỗi hydrocacbon mạch thẳng (tức là, không được phân nhánh), phân nhánh, được thế hoặc không được thế mà no hoàn toàn hoặc chứa một hoặc nhiều đơn vị không no, hoặc hydrocacbon một vòng, hydrocacbon hai vòng, hoặc hydrocacbon ba vòng no hoàn toàn hoặc chứa một hoặc nhiều đơn vị không no, nhưng không thơm (trong bản mô tả này còn gọi là "vòng cacbon", "vòng béo" hoặc "xycloalkyl"), có một điểm gắn với phần còn lại của phân tử, và hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, nhóm béo bao gồm tổ hợp (thể lai) của hydrocacbon mạch thẳng và vòng béo. Theo một số phương án, nhóm béo bao gồm tổ hợp của hydrocacbon mạch thẳng và vòng béo. Trừ khi có quy định khác, nhóm béo này chứa từ 1 đến 30 nguyên tử cacbon béo. Theo một số phương án,

nhóm béo này chứa từ 1 đến 20 nguyên tử cacbon béo. Theo các phương án khác, nhóm béo này chứa từ 1 đến 10 nguyên tử cacbon béo. Theo các phương án khác nữa, nhóm béo này chứa từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon béo, và theo các phương án khác nữa, nhóm béo này chứa 1, 2, 3, hoặc 4 nguyên tử cacbon béo. Các nhóm béo thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, nhóm alkyl, alkenyl, alkynyl mạch thẳng hoặc phân nhánh, được thế hoặc không được thế và tổ hợp/thể lai của chúng như (xycloalkyl)alkyl, (xycloalkenyl)alkyl hoặc (xycloalkyl)alkenyl. Các hydrocacbon béo đơn giản bao gồm metyl, etyl, propyl, butyl, t-butyl, n-butyl, pentyl, và v.v..

Thuật ngữ "béo vòng", "vòng béo", "carboxyclic", "alixyclic" hoặc "vòng béo", như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ cấu trúc vòng no hoặc không no một phần vòng béo một vòng, hai vòng, hoặc nhiều vòng, như được mô tả ở đây, có từ 3 đến 14 phần tử vòng, trong đó hệ vòng béo tùy ý được thế như được định nghĩa ở trên và được mô tả trong bản mô tả. Nhóm vòng béo bao gồm, mà không giới hạn ở, cy xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclopentenyl, xyclohexyl, xyclohexenyl, xycloheptyl, xycloheptenyl, xyclooctyl, xyclooctenyl, norbornyl, adamantyl, và xyclooctadienyl. Theo một số phương án, xycloalkyl có từ 3 đến 6 nguyên tử cacbon. Cấu trúc béo vòng còn bao gồm vòng béo được dung hợp với một hoặc nhiều vòng thơm hoặc không thơm, như decahydronaphtyl hoặc tetrahydronaphtyl, trong đó gốc hoặc điểm gắn nằm trên vòng béo. Theo một số phương án, nhóm béo vòng có hai vòng. Theo một số phương án, nhóm 'carboxyclic có ba vòng. Theo một số phương án, nhóm béo vòng có nhiều vòng. Theo một số phương án, nhóm nhiều vòng béo có cấu trúc vòng xoắn là cấu trúc xoắn của hai hoặc nhiều hơn hai vòng (hệ vòng), trong đó 2 hoặc 3 vòng được liên kết với nhau bởi một nguyên tử chung. Theo một phương án khác, nhóm nhiều vòng béo là cấu trúc hai vòng dung hợp trong đó hai vòng có chung hai nguyên tử liền kề, tức là, các vòng này có chung một liên kết cộng hóa trị, tức là nguyên tử gọi là đầu cầu được nối trực tiếp (ví dụ α-thujen và decalin). Theo một số phương án, cấu trúc nhiều vòng béo là cấu trúc hai vòng bắc cầu trong đó, ví dụ, hai vòng này có chung ba hoặc nhiều hơn ba nguyên tử, tách hai nguyên tử đầu cầu bằng cấu chứa ít nhất một nguyên tử. Ví dụ,

norbornan, còn được biết đến là bixyclo[2.2.1]heptan, có thể được cho là dưới dạng một cặp vòng xyclopentan mỗi vòng có chung ba trong năm nguyên tử cacbon của chúng. Theo một số phương án, "béo vòng" (hoặc "vòng cacbon" hoặc "xycloalkyl") dùng để chỉ C_3–C_8 hydrocacbon một vòng, hoặc C_6-C_{12} hydrocacbon hai vòng no hoàn toàn hoặc chứa một hoặc nhiều đơn vị không no, nhưng không thơm, có một điểm gắn với phần còn lại của phân tử, hoặc C_9–C_{16} hydrocacbon ba vòng no hoàn toàn hoặc chứa một hoặc nhiều đơn vị không no, nhưng không thơm, mà có một điểm gắn với phần còn lại của phân tử.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "alkyl" mang nghĩa thông thường của nó trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể bao gồm nhóm béo no, gồm nhóm alkyl mạch thẳng, nhóm alkyl mạch phân nhánh, nhóm xycloalkyl, nhóm xycloalkyl được thế alkyl, và nhóm alkyl được thế xycloalkyl. Theo một số phương án nhất định, alkyl mạch thẳng hoặc mạch phân nhánh có khoảng từ 1 đến 20 nguyên tử cacbon trong mạch chính của nó (ví dụ, C_1–C_{20} đối với mạch thẳng, C_2–C_{20} đối với mạch phân nhánh), và theo một cách khác, khoảng từ 1 đến 10 nguyên tử cacbon, hoặc khoảng từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon. Theo một số phương án, vòng xycloalkyl có khoảng từ 3 đến 10 nguyên tử cacbon trong cấu trúc vòng của chúng trong đó các vòng này là vòng đơn hoặc vòng đôi, và theo một cách khác, khoảng 5, 6 hoặc 7 nguyên tử cacbon trong cấu trúc vòng. Theo một số phương án, nhóm alkyl có thể là nhóm alkyl bậc thấp, trong đó nhóm alkyl bậc thấp này chứa từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon (ví dụ, C_1–C_4 đối với alkyl bậc thấp mạch thẳng).

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "alkenyl" dùng để chỉ nhóm alkyl, như được định nghĩa ở đây, có một hoặc nhiều liên kết đôi.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "alkynyl" dùng để chỉ nhóm alkyl, như được định nghĩa ở đây, có một hoặc nhiều liên kết ba.

Thuật ngữ "heteroalkyl" mang nghĩa thông thường của nó trong lĩnh vực kỹ thuật này và dùng để chỉ nhóm alkyl như được mô tả ở đây trong đó một hoặc nhiều nguyên tử cacbon được thay thế bằng nguyên tử khác loại (ví dụ, halogen, oxy, nitơ, lưu huỳnh,

và nguyên tử tương tự). Các ví dụ về nhóm heteroalkyl bao gồm, nhưng không giới hạn ở, alkoxy, poly(etylen glycol)-, amino được thế alkyl tetrahydrofuranyl, piperidinyl, morpholinyl, v.v..

Như được sử dụng ở đây, "thơm" dùng để chỉ vòng thơm hoặc thơm khác loại một vòng hoặc nhiều vòng mà có thể có từ 5 đến 20 nguyên tử vòng, và tùy ý có thể có từ 1 đến 20 phần tử thế nguyên tử khác loại. Theo một số phương án, nhóm thơm có thể tùy ý có từ 1 đến 10 phần tử thế nguyên tử khác loại. Theo một số phương án, nhóm thơm có thể tùy ý có từ 1 đến 5 phần tử thế nguyên tử khác loại. Theo một số phương án, nhóm thơm là vòng thơm một vòng hoặc nhiều vòng, như xyclopentadienyl, phenyl, naphtyl hoặc anthraxenyl. Theo một số phương án, nhóm thơm là vòng thơm một vòng hoặc nhiều vòng có từ 5 đến 10 nguyên tử vòng. Theo một số phương án, nhóm thơm là vòng thơm một vòng chứa từ 5 đến 6 nguyên tử cacbon, như phenyl và xyclopentadienyl. Theo một phương án cụ thể, nhóm thơm là nhóm phenyl.

Thuật ngữ "aryl" được sử dụng một mình hoặc dưới dạng một phần của gốc lớn hơn như trong "aralkyl", "aralkoxy", hoặc "aryloxyalkyl", dùng để chỉ hệ vòng một vòng hoặc hai vòng có tổng cộng từ năm đến mười bốn phần tử vòng, trong đó ít nhất một vòng trong hệ này thơm và trong đó mỗi vòng trong hệ này chứa từ 3 đến 7 phần tử vòng. Thuật ngữ "aryl" có thể được sử dụng thay thế cho nhau với thuật ngữ "vòng aryl". Theo một số phương án nhất định của sáng chế, "aryl" dùng để chỉ hệ vòng thơm bao gồm, nhưng không giới hạn ở, phenyl, biphenyl, naphtyl, binaphtyl, anthracyi và dạng tương tự, mà có thể mang một hoặc nhiều phần tử thế. Cũng nằm trong phạm vi của thuật ngữ "aryl", khi nó được sử dụng ở đây, là nhóm trong đó vòng thơm được dung hợp với một hoặc nhiều vòng không thơm, như indanyl, phtalimidyl, naphtimidyl, phenanthridinyl, hoặc tetrahydronaphtyl, và dạng tương tự.

Thuật ngữ "hydrocacbon thơm khác loại", "heteroaryl" và "heteroar-", được sử dụng một mình hoặc dưới dạng một phần của gốc lớn hơn, ví dụ, "heteroaralkyl", hoặc "heteroaralkoxy", dùng để chỉ nhóm có từ 5 đến 10 nguyên tử vòng (tức là, một vòng hoặc hai vòng), theo một số phương án, 5, 6, 9, hoặc 10 nguyên tử vòng. Theo một số

phương án, vòng này có 6, 10, hoặc 14 π electron chung nhau trong dãy vòng; và có, ngoài nguyên tử cacbon, từ một đến năm nguyên tử khác loại. Thuật ngữ "nguyên tử khác loại" dùng để chỉ nitơ, oxy, hoặc lưu huỳnh, và bao gồm dạng được oxy hóa bất kỳ của nitơ hoặc lưu huỳnh, và dạng được tạo bậc bốn bất kỳ của nitơ bazơ. Hydrocacbon thơm khác loại hoặc nhóm heteroaryl bao gồm, mà không giới hạn ở, thienyl, furanyl, pyrolyl, imidazolyl, pyrazolyl, triazolyl, tetrazolyl, oxazolyl, isoxazolyl, oxadiazolyl, thiazolyl, isothiazolyl, thiadiazolyl, pyridyl, pyridazinyl, pyrimidinyl, pyrazinyl, indolizinyl, purinyl, naphtyridinyl, và pteridinyl. Theo một số phương án, heteroaryl là nhóm heterobiaryl, như bipyridyl và dạng tương tự. Thuật ngữ "heteroaryl" và "heteroar-", như được sử dụng ở đây, còn bao gồm các nhóm trong đó vòng thơm khác loại được dung hợp với một hoặc nhiều aryl, vòng béo, hoặc vòng heterocyclyl, trong đó gốc hoặc điểm gắn nằm trên vòng thơm khác loại này. Các ví dụ không giới hạn bao gồm indolyl, isoindolyl, benzothienyl, benzofuranyl, dibenzofuranyl, indazolyl, benzimidazolyl, benzthiazolyl, quinolyl, isoquinolyl, xinnolinyl, phtalazinyl, quinazolinyl, quinoxalinyl, 4H—quinolizinyl, carbazolyl, acridinyl, phenazinyl, phenothiazinyl, phenoxazinyl, tetrahydroquinolinyl, tetrahydroisoquinolinyl, và pyrido[2,3-b]-l,4-oxazin-3(4H)-on. Nhóm heteroaryl có thể là một vòng, hai vòng, ba vòng, bốn vòng, và/hoặc nhiều vòng. Thuật ngữ "heteroaryl" có thể được sử dụng thay thế cho nhau với thuật ngữ "vòng heteroaryl", "nhóm heteroaryl", hoặc "thơm khác loại", thuật ngữ bất kỳ trong số này bao gồm vòng tùy ý được thế. Thuật ngữ "heteroaralkyl" dùng để chỉ nhóm alkyl được thế bằng heteroaryl, trong đó phần alkyl và heteroaryl độc lập tùy ý được thế.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "vòng dị vòng", "heteroxyclyl", "gốc vòng dị vòng", và "vòng dị vòng" được sử dụng thay thế cho nhau và dùng để chỉ gốc vòng dị vòng ổn định một vòng có 5 đến 7 cạnh một vòng hoặc hai vòng 7 đến 10 cạnh no hoặc không no một phần, và có, ngoài các nguyên tử cacbon, một hoặc nhiều, tốt hơn là từ một đến bốn, nguyên tử khác loại, như được định nghĩa ở trên. Khi được sử dụng khi đề cập đến nguyên tử vòng của vòng dị vòng, thuật ngữ "nitơ" bao gồm nitơ được thế.

Vòng dị vòng có thể được gắn vào nhóm treo của nó ở bất kỳ nguyên tử khác loại

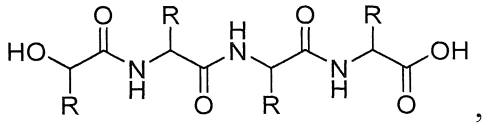
hoặc nguyên tử cacbon nào mà tạo ra cấu trúc ổn định và nguyên tử bất kỳ trong vòng có thể tùy ý được thế. Các ví dụ về gốc vòng dị vòng no hoặc không no một phần bao gồm, mà không giới hạn ở, tetrahydrofuranyl, tetrahydrothiophenyl pyrolidinyl, piperidinyl, pyrolinyl, tetrahydroquinolinyl, tetrahydroisoquinolinyl, decahydroquinolinyl, oxazolidinyl, piperazinyl, dioxanyl, dioxolanyl, diazepinyl, oxazepinyl, thiazepinyl, morpholinyl, và quinuclidinyl. Thuật ngữ "vòng dị vòng", "heteroxyclyl", "vòng heteroxyclyl", "nhóm vòng dị vòng", "gốc vòng dị vòng", và "gốc vòng dị vòng", được sử dụng thay thế cho nhau ở đây, và còn bao gồm nhóm trong đó vòng heteroxyclyl được dung hợp với một hoặc nhiều aryl, heteroaryl, hoặc nhóm vòng béo, như indolinyl, 3H-indolyl, cromanyl, phenanthridinyl, hoặc tetrahydroquinolinyl. Nhóm heteroxyclyl có thể là một vòng, hai vòng, ba vòng, bốn vòng, và/hoặc nhiều vòng. Thuật ngữ "heteroxyclylalkyl" dùng để chỉ nhóm alkyl được thế bằng heteroxyclyl, trong đó phần alkyl và heteroxyclyl độc lập tùy ý được thế.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "không no một phần" dùng để chỉ gốc vòng bao gồm ít nhất một liên kết đôi hoặc liên kết ba. Thuật ngữ "không no một phần" được dự định là bao hàm vòng có nhiều vị trí không no, nhưng không dự định là bao gồm gốc aryl hoặc heteroaryl, như được định nghĩa ở đây.

Thuật ngữ "nguyên tử khác loại" có nghĩa là một hoặc nhiều nguyên tử trong số oxy, lưu huỳnh, nitơ, phospho, hoặc silic (gồm, dạng được oxy hóa bất kỳ của nitơ, lưu huỳnh, phospho, hoặc silic; dạng được tạo bậc bốn của nitơ bazơ bất kỳ hoặc; nitơ thế được của vòng dị vòng.

Thuật ngữ "không được thế", như được sử dụng ở đây, có nghĩa là gốc có một hoặc nhiều đơn vị không no. Thuật ngữ "halogen" nghĩa là F, Cl, Br, hoặc I; thuật ngữ "halogenua" dùng để chỉ gốc halogen hoặc phần tử thế, cụ thể là -F, -Cl, -Br, hoặc -I. như được sử dụng ở đây, "haloalkyl" dùng để chỉ alkyl, như được định nghĩa ở trên, trong đó alkyl bao gồm ít nhất một phần tử thế được chọn từ halogen, ví dụ, flo (F), clo (Cl), bromin (Br), hoặc iot (I). Các ví dụ về haloalkyl bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-CF_3$, $-CH_2CF_3$, $-CCl_2F$, và $-CCl_3$.

Thuật ngữ "nhóm bảo vệ" như được sử dụng ở đây dùng để chỉ nhóm được đưa vào phân tử bằng cách cải biến hóa học nhóm chức như amino hoặc rượu, để thu được tính chọn lọc hóa học trong phản ứng hóa học sau đó. Theo một phương án không giới hạn, nhóm bảo vệ có thể bao gồm 1-cloetyl carbonyl (ACE), axetoyl, benzyl (Bn), benzyloxy carbonyl (CBz), formyl, metyl carbonyl, trifloaxetyl, t-butoxy carbonyl (Boc), và florenylmetyloxycacbonyl (Fmoc). Theo một phương án không giới hạn khác, nhóm bảo vệ bao gồm arbobenzyloxy (Cbz), p-Metoxybenzyl carbonyl (Moz hoặc MeOZ), tert-Butyloxycacbonyl (BOC), 9-Florenylmetyloxycacbonyl (Fmoc), Axetyl (Ac), Benzoyl (Bz), Benzyl (Bn), p-Metoxybenzyl (PMB), 3,4-Dimetoxybenzyl (DMPM), nhóm p-Metoxyphenyl (PMP), Tosyl (Ts), Troc (tricloetyl cloformat), Sulfonamit như Nosyl và Nps. Theo một phương án không giới hạn khác, nhóm bảo vệ bao gồm β-Metoxyetoxymetyl ete (MEM), Dimetoxytrityl, [bis-(4-metoxyphenyl)phenylmetyl] (DMT), Metoxymetyl ete (MOM), Metoxytrityl [(4-metoxyphenyl)diphenylmetyl] (MMT), Metylthiometyl ete, Pivaloyl (Piv), Tetrahydropyranyl (THP), Tetrahydrofuran (THF), Trityl (triphenylmetyl, Tr), Silyl ete (TMS), tert-butyldimetylsilyl (TBDMS), tri-iso-propylsilyloxymetyl (TOM), và triisopropylsilyl (TIPS) ete), TBDMS và TOM; Metyl ete và etoxyetyl ete (EE).

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "axit O-amin" hoặc "axit HO-amin" chỉ axit amin trong đó nhóm amino tự nhiên ở đầu tận cùng N của axit amin hoặc trình tự axit amin đã được thay thế bằng nhóm oxy hoặc hydroxyl, một cách tương ứng. Ví dụ, "O-XXXX" hoặc "HO-XXXX" được dự định là chỉ trình tự axit amin (XXXX) trong đó nhóm amino tự nhiên này ở đầu tận cùng N đã được thay thế bằng nhóm oxy hoặc hydroxyl, một cách tương ứng (ví dụ,  , trong đó mỗi R là chuỗi bên axit amin). Tương tự, thuật ngữ "gốc axit O-amin" hoặc "gốc axit HO-amin" dùng để chỉ gốc hóa học trong hợp chất mà vẫn còn nguyên sau phản ứng hóa học. Ví dụ, "gốc axit O-amin" hoặc "gốc axit HO-amin" dùng để chỉ sản phẩm của quá trình ghép cặp amit hoặc ghép cặp peptit của axit O-amin hoặc axit HO-amin với phần

tử ghép cặp đi kèm thích hợp; trong đó, ví dụ, phân tử nước được loại ra sau khi ghép cặp amit hoặc peptit của axit O-amin hoặc axit HO-amin, thu được sản phẩm có gốc axit O-amin hoặc gốc axit HO-amin được kết hợp trong đó.

Việc chỉ định axit amin hoặc gốc axit amin mà không nêu rõ hóa học lập thể của nó được dự định là bao hàm dạng L của axit amin, dạng D của axit amin, hoặc hỗn hợp raxemic của nó.

Như được mô tả ở đây, hợp chất theo sáng chế có thể chứa các gốc "tùy ý được thế". Nhìn chung, thuật ngữ "được thế", có thể đứng trước thuật ngữ "tùy ý" hoặc không, có nghĩa là một hoặc nhiều nguyên tử hydro của gốc được chỉ định được thay thế bằng phần tử thế thích hợp. Trừ khi có quy định khác, nhóm "tùy ý được thế" có thể có phần tử thế thích hợp ở từng vị trí thế được của nhóm, và khi nhiều hơn một vị trí trong cấu trúc đã cho bất kỳ có thể được thế bằng nhiều hơn một phần tử thế được chọn từ nhóm cụ thể, phần tử thế này có thể giống nhau hoặc khác nhau ở mọi vị trí. Tổ hợp của các phần tử thế được hình dung theo sáng chế này tốt hơn là các phần tử thế dẫn đến việc hình thành các hợp chất ổn định hoặc khả thi về mặt hóa học. Thuật ngữ "ổn định", như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ hợp chất không thay đổi trên thực tế khi trải qua các điều kiện để cho phép sản xuất, phát hiện chúng, và, theo một số phương án nhất định, thu hồi, tinh chế, và sử dụng chúng nhằm một hoặc nhiều mục đích trong số các mục đích được bộc lộ ở đây.

Trừ khi có quy định khác, các cấu trúc được thể hiện ở đây còn có nghĩa là bao gồm tất cả các dạng đồng phân (ví dụ, đồng phân đối ảnh, đồng phân không đối quang, và hình học (hoặc cấu dạng)) của cấu trúc này; ví dụ, cấu hình R và S đối với từng tâm không đối xứng, chất đồng phân liên kết đôi (Z) và (E), và chất đồng phân cấu dạng (Z) và (E). Do đó, các chất đồng phân hóa học lập thể đơn lẻ cũng như hỗn hợp đồng phân đối ảnh, đồng phân không đối quang, và hình học (hoặc cấu dạng) của các hợp chất theo sáng chế nằm trong phạm vi của sáng chế.

Trừ khi có quy định khác, tất cả các dạng hỗ biến của hợp chất theo sáng chế đều nằm trong phạm vi của sáng chế.

Ngoài ra, trừ khi có quy định khác, các cấu trúc được thể hiện ở đây cũng có nghĩa là bao gồm các hợp chất chỉ khác về sự có mặt của một hoặc nhiều nguyên tử được làm giàu đồng vị. Ví dụ, hợp chất có cấu trúc theo sáng chế ngoại trừ việc thay thế hydro bằng đơteri hoặc triti, hoặc sự thay thế của cacbon bằng cacbon được làm giàu ^{11}C hoặc ^{13}C hoặc ^{14}C, hoặc sự thay thế của oxy bằng oxy được làm giàu ^{17}O hoặc ^{18}O, hoặc sự thay thế của nitơ bằng nitơ được làm giàu ^{15}N nằm trong phạm vi của sáng chế này.

Cũng cần hiểu rằng việc đề cập đến một hoặc nhiều bước của phương pháp không loại trừ sự có mặt của các bước bổ sung của phương pháp hoặc xen các bước của phương pháp vào giữa các bước khác được nêu rõ. Tương tự, cũng cần hiểu rằng việc đề cập đến một hoặc nhiều thành phần trong thiết bị hoặc hệ thống không loại trừ sự có mặt của các thành phần bổ sung hoặc việc xen các thành phần vào giữa các thành phần đó được nêu rõ.

Trừ khi có quy định khác, tất cả các dạng tinh thể của hợp chất theo sáng chế và các muối của nó cũng nằm trong phạm vi của sáng chế. Hợp chất theo sáng chế có thể được phân lập ở dạng vô định hình và kết tinh đa hình khác nhau, gồm mà không giới hạn ở dạng vô định hình hoặc kết tinh đa hình mà khan, được hydrat hóa, không được solvat hóa, hoặc được solvat hóa. Các hydrat lấy làm ví dụ bao gồm hemihydrat, monohydrat, dihydrat, và dạng tương tự. Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế ở dạng khan và không được solvat hóa. Thuật ngữ "khan" có nghĩa là dạng tinh thể của hợp chất chủ yếu không chứa nước liên kết trong cấu trúc mạng tinh thể, tức là, hợp chất này không tạo hydrat kết tinh.

Như được sử dụng ở đây, "dạng tinh thể" nghĩa là dùng để chỉ cấu hình mạng nhất định của chất kết tinh. Các dạng tinh thể khác nhau (dạng đa hình) của cùng một chất thường có các mạng tinh thể khác nhau (ví dụ, ô đơn vị) mà được quy cho là do các tính chất vật lý khác nhau là đặc trưng của từng dạng tinh thể. Trong một số trường hợp, các cấu hình mạng khác nhau có hàm lượng nước hoặc dung môi khác nhau. Các mạng tinh thể khác nhau có thể được nhận biết bằng phương pháp đặc trưng hóa trạng thái rắn như bằng kỹ thuật nhiễu xạ bột tia X (X-ray powder diffraction-PXRD). Các phương pháp

đặc trưng hóa khác như đo nhiệt lượng quét vi sai (differential scanning calorimetry - DSC), phân tích nhiệt trọng lượng (thermogravimetric analysis - TGA), hấp phụ hơi động (dynamic vapor sorption - DVS), NMR trạng thái rắn, và phương pháp tương tự cũng giúp nhận biết dạng tinh thể cũng như giúp xác định độ ổn định và hàm lượng dung môi/nước.

Dạng tinh thể của một chất bao gồm cả dạng được solvat hóa (ví dụ, được hydrat hóa) và dạng không được solvat hóa (ví dụ, khan). Dạng được hydrat hóa là dạng tinh thể chứa nước trong mạng tinh thể. Dạng được hydrat hóa có thể là hydrat hóa học lượng pháp, trong đó nước có mặt trong mạng này ở tỷ lệ nước/phân tử nhất định như đối với hemihydrat, monohydrat, dihydrat, v.v.. Dạng được hydrat hóa cũng có thể không hóa học lượng pháp, trong đó hàm lượng nước biến đổi và tùy thuộc vào các điều kiện bên ngoài như độ ẩm.

Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế gần như được phân lập. Thuật ngữ "gần như được phân lập" có nghĩa là hợp chất cụ thể được phân lập ít nhất một phần từ các tạp chất. Ví dụ, theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế chứa tạp chất với lượng ít hơn khoảng 50%, ít hơn khoảng 40%, ít hơn khoảng 30%, ít hơn khoảng 20%, ít hơn khoảng 15%, ít hơn khoảng 10%, ít hơn khoảng 5%, ít hơn khoảng 2,5%, ít hơn khoảng 1%, hoặc ít hơn khoảng 0,5%. Tạp chất thường bao gồm chất bất kỳ không phải là hợp chất gần như được phân lập gồm, ví dụ, các dạng tinh thể khác và các chất khác.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “kháng sinh” (abx hoặc Abx) bao gồm phân tử bất kỳ ức chế đặc hiệu sự phát triển của hoặc tiêu diệt các vi sinh vật, như vi khuẩn, nhưng không gây tử vong vật chủ ở nồng độ và khoảng định liều được sử dụng. Theo một khía cạnh cụ thể, kháng sinh này không độc đối với vật chủ ở nồng độ và khoảng cách định liều được sử dụng. Kháng sinh có hiệu quả chống lại vi khuẩn có thể được phân loại trên phạm vi rộng dưới dạng diệt khuẩn (tức là, trực tiếp tiêu diệt) hoặc kìm khuẩn (tức là, ngăn chặn sự phân chia). Kháng sinh chống diệt khuẩn có thể được phân loại nhỏ hơn dưới dạng phổ hẹp hoặc phổ rộng. Kháng sinh phổ rộng là kháng sinh có tác dụng kháng một phạm vi vi khuẩn rộng gồm cả vi khuẩn gram dương và vi khuẩn

gram âm, trái ngược với kháng sinh phổ hẹp, có tác dụng kháng một phạm vi vi khuẩn hẹp hơn hoặc các họ vi khuẩn cụ thể. Các ví dụ về kháng sinh bao gồm: aminoglycosit, ví dụ, amikaxin, gentamixin, kanamyxin, neomyxin, netilmixin, streptomyxin, tobramyxin, paromyxin, ansamyxins, ví dụ, geldanamyxin, herbimyxin, carbaxephem, ví dụ, loracarbef, carbapenem, ví dụ, ertapenum, doripenem, imipenem/xilastatin, meropenem, xephalosporin (thế hệ thứ nhất), ví dụ, xefadroxil, xefazolin, xefalotin, xefalexin, xephalosporin (thế hệ thứ hai), ví dụ, xeflaclor, xefamandol, xefoxitin, xefprozil, xefuroxim, xephalosporin (thế hệ thứ ba), ví dụ, xefixim, cefdinir, xefditoren, xefoperazon, xefotaxim, xefpodoxim, xeftazidim, xeftibuten, xeftizoxim, xeftriaxon, xephalosporin (thế hệ thứ tư), ví dụ, xefepim, xephalosporin (thế hệ thứ năm), ví dụ, xeftobiprol, glycopeptit, ví dụ, teicoplanin, vancomyxin, macrolit, ví dụ, axithromyxin, clarithromyxin, dirithromyxin, erythromyxin, roxithromyxin, troleandomyxin, telithromyxin, spectinomyxin, monobactam, ví dụ, axtreonam, penixilin, ví dụ, amoxixilin, ampixilin, axloxilin, carbenixilin, cloxaxilin, dicloxaxilin, flucloxaxilin, mezloxilin, metixilin, nafxilin, oxaxilin, penixilin, peperaxilin, ticarxilin, kháng sinh polypeptit, ví dụ, bacitraxin, colistin, polymyxin B, quinolon, ví dụ, xiprofloxaxin, enoxaxin, gatifloxaxin, levofloxaxin, lemefloxaxin, moxifloxaxin, norfloxaxin, orfloxaxin, trovafloxaxin, sulfonamit, ví dụ, mafenit, prontosil, sulfaxetamit, sulfamethizol, sulfanilamit, sulfasalazin, sulfisoxazol, trimethoprim, trimethoprim-sulfametoxazol (TMP-SMX), tetraxyclin, ví dụ, demecloxyclin, doxyxyclin, minoxyclin, oxytetraxyclin, tetraxyclin và các kháng sinh khác như arspenamin, cloramphenicol, clindamyxin, lincomyxin, etambutol, fosfomyxin, axit fusidic, furazolidon, isoniazid, linezolid, metronidazol, mupiroxin, nitrofurantoin, platensimyxin, pyrazinamit, quinupristin/dalfopristin, rifampin/rifampicin hoặc timidazole.

Thuật ngữ "*Staphylococcus aureus* kháng methixilin" (MRSA), còn được biết đến là *Staphylococcus aureus* kháng nhiều thuốc hoặc *Staphylococcus aureus* kháng oxaxilin (ORSA), dùng để chỉ chủng *Staphylococcus aureus* bất kỳ kháng lại kháng sinh

beta-lactam, mà bao gồm penixilin (ví dụ, methixilin, dicloxaxilin, nafxilin, oxaxilin, v.v.) và xephalosporin. "*Staphylococcus aureus* nhạy Methixilin" (MSSA) dùng để chỉ chủng *Staphylococcus aureus* bất kỳ nhạy với kháng sinh betalactam.

Thuật ngữ "nồng độ ức chế tối thiểu" ("minimum inhibitory concentration - MIC") dùng để chỉ nồng độ thấp nhất để kháng khuẩn mà sẽ ức chế sự phát triển nhìn thấy của vi sinh vật sau khi ủ qua đêm. Thử nghiệm để xác định MIC là đã biết. Một phương pháp là như được mô tả trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế dưới đây.

Tỷ lệ thuốc đối với kháng thể (DAR) là số lượng thuốc trung bình được liên hợp với kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên, có tác dụng quan trọng đến độ hiệu nghiệm, hoạt lực và dược động học của ADC. Theo nhiều phương án khác nhau, DAR là từ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, hoặc 8 phân tử thuốc trong mỗi kháng thể. Theo một số phương án, DAR nằm trong khoảng từ 1 đến 8. Theo một số phương án, DAR nằm trong khoảng từ 1 đến 6. Theo một số phương án nhất định, DAR nằm trong khoảng từ 2 đến 4. Trong một số trường hợp, DAR nằm trong khoảng từ 2 đến 3. Trong một số trường hợp, DAR nằm trong khoảng từ 0,5 đến 3,5. Theo một số phương án, DAR bằng khoảng 1, hoặc khoảng 1,5, hoặc khoảng 2, hoặc khoảng 2,5, hoặc khoảng 3, hoặc khoảng 3,5.

Cụm từ "MSR1", "hMSR1" và dạng tương tự, như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ thụ thể trime nhận diện hình mẫu glycoprotein truyền tín hiệu xuyên màng đơn typ II của người chứa (i) trình tự axit amin như nêu trong NCBI số gia nhập NP_002436.1, (ii) trình tự axit amin như nêu trong NCBI số gia nhập NP_619729.1, và/hoặc (iii) trình tự axit amin như nêu trong NCBI số gia nhập NP_619730.1, biểu thị cho các loại và dạng đồng phân khác nhau của thụ thể scavenger nhóm A của đại thực bào. Cụm từ "MSR1" bao gồm cả phân tử MSR1 monome và multime. Như được sử dụng ở đây, cụm từ "MSR1 dạng monome của người" có nghĩa là MSR1 protein hoặc phần của nó mà không chứa hoặc có miền multime hóa bất kỳ và tồn tại trong các điều kiện bình thường dưới dạng một phân tử MSR1 đơn lẻ mà không liên kết trực tiếp về mặt vật lý với một phân tử MSR1 khác. Phân tử MSR1 monome lấy làm ví dụ là phân tử được đề cập đến ở đây là "His-hMSR1" chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 393 (xem trong,

ví dụ, Ví dụ 25, trong bản mô tả này).

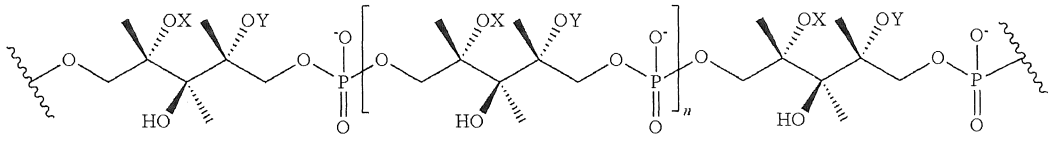
Tất cả các phần đề cập đến protein, polypeptit và mảnh protein ở đây được dự định là dùng để chỉ phiên bản người của protein, polypeptit hoặc mảnh protein tương ứng trừ khi rõ ràng được chỉ ra là từ loài không phải người. Vì vậy, cụm từ "MSR1" có nghĩa là MSR1 người trừ khi được nêu cụ thể là từ loài không phải người, ví dụ, "MSR1 chuột nhắt", "MSR1 khỉ", *v.v.*.

Như được sử dụng ở đây, cụm từ "MSR1 được biểu hiện trên bề mặt tế bào" có nghĩa là một hoặc nhiều MSR1 protein, hoặc miền ngoại bào của chúng, mà được biểu hiện trên bề mặt của tế bào *in vitro* hoặc *in vivo*, sao cho ít nhất một phần của MSR1 protein được lộ ra bên ngoài tế bào của màng tế bào và có thể tiếp cận phần gắn kết kháng nguyên của kháng thể. "MSR1 được biểu hiện trên bề mặt tế bào" có thể chứa hoặc gồm có MSR1 protein được biểu hiện trên bề mặt của tế bào mà thường biểu hiện MSR1 protein. Theo một cách khác, "MSR1 được biểu hiện trên bề mặt tế bào" có thể chứa hoặc gồm có MSR1 protein được biểu hiện trên bề mặt của tế bào mà thường không biểu hiện MSR1 người trên bề mặt của nó nhưng đã được xử lý kỹ thuật nhân tạo để biểu hiện MSR1 trên bề mặt của nó.

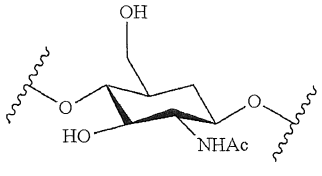
Như được sử dụng ở đây, cụm từ "kháng thể kháng MSR1" bao gồm kháng thể hóa trị một có tính đặc hiệu duy nhất, cũng như kháng thể đặc hiệu kép chứa nhánh thứ nhất gắn kết MSR1 và nhánh thứ hai gắn kết kháng thể (đích) thứ hai, trong đó nhánh kháng MSR1 chứa trình tự bất kỳ trong số các trình tự HCVR/LCVR hoặc CDR như nêu trong Bảng 9 trong bản mô tả. Cụm từ "kháng thể kháng MSR1" còn bao gồm thể liên hợp kháng thể-thuốc (ADC) chứa kháng thể kháng MSR1 hoặc phần gắn kết kháng nguyên của nó được liên hợp với thuốc hoặc chất trị liệu. Cụm từ "kháng thể kháng MSR1" còn bao gồm thể liên hợp kháng thể-nuclit phóng xạ (ARC) chứa kháng thể kháng MSR1 hoặc phần gắn kết kháng nguyên của nó được liên hợp với nuclit phóng xạ.

Thuật ngữ "axit teichoic trong vách" (WTA) dùng để chỉ glycopolyme anion mà được gắn cộng hóa trị với peptidoglycan thông qua liên kết phosphodieste với C6

hydroxyl của đường axit N-axetyl muramic. Trong khi cấu trúc hóa học chính xác có thể biến đổi giữa các sinh vật, theo một số phương án, WTA là axit teichoic ribitol có các đơn vị lặp của liên kết 1,5-phosphodieste của D-ribitol và D-alanyl este ở vị trí 2 và phần tử thế glycosyl ở vị trí 4. Nhóm glycosyl có thể là N-axetylglucosaminyl α (alpha) hoặc β (beta) như có trong *S. aureus*. Các hydroxyl trên đơn vị lặp alditol/rượu đường phosphat có thể được thế bằng cationic D-alanin este và monosacarit, như N-axetylglucosamin. Phần tử thế hydroxyl có thể bao gồm D-alanyl và alpha (α) hoặc beta (β) GlcNHAc. Theo một phương án cụ thể, WTA bao gồm hợp chất có công thức:



trong đó đường lượn sóng chỉ các đơn vị liên kết lặp hoặc vị trí gắn của Polyalditol-P hoặc peptidoglycan, trong đó X là D-alanyl hoặc —H; và Y là α (alpha)-GlcNHAc hoặc β (beta)-GlcNHAc.



GlcNHAc

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "kháng thể kháng WTA" dùng để chỉ kháng thể bất kỳ mà gắn kết axit teichoic trong vách (WTA) là WTA alpha hoặc WTA beta. Thuật ngữ "kháng thể kháng axit teichoic trong vách alpha" hoặc "kháng thể kháng WTA alpha" hoặc "kháng αWTA" hoặc "kháng thể kháng αGlcNac WTA" được sử dụng thay thế cho nhau để chỉ kháng thể gắn kết đặc hiệu WTA alpha. Tương tự, thuật ngữ "kháng thể kháng axit teichoic trong vách beta" hoặc "kháng thể kháng WTA beta" hoặc "kháng βWTA" hoặc "kháng thể kháng βGlcNac WTA" được sử dụng thay thế cho nhau để chỉ kháng thể mà gắn kết đặc hiệu WTA beta. Cụm từ "kháng thể kháng WTA" bao gồm kháng thể hóa trị một có một tính đặc hiệu, cũng như kháng thể đặc hiệu kép chứa nhánh thứ nhất gắn kết WTA (là WTA alpha hoặc WTA beta) và nhánh thứ hai gắn kết kháng thể (đích) thứ hai, trong đó nhánh kháng WTA chứa trình tự bất kỳ trong

số các trình tự HCVR/LCVR hoặc CDR như nêu trong Bảng 2A và Bảng 2B trong bản mô tả. Cụm từ "kháng thể kháng WTA" còn bao gồm thể liên hợp kháng thể-thuốc (ADC) chứa kháng thể kháng WTA hoặc phần gắn kết kháng nguyên của nó được liên hợp với thuốc hoặc chất trị liệu.

Thuật ngữ "kháng thể", như được sử dụng ở đây, nghĩa là phân tử gắn kết kháng nguyên hoặc phức hợp phân tử gắn kết kháng nguyên bất kỳ chứa ít nhất một vùng quyết định tính bổ thể (CDR) mà gắn kết đặc hiệu với hoặc tương tác với kháng nguyên cụ thể (ví dụ, MSR1, WTA, hoặc Protein A). Thuật ngữ "kháng thể" bao gồm phân tử globulin miễn dịch chứa bốn chuỗi polypeptit, hai chuỗi nặng (H) và hai chuỗi nhẹ (L) nối với nhau bằng liên kết disulfua, cũng như multime của nó (ví dụ, IgM). Mỗi chuỗi nặng gồm vùng biến đổi chuỗi nặng (trong bản mô tả này viết tắt là HCVR hoặc V_H) và vùng hằng định chuỗi nặng. Vùng hằng định chuỗi nặng chứa ba miền, C_H1, C_H2 và C_H3. Mỗi chuỗi nhẹ gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ (trong bản mô tả này viết tắt là LCVR hoặc V_L) và vùng hằng định chuỗi nhẹ. Vùng hằng định chuỗi nhẹ chứa một miền (C_L1). Vùng V_H và vùng V_L có thể được chia nhỏ hơn thành vùng có tính siêu biến, gọi là vùng quyết định tính bổ thể (CDR), nằm rải rác với vùng được bảo toàn hơn, gọi là vùng khung làm việc (framework region-FR). Mỗi V_H và V_L gồm ba CDR và bốn FR, được sắp xếp từ đầu tận amino đến đầu tận carboxy theo thứ tự sau: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Theo các phương án khác nhau, FR của kháng thể (hoặc phần gắn kết kháng nguyên của nó) có thể giống hệt với trình tự dòng mầm của người, hoặc có thể được cải biến bằng phương pháp tự nhiên hoặc nhân tạo. Trình tự liên ứng axit amin có thể được xác định dựa trên phân tích so sánh hai hoặc nhiều hơn hai CDR.

Thuật ngữ "kháng thể", như được sử dụng ở đây, còn bao gồm mảnh gắn kết kháng nguyên của phân tử kháng thể đầy đủ. Thuật ngữ "phần gắn kết kháng nguyên" của kháng thể, "mảnh gắn kết kháng nguyên" của kháng thể, và dạng tương tự, như được sử dụng ở đây, bao gồm polypeptit hoặc glycoprotein bất kỳ có trong tự nhiên, thu được bằng cách enzym hóa, tổng hợp, hoặc được thiết kế di truyền mà gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên để tạo ra phức hợp. Mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể có thể thu

được, ví dụ, từ phân tử kháng thể đầy đủ bằng cách sử dụng kỹ thuật tiêu chuẩn thích hợp bất kỳ như kỹ thuật tiêu hóa phân hủy protein hoặc kỹ thuật thiết kế di truyền tái tổ hợp bao gồm điều khiển và biểu hiện ADN mã hóa miền biến đổi kháng thể và tùy ý miền hằng định. ADN là đã biết và/hoặc dễ có từ, ví dụ, các nguồn thương mại, các thư viện ADN (gồm, ví dụ, thư viện thể thực khuẩn-kháng thể), hoặc có thể được tổng hợp. ADN có thể được giải trình tự và được điều khiển bằng phương pháp hóa học hoặc bằng cách sử dụng các kỹ thuật sinh học phân tử, ví dụ, để sắp xếp một hoặc nhiều miền biến đổi và/hoặc miền hằng định vào cấu hình thích hợp, hoặc để đưa codon vào, tạo ra các gốc xystein, cải biến, thêm vào hoặc làm khuyết axit amin, *v.v.*.

Các ví dụ không giới hạn về mảnh gắn kết kháng nguyên bao gồm: (i) mảnh Fab; (ii) mảnh F(ab')2; (iii) mảnh Fd; (iv) mảnh Fv; (v) phân tử Fv chuỗi đơn (scFv); (vi) mảnh dAb; và (vii) đơn vị nhận diện tối thiểu gồm các gốc axit amin sao chép vùng siêu biến của kháng thể (ví dụ, vùng quyết định tính bổ thể (CDR) được phân lập như CDR3 peptit), hoặc FR3-CDR3-FR4 peptit ràng buộc. Các phân tử được xử lý kỹ thuật khác, như kháng thể đặc hiệu miền, kháng thể miền đơn, kháng thể khuyết miền, kháng thể khảm, kháng thể ghép CDR, kháng thể thể đôi, kháng thể thể ba, kháng thể thể bốn, kháng thể nhỏ, kháng thể nano (ví dụ, kháng thể nano hóa trị một, kháng thể nano hóa trị, v.v.), dược miễn dịch mô đun nhỏ (small modular immunopharmaceutical - SMIP), và miền IgNAR biến đổi của cá mập, cũng nằm trong cụm từ "mảnh gắn kết kháng nguyên", như được sử dụng ở đây.

Mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể thường chứa ít nhất một miền biến đổi. Miền biến đổi này có thể có kích thước bất kỳ hoặc hợp phần axit amin bất kỳ và thường chứa ít nhất một CDR liền kề với hoặc trong khung với một hoặc nhiều trình tự khung làm việc. Trong mảnh gắn kết kháng nguyên có miền V_H liên quan đến miền V_L, miền V_H và miền V_L này có thể được nằm đối với một miền khác theo cách sắp xếp thích hợp bất kỳ. Ví dụ, vùng biến đổi có thể là dime và chứa V_H-V_H, V_H-V_L hoặc V_L-V_L dime. Theo một cách khác, mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể có thể chứa miền V_H hoặc V_L monome.

Theo một số phương án nhất định, mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể có thể chứa ít nhất một miền biến đổi được liên kết cộng hóa trị với ít nhất một miền hằng định. Các cấu hình lấy làm ví dụ không giới hạn về miền biến đổi và miền hằng định mà có thể được tìm thấy trong mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể theo sáng chế bao gồm: (i) V_H-C_H1; (ii) V_H-C_H2; (iii) V_H-C_H3; (iv) V_H-C_H1-C_H2; (v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3; (vi) V_H-C_H2-C_H3; (vii) V_H-C_L; (viii) V_L-C_H1; (ix) V_L-C_H2; (x) V_L-C_H3; (xi) V_L-C_H1-C_H2; (xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3; (xiii) V_L-C_H2-C_H3; và (xiv) V_L-C_L. Trong cấu hình bất kỳ của miền biến đổi và miền hằng định, gồm cấu hình bất kỳ trong số các cấu hình lấy làm ví dụ được liệt kê ở trên, miền biến đổi và miền hằng định có thể được liên kết trực tiếp với một một miền khác hoặc có thể được liên kết bởi vùng bản lề hoặc vùng liên kết hoàn toàn hoặc một phần. Vùng bản lề có thể gồm ít nhất 2 (ví dụ, 5, 10, 15, 20, 40, 60 hoặc hơn 60) axit amin mà dẫn đến sự liên kết linh hoạt hoặc bán linh hoạt giữa các miền biến đổi và/hoặc miền hằng định liền kề trong một phân tử polypeptit. Ngoài ra, mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể theo sáng chế có thể chứa homo-dime hoặc hetero-dime (hoặc các multime khác) có cấu hình bất kỳ trong số các cấu hình miền biến đổi và miền hằng định được liệt kê ở trên kết hợp không cộng hóa trị với một miền khác và/hoặc với một hoặc nhiều miền V_H hoặc V_L monome (ví dụ, bằng (các) liên kết disulfua).

Như đối với phân tử kháng thể đầy đủ, mảnh gắn kết kháng nguyên có thể đơn hiệu hoặc đa hiệu (ví dụ, đặc hiệu kép). Mảnh gắn kết kháng nguyên đa hiệu của kháng thể thường chứa ít nhất hai miền biến đổi khác nhau, trong đó mỗi miền biến đổi có khả năng gắn kết đặc hiệu với một kháng nguyên riêng biệt hoặc với epitop khác trên cùng một kháng nguyên. Hình thức kháng thể đa hiệu bất kỳ, bao gồm các hình thức kháng thể đặc hiệu kép lấy làm ví dụ được bộc lộ ở đây, có thể được biến đổi thích hợp để sử dụng trong ngữ cảnh của mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể theo sáng chế bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường sẵn có trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Kháng thể theo sáng chế có thể hoạt động thông qua tính gây độc tế bào phụ thuộc vào bổ thể (complement-dependent cytotoxicity - CDC) hoặc tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc vào kháng thể (antibody-dependent cell-mediated

cytotoxicity - ADCC). "Tính gây độc tế bào phụ thuộc vào bổ thể" (CDC) dùng để chỉ sự phân giải tế bào biểu hiện kháng nguyên bởi kháng thể theo sáng chế với sự có mặt của bổ thể. "Tính gây độc tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc vào kháng thể" (ADCC) dùng để chỉ phản ứng qua trung gian tế bào trong đó tế bào gây độc tế bào không đặc hiệu biểu hiện thụ thể Fc (FcR) (ví dụ, tế bào diệt tự nhiên (Natural Killer-NK), bạch cầu trung tính, và đại thực bào) nhận diện kháng thể được gắn kết trên tế bào đích và từ đó dẫn đến phân giải tế bào đích. CDC và ADCC có thể được đo bằng cách sử dụng thử nghiệm đã biết rõ và có sẵn trong lĩnh vực kỹ thuật này. (Xem tài liệu, ví dụ, Các patent Mỹ số 5500362 và 5821337, và Clynes *et al.* (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) *95*:652-656). Vùng hằng định của kháng thể có vai trò quan trọng để kháng thể có khả năng sửa tính gây độc tế bào phụ thuộc vào bổ thể và phụ thuộc vào tế bào điều tiết. Vì vậy, isotyp của kháng thể có thể được chọn lọc trên cơ sở liệu kháng thể đó có được mong đợi là điều tiết tính gây độc tế bào hay không.

Theo một số phương án nhất định, kháng thể được bộc lộ ở đây là kháng thể người. Thuật ngữ "kháng thể người", như được sử dụng ở đây, được dự định là bao gồm các kháng thể có vùng biến đổi và vùng hằng định có nguồn gốc từ trình tự globulin miễn dịch dòng mầm của người. Kháng thể người theo sáng chế có thể bao gồm các gốc axit amin không được mã hóa bởi trình tự globulin miễn dịch dòng mầm của người (ví dụ, các đột biến được đưa vào bằng kỹ thuật gây đột biến ngẫu nhiên hoặc gây đột biến đặc hiệu điểm *in vitro* hoặc bằng cách gây đột biến soma *in vivo*), ví dụ, trong các CDR và đặc biệt là CDR3. Tuy nhiên, thuật ngữ "kháng thể người", như được sử dụng ở đây, không được dự định là bao gồm kháng thể trong đó trình tự CDR có nguồn gốc từ dòng mầm của một loài động vật có vú khác, như chuột nhắt, đã được ghép lên trên trình tự khung làm việc của người.

Kháng thể được bộc lộ ở đây có thể, theo một số phương án, là kháng thể người tái tổ hợp. Thuật ngữ "kháng thể người tái tổ hợp", như được sử dụng ở đây, được dự định là bao gồm tất cả các kháng thể người được chuẩn bị, biểu hiện, tạo ra hoặc phân lập bằng phương tiện tái tổ hợp, như các kháng thể được biểu hiện bằng cách sử dụng

vectơ biểu hiện tái tổ hợp được chuyển nhiễm vào tế bào vật chủ (được mô tả chi tiết hơn dưới đây), các kháng thể được phân lập từ thư viện kháng thể người tổ hợp tái tổ hợp (được mô tả chi tiết hơn dưới đây), các kháng thể được phân lập từ động vật (ví dụ, chuột nhắt) chuyển gen đối với các gen globulin miễn dịch người (xem tài liệu ví dụ, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295) hoặc các kháng thể được chuẩn bị, biểu hiện, tạo ra hoặc được phân lập bằng phương tiện khác bất kỳ bao gồm thao tác ghép nối trình tự gen globulin miễn dịch người với các trình tự ADN khác. Các kháng thể người tái tổ hợp này có vùng biến đổi và vùng hằng định có nguồn gốc từ trình tự globulin miễn dịch dòng mầm của người. Tuy nhiên, theo một số phương án nhất định, các kháng thể người tái tổ hợp này được cho đột biến *in vitro* (hoặc, khi động vật chuyển gen đối với trình tự Ig người được sử dụng, kỹ thuật gây đột biến soma *in vivo*) và từ đó các trình tự axit amin của vùng V_H và V_L của kháng thể tái tổ hợp là các trình tự mà, dù có nguồn gốc từ và liên quan đến trình tự V_H và V_L dòng mầm của người, có thể không có trong tự nhiên trong danh mục dòng mầm kháng thể người *in vivo*.

Kháng thể người có thể tồn tạo dưới hai dạng mà liên quan đến tính không đồng nhất bản lề. Đối với một dạng, phân tử globulin miễn dịch chứa cấu trúc bốn chuỗi ổn định có xấp xỉ 150 đến 160 kDa trong đó các dime được giữ cùng nhau bằng liên kết disulfua của chuỗi nặng liên chuỗi. Đối với hình thức thứ hai, các dime không được liên kết thông qua liên kết disulfua liên chuỗi và phân tử có khoảng từ 75 đến 80 kDa được tạo ra gồmchuỗi nhẹ và chuỗi nặng kết hợp cộng hóa trị (kháng thể một nửa). Các dạng này thực sự khó tách, ngay cả sau khi tinh chế ái lực.

Tần suất xuất hiện dạng thứ hai trong nhiều isotyp IgG nguyên vẹn là do, nhưng không giới hạn ở, các khác biệt cấu trúc liên quan đến vùng bản lề isotyp của kháng thể. Đột biến thay thế một axit amin ở vùng bản lề của bản lề IgG4 người có thể làm giảm đáng kể sự xuất hiện của dạng thứ hai (Angal et al. (1993) Molecular Immunology 30:105) đến mức độ thường quan sát được bằng cách sử dụng bản lề IgG1 người. Các phương án được bộc lộ ở đây bao hàm các kháng thể có một hoặc nhiều đột biến ở vùng, C_H2 hoặc C_H3 rmà có thể được mong đợi là, ví dụ, để cải thiện hiệu suất sản xuất của

dạng kháng thể mong muốn.

Kháng thể được bộc lộ ở đây có thể là kháng thể được phân lập. "Kháng thể được phân lập", như được sử dụng ở đây, nghĩa là kháng thể đã được nhận diện và tách và/hoặc thu hồi ít nhất một thành phần của môi trường tự nhiên của nó. Ví dụ, kháng thể đã được tách hoặc loại bỏ khỏi ít nhất một thành phần của sinh vật, hoặc từ mô hoặc tế bào trong đó kháng thể có trong tự nhiên hoặc được sản xuất trong tự nhiên, là "kháng thể được phân lập" đối với mục đích của sáng chế. Kháng thể được phân lập còn bao gồm kháng thể *in situ* trong tế bào tái tổ hợp. Kháng thể được phân lập là kháng thể đã trải qua ít nhất một bước tinh chế hoặc phân lập. Theo một số phương án nhất định, kháng thể được phân lập có thể gần như không có vật liệu tế bào và/hoặc hóa chất khác.

Kháng thể được bộc lộ ở đây có thể chứa một hoặc nhiều đột biến thay thế, cài xen và/hoặc làm khuyết axit amin trong vùng khung làm việc và/hoặc CDR của miền biến đổi chuỗi nặng và miền biến đổi chuỗi nhẹ so với các trình tự dòng mầm tương ứng mà kháng thể có nguồn gốc từ đó. Các đột biến này có thể dễ dàng xác định bằng cách so sánh các trình tự axit amin được bộc lộ ở đây với các trình tự dòng mầm sẵn có từ, ví dụ, cơ sở dữ liệu công khai về trình tự kháng thể. Các phương án bao gồm kháng thể, và mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, mà có nguồn gốc từ trình tự axit amin bất kỳ được bộc lộ ở đây, trong đó một hoặc nhiều axit amin trong một hoặc nhiều vùng khung làm việc và/hoặc vùng CDR được cho đột biến thành (các) gốc tương ứng của trình tự dòng mầm mà kháng thể có nguồn gốc từ đó, hoặc thành (các) gốc tương ứng của một trình tự dòng mầm của người khác, hoặc thành đột biến thay thế axit amin bảo toàn của (các) gốc dòng mầm tương ứng (sự thay đổi trình tự này được đề cập chung trong bản mô tả này là "đột biến dòng mầm"). Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật liên quan, bắt đầu bằng trình tự vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ được bộc lộ ở đây, có thể dễ dàng tạo ra nhiều kháng thể và mảnh gắn kết kháng nguyên mà chứa một hoặc nhiều đột biến dòng mầm riêng lẻ hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án nhất định, tất cả các gốc khung làm việc và/hoặc CDR trong miền V_H và/hoặc V_L đều được đột biến ngược lại thành các gốc được tìm thấy trong trình tự dòng mầm

ban đầu mà kháng thể có nguồn gốc từ đó. Theo các phương án khác, chỉ có một số gốc được cho đột biến ngược lại thành trình tự dòng mầm ban đầu, ví dụ, chỉ có các gốc được đột biến tìm thấy trong 8 axit amin đầu tiên của FR1 hoặc trong 8 axit amin cuối cùng của FR4, hoặc chỉ các gốc đã đột biến tìm thấy trong CDR1, CDR2 hoặc CDR3. Theo các phương án khác, một hoặc nhiều gốc trong số (các) gốc khung làm việc và/hoặc CDR được đột biến thành (các) gốc tương ứng của một trình tự dòng mầm khác (tức là, trình tự dòng mầm khác với trình tự dòng mầm mà kháng thể có nguồn gốc ban đầu từ đó). Ngoài ra, kháng thể theo sáng chế có thể chứa tổ hợp bất kỳ của hai hoặc nhiều hơn hai đột biến dòng mầm trong vùng khung làm việc và/hoặc CDR, ví dụ, trong đó một số gốc riêng lẻ được đột biến thành gốc tương ứng của một trình tự dòng mầm cụ thể trong khi một số gốc khác mà khác với trình tự dòng mầm ban đầu vẫn giữ nguyên hoặc được đột biến thành gốc tương ứng của một trình tự dòng mầm khác. Mỗi khi thu được thì kháng thể và mảnh gắn kết kháng nguyên chứa một hoặc nhiều đột biến dòng mầm có thể dễ dàng được thử nghiệm về một hoặc nhiều tính chất mong muốn như, độ đặc hiệu gắn kết được cải thiện, ái lực gắn kết gia tăng, tính sinh đối kháng hoặc sinh chủ vận được cải thiện hoặc tăng cường (nếu có thể tùy trường hợp), tính gây đột biến giảm đi, *v.v.*. Kháng thể và mảnh gắn kết kháng nguyên thu được theo cách tổng quát này được bao hàm trong các phương án được bộc lộ ở đây.

Các phương án còn bao gồm kháng thể chứa các biến thể của trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin của HCVR, LCVR, và/hoặc CDR được bộc lộ ở đây có một hoặc nhiều đột biến thay thế bảo toàn. Ví dụ, các phương án bao gồm kháng thể kháng MSR1 chứa các trình tự axit amin của HCVR, LCVR, và/hoặc CDR có, ví dụ, 10 hoặc ít hơn 10, 8 hoặc ít hơn 8, 6 hoặc ít hơn 6, 4 hoặc ít hơn 4, v.v. đột biến thay thế axit amin bảo toàn so với trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin của HCVR, LCVR, và/hoặc CDR nêu trong Bảng 9 trong bản mô tả. Một ví dụ khác là, các phương án bao gồm kháng thể kháng WTA chứa trình tự axit amin của HCVR, LCVR, và/hoặc CDR có, ví dụ, 10 hoặc ít hơn 10, 8 hoặc ít hơn 8, 6 hoặc ít hơn 6, 4 hoặc ít hơn 4, v.v. đột biến thay thế axit amin bảo toàn so với trình tự axit amin bất kỳ trong số các

trình tự axit amin của HCVR, LCVR, và/hoặc CDR nêu trong Bảng 2A hoặc 2B ở đây. Một ví dụ khác nữa là, các phương án bao gồm kháng thể kháng protein A chứa trình tự axit amin của HCVR, LCVR, và/hoặc CDR có, ví dụ, 10 hoặc ít hơn 10, 8 hoặc ít hơn 8, 6 hoặc ít hơn 6, 4 hoặc ít hơn 4, v.v. đột biến thay thế axit amin bảo toàn so với trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin của HCVR, LCVR, và/hoặc CDR nêu trong Bảng 3A ở đây.

Thuật ngữ "epitop" dùng để chỉ thể quyết định kháng nguyên tương tác với điểm gắn kết kháng nguyên đặc hiệu trong vùng biến đổi của phân tử kháng thể được biết đến là paratop. Một kháng thể có thể có nhiều hơn một epitop. Vì vậy, các kháng thể khác nhau có thể gắn kết với các vùng khác nhau trên một kháng nguyên và có thể có các tác dụng sinh học khác nhau. Epitop có thể có cấu dạng hoặc thẳng. Cấu dạng epitop được tạo ra bởi các axit amin chung nhân trong không gian từ các đoạn khác nhau của chuỗi polypeptit mạch thẳng. Epitop mạch thẳng là epitop được tạo ra bởi các gốc axit amin liền kề trong chuỗi polypeptit. Trong trường hợp nhất định, epitop có thể bao gồm các gốc sacarit, nhóm phosphoryl, hoặc nhóm sulfonyl trên kháng nguyên đó.

Thuật ngữ "độ đồng nhất cơ bản" hoặc "gần như đồng nhất", khi đề cập đến axit nucleic hoặc mảnh của nó, chỉ ra rằng, khi được sắp xếp thẳng hàng một cách tối ưu với các đột biến cài xen hoặc làm khuyết nucleotit thích hợp với một axit nucleic khác (hoặc chuỗi bổ sung của nó), có độ đồng nhất trình tự nucleotit ít nhất là khoảng 95%, và tốt hơn nữa bằng ít nhất là khoảng 96%, 97%, 98% hoặc 99% cặp nucleotit, như được xác định bởi thuật toán đã biết bất kỳ về độ đồng nhất trình tự, như FASTA, BLAST hoặc GAP, như được nêu dưới đây. Phân tử axit nucleic có độ đồng nhất cơ bản với phân tử axit nucleic tham chiếu có thể, trong một số trường hợp, mã hóa polypeptit chứa trình tự axit amin giống hoặc gần như tương tự như polypeptit được mã hóa bởi phân tử axit nucleic tham chiếu đó.

Như được áp dụng cho polypeptit, thuật ngữ "độ tương tự cơ bản" hoặc "gần như tương tự" có nghĩa là hai trình tự peptit, khi được sắp hàng tối ưu, như bằng chương trình GAP hoặc BESTFIT bằng cách sử dụng các trọng số khoảng cách mặc định, có chung

độ đồng nhất trình tự ít nhất là 95%, thậm chí tốt hơn nữa là độ đồng nhất trình tự ít nhất là 98% hoặc 99%. Tốt hơn là, các vị trí gốc mà không giống nhau, khác nhau ở đột biến thay thế axit amin bảo toàn. "Đột biến thay thế axit amin bảo toàn" là đột biến trong đó gốc axit amin được thế bằng một gốc axit amin khác có chuỗi bên (nhóm R) có các tính chất hóa học tương tự (ví dụ, điện tích hoặc tính kỵ nước). Nhìn chung, đột biến thay thế axit amin bảo toàn về cơ bản sẽ không làm thay đổi các tính chất chức năng của protein. Trong trường hợp hai hoặc nhiều hơn hai trình tự axit amin khác với nhau ở các đột biến thay thế bảo toàn, thì phần trăm độ đồng nhất trình tự hoặc mức độ tương tự có thể được điều chỉnh lên để chỉnh sửa bản chất bảo toàn của đột biến thay thế. Các phương tiện nhằm thực hiện sự điều chỉnh này là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật liên quan. Xem tài liệu, ví dụ, Pearson (1994) Methods Mol. Biol. 24: 307-331. Các ví dụ về nhóm axit amin có chuỗi bên có các tính chất hóa học tương tự bao gồm (1) chuỗi bên béo: glyxin, alanin, valin, leuxin và isoleuxin; (2) chuỗi bên béo-hydroxyl: serin và threonin; (3) chuỗi bên chứa amit: asparagin và glutamin; (4) chuỗi bên thơm: phenylalanin, tyrosin, và tryptophan; (5) chuỗi bên bazơ: lysin, arginin, và histidin; (6) chuỗi bên axit: aspartat và glutamat, và (7) chuỗi bên chứa lưu huỳnh là xystein và methionin. Các nhóm đột biến thay thế axit amin bảo toàn ưu tiên là: valin-leuxin-isoleuxin, phenylalanin-tyrosin, lysin-arginin, alanin-valin, glutamat-aspartat, và asparagin-glutamin. Theo một cách khác, thay thế bảo toàn là sự thay đổi bất kỳ có giá trị dương trong ma trận hợp lệ log PAM250 được bộc lộ trong tài liệu Gonnet *et al.* (1992) Science 256: 1443-1445. Sự thay thế "bảo toàn vừa phải" là sự thay đổi bất kỳ có giá trị không âm trong ma trận hợp lệ log PAM250.

Độ tương tự trình tự đối với polypeptit, còn được đề cập đến là độ đồng nhất trình tự, thường được xác định bằng cách sử dụng phần mềm phân tích trình tự. Phần mềm phân tích protein so khớp các trình tự tương tự bằng cách sử dụng phương pháp đo độ tương tự gán cho các đột biến thay thế, đột biến khuyết khác nhau và các cải biến khác, bao gồm đột biến thay thế axit amin bảo toàn. Ví dụ, phần mềm GCG chứa các chương trình như GAP và BESTFIT mà có thể được sử dụng với các tham số mặc định để xác

định độ tương đồng trình tự hoặc độ đồng nhất trình tự giữa các polypeptit liên quan gần, như các polypeptit đồng nhất từ các loài sinh vật khác hoặc giữa protein kiểu dại và thể đột biến của nó. Xem tài liệu, ví dụ, GCG phiên bản 6.1. Các trình tự polypeptit cũng có thể được so sánh bằng cách sử dụng FASTA bằng cách sử dụng các tham số mặc định hoặc được khuyến cáo, chương trình trong GCG phiên bản 6.1. FASTA (ví dụ, FASTA2 và FASTA3) thực hiện thao tác sắp xếp thẳng hàng và cung cấp phần trăm độ đồng nhất trình tự của các vùng trùng lặp nhất giữa trình tự truy vấn và trình tự tìm kiếm (Pearson (2000) nêu trên). Một thuật toán được ưu tiên khác khi so sánh trình tự theo sáng chế với cơ sở dữ liệu chứa một số lượng trình tự lớn từ các sinh vật khác nhau là chương trình máy tính BLAST, đặc biệt là BLASTP hoặc TBLASTN, bằng cách sử dụng các tham số mặc định. Xem tài liệu, ví dụ, Altschul *et al.* (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410 và Altschul *et al.* (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-402.

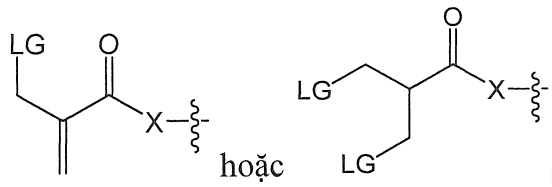
Như được sử dụng ở đây, "O-PEG_n" dùng để chỉ gốc hóa trị một được gắn thông qua nguyên tử oxy tận cùng, trong đó n nằm trong khoảng từ 1 đến 100. Ví dụ, khi n bằng 1, thì O-PEGn là $–O–CH_2CH_2OH$; khi n bằng hai, thì O-PEGn là $–O–CH_2CH_2O–CH_2CH_2OH$; và khi n bằng ba, thì O-PEGn là $–O–CH_2CH_2O–CH_2CH_2O–CH_2CH_2OH$.

Như được sử dụng ở đây, "chất gắn kết" dùng để chỉ phân tử bất kỳ, ví dụ, protein hoặc kháng thể, có khả năng gắn kết đặc hiệu với phần tử gắn kết đi kèm cho trước, ví dụ, kháng nguyên.

Như được sử dụng ở đây, "tác nhân liên kết" dùng để chỉ gốc hóa trị hai, hóa trị ba, hoặc đa hóa trị mà liên kết cộng hóa trị chất gắn kết với một hoặc nhiều hợp chất được mô tả ở đây, ví dụ, tải lượng hợp chất và nhóm ưa nước, như được mô tả ở đây.

Như được sử dụng ở đây, "nhóm phản ứng", hoặc RG, dùng để chỉ gốc chứa trong cấu trúc của nó một phần có khả năng phản ứng và tạo ra liên kết cộng hóa trị với một gốc hóa học khác, ví dụ, phản ứng với kháng thể ở gốc xystein hoặc lysin của nó. Các nhóm phản ứng minh họa cho sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các nhóm chứa maleimit, sucxinimit, N-hydroxy sucxinimit (NHS), amin bậc một tận cùng, nhóm haloaxetyl, isothioxyanat, thiol, rượu, keton, aldehyt, axit, este, hydrozit, và anilin. RG

còn bao gồm các gốc có cấu trúc sau:

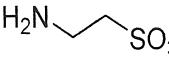
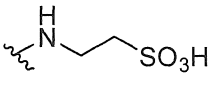


trong đó X là -O- hoặc -NH- và LG là nhóm rời chuyển, ví dụ, Br.

Như được sử dụng ở đây, "điều kiện tổng hợp amit" dùng để chỉ điều kiện phản ứng thích hợp để tác dụng đến sự tạo thành amit, ví dụ, bằng phản ứng của axit carboxylic, axit carboxylic hoạt hóa, hoặc axyl halogenua với amin. Theo một số ví dụ, điều kiện tổng hợp amit dùng để chỉ điều kiện phản ứng thích hợp để tác dụng đến sự hình thành liên kết amit giữa axit carboxylic và amin. Theo một số ví dụ trong số các ví dụ này, axit carboxylic đầu tiên được chuyển hóa thành axit carboxylic hoạt hóa trước khi axit carboxylic hoạt hóa phản ứng với amin để tạo ra amit. Các điều kiện thích hợp để tác dụng đến sự hình thành amit bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các điều kiện sử dụng các chất phản ứng để tác dụng đến phản ứng giữa axit carboxylic và amin, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, dixyclohexylcarbodiimit (DCC), diisopropylcarbodiimit (DIC), (benzotriazol-1-yloxy)tris(dimetylamino)phosphoni hexaflophosphat (BOP), (benzotriazol-1-yloxy)tripyrolidinophosphoni hexaflophosphat (PyBOP), (7-azabenzotriazol-1-yloxy)tripyrolidinophosphoni hexaflophosphat (PyAOP), bromotripyrolidinophosphoni hexaflophosphat (PyBrOP), O-(benzotriazol-1-yl)-N,N,N′,N′-tetrametyluroni hexaflophosphat (HBTU), O-(benzotriazol-1-yl)-N,N,N′,N′-tetrametyluroni tetrafloborat (TBTU), 1-[Bis(dimetylamino)metylen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinium 3-oxid hexaflophosphat (HATU), N-etoxycacbonyl-2-etoxy-1,2-dihydroquinolin (EEDQ), N-etyl-N′-(3-dimetylaminopropyl)carbodiimit (EDC), 2-clo-1,3-dimetylimidazolidinium hexaflophosphat (CIP), 2-clo-4,6-dimetoxy-1,3,5-triazin (CDMT), (1-Xyano-2-etoxy-2-oxoetylidenaminooxy)dimetylamino-morpholino-carbeni hexaflophosphat (COMU), và carbonyldiimidazol (CDI).

Theo một số ví dụ, axit carboxylic đầu tiên được chuyển hóa thành este của axit

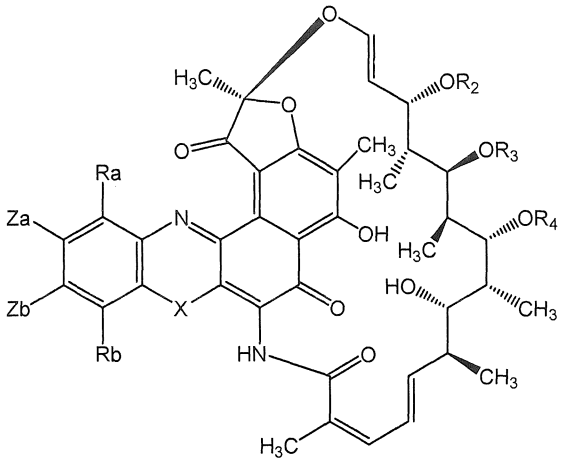
carboxylic hoạt hóa trước khi điều trị este của axit carboxylic hoạt hóa với amin để tạo ra liên kết amit. Theo một số phương án nhất định, axit carboxylic được xử lý bằng chất phản ứng. Chất phản ứng này hoạt hóa axit carboxylic bằng cách khử proton hóa axit carboxylic và sau đó tạo sản phẩm phức với axit carboxylic đã khử proton hóa do sự tấn công ưa nhân của axit carboxylic đã khử proton hóa đến chất phản ứng đã proton hóa. Este của axit carboxylic hoạt hóa cho một số axit carboxylic nhất định sau đó nhạy với sự tấn công ưa nhân của amin hơn so với axit carboxylic trước khi nó được hoạt hóa. Điều này dẫn đến sự tạo thành liên kết amit. Như vậy, axit carboxylic này được mô tả là được hoạt hóa. Các chất phản ứng lấy làm ví dụ bao gồm DCC và DIC.

Như được sử dụng ở đây, "taurin" dùng để chỉ chất phản ứng  , hoặc nhóm  trong đó chỉ nguyên tử mà qua đó taurin được liên kết với nhóm liền kề trong công thức.

Hợp chất theo sáng chế

Theo mục đích nêu trên và các mục đích khác, sáng chế đề cập đến hợp chất tương tự rifamyxin, tiền chất và hợp chất trung gian của nó, dược phẩm, và phương pháp ức chế sự phát triển của vi khuẩn và/hoặc điều trị bệnh nhiễm khuẩn ở đối tượng cần điều trị.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất tương tự rifamyxin hoặc tiền chất của nó có cấu trúc có công thức (A):



(A)

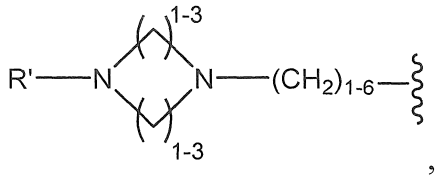
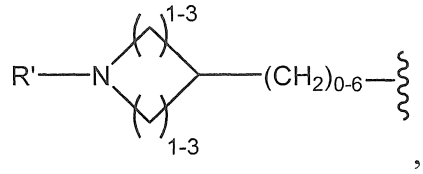
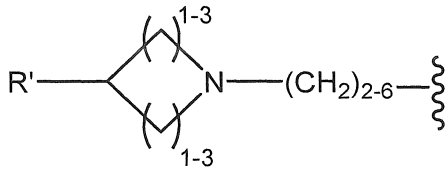
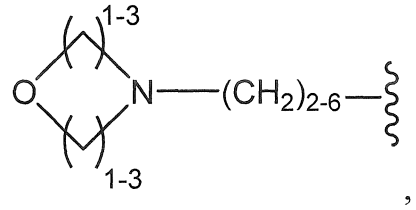
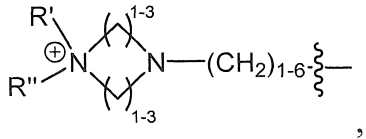
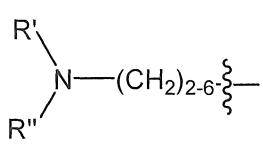
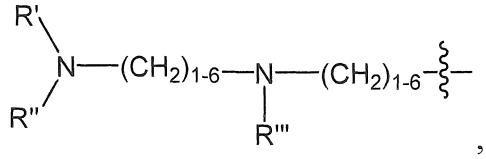
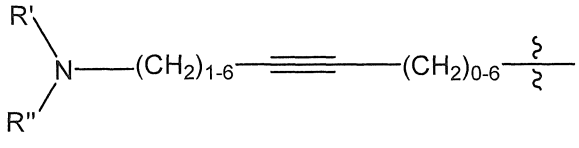
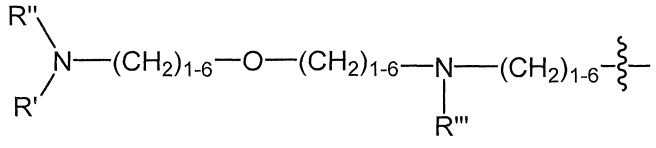
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

X được chọn từ -O- và -NR*-;

Za và Zb độc lập được chọn từ hydro, -Cl, -Br, -OR_1 và -R_N; với điều kiện ít nhất một trong số Za hoặc Zb không phải là hydro; trong đó:

R_1 được chọn từ hydro, R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, -O-$N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*,-(C=O)-NH_2, -(C=O)-$N(R^*)_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-$N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R^*, -SO_2-$N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -$Si(R^*)_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, R_1 không phải là hydro;

R_N được chọn từ:


,

,

,

,

,

,

,

, và

trong đó ký hiệu 〰 dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ, ví dụ, F_{MOC} và $B_{OC,}$ hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc béo vòng, như cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, và -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

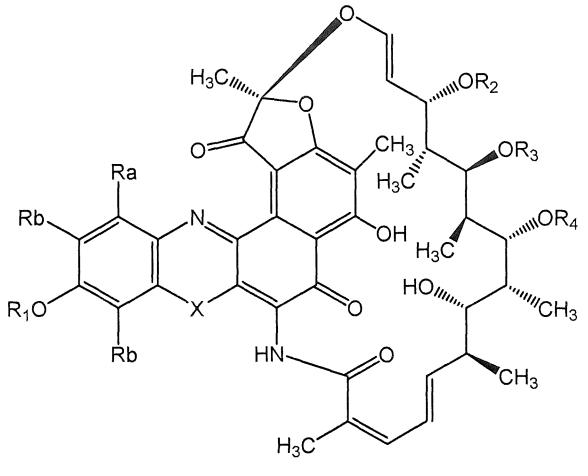
R_a được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -SR*, $-SO_2R^*$, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó

R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R_b được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R$* và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, và S, và trong đó R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (I):



(I)

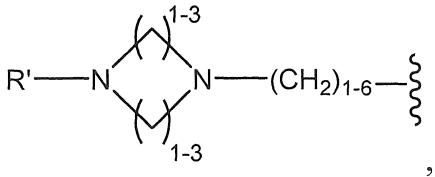
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

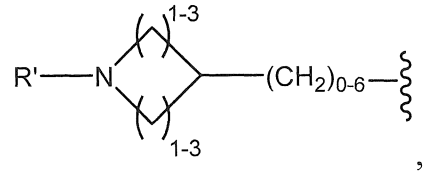
X được chọn từ -O- và -NR*-;

R_1 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, $-NO_2$, $-NO_3$, -O-NO, $-N_3$, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, $-O-N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -

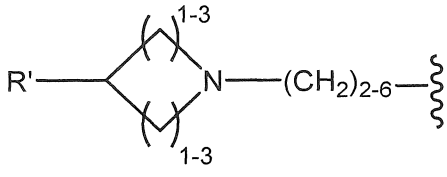
(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, -(C=O)-NH_2, -(C=O)-N(R*)$_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-N(R*)$_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R*, -SO_2-N(R*)$_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -Si(R*)$_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, R_1 không phải là hydro;

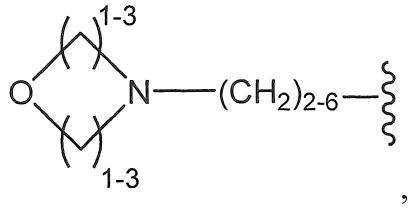
R_N được chọn từ:



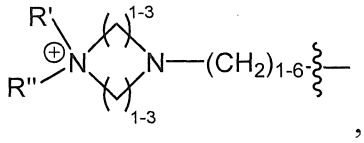
,


,

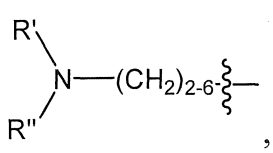


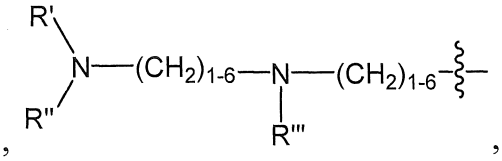
,


,

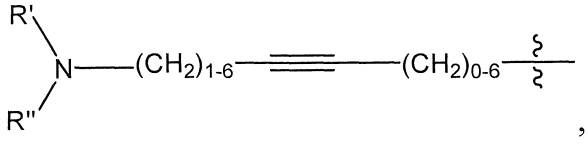


,

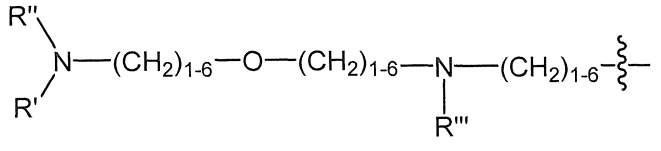


,


,



, và



trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai

vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

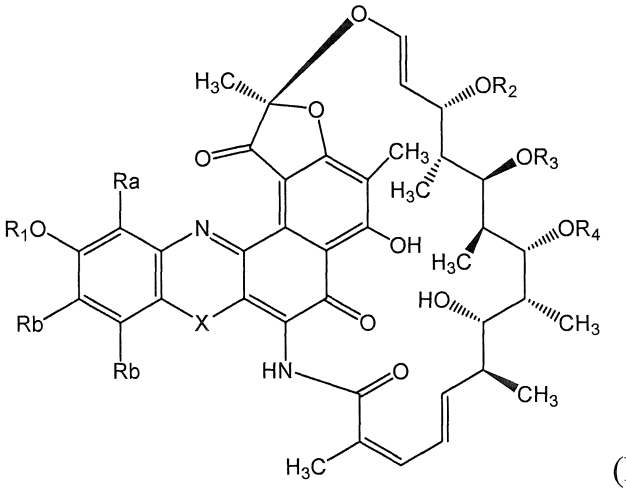
R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, hoặc -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

R_a được chọn từ hydro, F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -SR*, $-SO_2R^*$, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R_b được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, và S, và trong đó R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (I'):



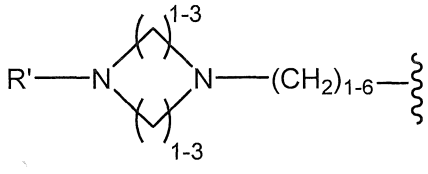
(I')

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

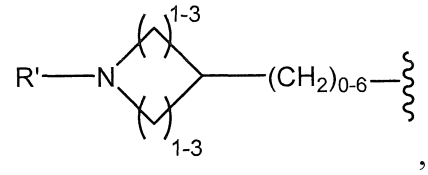
X được chọn từ -O- và -NR*-;

R_1 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, -O-$N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, -(C=O)-NH_2, -(C=O)-$N(R^*)_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-$N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R^*, -SO_2-$N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -$Si(R^*)_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, R_1 không phải là hydro;

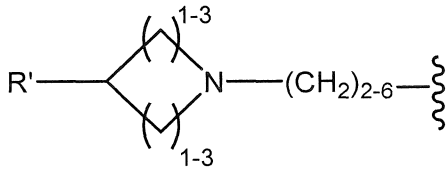
R_N được chọn từ:



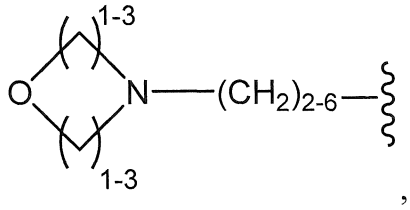
,



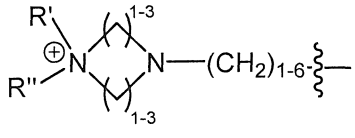
,



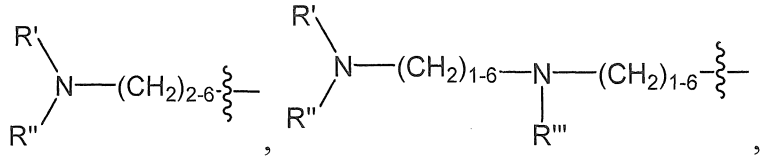
,

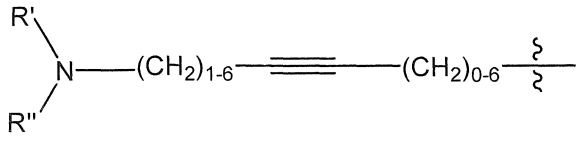


,

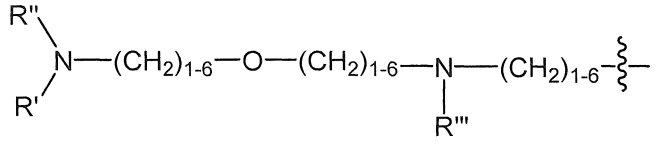


,


,



và



trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, hoặc -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

R_a được chọn từ hydro, F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -SR*, $-SO_2R^*$, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R_b được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, và S, và trong đó R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng. Theo một phương án, hợp chất có các công thức (A), (I) hoặc (I'), X là -O-, R_1 là C_1-C_3

hydrocacbon béo, R_2 là nhóm metyl, R_3 là Ac (-(C=O)-CH_3), R_4 là hydro, và R_a là hydro.

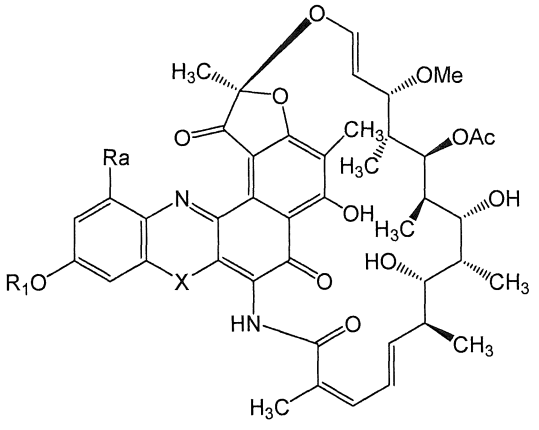
Theo một phương án, hợp chất có các công thức (A), (I) hoặc (I'), X là -O-, R_1 là nhóm benzyl, R_2 là nhóm metyl, R_3 là Ac (-(C=O)-CH_3), R_4 là hydro; R_a là hydro và R_b là hydro.

Theo một phương án, hợp chất có các công thức (A), (I) hoặc (I'), X là -O-, R_1 là C_1-C_8 hydrocacbon béo bao gồm từ 1 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ O và N, R_2 là nhóm metyl, R_3 là Ac (-(C=O)-CH_3), R_4 là hydro; R_a là hydro và R_b là hydro.

Theo một phương án, hợp chất có các công thức (A), (I) hoặc (I'), X là -O-; R_1 là C_1-C_8 hydrocacbon béo được thế bằng một hoặc nhiều trong số -NH_2, -NHR*, -N(R*)$_2$; R* là H hoặc C_1-C_3 hydrocacbon béo; R_2 là nhóm metyl; R_3 là Ac (-(C=O)-CH_3); R_4 là hydro; R_a là hydro và R_b là hydro.

Theo một phương án, hợp chất có các công thức (A), (I) hoặc (I'), X là -NCH_3-, R_1 là -OH, R_2 là nhóm metyl, R_3 là Ac (-(C=O)-CH_3), R_4 là hydro, R_a là hydro và R_b là hydro.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc có công thức (II):



(II)

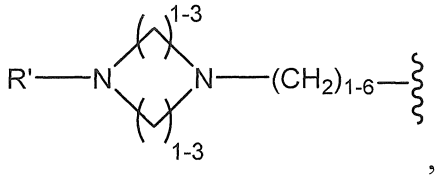
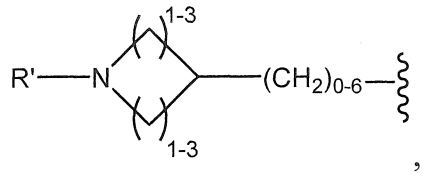
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

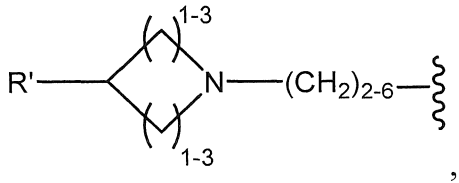
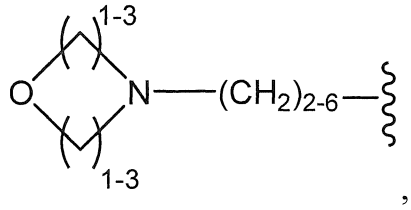
X được chọn từ -O- và -NR*-;

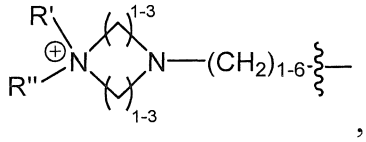
R_a được chọn từ hydro, -Cl, và -OR*;

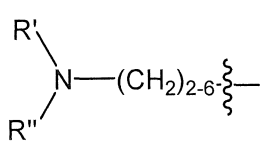
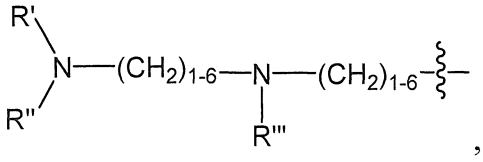
R_1 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, -O-$N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, -(C=O)-NH_2, -(C=O)-$N(R^*)_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-$N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R^*, -SO_2-$N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -$Si(R^*)_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl;

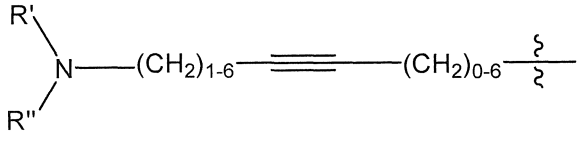
R_N được chọn từ:

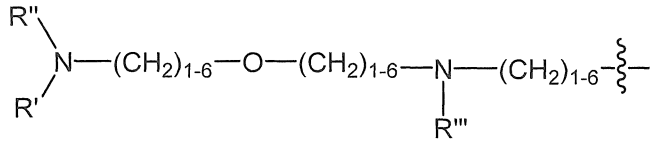

,

,


,

,


,


,

,

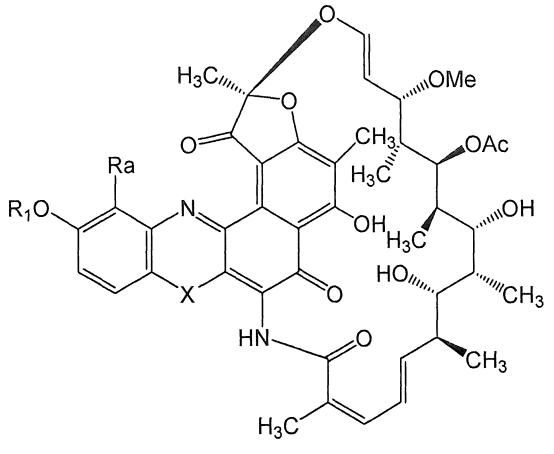

và



trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc có công thức (II'):



(II')

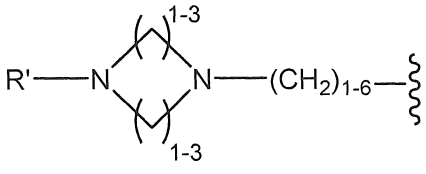
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

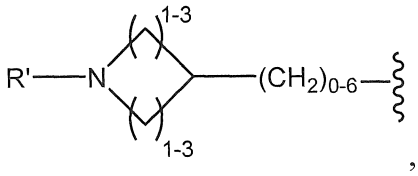
X được chọn từ -O- và -NR*-;

R_a được chọn từ hydro và -OR*;

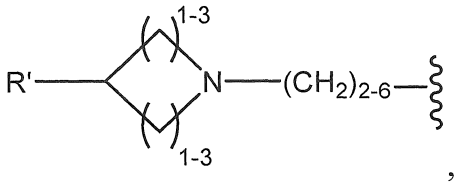
R_1 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc

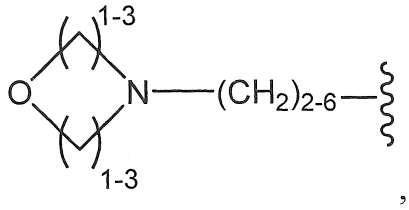
nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, $-NO_2$, $-NO_3$, -O-NO, $-N_3$, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, $-O-N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, $-(C=O)-NH_2$, $-(C=O)-N(R^*)_2$, $-(C=O)-NHNH_2$, $-O-(C=O)-NHNH_2$, $-(C=S)-NH_2$, $-(C=S)-N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, $-SO_2R^*$, $-SO_2-N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, $-Si(R^*)_3$, $-CF_3$, $-O-CF_3$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl; R_N được chọn từ:



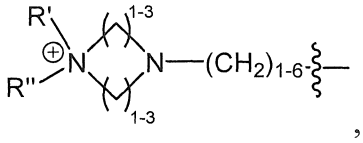
,


,

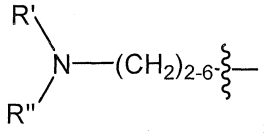


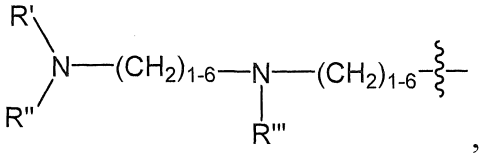
,


,

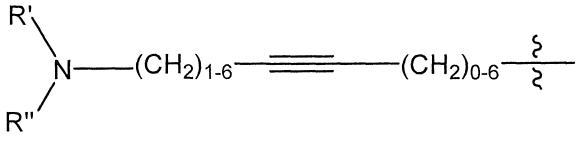


,

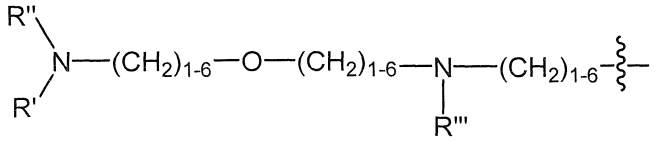


,


,



và

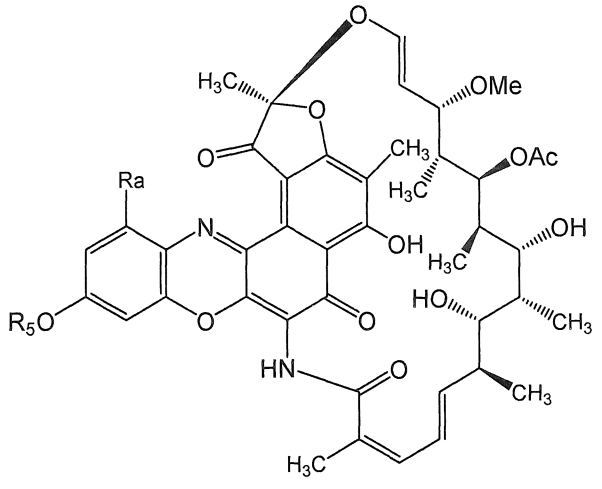


trong đó ký hiệu 〰 dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai

vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc có công thức (III):



(III)

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

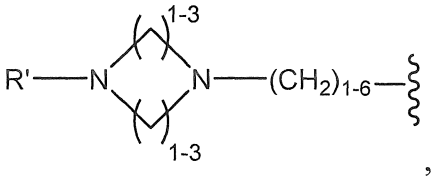
R_a được chọn từ hydro và -OR*;

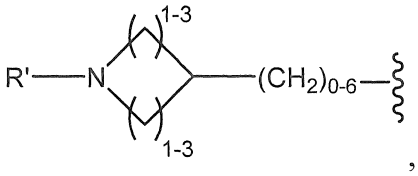
R_5 được chọn từ R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_5 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-(C=O)-R*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_5 không phải là nhóm n-butyl;

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo,

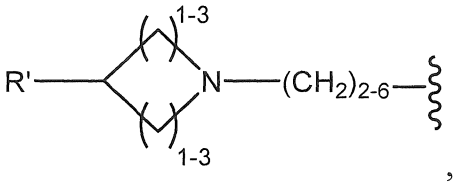
C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng; và

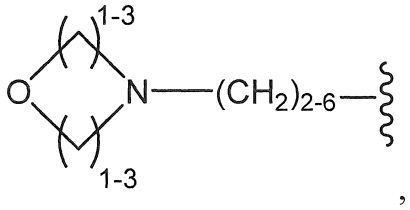
R_N được chọn từ:



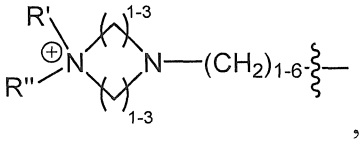
,


,

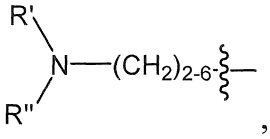


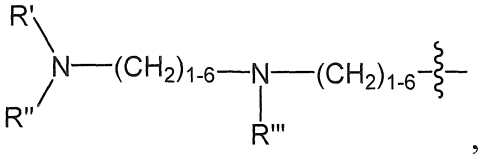
,


,

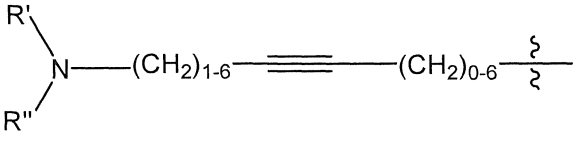


,

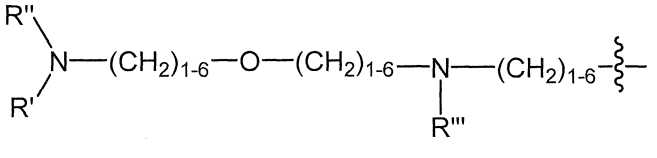


,


,

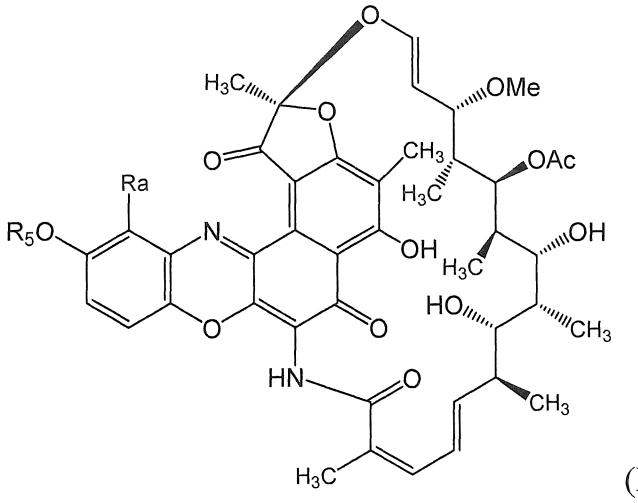


và



trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và $B_{OC,}$ hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc có công thức (III'):



(III')

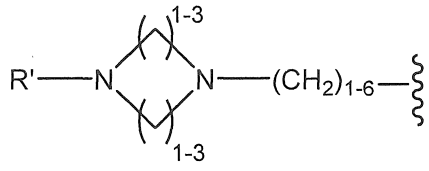
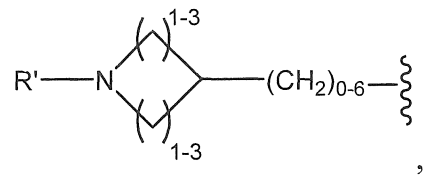
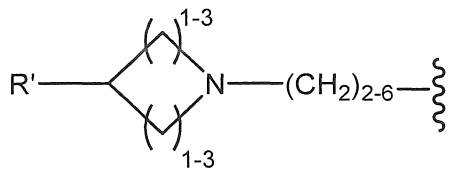
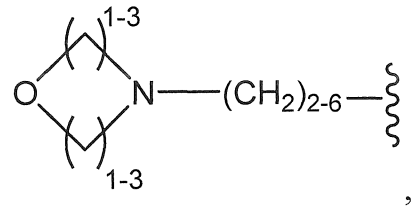
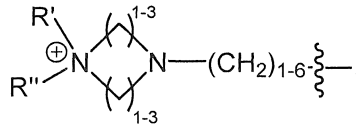
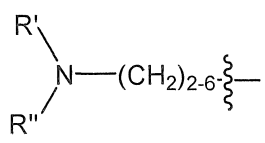
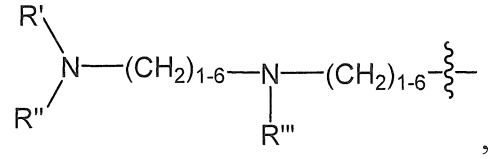
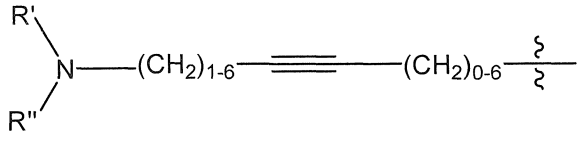
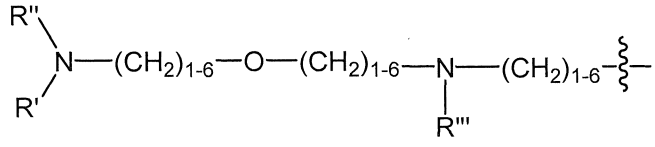
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

R_a được chọn từ hydro và -OR*;

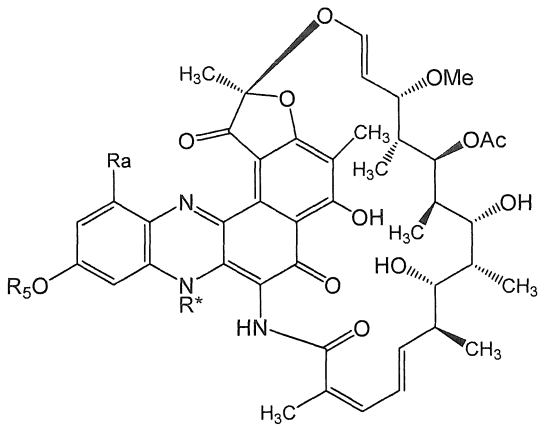
R_5 được chọn từ R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_5 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-(C=O)-R*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_5 không phải là nhóm n-butyl;

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng; và

R_N được chọn từ:


,

,

,

,

,

,

,

và

trong đó ký hiệu 〰 dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và $B_{OC,}$ hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc có công thức (IV):



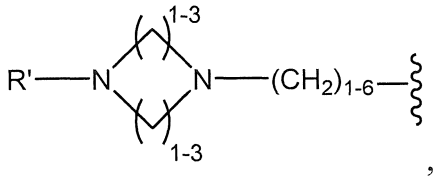
(IV),

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

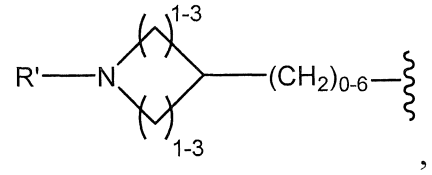
R_a được chọn từ hydro và -OR*;

R_5 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_5 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-(C=O)-R*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và hỗn hợp của chúng;

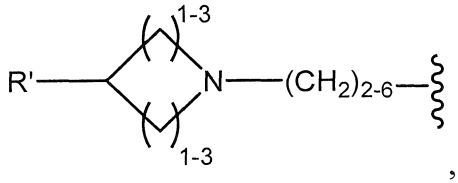
R_N được chọn từ:



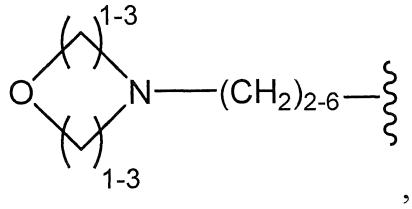
,



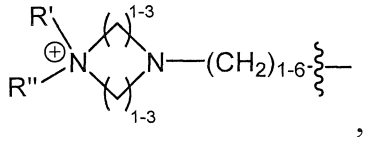
,



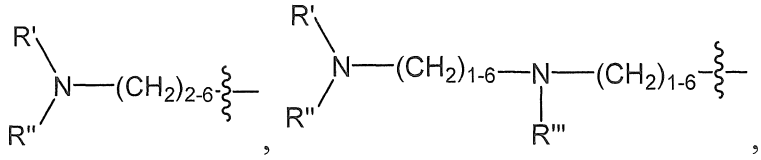
,



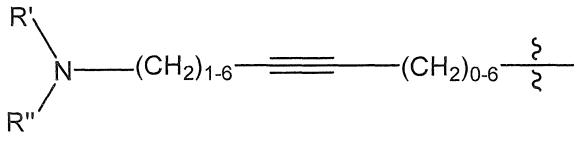
,



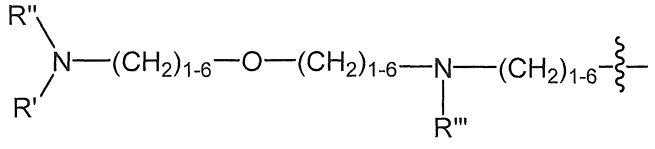
,



,



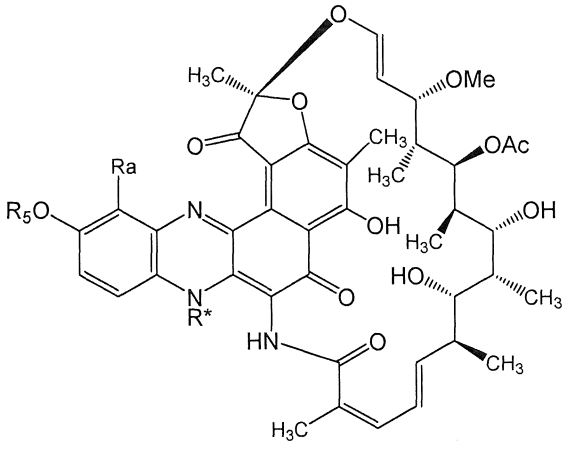
và



trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc có công thức (IV'):



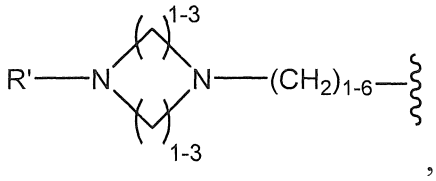
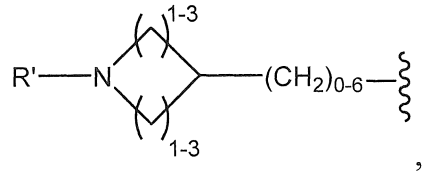
(IV'),

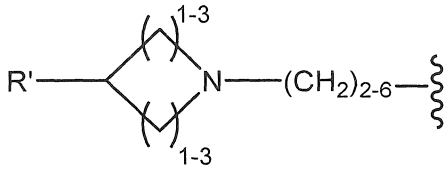
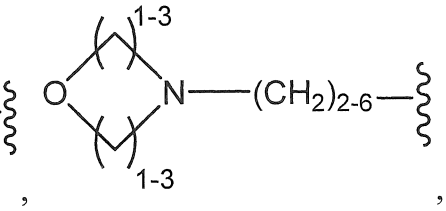
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

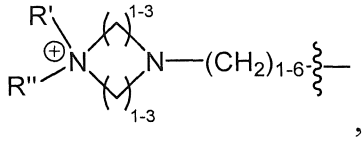
R_a được chọn từ hydro và -OR*;

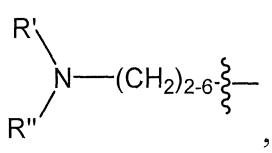
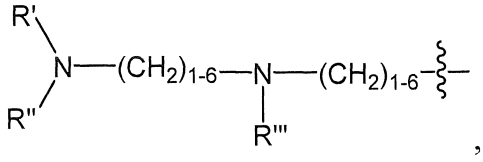
R_5 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_5 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -N(R*)-(C=O)-R*, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^* và hỗn hợp của chúng;

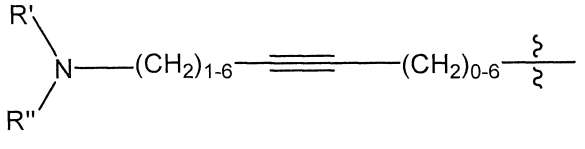
R_N được chọn từ:

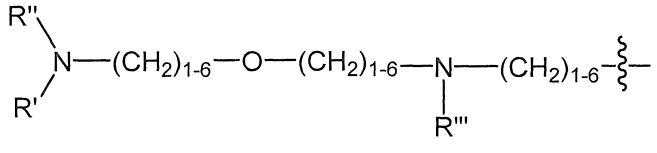

,

,


,

,


,


,

,

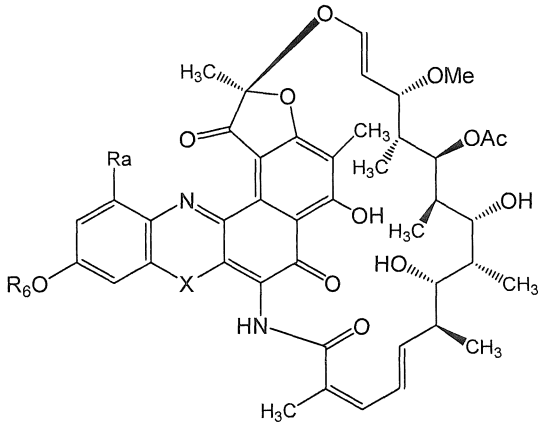

và


trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai

vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc có công thức (V):



(V)

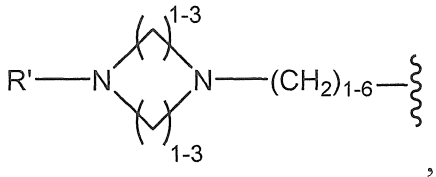
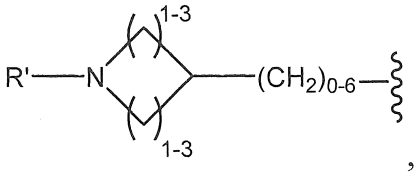
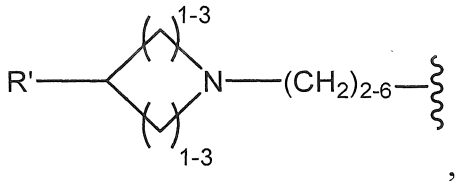
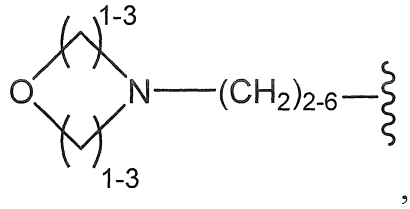
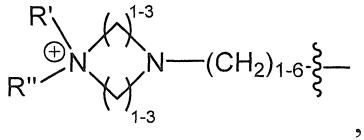
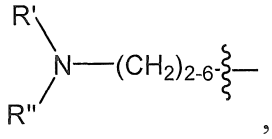
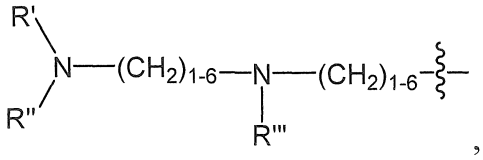
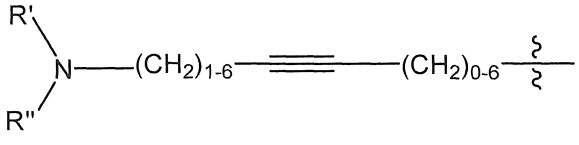
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

X được chọn từ -O- và -NR*-;

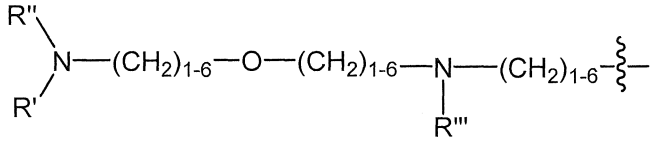
R_a được chọn từ hydro và -OR*;

R_6 được chọn từ R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_6 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_6 không phải là nhóm n-butyl;

R_N được chọn từ:

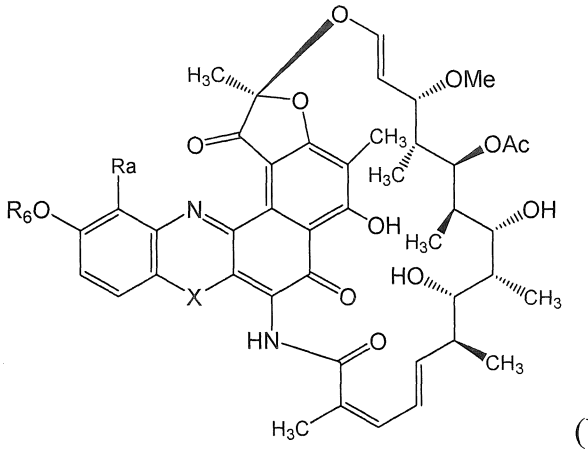
và



trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc có công thức (V'):



(V')

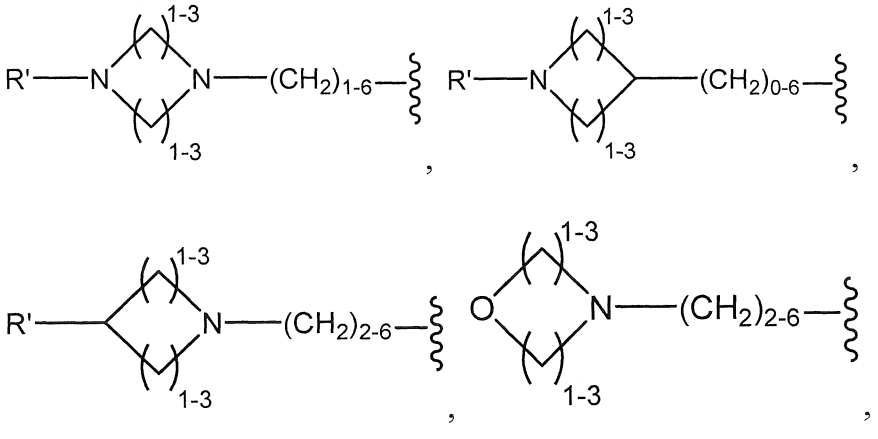
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

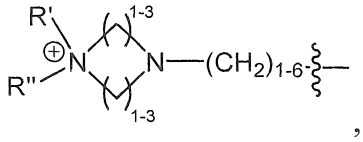
X được chọn từ -O- và -NR*-;

R_a được chọn từ hydro và -OR*;

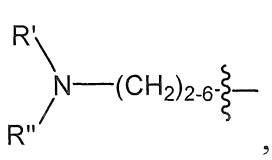
R_6 được chọn từ R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_6 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, $-N(R^*)-(C=O)-R^*$, $-(C=O)-R^*$, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_6 không phải là nhóm n-butyl;

R_N được chọn từ:

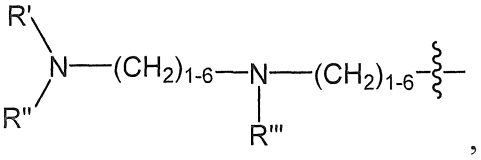




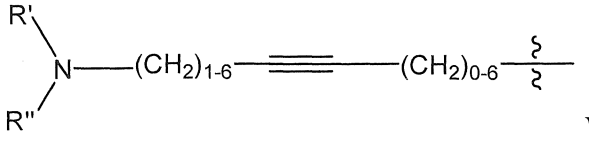
,



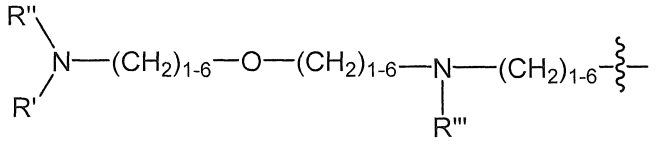
,



,



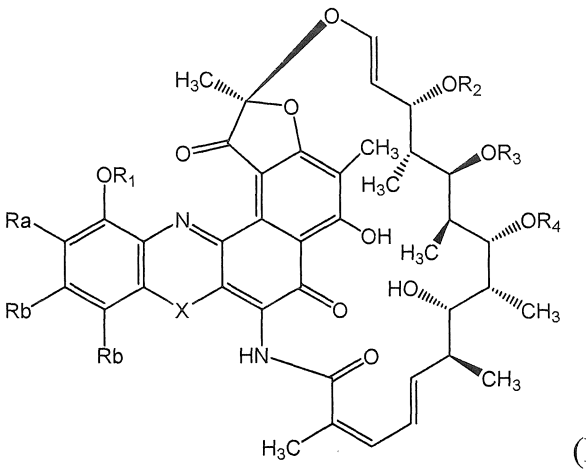
và



trong đó ký hiệu 〰 dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và $B_{OC,}$ hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất tương tự rifamyxin, hợp chất trung gian hoặc tiền chất của nó có cấu trúc có công thức (B):



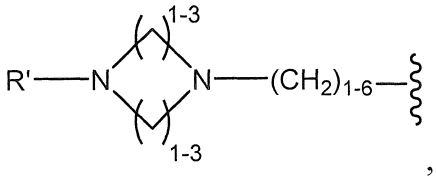
(B),

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

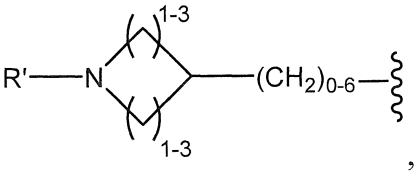
X được chọn từ -O- và -NR*-;

R_1 được chọn từ hydro, R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, -O-$N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*,-(C=O)-NH_2, -(C=O)-$N(R^*)_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-$N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R^*, -SO_2-$N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -$Si(R^*)_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, R_1 không phải là hydro;

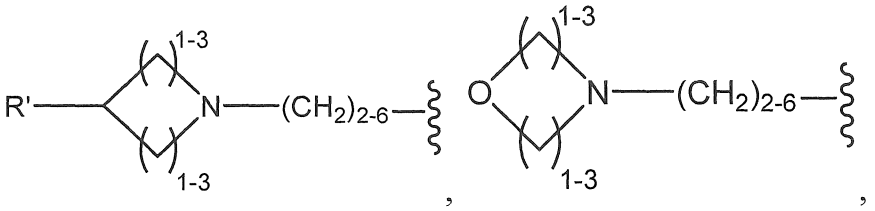
R_N được chọn từ:

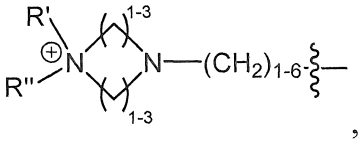


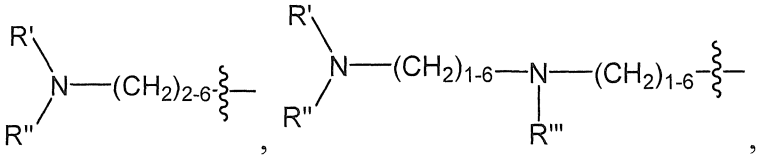
,

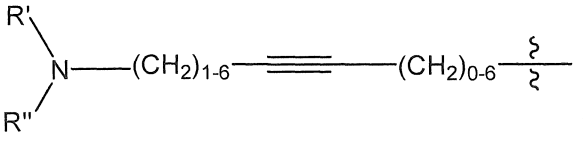


,

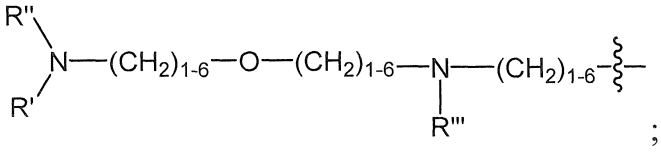








và



; trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R'' và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ Florenylmetyloxycacbonyl (FMOC) và *tert*-Butyloxycacbonyl (BOC), hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, và -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

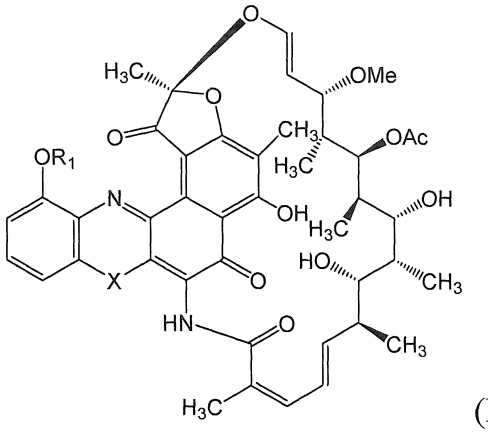
R_a được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -SR*, $-SO_2R^*$, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R_b được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$

và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, và S, và trong đó R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (B-1):



(B-1)

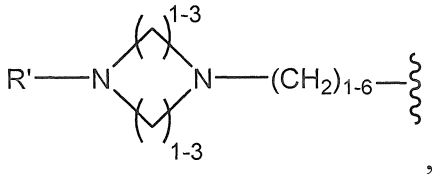
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

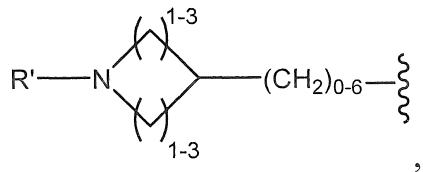
X được chọn từ -O- và -NR*-;

R_1 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, -O-$N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, -(C=O)-NH_2, -(C=O)-$N(R^*)_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-$N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -

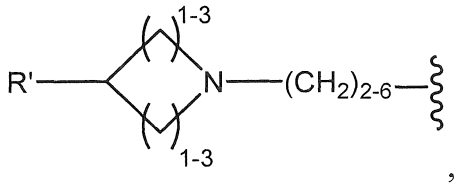
SO_2R^*, $-SO_2-N(R^*)_2$, $-S(=O)-OR^*$, $-S(=O)-R^*$, $-Si(R^*)_3$, $-CF_3$, $-O-CF_3$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl;

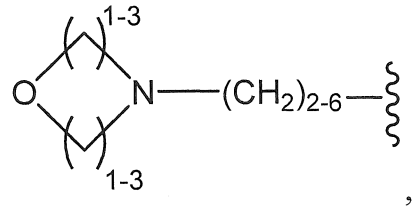
R_N được chọn từ:



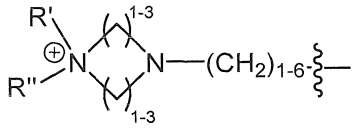
,


,

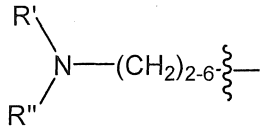


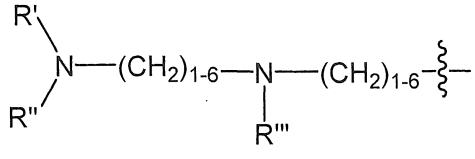
,


,

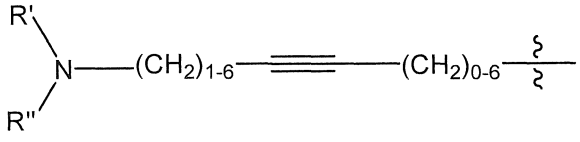


,

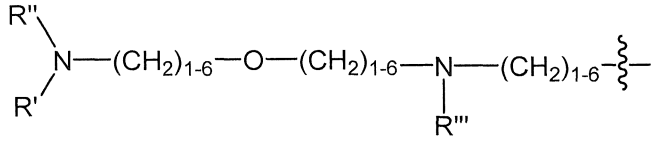


,


,



và

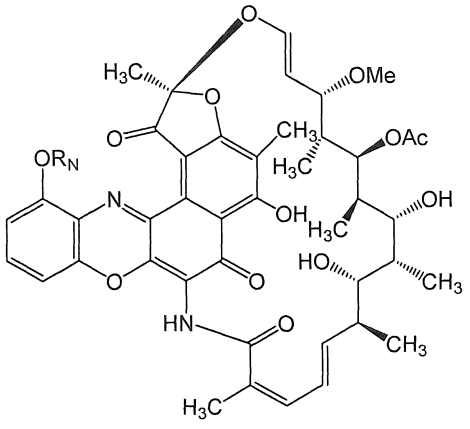


; trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8

nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

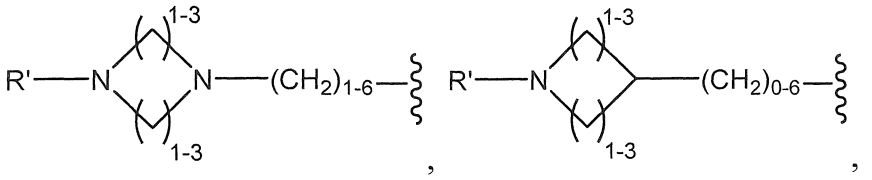
Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (B-2):

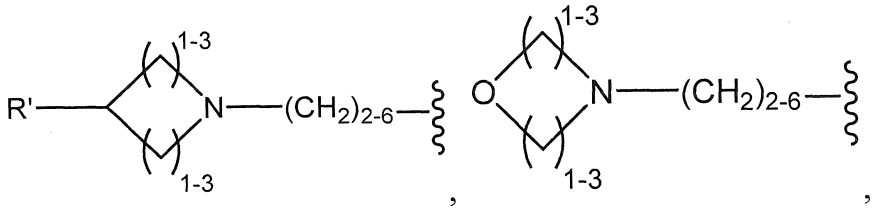


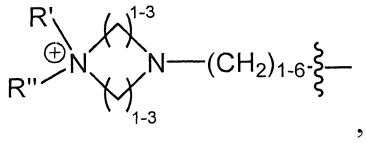
(B-2)

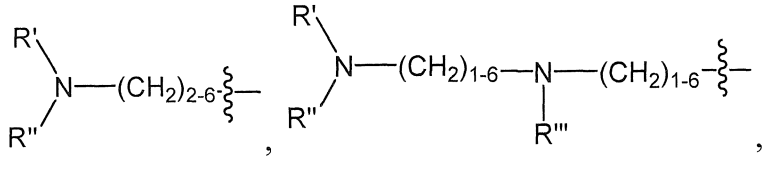
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

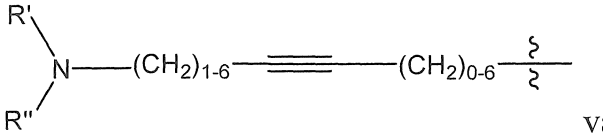
R_N được chọn từ:



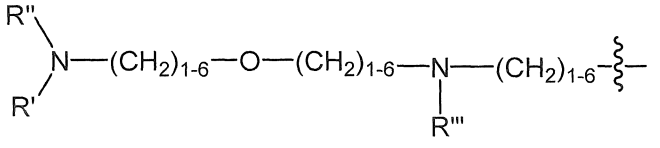






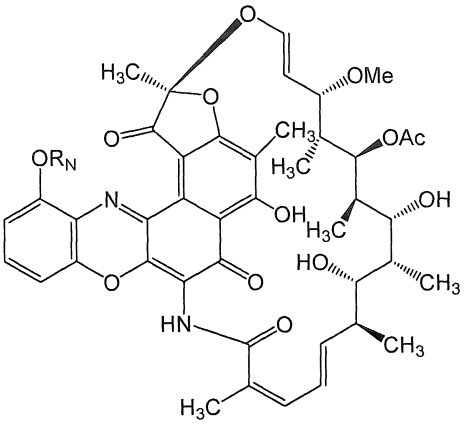


và



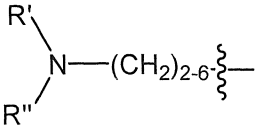
trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (B-2):

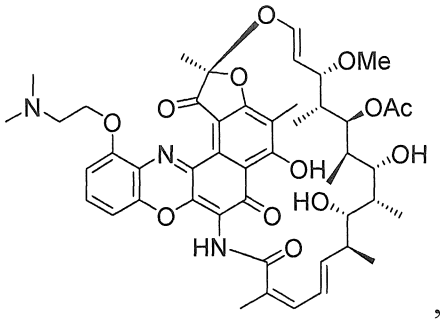


(B-2)

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

R_N là  trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R' và R" được chọn từ hydro và C_1-C_6 hydrocacbon béo.

Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc theo công thức sau:



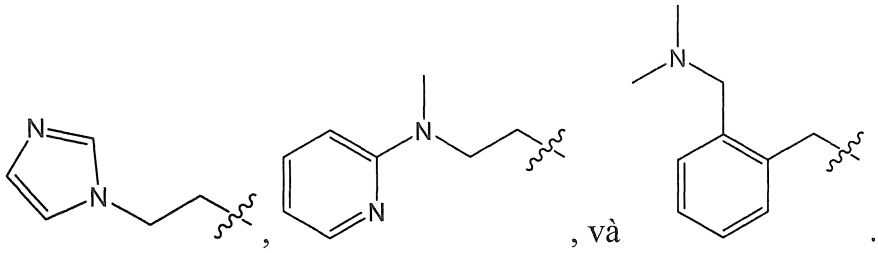
hoặc muối dược dụng của nó.

Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề cập đến hợp chất trong đó R_1 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ O và N, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, C_{1-3} alkoxit, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, $-O-N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -N(R*)-(C=O)-R*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -(C=O)-NH_2, $-(C=O)-N(R^*)_2$, $-Si(R^*)_3$, $-CF_3$, $-O-CF_3$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, R_1 không phải là hydro.

Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề cập đến hợp chất trong đó R_1 là tổ hợp của C_1-C_{20} hydrocacbon béo và C_1-C_{20} hydrocacbon thơm.

Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề cập đến hợp chất trong đó R_1 là tổ hợp của C_1-C_{20} hydrocacbon béo và C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại.

Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề cập đến hợp chất trong đó R_1 được chọn từ:



Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề cập đến hợp chất trong đó R_1 là C_1-C_{20} hydrocacbon béo được thế bằng một hoặc nhiều trong số -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, hoặc -N(R*)-(C=O)-R*.

Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề cập đến hợp chất trong đó R_1 là C_1-C_{20} hydrocacbon béo được thế bằng -NH-(C=O)-CH_3 hoặc -$N(CH_3)$-(C=O)-CH_3.

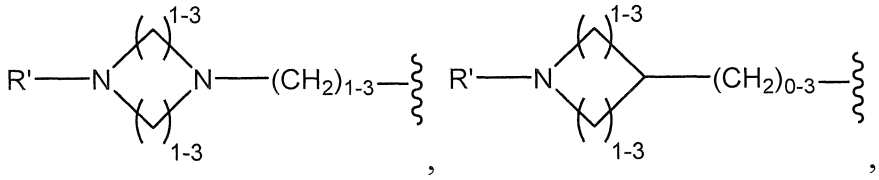
Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề cập đến hợp chất trong đó R_a là hydro.

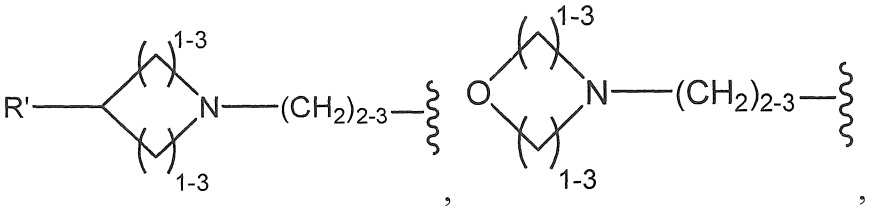
Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề cập đến hợp chất trong đó R_a là -OH.

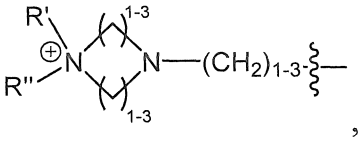
Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề cập đến hợp chất trong đó R_a là -Cl.

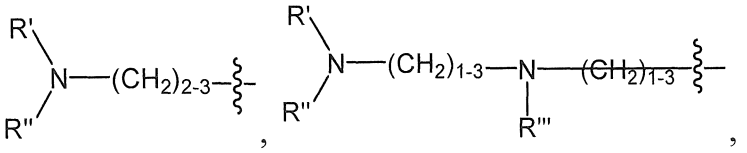
Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề cập đến hợp chất trong đó R_a là -OR*, và R* được chọn từ C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, và hỗn hợp của chúng.

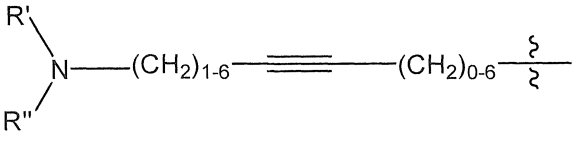
Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề cập đến hợp chất trong đó R_N được chọn từ:



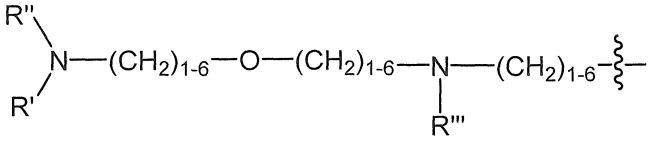






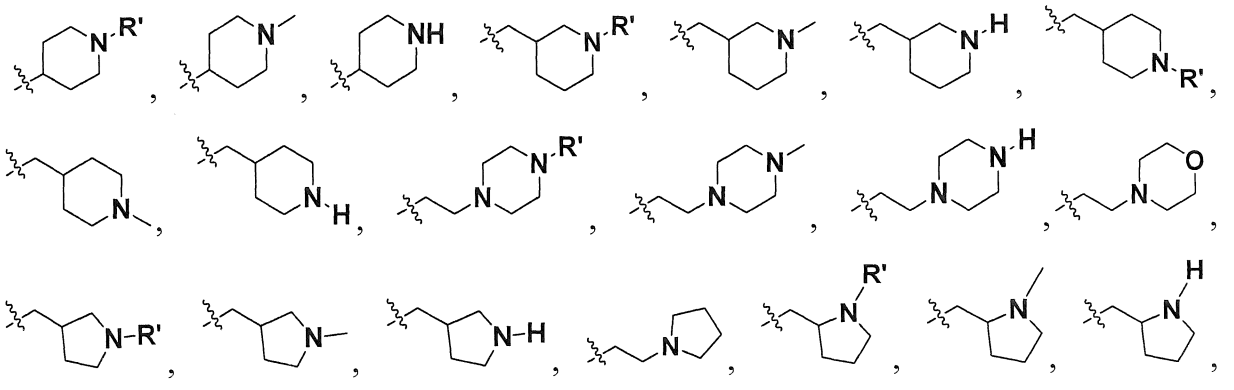


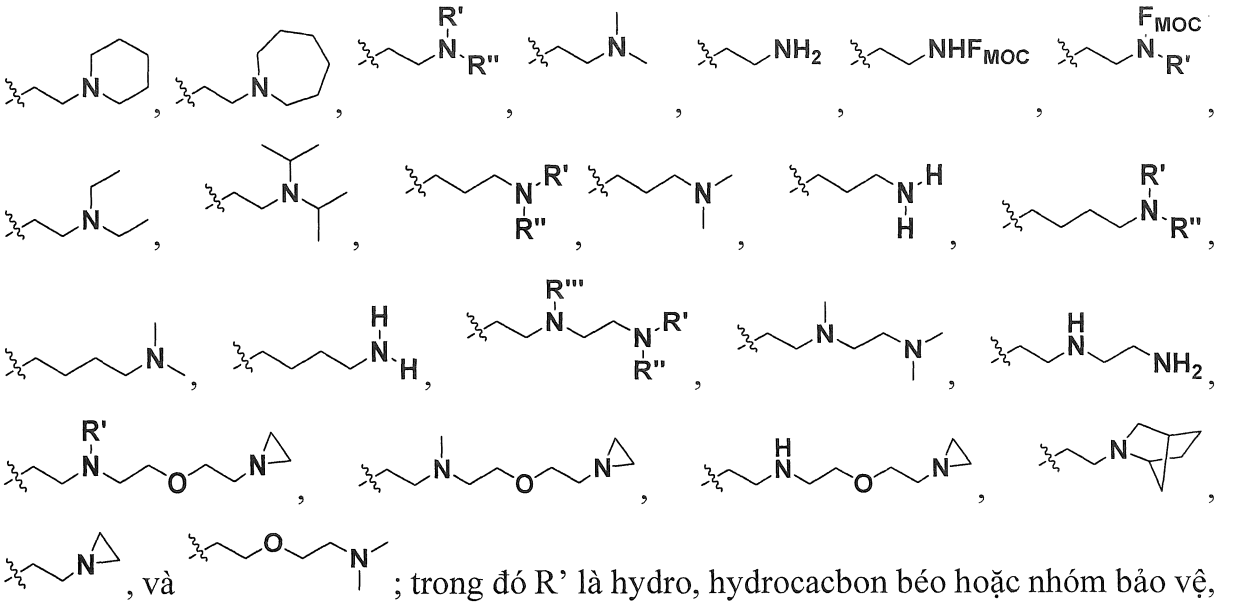
và



trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và $B_{OC,}$ hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo.

Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề cập đến hợp chất trong đó R_N được chọn từ:



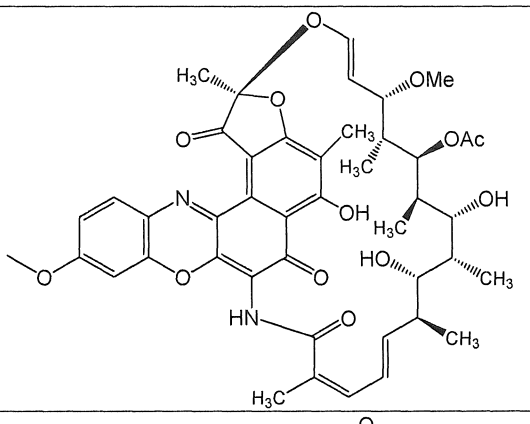
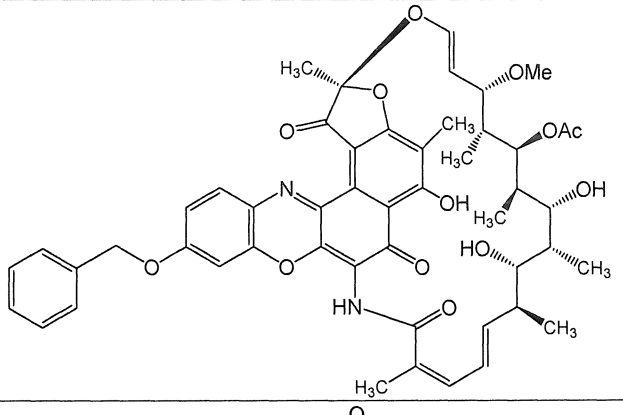
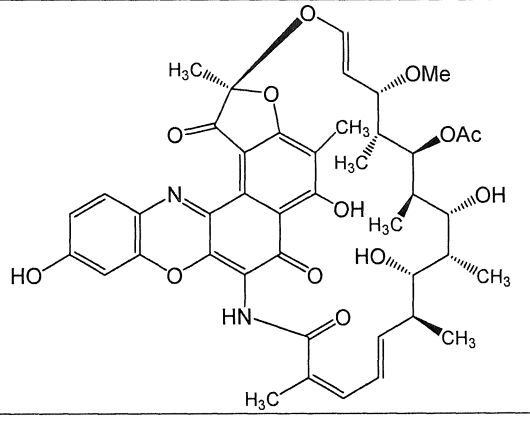


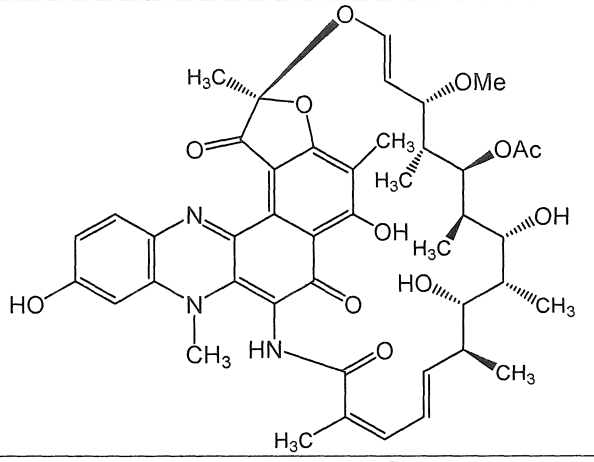
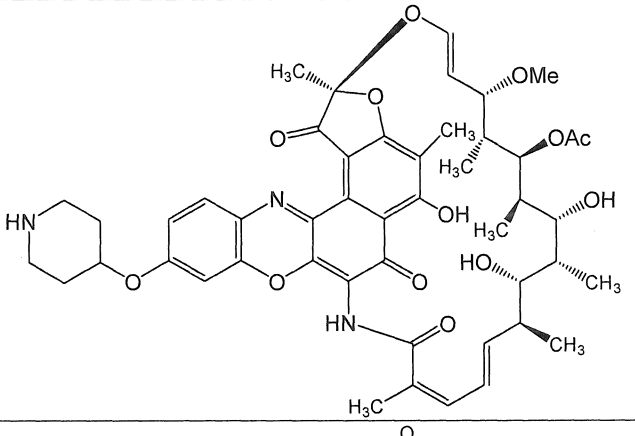
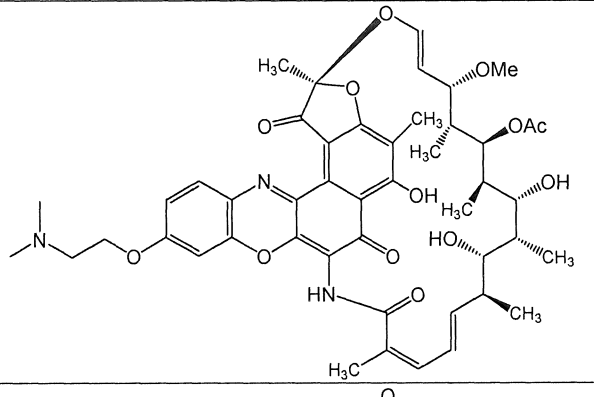
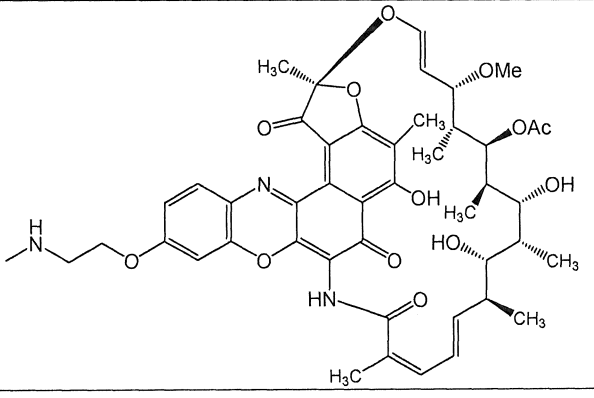
; trong đó R' là hydro, hydrocacbon béo hoặc nhóm bảo vệ, và trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn;

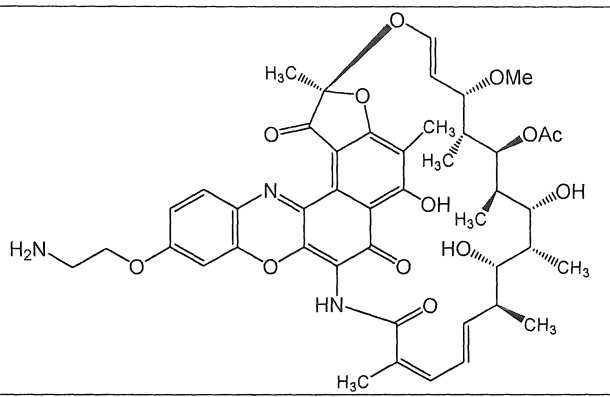
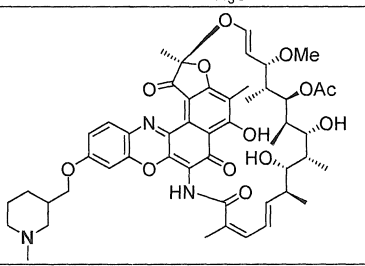
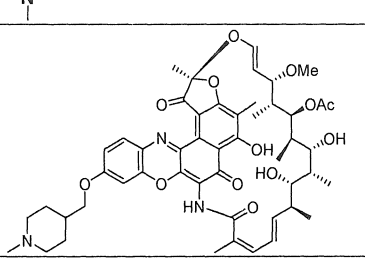
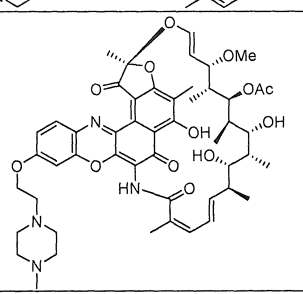
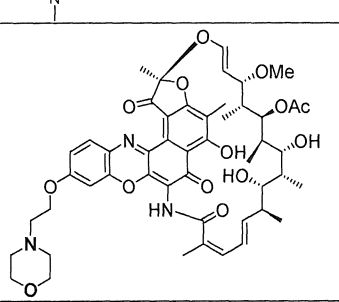
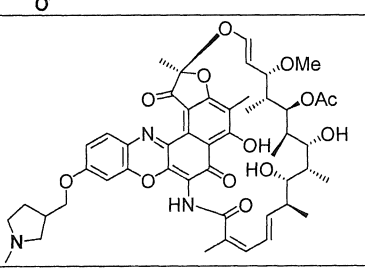
Theo một phương án về công thức bất kỳ trong số các công thức nêu trên, sáng chế đề cập đến hợp chất trong đó R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, C_6-C_7 hydrocacbon thơm, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ O và N, và hỗn hợp của chúng; C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O và N và hỗn hợp của chúng.

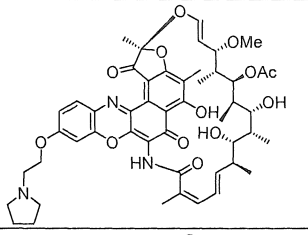
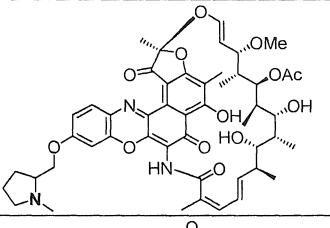
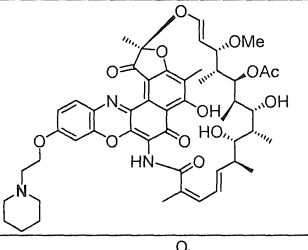
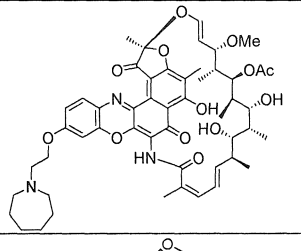
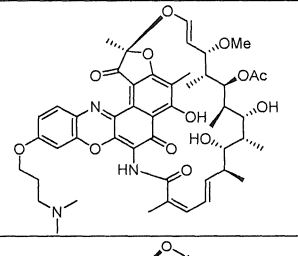
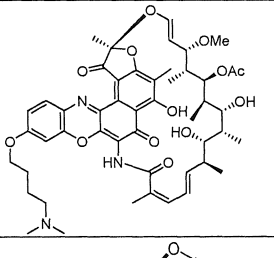
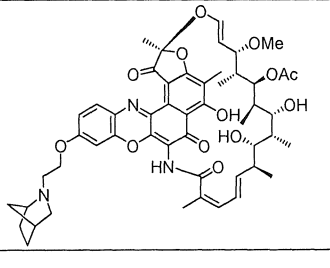
Một số phương án lấy làm ví dụ không giới hạn về hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế được thể hiện trong Bảng 1 dưới đây:

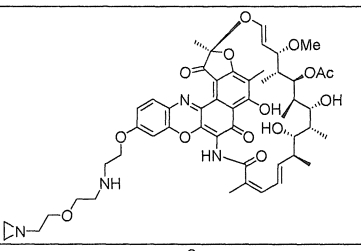
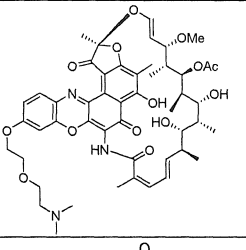
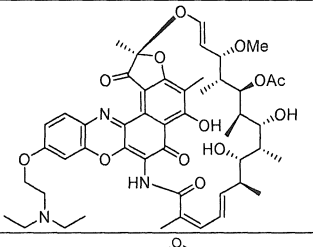
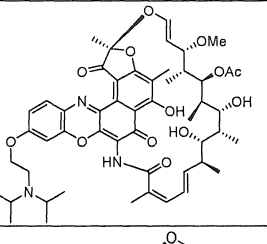
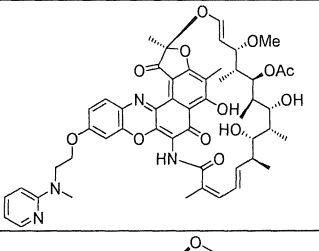
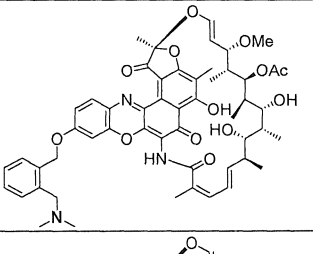
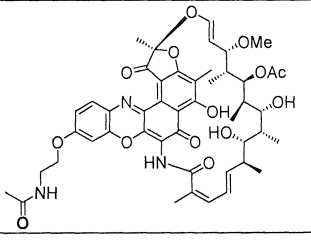
Bảng 1: Chọn lọc các chất tương tự rifamyxin theo sáng chế

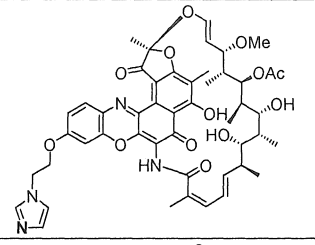
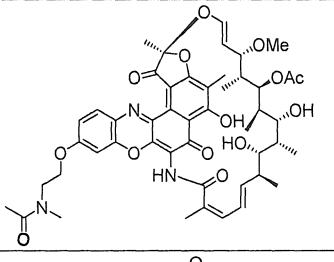
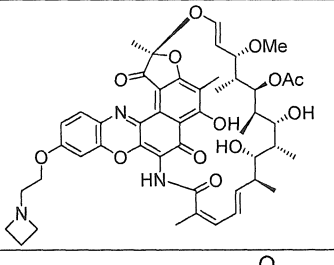
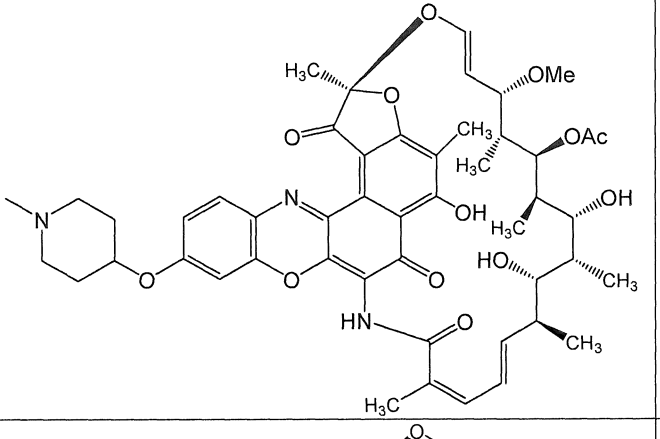
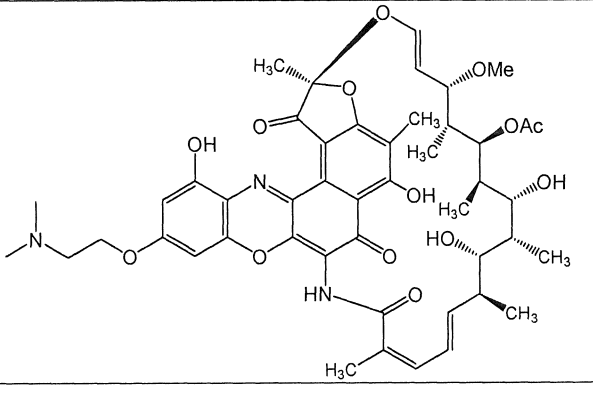
Cấu trúc hợp chất tương tự rifamyxin	Hợp chất số
	1a
	1b
	1c

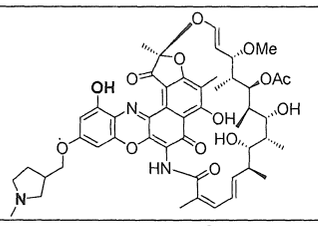
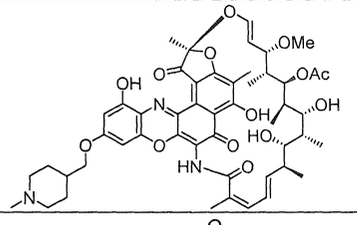
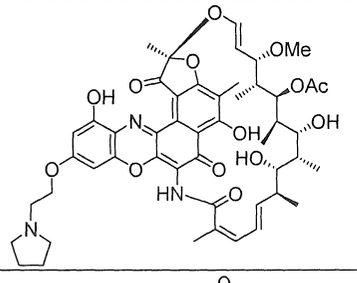
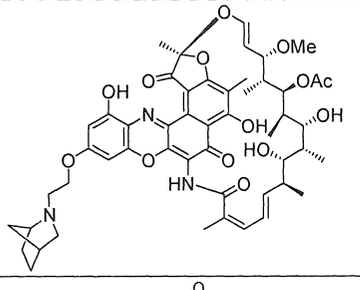
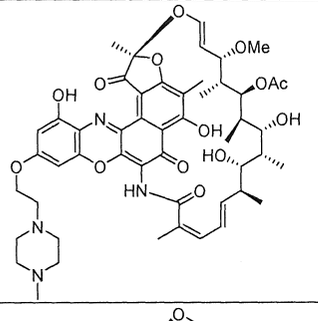
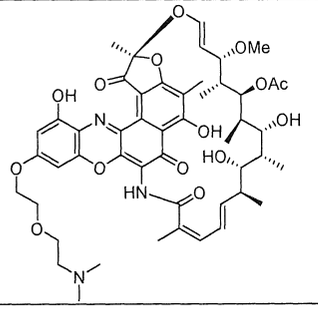
	1d
	14
	16a
	16d

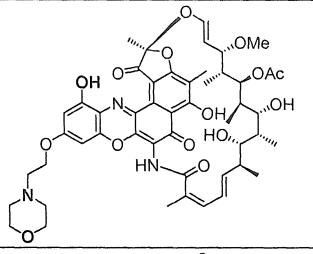
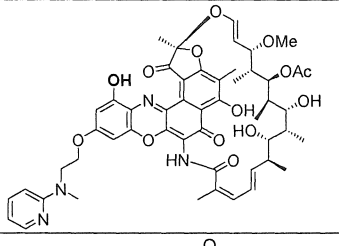
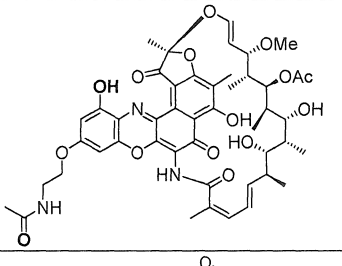
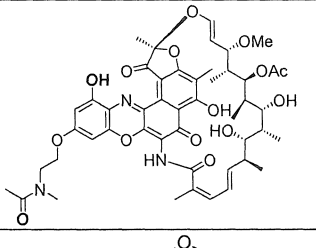
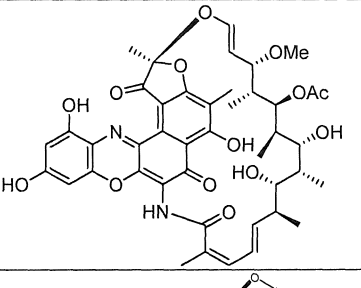
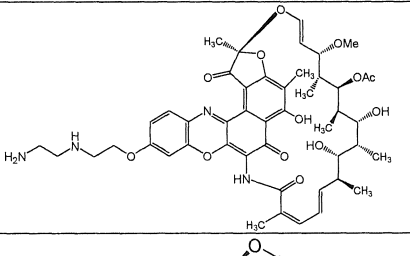
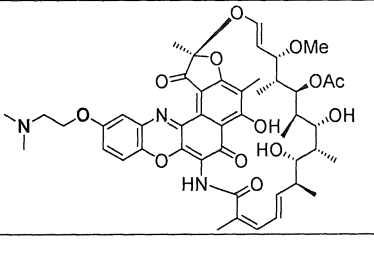
	16e
	16f
	16g
	16h
	16i
	16j

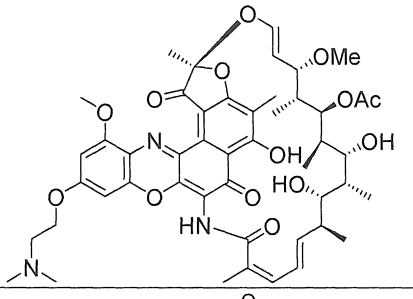
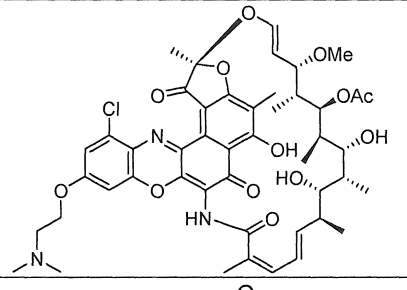
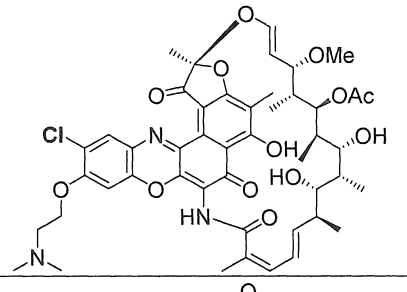
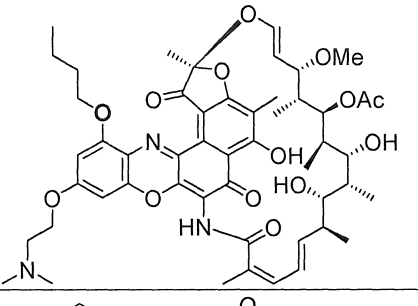
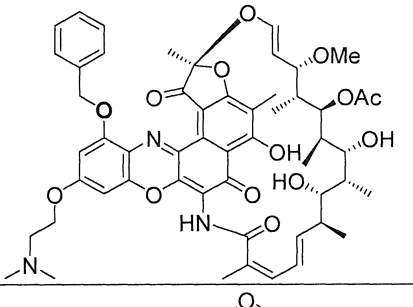
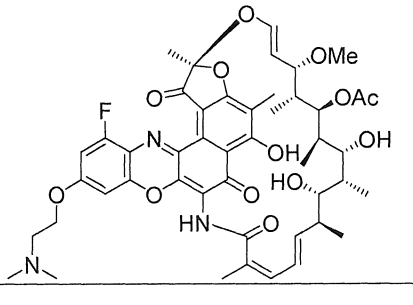
	16k
	16l
	16m
	16n
	16o
	16p
	16q

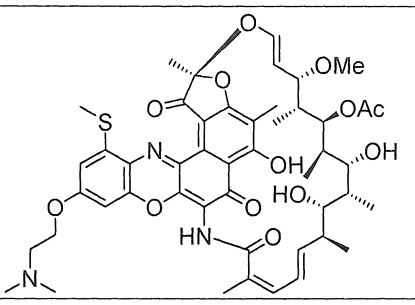
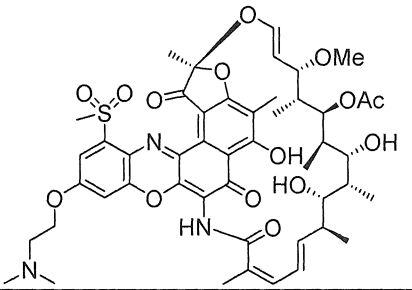
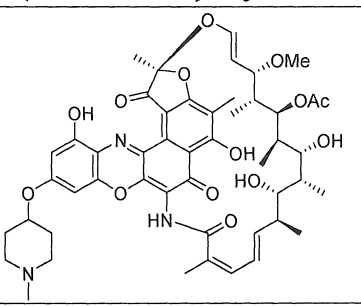
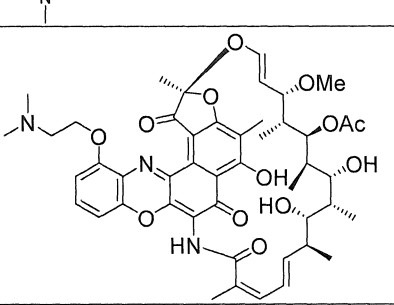
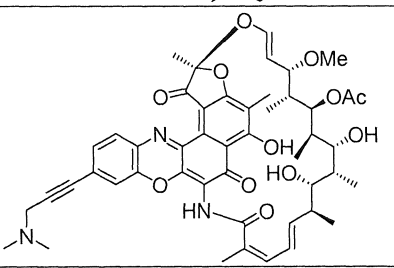
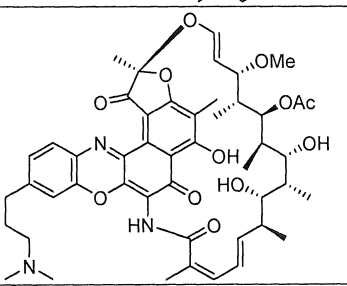
	16r
	16s
	16t
	16u
	16v
	16w
	16x

	16y
	16z
	16z-1
	17
	29

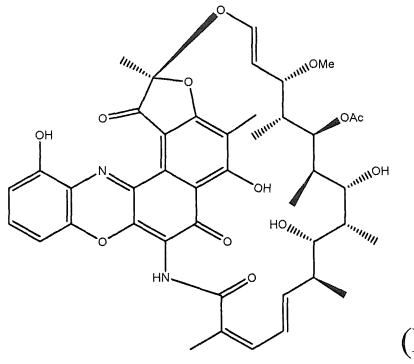
	29a
	29b
	29c
	29d
	29e
	29f

	29g
	29h
	29i
	29j
	29k
	35
	38

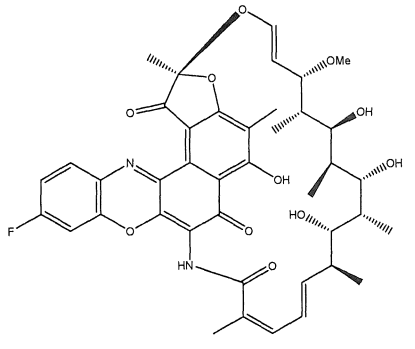
	43
	45
	48
	50
	52
	55

	60
	61
	68
	71
	72
	75

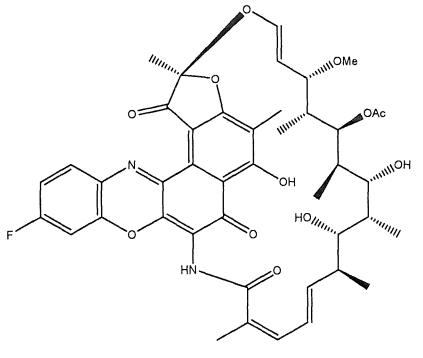
Theo một phương án, hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế có cấu trúc được chọn từ nhóm bao gồm:



(P1),



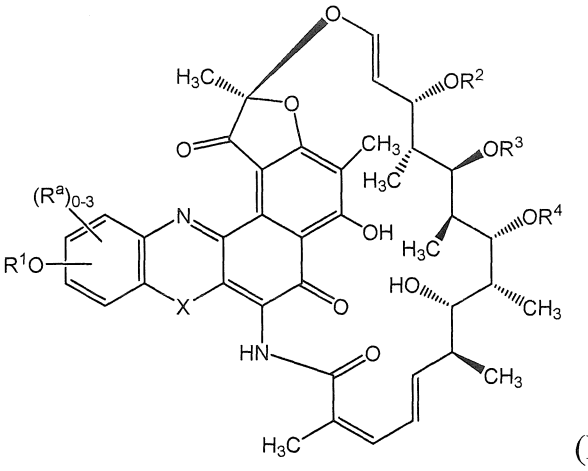
(P2),



(P3),

hoặc muối dược dụng của nó.

Theo một khía cạnh, hợp chất theo sáng chế có cấu trúc có công thức (IA):



(IA)

trong đó:

X được chọn từ -O-, -S-, và -NR*-;

R_1 được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_5-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, aryl C_6-C_{20} hydrocacbon, heteroaryl C_1-C_{20} hydrocacbon, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều hợp chất trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, -O-$N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, -(C=O)-NH_2, -(C=O)-$N(R^*)_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-$N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R^*, -SO_2-$N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -$Si(R^*)_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng;

R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon mạch thẳng, phân nhánh hoặc vòng béo, hoặc -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

R_a mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, OR*, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^*, -SR*, SO_2R^*, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a và R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong

số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_5-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, aryl C_6-C_{20} hydrocacbon, heteroaryl C_1-C_{20} hydrocacbon, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một phương án, X là -O-, R_1 là C_1-C_3 hydrocacbon béo, R_2 là nhóm metyl, R_3 là Ac (-(C=O)-CH_3), R_4 là hydro, và R_a là hydro.

Theo một phương án, X là -O-, R_1 là nhóm benzyl, R_2 là nhóm metyl, R_3 là Ac (-(C=O)-CH_3), R_4 là hydro, và R_a là hydro.

Theo một phương án, X là -O-, R_1 là C_1-C_8 hydrocacbon béo bao gồm từ 1 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, R_2 là nhóm metyl, R_3 là Ac (-(C=O)-CH_3), R_4 là hydro, và R_a là hydro.

Theo một phương án, X là -O-, R_1 là C_1-C_8 hydrocacbon béo được thế bằng một hoặc nhiều trong số -NH_2, -NHR*, -N(R*)$_2$, R_2 là nhóm metyl, R_3 là Ac (-(C=O)-CH_3), R_4 là hydro, và R_a là hydro.

Theo một phương án, X là -NCH_3-, R_1 là -OH, R_2 là nhóm metyl, R_3 là Ac (-(C=O)-CH_3), R_4 là hydro, và R_a là hydro.

Sáng chế còn bao gồm muối của hợp chất được mô tả ở đây. Như được sử dụng ở đây, "muối" dùng để chỉ các dẫn xuất của hợp chất được bộc lộ trong đó hợp chất gốc được cải biến bằng cách chuyển hóa gốc axit hoặc bazơ đang có thành dạng muối của nó. Các ví dụ về muối bao gồm, nhưng không giới hạn ở, axit khoáng (như HC1, HBr, H_2SO_4) hoặc axit hữu cơ (như axit axetic, axit benzoic, muối của axit trifloaxetic của gốc bazơ như amin; muối kiềm (như Li, Na, K, Mg, Ca) hoặc muối hữu cơ (như trialkylamoni) của gốc axit như axit carboxylic; và dạng tương tự. Muối theo sáng chế có thể được tổng hợp từ hợp chất gốc chứa gốc bazơ hoặc axit bằng các phương pháp hóa học thông thường. Nhìn chung, các muối này có thể được điều chế bằng cách cho dạng axit hoặc bazơ tự do của các hợp chất này phản ứng với lượng hóa học lượng pháp

của bazơ hoặc axit thích hợp trong nước hoặc trong dung môi hữu cơ, hoặc trong hỗn hợp của cả hai. Theo một số phương án, môi trường không chứa nước như ete, etyl axetat, etanol, isopropanol, hoặc axetonitril (ACN) có thể được sử dụng.

Sáng chế còn bao gồm muối dược dụng của hợp chất được mô tả ở đây. "Muối dược dụng" bao gồm tập hợp con của các "muối" được mô tả ở trên mà là các muối không độc thông thường của hợp chất gốc tạo thành, ví dụ, từ axit vô cơ hoặc hữu cơ không độc. Danh sách các muối thích hợp được tìm thấy trong tài liệu Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 và Berge, SM *et al*, *Journal of Pharmaceutical Science*, 1977, 66, 1, 1-19. Cụm từ "dược dụng" được sử dụng ở đây để chỉ các hợp chất, vật liệu, chế phẩm, và/hoặc dạng liều lượng, nằm trong phạm vi của đánh giá y học thấu đáo, thích hợp để sử dụng tiếp xúc với mô người và động vật mà không gặp vấn đề như độ độc quá mức, kích ứng, đáp ứng dị ứng, hoặc vấn đề hoặc biến chứng khác, tương ứng với tỷ lệ lợi ích/nguy cơ hợp lý.

Quy trình điều chế các hợp chất này có thể bao gồm bước bảo vệ và khử bảo vệ các nhóm hóa học khác nhau. Nhu cầu đối với việc bảo vệ và khử bảo vệ, và chọn lọc các nhóm bảo vệ thích hợp có thể dễ dàng được xác định bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật liên quan. Hóa học của nhóm bảo vệ có thể được tìm thấy trong tài liệu, ví dụ, Wuts and Greene, *Greene Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., John Wiley & Sons: New York, 2006. Theo một phương án không giới hạn, nhóm bảo vệ có thể bao gồm 1-cloetyl carbonyl (ACE), axetoyl, benzyl (Bn), benzyloxy carbonyl (CBz), formyl, metyl carbonyl, trifloaxetyl, t-butoxy carbonyl (Boc), và florenylmetyloxycacbonyl (Fmoc).

Hợp chất tương tự rifamyxin được thể hiện ở đây bao gồm tất cả các dạng đồng phân (ví dụ, đồng phân đối ảnh, đồng phân không đối quang, và hình học (hoặc cấu dạng)) của hợp chất; ví dụ, cấu hình R và S đối với mỗi tâm không đối xứng, chất đồng phân liên kết đôi (Z) và (E), và chất đồng phân cấu dạng (Z) và (E). Do đó, một chất đồng phân hóa học lập thể đơn lẻ cũng như hỗn hợp đồng phân đối ảnh, đồng phân không

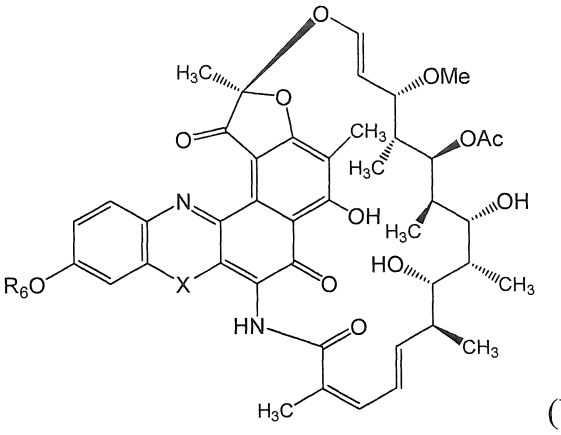
đối quang, và hình học (hoặc cấu dạng) của hợp chất theo sáng chế đều nằm trong phạm vi của sáng chế. Tất cả các dạng hỗ biến của hợp chất có mặt ở đây cũng đều nằm trong phạm vi của sáng chế.

Hợp chất tương tự rifamyxin được mô tả ở đây còn bao gồm tất cả các hợp chất chỉ khác nhau về sự có mặt của một hoặc nhiều nguyên tử được làm giàu đồng vị. Ví dụ, các hợp chất có cấu trúc theo sáng chế ngoại trừ sự thay thế nguyên tử hydro bằng nguyên tử đơteri hoặc triti, hoặc sự thay thế nguyên tử cacbon bằng nguyên tử cacbon được làm giàu ^{11}C hoặc ^{13}C hoặc ^{14}C, hoặc sự thay thế nguyên tử oxy bằng nguyên tử oxy được làm giàu ^{17}O hoặc ^{18}O, hoặc sự thay thế nguyên tử nitơ bằng nguyên tử nitơ được làm giàu ^{15}N nằm trong phạm vi của sáng chế này.

Dạng tinh thể của hợp chất theo sáng chế và các muối của nó cũng nằm trong phạm vi của sáng chế. Hợp chất theo sáng chế có thể được phân lập dưới các dạng vô định hình hoặc kết tinh đa hình khác nhau, bao gồm mà không giới hạn ở, dạng vô định hình hoặc kết tinh đa hình khan, được hydrat hóa, không được solvat hóa, hoặc được solvat hóa. Các ví dụ về hydrat bao gồm hemihydrat, monohydrat, dihydrat, và dạng tương tự. Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế khan và không được solvat hóa. Thuật ngữ "khan" có nghĩa là dạng tinh thể của hợp chất chủ yếu không chứa nước liên kết trong cấu trúc mạng tinh thể, tức là, hợp chất này không tạo hydrat kết tinh.

Phương pháp sản xuất

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (V):

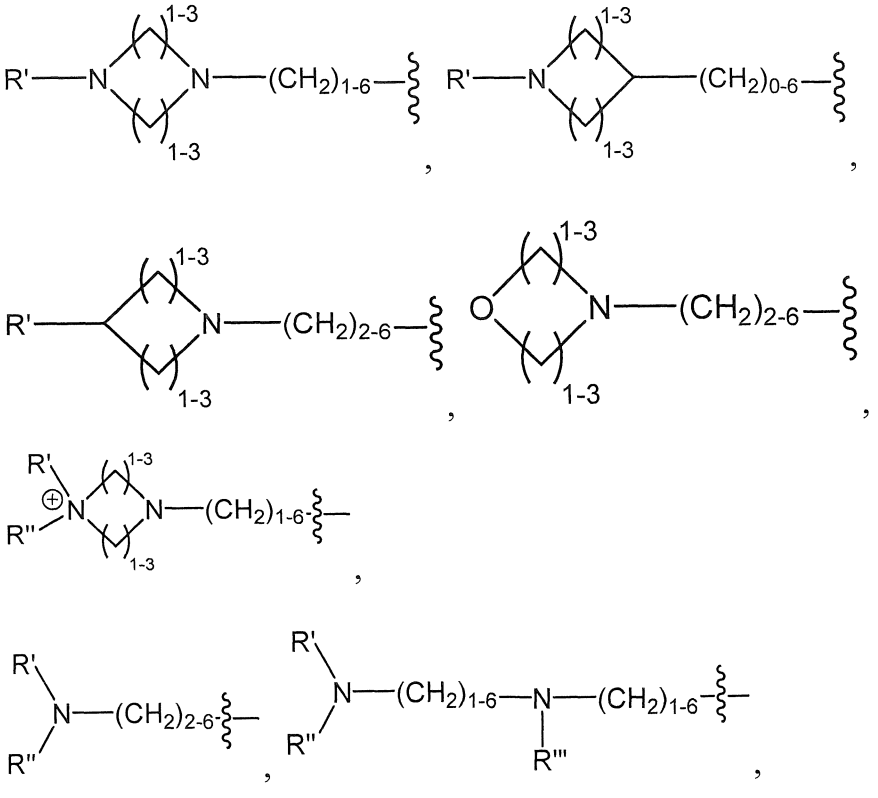


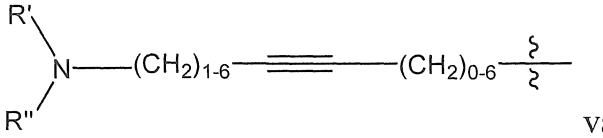
(V),

trong đó X được chọn từ -O- và NR*-;

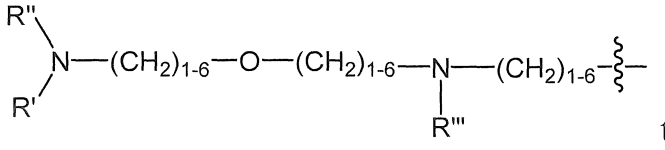
R_6 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng,

R_N được chọn từ:





và

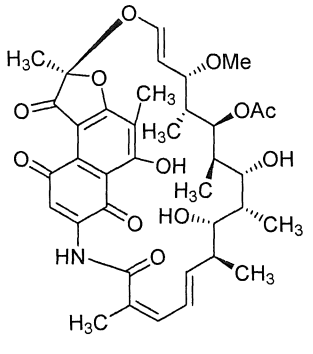


trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

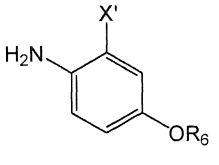
R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng,

bao gồm các bước:

(a) cho rifamyxin S có cấu trúc:



tiếp xúc với hợp chất có cấu trúc có công thức (VI):



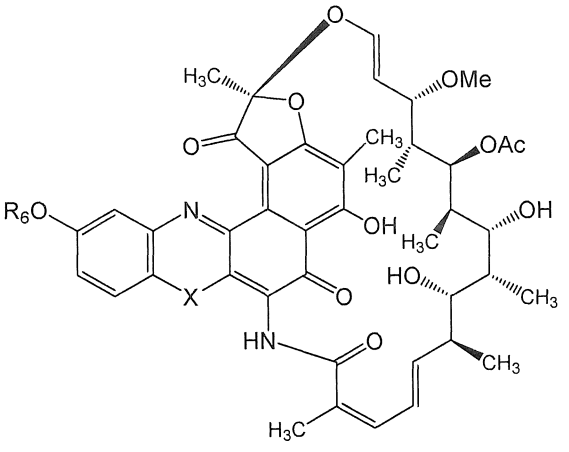
(VI),

trong đó X' được chọn từ -OH và -NHR*, và

(b) xử lý sản phẩm trong bước (a) bằng chất oxy hóa.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất hợp chất tương

tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (V'):

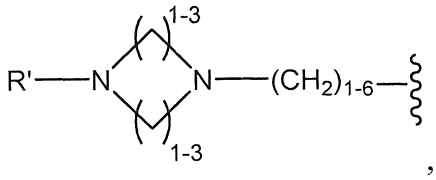


(V'),

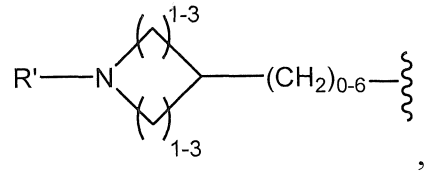
trong đó X được chọn từ -O- và NR*-;

R_6 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng,

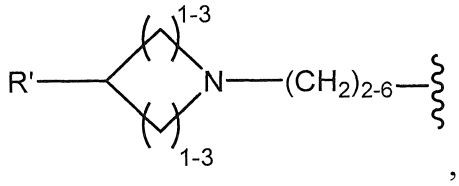
R_N được chọn từ:



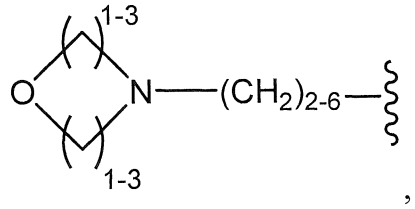
,



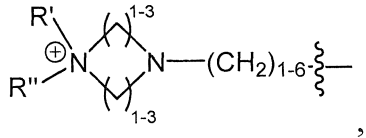
,



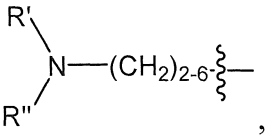
,



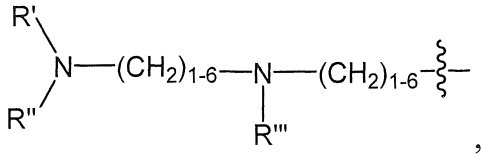
,



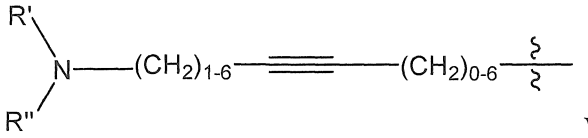
,



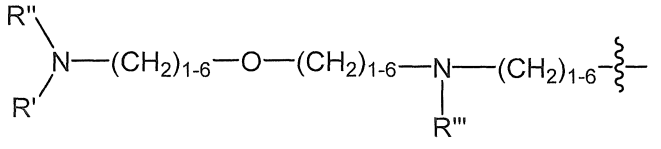
,



,



và

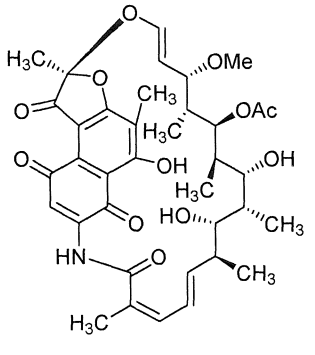


trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

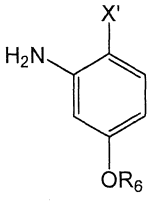
R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng,

bao gồm các bước:

(a) cho rifamyxin S có cấu trúc:



tiếp xúc với hợp chất có cấu trúc có công thức (VI'):

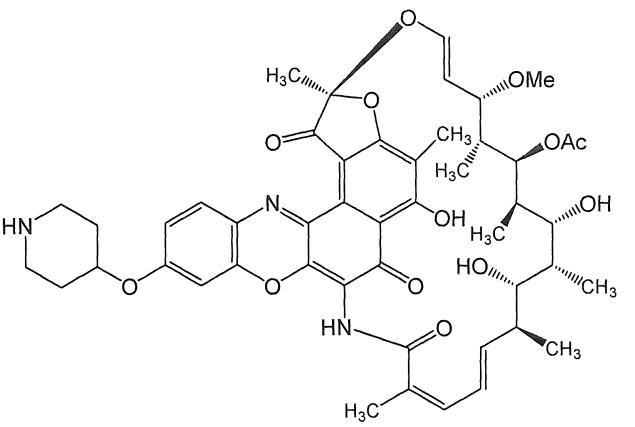


(VI'),

trong đó X' được chọn từ -OH và -NHR*, và

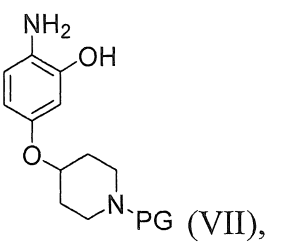
(b) xử lý sản phẩm trong bước (a) bằng chất oxy hóa.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất hợp chất có cấu trúc:



bao gồm các bước:

(a) cho rifamyxin S tiếp xúc với hợp chất có cấu trúc có công thức (VII):

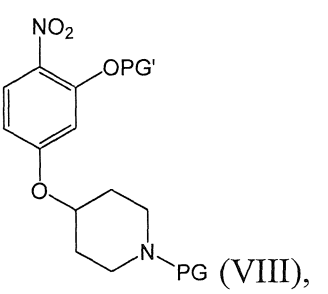


trong đó PG là nhóm bảo vệ;

(b) xử lý sản phẩm trong bước (a) bằng chất oxy hóa, và

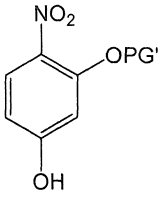
(c) loại bỏ nhóm bảo vệ PG.

Theo một phương án, hợp chất có công thức (VII) được điều chế bằng cách loại bỏ nhóm bảo vệ PG' khỏi hợp chất có công thức (VIII):

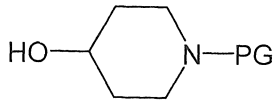


trong đó nhóm bảo vệ PG và PG' có thể giống nhau hoặc khác nhau.

Theo một phương án, hợp chất có công thức (VIII) được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (IX):



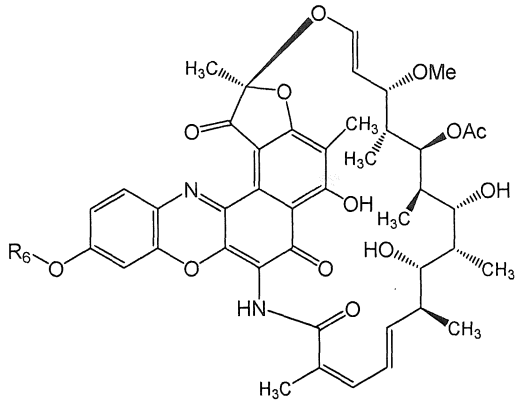
(IX) tiếp xúc với hợp chất có công thức (X):



(X),

trong đó nhóm bảo vệ PG và PG' có thể giống nhau hoặc khác nhau.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất hợp chất có cấu trúc có công thức (XI):

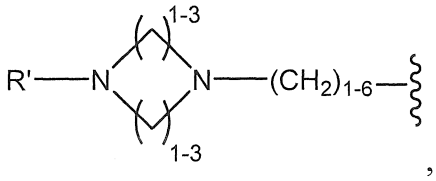


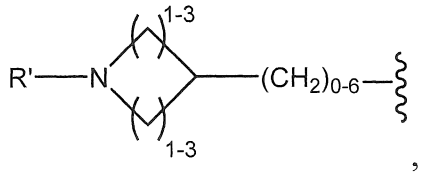
(XI)

trong đó R_6 được chọn từ R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng và trong đó R_6 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F-Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -N(R*)$_2$, -N(R*)$_3^+$, -N(R*)-OH, -O-N(R*)$_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, CHO, -CO_2H, -CO_2R*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, -(C=O)-NH_2, -(C=O)-N(R*)$_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-N(R*)$_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R*, -SO_2-N(R*)$_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -Si(R*)$_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn

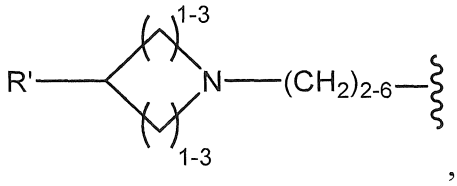
hợp của chúng;

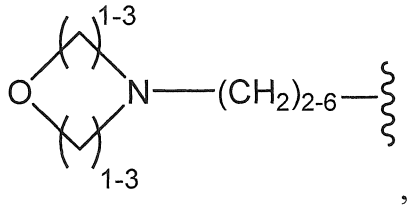
R_N được chọn từ:



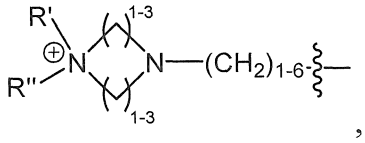
,


,

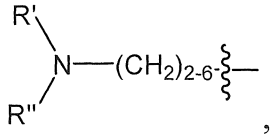


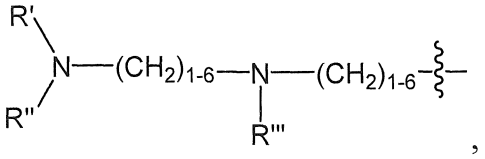
,


,

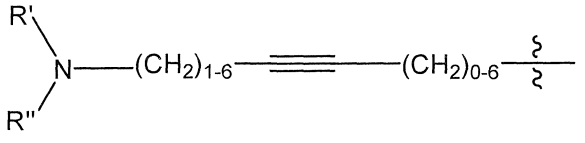


,

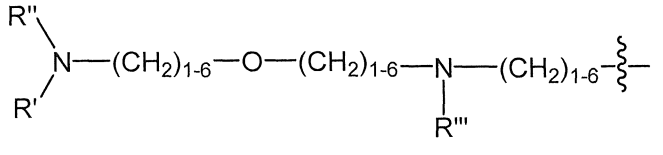


,


,



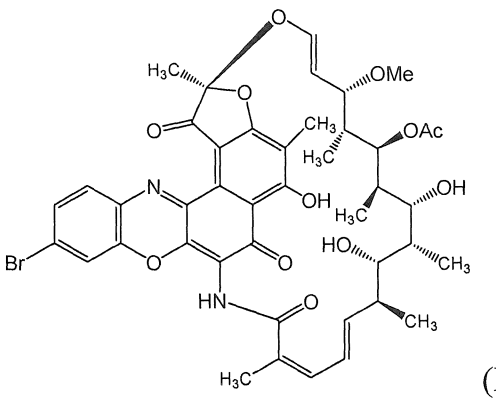
và



trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng, bao gồm

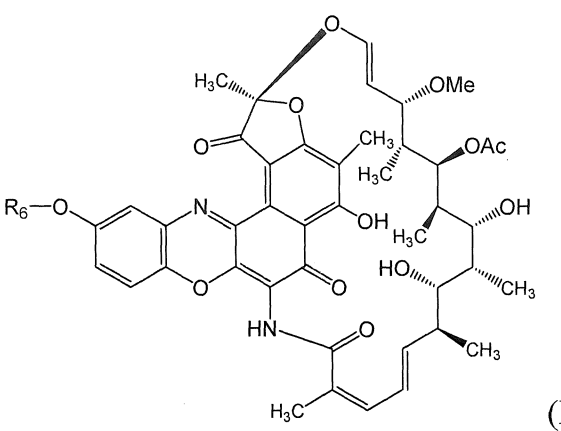
bước cho hợp chất có cấu trúc có công thức (XII):



(XII)

tiếp xúc với rượu có cấu trúc R_6-OH.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất hợp chất có cấu trúc có công thức (XI'):

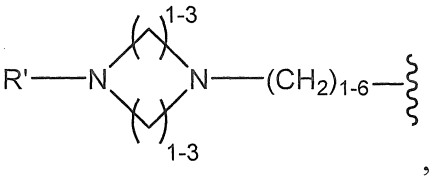


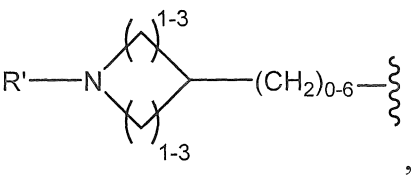
(XI')

trong đó R_6 được chọn từ R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng và trong đó R_6 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F; -Cl; -Br; -I; -OH, -OR*; -NO; -NO_2; -NO_3; -O-NO; -N_3; -NH_2; -NHR*; -N(R*)$_2$; -N(R*)$_3^+$; -N(R*)-OH; -O-N(R*)$_2$; -N(R*)-O-R*; -CN; -NC; -(C=O)-R*; -CHO; -CO_2H; -CO_2R*; -(C=O)-S-R*; -O-(C=O)-H; -O-(C=O)-R*; -S-(C=O)-R*; -(C=O)-NH_2; -(C=O)-N(R*)$_2$; -(C=O)-$NHNH_2$; -O-(C=O)-$NHNH_2$; -(C=S)-NH_2; -(C=S)-N(R*)$_2$; -N(R*)-CHO; -N(R*)-(C=O)-R*; -SCN; -NCS; -NSO; -

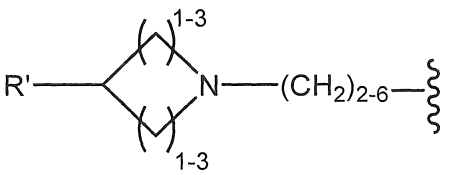
SSR*; -SO_2R*; -SO_2-N(R*)$_2$; -S(=O)-OR*; -S(=O)-R*; -Si(R*)$_3$; -CF_3; -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng,

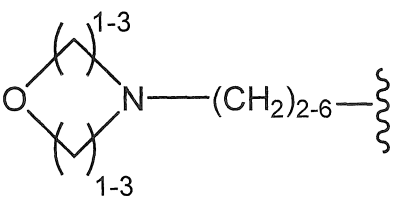
R_N được chọn từ:



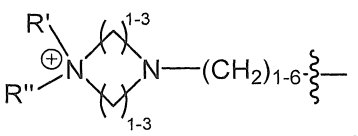
,


,

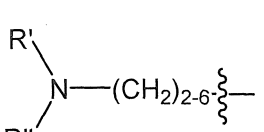
•


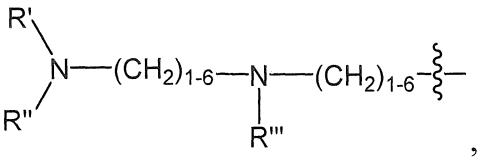
,


,

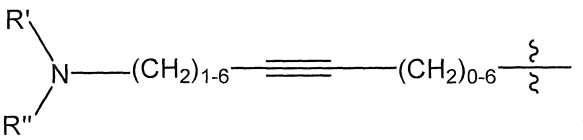


,

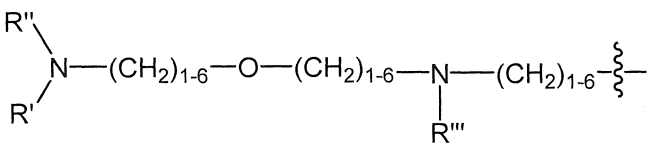


,


,



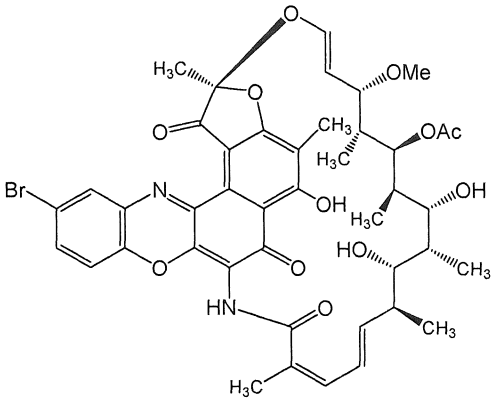
và



trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8

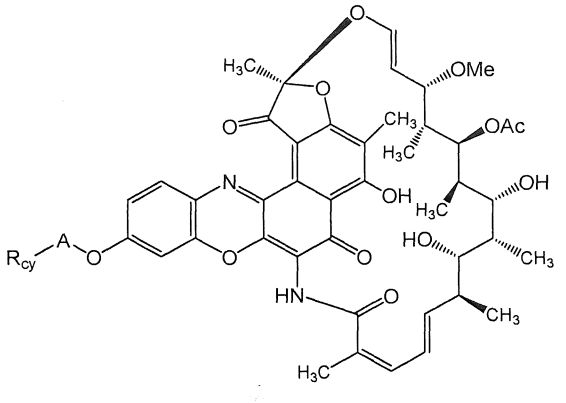
nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng, bao gồm bước cho hợp chất có cấu trúc có công thức (XII):



(XII')

tiếp xúc với rượu có cấu trúc R_6-OH.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất hợp chất có cấu trúc có công thức (XIII):



(XIII)

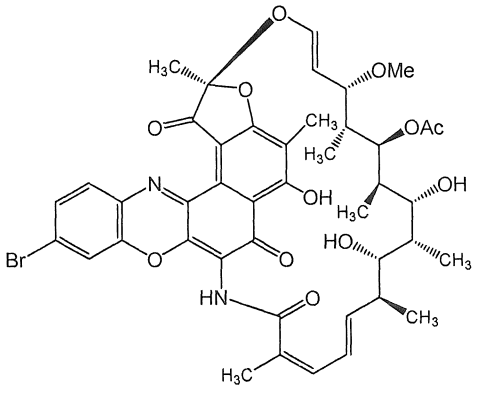
trong đó A được chọn từ liên kết (A không có mặt) hoặc C_1-C_{20} hydrocacbon béo;

R_{cy} là C_3-C_{14} hydrocacbon vòng béo mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng và trong đó R_{cy} tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -N(R*)$_2$, -N(R*)$_3^+$, -N(R*)-OH, -O-N(R*)$_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, -(C=O)-NH_2, -(C=O)-N(R*)$_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-N(R*)$_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS,

-NSO, -SSR*, -SO_2R*, -SO_2-N(R*)$_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -Si(R*)$_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng;

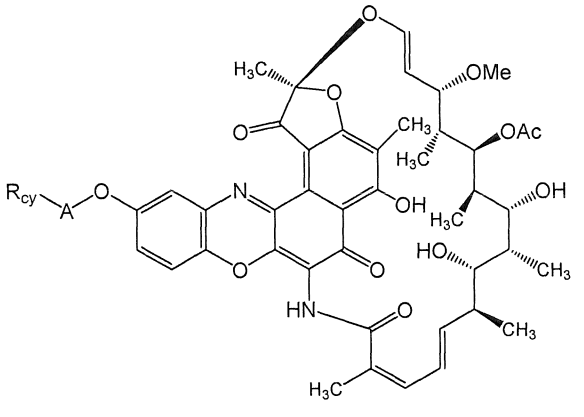
bao gồm bước cho hợp chất có cấu trúc có công thức (XII):



(XII)

tiếp xúc với rượu có cấu trúc R_{cy}-A-OH.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất hợp chất có cấu trúc có công thức (XIII'):



(XIII')

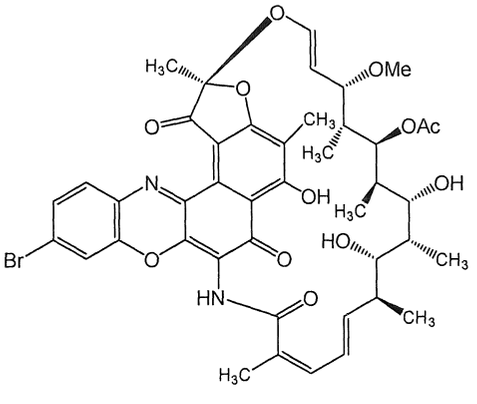
trong đó A được chọn từ liên kết (A không có mặt) hoặc C_1-C_{20} hydrocacbon béo;

R_{cy} là C_3-C_{14} vòng béo hydrocacbon mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại

được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng và trong đó R_{cy} tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, $-NO_2$, $-NO_3$, -O-NO, $-N_3$, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, $-O-N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, $-(C=O)-NH_2$, $-(C=O)-N(R^*)_2$, $-(C=O)-NHNH_2$, $-O-(C=O)-NHNH_2$, $-(C=S)-NH_2$, $-(C=S)-N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, $-SO_2R^*$, $-SO_2-N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, $-Si(R^*)_3$, $-CF_3$, $-O-CF_3$ và hỗn hợp của chúng; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng;

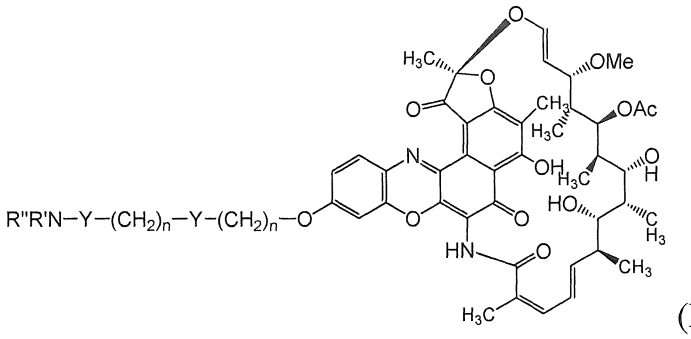
bao gồm bước cho hợp chất có cấu trúc có công thức (XII):



(XII)

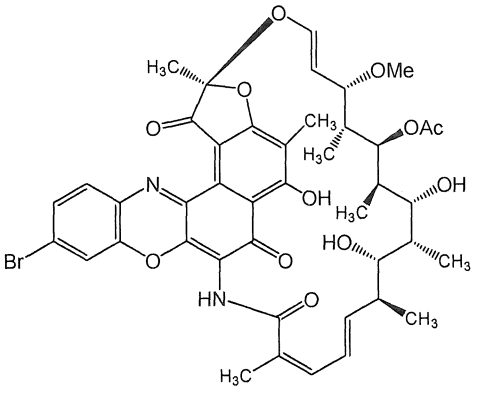
tiếp xúc với rượu có cấu trúc R_{cy}-A-OH.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất hợp chất có cấu trúc có công thức (XIV):



(XIV),

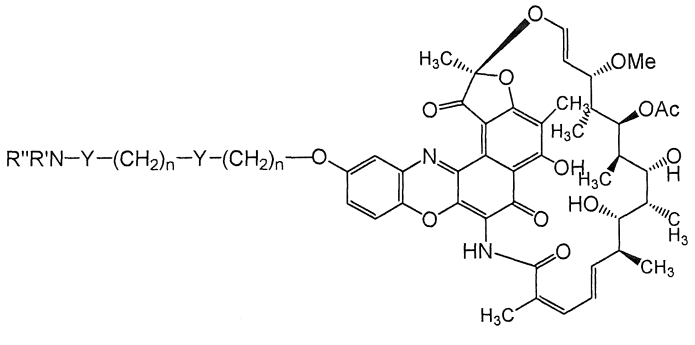
trong đó Y mỗi khi có mặt được chọn từ -O- và -NR'R''-; n mỗi khi có mặt độc lập là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 6, và mỗi trong số R', R'', và R''' độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo; phương pháp này bao gồm bước cho hợp chất có cấu trúc có công thức (XII):



(XII)

tiếp xúc với rượu có cấu trúc $R''R'N-Y-(CH_2)_n-Y-(CH_2)_n-OH$.

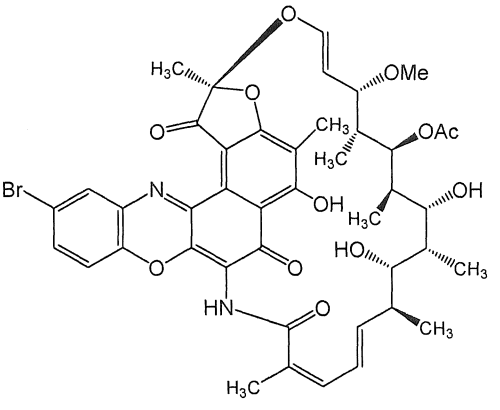
Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất hợp chất có cấu trúc có công thức (XIV'):



(XIV'),

trong đó Y mỗi khi có mặt được chọn từ -O- và -NR'R''-; n mỗi khi có mặt độc lập là số

nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 6, và mỗi trong số R', R'', và R''' độc lập được chọn từ hydro và C_1-C_{20} hydrocacbon béo; phương pháp này bao gồm bước cho hợp chất có cấu trúc có công thức (XII'):



(XII')

tiếp xúc với rượu có cấu trúc $R''R'N-Y-(CH_2)_n-Y-(CH_2)_n-OH$.

Theo một phương án, hợp chất có công thức (XII) được điều chế bằng cách cho rifamyxin S tiếp xúc với 2-amino-5-bromophenol, và xử lý sản phẩm này bằng chất oxy hóa.

Theo một phương án, hợp chất có công thức (XII') được điều chế bằng cách cho rifamyxin S tiếp xúc với 2-amino-4-bromophenol, và xử lý sản phẩm này bằng chất oxy hóa.

Dược phẩm và dạng liều lượng

Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất được mô tả ở đây. Khi được sử dụng làm thuốc, hợp chất theo sáng chế có thể được dùng dưới dạng dược phẩm mà là tổ hợp của hợp chất theo sáng chế và chất mang dược dụng. Các dược phẩm này có thể được điều chế theo cách đã biết trong lĩnh vực dược lý, và có thể được dùng bằng nhiều đường khác nhau. Các dược phẩm này có thể được dùng toàn thân. Thuật ngữ "toàn thân" như được sử dụng ở đây bao gồm dùng ngoài đường tiêu hóa, khu trú, áp da, qua đường miệng, bằng cách xông hít/trong phổi, trực tràng, mũi, má, và dưới lưỡi. Thuật ngữ "ngoài đường tiêu hóa" như được sử dụng ở đây bao gồm dùng dưới da, trong da, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong sọ, và trong màng bụng. Theo một số phương án,

các hợp chất được dùng qua đường miệng, khu trú, trong mũi, trong tĩnh mạch, trong cơ, hoặc dưới da ở lượng hữu hiệu điều trị bệnh để điều trị bệnh nhiễm khuẩn (ví dụ, bệnh nhiễm *S. aureus*).

Dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế có thể được bào chế kết hợp với một hoặc nhiều chất mang dược dụng. Khi bào chế dược phẩm theo sáng chế, hoạt chất thường được trộn với tá dược, được pha loãng bởi tá dược hoặc được bao trong chất mang như vậy dưới dạng, ví dụ, viên nang, gói nhỏ, giấy, hoặc vật chứa khác. Khi tá dược nhằm làm chất pha loãng, thì nó có thể là vật liệu rắn, bán rắn hoặc lỏng, mà hoạt động như chất dẫn thuốc, chất mang hoặc môi trường cho hoạt chất. Vì vậy, dược phẩm này có thể có dạng viên nén, viên tròn, bột, viên ngậm, gói nhỏ, viên nhện, cồn ngọt, hỗn dịch, nhũ tương, dung dịch, siro, sol khí (dưới dạng môi trường rắn hoặc lỏng), thuốc mỡ chứa, ví dụ, lên đến 10% trọng lượng của hợp chất có hoạt tính, viên nang gelatin mềm và cứng, thuốc đạn, dung dịch tiêm vô trùng, và gói bột vô trùng.

Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế ở dạng lỏng. Dạng lỏng bao gồm, chỉ nhằm là ví dụ không giới hạn, nhũ tương, dung dịch, hỗn dịch, siro, huyền phù đặc, dạng phân tán, keo và dạng tương tự. Theo một số phương án, dược phẩm được mô tả ở đây ở dạng lỏng, bán lỏng hoặc rắn (ví dụ, bột). Theo các phương án cụ thể, dược phẩm được mô tả ở đây ở dạng bán lỏng, ví dụ, gel, cơ chất gel, kem, hồ, hoặc dạng tương tự. Theo một số phương án, dạng bán lỏng này chứa chất dẫn thuốc dạng lỏng. Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế là dạng liều lượng rắn, như viên nén, hạt, gói nhỏ, hoặc bột. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế hoặc muối dược dụng của nó dưới dạng viên nén hòa tan, viên nhện hòa tan, viên nang, hoặc viên nang gel. Theo một số phương án nhất định, dạng liều lượng rắn được mô tả ở đây chứa chất dẫn thuốc dạng rắn (ví dụ, như được sử dụng trong viên nén), và/hoặc chất dẫn thuốc dạng khí (ví dụ, như được sử dụng trong DPI).

Theo một số phương án, dược phẩm ở dạng phối trộn liều đơn vị để cho bệnh nhân dùng qua đường miệng, trong mũi, trong tĩnh mạch, hoặc đường dùng khác. Thuật ngữ "dạng liều đơn vị" dùng để chỉ các đơn vị riêng biệt về mặt vật lý thích hợp làm liều

đơn vị để dùng cho đối tượng là người và các động vật có vú khác, mỗi đơn vị chứa một lượng định trước của vật liệu hoạt tính được tính để đem lại tác dụng trị liệu mong muốn, kết hợp với tá dược thích hợp.

Hợp chất có hoạt tính có thể có tác dụng trên một phạm vi liều rộng và thường được dùng ở lượng hữu hiệu về mặt dược lý. Tuy nhiên, cần hiểu rằng lượng hợp chất được dùng trên thực tế thường được xác định bởi bác sĩ, theo các tình huống liên quan, bao gồm tình trạng bệnh lý cần điều trị, đường dùng được chọn, hợp chất thực tế được dùng, độ tuổi, trọng lượng, và đáp ứng của từng bệnh nhân, độ nghiêm trọng của các triệu chứng ở bệnh nhân, và yếu tố tương tự.

Theo một số phương án, dược phẩm hoặc dạng liều đơn vị được mô tả ở đây được dùng dưới dạng nhũ tương, dung dịch, hỗn dịch, siro, huyền phù đặc, dạng phân tán, keo, viên nén hòa tan, viên nhện hòa tan, viên nang, viên nang gel, dạng bán lỏng, gel dạng rắn, cơ chất gel, kem, hồ, viên nén, hạt, gói nhỏ, bột, hoặc dạng tương tự. Theo một số khía cạnh nhất định, cá thể sẽ được cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc hợp chất có cấu trúc theo phương án bất kỳ của các công thức (A), (B), (I), (I'), (II), (II'), (III), (III'), (IV), (IV'), (V), (V') như được đề xuất trong bản mô tả với lượng nằm trong khoảng từ 0,000001mg đến 2000mg, khoảng từ 0,00001mg đến 1000mg, hoặc khoảng từ 0,0001mg đến 750mg, khoảng từ 0,001mg đến 500mg, khoảng từ 0,01mg đến 250mg, khoảng từ 0,1mg đến 100mg, khoảng từ 0,5mg đến 75mg, khoảng từ 1mg đến 50mg, khoảng từ 2mg đến 40mg, khoảng từ 5mg đến 20mg, hoặc khoảng từ 7,5mg đến 15mg, mỗi ngày hoặc mỗi liều.

Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế có mặt trong dược phẩm hoặc liều đơn vị của dược phẩm được mô tả ở đây với lượng nằm trong khoảng từ 0,01mg đến 10mg (ví dụ, khoảng từ 0,1 đến 10mg, khoảng từ 0,25 đến 5mg, khoảng từ 0,25 đến 2,5mg, khoảng từ 1 đến 2mg hoặc khoảng từ 2 đến 3mg, khoảng từ 0,5mg đến 2mg, khoảng từ 1 đến 2mg, khoảng 1mg, hoặc khoảng 2mg). Theo một số phương án, lượng hợp chất được dùng hằng ngày hoặc dưới dạng liều đơn vị là nằm trong khoảng từ 0,5mg đến 3mg, nằm trong khoảng từ 0,5mg đến 4mg, hoặc nằm trong khoảng từ 0,35mg đến

4mg. Theo các phương án khác, lượng hợp chất có mặt trong liều đơn vị hoặc được dùng hằng ngày là nằm trong khoảng từ 1 đến 3mg, hoặc nằm trong khoảng từ 1 đến 2mg, hoặc nằm trong khoảng từ 2 đến 3mg.

Theo một số khía cạnh nhất định, bệnh nhân được cho dùng hợp chất với lượng nằm trong khoảng từ 0,05mg đến 50mg, khoảng từ 0,25mg đến 20mg, khoảng từ 0,25mg đến 15mg, khoảng từ 0,25mg đến 10mg, hoặc khoảng từ 0,25mg đến 5mg (ví dụ, khoảng từ 0,1 đến 5mg, khoảng từ 0,25 đến 2,5mg, khoảng từ 0,3mg đến 2mg, khoảng từ 0,5mg đến 1mg, khoảng từ 0,7mg đến 1,5mg, khoảng 0,375mg, khoảng 0,75mg, khoảng 1mg, khoảng 1,25mg, khoảng 1,5mg hoặc khoảng 2mg) mỗi ngày hoặc mỗi liều.

Theo một số phương án, hợp chất có mặt trong liều đơn vị với lượng nằm trong khoảng từ 5mg đến 500mg. Theo một số phương án, lượng hợp chất được dùng hằng ngày hoặc trong liều đơn vị là nằm trong khoảng từ 5mg đến 300mg. Theo các phương án khác, lượng hợp chất có mặt trong liều đơn vị hoặc được dùng hằng ngày với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 250mg, hoặc nằm trong khoảng từ 5 đến 200mg, nằm trong khoảng từ 5mg đến 150mg, nằm trong khoảng từ 5mg đến 100mg, hoặc nằm trong khoảng từ 5 đến 50mg.

Trong quy trình bào chế dược phẩm, hợp chất có hoạt tính có thể được nghiền để có được cỡ hạt thích hợp trước khi kết hợp với các thành phần khác. Nếu hợp chất có hoạt tính gần như không tan, nó có thể được nghiền đến cỡ hạt nhỏ hơn 200 mesh. Nếu hợp chất có hoạt tính này gần như tan trong nước, thì cỡ hạt có thể được điều chỉnh bằng cách nghiền để đạt mức phân bố gần như đồng đều trong dược phẩm, ví dụ khoảng 40 mesh. Một số ví dụ về tá dược thích hợp bao gồm lactoza, dextroza, sucroza, sorbitol, manitol, tinh bột, gôm acacia, canxi phosphat, alginat, tragacanth, gelatin, canxi silicat, xenluloza vi tinh thể, polyvinylpyrolidon, xenluloza, nước, siro, và metyl xenluloza. Các dược phẩm còn có thể chứa: chất làm trơn như bột talc, magie stearat, và dầu khoáng; chất thấm ướt; chất nhũ hóa và chất tạo hỗn dịch; chất bảo quản như metyl- và propylhydroxy-benzoat; chất làm ngọt; và chất tạo hương. Dược phẩm theo sáng chế có thể được phối trộn nhằm để giải phóng nhanh, duy trì hoặc trì hoãn hoạt chất sau khi cho

bệnh nhân dùng bằng cách sử dụng các quy trình đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Để bào chế dược phẩm rắn như viên nén, hoạt chất cơ bản được trộn với tá dược để tạo ra dược phẩm phối trộn sơ bộ dạng rắn chứa hỗn hợp đồng nhất của hợp chất có công thức I. Khi đề cập đến các dược phẩm phối trộn sơ bộ dưới dạng đồng nhất, hoạt chất thường được phân tán đồng đều trong toàn bộ dược phẩm sao cho dược phẩm này có thể dễ dàng được chia nhỏ thành các dạng liều đơn vị có hiệu quả như nhau như viên nén, viên tròn và viên nang. Dạng phối trộn sơ bộ rắn này sau đó được chia nhỏ thành các dạng liều đơn vị thuộc loại được mô tả ở trên chứa hoạt chất theo sáng chế với lượng nằm trong khoảng từ, ví dụ, 0,000001 đến 2000mg.

Viên nén hoặc viên tròn chứa hợp chất có công thức I có thể được phủ hoặc được kết hợp để tạo ra dạng liều lượng đem đến lợi ích là tác động kéo dài. Ví dụ, viên nén hoặc viên tròn có thể bao gồm thành phần liều lượng bên trong và thành phần liều lượng bên ngoài, thành phần liều lượng bên ngoài có dạng vỏ bao lấy thành phần liều lượng bên trong. Hai thành phần này có thể được tách bởi lớp ruột nhằm chống lại sự tan rã trong dạ dày và cho phép thành phần bên trong nguyên vẹn đi vào tá tràng hoặc được trì hoãn việc giải phóng. Các vật liệu khác nhau có thể được sử dụng cho lớp ruột hoặc lớp phủ như vậy, các vật liệu này bao gồm một số axit polymeric và hỗn hợp của axit polymeric với các vật liệu như senlac, rượu xetylic, và xenluloza axetat.

Các dạng lỏng trong đó hợp chất và dược phẩm theo sáng chế có thể được kết hợp để dùng qua đường miệng hoặc bằng cách tiêm bao gồm dung dịch chứa nước, siro được tạo hương thích hợp, hỗn dịch chứa nước hoặc chứa dầu, và nhũ tương được tạo hương với dầu ăn được như dầu hạt bông, dầu vừng, dầu dừa, hoặc dầu lạc, cũng như cồn ngọt và các chất dẫn thuốc tương tự.

Dược phẩm dùng để xông hít hoặc thổi bao gồm dung dịch và hỗn dịch trong dung môi dược dụng, chứa nước hoặc hữu cơ, hoặc hỗn hợp của chúng, và bột. Dược phẩm lỏng hoặc rắn có thể chứa các tá dược dược dụng thích hợp như được đề cập ở trên. Theo một số phương án, dược phẩm này được dùng bằng đường hô hấp miệng hoặc mũi để có tác dụng khu trú hoặc toàn thân. Dược phẩm này có thể được phun bằng cách

sử dụng khí trơ. Dung dịch được phun có thể được thở trực tiếp từ thiết bị phun hoặc thiết bị phun này có thể được gắn vào nút gạc trên mặt nạ, hoặc máy thở áp suất dương gián đoạn. Dược phẩm dung dịch, hỗn dịch, hoặc bột có thể được dùng qua đường miệng hoặc mũi từ thiết bị sẽ phân phối dược phẩm này theo cách thích hợp.

Dược phẩm được dùng cho bệnh nhân có thể có dạng dược phẩm được mô tả ở trên. Các dược phẩm này có thể được vô trùng bằng kỹ thuật vô trùng thông thường, hoặc có thể được lọc vô trùng. Dung dịch chứa nước có thể được đóng gói để sử dụng nguyên trạng, hoặc được làm khô lạnh, chế phẩm được làm khô lạnh này được kết hợp với chất mang chứa nước vô trùng trước khi dùng. Độ pH của chế phẩm chứa hợp chất thường nằm trong khoảng từ 3 đến 11, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 5 đến 9. Cần hiểu rằng việc sử dụng một số tá dược, chất mang, hoặc chất ổn định sẽ dẫn đến việc tạo thành các muối dược.

Liều lượng trị liệu của hợp chất theo sáng chế có thể thay đổi theo, ví dụ, mục đích sử dụng cụ thể khi việc điều trị được thực hiện, cách dùng hợp chất, sức khỏe và tình trạng của bệnh nhân, và đánh giá của bác sĩ kê đơn. Tỷ lệ hoặc nồng độ của hợp chất theo sáng chế trong dược phẩm có thể thay đổi tùy thuộc vào một số yếu tố bao gồm liều lượng, đặc tính hóa học (ví dụ, tính kỵ nước), và đường dùng. Liều lượng này có thể phụ thuộc vào các biến số như loại và phạm vi tiến triển của bệnh hoặc rối loạn, tình trạng sức khỏe tổng quát của từng bệnh nhân cụ thể, độ hiệu nghiệm sinh học tương đối của hợp chất được chọn, dạng phối trọn của tá dược, và đường dùng của nó. Các liều hữu hiệu có thể được ngoại suy từ đường cong đáp ứng liều có nguồn gốc từ *in vitro* hoặc hệ thử nghiệm trên mô hình động vật.

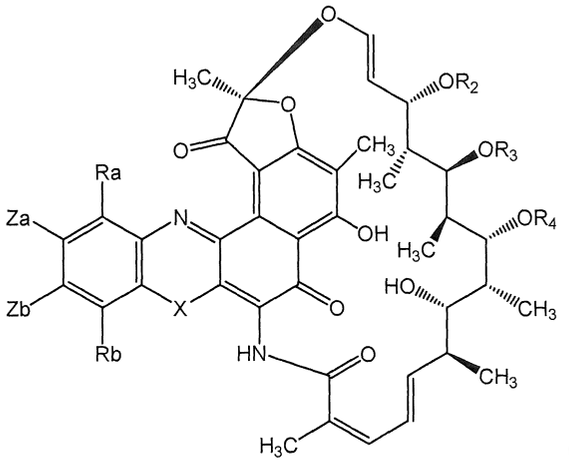
Sáng chế còn bao gồm bộ kit dược hữu ích, ví dụ, trong điều trị bệnh nhiễm khuẩn (ví dụ, bệnh nhiễm *S. aureus*), mà bao gồm một hoặc nhiều vật chứa chứa dược phẩm chứa một lượng hữu hiệu điều trị bệnh của hợp chất theo sáng chế. Bộ kit này có thể còn chứa, nếu muốn, một hoặc nhiều thành phần trong số nhiều thành phần thông thường của bộ kit dược, như, ví dụ, vật chứa với một hoặc nhiều chất mang dược dụng, vật chứa bổ sung, v.v., như đã rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật

liên quan. Hướng dẫn sử dụng, dưới dạng tờ rời kèm trong bao gói hoặc dưới dạng nhãn mác, chỉ ra lượng thành phần cần được dùng, hướng dẫn dùng, và/hoặc hướng dẫn trộn các thành phần, cũng có thể có trong bộ kit.

Thiết bị phân phối quan trọng không những đối với việc phân phối hợp chất theo sáng chế, mà còn với cả việc cung cấp môi trường bảo quản thích hợp. Điều này bao gồm việc bảo vệ để không bị nhiễm bẩn bởi vi trùng và thoái biến hóa học. Thiết bị này và dạng phối trộn nên tương thích để tránh tình trạng ngâm chiết hoặc hút bám tiềm ẩn. Thiết bị phân phối (hoặc dạng đóng gói của nó) có thể tùy ý được bố trí nhãn mác và/hoặc hướng dẫn sử dụng chỉ ra rằng dược phẩm nên được sử dụng trong mũi.

Phương pháp sử dụng

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa hoặc ức chế sự phát triển của vi khuẩn bao gồm bước dùng một lượng hữu hiệu của hợp chất có cấu trúc có công thức (A):



(A)

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

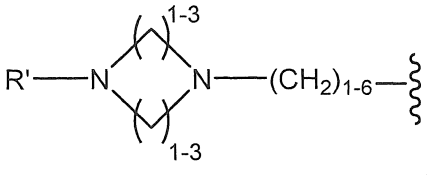
X được chọn từ -O-, -S- và -NR*-;

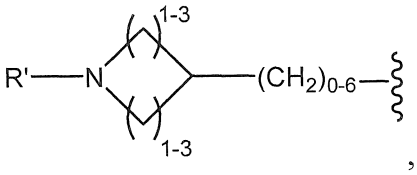
Za và Zb độc lập được chọn từ hydro, -Cl, -Br, -OR_1 và -R_N; với điều kiện ít nhất một trong số Za hoặc Zb không phải là hydro; trong đó:

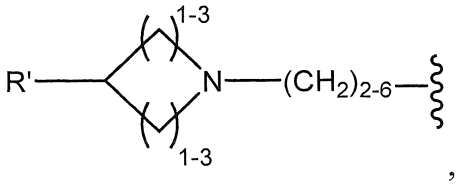
R_1 được chọn từ hydro, R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20}

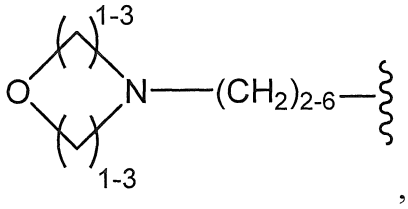
hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, -O-$N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*,-(C=O)-NH_2, -(C=O)-$N(R^*)_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-$N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R^*, -SO_2-$N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -$Si(R^*)_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, thì R_1 không phải là hydro;

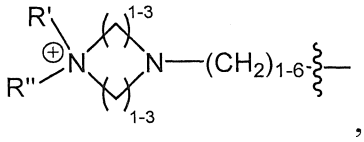
R_N được chọn từ:

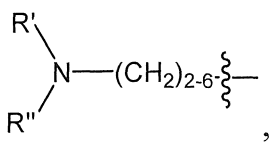


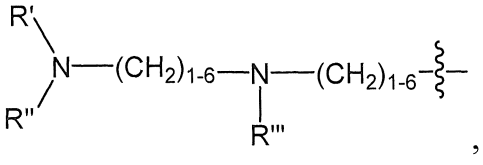
,


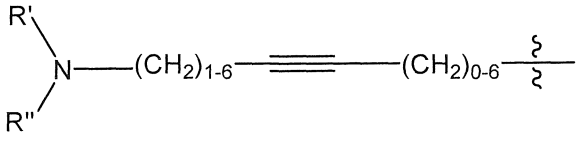
,


,


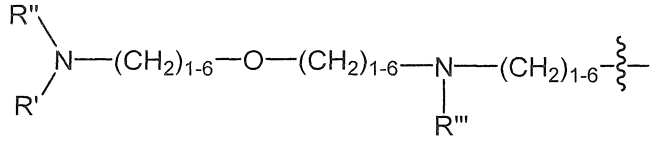
,


,


,


,


và



trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ, ví dụ, F_{MOC} và $B_{OC,}$ hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc béo vòng, như cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

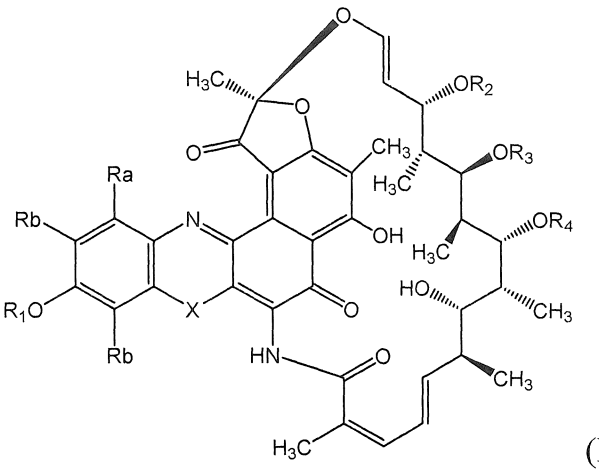
R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, và -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

R_a được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -SR*, $-SO_2R^*$, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R_b được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, và S, và trong đó R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa hoặc ức chế sự phát triển của vi khuẩn bao gồm bước dùng một lượng hữu hiệu của hợp chất có cấu trúc có công thức (I):



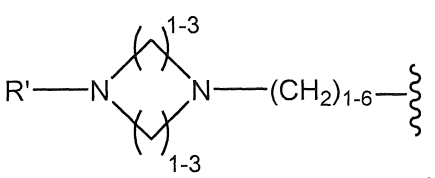
(I)

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

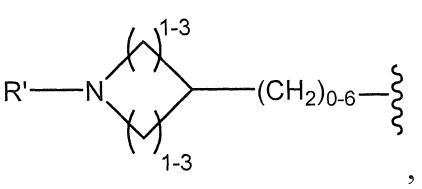
X được chọn từ -O- và -NR*-;

R_1 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, -O-$N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, -(C=O)-NH_2, -(C=O)-$N(R^*)_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-$N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R^*, -SO_2-$N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -$Si(R^*)_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, R_1 không phải là hydro;

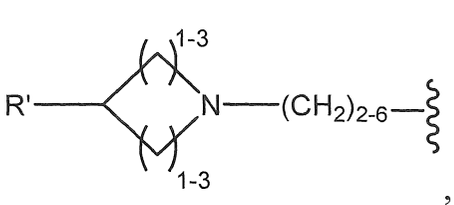
R_N được chọn từ:

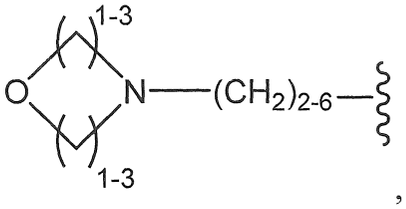


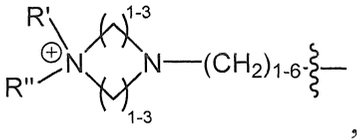
,

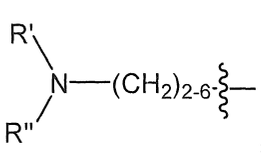


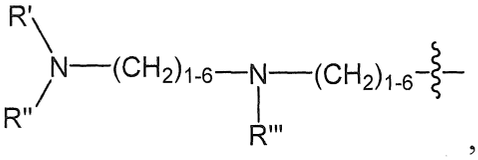
,

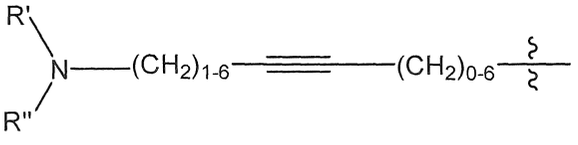


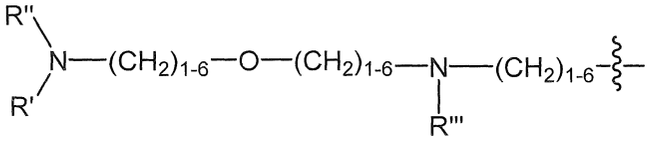
,


,


,


,


,


và


trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R'' và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, hoặc -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

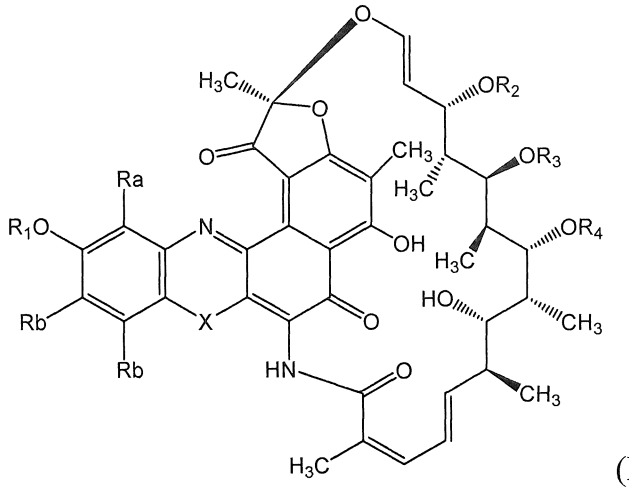
R_a được chọn từ hydro, F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -SR*, $-SO_2R^*$, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R_b được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn

từ halogen, O, và S, và trong đó R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa hoặc ức chế sự phát triển của vi khuẩn bao gồm bước dùng một lượng hữu hiệu của hợp chất có cấu trúc có công thức (I'):



(I')

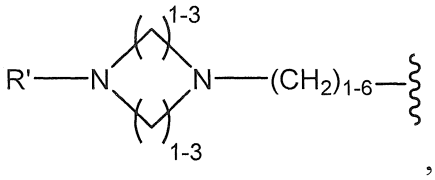
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

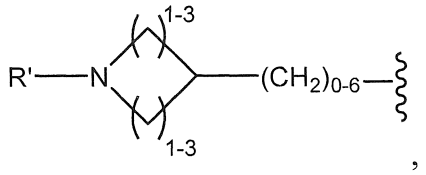
X được chọn từ -O- và -NR*-;

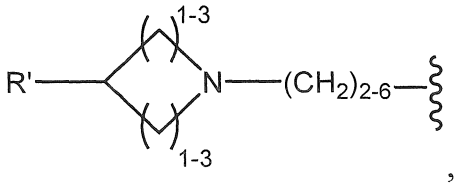
R_1 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, $-NO_2$, $-NO_3$, -O-NO, $-N_3$, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, $-O-N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, $-(C=O)-NH_2$, $-(C=O)-N(R^*)_2$, $-(C=O)-NHNH_2$, $-O-(C=O)-NHNH_2$, -(C=S)-

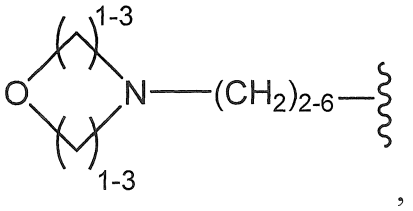
NH_2, -(C=S)-N(R*)$_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R*, -SO_2-N(R*)$_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -Si(R*)$_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, thì R_1 không phải là hydro;

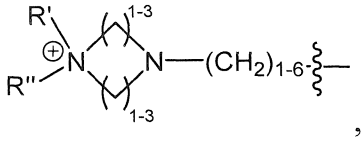
R_N được chọn từ:

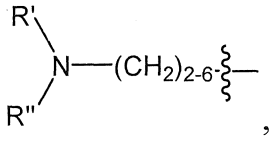


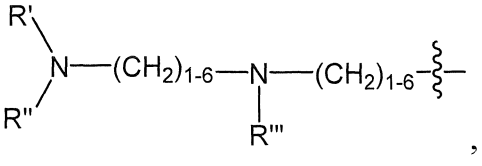
,


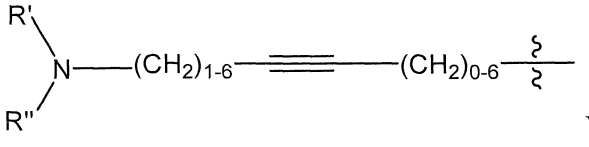
,


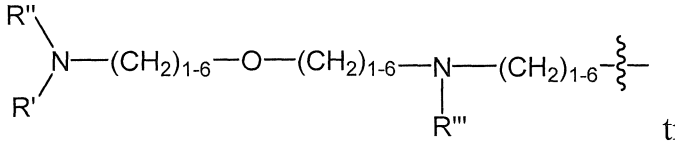
,


,


,


,


,


và


trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, hoặc

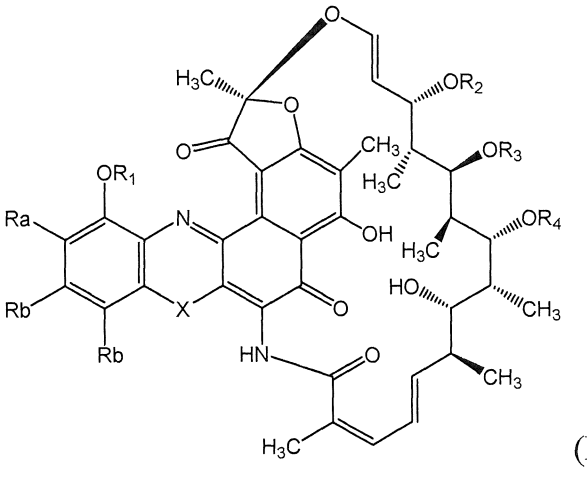
-(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

R_a được chọn từ hydro, F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -SR*, $-SO_2R^*$, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R_b được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, và S, và trong đó R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa hoặc ức chế sự phát triển của vi khuẩn bao gồm bước dùng một lượng hữu hiệu của hợp chất có cấu trúc có công thức (B):



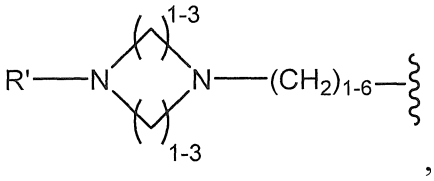
(B),

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

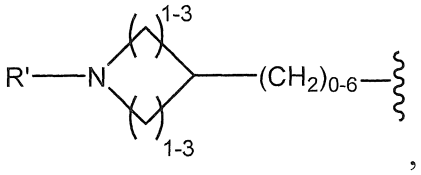
X được chọn từ -O- và -NR*-;

R_1 được chọn từ hydro, R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -N(R*)$_2$, -N(R*)3+, -N(R*)-OH, -O-N(R*)$_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*,-(C=O)-NH_2, -(C=O)-N(R*)$_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-N(R*)$_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO2R*, -SO2-N(R*)$_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -Si(R*)$_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, thì R_1 không phải là hydro;

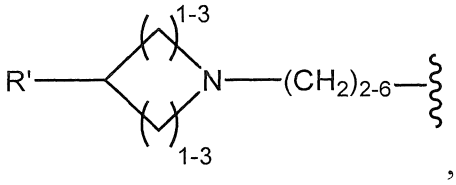
R_N được chọn từ:



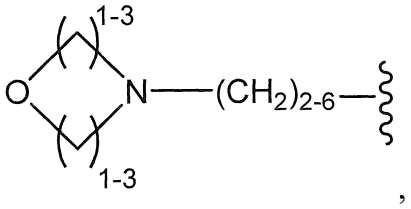
,



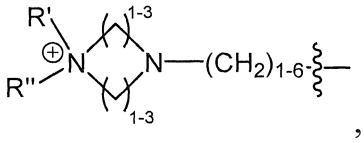
,



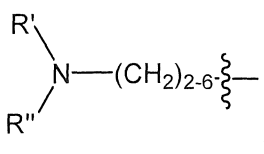
,



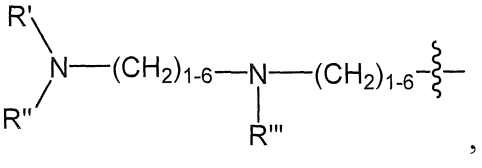
,



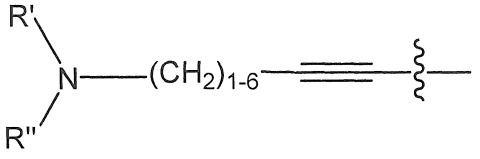
,



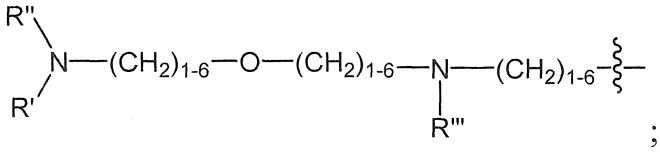
,



,



và



; trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ Florenylmetyloxycacbonyl (F_{MOC}) và *tert*-Butyloxycacbonyl (B_{OC}), hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, và -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

R_a được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -SR*, $-SO_2R^*$, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R_b được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, và S, và trong đó R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa hoặc ức chế sự phát triển của vi khuẩn bao gồm bước dùng một lượng hữu hiệu của hợp chất

tương tự rifamyxin có cấu trúc theo công thức bất kỳ trong số các công thức (IA), (II), (II'), (III), (III'), (IV), (IV'), (V), (V'), (B-1), và (B-2) như được đề xuất trong bản mô tả. Theo một phương án, vi khuẩn là vi khuẩn gram dương.

Theo một phương án, vi khuẩn là vi khuẩn kháng penixilin.

Theo một phương án, vi khuẩn là *Staphylococcus aureus*.

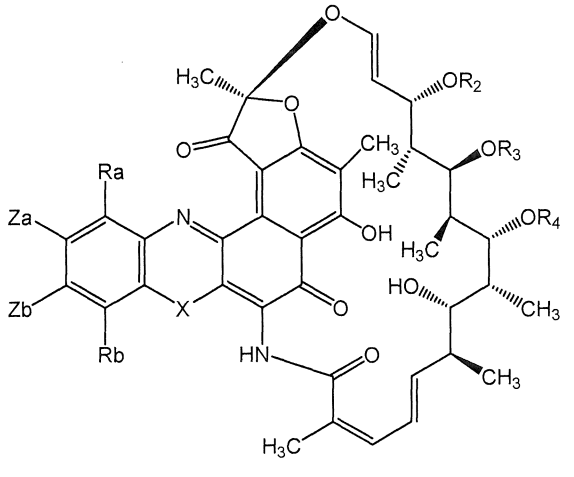
Theo một phương án, vi khuẩn là chủng *Staphylococcus aureus* có tính kháng được chọn từ MRSA và VRSA.

Theo một phương án, vi khuẩn là *Staphylococcus aureus* kháng methixilin (MRSA).

Theo một phương án, vi khuẩn là *Staphylococcus aureus* kháng vancomyxin (VRSA).

Theo một phương án, vi khuẩn là *Staphylococcus aureus* nhạy methixilin (MSSA).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh nhiễm khuẩn ở đối tượng cần điều trị, bao gồm bước cho đối tượng này dùng một lượng hữu hiệu của hợp chất có cấu trúc có công thức (A):



(A)

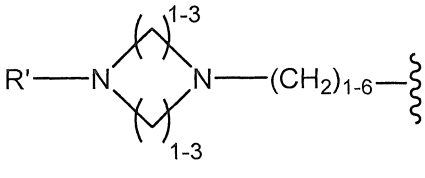
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

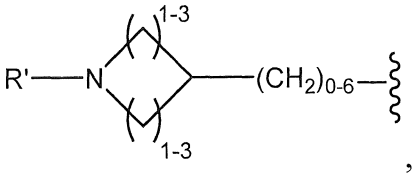
X được chọn từ -O-, -S- và -NR*-;

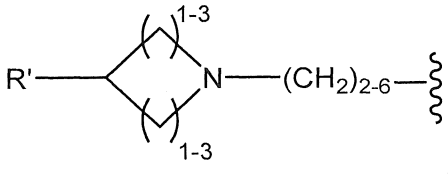
Za và Zb độc lập được chọn từ hydro, -Cl, -Br, -OR_1 và -R_N; với điều kiện ít nhất một trong số Za hoặc Zb không phải là hydro; trong đó:

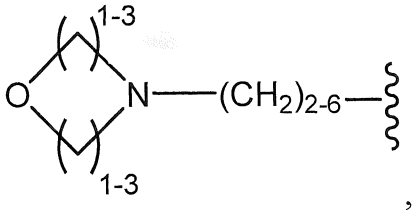
R_1 được chọn từ hydro, R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, -O-$N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*,-(C=O)-NH_2, -(C=O)-$N(R^*)_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-$N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R^*, -SO_2-$N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -$Si(R^*)_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, R_1 không phải là hydro;

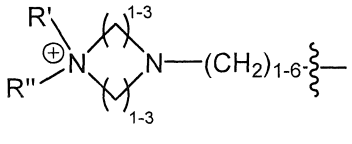
R_N được chọn từ:



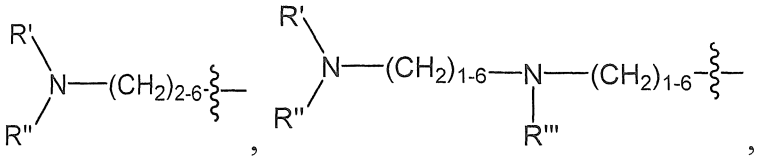
,


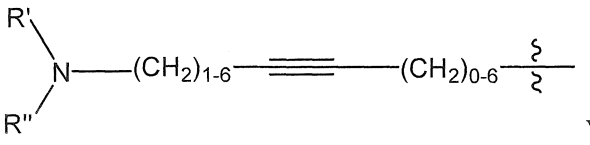
,


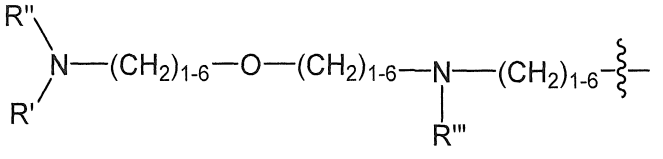
,


,


,


,


và


trong đó ký hiệu ~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

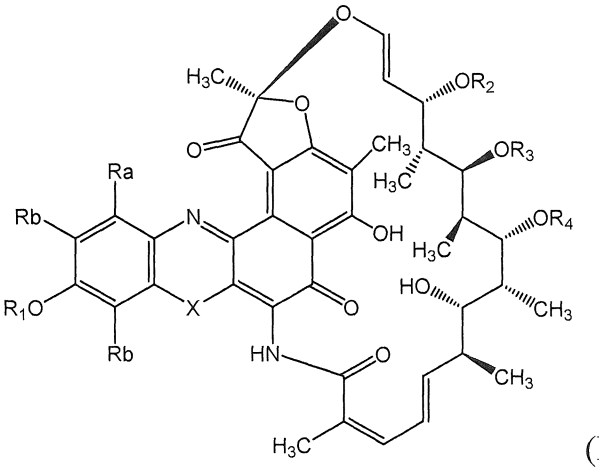
R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, và -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

R_a được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -SR*, $-SO_2R^*$, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R_b được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, và S, và trong đó R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh nhiễm khuẩn ở đối tượng cần điều trị, bao gồm bước dùng một lượng hữu hiệu của hợp chất có cấu trúc có công thức (I):



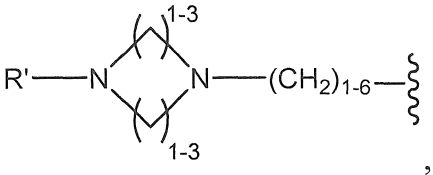
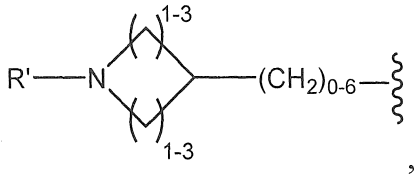
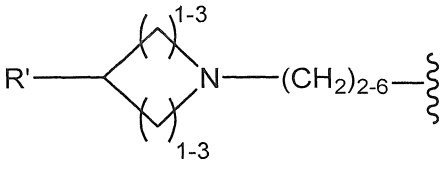
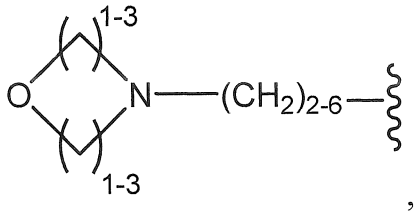
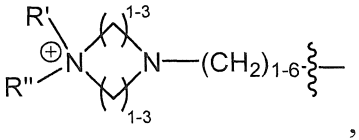
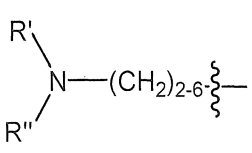
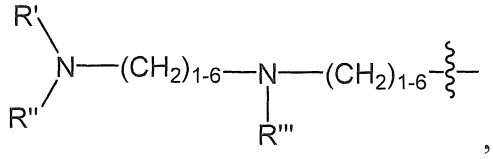
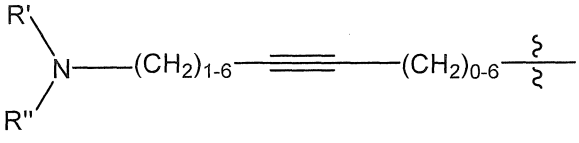
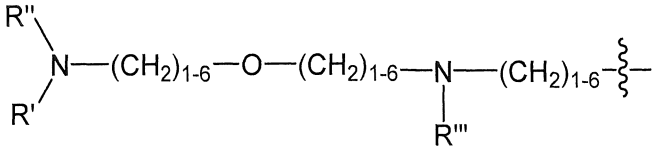
(I)

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

X được chọn từ -O- và -NR*-;

R_1 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, -NO_2, -NO_3, -O-NO, -N_3, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, -O-$N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^*, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, -(C=O)-NH_2, -(C=O)-$N(R^*)_2$, -(C=O)-$NHNH_2$, -O-(C=O)-$NHNH_2$, -(C=S)-NH_2, -(C=S)-$N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, -SO_2R^*, -SO_2-$N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, -$Si(R^*)_3$, -CF_3, -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, R_1 không phải là hydro;

R_N được chọn từ:









và

trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và B_{OC}, hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, hoặc -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

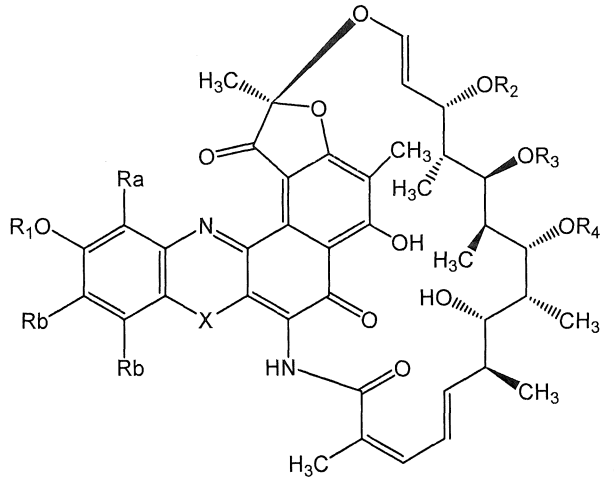
R_a được chọn từ hydro, F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NH_2, -NHR*, -$N(R^*)_2$, -$N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R^*, -SR*, -SO_2R^*, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó

R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R_b được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -(C=O)-R*, -CHO, -CO_2H, -CO_2R* và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, và S, và trong đó R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh nhiễm khuẩn ở đối tượng cần điều trị, bao gồm bước dùng một lượng hữu hiệu của hợp chất có cấu trúc có công thức (I'):



(I')

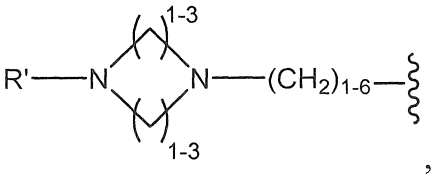
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

X được chọn từ -O- và -NR*-;

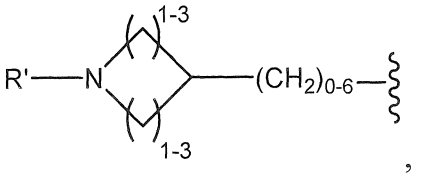
R_1 được chọn từ R_N, hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc

nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, $-NO_2$, $-NO_3$, -O-NO, $-N_3$, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, $-O-N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*, $-(C=O)-NH_2$, $-(C=O)-N(R^*)_2$, $-(C=O)-NHNH_2$, $-O-(C=O)-NHNH_2$, $-(C=S)-NH_2$, $-(C=S)-N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, $-SO_2R^*$, $-SO_2-N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, $-Si(R^*)_3$, $-CF_3$, $-O-CF_3$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, thì R_1 không phải là hydro;

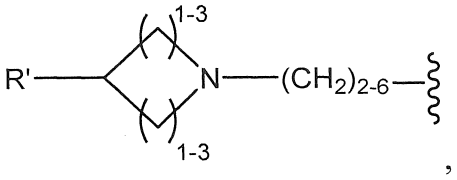
R_N được chọn từ:



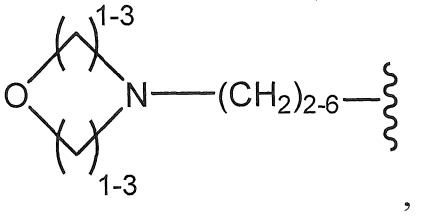
,



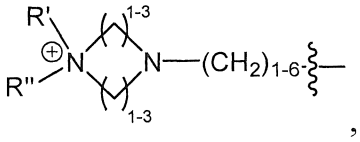
,



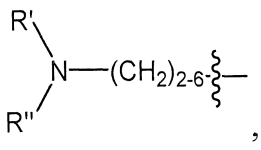
,



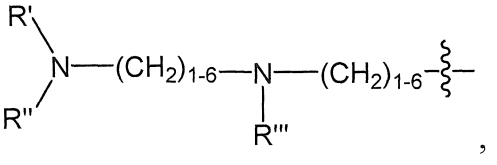
,



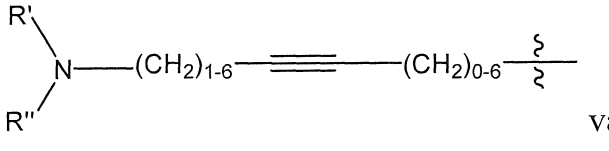
,



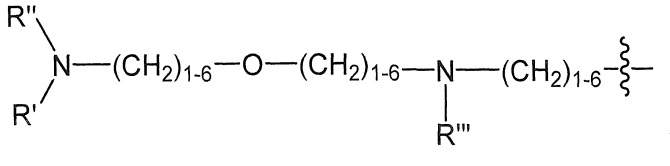
,



,



và



trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm

gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ gồm F_{MOC} và $B_{OC,}$ hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

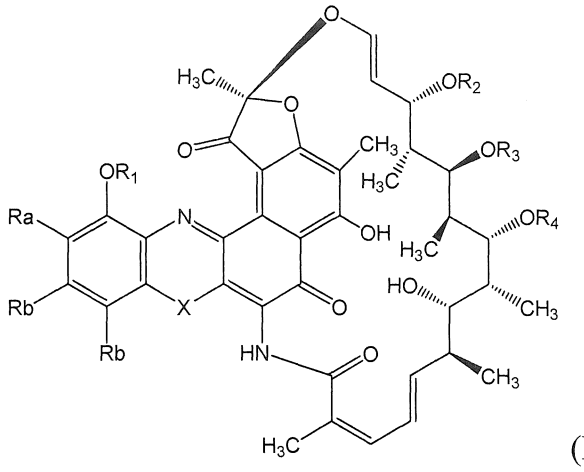
R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, hoặc -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

R_a được chọn từ hydro, F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -SR*, $-SO_2R^*$, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R_b được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$ và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, và S, và trong đó R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*; và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh nhiễm khuẩn ở đối tượng cần điều trị, bao gồm bước cho đối tượng này dùng một lượng hữu hiệu của hợp chất có cấu trúc có công thức (B):



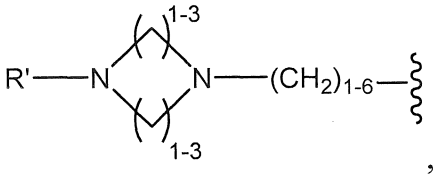
(B),

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

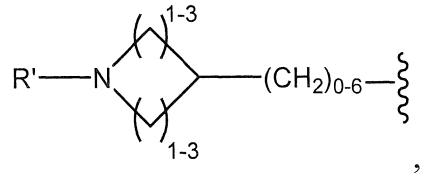
X được chọn từ -O- và -NR*-;

R_1 được chọn từ hydro, R_N, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -NO, $-NO_2$, $-NO_3$, -O-NO, $-N_3$, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -N(R*)-OH, $-O-N(R^*)_2$, -N(R*)-O-R*, -CN, -NC, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -(C=O)-S-R*, -O-(C=O)-H, -O-(C=O)-R*, -S-(C=O)-R*,$-(C=O)-NH_2$, $-(C=O)-N(R^*)_2$, $-(C=O)-NHNH_2$, $-O-(C=O)-NHNH_2$, $-(C=S)-NH_2$, $-(C=S)-N(R^*)_2$, -N(R*)-CHO, -N(R*)-(C=O)-R*, -SCN, -NCS, -NSO, -SSR*, $-SO_2R^*$, $-SO_2-N(R^*)_2$, -S(=O)-OR*, -S(=O)-R*, $-Si(R^*)_3$, $-CF_3$, $-O-CF_3$ và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl, và khi X là -O- và Ra là hydro, thì R_1 không phải là hydro;

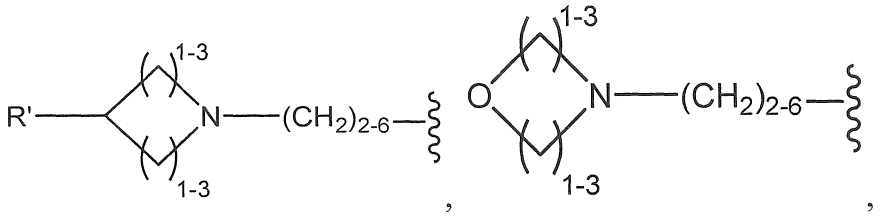
R_N được chọn từ:

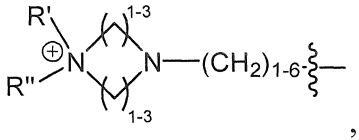


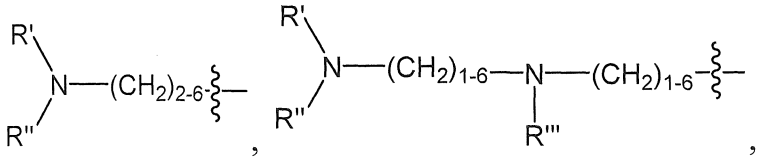
,

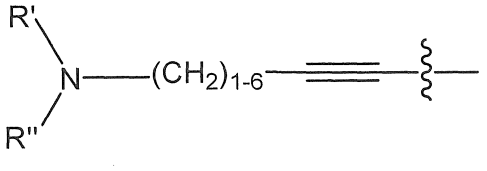


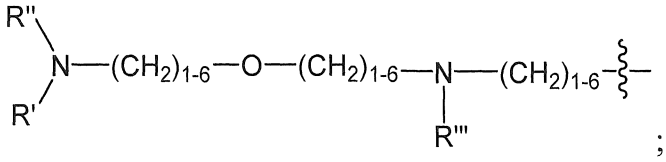
,


,


,


,


và


; trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R"' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ Florenylmetyloxycacbonyl (FMOC) và *tert*-Butyloxycacbonyl (BOC), hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, và -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

R_a được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, $-NH_2$, -NHR*, $-N(R^*)_2$, $-N(R^*)_3^+$, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$, -SR*, $-SO_2R^*$, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*;

R_b được chọn từ hydro, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, -(C=O)-R*, -CHO, $-CO_2H$, $-CO_2R^*$

và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, và S, và trong đó R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F, -Cl, -Br, -I, -OH, -OR*, và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh nhiễm khuẩn ở đối tượng cần điều trị, bao gồm bước dùng một lượng hữu hiệu của hợp chất tương tự rifamyxin có cấu trúc theo công thức bất kỳ trong số các công thức (IA) (II), (II'), (III), (III'), (IV), (IV'), (V), (V'), (B-1), và (B-2) như được đề xuất trong bản mô tả. Theo một phương án, bệnh nhiễm khuẩn là bệnh nhiễm khuẩn gram dương.

Theo một phương án, bệnh nhiễm khuẩn là bệnh nhiễm khuẩn kháng penixilin.

Theo một phương án, bệnh nhiễm khuẩn là bệnh nhiễm *Staphylococcus aureus*.

Theo một phương án, bệnh nhiễm khuẩn là bệnh nhiễm khuẩn nội bào.

Theo một phương án, đối tượng là người.

Theo một phương án, phương pháp này còn bao gồm bước dùng chất trị liệu thứ hai.

Theo một phương án, chất trị liệu thứ hai là kháng sinh thứ hai.

Theo một phương án, kháng sinh thứ hai có tác dụng kháng *Staphylococcus aureus*.

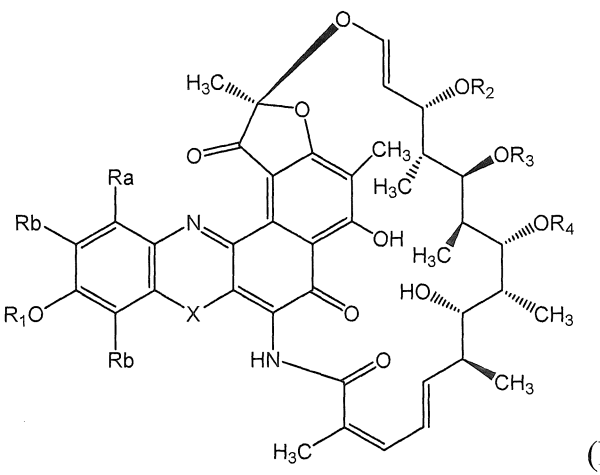
Theo một phương án, kháng sinh thứ hai được chọn từ aminoglycosit, beta-actam, macrolit, peptit vòng, tetraxyclin, floquinolin, floquinolon, và oxazolidinon.

Theo một phương án, kháng sinh thứ hai được chọn từ clindamyxin, novobioxin, retapamulin, daptomyxin, sitafloxaxin, teicoplanin, triclosan, naptyridon, radezolid, doxorubixin, ampixilin, vancomyxin, imipenem, doripenem, gemxitabin, dalbavanxin,

và azithromyxin.

Theo một phương án, các hợp chất này được dùng cho đối tượng qua đường miệng, khu trú, trong mũi, trong tĩnh mạch, trong cơ, hoặc dưới da.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa hoặc ức chế sự phát triển của vi khuẩn bao gồm bước dùng một lượng hữu hiệu của hợp chất có cấu trúc có công thức (I):



(I)

trong đó:

X được chọn từ -O-, -S-, và -NR*-;

R_1 được chọn từ hydro; C_1-C_{20} hydrocacbon béo; C_5-C_{20} hydrocacbon thơm; C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại; C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F; -Cl; -Br; -I; -OH; -OR*; -NO; -NO_2; -NO_3; -O-NO; -N_3; -NH_2; -NHR*; -N(R*)$_2$; -N(R*)$_3^+$; -N(R*)-OH; -O-N(R*)$_2$; -N(R*)-O-R*; -CN; -NC; -(C=O)-R*; -CHO; -CO_2H; -CO_2R*; -(C=O)-S-R*; -O-(C=O)-H; -O-(C=O)-R*; -S-(C=O)-R*; -(C=O)-NH_2; -(C=O)-N(R*)$_2$; -(C=O)-$NHNH_2$; -O-(C=O)-$NHNH_2$; -(C=S)-NH_2; -(C=S)-N(R*)$_2$; -N(R*)-CHO;

-N(R*)-(C=O)-R*; -SCN; -NCS; -NSO; -SSR*; -SO_2R*; -SO_2-N(R*)$_2$; -S(=O)-OR*; -S(=O)-R*; -Si(R*)$_3$; -CF_3; -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải

là nhóm n-butyl;

trong đó khi X là -O- và Ra là hydro, thì R_1 không phải là hydro;

R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon mạch thẳng, phân nhánh hoặc vòng béo, hoặc -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

R_a được chọn từ hydro, F; -Cl; -Br; -I; -OH; OR*; $-NH_2$; -NHR*; $-N(R^*)_2$; $-N(R^*)_3^+$;

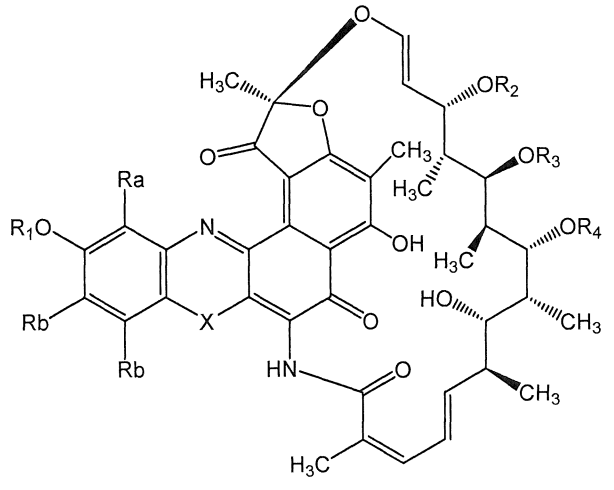
-(C=O)-R*; -CHO; $-CO_2H$; $-CO_2R^*$, -SR*, $-SO_2R^*$, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F; -Cl; -Br; -I; -OH; -OR*;

R_b là nguyên tử hydro mỗi khi có mặt, và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro; C_1-C_{20} hydrocacbon béo; C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng,

hoặc muối dược dụng của nó.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh nhiễm khuẩn ở đối tượng cần điều trị, bao gồm bước cho đối tượng này dùng một lượng hữu hiệu của hợp chất có cấu trúc có công thức (I'):



(I')

trong đó:

X được chọn từ -O-, -S-, và -NR*-;

R_1 được chọn từ hydro; C_1-C_{20} hydrocacbon béo; C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F; -Cl; -Br; -I; -OH, -OR*; -NO; -NO_2; -NO_3; -O-NO; -N_3; -NH_2; -NHR*; -$N(R^*)_2$; -$N(R^*)_3^+$; -N(R*)-OH; -O-$N(R^*)_2$; -N(R*)-O-R*; -CN; -NC; -(C=O)-R*; -CHO; -CO_2H; -CO_2R^*; -(C=O)-S-R*; -O-(C=O)-H; -O-(C=O)-R*; -S-(C=O)-R*; -(C=O)-NH_2; -(C=O)-$N(R^*)_2$; -(C=O)-$NHNH_2$; -O-(C=O)-$NHNH_2$; -(C=S)-NH_2; -(C=S)-$N(R^*)_2$; -N(R*)-CHO; -N(R*)-(C=O)-R*; -SCN; -NCS; -NSO; -SSR*; -SO_2R^*; -SO_2-$N(R^*)_2$; -S(=O)-OR*; -S(=O)-R*; -$Si(R^*)_3$; -CF_3; -O-CF_3 và hỗn hợp của chúng, với điều kiện R_1 không phải là nhóm n-butyl;

trong đó khi X là -O- và Ra là hydro, R_1 không phải là hydro;

R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon mạch thẳng, phân nhánh hoặc vòng béo, hoặc -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

R_a được chọn từ hydro, F; -Cl; -Br; -I; -OH; OR*; -NH_2; -NHR*; -$N(R^*)_2$; -$N(R^*)_3^+$; -(C=O)-R*; -CHO; -CO_2H; -CO_2R^*, -SR*, -SO_2R^*, và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F; -Cl; -Br; -I; -OH, -OR*;

R_b là nguyên tử hydro mỗi khi có mặt, và

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro; C_1-C_{20} hydrocacbon béo; C_1-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon vòng dị vòng, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng,

hoặc muối dược dụng của nó.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa hoặc ức chế sự phát triển của vi khuẩn bao gồm bước dùng một lượng hữu hiệu của hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế, hoặc dược phẩm chứa hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế, hoặc dạng liều lượng dược chứa hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh nhiễm khuẩn ở đối tượng cần điều trị bao gồm bước cho đối tượng này dùng một lượng hữu hiệu của hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế, hoặc dược phẩm chứa hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế, hoặc dạng liều lượng dược chứa hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế.

Theo một phương án, hợp chất, dược phẩm, hoặc dạng liều lượng được dùng cho đối tượng qua đường miệng, khu trú, trong mũi, trong tĩnh mạch, trong cơ, hoặc dưới da.

Kháng thể kháng MSR1 thích hợp cho ADC

Thể liên hợp kháng thể-thuốc được mô tả ở đây có thể chứa kháng thể kháng MSR1 độ dài đầy đủ (ví dụ, kháng thể IgG1 hoặc IgG4), hoặc có thể chỉ chứa phần gắn kết kháng nguyên (ví dụ, mảnh Fab, $F(ab')_2$ hoặc scFv), và có thể được cải biến để tác động đến chức năng, ví dụ, để loại bỏ chức năng tác động dư (Reddy et al., 2000, J. Immunol. 164:1925-1933).

Các phương án của thể liên hợp kháng thể-thuốc được mô tả ở đây có thể bao gồm kháng thể kháng MSR1 được liệt kê trong Bảng 9 và Bảng 10. Bảng 9 nêu bộ định danh trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR), vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR), vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nặng (HCDR1, HCDR2 và HCDR3), và vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nhẹ (LCDR1, LCDR2 và LCDR3) của kháng thể kháng MSR1 lấy làm ví dụ. Bảng 10 nêu bộ định danh trình tự axit nucleic của HCVR, LCVR, HCDR1, HCDR2 HCDR3, LCDR1, LCDR2 và LCDR3 của kháng thể kháng MSR1 lấy làm ví dụ.

Các kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng thích hợp cho thể liên

hợp kháng thể-thuốc được mô tả ở đây bao gồm các kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng gắn kết đặc hiệu MSR1 và bao gồm HCVR chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCVR được liệt kê trong Bảng 9, hoặctrình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Các kháng thể thích hợp khác hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết đặc hiệu MSR1 bao gồm LCVR chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự axit main bất kỳ trong số các trình tự axit amin LCVR được liệt kê trong Bảng 9, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Các kháng thể thích hợp khác hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết đặc hiệu MSR1 bao gồm HCVR và cặp trình tự axit amin LCVR (HCVR/LCVR) chứa trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCVR được liệt kê trong Bảng 9 ghép cặp với trình tự axit amin trong số các trình tự axit amin LCVR được liệt kê trong Bảng 9. Một số phương án nhất định liên quan đến thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa các kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, chứa cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR có trong kháng thể kháng MSR1 lấy làm ví dụ bất kỳ được liệt kê trong Bảng 9. Theo một số phương án, cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR được chọn từ nhóm bao gồm: 2/10, 23/42, 50/58; 90/98, và 282/290.

Các kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng thích hợp cho thể liên hợp kháng thể-thuốc được mô tả ở đây bao gồm các kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết đặc hiệu MSR1 và bao gồm CDR1 chuỗi nặng (HCDR1) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCDR1 được liệt kê trong Bảng 9 hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99%.

Các kháng thể thích hợp khác hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết đặc hiệu MSR1 bao gồm CDR2 chuỗi nặng (HCDR2) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCDR2 được liệt

kê trong Bảng 9 hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99%.

Các kháng thể thích hợp khác hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết đặc hiệu MSR1 bao gồm CDR3 chuỗi nặng (HCDR3) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCDR3 được liệt kê trong Bảng 9 hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99%.

Các kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng thích hợp cho thể liên hợp kháng thể-thuốc được mô tả ở đây bao gồm các kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết đặc hiệu MSR1 và bao gồm CDR1 chuỗi nhẹ (LCDR1) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin LCDR1 được liệt kê trong Bảng 9 hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99%.

Các kháng thể thích hợp khác hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết đặc hiệu MSR1 bao gồm CDR2 chuỗi nhẹ (LCDR2) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin LCDR2 được liệt kê trong Bảng 9 hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99%.

Các kháng thể thích hợp khác hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết đặc hiệu MSR1 bao gồm CDR3 chuỗi nhẹ (LCDR3) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin LCDR3 được liệt kê trong Bảng 9 hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99%.

Các kháng thể thích hợp khác hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết đặc hiệu MSR1 bao gồm cặp trình tự axit amin HCDR3 và LCDR3 (HCDR3/LCDR3) chứa trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCDR3 được liệt kê trong Bảng 9 ghép cặp với trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit

amin LCDR3 được liệt kê trong Bảng 9. Một số phương án nhất định liên quan đến kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, chứa cặp trình tự axit amin HCDR3/LCDR3 có trong kháng thể kháng MSR1 lấy làm ví dụ bất kỳ được liệt kê trong Bảng 9. Theo một số phương án, cặp trình tự axit amin HCDR3/LCDR3 được chọn từ nhóm bao gồm: 8/16, 40/48, 56/64; 96/104, và 288/296.

Các kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng thích hợp cho thể liên hợp kháng thể-thuốc được mô tả ở đây bao gồm các kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết đặc hiệu MSR1 và bao gồm bộ sáu CDR (tức là, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) có trong kháng thể kháng MSR1 lấy làm ví dụ bất kỳ được liệt kê trong Bảng 9. Theo một số phương án nhất định, bộ trình tự axit amin HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 được chọn từ nhóm bao gồm: 4-6-8-12-14-16; 36-38-40-44-46-48; 52-54-56-60-62-64; 92-94-96-100-102-104, và 284-286-288-292-294-296.

Theo một phương án liên quan, các kháng thể thích hợp, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết đặc hiệu MSR1 bao gồm bộ sáu CDR (tức là, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) có trong cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR như được xác định bởi kháng thể kháng MSR1 lấy làm ví dụ bất kỳ được liệt kê trong Bảng 9. Ví dụ, sáng chế bao gồm các kháng thể thích hợp hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết đặc hiệu MSR1 và bao gồm bộ trình tự axit amin HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 có trong cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR được chọn từ nhóm bao gồm: 2/10, 23/42, 50/58, 90/98, và 282/290. Các phương pháp và kỹ thuật định danh CDR trong trình tự axit amin HCVR và trình tự axit amin LCVR là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể được sử dụng để định danh các CDR trong trình tự axit amin HCVR và/hoặc trình tự axit amin LCVR cụ thể được bộc lộ ở đây. Các quy ước lấy làm ví dụ mà có thể được sử dụng để định danh các biên CDR bao gồm, ví dụ, định nghĩa Kabat, định nghĩa Chothia, và định nghĩa AbM. Trong các thuật ngữ chung, định nghĩa Kabat là dựa trên độ biến thiên trình tự, định nghĩa Chothia là dựa trên vị trí của các vùng vòng cấu trúc, và định nghĩa AbM là sự

dung hòa giữa phương pháp Kabat và Chothia. Xem tài liệu, ví dụ, Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani *et al.*, *J. Mol. Biol. 273*:927-948 (1997); và Martin *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86*:9268-9272 (1989). Các cơ sở dữ liệu công khai cũng sẵn có để định danh trình tự CDR trong kháng thể.

Sáng chế còn đề cập đến phân tử axit nucleic mã hóa kháng thể kháng MSR1 hoặc các phần của nó để tạo ra thể liên hợp kháng thể-thuốc được mô tả ở đây. Ví dụ, sáng chế đề cập đến phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCVR được liệt kê trong Bảng 9; theo một số phương án nhất định, phân tử axit nucleic có thể chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự axit nucleic bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic HCVR được liệt kê trong Bảng 10, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Sáng chế còn đề cập đến phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin trong số các trình tự axit amin LCVR được liệt kê trong Bảng 9; theo một số phương án nhất định, phân tử axit nucleic có thể chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự axit nucleic bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic LCVR được liệt kê trong Bảng 10, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Sáng chế còn đề cập đến phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCDR1 được liệt kê trong Bảng 9; theo một số phương án nhất định, phân tử axit nucleic có thể chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự axit nucleic bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic HCDR1 được liệt kê trong Bảng 10, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Sáng chế còn đề cập đến phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCDR2 được liệt kê trong Bảng 9; theo một số phương án nhất định, phân tử axit nucleic có thể chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình

tự axit nucleic bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic HCDR2 được liệt kê trong Bảng 10, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Sáng chế còn đề cập đến phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCDR3 được liệt kê trong Bảng 9; theo một số phương án nhất định, phân tử axit nucleic có thể chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự axit nucleic bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic HCDR3 được liệt kê trong Bảng 10, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Sáng chế còn đề cập đến phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin LCDR1 được liệt kê trong Bảng 9; theo một số phương án nhất định, phân tử axit nucleic có thể chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự axit nucleic bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic LCDR1 được liệt kê trong Bảng 10, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Sáng chế còn đề cập đến phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin LCDR2 được liệt kê trong Bảng 9; theo một số phương án nhất định, phân tử axit nucleic có thể chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự axit nucleic bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic LCDR2 được liệt kê trong Bảng 10, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Sáng chế còn đề cập đến phân tử axit nucleic mã hóa trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin LCDR3 được liệt kê trong Bảng 9; theo một số phương án nhất định, phân tử axit nucleic có thể chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự axit nucleic bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic LCDR3 được liệt kê trong Bảng 10, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Sáng chế còn đề cập đến phân tử axit nucleic mã hóa HCVR, trong đó HCVR này có thể bao gồm bộ ba CDR (tức là, HCDR1-HCDR2-HCDR3), trong đó bộ trình tự axit amin HCDR1-HCDR2-HCDR3 là như được xác định bởi kháng thể kháng MSR1 lấy làm ví dụ bất kỳ được liệt kê trong Bảng 9.

Sáng chế còn đề cập đến phân tử axit nucleic mã hóa LCVR, trong đó LCVR này có thể bao gồm bộ ba CDR (tức là, LCDR1-LCDR2-LCDR3), trong đó bộ trình tự axit amin LCDR1-LCDR2-LCDR3 là như được xác định bởi kháng thể kháng MSR1 lấy làm ví dụ bất kỳ được liệt kê trong Bảng 9.

Sáng chế còn đề cập đến phân tử axit nucleic mã hóa cả HCVR và LCVR, trong đó HCVR này có thể chứa trình tự axit amin của trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCVR được liệt kê trong Bảng 9, và trong đó LCVR này có thể chứa trình tự axit amin của trình tự axit amin trong số các trình tự axit amin LCVR được liệt kê trong Bảng 9. Theo một số phương án nhất định, phân tử axit nucleic có thể chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự axit nucleic bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic HCVR được liệt kê trong Bảng 10, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó, và trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự axit nucleic bất kỳ trong số các trình tự axit nucleic LCVR được liệt kê trong Bảng 10, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó. Theo một số phương án nhất định theo khía cạnh này của sáng chế, phân tử axit nucleic mã hóa HCVR và LCVR, trong đó cả HCVR và LCVR này đều có nguồn gốc từ cùng một kháng thể kháng MSR1 được liệt kê trong Bảng 9.

Sáng chế còn đề cập đến vectơ biểu hiện tái tổ hợp có khả năng biểu hiện polypeptit chứa vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể kháng MSR1 để tạo ra thể liên hợp kháng thể-thuốc được mô tả ở đây. Ví dụ, các phương án bao gồm vectơ biểu hiện tái tổ hợp chứa phân tử axit nucleic bất kỳ nêu ở trên, tức là, phân tử axit nucleic mã hóa trình tự bất kỳ trong số các trình tự của HCVR, LCVR, và/hoặc trình tự CDR như nêu trong Bảng 9. Cũng nằm trong phạm vi của sáng chế là

tế bào vật chủ mà các vectơ này đã được đưa vào, cũng như phương pháp sản xuất kháng thể hoặc các phần của nó để tạo ra thể liên hợp kháng thể-thuốc được mô tả ở đây bằng cách nuôi cấy tế bào vật chủ trong các điều kiện cho phép sản xuất kháng thể hoặc mảnh kháng thể, và thu hồi kháng thể và mảnh kháng thể được sản xuất như vậy.

Các kháng thể kháng MSR1 thích hợp cho thể liên hợp kháng thể-thuốc được mô tả ở đây bao gồm c ác kháng thể kháng MSR1 có hình mẫu glycosyl hóa cải biến. Theo một số phương án, việc cải biến để loại bỏ các điểm glycosyl hóa không mong muốn có thể hữu ích, hoặc kháng thể thiếu gốc fucoza có trên chuỗi oligosacarit, ví dụ, để làm tăng chức năng gây độc tế bào phụ thuộc vào kháng thể (antibody dependent cellular cytotoxicity - ADCC) (xem tài liệu Shield et al. (2002) JBC 277:26733). Trong các ứng dụng khác, việc cải biến sự galactosyl hóa có thể được thực hiện để cải biến tính gây độc tế bào phụ thuộc vào tính bổ trợ (complement dependent cytotoxicity - CDC).

Theo một số phương án nhất định, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng MSR1 chứa miền Fc chứa một hoặc nhiều đột biến mà làm tăng cường hoặc giảm bớt mức gắn kết của kháng thể với thụ thể FcRn, ví dụ, ở độ pH axit so với độ pH trung hòa. Ví dụ, sáng chế đề cập đến thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 chứa đột biến trong vùng C_H2 hoặc vùng C_H3 của miền Fc, trong đó (các) đột biến này làm tăng ái lực của miền Fc với FcRn trong môi trường axit (ví dụ, trong endosom mà ở đó độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6,0). Các đột biến này có thể dẫn đến việc làm tăng thời gian bán thải trong huyết thanh của kháng thể khi được dùng cho động vật. Các ví dụ không giới hạn về các cải biến Fc này bao gồm, ví dụ, cải biến ở vị trí 250 (ví dụ, E hoặc Q); 250 và 428 (ví dụ, L hoặc F); 252 (ví dụ, L/Y/F/W hoặc T), 254 (ví dụ, S hoặc T), và 256 (ví dụ, S/R/Q/E/D hoặc T); hoặc cải biến ở vị trí 428 và/hoặc 433 (ví dụ, H/L/R/S/P/Q hoặc K) và/hoặc 434 (ví dụ, H/F hoặc Y); hoặc cải biến ở vị trí 250 và/hoặc 428; hoặc cải biến ở vị trí 307 hoặc 308 (ví dụ, 308F, V308F), và 434. Theo một phương án, cải biến này có thể bao gồm cải biến 428L (ví dụ, M428L) và 434S (ví dụ, N434S); cải biến 428L, 259I (ví dụ, V259I), và 308F (ví dụ, V308F); cải biến 433K (ví dụ, H433K) và cải biến 434 (ví dụ, 434Y); cải biến 252, 254, và 256

(ví dụ, 252Y, 254T, và 256E); cải biến 250Q và 428L (ví dụ, T250Q và M428L); và cải biến 307 và/hoặc 308 (ví dụ, 308F hoặc 308P).

Ví dụ, các phương án bao gồm thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 chứa miền Fc chứa một hoặc nhiều cặp hoặc nhóm đột biến được chọn từ nhóm bao gồm: 250Q và 248L (ví dụ, T250Q và M248L); 252Y, 254T và 256E (ví dụ, M252Y, S254T và T256E); 428L và 434S (ví dụ, M428L và N434S); và 433K và 434F (ví dụ, H433K và N434F). Tất cả các tổ hợp có thể có của các đột biến miền Fc nêu trên, và các đột biến khác trong miền biến đổi kháng thể được bộc lộ ở đây, là nằm trong phạm vi của sáng chế.

Đặc tính sinh học của kháng thể kháng MSR1

Các phương án bao gồm thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa chất tương tự rifamyxin và kháng thể và mảnh gắn kết kháng nguyên của nó mà gắn kết MSR1 người với ái lực cao. Ví dụ, sáng chế bao gồm thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 mà gắn kết MSR1 người miền ngoại bào được biểu hiện với đuôi nonahistidin đầu tận N (SEQ ID NO: 688) (ví dụ, His9-hMSR1) với K_D ít hơn khoảng 10nM như được đo bằng kỹ thuật cộng hưởng plasmon bề mặt ở nhiệt độ 25°C hoặc 37°C, ví dụ, bằng cách sử dụng hình thức thử nghiệm như được xác định trong ví dụ 25 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm gần như tương tự. Theo một số phương án nhất định, sáng chế đề cập đến thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 gắn kết MSR1 người ở nhiệt độ 37°C với K_D bằng ít hơn khoảng 10nM, ít hơn khoảng 9nM, ít hơn khoảng 8nM, ít hơn khoảng 7nM, ít hơn khoảng 6nM, ít hơn khoảng 5nM, ít hơn khoảng 4nM, ít hơn khoảng 3nM, ít hơn khoảng 2nM, ít hơn khoảng 1nM, ít hơn khoảng 900pM, ít hơn khoảng 800pM, ít hơn khoảng 700pM, ít hơn khoảng 600pM, ít hơn khoảng 500pM, ít hơn khoảng 400pM, ít hơn khoảng 300pM, ít hơn khoảng 200pM, ít hơn khoảng 100pM, ít hơn khoảng 90pM, ít hơn khoảng 80pM, ít hơn khoảng 70pM, ít hơn khoảng 60pM, ít hơn khoảng 50pM, ít hơn khoảng 40pM, ít hơn khoảng 30pM, ít hơn khoảng 20pM, hoặc ít hơn khoảng 10pM, như được đo bằng kỹ thuật cộng hưởng plasmon bề mặt, ví dụ, bằng cách sử dụng hình thức thử nghiệm như được xác định trong

ví dụ 25 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm gần như tương tự. Theo một số phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 được bộc lộ ở đây gắn kết MSR1 người ở nhiệt độ 25°C với K_D bằng ít hơn khoảng 6nM, ít hơn khoảng 5nM, ít hơn khoảng 4nM, ít hơn khoảng 3nM, ít hơn khoảng 2nM, ít hơn khoảng 1nM, ít hơn khoảng 900pM, ít hơn khoảng 800pM, ít hơn khoảng 700pM, ít hơn khoảng 600pM, ít hơn khoảng 500pM, ít hơn khoảng 400pM, ít hơn khoảng 300pM, ít hơn khoảng 200pM, ít hơn khoảng 100pM, ít hơn khoảng 90pM, ít hơn khoảng 80pM, ít hơn khoảng 70pM, ít hơn khoảng 60pM, ít hơn khoảng 50pM, ít hơn khoảng 40pM, ít hơn khoảng 30pM, hoặc ít hơn khoảng 20pM, như được đo bằng kỹ thuật cộng hưởng plasmon bề mặt, ví dụ, bằng cách sử dụng hình thức thử nghiệm như được xác định trong ví dụ 25 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm gần như tương tự.

Các phương án còn bao gồm thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa các kháng thể và mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng gắn kết MSR1 khỉ với ái lực cao. Ví dụ, được bộc lộ ở đây là thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 mà gắn kết MSR1 miền ngoại bào khỉ được biểu hiện với đuôi myc-myc-hexahistidin đầu tận N ("hexahistidin" được bộc lộ dưới dạng SEQ ID NO: 689) (ví dụ, HMM-mfMSR1) với K_D ít hơn khoảng 20nM như được đo bằng kỹ thuật cộng hưởng plasmon bề mặt ở nhiệt độ 25°C hoặc 37°C, ví dụ, bằng cách sử dụng hình thức thử nghiệm như được xác định trong ví dụ 25 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm gần như tương tự. Theo một số phương án nhất định, sáng chế đề cập đến thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 mà gắn kết MSR1 khỉ ở nhiệt độ 37°C với K_D ít hơn khoảng 20nM, ít hơn khoảng 18pM, ít hơn khoảng 15nM, ít hơn khoảng 12nM, ít hơn khoảng 10nM, ít hơn khoảng 9nM, ít hơn khoảng 8nM, ít hơn khoảng 7nM, ít hơn khoảng 6nM, ít hơn khoảng 5nM, ít hơn khoảng 4nM, ít hơn khoảng 3nM, ít hơn khoảng 2nM, ít hơn khoảng 1nM, ít hơn khoảng 900pM, ít hơn khoảng 800pM, ít hơn khoảng 700pM, ít hơn khoảng 600pM, ít hơn khoảng 500pM, ít hơn khoảng 400pM, ít hơn khoảng 300pM, ít hơn khoảng 200pM, ít hơn khoảng 100pM, ít hơn khoảng 90pM, ít hơn khoảng 80pM, ít hơn khoảng 70pM, ít hơn khoảng 60pM, ít hơn khoảng 50pM, ít hơn khoảng 40pM, ít hơn

khoảng 30pM, ít hơn khoảng 20pM, hoặc ít hơn khoảng 10pM, như được đo bằng kỹ thuật cộng hưởng plasmon bề mặt, ví dụ, bằng cách sử dụng hình thức thử nghiệm như được xác định trong ví dụ 25 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm gần như tương tự. Theo một số phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 được bộc lộ ở đây gắn kết MSR1 khỉ ở nhiệt độ 25°C với K_D ít hơn khoảng 12nM, ít hơn khoảng 10nM, ít hơn khoảng 9nM, ít hơn khoảng 8nM, ít hơn khoảng 7nM, ít hơn khoảng 6nM, ít hơn khoảng 5nM, ít hơn khoảng 4nM, ít hơn khoảng 3nM, ít hơn khoảng 2nM, ít hơn khoảng 1nM, ít hơn khoảng 900pM, ít hơn khoảng 800pM, ít hơn khoảng 700pM, ít hơn khoảng 600pM, ít hơn khoảng 500pM, ít hơn khoảng 400pM, ít hơn khoảng 300pM, ít hơn khoảng 200pM, ít hơn khoảng 100pM, ít hơn khoảng 90pM, ít hơn khoảng 80pM, ít hơn khoảng 70pM, ít hơn khoảng 60pM, ít hơn khoảng 50pM, ít hơn khoảng 40pM, ít hơn khoảng 30pM, hoặc ít hơn khoảng 20pM, như được đo bằng kỹ thuật cộng hưởng plasmon bề mặt, ví dụ, bằng cách sử dụng hình thức thử nghiệm như được xác định trong ví dụ 25 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm gần như tương tự.

Sáng chế còn bao gồm thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa các kháng thể và mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết MSR1 miền ngoại bào người được biểu hiện với đuôi nonahistidin đầu tận N (SEQ ID NO: 688) (ví dụ, His9-hMSR1) với thời gian bán thải phân ly ($t_{1/2}$) lớn hơn khoảng 5 phút như được đo bằng kỹ thuật cộng hưởng plasmon bề mặt ở nhiệt độ 25°C hoặc 37°C, ví dụ, bằng cách sử dụng hình thức thử nghiệm như được xác định trong ví dụ 25 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm gần như tương tự. Theo một số phương án nhất định, sáng chế đề cập đến thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 mà gắn kết MSR1 người ở nhiệt độ 37°C với $t_{1/2}$ lớn hơn khoảng 4 phút, lớn hơn khoảng 5 phút, lớn hơn khoảng 6 phút, lớn hơn khoảng 8 phút, lớn hơn khoảng 10 phút, lớn hơn khoảng 12 phút, lớn hơn khoảng 14 phút, lớn hơn khoảng 16 phút, lớn hơn khoảng 18 phút, lớn hơn khoảng 20 phút, lớn hơn khoảng 30 phút, lớn hơn khoảng 40 phút, lớn hơn khoảng 50 phút, lớn hơn khoảng 60 phút, lớn hơn khoảng 70 phút, lớn hơn khoảng 80 phút, lớn hơn khoảng 90 phút, lớn hơn khoảng 120

phút, lớn hơn khoảng 150 phút, lớn hơn khoảng 180 phút, lớn hơn khoảng 210 phút, lớn hơn khoảng 240 phút, hoặc lâu hơn, như được đo bằng kỹ thuật cộng hưởng plasmon bề mặt, ví dụ, bằng cách sử dụng hình thức thử nghiệm như được xác định trong ví dụ 25 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm gần như tương tự.

Các phương án còn bao gồm thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa các kháng thể và mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà có thể gắn kết MSR1 miền ngoại bào khỉ được biểu hiện với đuôi myc-myc-hexahistidin đầu tận N ("hexahistidin" được bộc lộ dưới dạng SEQ ID NO: 689) (ví dụ HMM-mfMSR1) với ái lực cao. Ví dụ, sáng chế bao gồm thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 mà gắn kết HMM-mfMSR1 với K_D ít hơn khoảng 20nM như được đo bằng kỹ thuật cộng hưởng plasmon bề mặt ở nhiệt độ 25°C hoặc 37°C, ví dụ, bằng cách sử dụng hình thức thử nghiệm như được xác định trong ví dụ 25 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm gần như tương tự. Theo một số phương án nhất định, sáng chế đề cập đến thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 mà gắn kết HMM-mfMSR1 ở nhiệt độ 37°C với K_D ít hơn khoảng 20nM, ít hơn khoảng 15nM, ít hơn khoảng 10nM, ít hơn khoảng 9nM, ít hơn khoảng 8nM, ít hơn khoảng 7nM, ít hơn khoảng 6nM, ít hơn khoảng 5nM, ít hơn khoảng 4nM, ít hơn khoảng 3nM, ít hơn khoảng 2nM, ít hơn khoảng 1nM, ít hơn khoảng 900pM, ít hơn khoảng 800pM, ít hơn khoảng 800pM, ít hơn khoảng 700pM, ít hơn khoảng 600pM, ít hơn khoảng 500pM, ít hơn khoảng 400pM, ít hơn khoảng 300pM, ít hơn khoảng 200pM, ít hơn khoảng 150pM, ít hơn khoảng 100pM, ít hơn khoảng 90pM, ít hơn khoảng 80pM, ít hơn khoảng 70pM, ít hơn khoảng 60pM, hoặc ít hơn khoảng 50pM, như được đo bằng kỹ thuật cộng hưởng plasmon bề mặt, ví dụ, bằng cách sử dụng hình thức thử nghiệm như được xác định trong ví dụ 25 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm gần như tương tự. Theo một số phương án, kháng thể kháng MSR1 được bộc lộ ở đây gắn kết HMM-mfMSR1 ở nhiệt độ 25°C với K_D ít hơn khoảng 12nM, ít hơn khoảng 10nM, ít hơn khoảng 9nM, ít hơn khoảng 8nM, ít hơn khoảng 7nM, ít hơn khoảng 6nM, ít hơn khoảng 5nM, ít hơn khoảng 4nM, ít hơn khoảng 3nM, ít hơn khoảng 2nM, ít hơn khoảng 1nM, ít hơn khoảng 900pM, ít hơn khoảng 800pM, ít hơn khoảng 800pM, ít hơn

khoảng 700pM, ít hơn khoảng 600pM, ít hơn khoảng 500pM, ít hơn khoảng 400pM, ít hơn khoảng 300pM, ít hơn khoảng 200pM, ít hơn khoảng 150pM, ít hơn khoảng 100pM, ít hơn khoảng 90pM, ít hơn khoảng 80pM, ít hơn khoảng 70pM, ít hơn khoảng 60pM, hoặc ít hơn khoảng 50pM, như được đo bằng kỹ thuật cộng hưởng plasmon bề mặt, ví dụ, bằng cách sử dụng hình thức thử nghiệm như được xác định trong ví dụ 25 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm gần như tương tự.

Các phương án còn bao gồm thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa các kháng thể và mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết MSR1 miền ngoại bào khỉ được biểu hiện với đuôi myc-myc-hexahistidin đầu tận N ("hexahistidin" được bộc lộ dưới dạng SEQ ID NO: 689) (ví dụ HMM-mfMSR1) với thời gian bán thải phân ly ($t_{1/2}$) lớn hơn khoảng 55 phút như được đo bằng kỹ thuật cộng hưởng plasmon bề mặt ở nhiệt độ 25°C hoặc 37°C, ví dụ, bằng cách sử dụng hình thức thử nghiệm như được xác định trong ví dụ 25 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm gần như tương tự. Theo một số phương án nhất định, sáng chế đề cập đến thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 mà gắn kết MSR1 người dạng dime ở nhiệt độ 37°C với $t_{1/2}$ lớn hơn khoảng 1 phút, lớn hơn khoảng 2 phút, lớn hơn khoảng 3 phút, lớn hơn khoảng 4 phút, lớn hơn khoảng 5 phút, lớn hơn khoảng 6 phút, lớn hơn khoảng 8 phút, lớn hơn khoảng 10 phút, lớn hơn khoảng 12 phút, lớn hơn khoảng 14 phút, lớn hơn khoảng 16 phút, lớn hơn khoảng 18 phút, lớn hơn khoảng 20 phút, lớn hơn khoảng 30 phút, lớn hơn khoảng 40 phút, lớn hơn khoảng 50 phút, lớn hơn khoảng 60 phút, lớn hơn khoảng 70 phút, lớn hơn khoảng 80 phút, lớn hơn khoảng 90 phút, lớn hơn khoảng 120 phút, lớn hơn khoảng 150 phút, lớn hơn khoảng 180 phút, lớn hơn khoảng 210 phút, hoặc lâu hơn, như được đo bằng kỹ thuật cộng hưởng plasmon bề mặt, ví dụ, bằng cách sử dụng hình thức thử nghiệm như được xác định trong ví dụ 25 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm gần như tương tự.

Các phương án còn bao gồm thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa các kháng thể và mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết hMSR1 được biểu hiện trên bề mặt tế bào được xử lý kỹ thuật với tỷ lệ gắn kết của tế bào hiểu hiện hMSR1 đã được xử lý kỹ thuật với tế bào không biểu hiện bằng ít nhất là khoảng 2 lần, ít nhất là khoảng 3 lần,

ít nhất là khoảng 4 lần, ít nhất là khoảng 5 lần, ít nhất là khoảng 6 lần, ít nhất là khoảng 7 lần, ít nhất là khoảng 8 lần, ít nhất là khoảng 9 lần, ít nhất là khoảng 10 lần, ít nhất là khoảng 12 lần, ít nhất là khoảng 15 lần, ít nhất là khoảng 20 lần, ít nhất là khoảng 25 lần, ít nhất là khoảng 30 lần, ít nhất là khoảng 35 lần, ít nhất là khoảng 40 lần, ít nhất là khoảng 45 lần, ít nhất là khoảng 50 lần, hoặc lớn hơn 50 lần, như được đo bằng thử nghiệm gắn kết kháng thể, ví dụ, bằng cách sử dụng hình thức thử nghiệm như được xác định trong ví dụ 27 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm gần như tương tự. Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa các kháng thể mà gắn kết tế bào với hMSR1 được biểu hiện nội sinh với tỷ lệ gắn kết của tế bào biểu hiện hMSR1 nội sinh với tế bào không biểu hiện bằng ít nhất là khoảng 2 lần, ít nhất là khoảng 3 lần, ít nhất là khoảng 4 lần, ít nhất là khoảng 5 lần, ít nhất là khoảng 6 lần, ít nhất là khoảng 7 lần, ít nhất là khoảng 8 lần, ít nhất là khoảng 9 lần, ít nhất là khoảng 10 lần, hoặc lớn hơn ít nhất là khoảng 12 lần, ít nhất là khoảng 15 lần, ít nhất là khoảng 20 lần, ít nhất là khoảng 25 lần, ít nhất là khoảng 30 lần, ít nhất là khoảng 35 lần, ít nhất là khoảng 40 lần, ít nhất là khoảng 45 lần, ít nhất là khoảng 50 lần, hoặc lớn hơn 50 lần, như được đo bằng thử nghiệm gắn kết kháng thể, ví dụ, bằng cách sử dụng hình thức thử nghiệm như được xác định trong ví dụ 27 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm gần như tương tự. Theo một số phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể MSR1 hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên được bộc lộ ở đây mà gắn kết MSR1 chuột nhắt được biểu hiện trên bề mặt tế bào đã được xử lý kỹ thuật với tỷ lệ gắn kết của tế bào biểu hiện MSR1 chuột nhắt đã được xử lý kỹ thuật với tế bào không biểu hiện bằng ít nhất là khoảng 2 lần, ít nhất là khoảng 3 lần, ít nhất là khoảng 4 lần, ít nhất là khoảng 5 lần, ít nhất là khoảng 6 lần, ít nhất là khoảng 7 lần, ít nhất là khoảng 8 lần, ít nhất là khoảng 9 lần, ít nhất là khoảng 10 lần, ít nhất là khoảng 12 lần, ít nhất là khoảng 15 lần, ít nhất là khoảng 20 lần, ít nhất là khoảng 25 lần, ít nhất là khoảng 30 lần, ít nhất là khoảng 35 lần, ít nhất là khoảng 40 lần, ít nhất là khoảng 45 lần, ít nhất là khoảng 50 lần, hoặc lớn hơn, như được đo bằng thử nghiệm gắn kết kháng thể, ví dụ, bằng cách sử dụng hình thức thử nghiệm như được xác định trong ví dụ 27 trong bản mô tả này, hoặc thử nghiệm gần như tương tự.

Thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể được bộc lộ ở đây mà có thể có một hoặc nhiều đặc tính sinh học trong số các đặc tính sinh học nêu trên, hoặc tổ hợp bất kỳ của chúng. Danh sách các đặc tính sinh học nêu trên của kháng thể được bộc lộ ở đây không được dự định là toàn diện. Các đặc tính sinh học khác của kháng thể được bộc lộ ở đây sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật liên quan nhờ đọc sáng chế gồm các ví dụ thực hiện sáng chế nêu trong bản mô tả này.

Kháng thể kháng WTA thích hợp cho ADC

Theo một số phương án nhất định, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế có thể chứa kháng thể kháng WTA hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó. Các kháng thể kháng WTA này hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng gắn kết với axit teichoic trong vách (WTA) mà được biểu hiện trên một số vi khuẩn gram dương gồm *Staphylococcus aureus*. Kháng thể kháng WTA có thể được chọn lọc và được sản xuất bằng phương pháp nêu trong các tài liệu, ví dụ, patent Mỹ số 8,283,294; Meijer PJ et al (2006) J Mol Biol. 358(3):764-72; Lantto J, et al (2011) J Virol. 85(4):1820-33; và WO2016090038, mỗi tài liệu này được kết hợp toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn đối với tất cả các mục đích.

Cấu trúc hóa học của WTA thay đổi giữa các sinh vật. Trong *S. aureus*, WTA được liên kết cộng hóa trị với 6-OH của axit N-axetyl muramic (MurNAc) thông qua disacarit gồm N-axetylglycosamin (GlcNAc)-1-P và N-axetylmannoseamin (ManNAc), sau đó là khoảng hai hoặc ba đơn vị glyxerol-phosphat. Sau đó polyme WTA thực tế bao gồm khoảng từ 11 đến 40 đơn vị lặp ribitol-phosphat (Rbo-P). Quy trình tổng hợp WTA từng bước đầu tiên được khởi phát bằng enzym gọi là TagO, và chủng *S. aureus* thiếu gen TagO (bằng cách làm khuyết gen này) không tạo ra bất cứ WTA nào. Các đơn vị lặp có thể còn được làm biến đổi bằng D-alanin (D-Ala) ở vị trí C2-OH và/hoặc bằng N-axetylglucosamin (GlcNAc) ở vị trí C4-OH thông qua liên kết α-(alpha) hoặc β-(beta) glycosidic. Tùy thuộc vào chủng *S. aureus*, hoặc pha phát triển của vi khuẩn, liên kết glycosidic có thể là α-, β-, hoặc hỗn hợp của hai anome. Các cải biến đường GlcNAc này được làm biến đổi bằng hai glycosyltransferaza thu được từ *S.*

aureus (Gtfs) đặc hiệu: TarM Gtf điều tiết liên kết α-glycosidic, trong khi đó TarS Gtfs điều tiết liên kết β-(beta)glycosidic.

Kháng thể kháng WTA thích hợp cho ADC theo sáng chế có thể là kháng thể kháng WTAα hoặc kháng thể kháng WTAβ. Kháng thể kháng WTA có thể được tách dòng từ tế bào B từ bệnh nhân nhiễm *S. aureus*. Theo một phương án, kháng thể kháng WTA là kháng thể đơn dòng của người. ADC theo sáng chế bao hàm kháng thể khảm và kháng thể được biến đổi giống như của người chứa các CDR của kháng thể kháng WTA được mô tả ở đây.

Thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế có thể chứa kháng thể kháng WTA bất kỳ được mô tả ở đây, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng. Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng gắn kết với *Staphylococcus aureus*.

Theo một số phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể đơn dòng kháng WTAα bất kỳ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng. Là một ví dụ không giới hạn, kháng thể kháng WTAα, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2A; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2A.

Bảng 2A: trình tự CDR của kháng thể kháng WTAα lấy làm ví dụ

Kháng thể kháng WTAα	LCDR1 SEQ ID NO	LCDR2 SEQ ID NO	LCDR3 SEQ ID NO	HCDR1 SEQ ID NO	HCDR2 SEQ ID NO	HCDR3 SEQ ID NO
A1	467	468	469	470	471	472
A2	473	474	475	476	477	478
A3	479	480	481	482	483	484
A4	485	486	487	488	489	490

Theo một phương án, kháng thể kháng WTAα, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 470, 476, 482, và 488;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 471, 477, 483, và 489;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 472, 478, 484, và 490;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 467, 473, 479, và 485;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 468, 474, 480, và 486; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 469, 475, 481, và 487.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTAα, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR), chứa trình tự axit amin được chọn từ SEQ ID NO: 492, SEQ ID NO: 494, SEQ ID NO: 496, và SEQ ID NO: 498, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó. Kháng thể này có thể còn bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR), chứa trình tự axit amin được chọn từ SEQ ID NO: 491, SEQ ID NO: 493, SEQ ID NO: 495, và SEQ ID NO: 497, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTAα, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm LCVR có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 491, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó; và HCVR có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 492, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Theo một phương án khác, kháng thể kháng WTAα, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm LCVR có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 493, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó; và HCVR có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 494, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Theo một phương án khác, kháng thể kháng WTAα, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm LCVR có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 495, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó; và HCVR có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 496, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Theo một phương án khác, kháng thể kháng WTAα, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm LCVR có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 497, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó; và HCVR có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 498, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Theo một số phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể đơn dòng kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó. Kháng thể kháng WTAβ lấy làm ví dụ theo sáng chế được liệt kê trong Bảng 2B trong bản mô tả. Bảng 2B nêu bộ định danh trình tự axit amin của các vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nặng (HCDR1, HCDR2 và HCDR3), và các vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nhẹ (LCDR1, LCDR2 và LCDR3) của kháng thể kháng WTAβ lấy làm ví dụ.

Bảng 2B: trình tự CDR của kháng thể kháng WTAβ lấy làm ví dụ

Kháng thể kháng WTAβ	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR3
B1	499	500	501	502	503	504
B2	505	506	507	508	509	510
B3	511	512	513	514	515	516
B4	517	518	519	520	521	522
B5	523	524	525	526	527	528
B6	529	530	531	532	533	534
B7	535	536	537	538	539	540
B8	541	542	543	544	545	546
B9	547	548	549	550	551	552
B10	553	554	555	556	557	558
B11	559	560	561	562	563	564
B12	565	566	567	568	569	570
B13	571	572	573	574	575	576
Biến thể B12	565	566	567	568	569	584

Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 502, 508, 514, 520, 526, 532, 538, 544, 550, 556, 562, 568, và 574;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 503, 509, 515, 521, 527, 533, 539, 545, 551, 557, 563, 569, và 575;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 504, 510, 516, 522, 528, 534, 540, 546, 552, 558, 564, 570, 576, và 584;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 499, 505, 511, 517, 523, 529, 535, 541, 547, 553, 559, 565, và 571;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 500, 506, 512, 518, 524, 530, 536, 542, 548, 554, 560, 566, và 572; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 501, 507, 513, 519, 525, 531, 537, 543, 549, 555, 561, 567, và 573.

Sáng chế cũng đề cập đến kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, chứa CDR1 chuỗi nặng (HCDR1) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCDR1 được liệt kê trong Bảng 2B hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99%.

Sáng chế cũng đề cập đến kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, chứa CDR2 chuỗi nặng (HCDR2) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCDR2 được liệt kê trong Bảng 2B hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99%.

Sáng chế cũng đề cập đến kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, chứa CDR3 chuỗi nặng (HCDR3) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin HCDR3 được liệt kê trong Bảng 2B hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99%.

Sáng chế cũng đề cập đến kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, chứa CDR1 chuỗi nhẹ (LCDR1) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin LCDR1 được liệt kê trong Bảng 2B hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99%.

Sáng chế cũng đề cập đến kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, chứa CDR2 chuỗi nhẹ (LCDR2) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin LCDR2 được liệt kê trong Bảng 2B hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99%.

Sáng chế cũng đề cập đến kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, chứa CDR3 chuỗi nhẹ (LCDR3) chứa trình tự axit amin được chọn từ trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin LCDR3 được liệt kê trong Bảng 2B hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99%.

Sáng chế cũng đề cập đến kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, chứa bộ sáu CDR (tức là, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) có trong kháng thể kháng WTAβ lấy làm ví dụ bất kỳ được liệt kê trong Bảng 2B. Theo một số phương án nhất định, bộ trình tự axit amin HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 502-503-504-499-500-501, 508-509-510-505-506-507, 514-515-516-511-512-513, 520-521-522-517-518-519, 526-527-528-523-524-525, 532-533-534-529-530-531, 538-539-540-535-536-537, 544-545-546-541-542-543, 550-551-552-547-548-549, 556-557-558-553-554-555, 562-563-564-559-560-561, 568-569-570-565-566-567, 574-575-576-571-572-573, và 568-569-584-565-566-567.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có nguồn gốc từ kháng thể 4497 được mô tả trong Công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 20140356375 (mà được kết hợp toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn). Theo một số phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó có nguồn gốc từ kháng thể 4497 còn chứa đột biến V205C trong chuỗi nhẹ.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 nêu trong các SEQ ID NO: 568-569-570-565-566-567.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTAβ hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nặng (HCDR1, HCDR2, và HCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) nêu trong các SEQ ID NO: 586; và ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nhẹ

(LCDR1, LCDR2, và LCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) nêu trong SEQ ID NO: 585.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTAβ hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin HCVR nêu trong các SEQ ID NO: 586, và trình tự axit amin LCVR nêu trong SEQ ID NO: 585.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTAβ chứa trình tự axit amin của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 602 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 587 hoặc SEQ ID NO: 589. Theo một số phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa đột biến V205C trong chuỗi nhẹ.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR), chứa trình tự axit amin tương ứng với các vị trí theo Kabat từ 1 đến 113 của trình tự chuỗi nặng độ dài đầy đủ được chọn từ các SEQ ID NO: 580, 621-628, và 591-594, hoặc trình tự gần như tương tự của chúng có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó. Kháng thể có thể còn bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR), chứa trình tự axit amin tương ứng với các vị trí theo Kabat từ 1 đến 107 của trình tự chuỗi nhẹ độ dài đầy đủ được chọn từ các SEQ ID NO: 579, 610-620, và 587, hoặc trình tự gần như tương tự của chúng có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó. Tài liệu tham khảo về các vị trí theo Kabat của chuỗi nặng độ dài đầy đủ và chuỗi nhẹ độ dài đầy đủ có thể được tìm thấy, ví dụ, trên các hình vẽ Fig.15A-1, Fig.15A-2, và Fig.15A-3, và Fig.15B-1, Fig.15-B 2, Fig.15-B 3, Fig.15-B 4, Fig.15-B 5, và Fig.15-B 6 trong Công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 20180021450, mà được kết hợp toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn đối với tất cả các mục đích.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm LCVR chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 577, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó; và HCVR chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ

ID NO: 578 trong đó X là Q hoặc E và X1 là M, I hoặc V, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 579, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó; và chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 580, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Theo một phương án cụ thể, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm LCVR chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 577, và HCVR chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 578. Theo một phương án cụ thể hơn nữa, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 579, và chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 580.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, thích hợp cho ADC theo sáng chế có thể chứa một hoặc nhiều xystein được xử lý kỹ thuật trong chuỗi nhẹ và/hoặc chuỗi nặng của kháng thể.

Theo một số phương án, chuỗi nhẹ của kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa xystein được xử lý kỹ thuật. Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 581; và chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 582, trong đó X là M, I hoặc V. Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 581; và chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 580.

Theo một số phương án, chuỗi nặng của kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn

kết kháng nguyên của nó, chứa xystein được xử lý kỹ thuật. Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 579; và chuỗi nặng chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 583, trong đó X là M, I hoặc V.

Theo một số phương án, cả chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa xystein được xử lý kỹ thuật. Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm chuỗi nhẹ chứa xystein được xử lý kỹ thuật và chứa trình tự nêu trong SEQ ID NO: 581; chuỗi nặng chứa xystein được xử lý kỹ thuật và chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 583 trong đó X là M, I hoặc V.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm LCVR có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 585, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó; và HCVR có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 608, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó. Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm LCVR có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 585, và HCVR có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 608.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 587; và chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 590. Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 589; và chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 609. Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 589; và chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 590.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTAβ bao gồm LCVR có trình tự axit

amin nêu trong SEQ ID NO:585 và HCVR có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 586 hoặc SEQ ID NO: 608.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTAβ bao gồm LCVR có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 577 và HCVR có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 578.

Theo một số phương án của ADC theo sáng chế, kháng thể kháng WTA gắn kết với cùng một epitop như kháng thể kháng WTA bất kỳ trong số các kháng thể kháng WTA được bộc lộ ở đây.

Kháng thể kháng WTA hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng thích hợp cho ADC theo sáng chế có thể được làm thay đổi ở một hoặc nhiều gốc, ví dụ, để cải thiện pK, độ ổn định, biểu hiện, khả năng sản xuất, trong khi duy trì ái lực gắn kết với kháng nguyên về cơ bản là gần như cũ hoặc được cải thiện so với kháng thể không được cải biến kiểu dại. Các biến thể của kháng thể kháng WTA có các đột biến thay thế axit amin bảo toàn nằm trong sáng chế.

Theo một số phương án, ADC theo sáng chế có thể chứa mảnh gắn kết kháng nguyên kháng WTA thiếu vùng Fc. Theo một số phương án, mảnh gắn kết kháng nguyên là F(ab) hoặc F(ab′)2. Theo một số phương án, mảnh gắn kết kháng nguyên này còn bao gồm vùng hằng định chuỗi nặng và/hoặc vùng hằng định chuỗi nhẹ, trong đó vùng hằng định chuỗi nặng và/hoặc vùng hằng định chuỗi nhẹ này chứa một hoặc nhiều axit amin được thế bằng gốc xystein. Theo một số phương án, mảnh gắn kết kháng nguyên bao gồm vùng hằng định chuỗi nặng chứa đột biến thay thế axit amin A118C và/hoặc S400C, và/hoặc vùng hằng định chuỗi nhẹ chứa đột biến thay thế axit amin V205C, trong đó hệ đánh số là đánh số theo EU.

Theo một số phương án nhất định, có thể mong muốn là tạo ra kháng thể kháng WTA được xử lý kỹ thuật bằng xystein, ví dụ, "thioMAb", trong đó một hoặc nhiều gốc của kháng thể này được thế bằng gốc xystein. Dạng kháng thể bất kỳ có thể được xử lý kỹ thuật như vậy, tức là được đột biến. Ví dụ, mảnh kháng thể Fab ban đầu có thể được

xử lý kỹ thuật để tạo ra Fab được xử lý kỹ thuật bằng xystein, được đề cập trong bản mô tả này là "ThioFab". Tương tự, kháng thể đơn dòng ban đầu có thể được xử lý kỹ thuật để tạo ra "ThioMab". Nên lưu ý rằng đột biến một điểm thu được một gốc xystein được xử lý kỹ thuật trong ThioFab, trong khi đột biến một điểm thu được hai gốc xystein được xử lý kỹ thuật trong ThioMab, do bản chất dime của kháng thể IgG. Theo các phương án cụ thể, các gốc được thế xuất hiện ở các điểm dễ tiếp cận của kháng thể. Bằng cách thay thế các gốc này bằng xystein, nhóm thiol phản ứng được định vị từ đó ở các điểm dễ tiếp cận của kháng thể và có thể được sử dụng để liên hợp kháng thể với các gốc khác, như các gốc kháng sinh (ví dụ, chất tương tự rifamyxin) hoặc các gốc tác nhân liên kết-kháng sinh (ví dụ, tải lượng tác nhân liên kết-chất tương tự rifamyxin), để tạo ra thể liên hợp kháng thể-thuốc, như được mô tả chi tiết hơn trong bản mô tả này. Theo một số phương án nhất định, một hoặc nhiều gốc bất kỳ trong số các gốc sau có thể được thế bằng xystein, gồm V205 (Đánh số theo Kabat) của chuỗi nhẹ; A118 (đánh số theo EU) của chuỗi nặng; và 5400 (đánh số theo EU) của vùng Fc chuỗi nặng. Chuỗi nặng được xử lý kỹ thuật bằng xystein lấy làm ví dụ không giới hạn A118C (SEQ ID NO: 605) và thể đột biến chuỗi nhẹ V205C (SEQ ID NO: 607) của kháng thể kháng WTA được thể hiện. Kháng thể kháng WTA được xử lý kỹ thuật bằng xystein có thể được tạo ra như được mô tả trong tài liệu, ví dụ, Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26(8):925-932; patent Mỹ số 7521541; US-2011/0301334; Lehar *et al*, *Nature* 2015 527, 323–328, mỗi tài liệu này được kết hợp toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn.

Thiol xystein được xử lý kỹ thuật có thể phản ứng với chất phản ứng liên kết hoặc hợp chất trung gian tác nhân liên kết-thuốc theo sáng chế mà có nhóm ưa điện phản ứng với thiol như maleimit hoặc alpha-halo amit để tạo ra ADC có kháng thể được xử lý kỹ thuật bằng xystein (THIOMAB™ hoặc thioMab) và các gốc kháng sinh (ví dụ, chất tương tự rifamyxin). Vì thế vị trí của gốc kháng sinh có thể được thiết kế, kiểm soát, và biết được. Tải lượng kháng sinh có thể được kiểm soát do nhóm thiol xystein được xử lý kỹ thuật thường phản ứng với chất phản ứng liên kết phản ứng với thiol hoặc hợp chất trung gian tác nhân liên kết-kháng sinh với hiệu suất cao. Việc xử lý kỹ thuật kháng thể

kháng WTA để tạo ra axit amin xystein bằng cách thay thế ở một điểm trên chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ tạo ra hai xystein mới trên kháng thể tetrame đối xứng. Có thể đạt được tải lượng kháng sinh gần bằng 2 và độ tương đồng gần của ADC.

Kháng thể kháng protein A thích hợp cho ADC

Theo một số phương án nhất định, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế có thể chứa kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

Protein A là protein 42-kDa tồn tại ở cả dạng được bài tiết và liên kết với màng, có hai hoạt tính gắn kết Ig tách biệt: mỗi miền có thể gắn kết Fcγ, vùng hằng định của IgG liên quan đến chức năng tác động, và Fab, mảnh Ig chịu trách nhiệm nhận diện kháng nguyên. Protein A móc cộng hóa trị trong thành tế bào tụ cầu khuẩn thông qua đầu tận cùng carboxyl của nó. Protein này gồm năm miền lặp (E, D, A, B, C) liên kết với bề mặt tế bào bởi vùng Xr, và mỗi miền có thể gắn kết với ái lực cao với vùng Fc của globulin miễn dịch G và với vùng Fab của globulin miễn dịch của nhóm phụ VH3. Tương tác với IgG Fc làm cản trở chức năng tác động. Ngoài ra, kháng thể gắn kết với Protein A thông qua vùng Fc không thể kích thích sự sửa chữa bổ sung bởi con đường cổ điển.

Các ví dụ không giới hạn về kháng thể kháng protein A thích hợp cho ADC theo sáng chế được liệt kê trong Bảng 3A và Bảng 3B trong bản mô tả này. Bảng 3A nêu bộ định danh trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR), vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR), vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nặng (HCDR1, HCDR2 và HCDR3), và vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nhẹ (LCDR1, LCDR2 và LCDR3) của kháng thể kháng protein A lấy làm ví dụ mà kháng thể theo sáng chế có thể có nguồn gốc từ đó. Bảng 3B nêu bộ định danh trình tự axit nucleic của HCVR, LCVR, HCDR1, HCDR2 HCDR3, LCDR1, LCDR2 và LCDR3 của kháng thể kháng protein A lấy làm ví dụ.

Theo một số phương án, kháng thể kháng protein A thích hợp cho ADC theo sáng chế có khả năng gắn kết Fc được làm yếu đi. Các kháng thể này có trình tự axit amin HCVR và trình tự axit amin LCVR như được thể hiện trong Bảng 3A, và cũng có thể

chứa trình tự axit amin IgG1 của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 648. Trình tự IgG1 này chứa đột biến H435R và Y436F ở hIgG1 Fc (Đánh số chỉ số EU; tương đương với H318R và Y319F nêu trong SEQ ID NO: 648), được đánh dấu là "*/*" hoặc "**" ở đây.

Bảng 3A: Bộ định danh trình tự axit amin của kháng thể kháng protein A lấy làm ví dụ

	SEQ ID NO:							
Ký hiệu kháng thể	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1xH15140P*/*	630	632	634	636	638	640	642	644
H1xH15135P*/*	650	652	654	656	658	660	662	664
H1xH15120P*/*	670	672	674	676	678	680	662	683

Bảng 3B: bộ định danh trình tự axit nucleic của kháng thể kháng protein A lấy làm ví dụ

	SEQ ID NO:							
Ký hiệu kháng thể	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1xH15140P*/*	629	631	633	635	637	639	641	643
H1xH15135P*/*	649	651	653	655	657	659	661	663
H1xH15120P*/*	669	671	673	675	677	679	681	682

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 632, 652, và 672;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 634, 654, và 674;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 636, 656, và 676;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 640, 660, và 680;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 642 và 662; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 644, 664, và 683.

Theo một số phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó mà gắn kết đặc hiệu Protein A, chứa HCVR chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 630, 650, và 670, hoặc trình tự gần như tương tự của chúng có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Theo một số phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó mà gắn kết đặc hiệu Protein A, chứa LCVR chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 638, 658, và 678, hoặc trình tự gần như tương tự của chúng có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Theo một số phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó mà gắn kết đặc hiệu Protein A, chứa HCVR và cặp trình tự axit amin LCVR (HCVR/LCVR) chứa trình tự axit amin HCVR kháng protein A được liệt kê trong Bảng 3A và trình tự axit amin LCVR kháng protein A được liệt kê trong Bảng 3A. Theo một số phương án nhất định, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó mà gắn kết đặc hiệu protein A, chứa cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR có trong kháng thể kháng protein A lấy làm ví dụ được liệt kê trong Bảng 3A. Theo một số phương án nhất định, cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR này được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 630/638, 650/658, và 670/678.

Theo một số phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó mà gắn kết đặc hiệu Protein A, chứa bộ sáu CDR (tức là, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) có trong kháng thể kháng protein A lấy làm ví dụ bất kỳ được liệt kê trong Bảng 3A. Theo một số phương án nhất định, bộ trình tự axit amin HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 chứa các SEQ ID NO: 632-634-636-640-642-644, 652-654-656-660-662-664, hoặc 672-

674-676-680-662-683.

Theo một phương án liên quan, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó mà gắn kết đặc hiệu Protein A, chứa bộ sáu CDR (tức là, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) có trong cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR như được xác định bởi kháng thể kháng protein A lấy làm ví dụ được liệt kê trong Bảng 3A. Ví dụ, sáng chế bao gồm kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết đặc hiệu Protein A, chứa bộ trình tự axit amin HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 có trong cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR được chọn từ nhóm bao gồm: các SEQ ID NO: 630/638, 650/658, và 670/678.

Theo một số phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa trình tự axit amin của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 666, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% của nó. Theo một số khía cạnh, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 668, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% của nó.

Theo một số phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa trình tự axit amin của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 685, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% của nó. Theo một số phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa trình tự axit amin của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 687, hoặc trình tự gần như tương tự của nó có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% của nó.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nặng (HCDR1, HCDR2, và HCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) nêu trong các SEQ ID NO: 630; và ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nhẹ

(LCDR1, LCDR2, và LCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) nêu trong SEQ ID NO: 638. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 632-634-636-640-642-644.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin HCVR nêu trong các SEQ ID NO: 630; và trình tự axit amin LCVR nêu trong SEQ ID NO: 638.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A chứa trình tự axit amin của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 666 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 668. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A bao gồm đột biến chuỗi nhẹ ở vị trí 103 (C103S). Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất theo sáng chế ở vị trí chuỗi nhẹ 103.

Các phương pháp và kỹ thuật định danh CDR trong trình tự axit amin HCVR và LCVR là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này và có thể được sử dụng để định danh các CDR trong trình tự axit amin HCVR và/hoặc trình tự axit amin LCVR cụ thể được bộc lộ ở đây. Các quy ước lấy làm ví dụ mà có thể được sử dụng để định danh các biên CDR bao gồm, ví dụ, định nghĩa Kabat, định nghĩa Chothia, và định nghĩa AbM. Trong các thuật ngữ chung, định nghĩa Kabat là dựa trên độ biến thiên trình tự, định nghĩa Chothia là dựa trên vị trí của các vùng vòng cấu trúc, và định nghĩa AbM là sự dung hòa giữa phương pháp Kabat và Chothia. Xem tài liệu, ví dụ, Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani *et al.*, *J. Mol. Biol. 273*:927-948 (1997); và Martin *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86*:9268-9272 (1989). Cơ sở dữ liệu công khai cũng có sẵn để định danh các trình tự CDR trong kháng thể.

Sáng chế cũng đề cập đến phân tử axit nucleic mã hóa kháng thể kháng protein A hoặc các phần của nó thích hợp cho ADC theo sáng chế. Ví dụ, trình tự axit amin HCVR kháng protein A và trình tự axit amin LCVR kháng protein A được liệt kê trong Bảng

3A có thể được mã hóa bởi phân tử axit nucleic được liệt kê trong Bảng 3B. Theo một số phương án nhất định, phân tử axit nucleic chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự axit nucleic HCVR kháng Protein A và trình tự axit nucleic LCVR kháng Protein A được liệt kê trong Bảng 3B, hoặc trình tự gần như tương tự của chúng có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Ví dụ, trình tự axit amin CDR kháng protein A được liệt kê trong Bảng 3A có thể được mã hóa bởi phân tử axit nucleic được liệt kê trong Bảng 3B. Theo một số phương án nhất định, phân tử axit nucleic chứa trình tự polynucleotit được chọn từ trình tự axit nucleic CDR kháng Protein A bất kỳ được liệt kê trong Bảng 3B, hoặc trình tự gần như tương tự của chúng có độ đồng nhất trình tự ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 98% hoặc ít nhất là 99% với nó.

Theo một số phương án, phân tử axit nucleic mã hóa kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó có thể bao gồm phân tử axit nucleic mã hóa HCVR, trong đó HCVR này chứa bộ ba CDR (tức là, HCDR1-HCDR2-HCDR3), trong đó bộ trình tự axit amin HCDR1-HCDR2-HCDR3 là như được xác định bởi kháng thể kháng protein A lấy làm ví dụ được liệt kê trong Bảng 3A.

Phân tử axit nucleic mã hóa kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó có thể bao gồm phân tử axit nucleic mã hóa LCVR, trong đó LCVR chứa bộ ba CDR (tức là, LCDR1-LCDR2-LCDR3), trong đó bộ trình tự axit amin LCDR1-LCDR2-LCDR3 là như được xác định bởi kháng thể kháng protein A lấy làm ví dụ được liệt kê trong Bảng 3A.

Sáng chế cũng đề cập đến vectơ biểu hiện tái tổ hợp có khả năng biểu hiện polypeptit bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng hoặc vùng biến đổi chuỗi nhẹ của kháng thể kháng protein A. Ví dụ, sáng chế bao gồm vectơ biểu hiện tái tổ hợp chứa phân tử axit nucleic bất kỳ nêu ở trên, tức là, phân tử axit nucleic mã hóa trình tự bất kỳ trong số các trình tự HCVR, LCVR, và/hoặc trình tự CDR như nêu trong Bảng 3A. Cũng nằm trong phạm vi của sáng chế là tế bào vật chủ mà các vectơ như vậy đã được đưa vào đó, cũng như phương pháp sản xuất kháng thể hoặc các phần của nó bằng cách nuôi cấy tế

bào vật chủ trong các điều kiện cho phép sản xuất kháng thể hoặc mảnh kháng thể, và thu hồi kháng thể và mảnh kháng thể được sản xuất như vậy.

Kháng thể kháng protein A thích hợp cho ADC theo sáng chế có thể có hình mẫu glycosyl hóa cải biến. Theo một số phương án, việc cải biến để loại bỏ điểm glycosyl hóa không mong muốn có thể hữu ích, hoặc kháng thể thiếu gốc fucoza có mặt trên chuỗi oligosacarit, ví dụ, để làm tăng chức năng gây độc tế bào phụ thuộc vào kháng thể (ADCC) (xem tài liệu Shield et al. (2002) JBC 277:26733). Trong các ứng dụng khác, việc cải biến sự galactosyl hóa có thể được thực hiện để cải biến tính gây độc tế bào phụ thuộc vào tính bổ trợ (CDC).

Kháng thể đơn dòng và mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết đặc hiệu Protein A như được đề xuất trong bản mô tả có thể có khả năng gắn kết Fc được làm yếu đi với Protein A (và/hoặc SpsQ hoặc protein đồng nhất khác). Trong sáng chế nó được ký hiệu là "*/*" hoặc "**", và dùng để chỉ kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, chứa đột biến H435R và Y436F ở hIgG1 Fc theo hệ đánh số chỉ số EU. Đột biến H435R và Y436F tương đương với H318R và Y319F nêu trong SEQ ID NO: 648, chuỗi nặng hIgG1. Trong khi vị trí đột biến */* dùng để chỉ H435R và Y436F theo hệ đánh số EU, thì đột biến */* có thể được tìm thấy ở các vị trí khác nhau trong chuỗi nặng thực tế đối với kháng thể cho trước (hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó) tùy thuộc vào độ dài trình tự miền biến đổi.

Ngoài các biến thể */* được mô tả ở trên, một số biến thể Fc bổ sung cũng được dự định trong bản mô tả. Theo một số phương án nhất định, kháng thể hình thành loài với Protein A sẽ được cải biến trong vùng Fc của kháng thể để làm yếu sự gắn kết bởi Protein A hoặc protein đồng nhất thích hợp cho loài động vật tương ứng.

Theo một số phương án nhất định, kháng thể với Protein A thích hợp cho ADC theo sáng chế bao gồm miền Fc chứa một hoặc nhiều đột biến mà làm tăng cường hoặc giảm bớt mức gắn kết của kháng thể với thụ thể FcRn, ví dụ, ở độ pH axit so với độ pH trung hòa. Ví dụ, sáng chế bao gồm kháng thể với Protein A chứa đột biến trong vùng C_H2 hoặc vùng C_H3 của miền Fc, trong đó (các) đột biến này làm tăng ái lực của miền

Fc với FcRn trong môi trường axit (ví dụ, trong endosom mà ở đó độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6,0). Các đột biến này có thể dẫn đến việc làm tăng thời gian bán thải trong huyết thanh của kháng thể khi được dùng cho động vật. Các ví dụ không giới hạn về các cải biến Fc này bao gồm, ví dụ, cải biến ở vị trí 250 (ví dụ, E hoặc Q); 250 và 428 (ví dụ, L hoặc F); 252 (ví dụ, L/Y/F/W hoặc T), 254 (ví dụ, S hoặc T), và 256 (ví dụ, S/R/Q/E/D hoặc T); hoặc cải biến ở vị trí 428 và/hoặc 433 (ví dụ, H/L/R/S/P/Q hoặc K) và/hoặc 434 (ví dụ, H/F hoặc Y); hoặc cải biến ở vị trí 250 và/hoặc 428; hoặc cải biến ở vị trí 307 hoặc 308 (ví dụ, 308F, V308F), và 434. Theo một phương án, cải biến bao gồm cải biến 428L (ví dụ, M428L) và 434S (ví dụ, N434S); cải biến 428L, 259I (ví dụ, V259I), và 308F (ví dụ, V308F); cải biến 433K (ví dụ, H433K) và 434 (ví dụ, 434Y); cải biến 252, 254, và 256 (ví dụ, 252Y, 254T, và 256E); cải biến 250Q và 428L (ví dụ, T250Q và M428L); và cải biến 307 và/hoặc 308 (ví dụ, 308F hoặc 308P).

Ví dụ, kháng thể với Protein A chứa miền Fc chứa một hoặc nhiều cặp hoặc nhóm đột biến được chọn từ nhóm bao gồm: 250Q và 248L (ví dụ, T250Q và M248L); 252Y, 254T và 256E (ví dụ, M252Y, S254T và T256E); 428L và 434S (ví dụ, M428L và N434S); và 433K và 434F (ví dụ, H433K và N434F). Tất cả các tổ hợp có thể có của các đột biến miền Fc nêu trên, và các đột biến khác trong miền biến đổi kháng thể được bộc lộ ở đây, là nằm trong phạm vi của sáng chế.

Kháng thể với Protein A thích hợp cho ADC theo sáng chế có thể bao gồm miền Fc cải biến có chức năng tác động thay đổi, ví dụ, chức năng tác động tăng hoặc giảm. Như được sử dụng ở đây, "miền Fc cải biến có chức năng tác động thay đổi" nghĩa là phần Fc bất kỳ của globulin miễn dịch đã được cải biến, đột biến, cắt cụt, v.v., so với miền Fc kiểu dại có trong tự nhiên sao cho phân tử chứa Fc đã cải biến có sự tăng hoặc giảm độ nghiêm trọng hoặc phạm vi của ít nhất một tác dụng được chọn từ nhóm bao gồm diệt tế bào (ví dụ, ADCC và/hoặc CDC), hoạt hóa bổ sung, thực bào và opsonin hóa, so với phân tử so sánh chứa phiên bản kiểu dại có trong tự nhiên của phần Fc. Theo một số phương án nhất định, "miền Fc cải biến có chức năng tác động thay đổi" là miền Fc có khả năng gắn kết thụ thể Fc (ví dụ, FcγR) được làm giảm hoặc làm yếu đi với. Các

miền Fc cải biến lấy làm ví dụ được mô tả trong US 2006/0024298, được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ. Theo một số phương án, cải biến là G236A.

Theo một số phương án nhất định, miền Fc cải biến là IgG1 Fc biến thể hoặc IgG4 Fc biến thể chứa đột biến thay thế trong vùng bản lề. Ví dụ, Fc cải biến để sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế có thể bao gồm biến thể IgG1 Fc, trong đó ít nhất một axit amin của vùng bản lề IgG1 Fc được thay thế bằng axit amin tương ứng từ vùng bản lề IgG2 Fc. Theo một cách khác, Fc cải biến để sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế có thể bao gồm biến thể IgG4 Fc, trong đó ít nhất một axit amin của vùng bản lề IgG4 Fc được thay thế bằng axit amin tương ứng từ vùng bản lề IgG2 Fc. Vùng Fc cải biến lấy làm ví dụ không giới hạn mà có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế được nêu trong Công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 2014/0243504, bản mô tả của tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ, cũng như các biến thể tương đương về mặt chức năng bất kỳ của vùng Fc cải biến nêu trong tài liệu đó.

Các miền Fc cải biến và cải biến Fc khác mà có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế bao gồm cải biến bất kỳ như nêu trong US 2014/0171623; US 8,697,396; US 2014/0134162; WO 2014/043361, bản mô tả của các tài liệu đó được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ. Phương pháp tạo cấu trúc kháng thể hoặc các protein dung hợp gắn kết kháng nguyên khác chứa miền Fc cải biến như được mô tả ở đây là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

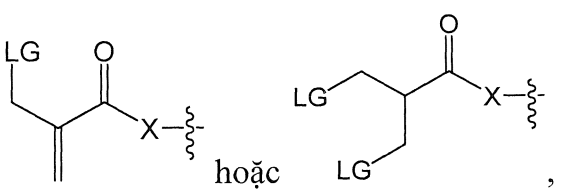
Thể liên hợp kháng thể-thuốc (ADC)

Sáng chế đề cập đến thể liên hợp kháng thể-thuốc (ADC) chứa kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó được liên hợp với thuốc hoặc chất trị liệu. Theo một số phương án, chất trị liệu có thể là chất tương tự rifamyxin. Sáng chế còn đề cập đến tác nhân liên kết-tải lượng phản ứng ví dụ, hợp chất có cấu trúc theo phương án bất kỳ của các công thức (A), (B), (I), (I'), (II), (II'), (III), (III'), (IV), (IV'), (V), (V') như được đề xuất trong bản mô tả, hữu ích để tạo ra ADC. Sáng chế còn đề cập đến kháng thể được cải biến và mảnh gắn kết kháng nguyên được cải biến hữu ích để tạo ra ADC.

Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể, thích hợp để tạo ADC theo sáng chế, gắn kết với đích liên quan đến bệnh lây nhiễm. Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể gắn kết với MSR1. Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể gắn kết với WTA. Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của kháng thể gắn kết với Protein A.

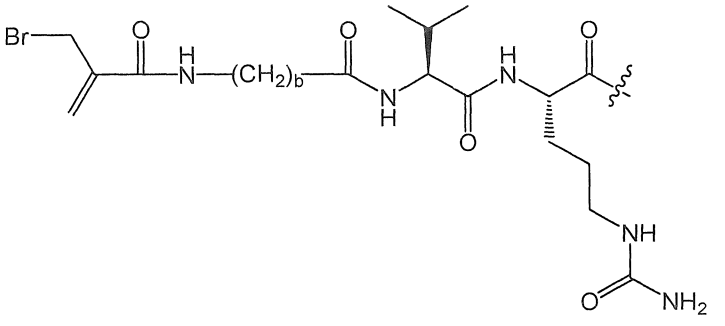
Các ADC này thường có công thức (XV): BA – $[L – PA]_n$. Trong công thức này, BA là chất gắn kết, ví dụ, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó. L là tác nhân liên kết, được mô tả chi tiết dưới đây. PA là tải lượng, ví dụ, chất tương tự rifamyxin, như được mô tả chi tiết ở đây. Trong công thức này, n là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 30, ví dụ, từ 1 đến 4, ví dụ, 2 hoặc 4. Mỗi L – PA được liên kết cộng hóa trị với nhóm chức của PA. Theo các phương án cụ thể, mỗi L – PA được liên kết cộng hóa trị với lysin chuỗi bên, xystein chuỗi bên, glutamin chuỗi bên, hoặc đầu tận amino của BA.

Theo một số phương án, L – PA được liên kết cộng hóa trị với chuỗi bên của chất gắn kết BA, ví dụ, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, thông qua nhóm phản ứng, hoặc RG. Sau khi liên hợp với chất gắn kết, nhóm phản ứng này trở thành một phần của tác nhân liên kết L của ADC có công thức (XV): BA – $[L – PA]_n$. Các nhóm phản ứng RG minh họa hữu ích theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, nhóm phản ứng bao gồm maleimit, sucxinimit, N-hydroxy sucxinimit (NHS), amin bậc một tận cùng, nhóm haloaxetyl, isothioxyanat, thiol, rượu, keton, aldehyt, axit, este, hydrozit, và anilin. RG còn bao gồm các gốc có cấu trúc sau:



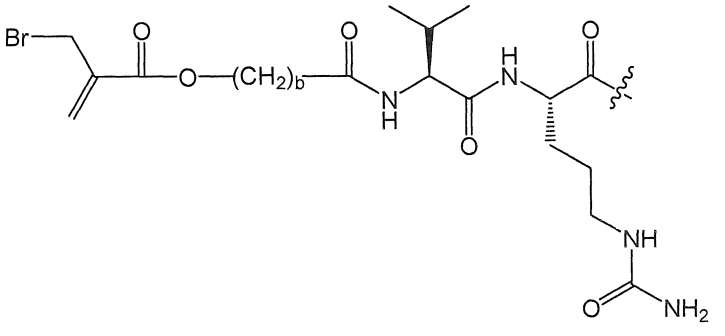
trong đó X là -O- hoặc -NH- và LG là nhóm rời chuyển, ví dụ, Br.

Theo một số phương án, tác nhân liên kết phản ứng là:



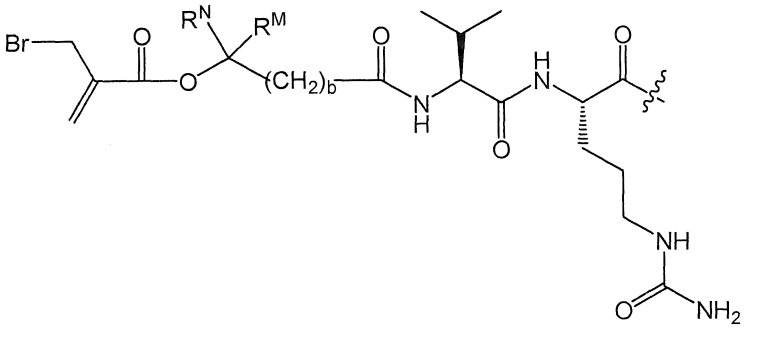
trong đó b là số nguyên nằm trong khoảng từ 2 đến 8.

Theo một số phương án, tác nhân liên kết phản ứng là:



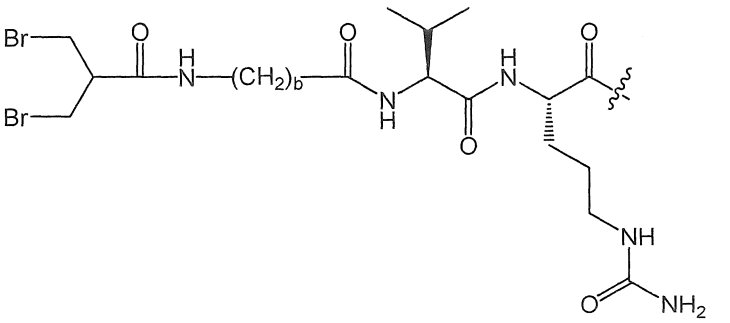
trong đó b là số nguyên nằm trong khoảng từ 2 đến 8.

Theo một số phương án, tác nhân liên kết phản ứng là:



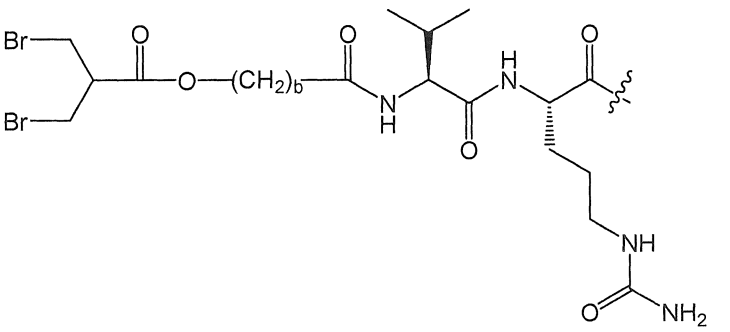
trong đó b là số nguyên nằm trong khoảng từ 2 đến 8, R^N là nguyên tử hydro hoặc nhóm alkyl, và R^M là nhóm alkyl.

Theo một số phương án, tác nhân liên kết phản ứng là:



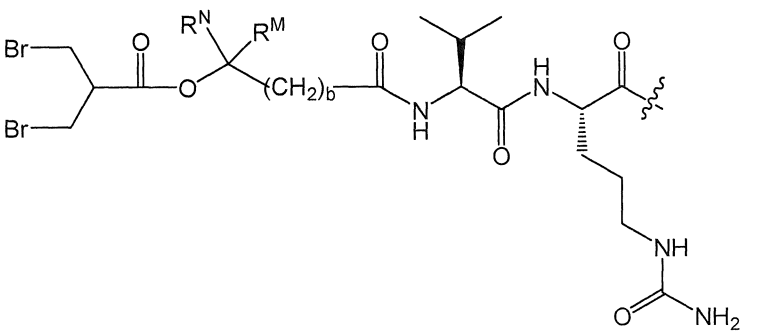
trong đó b là số nguyên nằm trong khoảng từ 2 đến 8.

Theo một số phương án, tác nhân liên kết phản ứng là:



trong đó b là số nguyên nằm trong khoảng từ 2 đến 8.

Theo một số phương án, tác nhân liên kết phản ứng là:



trong đó b là số nguyên nằm trong khoảng từ 2 đến 8, R^N là nguyên tử hydro hoặc nhóm alkyl, và R^M là nhóm alkyl.

Các kỹ thuật và tác nhân liên kết để liên hợp với các gốc của kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các phần tử gắn axit amin lấy làm ví dụ mà có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của khía cạnh này, ví dụ, lysin

(Xem tài liệu, ví dụ, US 5208020; US 2010/0129314; Hollander *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, 2008, 19:358-361; WO 2005/089808; US 5,714,586; US 2013/0101546; và US 2012/0585592), xystein (Xem tài liệu, ví dụ, US 2007/0258987; WO 2013/055993; WO 2013/055990; WO 2013/053873; WO 2013/053872; WO 2011/130598; US 2013/0101546; và US 7750116), selenoxystein (Xem tài liệu, ví dụ, WO 2008/122039; và Hofer *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 2008, 105*:12451-12456), formyl glyxin (Xem tài liệu, ví dụ, Carrico *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, 2007, 3:321-322; Agarwal *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 2013, 110*:46-51, và Rabuka *et al.*, *Nat. Protocols*, 2012, *10*:1052-1067), axit amin không tự nhiên (Xem tài liệu, ví dụ, WO 2013/068874, và WO 2012/166559), và axit amin axit (Xem tài liệu, ví dụ, WO 2012/05982). Việc liên hợp lysin cũng có thể diễn qua ra NHS (N-hydroxy sucxinimit). Các tác nhân liên kết cũng có thể được liên hợp với gốc xystein, bao gồm gốc xystein của liên kết disulfua liên chuỗi được phân tách, bằng cách tạo cầu cacbon giữa các thiol (Xem tài liệu, ví dụ, US 9951141, và US 9950076). Các tác nhân liên kết cũng có thể được liên hợp với protein gắn kết kháng nguyên thông qua việc gắn vào carbohydrat (Xem tài liệu, ví dụ, US 2008/0305497, WO 2014/065661, và Ryan *et al.*, *Food & Agriculture Immunol.*, 2001, *13*:127-130) và tác nhân liên kết disulfua (Xem tài liệu, ví dụ, WO 2013/085925, WO 2010/010324, WO 2011/018611, và Shaunak *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, 2006, *2*:312-313). Các kỹ thuật liên hợp đặc hiệu vị trí cũng có thể được sử dụng để định hướng sự liên hợp với các gốc cụ thể của kháng thể hoặc protein gắn kết kháng nguyên (Xem tài liệu, ví dụ, Schumacher *et al. J Clin Immunol* (2016) 36(Suppl 1): 100). Các kỹ thuật liên hợp đặc hiệu vị trí, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, kỹ thuật liên hợp glutamin thông qua transglutaminaza (xem tài liệu ví dụ, Schibli, Angew Chemie Inter Ed. 2010, 49 ,9995).

Các tác nhân liên kết có thể được liên hợp với một hoặc nhiều gốc glutamin thông qua kỹ thuật liên hợp hóa enzym dựa trên transglutaminaza (Xem tài liệu, ví dụ, Dennler *et al., Bioconjugate Chem.* 2014, 25, 569-578, và WO 2017/147542). Ví dụ, với sự có mặt của transglutaminaza, một hoặc nhiều gốc glutamin của kháng thể có thể được ghép cặp với hợp chất amin bậc một. Nói một cách ngắn gọn, theo một số phương án, kháng

thể có gốc glutamin (ví dụ, gốc Gln295) được xử lý bằng hợp chất amin bậc một, được mô tả chi tiết hơn dưới đây, với sự có mặt của enzym transglutaminaza. Hợp chất amin bậc một này bao gồm tải lượng hoặc tác nhân liên kết-tải lượng, trực tiếp tạo ra thể liên hợp kháng thể thuốc thông qua phản ứng ghép cặp qua trung gian transglutaminaza. Hợp chất amin bậc một này còn bao gồm các tác nhân liên kết và tác nhân đệm mà được tạo chức với nhóm phản ứng mà sau đó có thể được phản ứng với hợp chất khác để tổng hợp thể liên hợp kháng thể thuốc. Kháng thể chứa gốc glutamin có thể được phân lập từ nguồn tự nhiên hoặc được xử lý kỹ thuật để chứa một hoặc nhiều gốc glutamin. Các kỹ thuật xử lý kỹ thuật gốc glutamin thành kháng thể chuỗi polypeptit (kháng thể được cải biến glutaminyl hoặc phân tử gắn kết kháng nguyên) thuộc phạm vi chuyên môn của người thực hiện trong lĩnh vực kỹ thuật này. Theo một số phương án nhất định, kháng thể được loại glycan.

Theo một số phương án nhất định, kháng thể hoặc kháng thể được cải biến glutaminyl hoặc phân tử gắn kết kháng nguyên có thể chứa ít nhất một gốc glutamin trong ít nhất một trình tự chuỗi polypeptit. Theo một số phương án nhất định, kháng thể hoặc kháng thể được cải biến glutaminyl hoặc phân tử gắn kết kháng nguyên có thể chứa hai chuỗi nặng polypeptit, mỗi chuỗi có một gốc Gln295. Theo các phương án khác, kháng thể hoặc kháng thể được cải biến glutaminyl hoặc phân tử gắn kết kháng nguyên có thể chứa một hoặc nhiều gốc glutamin ở điểm khác với chuỗi nặng 295. Theo một số phương án, kháng thể có thể được điều chế bằng kỹ thuật gây đột biến định hướng điểm để xen gốc glutamin ở điểm mà không khiến chức năng hoặc sự gắn kết của kháng thể biến mất. Ví dụ, sáng chế bao gồm kháng thể mang (các) đột biến Asn297Gln (N297Q) như được mô tả ở đây. Theo một số phương án, kháng thể có gốc Gln295 và/hoặc đột biến N297Q chứa một hoặc nhiều gốc glutamin bổ sung có trong tự nhiên trong vùng biến đổi của chúng, mà có thể dễ tiếp cận vào transglutaminaza và do đó có khả năng liên hợp với tác nhân liên kết hoặc tác nhân liên kết-tải lượng. Gốc glutamin có trong tự nhiên lấy làm ví dụ có thể được tìm thấy, ví dụ, ở Q55 của chuỗi nhẹ. Trong các trường hợp này, kháng thể được liên hợp thông qua transglutaminaza có thể có giá trị DAR cao

hơn giá trị DAR mong muốn (ví dụ, DAR cao hơn 4). Kháng thể bất kỳ như vậy có thể được phân lập từ nguồn tự nhiên hoặc nguồn nhân tạo.

Theo nhiều phương án khác nhau, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, thích hợp cho ADC theo sáng chế, có thể chứa một hoặc nhiều đột biến xystein đặc hiệu điểm để liên hợp. Theo một phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm đột biến chuỗi nhẹ ở vị trí 103 (Cys103Ser hoặc C103S). Theo một phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất theo sáng chế ở vị trí chuỗi nhẹ 103.

Một ví dụ không giới hạn là, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể chứa một hoặc nhiều đột biến xystein đặc hiệu điểm để liên hợp. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm đột biến chuỗi nhẹ ở vị trí 103 (C103S). Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất theo sáng chế ở vị trí chuỗi nhẹ 103.

Hợp chất amin bậc một hữu ích để ghép cặp qua trung gian transglutaminaza của kháng thể (hoặc hợp chất gắn kết kháng nguyên) chứa glutamin có thể là hợp chất amin bậc một bất kỳ được cho là hữu ích bởi người thực hiện có hiểu biết trung bình. Nhìn chung, hợp chất amin bậc một có công thức H_2N-R, trong đó R có thể là nhóm bất kỳ tương thích với kháng thể và điều kiện phản ứng. Theo một số phương án nhất định, R là alkyl, alkyl được thế, heteroalkyl, hoặc heteroalkyl được thế.

Theo một số phương án, hợp chất amin bậc một có thể chứa nhóm phản ứng hoặc nhóm phản ứng được bảo vệ. Các nhóm phản ứng hữu ích bao gồm azit, alkyn, xycloalkyn, thiol, rượu, keton, aldehyt, axit, este, hydrozit, analin, và amin. Theo một số phương án nhất định, nhóm phản ứng được chọn từ nhóm bao gồm azit, alkyn, sulfhydryl, xycloalkyn, aldehyt, và carboxyl.

Theo một số phương án nhất định, hợp chất amin bậc một là theo công thức H_2N-LL-X, trong đó LL là tác nhân đệm hóa trị hai và X là nhóm phản ứng hoặc nhóm phản

ứng được bảo vệ. Theo các phương án cụ thể, LL là nhóm polyetylen glycol hóa trị hai (PEG). Theo một số phương án nhất định, X được chọn từ nhóm bao gồm –SH, $–N_3$, alkyn, aldehyt, và tetrazol. Theo các phương án cụ thể, X là $–N_3$.

Theo một số phương án nhất định, hợp chất amin bậc một là theo một trong các công thức sau:

$H_2N-(CH_2)_n-X$;

$H_2N-(CH_2CH_2O)_n-(CH_2)_p-X$;

$H_2N-(CH_2)_n-N(H)C(O)-(CH_2)_m-X$;

$H_2N-(CH_2CH_2O)_n-N(H)C(O)-(CH_2CH_2O)_m-(CH_2)_p-X$;

$H_2N-(CH_2)_n-C(O)N(H)-(CH_2)_m-X$;

$H_2N-(CH_2CH_2O)_n-C(O)N(H)-(CH_2CH_2O)_m-(CH_2)_p-X$;

$H_2N-(CH_2)_n-N(H)C(O)-(CH_2CH_2O)_m-(CH_2)_p-X$;

$H_2N-(CH_2CH_2O)_n-N(H)C(O)-(CH_2)_m-X$;

$H_2N-(CH_2)_n-C(O)N(H)-(CH_2CH_2O)_m-(CH_2)_p-X$; và

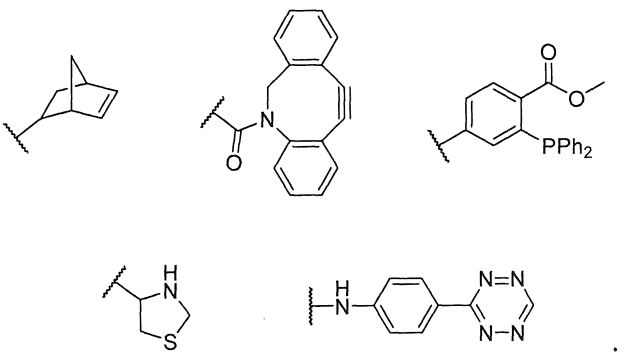
$H_2N-(CH_2CH_2O)_n-C(O)N(H)-(CH_2)_m-X$;

trong đó n là số nguyên được chọn từ 1 đến 12;

m là số nguyên được chọn từ 0 đến 12;

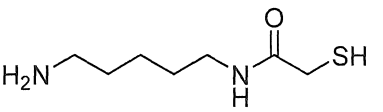
p là số nguyên được chọn từ 0 đến 2;

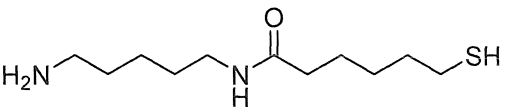
và X được chọn từ nhóm bao gồm –SH, $–N_3$, –C≡CH, –C(O)H, tetrazol, và hợp chất bất kỳ trong số:

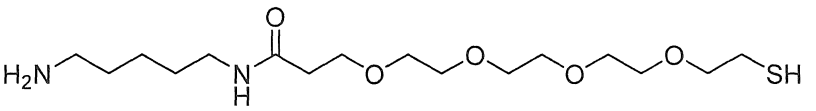


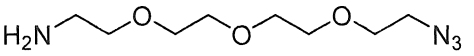
Trong các công thức ở trên, nhóm bất kỳ trong số nhóm alkyl hoặc alkylen (tức là, -CH_2-) có thể tùy ý được thế, ví dụ, bằng C_{1-8}alkyl, metylformyl, hoặc –SO_3H. Theo một số phương án nhất định, nhóm alkyl không được thế.

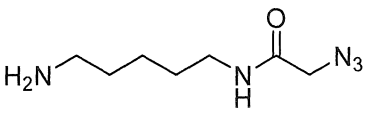
Theo một số phương án nhất định, hợp chất amin bậc một được chọn từ nhóm bao gồm:



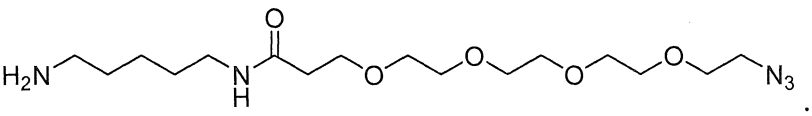




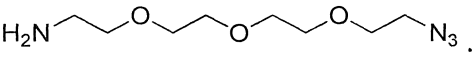




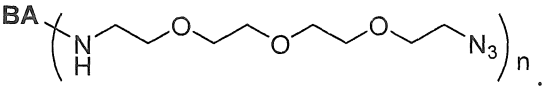
và



Theo các phương án cụ thể, hợp chất amin bậc một là:



Theo đó, sáng chế đề cập đến các kháng thể được cải biến, và mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, được liên kết với một hoặc nhiều hợp chất amin bậc một. Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề cập đến kháng thể được cải biến, và mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, theo công thức:

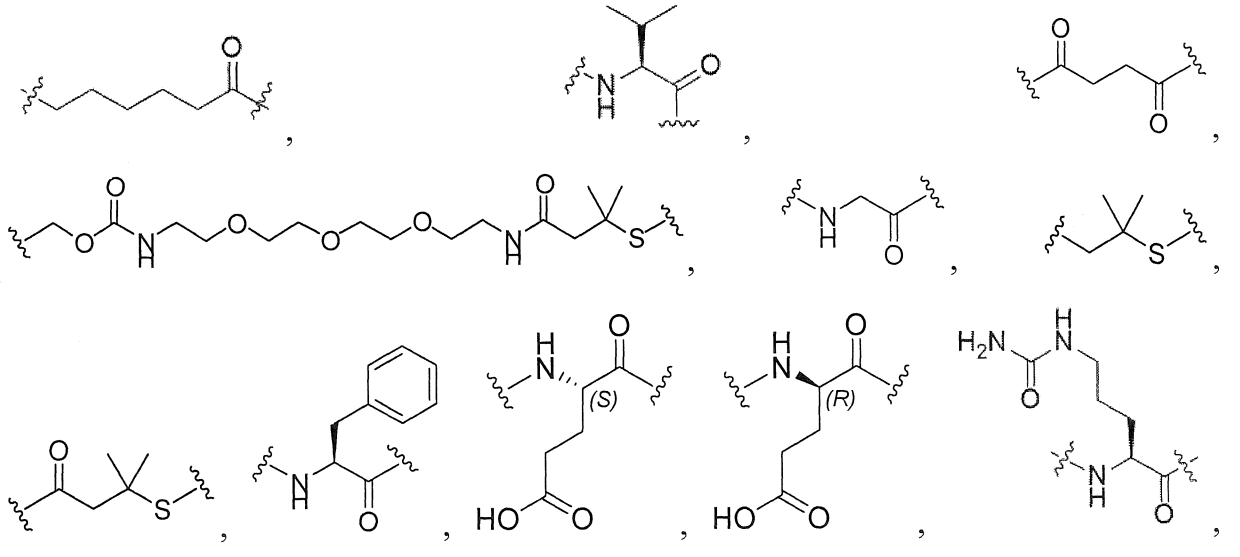


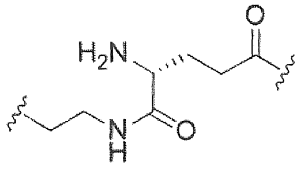
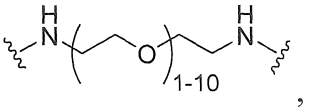
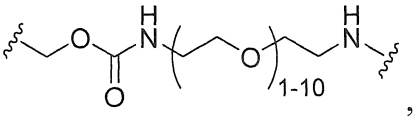
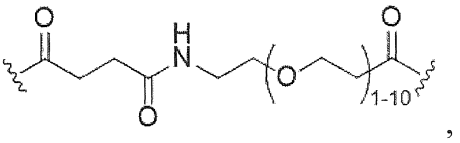
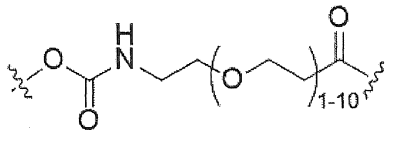
Trong công thức này, BA là kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó. Biến số n là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 30. Theo một số phương án nhất định, n nằm trong khoảng từ 1 đến số lượng gốc glutamin trong BA. Theo một số phương án nhất định, n nằm trong khoảng từ 1 đến 4. Theo một số phương án nhất định, n là 1, 2, 3, hoặc 4. Theo một số phương án, n là 2. Theo một số phương án, n là 4. Kháng thể được cải biến, và mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, hữu ích, ví dụ, để liên kết với một hoặc nhiều phân tử L - PA để tạo ra ADC.

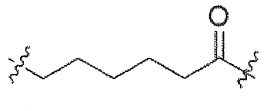
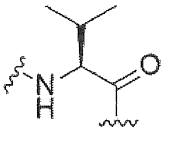
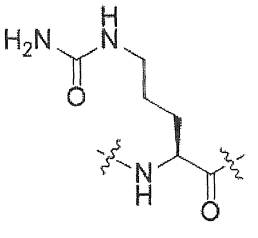
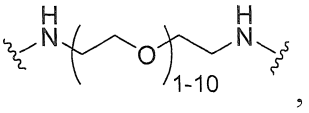
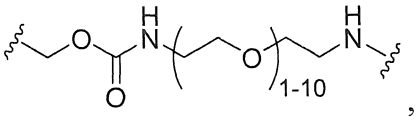
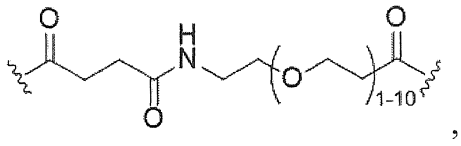
Theo một số phương án nhất định, BA có thể chứa hai hoặc bốn gốc glutamin. Theo một số phương án nhất định, BA có thể chứa gốc Q295. Theo một số phương án nhất định, BA có thể chứa đột biến N297Q. Theo một số phương án nhất định, BA có thể chứa Q295 và N297Q. Theo các phương án này, do BA có thể là dime, nên BA có bốn gốc glutamin để liên kết với các gốc L - PA.

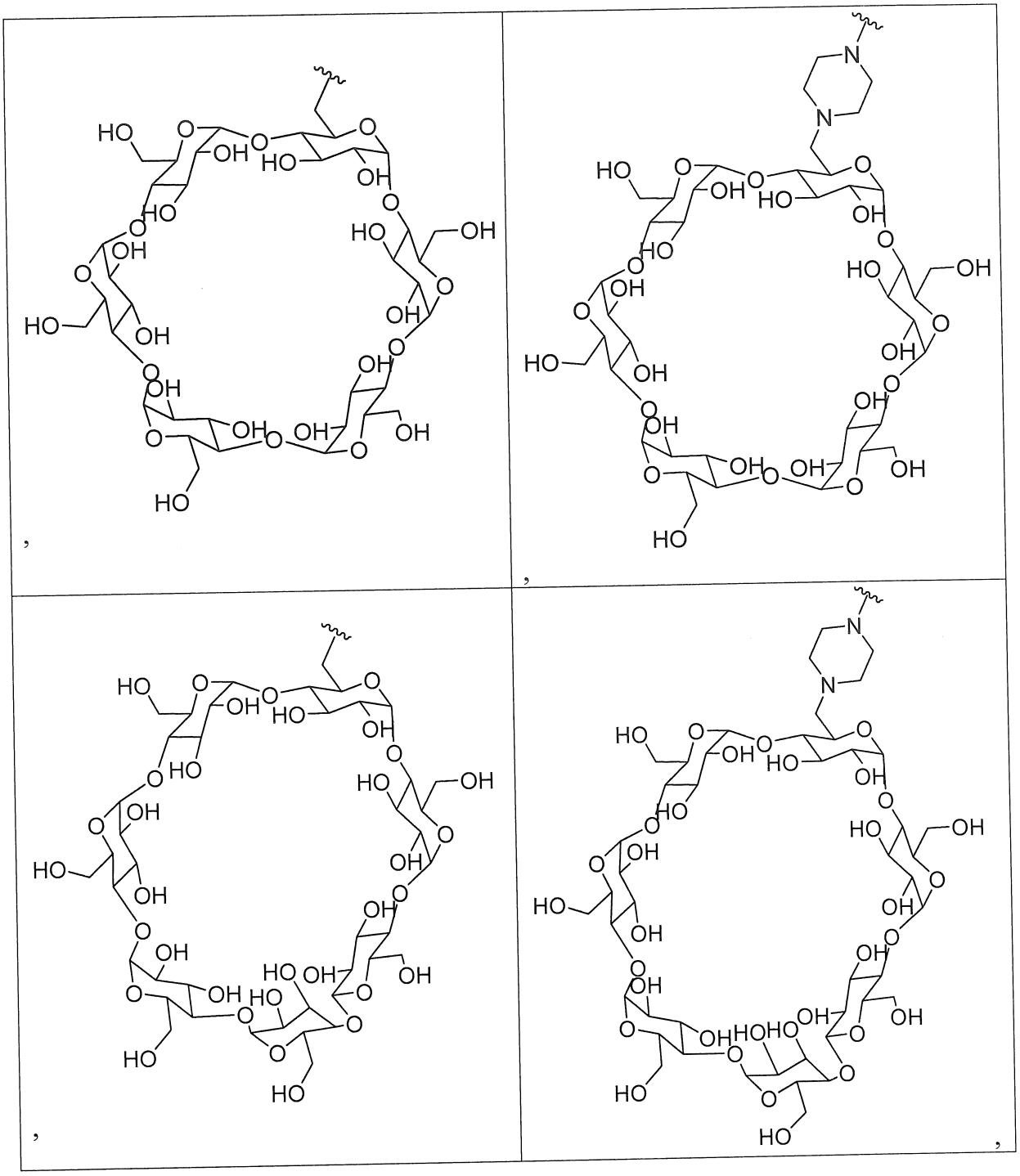
Trong công thức (XV) BA – [L – PA]$_n$, PA có thể là tải lượng bất kỳ được cho là hữu ích. Theo một số phương án nhất định, PA là chất tương tự rifamyxin theo sáng chế.

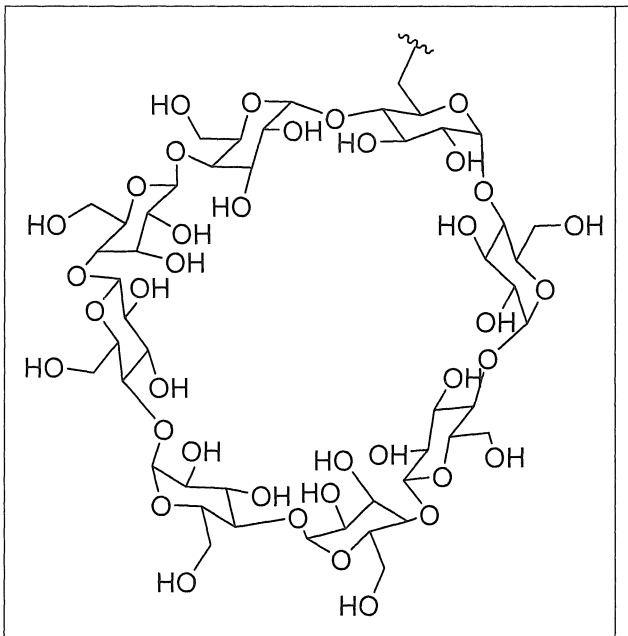
Theo một số phương án về công thức (XV), L là -L^1-L^2-(L^3)$_{0-1}$- và L^2 có thể bao gồm:




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

, 
,

, -OCH$_2$C(O)-, hoặc gốc xyclodextrin (CD); hoặc tổ hợp của chúng. Theo một số phương án, L là -L^1-L^2-(L^3)$_{0-1}$- và L^2 có thể bao gồm:

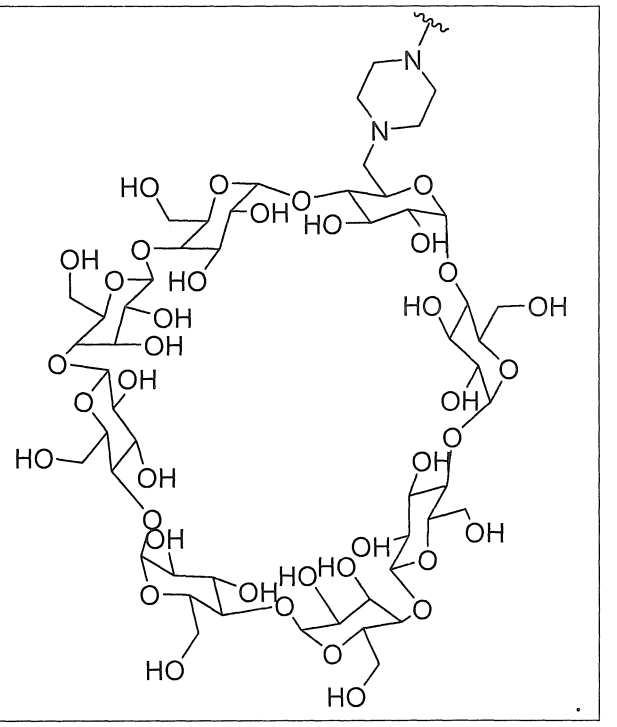

, 
, 
, 
,

, 
, hoặc CD, hoặc tổ hợp của chúng. Theo một số phương án, L là -L^1-L^2-(L^3)$_{0-1}$- và L^2 có thể chứa CD trong đó CD này được chọn từ nhóm bao gồm:





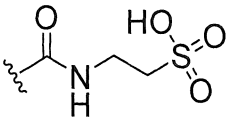
,

và

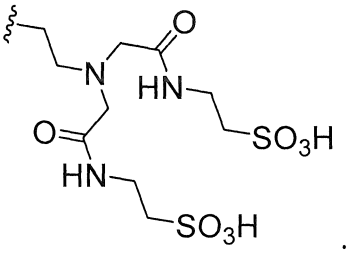


.

Theo một số phương án về công thức (XV), L là $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ và L^2 có thể bao gồm:

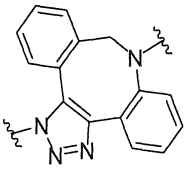


hoặc

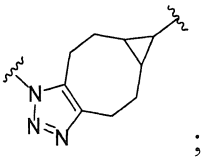


.

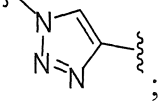
Theo một số phương án, L là $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ và $-L^1$ có thể bao gồm L^1 được chọn từ



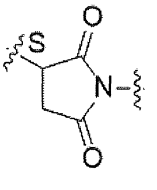
hoặc chất đồng phân vùng hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân của nó;



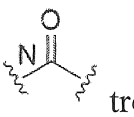
;



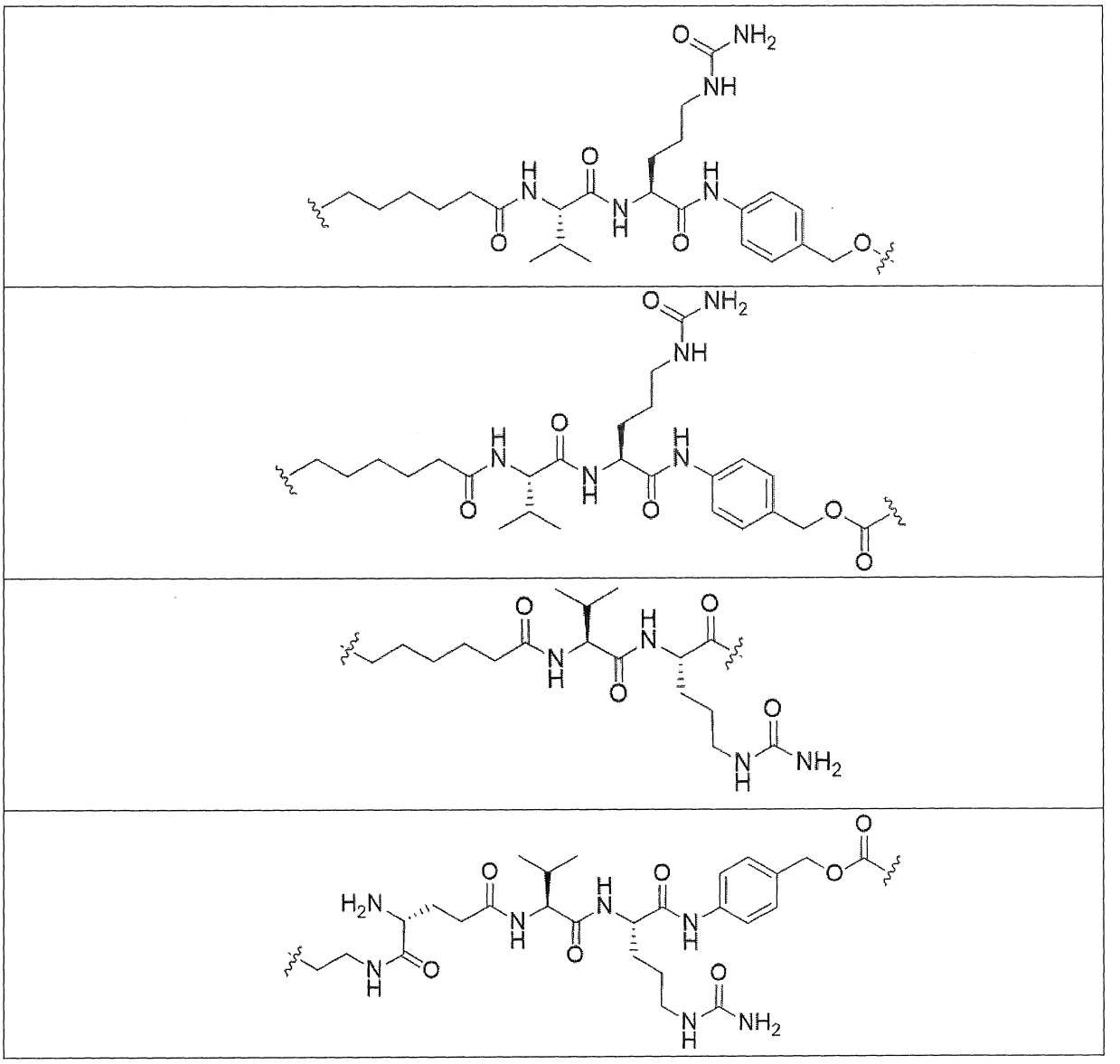
;

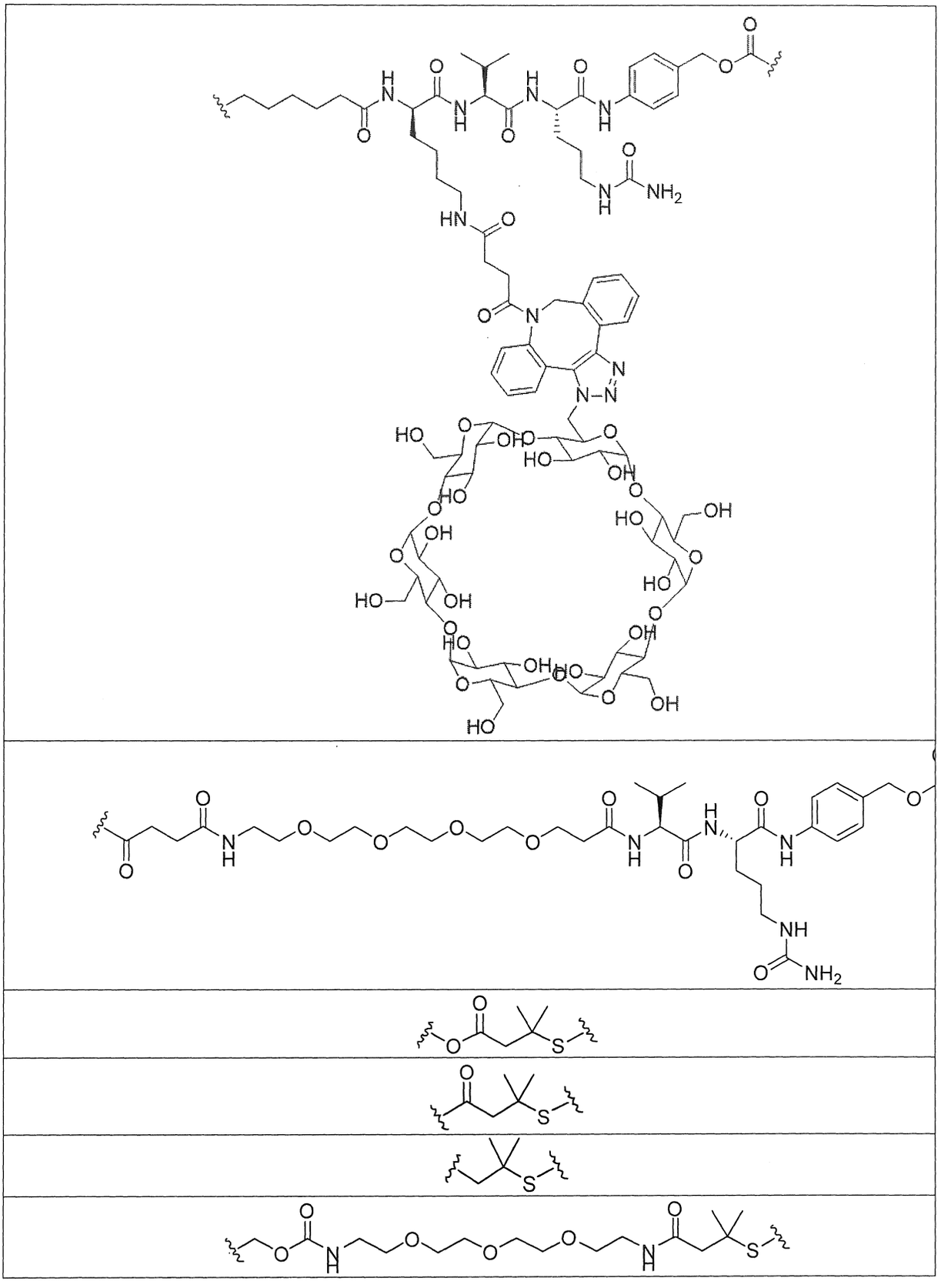


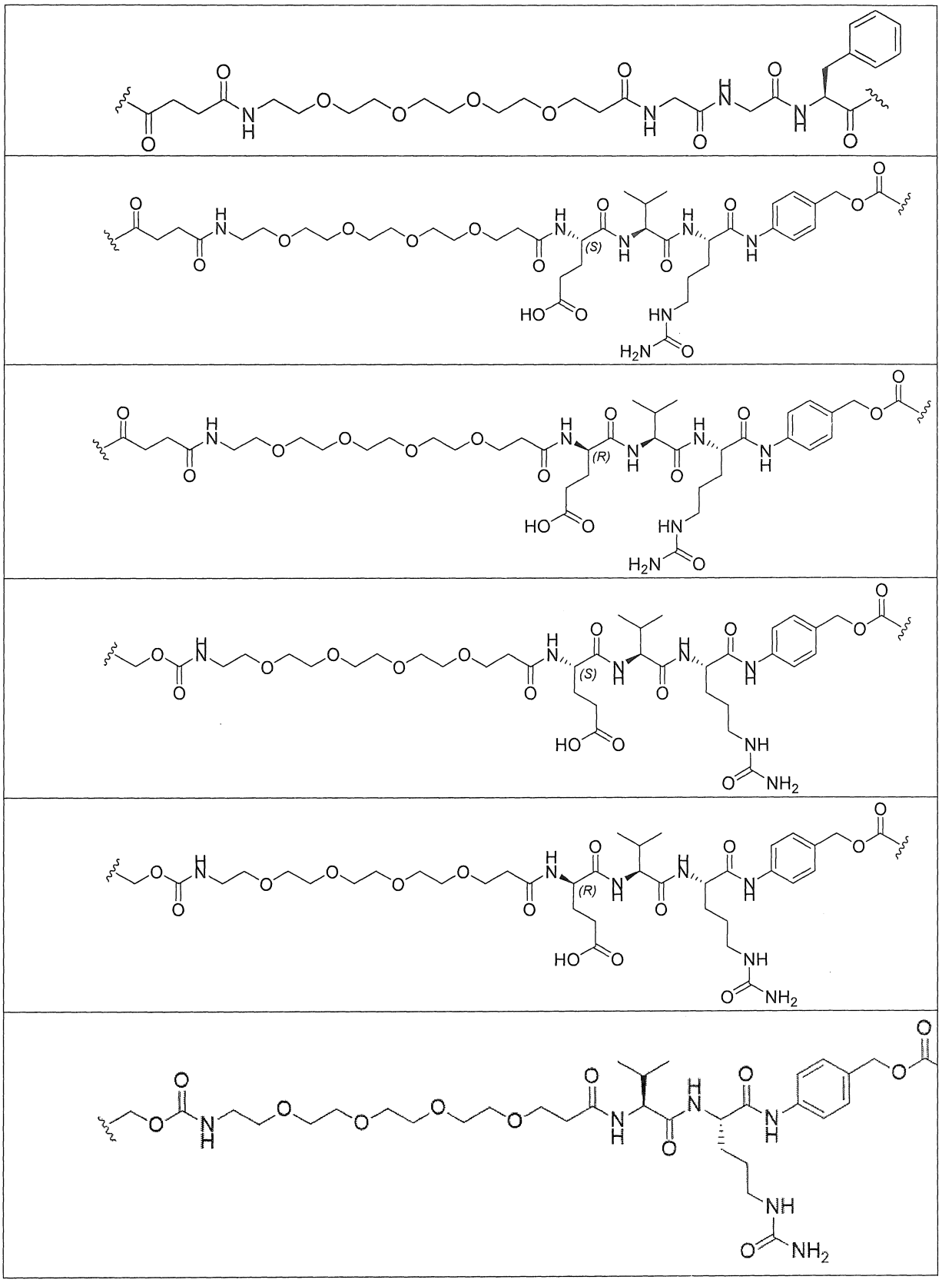
hoặc chất đồng phân lập thể hoặc hỗn hợp

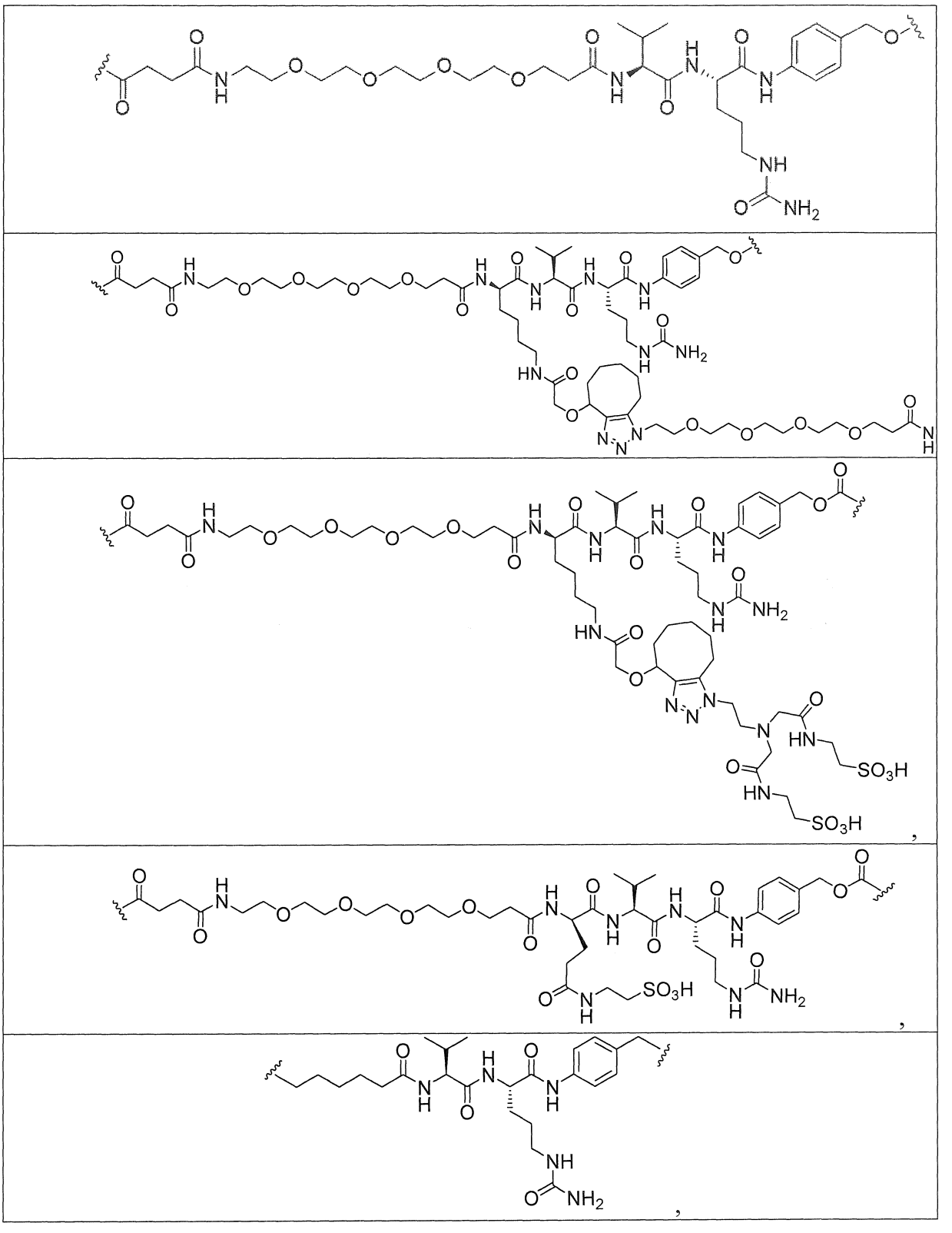
của các chất đồng phân lập thể của nó, trong đó S dùng để chỉ nguyên tử S trên gốc xystein mà gốc nhóm của phản ứng được gắn vào BA thông qua đó; và  trong đó N dùng để chỉ nguyên tử N của gốc lysin mà gốc của nhóm phản ứng được gắn vào BA thông qua đó.

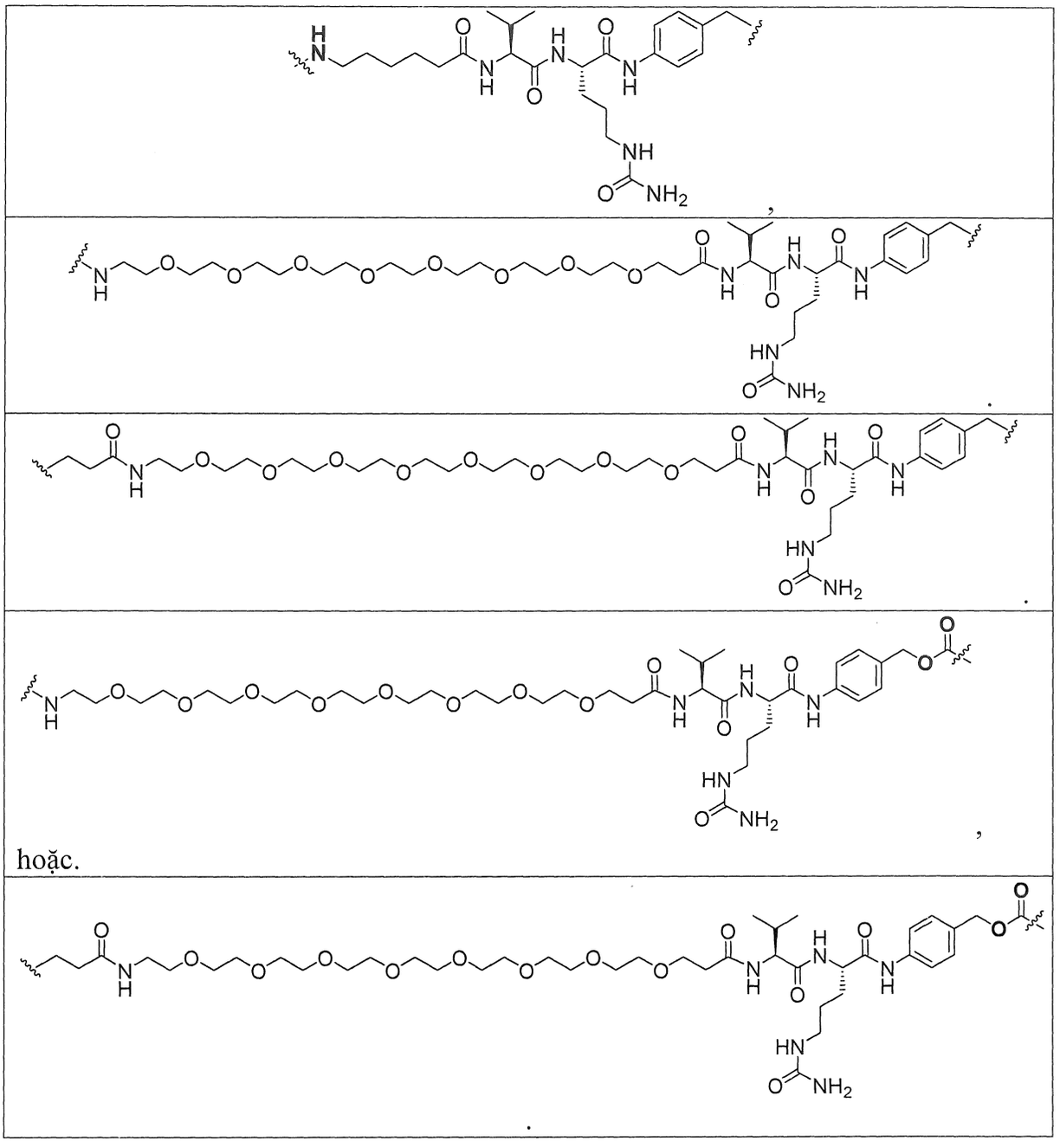
Theo một số phương án, L là $-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$ và $-L^2-(L^3)_{0-1}-$ có thể bao gồm:











hoặc.

Trong công thức (XV), BA – [L – PA]$_n$, PA có thể được liên kết với BA bằng tác nhân liên kết L bất kỳ được cho là thích hợp. Các chất liên kết là nhóm hoặc gốc bất kỳ liên kết, nối, hoặc gắn kết kháng thể hoặc protein gắn kết kháng nguyên được mô tả ở đây với gốc trị liệu, ví dụ chất tương tự rifamyxin. Các tác nhân liên kết thích hợp có thể được tìm thấy trong các tài liệu, ví dụ, *Antibody-Drug Conjugates and Immunotoxins*; Phillips, G. L., Ed.; Springer Verlag: New York, 2013; *Antibody-Drug Conjugates*;

Ducry, L., Ed.; Humana Press, 2013; *Antibody-Drug Conjugates*; Wang, J., Shen, W.-C., và Zaro, J. L., Eds.; Springer International Publishing, 2015, nội dung của mỗi tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ. Nhìn chung, các chất gắn kết là tác nhân liên kết cho thể liên hợp kháng thể được mô tả ở đây là các chất gắn kết đủ ổn định để tận dụng thời gian bán thải tuần hoàn của kháng thể và, đồng thời, có khả năng giải phóng tải lượng của nó sau khi nhập bào thể liên hợp này qua trung gian kháng nguyên. Các tác nhân liên kết có thể phân tách được hoặc không phân tách được. Tác nhân liên kết phân tách được bao gồm các tác nhân liên kết được phân tách bằng cơ chế chuyển hóa nội bào sau khi nhập bào, ví dụ, phân tách thông qua thủy phân, khử, hoặc phản ứng enzym hóa. Tác nhân liên kết không phân tách được bao gồm tác nhân liên kết giải phóng tải lượng được gắn thông qua quá trình thoái biến lysosom của kháng thể sau khi nhập bào. Các tác nhân liên kết thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tác nhân liên kết không bền axit, tác nhân liên kết không bền thủy phân, tác nhân liên kết phân tách được bằng enzym, tác nhân liên kết không bền khử, tác nhân liên kết tự diệt, và tác nhân liên kết không phân tách được. Các tác nhân liên kết thích hợp còn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các tác nhân liên kết là hoặc chứa peptit, glucuronit, sucxinimit-thioete, đơn vị polyetylen glycol (PEG), hydrazon, đơn vị mal-caproyl, đơn vị dipeptit, đơn vị valin-xitrulin, và đơn vị para-aminobenzyl (PAB).

Phân tử liên kết hoặc công nghệ liên kết bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể được sử dụng để tạo ra hoặc cấu trúc của ADC theo sáng chế. Theo một số phương án nhất định, tác nhân liên kết là tác nhân liên kết phân tách được. Theo các phương án khác, tác nhân liên kết là tác nhân liên kết không phân tách được. Các tác nhân liên kết lấy làm ví dụ mà có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế bao gồm, tác nhân liên kết chứa hoặc gồm có, ví dụ, MC (6-maleimidocaproyl), MP (maleimidopropanoyl), val-cit (valin-xitrulin), val-ala (valin-alanin), vị trí dipeptit trong tác nhân liên kết phân tách được bằng proteaza, ala-phe (alanin-phenylalanin), vị trí dipeptit trong tác nhân liên kết phân tách được bằng proteaza, PAB (p-aminobenzyloxycacbonyl), SPP (N-Sucxinimidyl 4-(2-pyridylthio) pentanoat), SMCC (N-Sucxinimidyl 4-(N-

maleimidometyl)xyclohexan-1 carboxylat), SIAB (N-Sucxinimidyl (4-iodo-axetyl)aminobenzoat), và các biến thể và hỗn hợp của chúng. Các ví dụ khác về tác nhân liên kết mà có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế cũng được nêu trong, ví dụ, US 7,754,681 và trong Ducry, Bioconjugate Chem., 2010, *21*:5-13, và các tài liệu được trích dẫn trong đó, nội dung của chúng được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Theo một số phương án nhất định, tác nhân liên kết này ổn định trong các điều kiện sinh lý. Theo một số phương án nhất định, tác nhân liên kết này phân tách được, ví dụ, có thể giải phóng ít nhất một phần tải lượng với sự có mặt của enzym hoặc ở khoảng pH hoặc giá trị pH cụ thể. Theo một số phương án, tác nhân liên kết có thể chứa gốc phân tách được bằng enzym. Các gốc phân tách được bằng enzym minh họa bao gồm, nhưng không giới hạn ở, liên kết peptit, liên kết este, hydrazon, và liên kết disulfua. Theo một số phương án, tác nhân liên kết có thể bao gồm tác nhân liên kết phân tách được bằng cathepsin.

Theo một số phương án, tác nhân liên kết có thể chứa gốc không phân tách được.

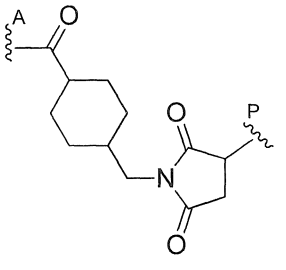
Các tác nhân liên kết thích hợp còn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các tác nhân liên kết được liên kết hóa học với hai gốc xystein của một chất gắn kết, ví dụ, kháng thể. Các tác nhân liên kết này có thể nhằm bắt chước liên kết disulfua của kháng thể mà bị phá vỡ do quy trình liên hợp.

Theo một số phương án, tác nhân liên kết có thể chứa một hoặc nhiều axit amin. Các axit amin thích hợp bao gồm axit amin tự nhiên, axit amin không tự nhiên, axit amin chuẩn, axit amin không chuẩn, axit amin sinh protein, axit amin không sinh protein, và axit amin L- hoặc D- α. Theo một số phương án, tác nhân liên kết có thể bao gồm alanin, valin, glyxin, leuxin, isoleuxin, methionin, tryptophan, phenylalanin, prolin, serin, threonin, xystein, tyrosin, asparagin, glutamin, axit aspartic, axit glutamic, lysin, arginin, histidin, hoặc xitrulin, dẫn xuất của chúng, hoặc tổ hợp của chúng. Theo một số phương án nhất định, một hoặc nhiều chuỗi bên của axit amin được liên kết với nhóm chuỗi bên, được mô tả dưới đây. Theo một số phương án, tác nhân liên kết có thể bao gồm valin và

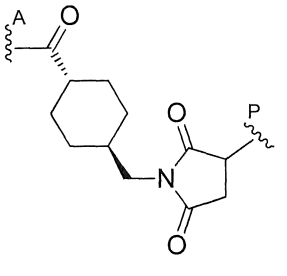
xitrulin. Theo một số phương án, tác nhân liên kết có thể bao gồm lysin, valin, và xitrulin. Theo một số phương án, tác nhân liên kết có thể bao gồm lysin, valin, và alanin. Theo một số phương án, tác nhân liên kết có thể bao gồm valin và alanin.

Theo một số phương án, tác nhân liên kết có thể bao gồm nhóm tự diệt. Nhóm tự diệt này có thể là nhóm bất kỳ đã biết đối với người có hiểu biết trung bình. Theo các phương án cụ thể, nhóm tự diệt có thể là *p*-aminobenzyl (PAB), hoặc dẫn xuất của nó. Các dẫn xuất hữu ích bao gồm *p*-aminobenzyloxycacbonyl (PABC). Người có hiểu biết trung bình sẽ biết được rằng nhóm tự diệt có khả năng tiến hành phản ứng hóa học mà giải phóng các nguyên tử còn lại của tác nhân liên kết từ tải lượng.

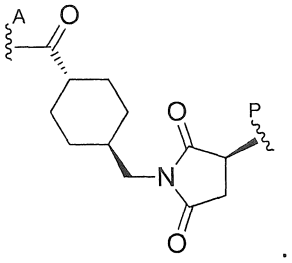
Theo một số phương án, tác nhân liên kết có thể là:



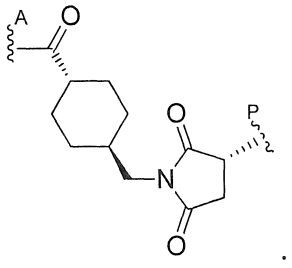
trong đó là liên kết với kháng thể hoặc protein gắn kết kháng nguyên (ví dụ, thông qua gốc lysin) và là liên kết với tải lượng. Theo một số phương án, tác nhân liên kết có thể là:



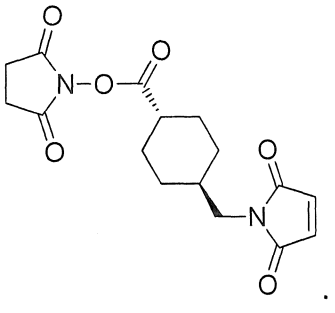
trong đó là liên kết với kháng thể hoặc protein gắn kết kháng nguyên (ví dụ, thông qua gốc lysin) và là liên kết với tải lượng. Theo một số phương án nhất định, tác nhân liên kết có thể là:



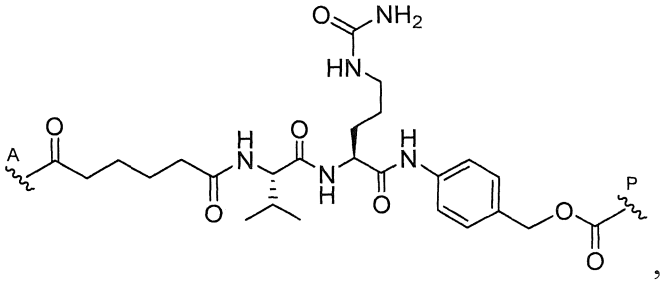
Theo một số phương án nhất định, tác nhân liên kết có thể là:

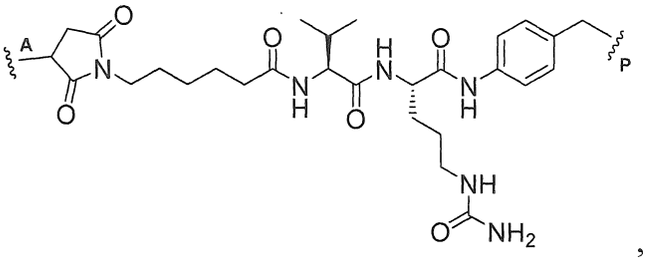


Theo một số phương án, tác nhân liên kết có thể có nguồn gốc từ maleimidylmetyl-4-trans-xyclohexancarboxysucxinat:

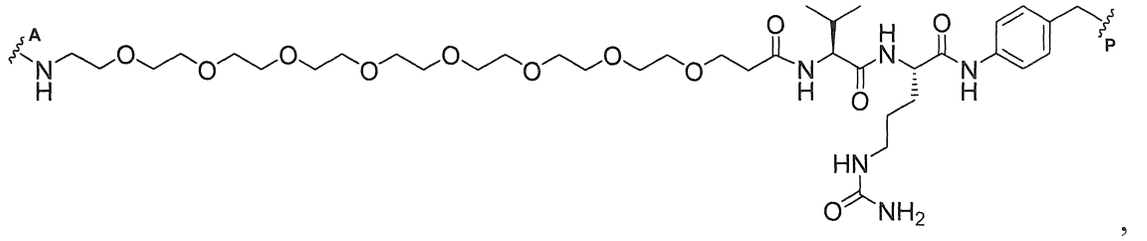


Theo một số phương án, tác nhân liên kết có thể là:

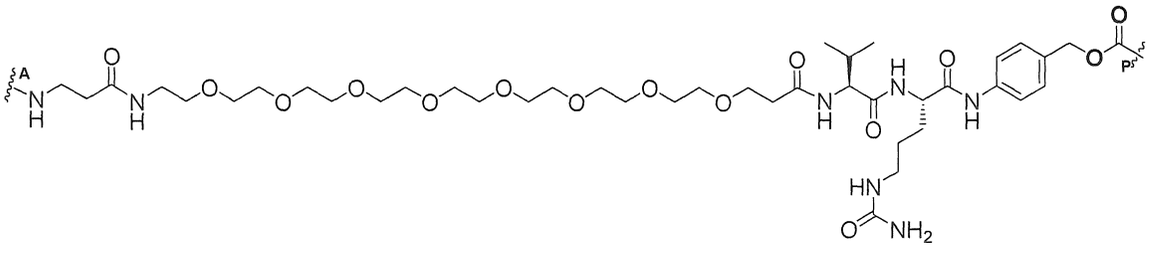




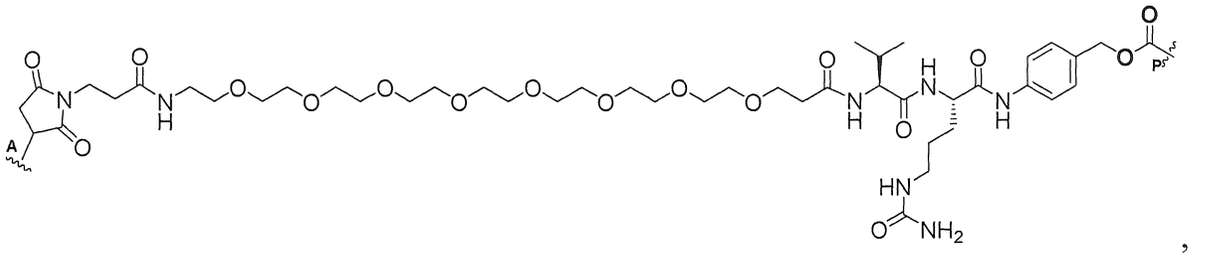
,



,

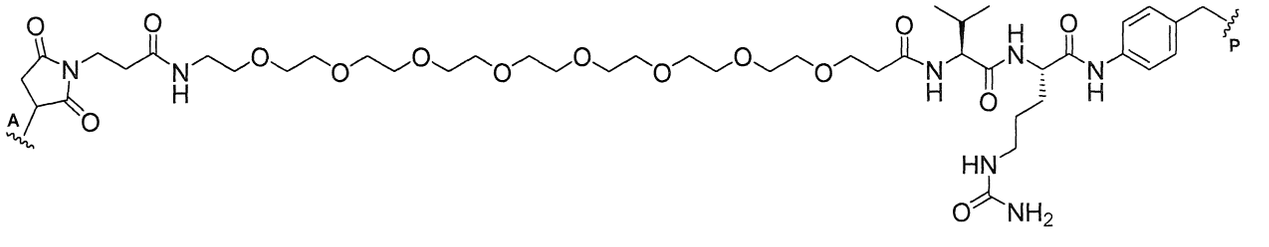


,



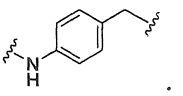
,

hoặc

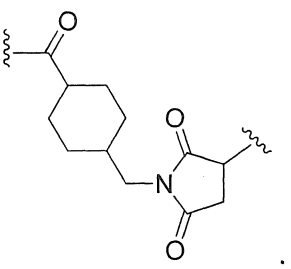


trong đó là liên kết với kháng thể hoặc protein gắn kết kháng nguyên (ví dụ, thông qua gốc lysin hoặc gốc serin) và là liên kết với tải lượng.

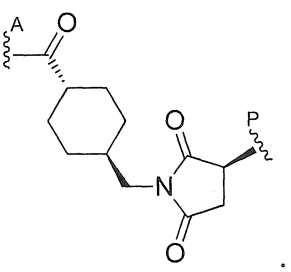
Theo một số phương án, L có thể là tác nhân liên kết phân tách được. Theo một

số phương án, L có thể là tác nhân liên kết không phân tách được. Theo một số phương án, L có thể chứa dipeptit. Theo một số phương án, L có thể chứa gốc  .

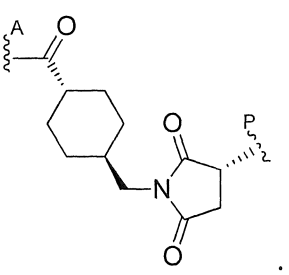
Theo một số phương án, L có thể chứa gốc có cấu trúc sau:

 .

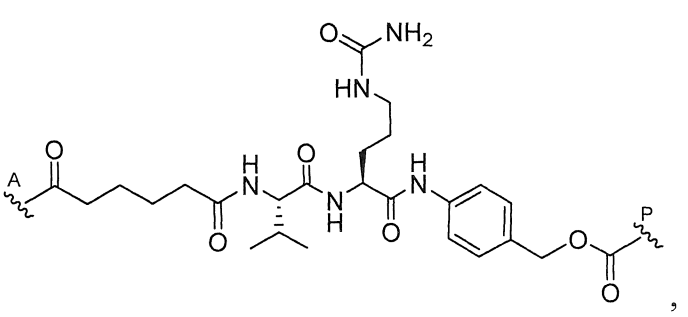
Theo một số phương án, L có thể chứa gốc có cấu trúc sau:

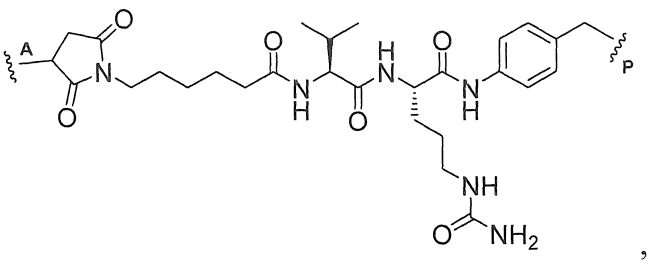
 .

Theo một số phương án, L có thể chứa gốc có cấu trúc sau:

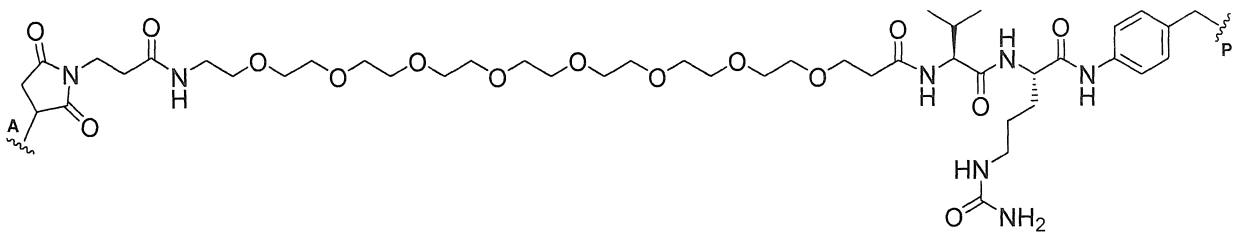
 .

Theo một số phương án, L có thể chứa gốc có cấu trúc được chọn từ:

 ,

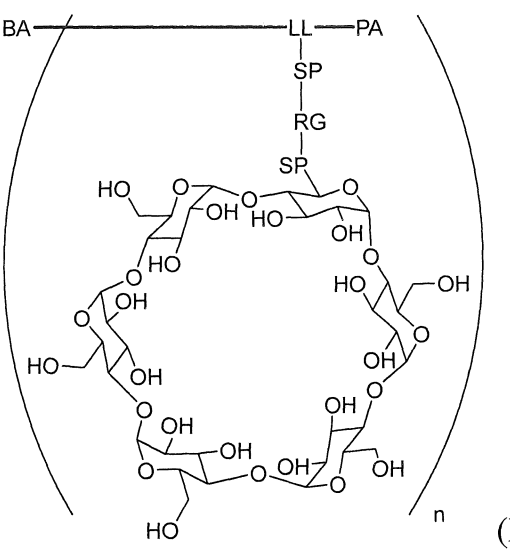


, hoặc



.

Theo một số phương án nhất định, tác nhân liên kết có thể chứa nhóm xyclodextrin. Theo một số phương án nhất định, tác nhân liên kết tạo ra ADC theo công thức (XVa):

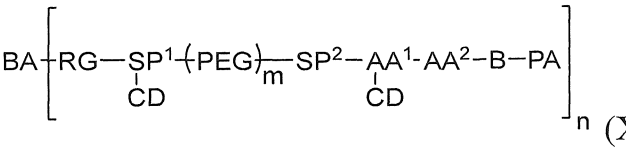


(XVa).

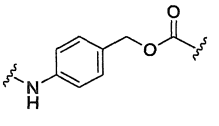
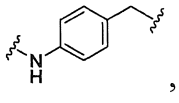
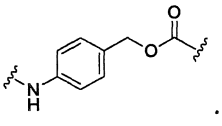
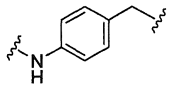
Trong công thức (XVa), BA là kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, LL là tác nhân liên kết hóa trị ba, RG là gốc liên kết phản ứng, SP, độc lập trong mỗi trường hợp, không có mặt hoặc là nhóm đệm, chỉ số dưới n là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 30; và PA là tải lượng. Theo một số phương án nhất định, n nằm trong khoảng từ 1 đến 4. Theo một số phương án nhất định, n là 4. Theo một số phương án

nhất định, n là 2. Theo một số phương án nhất định, n là 1. Theo một số phương án nhất định, n là 3.

Theo một số phương án nhất định, tác nhân liên kết có thể chứa nhóm xyclodextrin. Theo một số phương án nhất định, tác nhân liên kết tạo ADC theo công thức (XVb):



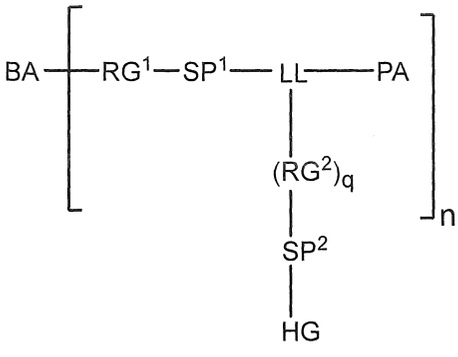
(XVb).

Trong công thức (XVb), BA là kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó; RG là gốc nhóm phản ứng; mỗi trong số SP^1 và SP^2, độc lập trong mỗi trường hợp, không có mặt hoặc là gốc nhóm đệm, và trong đó SP^1 có thể bao gồm tác nhân liên kết hóa trị ba; AA^1 là tác nhân liên kết hóa trị ba chứa gốc axit amin; AA^2 là gốc di-peptit; PEG có thể chứa từ 1 đến 30 gốc polyetylen glycol; B không có mặt,  hoặc  , trong đó chỉ nguyên tử mà thông qua đó B được liên kết với các nhóm liền kề trong công thức này, CD, độc lập trong mỗi trường hợp, không có mặt hoặc là gốc xyclodextrin, trong đó ít nhất một CD có mặt, chỉ số dưới n là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 30; chỉ số dưới m là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 5; và PA là gốc tải lượng. Trong các ví dụ này, chỉ số dưới m bằng 0, 1, 2, 3, 4, hoặc 5. Theo một số ví dụ, chỉ số dưới m bằng 0. Theo một số ví dụ, chỉ số dưới m bằng 1. Theo một số ví dụ, chỉ số dưới m bằng 2. Theo một số ví dụ, chỉ số dưới m bằng 3. Theo một số ví dụ, chỉ số dưới m bằng 4. Theo một số ví dụ, chỉ số dưới m bằng 5. Theo một số ví dụ, B không có mặt. Theo một số ví dụ, B là  . Theo một số ví dụ, B là  .Theo một số ví dụ, bất kỳ trong số AA^1 hoặc AA^2 có thể chứa, độc lập trong mỗi trường hợp, axit amin được chọn từ alanin, valin, leuxin, isoleuxin, methionin,

tryptophan, phenylalanin, prolin, serin, threonin, xystein, tyrosin, asparagin, glutamin, axit aspartic, axit glutamic, lysin, arginin, histidin, hoặc xitrulin, dẫn xuất của nó, và hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án nhất định, AA^1 là axit amin được chọn từ alanin, valin, leuxin, isoleuxin, methionin, tryptophan, phenylalanin, prolin, glyxin, serin, threonin, xystein, tyrosin, asparagin, glutamin, axit aspartic, axit glutamic, lysin, arginin, histidin, hoặc xitrulin, dẫn xuất của nó, và hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án nhất định, AA^1 là lysin. Theo một số phương án nhất định, AA^1 là lysin hoặc dẫn xuất của lysin. Theo một số phương án nhất định, AA^2 là valin-xitrulin. Theo một số phương án, AA^2 là xitrulin-valin. Theo một số phương án, AA^2 là valin-alanin. Theo một số phương án, AA^2 là alanin-valin. Theo một số phương án, AA^2 là valin-glyxin. Theo một số phương án, AA^2 là glyxin-valin. Theo một số phương án, AA^1-AA^2 là glutamin-valin-xitrulin. Theo một số phương án, AA^1-AA^2 là glutamin-valin-xitrulin. Theo một số phương án, AA^1-AA^2 là lysin-valin-alanin. Theo một số phương án, AA^1-AA^2 là lysin-valin-xitrulin. Theo một số phương án, AA^1-AA^2 là glutamin-valin-xitrulin. Theo một số phương án nhất định, lysin là L-lysin. Theo một số phương án nhất định, lysin là D-lysin. Theo một số ví dụ, SP^1 độc lập trong mỗi trường hợp, được chọn từ nhóm bao gồm $C_{1\text{-}6}$ alkylen, -NH-, -C(O)-, $(-CH_2\text{-}CH_2\text{-}O)_e$, $-NH\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}(-O\text{-}CH_2\text{-}CH_2)_e\text{-}C(O)$-, $-C(O)\text{-}(CH_2)_u\text{-}C(O)$-, $-C(O)\text{-}NH\text{-}(CH_2)_v$-, và hỗn hợp của chúng, trong đó chỉ số dưới e là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 4, chỉ số dưới u là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8, và chỉ số dưới v là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8. Theo một số ví dụ, SP^2 độc lập trong mỗi trường hợp, được chọn từ nhóm bao gồm $C_{1\text{-}6}$ alkylen, -NH-, -C(O)-, $(-CH_2\text{-}CH_2\text{-}O)_e$, $-NH\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}(-O\text{-}CH_2\text{-}CH_2)_e\text{-}C(O)$-, $-C(O)\text{-}(CH_2)_u\text{-}C(O)$-, $-C(O)\text{-}NH\text{-}(CH_2)_v$-, và hỗn hợp của chúng, trong đó chỉ số dưới e là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 4, chỉ số dưới u là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8, và chỉ số dưới v là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8.

Theo một số phương án nhất định, tác nhân liên kết có thể chứa nhóm ưa nước tận cùng (HG). Theo một số phương án nhất định, tác nhân liên kết có thể chứa nhóm taurin. Theo một số phương án nhất định, tác nhân liên kết có thể chứa nhóm axit sulfonic

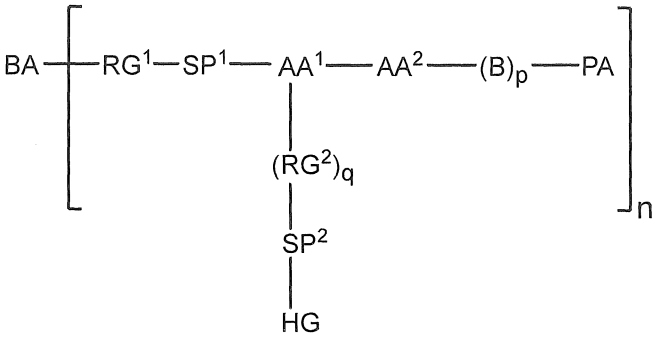
tận cùng. Theo một số phương án nhất định, tác nhân liên kết tạo ADC theo công thức (XVI):



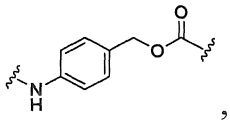
(XVI)

trong đó, trong công thức (XVI), BA là chất gắn kết; LL là tác nhân liên kết hóa trị ba; RG^1 và RG^2 là gốc nhóm phản ứng; SP^1 và SP^2 độc lập, trong mỗi trường hợp, không có mặt, hoặc là gốc nhóm đệm; HG là gốc ưa nước; PA là gốc tải lượng; chỉ số dưới n là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 30; và chỉ số dưới q bằng 0 hoặc 1. Trong một số trường hợp, nhiều hơn một tác nhân liên kết hóa trị ba LL có thể có mặt. Trong một số trường hợp, n là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 4. Trong một số trường hợp n bằng 1. Trong một số trường hợp n bằng 2. Trong một số trường hợp n bằng 3. Trong một số trường hợp n bằng 4. Trong một số trường hợp, HG là nhóm ưa nước tận cùng. Trong một số trường hợp, HG có thể chứa một nhóm axit sulfonic tận cùng hoặc muối của nó. Trong các trường hợp khác, HG có thể chứa nhiều hơn một nhóm axit sulfonic tận cùng hoặc các muối của chúng. Trong một số trường hợp, HG có thể chứa một nhóm axit phosphonic tận cùng hoặc muối của nó. Trong các trường hợp khác, HG có thể chứa nhiều hơn một nhóm axit phosphonic tận cùng hoặc các muối của chúng. Trong một số trường hợp, HG có thể chứa một nhóm amin bậc ba tận cùng hoặc muối của nó. Trong các trường hợp khác, HG có thể chứa nhiều hơn một nhóm amin bậc ba tận cùng hoặc các muối của chúng. Trong một số trường hợp, HG có thể chứa một polyol tận cùng (ví dụ, glucoza, maltoza) hoặc dẫn xuất của nó. Trong các trường hợp khác, HG có thể chứa nhiều hơn một polyol tận cùng (ví dụ, glucoza, maltoza) hoặc các dẫn xuất của chúng.

Theo một ví dụ khác, hợp chất có công thức (XVI) là theo công thức (XVII):

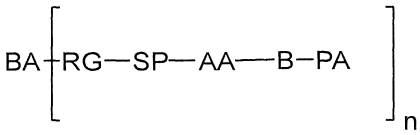


(XVII).

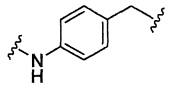
Trong công thức (XVII), BA, RG^1, SP^1, RG^2, SP^2 và HG là như được định nghĩa ở trên, AA^1 là tác nhân liên kết hóa trị ba chứa gốc axit amin; AA^2 là gốc dipeptit; và B là  , trong đó chỉ nguyên tử mà thông qua đó B được liên kết với các nhóm liền kề trong công thức; chỉ số dưới p bằng 0 hoặc 1; và chỉ số dưới q bằng 0 hoặc 1. Trong một số trường hợp, chỉ số dưới p bằng 0 và chỉ số dưới q bằng 0. Trong một số trường hợp, chỉ số dưới p bằng 1; và chỉ số dưới q bằng 0. Trong một số trường hợp, chỉ số dưới p bằng 0; và chỉ số dưới q bằng 1. Trong một số trường hợp, chỉ số dưới p bằng 1; và chỉ số dưới q bằng 1. Trong một số trường hợp SP^1 có thể chứa từ 0 đến 5 gốc polyetylen glycol (PEG). Trong một số trường hợp SP^2 có thể chứa từ 0 đến 5 gốc PEG. Theo một số ví dụ, SP^1 độc lập trong mỗi trường hợp, được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-6} alkylen, -NH-, -C(O)-, $(-CH_2-CH_2-O)_e$, $-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$, $-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$, $-C(O)-NH-(CH_2)_v-$, và hỗn hợp của chúng, trong đó chỉ số dưới e là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 4, chỉ số dưới u là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8, và chỉ số dưới v là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8. Theo một số ví dụ, SP^2 độc lập trong mỗi trường hợp, được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-6} alkylen, -NH-, -C(O)-, $(-CH_2-CH_2-O)_e$, $-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$, $-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$, $-C(O)-NH-(CH_2)_v-$, và hỗn hợp của chúng, trong đó chỉ số dưới e là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 4, chỉ số dưới u là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8, và chỉ số dưới v là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8. Theo một số ví dụ, bất kỳ trong số AA^1 hoặc AA^2 có thể chứa, độc lập trong mỗi trường hợp, axit amin được chọn từ alanin,

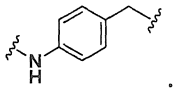
valin, leuxin, isoleuxin, methionin, tryptophan, phenylalanin, prolin, serin, threonin, xystein, tyrosin, asparagin, glutamin, axit aspartic, axit glutamic, lysin, arginin, histidin, hoặc xitrulin, dẫn xuất của nó, và hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án nhất định, AA^1 là axit amin được chọn từ alanin, valin, leuxin, isoleuxin, methionin, tryptophan, phenylalanin, prolin, glyxin, serin, threonin, xystein, tyrosin, asparagin, glutamin, axit aspartic, axit glutamic, lysin, arginin, histidin, hoặc xitrulin, dẫn xuất của nó, và hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án nhất định, AA^1 là lysin. Theo một số phương án nhất định, AA^1 là lysin hoặc dẫn xuất của lysin. Theo một số phương án nhất định, AA^1 là axit glutamic. Theo một số phương án nhất định, AA^2 là valin-xitrulin. Theo một số phương án, AA^2 là xitrulin-valin. Theo một số phương án, AA^2 là valin-alanin. Theo một số phương án, AA^2 là alanin-valin. Theo một số phương án, AA^2 là valin-glyxin. Theo một số phương án, AA^2 là glyxin-valin. Theo một số phương án, AA^1-AA^2 là glutamin-valin-xitrulin. Theo một số phương án, AA^1-AA^2 là lysin-valin-xitrulin. Theo một số phương án, AA^1-AA^2 là lysin-valin-alanin. Theo một số phương án, AA^1-AA^2 là glutamin-valin-alanin. Theo một số phương án nhất định, lysin là L-lysin. Theo một số phương án nhất định, lysin là D-lysin.

Theo một số phương án nhất định, tác nhân liên kết tạo ADC theo công thức (XVIII):

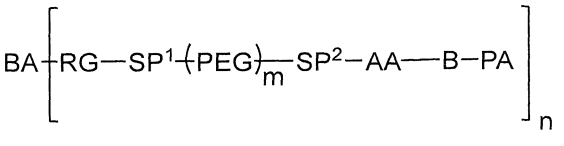


(XVIII).

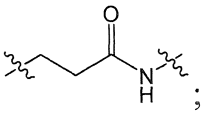
Trong công thức (XVIII), BA là kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó; RG là gốc nhóm phản ứng, ví dụ, gốc maleimit hoặc gốc sucxinimit; SP không có mặt hoặc là gốc nhóm đệm; AA là gốc di-peptit, ví dụ, tác nhân liên kết valin-xitrulin; B không có mặt hoặc  , trong đó chỉ nguyên tử mà thông qua đó B được liên kết với các nhóm liền kề trong công thức này, chỉ số dưới n là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 30; và PA là gốc tải lượng, ví dụ chất tương tự rifamyxin. Theo một số

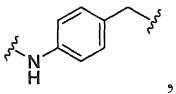
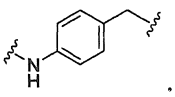
ví dụ, B không có mặt. Theo một số ví dụ, B là  . Theo một số ví dụ, AA có thể chứa, độc lập trong mỗi trường hợp, axit amin được chọn từ alanin, valin, leuxin, isoleuxin, methionin, tryptophan, phenylalanin, prolin, serin, threonin, xystein, tyrosin, asparagin, glutamin, axit aspartic, axit glutamic, lysin, arginin, histidin, hoặc xitrulin, dẫn xuất của nó, và hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án nhất định, AA là valin-xitrulin. Theo một số phương án, AA là xitrulin-valin. Theo một số phương án, AA là valin-alanin. Theo một số phương án, AA là alanin-valin. Theo một số phương án, AA là valin-glyxin. Theo một số phương án, AA là glyxin-valin. Theo một số ví dụ, SP được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-6} alkyl, -NH-, -C(O)-, $-CH_2-CH_2-C(O)-NH-$, $-(CH)_u-C(O)-NH-$, $(-CH_2-CH_2-O)_e$, $-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$, $-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$, $-C(O)-NH-(CH_2)_v-$, $-(CH)_u-C(O)-NH-(CH_2-CH_2-O)_e-(CH)_u-C(O)-NH-$, $-(CH)_2-C(O)-NH-(CH_2-CH_2-O)_8-(CH)_2-C(O)-NH-$, và hỗn hợp của chúng, trong đó mỗi khi có mặt chỉ số dưới e độc lập là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 20, chỉ số dưới u là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8, và chỉ số dưới v là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8.

Theo một số phương án nhất định, tác nhân liên kết có thể chứa nhóm xyclodextrin. Theo một số phương án nhất định, tác nhân liên kết tạo ADC theo công thức (XIX):



(XIX)

Trong công thức (XIX), BA là kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó; RG là gốc nhóm phản ứng, ví dụ, gốc maleimit hoặc gốc sucxinimit; mỗi trong số SP^1 và SP^2, độc lập trong mỗi trường hợp, không có mặt hoặc là gốc nhóm đệm, ví dụ,  ; AA là gốc di-peptit, ví dụ, tác nhân liên kết valin-xitrulin; PEG là chuỗi

polyetylen glycol chứa từ 1 đến 30 gốc polyetylen glycol; B không có mặt hoặc là  , trong đó chỉ nguyên tử mà thông qua đó B được liên kết với các nhóm liền kề trong công thức này, chỉ số dưới n là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 30; chỉ số dưới m là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 20; chỉ số dưới p bằng 0 hoặc 1; và PA là gốc tải lượng, ví dụ chất tương tự rifamyxin. Trong các ví dụ này, chỉ số dưới m bằng 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, hoặc 20. Theo một số ví dụ, chỉ số dưới m bằng 0. Theo một số ví dụ, chỉ số dưới m bằng 1. Theo một số ví dụ, chỉ số dưới m bằng 2. Theo một số ví dụ, chỉ số dưới m bằng 5. Theo một số ví dụ, chỉ số dưới m bằng 8. Theo một số ví dụ, chỉ số dưới m bằng 10. Theo một số ví dụ, B không có mặt. Theo một số ví dụ, B là  . Theo một số ví dụ, AA có thể chứa, độc lập trong mỗi trường hợp, axit amin được chọn từ alanin, valin, leuxin, isoleuxin, methionin, tryptophan, phenylalanin, prolin, serin, threonin, xystein, tyrosin, asparagin, glutamin, axit aspartic, axit glutamic, lysin, arginin, histidin, hoặc xitrulin, dẫn xuất của nó, và hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án nhất định, AA là valin-xitrulin. Theo một số phương án, AA là xitrulin-valin. Theo một số phương án, AA là valin-alanin. Theo một số phương án, AA là alanin-valin. Theo một số phương án, AA là valin-glyxin. Theo một số phương án, AA là glyxin-valin. Theo một số ví dụ, SP^1 độc lập trong mỗi trường hợp, được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-6} alkyl, -NH-, -C(O)-, $-CH_2-CH_2-C(O)-NH-$, $-(CH)_u-C(O)-NH-$, $(-CH_2-CH_2-O)_e$, $-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$, $-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$, $-C(O)-NH-(CH_2)_v-$, và hỗn hợp của chúng, trong đó chỉ số dưới e là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 4, chỉ số dưới u là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8, và chỉ số dưới v là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8. Theo một số ví dụ, SP^2 độc lập trong mỗi trường hợp, được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-6} alkylen, -NH-, -C(O)-, $-CH_2-CH_2-C(O)-NH-$, $-(CH)_u-C(O)-NH-$, $(-CH_2-CH_2-O)_e$, $-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$, $-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$, $-C(O)-NH-(CH_2)_v-$, và hỗn hợp của chúng, trong đó chỉ số dưới e là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 4, chỉ số dưới u là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8, và chỉ số dưới v là số nguyên nằm trong khoảng

từ 1 đến 8.

Các ví dụ này còn bao gồm muối dược dụng, solvat, dạng đồng phân lập thể của nó, chất đồng phân vùng của nó, hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân vùng của nó, trong đó mỗi là liên kết với chất gắn kết; và mỗi là liên kết với tải lượng.

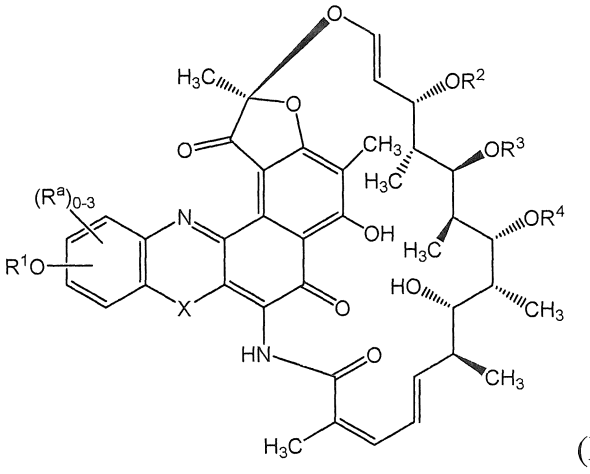
Theo một số phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa tải lượng tác nhân liên kết-chất tương tự rifamyxin chứa muối, ví dụ muối amoni, có một hoặc nhiều đối ion. Bất cứ đối ion dược dụng nào cũng có thể phù hợp. Ví dụ, theo một phương án theo sáng chế, đối ion thích hợp có thể là anion được chọn từ F^-, Cl^-, Br^-, I^-, OH^-, $^-BF_4$, $CF_3SO_3^-$, monobazơ sulfat, dibazơ sulfat, monobazơ phosphat, dibazơ phosphat, hoặc tribazơ phosphat, NO_3^-, PF_6^-, NO_2^-, carboxylat, $C_eF_fSO_3^-$, (trong đó e=2-10 và f=2e+1), axetat, aspartat, benzensulfonat, benzoat, besylat, bicarbonat, bitartrat, camsylat, carbonat, xitrat, decanoat, edetat, esylat, fumarat, gluxeptat, gluconat, glutamat, glycolat, glycollyalarsanilat, hexanoat, hydrabamin, hydroxynaphtoat, isthionat, lactat, lactobionat, malat, maleat, mandelat, mesylat, metylbromua, metylnitrat, mucat, napsylat, octanoat, oleat, pamoat, pantothenat, polygalacturonat, propionat, salixylat, stearat, subaxetat, sucxinat, tartrat, teoclat, tosylat, hoặc triethiiodit.

Thể liên hợp kháng thể thuốc được mô tả ở đây có thể được điều chế bằng cách sử dụng các điều kiện liên hợp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật liên quan, (Xem tài liệu, ví dụ, Doronina *et al. Nature Biotechnology* 2003, 21, 7, 778, mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ). Theo một số phương án, ADC được điều chế bằng cách cho kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó tiếp xúc với hợp chất chứa tác nhân liên kết và tải lượng mong muốn, trong đó các tác nhân liên kết này có gốc phản ứng được với kháng thể hoặc protein gắn kết kháng nguyên, ví dụ, ở gốc mong muốn của kháng thể hoặc protein gắn kết kháng nguyên. Các điều kiện lấy làm ví dụ được mô tả trong các ví dụ dưới đây.

Theo một số khía cạnh, tải lượng PA là chất tương tự rifamyxin như được mô tả theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên của hợp chất có cấu trúc theo

các công thức (A), (B), (I), (I'), (II), (II'), (III), (III'), (IV), (IV'), (V), (V') như được đề xuất trong bản mô tả.

Theo một khía cạnh, tải lượng PA là chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (XX):



(XX)

trong đó:

X được chọn từ -O-, -S-, và -NR*-;

R_1 được chọn từ liên kết; C_1-C_{20} hydrocacbon béo; C_5-C_{20} hydrocacbon thơm; C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại; aryl C_6-C_{20} hydrocacbon; heteroaryl C_1-C_{20} hydrocacbon, và hỗn hợp của chúng, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_1 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F; -Cl; -Br; -I; -OH, -OR*; -NO; $-NO_2$; $-NO_3$; -O-NO; $-N_3$; $-NH_2$; -NHR*; $-N(R^*)_2$; $-N(R^*)_3^+$; -N(R*)-OH; $-O-N(R^*)_2$; -N(R*)-O-R*; -CN; -NC; -(C=O)-R*; -CHO; $-CO_2H$; $-CO_2R^*$; -(C=O)-S-R*; -O-(C=O)-H; -O-(C=O)-R*; -S-(C=O)-R*; $-(C=O)-NH_2$; $-(C=O)-N(R^*)_2$; $-(C=O)-NHNH_2$; $-O-(C=O)-NHNH_2$; $-(C=S)-NH_2$; $-(C=S)-N(R^*)_2$; -N(R*)-CHO; -N(R*)-(C=O)-R*; -SCN; -NCS; -NSO; -SSR*; $-SO_2R^*$; $-SO_2-N(R^*)_2$; -S(=O)-OR*; -S(=O)-R*; $-Si(R^*)_3$; $-CF_3$; $-O-CF_3$ và hỗn hợp của chúng;

R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon mạch thẳng, phân nhánh hoặc vòng béo, hoặc -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

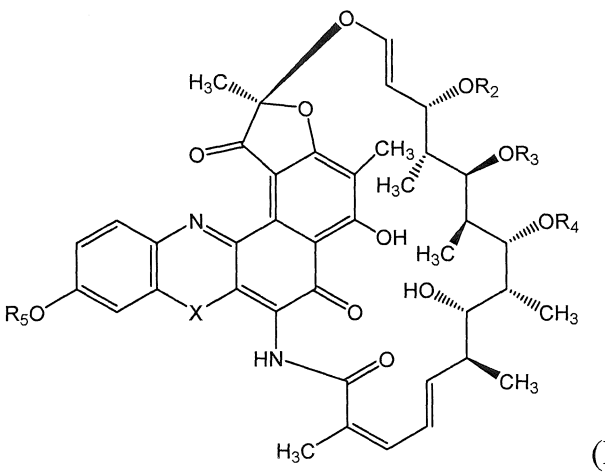
R_a mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro, -F; -Cl; -Br; -I; -OH; OR*; $-NH_2$; -NHR*; $-N(R^*)_2$; $-N(R^*)_3^+$; -(C=O)-R*; -CHO; $-CO_2H$; $-CO_2R^*$ và C_1-C_{20} hydrocacbon béo, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và trong đó R_a và R_b tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế trong số -F; -Cl; -Br; -I; -OH; -OR*;

R* mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro; C_1-C_{20} hydrocacbon béo; C_5-C_{20} hydrocacbon thơm; C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại; aryl C_6-C_{20} hydrocacbon; heteroaryl C_1-C_{20} hydrocacbon, và hỗn hợp của chúng, mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và hỗn hợp của chúng,

trong đó nhóm R_1 được liên kết với tác nhân liên kết.

Cần hiểu rằng nhóm R_1 là liên kết (tức là, R_1 không có mặt), hoặc nhóm hóa trị hai, tức là a.

Theo một khía cạnh khác, tải lượng PA là chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (XXI):

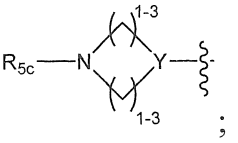
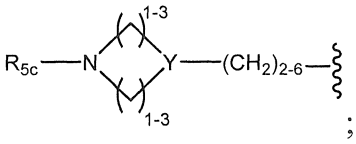


(XXI)

trong đó:

X được chọn từ -O-, -S-, và -NR*-;

R_5 được chọn từ liên kết; C_1-C_{20} hydrocacbon béo mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên

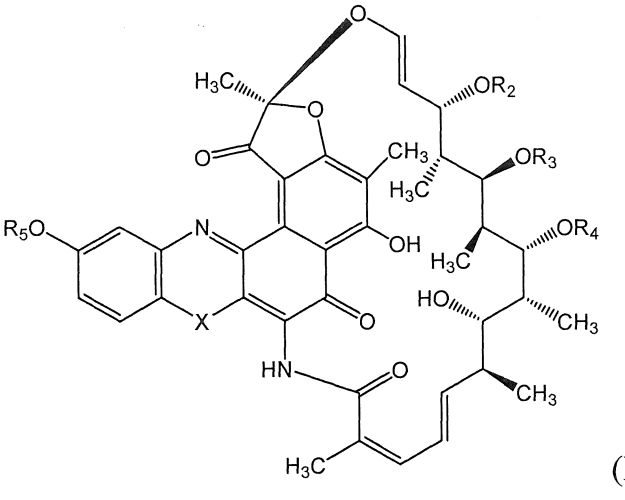
tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;  ; hoặc  ; trong đó Y là C hoặc N;

R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon mạch thẳng, phân nhánh hoặc vòng béo, hoặc -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S, và

R_{5c} là liên kết hoặc C_1-C_8 hydrocacbon béo;

trong đó nhóm R_5 được liên kết với tác nhân liên kết.

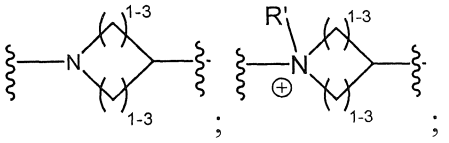
Theo một khía cạnh khác, tải lượng PA là chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (XXI'):

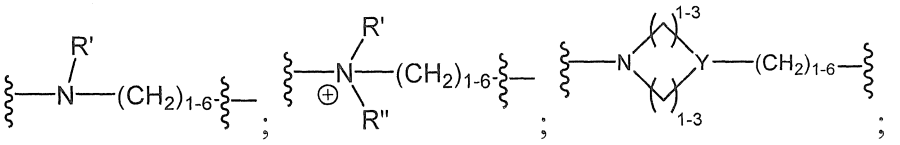


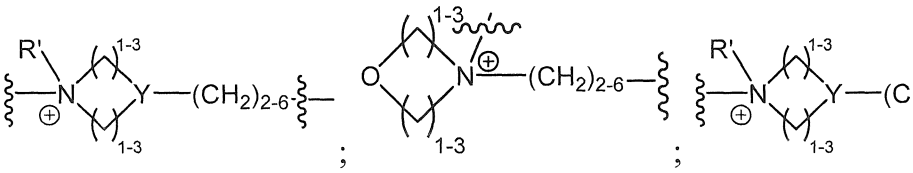
(XXI')

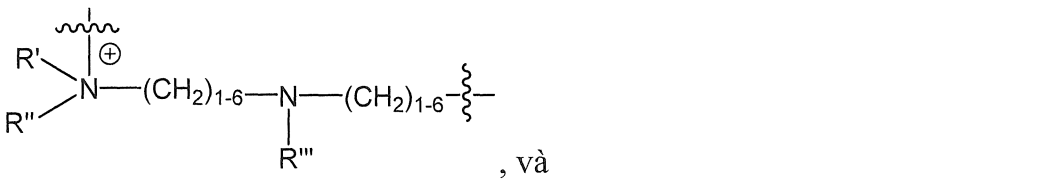
trong đó:

X được chọn từ -O-, -S-, và -NR*-;

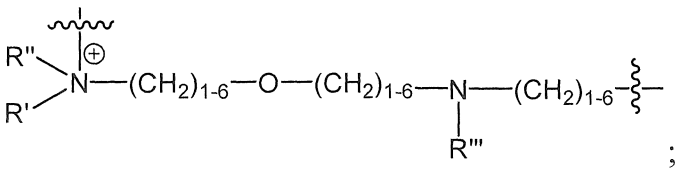
R_5 được chọn từ liên kết; C_1-C_{20} hydrocacbon béo mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S; từ  ;


;


;


;

, và


; trong đó Y là C hoặc N;

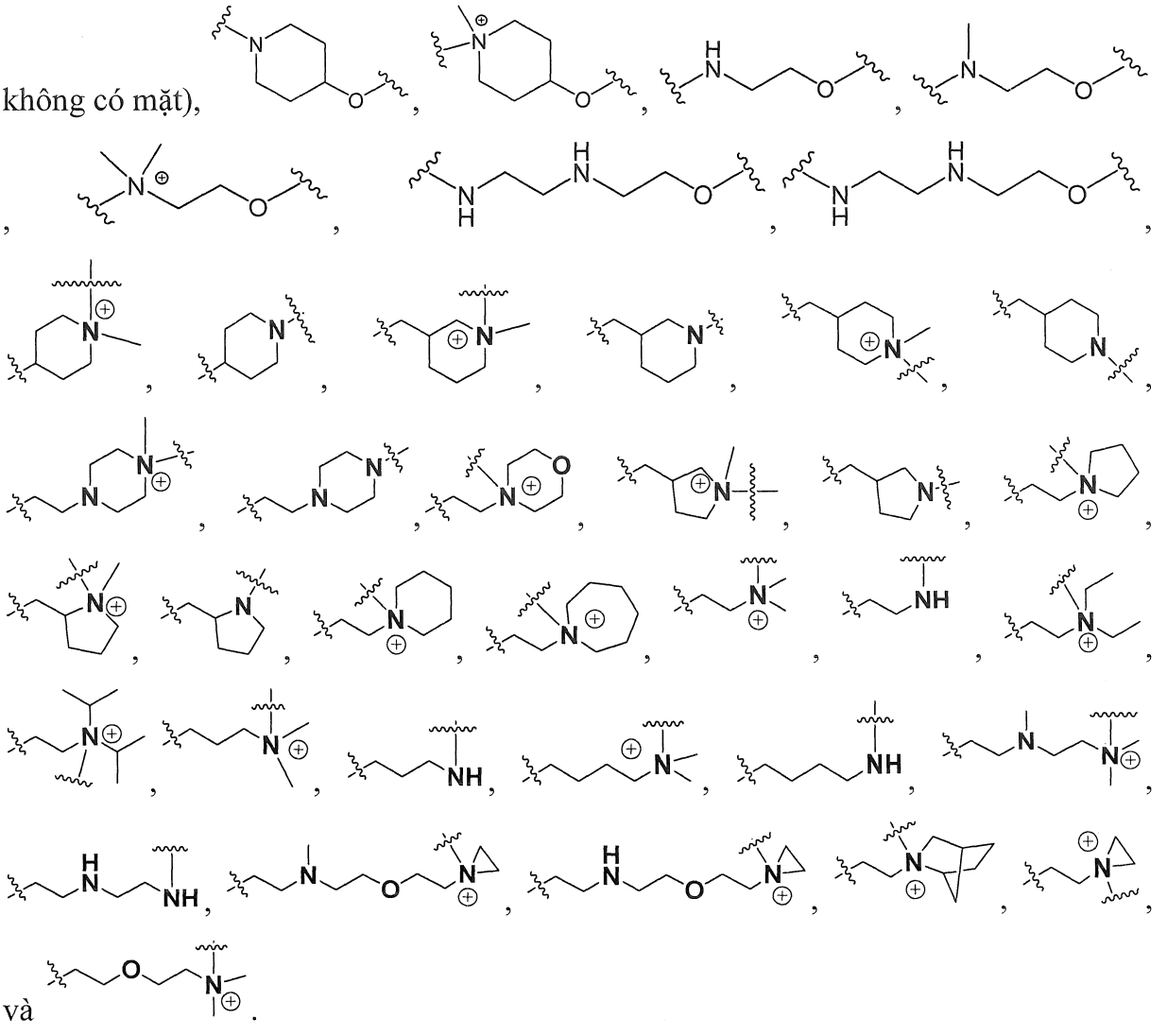
R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon mạch thẳng, phân nhánh hoặc vòng béo, hoặc -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S,

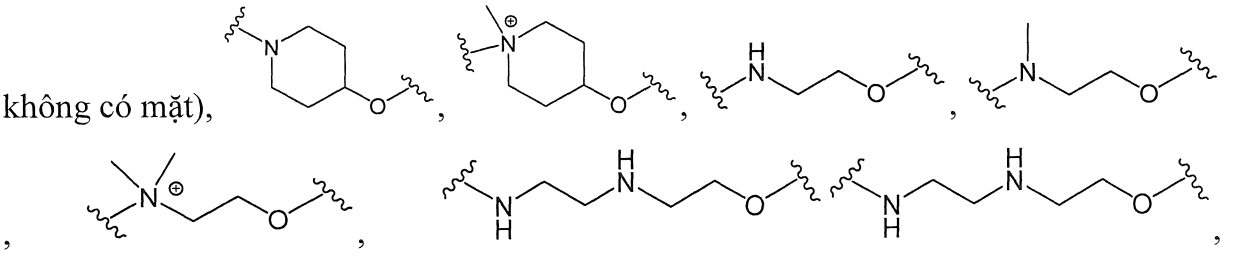
trong đó nhóm R_5 được liên kết với tác nhân liên kết.

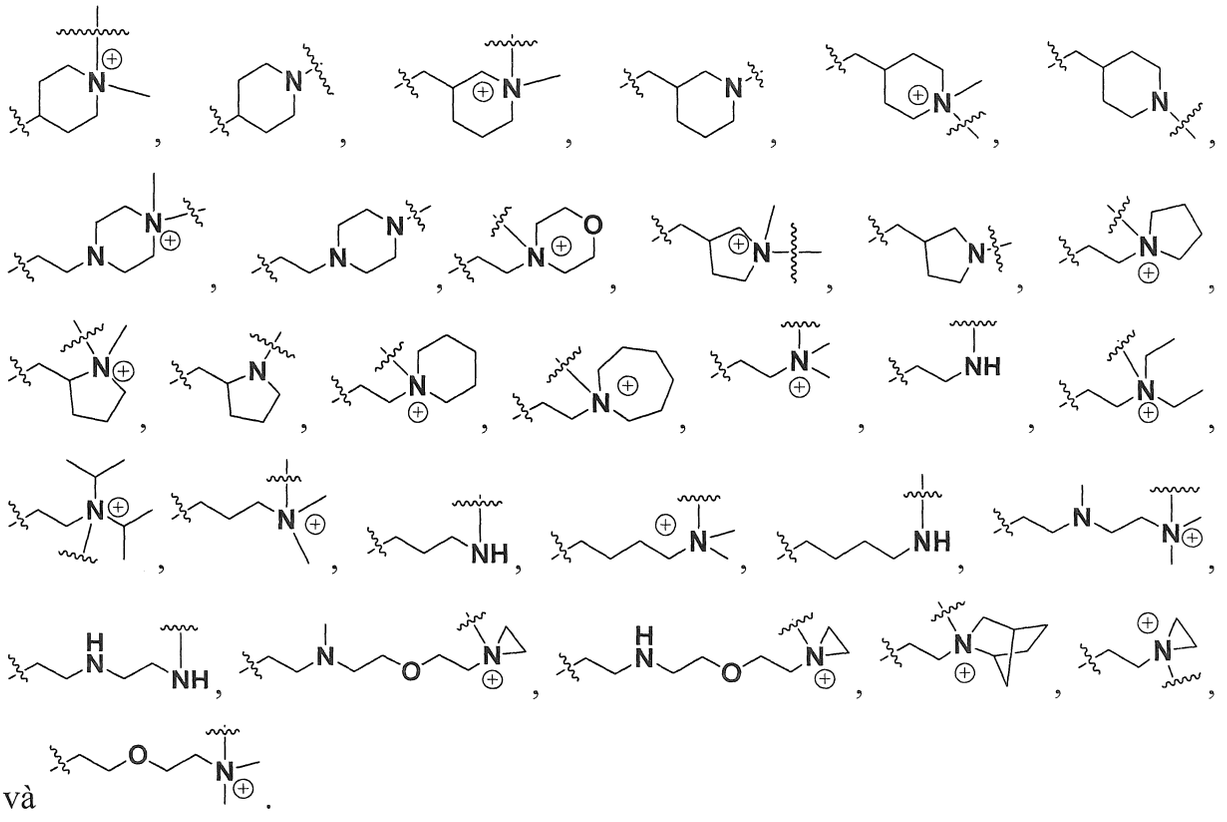
Cần hiểu rằng nhóm R_5 là liên kết (tức là, R_5 không có mặt), hoặc nhóm hóa trị hai, tức là R_5 có khả năng liên kết với -O- của rifamyxin cũng như với tác nhân liên kết.

Theo một số hoặc bất kỳ phương án nào trong số các phương án về các công thức (A), (B), (I) đến (XVI) và (I') đến (XVI'), R_a là hydro và/hoặc R_b là hydro. Theo một số hoặc bất kỳ phương án nào trong số các phương án về các công thức (A), (I) đến (XVI), và (I') đến (XVI') R_a là -OH. Theo một số hoặc bất kỳ phương án nào trong số các phương án về các công thức (A), (I) đến (XVI) và (I') đến (XVI'), R_2 là metyl, etyl, propyl hoặc isopropyl. Theo một phương án, R_2 là metyl. Theo một số hoặc bất kỳ phương án nào trong số các phương án của các công thức (A), (I) đến (XVI) và (I') đến (XVI'), R_3 là CH_3-(C=O)- (nhóm axetyl), CH_3CH_2-(C=O)- $CH_3CH_2CH_2$-(C=O)-, hoặc $(CH_3)_2CH$-(C=O)-. Theo một phương án, R_3 là axetyl. Theo một số hoặc bất kỳ phương

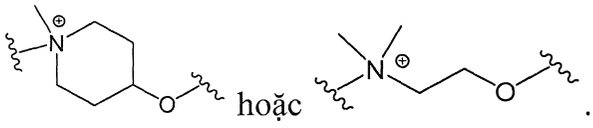
án nào trong số các phương án về các công thức (A), (I) đến (XVI) và (I') đến (XVI'), R_4 là hydro.

Theo một số phương án có công thức (XX) hoặc (XX'), $-OR_1$ là –O– (tức là, R_1 không có mặt), 

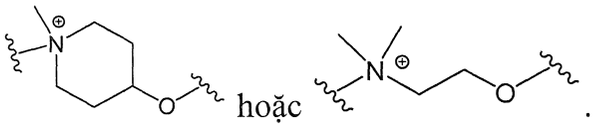
Theo một số phương án có công thức (XXI) hoặc (XXI'), $-OR_5$ là –O– (tức là, R_5 không có mặt), 



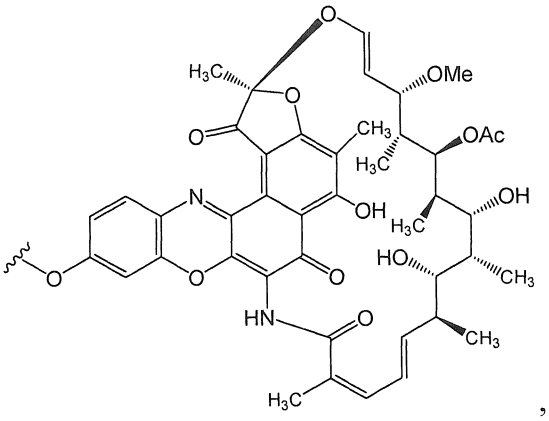
Theo một số hoặc bất kỳ phương nào của công thức (XX), X là -O-, và -OR_1 chứa amin bậc ba. Theo một số phương án trong số các phương án này, -OR_1 là

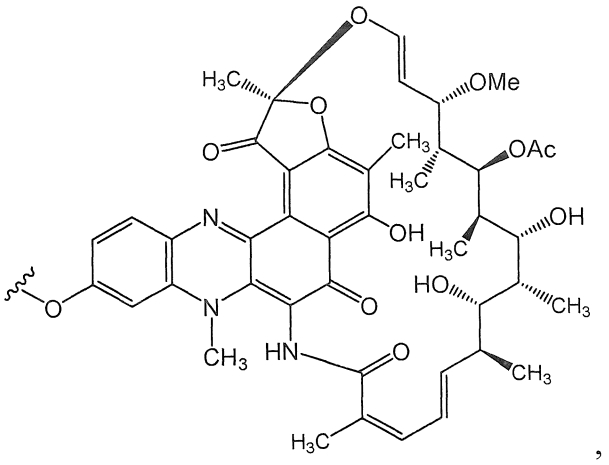


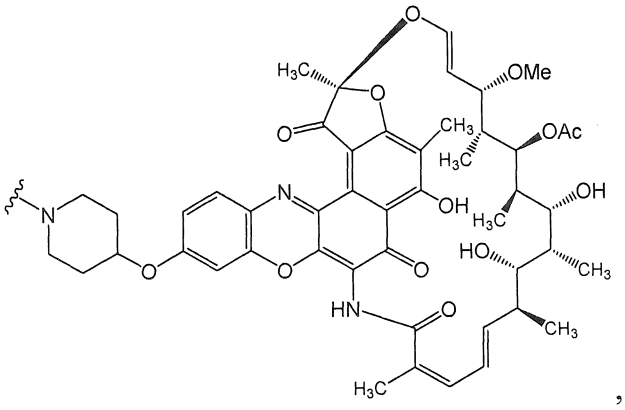
Theo một số hoặc bất kỳ phương nào của công thức (XXI) hoặc (XXI'), X là O, và -OR_5 chứa amin bậc ba. Theo một số phương án trong số các phương án này, -OR_5 là

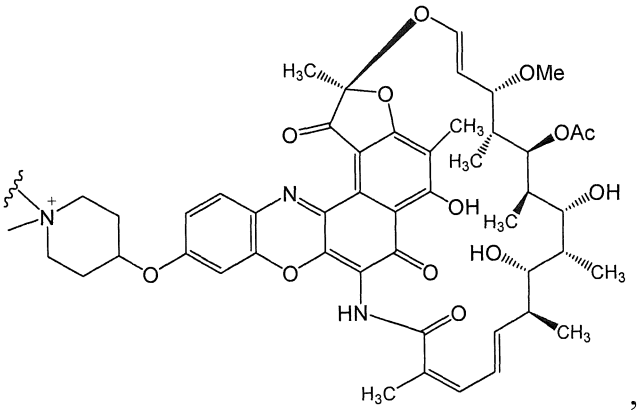


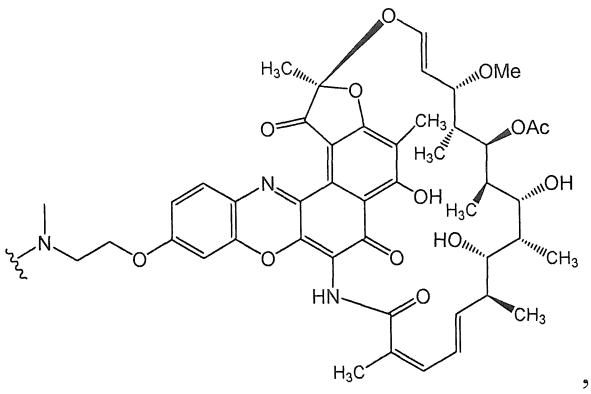
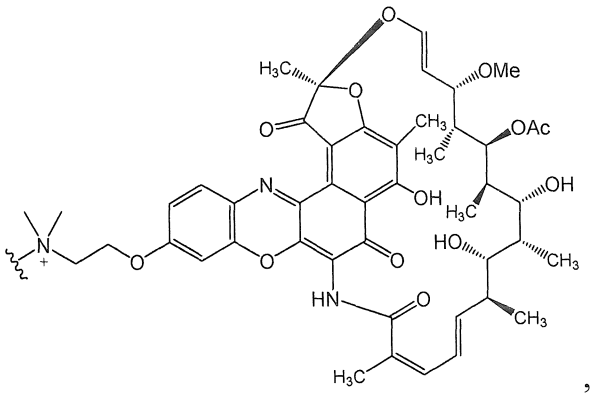
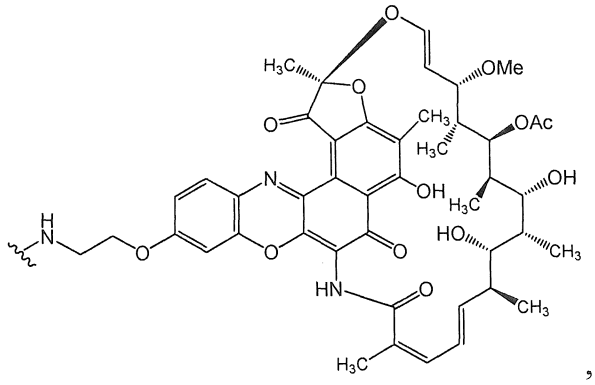
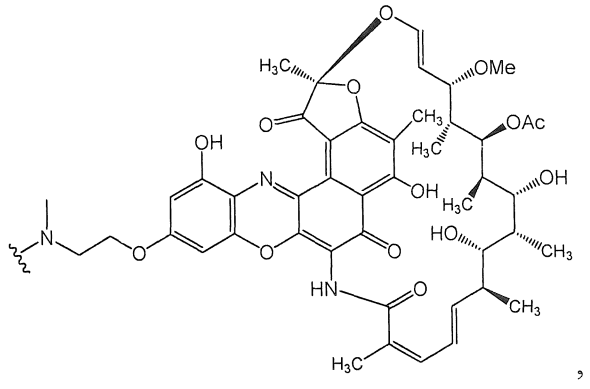
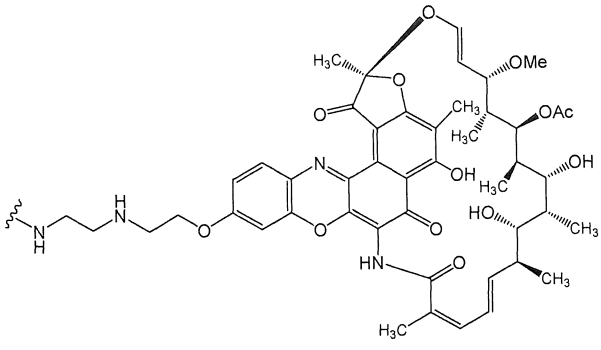
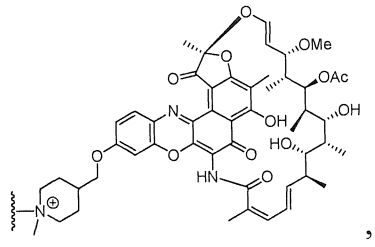
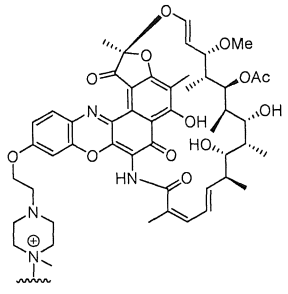
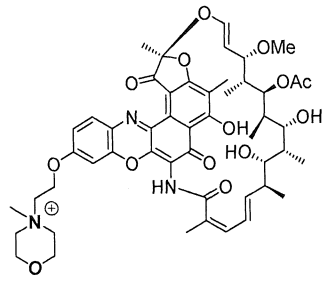
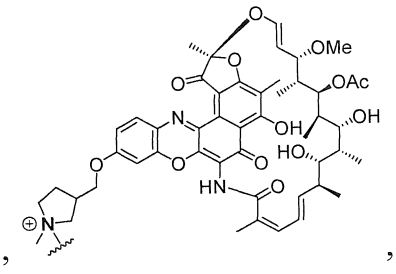
Theo một số phương án, hợp chất có công thức (XX),(XXI), (XX') hoặc (XXI') được chọn từ nhóm bao gồm:

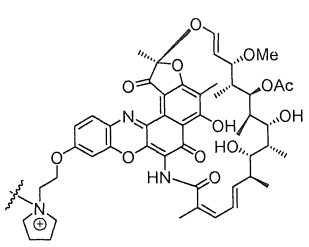
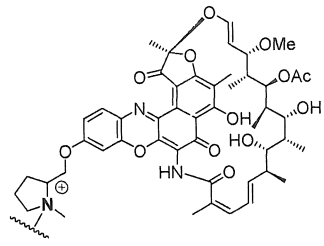
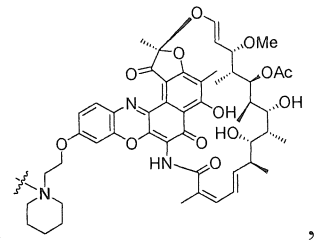
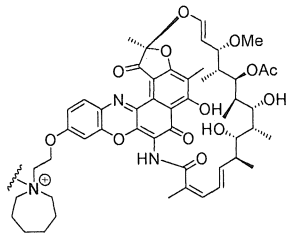
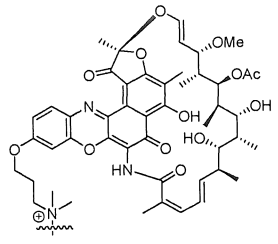
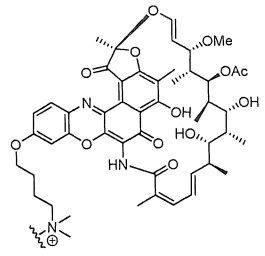
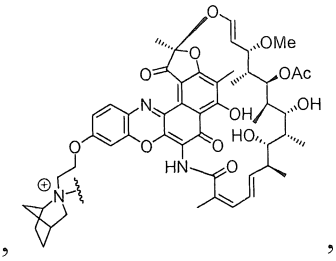
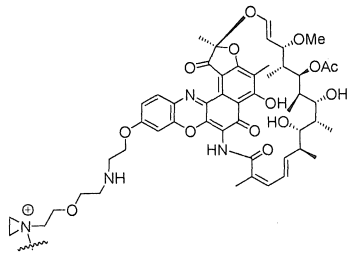
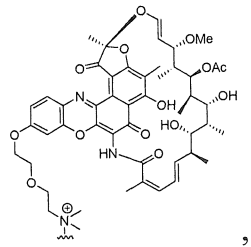
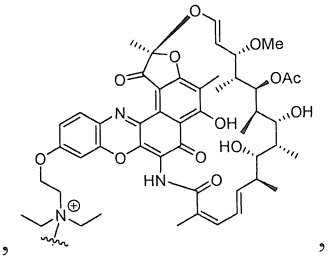
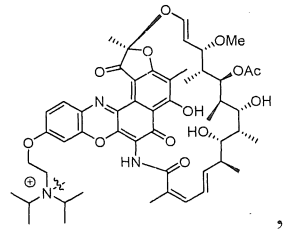
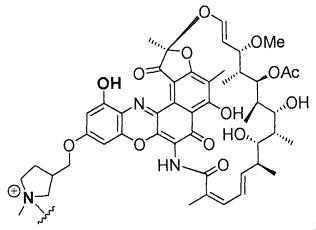
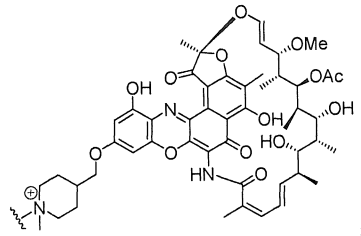
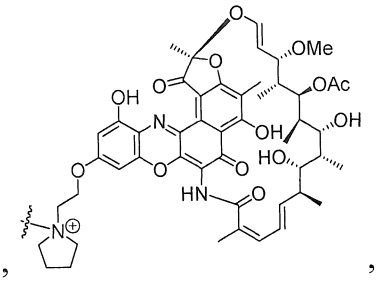
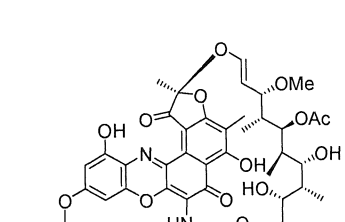
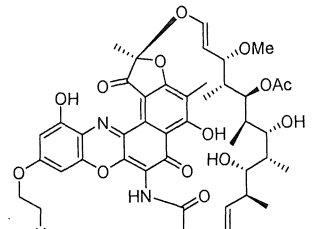
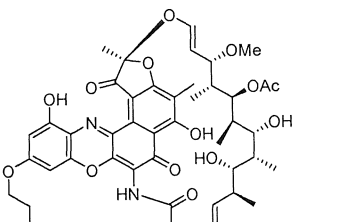
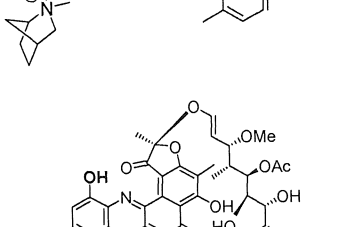
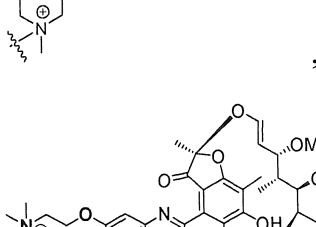
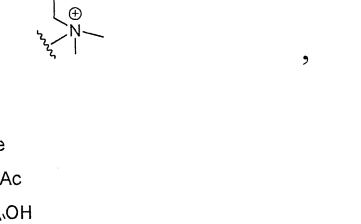
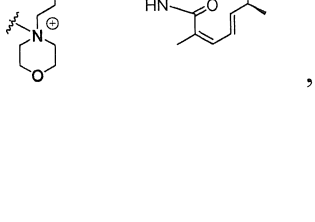
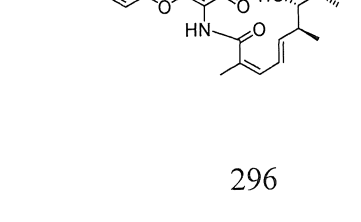

,


,


,

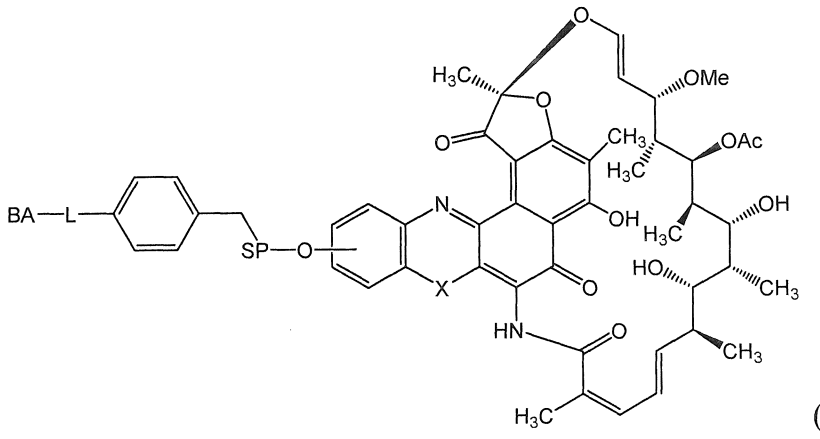

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


, và .

trong đó là liên kết với tác nhân liên kết.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến thể liên hợp kháng thể-thuốc có cấu trúc có công thức (XXII):

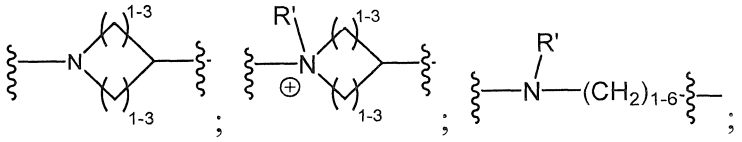


(XXII)

trong đó:

BA là kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó;

L là tác nhân liên kết;

SP là nhóm đệm được chọn từ  ; trong đó Y là C hoặc N; trong đó ký hiệu dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R"' được chọn từ hydro, C_1-C_6

hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ Florenylmetyloxycacbonyl (FMOC) và *tert*-Butyloxycacbonyl (BOC), hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc một vòng béo, hai vòng béo, hoặc nhiều vòng béo;

R' và R'' mỗi khi có mặt độc lập được chọn từ hydro và C_{1-6} alkyl, và

X được chọn từ -O-, -S-, và -NR*.

Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn kết MSR1. Theo một phương án, kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 9; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 9.

Theo một phương án, kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 4, 36, 52, 92, và 284;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 6, 38, 54, 94, và 286;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 8, 40, 56, 96, và 288;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 12, 44, 60, 100, và 292;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 14, 46, 62, 102, và 294; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 16, 48, 64, 104, và 296.

Theo một phương án, kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 52;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 54;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 56;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 64.

Theo một phương án, kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến N297Q.

Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn kết WTAα. Theo một phương án, kháng thể kháng WTAα, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2A; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2A.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTAα, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 470, 476, 482, và 488;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 471, 477, 483, và 489;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 472, 478, 484, và 490;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 467, 473, 479, và 485;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 468, 474, 480, và 486; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 469, 475, 481, và 487.

Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn kết WTAβ. Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2B; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2B.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 502, 508, 514, 520, 526, 532, 538, 544, 550, 556, 562, 568, và 574;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 503, 509, 515, 521, 527, 533, 539, 545, 551, 557, 563, 569, và 575;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 504, 510, 516, 522, 528, 534, 540, 546, 552, 558, 564, 570, 576, và 584;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 499, 505, 511, 517, 523, 529, 535, 541, 547, 553, 559, 565, và 571;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 500, 506, 512, 518, 524, 530, 536, 542, 548, 554, 560, 566, và 572; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 501, 507, 513, 519, 525, 531, 537, 543, 549, 555, 561, 567, và 573.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến V205C.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên

của nó, có nguồn gốc từ kháng thể 4497 được mô tả trong Công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 20140356375 (mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ). Theo một phương án, kháng thể kháng WTA có nguồn gốc từ kháng thể 4497 và còn chứa đột biến V205C trong chuỗi nhẹ.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 nêu trong các SEQ ID NO: 568-569-570-565-566-567.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nặng (HCDR1, HCDR2, và HCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) nêu trong SEQ ID NO: 586; và ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nhẹ (LCDR1, LCDR2, và LCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) nêu trong SEQ ID NO: 585.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin HCVR nêu trong các SEQ ID NO: 586, và trình tự axit amin LCVR nêu trong SEQ ID NO: 585.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA chứa trình tự axit amin của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 602 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 587 hoặc SEQ ID NO: 589. Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa đột biến V205C trong chuỗi nhẹ.

Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn kết Protein A. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 3A; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 3A.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng

nguyên của nó, có thể bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 632, 652, và 672;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 634, 654, và 674;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 636, 656, và 676;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 640, 660, và 680;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 642 và 662; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 644, 664, và 683.

Theo một số phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến H435R và đột biến Y436F (đánh số theo EU) trong Fc chuỗi nặng.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nặng (HCDR1, HCDR2, và HCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) nêu trong SEQ ID NO: 630; và ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nhẹ (LCDR1, LCDR2, và LCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) nêu trong SEQ ID NO: 638. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 632-634-636-640-642-644.

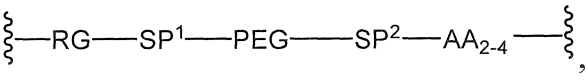
Theo một phương án, kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin HCVR nêu trong các SEQ ID NO: 630; và trình

tự axit amin LCVR nêu trong SEQ ID NO: 638.

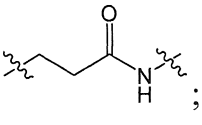
Theo một phương án, kháng thể kháng protein A chứa trình tự axit amin của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 666 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 668. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, còn chứa đột biến H435R và đột biến Y436F (đánh số theo EU) trong Fc chuỗi nặng. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A còn chứa đột biến C103S trong chuỗi nhẹ. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất theo sáng chế ở vị trí chuỗi nhẹ 103.

Theo nhiều phương án khác nhau, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến C103S trong chuỗi nhẹ.

Theo nhiều phương án khác nhau, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất theo sáng chế ở vị trí 103 của chuỗi nhẹ.

Theo một phương án, L là tác nhân liên kết có công thức  , trong đó:

RG được chọn từ maleimit, N-hydroxysucxinimit, hoặc sucxinimit;

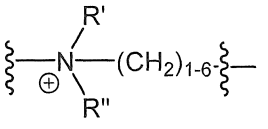
SP^1 và SP^2 độc lập không có mặt hoặc nhóm đệm được chọn từ nhóm bao gồm  ; C_{1-6} alkyl, -NH-, -C(O)-, $-CH_2-CH_2-C(O)-NH-$, $-(CH)_u-C(O)-NH-$, $(-CH_2-CH_2-O)_e$, $-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$, $-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$, $-C(O)-NH-(CH_2)_v-$, và hỗn hợp của chúng, trong đó chỉ số dưới e là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 4, chỉ số dưới u là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8, và chỉ số dưới v là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8;

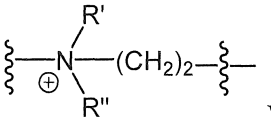
AA_{2-4} là đơn vị peptit chứa từ 2 đến 4 axit amin, và

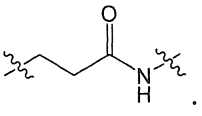
PEG là chuỗi polyetylen glycol chứa từ 1 đến 30 gốc polyetylen glycol.

Theo một phương án, AA_{2-4} là dipeptit được chọn từ valin-xitrulin; xitrulin-valin; valin-alanin; alanin-valin; valin-glyxin, hoặc glyxin-valin.

Theo một phương án, AA_{2-4} là valin-xitrulin.

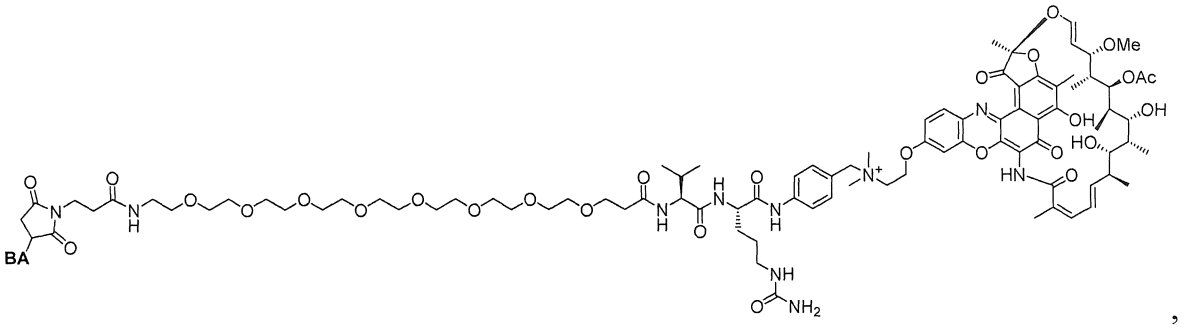
Theo một phương án, SP là  và mỗi trong số R' và R" là C_{1-6} alkyl.

Theo một phương án, SP là  và mỗi trong số R' và R" là metyl.

Theo một phương án, mỗi trong số SP^1 và SP^2 là  .

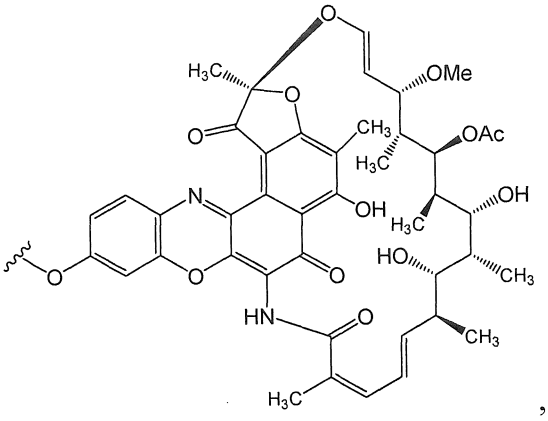
Theo một phương án, PEG chứa 8 đơn vị polyetylen glycol.

Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc có cấu trúc:

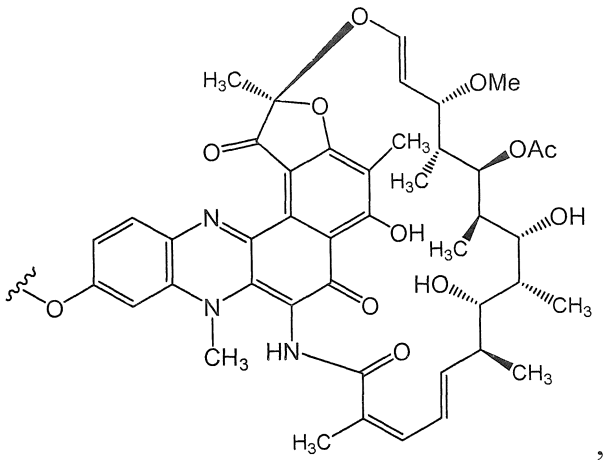


trong đó BA là kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

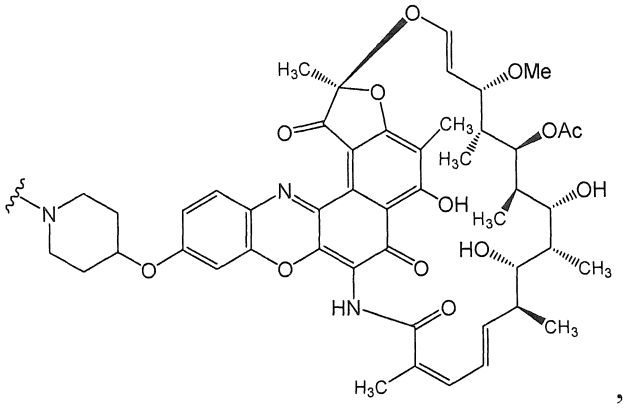
Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến kháng thể được phân lập hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, trong đó kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó được liên hợp, trực tiếp hoặc thông qua tác nhân liên kết hoặc tác nhân liên kết-tác nhân đệm, với tải lượng có cấu trúc được chọn từ nhóm bao gồm:



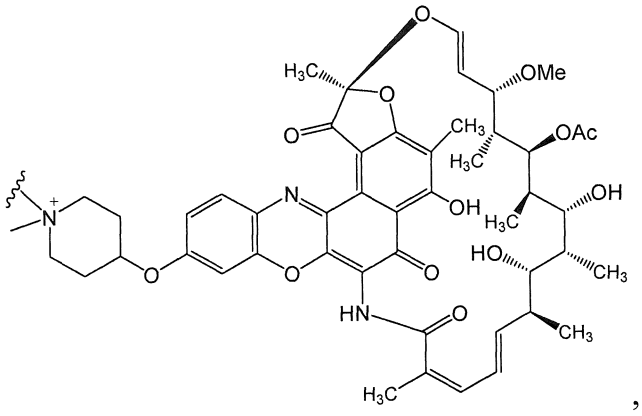
,



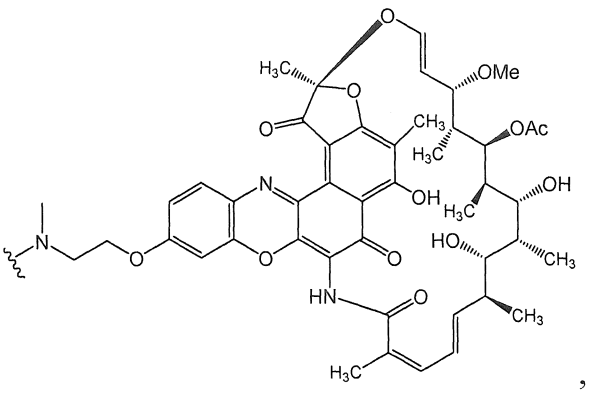
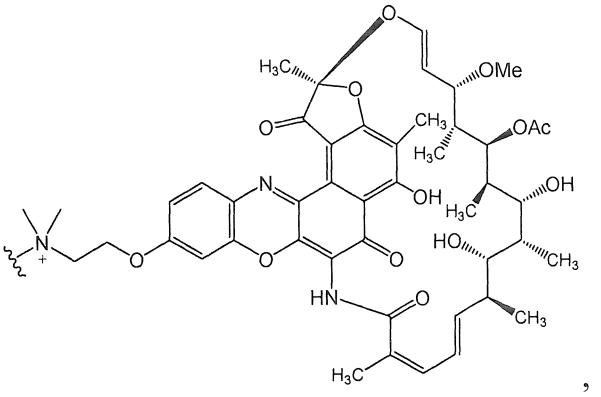
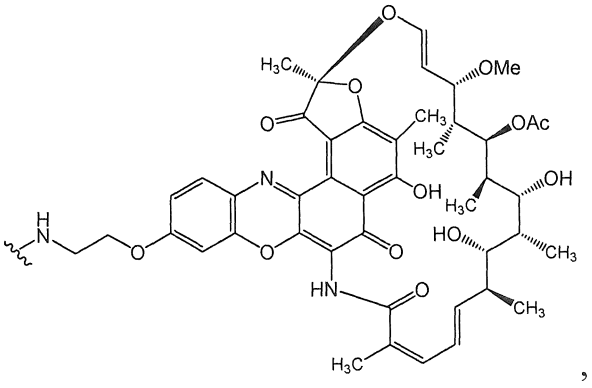
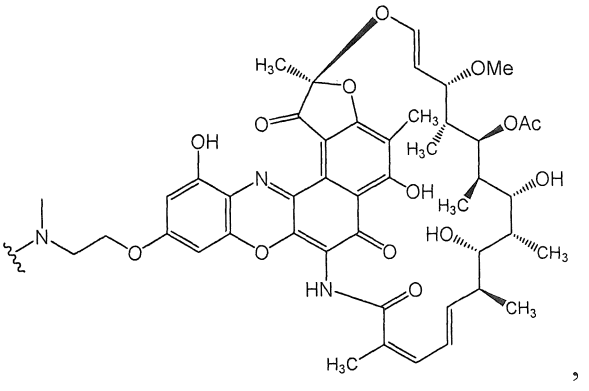
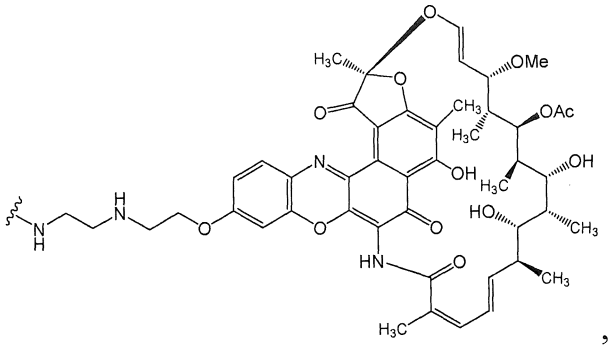
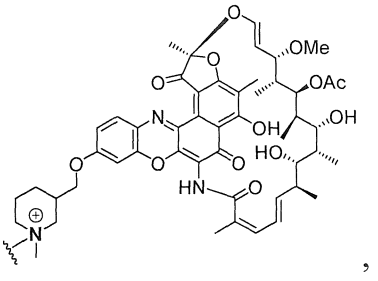
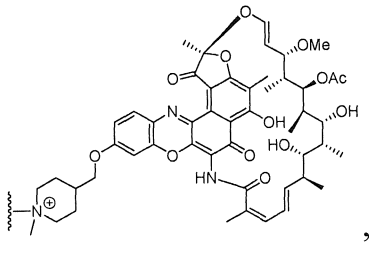
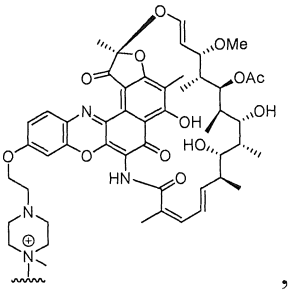
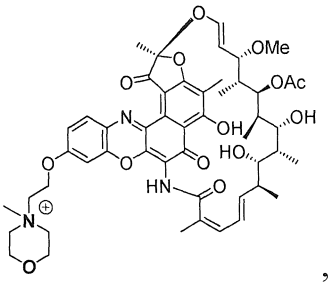
,

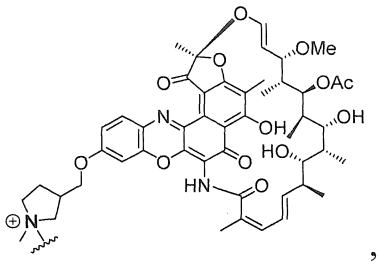
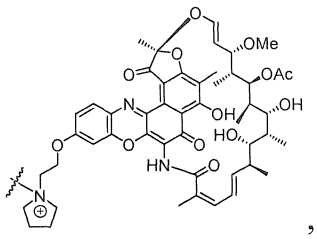
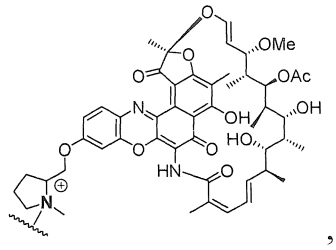
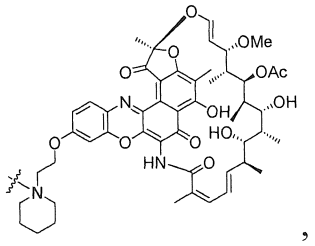
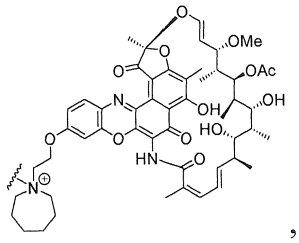
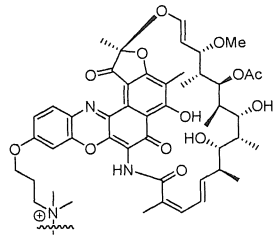
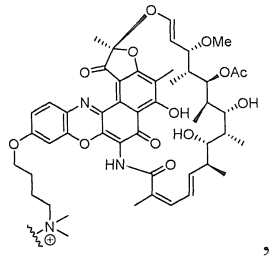
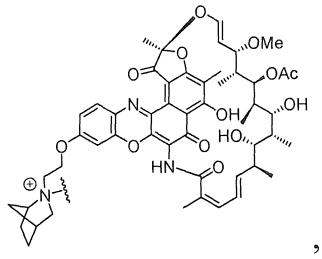
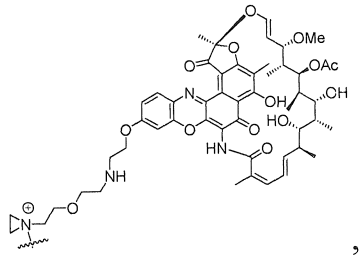
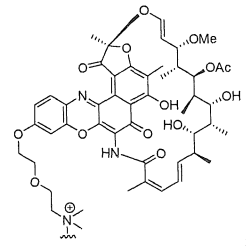
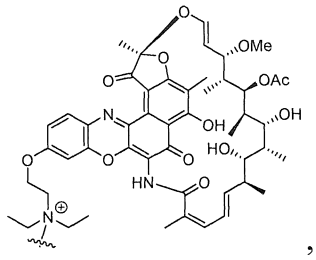
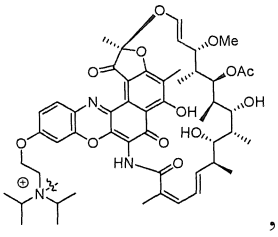
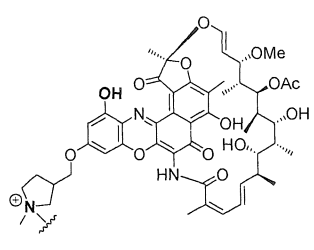
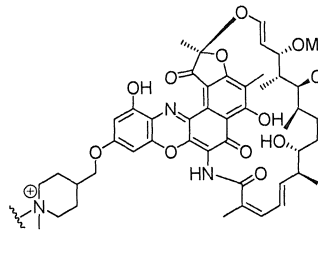


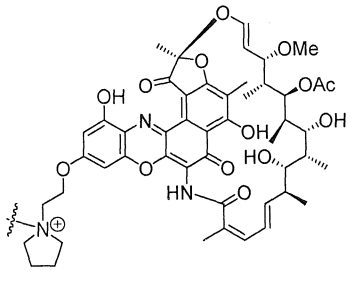
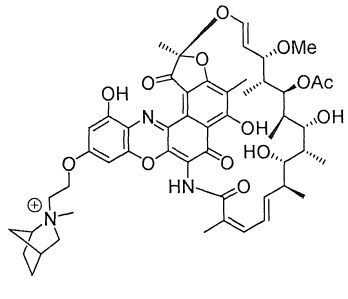
,

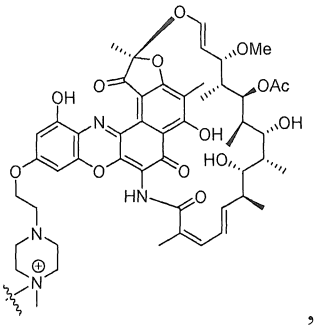
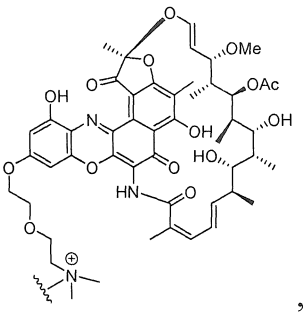
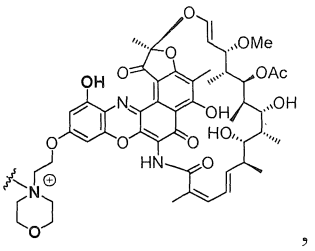
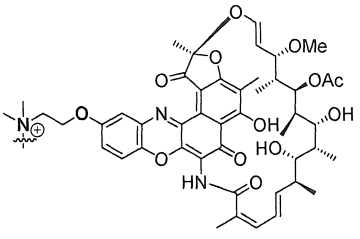
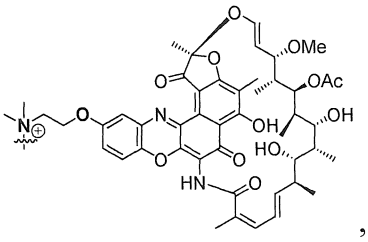
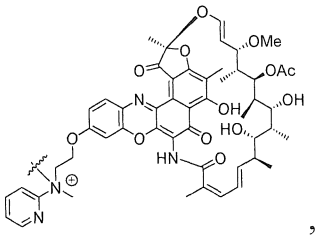
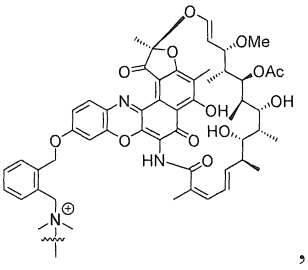
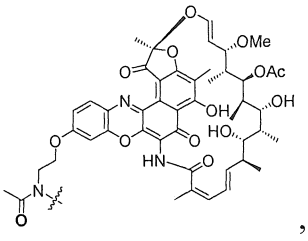
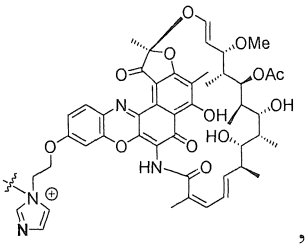
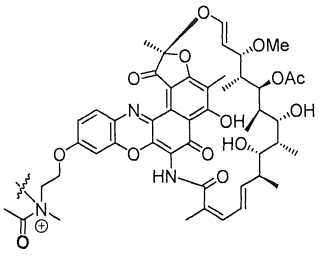
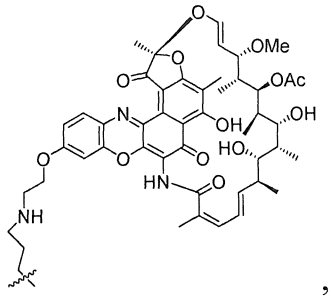
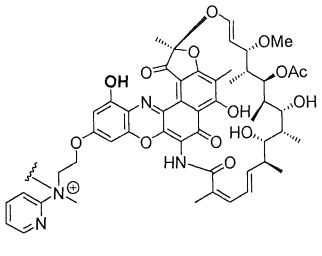
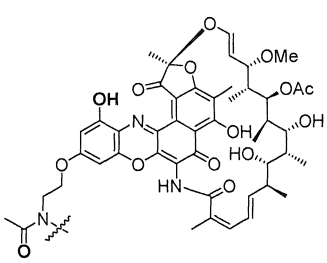
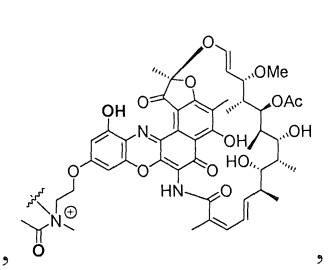
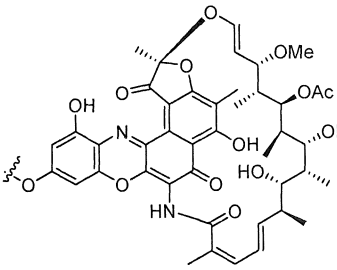


,


,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

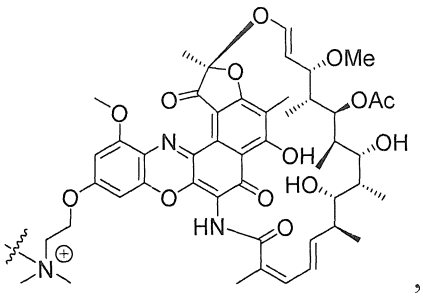
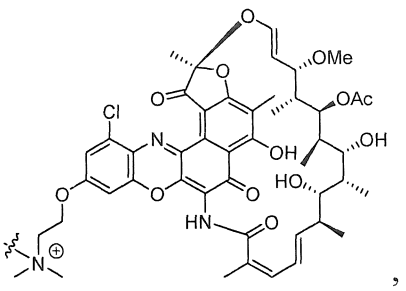
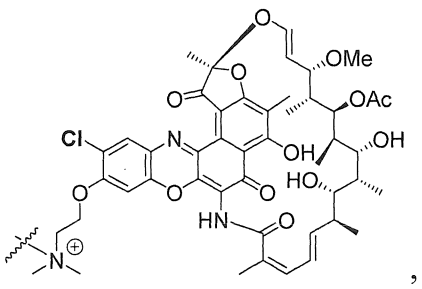
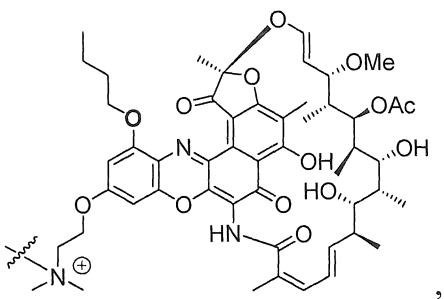
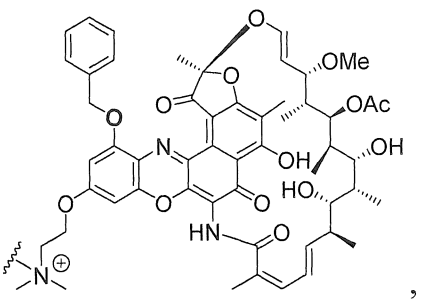
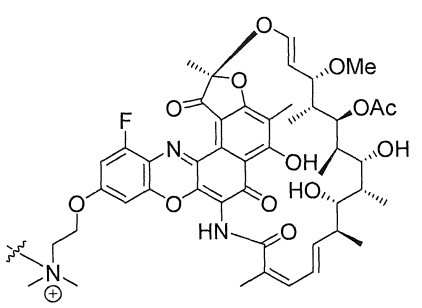
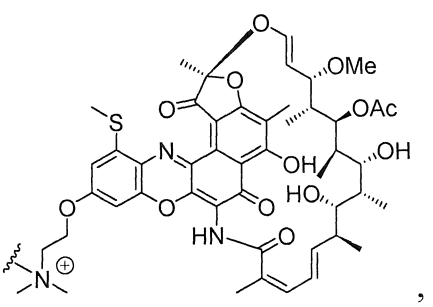
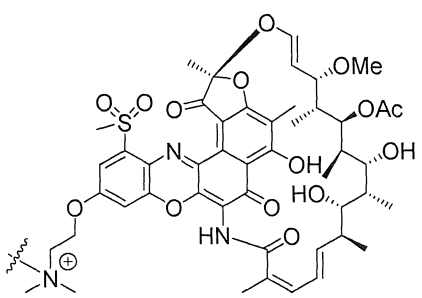
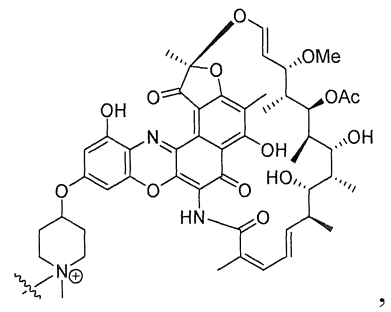
,

,

,

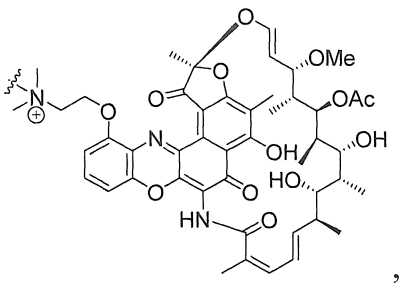
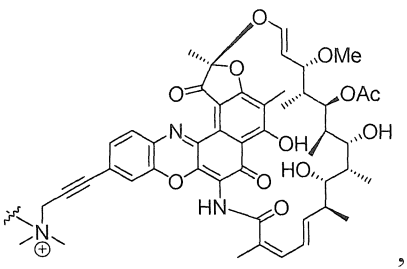
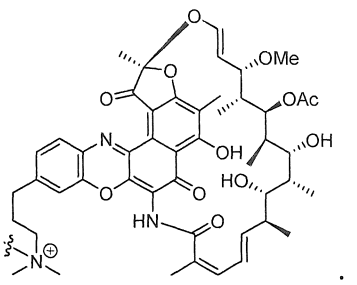

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

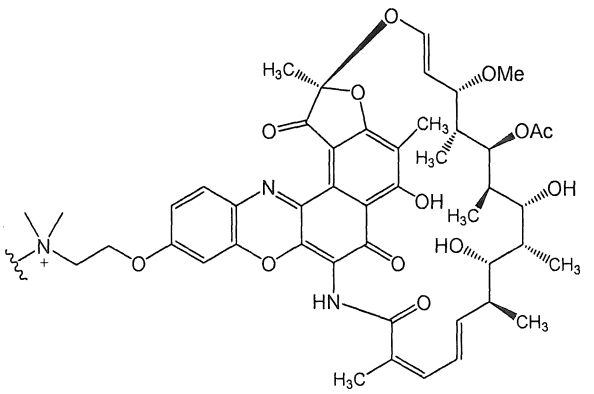
,

,

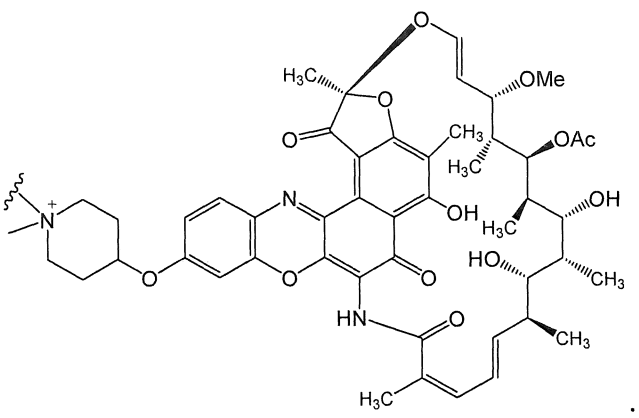

,

,

,

,

,

,

,

,

,

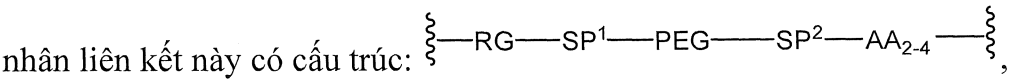

,

, và

.

Theo một phương án, tải lượng có cấu trúc được chọn từ:

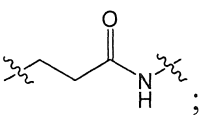


và


.

Theo một phương án, tải lượng được liên hợp thông qua tác nhân liên kết, tác nhân liên kết này có cấu trúc:  , trong đó:

RG được chọn từ maleimit, N-hydroxysucxinimit, hoặc sucxinimit;

SP^1 và SP^2 độc lập không có mặt hoặc nhóm đệm được chọn từ nhóm bao gồm  ; C_{1-6} alkyl, -NH-, -C(O)-, $-CH_2-CH_2-C(O)-NH-$, $-(CH)_u-C(O)-NH-$, (-

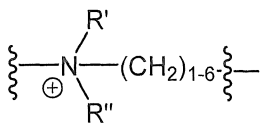
CH_2-CH_2-O)$_e$, -NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)$_e$-C(O)-, -C(O)-(CH_2)$_u$-C(O)-, -C(O)-NH-(CH_2)$_v$-, và hỗn hợp của chúng, trong đó chỉ số dưới e là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 4, chỉ số dưới u là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8, và chỉ số dưới v là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8;

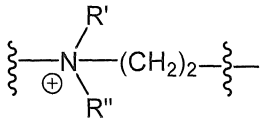
AA_{2-4} là đơn vị peptit chứa từ 2 đến 4 axit amin, và

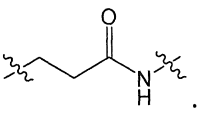
PEG là chuỗi polyetylen glycol chứa từ 1 đến 30 gốc polyetylen glycol.

Theo một phương án, AA_{2-4} là dipeptit được chọn từ valin-xitrulin; xitrulin-valin; valin-alanin; alanin-valin; valin-glyxin, hoặc glyxin-valin.

Theo một phương án, AA_{2-4} là valin-xitrulin.

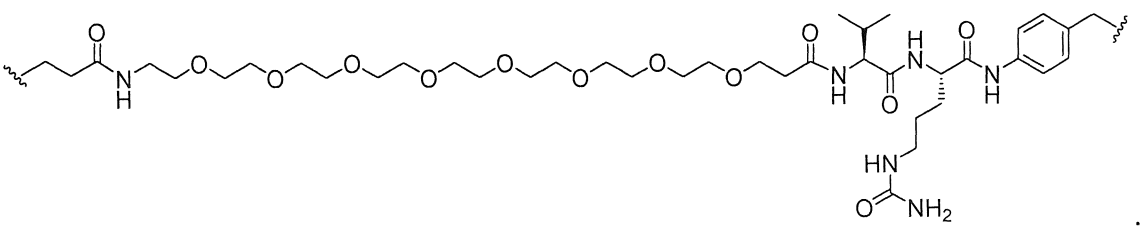
Theo một phương án, SP là  và mỗi trong số R' và R" là C_{1-6} alkyl.

Theo một phương án, SP là  và mỗi trong số R' và R" là metyl.

Theo một phương án, mỗi trong số SP^1 và SP^2 là  .

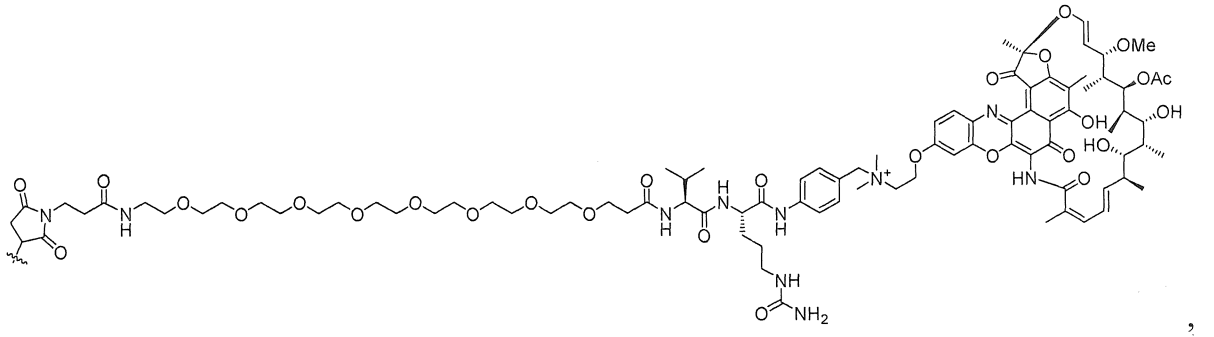
Theo một phương án, PEG chứa 8 đơn vị polyetylen glycol.

Theo một phương án, tải lượng được liên hợp thông qua tác nhân liên kết có cấu trúc:



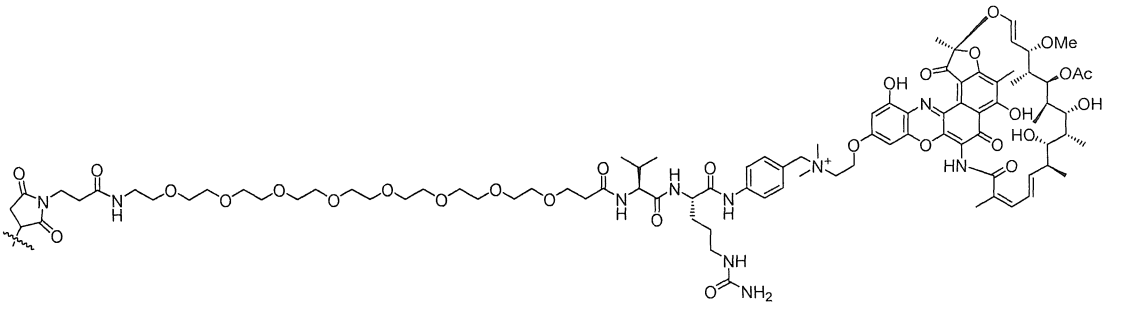
Theo một phương án, tải lượng được liên hợp thông qua tác nhân liên kết, tác

nhân liên kết-tải lượng có cấu trúc:



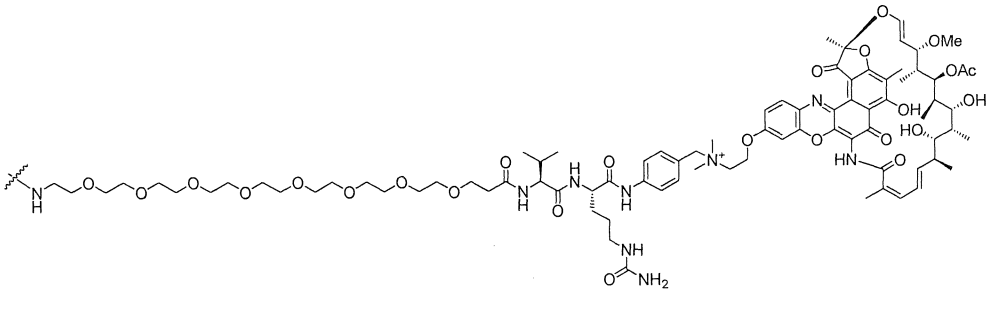
trong đó là liên kết với kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

Theo một phương án, tải lượng được liên hợp thông qua tác nhân liên kết, tác nhân liên kết-tải lượng có cấu trúc:



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

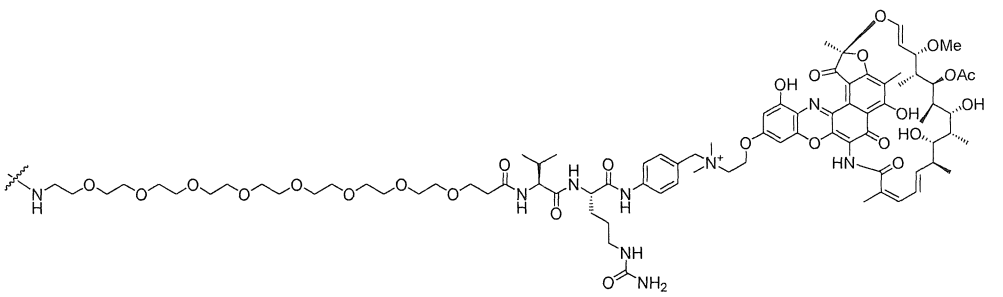
Theo một phương án, tải lượng được liên hợp thông qua tác nhân liên kết, tác nhân liên kết-tải lượng có cấu trúc:



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

Theo một phương án, tải lượng được liên hợp thông qua tác nhân liên kết, tác

nhân liên kết-tải lượng có cấu trúc:



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

Theo một phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn kết thụ thể scavenger 1 của đại thực bào (MSR1) bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 9; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 9.

Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn kết MSR1. Theo một phương án, kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 9; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 9.

Theo một phương án, kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 4, 36, 52, 92, và 284;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 6, 38, 54, 94, và 286;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 8, 40, 56, 96, và 288;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các

SEQ ID NO: 12, 44, 60, 100, và 292;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 14, 46, 62, 102, và 294; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 16, 48, 64, 104, và 296.

Theo một phương án, kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 52;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 54;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 56;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 60;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 62; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO: 64.

Theo một phương án, kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến N297Q.

Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn kết WTAα. Theo một phương án, kháng thể kháng WTAα, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2A; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2A.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTAα, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 470, 476, 482, và 488;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các

SEQ ID NO: 471, 477, 483, và 489;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 472, 478, 484, và 490;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 467, 473, 479, và 485;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 468, 474, 480, và 486; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 469, 475, 481, và 487.

Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn kết WTAβ. Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2B; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2B.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTAβ, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 502, 508, 514, 520, 526, 532, 538, 544, 550, 556, 562, 568, và 574;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 503, 509, 515, 521, 527, 533, 539, 545, 551, 557, 563, 569, và 575;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 504, 510, 516, 522, 528, 534, 540, 546, 552, 558, 564, 570, 576, và 584;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 499, 505, 511, 517, 523, 529, 535, 541, 547, 553, 559, 565, và 571;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các

SEQ ID NO: 500, 506, 512, 518, 524, 530, 536, 542, 548, 554, 560, 566, và 572; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 501, 507, 513, 519, 525, 531, 537, 543, 549, 555, 561, 567, và 573.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến V205C.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có nguồn gốc từ kháng thể 4497 được mô tả trong Công bố đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 20140356375 (mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ). Theo một phương án, kháng thể kháng WTA có nguồn gốc từ kháng thể 4497 và còn chứa đột biến V205C trong chuỗi nhẹ.

Theo một phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 nêu trong các SEQ ID NO: 568-569-570-565-566-567.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nặng (HCDR1, HCDR2, và HCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) nêu trong SEQ ID NO: 586; và ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nhẹ (LCDR1, LCDR2, và LCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) nêu trong SEQ ID NO: 585.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin HCVR nêu trong các SEQ ID NO: 586; và trình tự axit amin LCVR nêu trong SEQ ID NO: 585.

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA chứa trình tự axit amin của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 602 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 587 hoặc SEQ ID NO: 589. Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa đột biến V205C trong chuỗi nhẹ.

Theo một số phương án, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn kết Protein A. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm: (a) các vùng quyết định tính bổ thể (CDR) của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 3A; và (b) các CDR của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) chứa trình tự axit amin như nêu trong Bảng 3A.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, có thể bao gồm:

(i) miền HCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 632, 652, và 672;

(ii) miền HCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 634, 654, và 674;

(iii) miền HCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 636, 656, và 676;

(iv) miền LCDR1 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 640, 660, và 680;

(v) miền LCDR2 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 642 và 662; và

(vi) miền LCDR3 chứa trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm các SEQ ID NO: 644, 664, và 683.

Theo một số phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến H435R và đột biến Y436F (đánh số theo EU) trong Fc chuỗi nặng.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nặng (HCDR1, HCDR2, và HCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR)

nêu trong SEQ ID NO: 630; và ba vùng quyết định tính bổ thể của chuỗi nhẹ (LCDR1, LCDR2, và LCDR3) trong trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) nêu trong SEQ ID NO: 638. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó bao gồm bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 632-634-636-640-642-644.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin HCVR nêu trong các SEQ ID NO: 630; và trình tự axit amin LCVR nêu trong SEQ ID NO: 638.

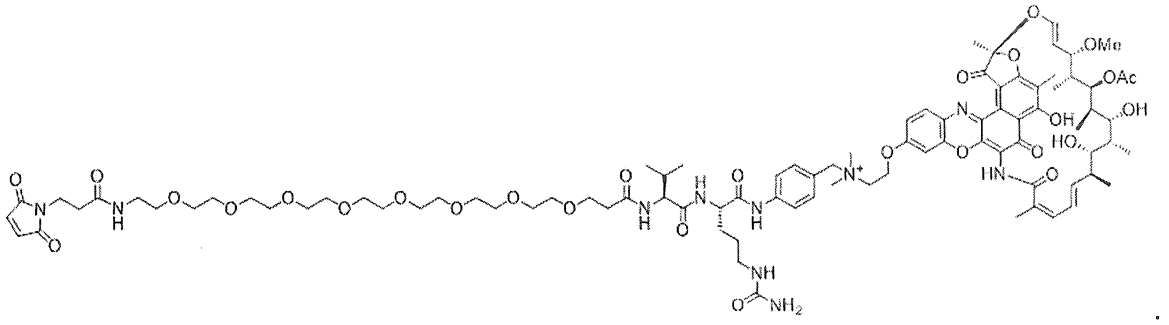
Theo một phương án, kháng thể kháng protein A chứa trình tự axit amin của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 666 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 668. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, còn chứa đột biến H435R và đột biến Y436F (đánh số theo EU) trong Fc chuỗi nặng. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A còn chứa đột biến C103S trong chuỗi nhẹ. Theo một phương án, kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất theo sáng chế ở vị trí chuỗi nhẹ 103.

Theo nhiều phương án khác nhau, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa đột biến C103S trong chuỗi nhẹ.

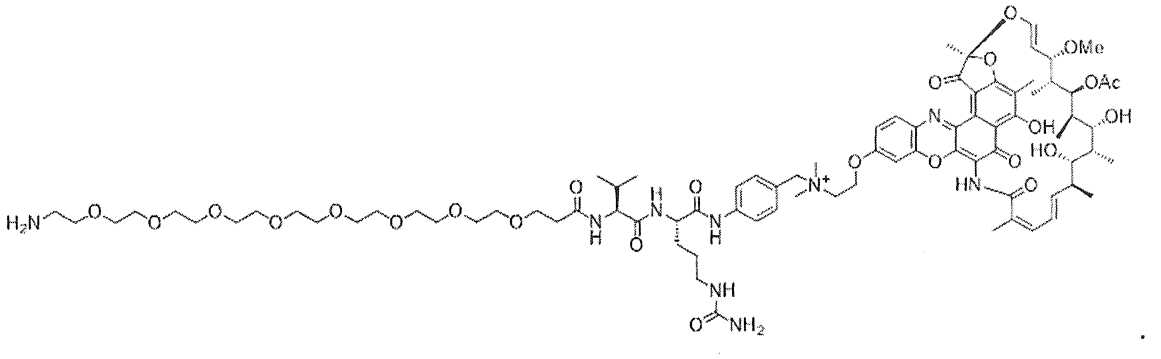
Theo nhiều phương án khác nhau, kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất theo sáng chế ở vị trí 103 của chuỗi nhẹ.

Thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế lấy làm ví dụ

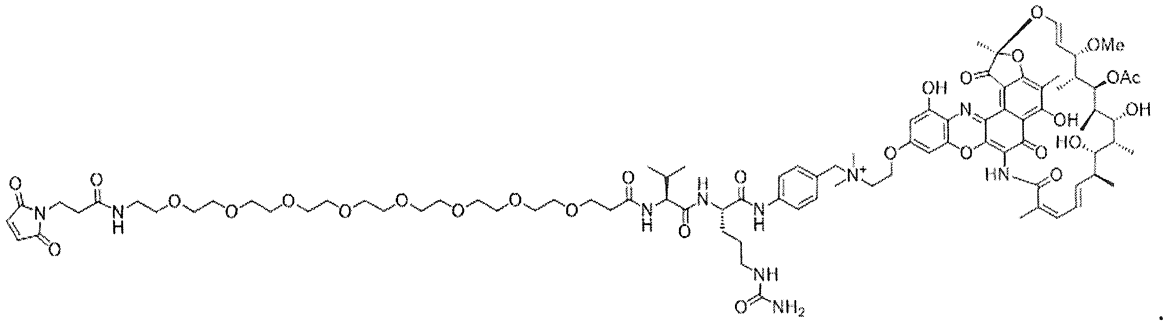
Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 52-54-56-60-62-64, và đột biến N297Q, kháng thể kháng MSR1 nêu trên, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất có cấu trúc:



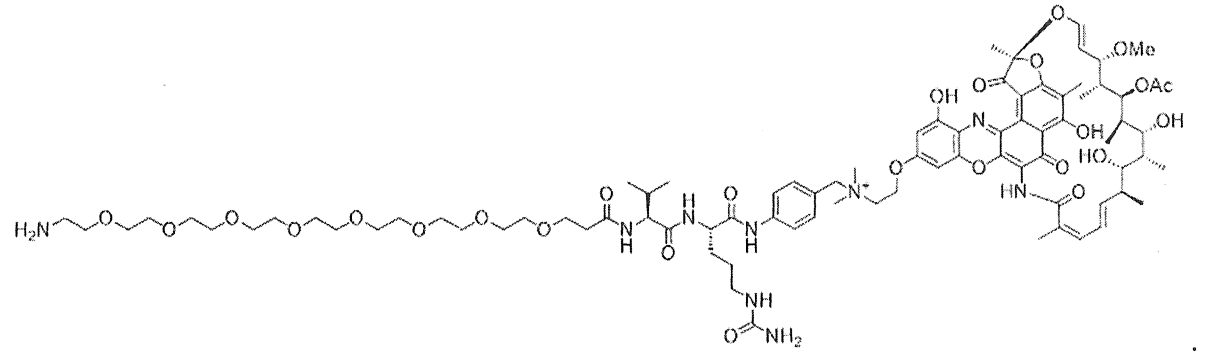
Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 52-54-56-60-62-64, và đột biến N297Q, kháng thể kháng MSR1 nêu trên, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất có cấu trúc:



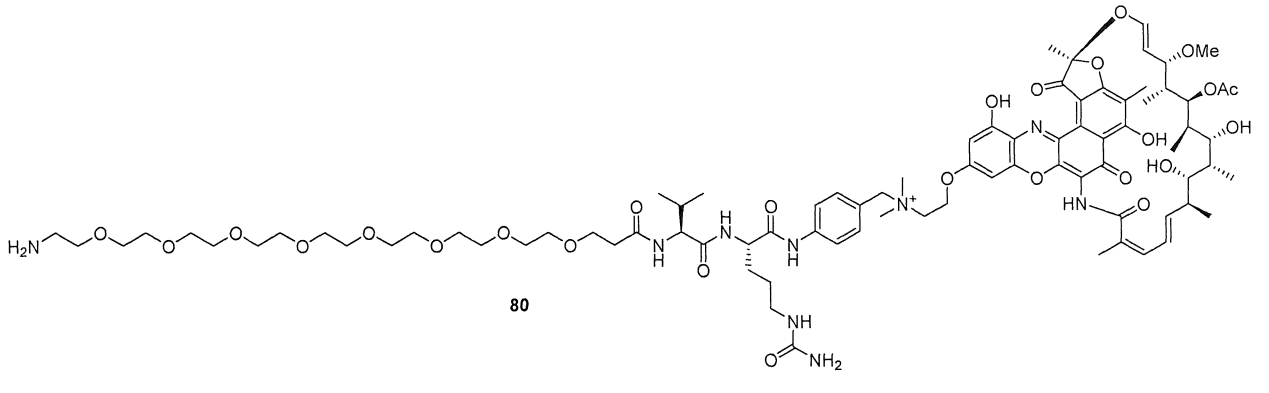
Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 52-54-56-60-62-64, và đột biến N297Q, kháng thể kháng MSR1 nêu trên, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất có cấu trúc:



Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 52-54-56-60-62-64, và đột biến N297Q, kháng thể kháng MSR1 nêu trên, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất có cấu trúc:

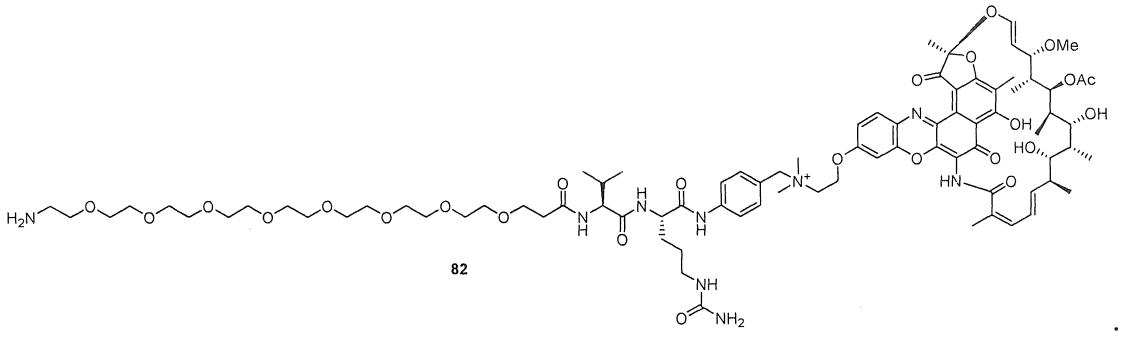


Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 52-54-56-60-62-64, và đột biến N297Q, kháng thể kháng MSR1 nêu trên, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất có cấu trúc:



80

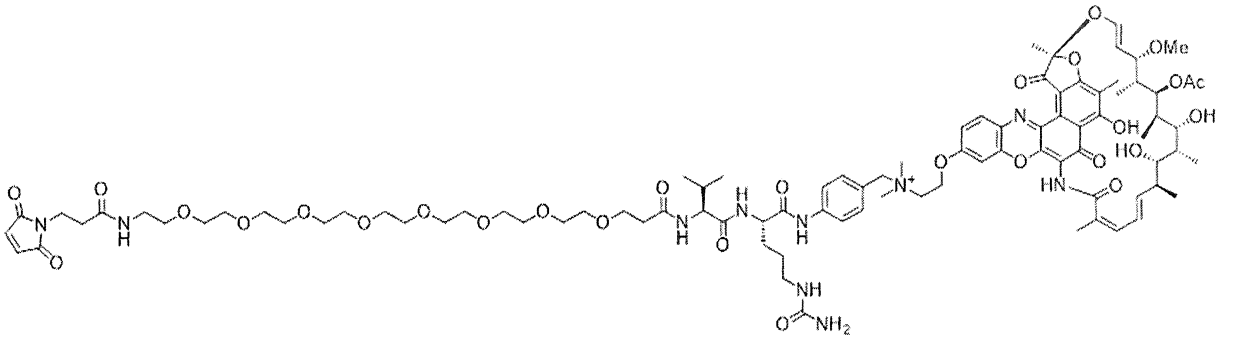
Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng MSR1, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 52-54-56-60-62-64, và đột biến N297Q, kháng thể kháng MSR1 nêu trên, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất có cấu trúc:



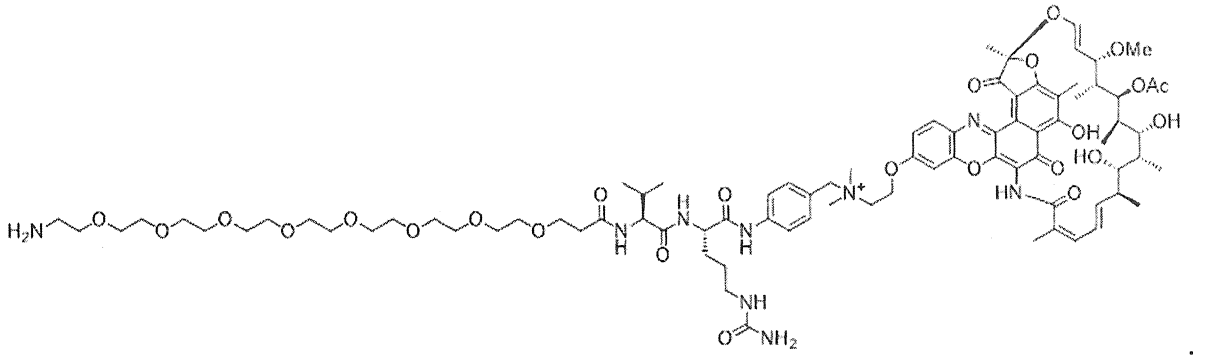
82

Theo một số phương án, kháng thể kháng MSR1 hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin HCVR nêu trong SEQ ID NO: 50; và trình tự axit amin LCVR nêu trong SEQ ID NO: 58.

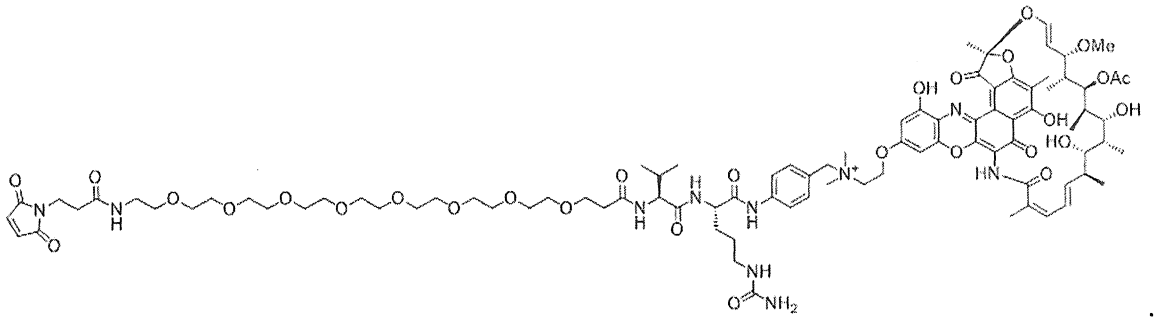
Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 568-569-570-565-566-567, và đột biến V205C trong chuỗi nhẹ, kháng thể kháng WTA nêu trên, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất có cấu trúc:



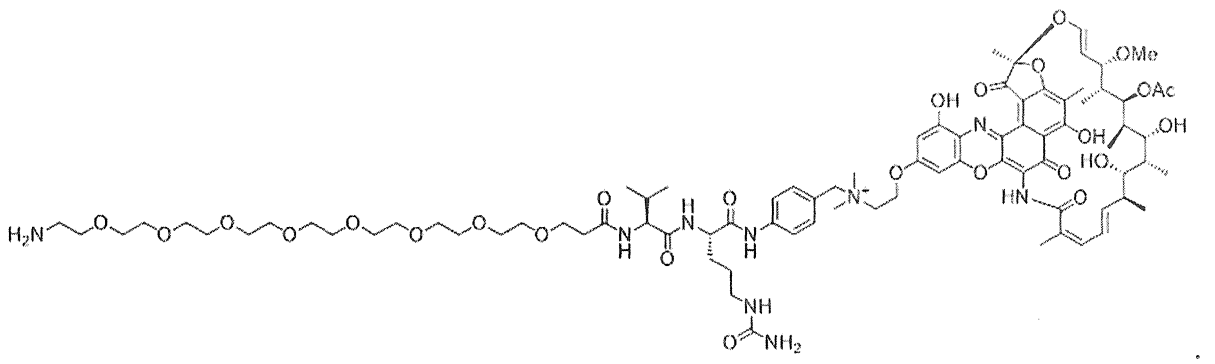
Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 568-569-570-565-566-567, và đột biến V205C trong chuỗi nhẹ, kháng thể kháng WTA nêu trên, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất có cấu trúc:



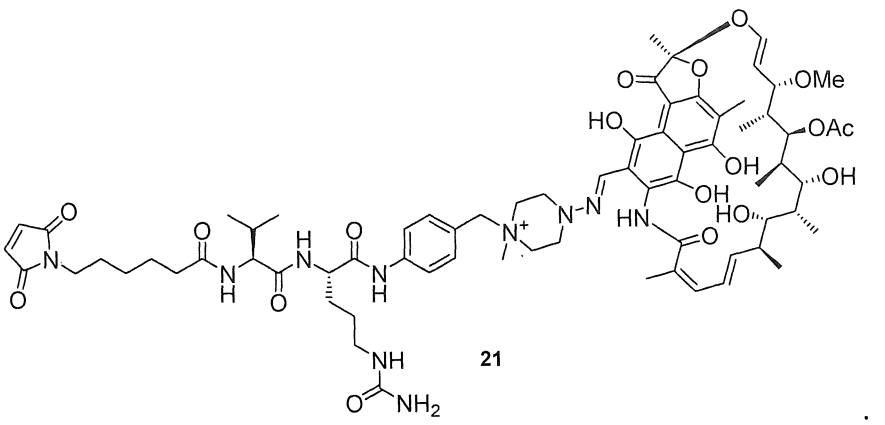
Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 568-569-570-565-566-567, và đột biến V205C trong chuỗi nhẹ, kháng thể kháng WTA nêu trên, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất có cấu trúc:



Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 568-569-570-565-566-567, và đột biến V205C trong chuỗi nhẹ, kháng thể kháng WTA nêu trên, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất có cấu trúc:



Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng WTA, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 568-569-570-565-566-567, và đột biến V205C trong chuỗi nhẹ, kháng thể kháng WTA nêu trên, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất có cấu trúc:



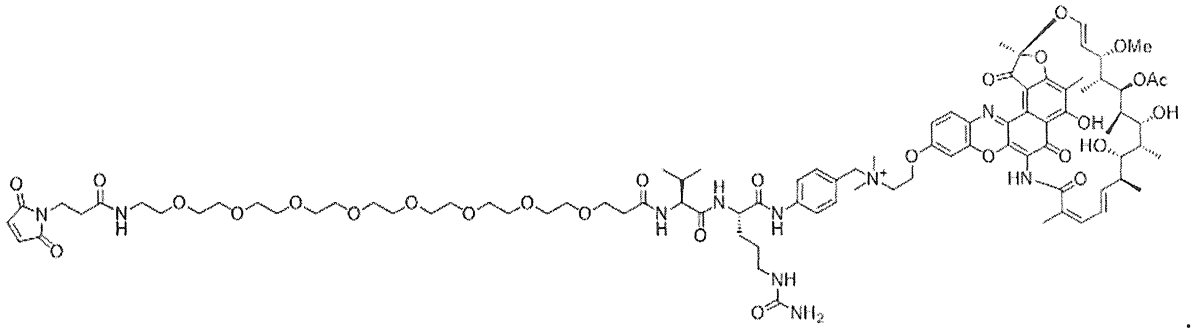
21

Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin HCVR nêu trong các SEQ ID NO: 586, và trình tự axit amin LCVR nêu trong SEQ ID NO: 585.

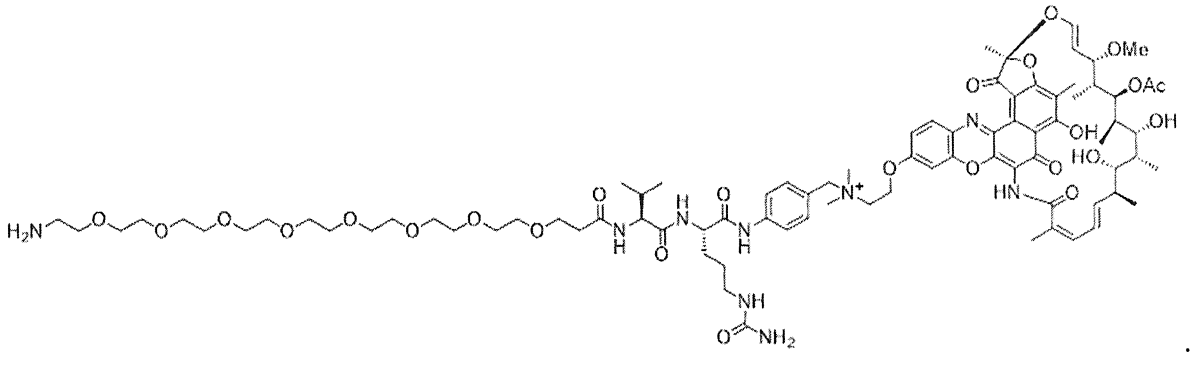
Theo một số phương án, kháng thể kháng WTA chứa trình tự axit amin của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 602 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 587 hoặc SEQ ID NO: 589.

Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa bộ sáu CDR (HCDR1-

HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 632-634-636-640-642-644, và đột biến H435R và đột biến Y436F trong Fc chuỗi nặng, và đột biến C103S trong chuỗi nhẹ, kháng thể kháng protein A nêu trên, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất có cấu trúc:

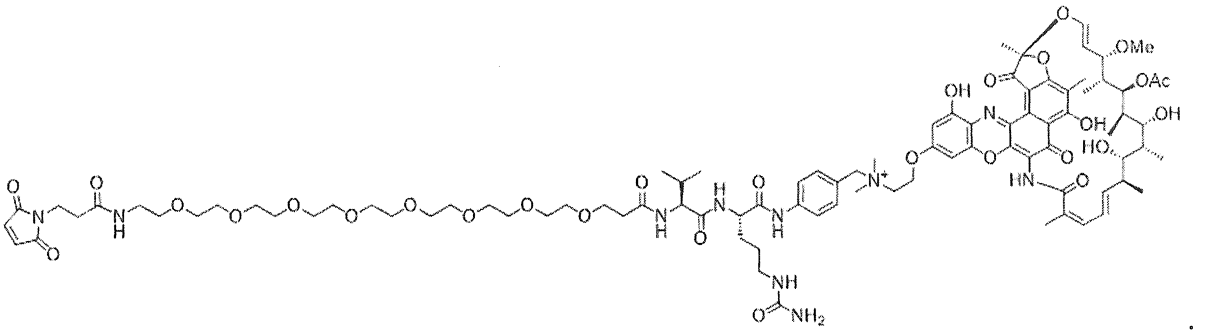


Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 632-634-636-640-642-644, và đột biến H435R và đột biến Y436F trong Fc chuỗi nặng, và đột biến C103S trong chuỗi nhẹ, kháng thể kháng protein A nêu trên, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất có cấu trúc:

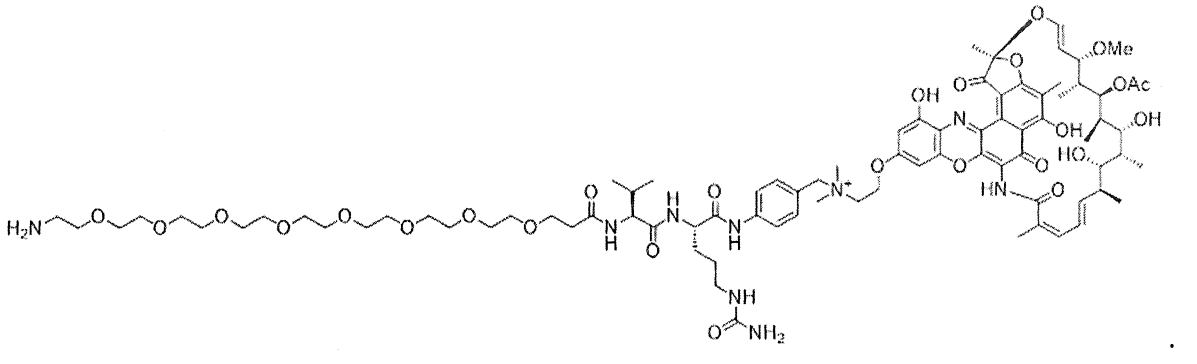


Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 632-634-636-640-642-644, và đột biến H435R và đột biến Y436F trong Fc chuỗi nặng, và đột biến C103S trong chuỗi nhẹ, kháng thể kháng protein A nêu trên, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên

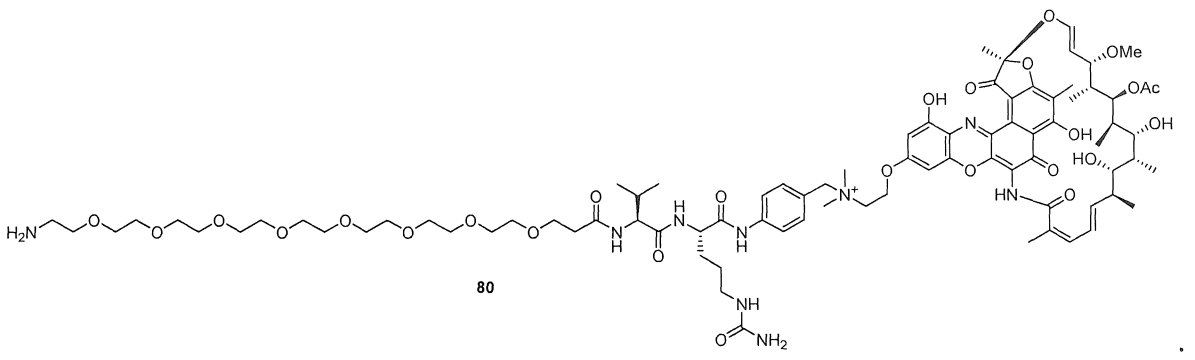
của nó, được liên hợp với hợp chất có cấu trúc:



Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 632-634-636-640-642-644, và đột biến H435R và đột biến Y436F trong Fc chuỗi nặng, và đột biến C103S trong chuỗi nhẹ, kháng thể kháng protein A nêu trên, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất có cấu trúc:



Theo một phương án, thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế chứa kháng thể kháng protein A, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chứa bộ sáu CDR (HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3) chứa các SEQ ID NO: 632-634-636-640-642-644, và đột biến H435R và đột biến Y436F trong Fc chuỗi nặng, và đột biến C103S trong chuỗi nhẹ, kháng thể kháng protein A nêu trên, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp với hợp chất có cấu trúc:



80

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó chứa trình tự axit amin HCVR nêu trong SEQ ID NO: 630; và trình tự axit amin LCVR nêu trong SEQ ID NO: 638.

Theo một phương án, kháng thể kháng protein A chứa trình tự axit amin của chuỗi nặng nêu trong SEQ ID NO: 666 và trình tự axit amin của chuỗi nhẹ nêu trong SEQ ID NO: 668.

Lập bản đồ epitop và các công nghệ liên quan

Epitop mà gắn kết thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể theo sáng chế có thể gồm một trình tự tiếp giáp có 3 hoặc nhiều hơn 3 (ví dụ, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 hoặc nhiều hơn) axit amin nằm trong kháng nguyên (ví dụ, protein MSR1 hoặc Protein A) (ví dụ, epitop mạch thẳng trong miền). Theo một cách khác, epitop có thể gồm nhiều axit amin (hoặc trình tự axit amin) không tiếp giáp của MSR1. Theo một số phương án, epitop nằm trên hoặc gần miền gắn kết LDL được cải biến của MSR1. Theo các phương án khác, epitop nằm bên ngoài miền gắn kết LDL được cải biến của MSR1, ví dụ, ở vị trí trên bề mặt của MSR1 mà tại đó kháng thể, khi gắn kết với epitop này, không cản trở sự gắn kết LDL cải biến với kháng nguyên (ví dụ cấu dạng epitop).

Nhiều kỹ thuật khác nhau đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật liên quan có thể được sử dụng để xác định xem liệu kháng thể có "tương tác với một hoặc nhiều axit amin" trong polypeptit hay protein. Các kỹ thuật lấy làm ví dụ bao gồm, ví dụ, thử nghiệm phong bế chéo thông thường như được mô tả trong mục

Antibodies, Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY), phân tích đột biến quét alanin, phân tích thẩm tách peptit (Reineke, 2004, Methods Mol Biol 248:443-463), và phân tích phân tách peptit. Ngoài ra, các phương pháp như kích epitop, chiết epitop và cải biến hóa học kháng nguyên có thể được sử dụng (Tomer, 2000, Protein Science 9:487-496). Một phương pháp khác mà có thể được sử dụng để nhận biết axit amin trong polypeptit mà tương tác với kháng thể là trao đổi hydro/đoteri được phát hiện ra bởi phép đo phổ khối. Trong các thuật ngữ chung, phương pháp trao đổi hydro/đoteri bao gồm đánh dấu đoteri cho protein đang quan tâm, sau đó đến gắn kết kháng thể với protein được đánh dấu bằng đoteri. Sau đó, phức hợp protein/kháng thể được chuyển vào nước để cho phép diễn ra sự trao đổi hydro-đoteri ở tất cả các gốc ngoại trừ các gốc được bảo vệ bởi kháng thể (mà vẫn được đánh dấu bằng đoteri). Sau khi phân ly kháng thể, protein đích được cho phân tách proteaza và phân tích đo phổ khối, từ đó tìm ra các gốc được đánh dấu đoteri mà tương ứng với các axit amin đặc hiệu tương tác với kháng thể. Xem tài liệu, ví dụ, Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267(2):252-259; Engen and Smith (2001) *Anal. Chem. 73*:256A-265A.

Các phương án bao gồm thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 gắn kết với cùng một epitop như kháng thể cụ thể lấy làm ví dụ bất kỳ được mô tả ở đây (ví dụ, kháng thể kháng MSR1 chứa trình tự axit amin trong số các trình tự axit amin như nêu trong Bảng 9 trong bản mô tả; kháng thể kháng WTA chứa trình tự axit amin trong số các trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2A và Bảng 2B trong bản mô tả; hoặc kháng thể kháng protein A chứa trình tự axit amin trong số các trình tự axit amin như nêu trong Bảng 3A trong bản mô tả). Tương tự, các phương án còn bao gồm thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 cạnh tranh để liên kết với cùng một kháng nguyên với kháng thể cụ thể lấy làm ví dụ bất kỳ được mô tả ở đây (ví dụ kháng thể kháng MSR1 chứa trình tự axit amin trong số các trình tự axit amin như nêu trong Bảng 9 trong bản mô tả; kháng thể kháng WTA chứa trình tự axit amin trong số các trình tự axit amin như nêu trong Bảng 2A và Bảng 2B trong bản mô tả; hoặc kháng thể kháng protein A chứa trình tự axit amin trong số các trình tự axit amin như nêu trong Bảng 3A

trong bản mô tả).

Có thể dễ dàng xác định xem liệu kháng thể gắn kết với cùng một epitop như, hoặc cạnh tranh để gắn kết với, kháng thể đối chiếu bằng cách sử dụng các phương pháp thông thường đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và được lấy làm ví dụ ở đây trong, ví dụ, Ví dụ 29. Ví dụ, để xác định nếu kháng thể thử nghiệm gắn kết với cùng một epitop như kháng thể đối chiếu kháng MSR1 được bộc lộ ở đây, thì kháng thể đối chiếu này được cho gắn kết với protein MSR1. Tiếp theo, khả năng của kháng thể thử nghiệm trong việc gắn kết với phân tử MSR1 được đánh giá. Nếu kháng thể thử nghiệm này có thể gắn kết với MSR1 sau khi liên kết no với kháng thể đối chiếu kháng MSR1, thì có thể kết luận rằng kháng thể thử nghiệm này gắn kết với một epitop khác với kháng thể đối chiếu kháng MSR1. Mặt khác, nếu kháng thể thử nghiệm này không thể gắn kết với phân tử MSR1 sau khi liên kết no với kháng thể đối chiếu kháng MSR1, thì kháng thể thử nghiệm này có thể gắn kết với epitop giống như epitop gắn kết với kháng thể đối chiếu kháng MSR1 theo sáng chế. Sau đó thử nghiệm thông thường khác (ví dụ, đột biến peptit và phân tích sự gắn kết) có thể được thực hiện để xác nhận liệu sự thiếu gắn kết quan sát được ở kháng thể thử nghiệm trên thực tế là do gắn kết với cùng một epitop như kháng thể đối chiếu hay nếu hiện tượng phong bế trong không gian (hoặc một hiện tượng khác) chịu trách nhiệm về sự thiếu gắn kết quan sát được này. Các thử nghiệm phân loại này có thể được thực hiện bằng cách sử dụng ELISA, RIA, Biacore, Đếm tế bào theo dòng hoặc thử nghiệm gắn kết kháng thể định lượng hoặc định tính bất kỳ khác sẵn có trong lĩnh vực kỹ thuật này. Theo một số phương án nhất định của sáng chế, hai kháng thể gắn kết với cùng một epitop (hoặc chồng lặp) nếu, ví dụ, lượng dư gấp 1, 5, 10, 20 hoặc 100 lần của một kháng thể ức chế mức độ gắn kết của kháng thể còn lại đi ít nhất là 50% nhưng tốt hơn là 75%, 90% hoặc thậm chí là 99% như đo được trong thử nghiệm gắn kết cạnh tranh (Xem tài liệu, ví dụ, Junghans *et al.*, Cancer Res. 1990:50:1495-1502). Theo một cách khác, hai kháng thể này được cho là gắn kết với cùng một epitop nếu gần như tất cả các đột biến axit amin trong kháng nguyên mà làm giảm hoặc loại bỏ sự gắn kết của một kháng thể sẽ làm giảm hoặc loại bỏ sự gắn kết của kháng thể còn lại. Hai

kháng thể được cho là có "các epitop chồng lặp" nếu chỉ có tập con gồm các đột biến axit amin làm giảm hoặc loại bỏ sự gắn kết của một kháng thể là làm giảm hoặc loại bỏ sự gắn kết của kháng thể còn lại.

Để xác định, ví dụ, nếu kháng thể cạnh tranh để gắn kết (hoặc cạnh tranh chéo để gắn kết) với kháng thể đối chiếu kháng MSR1, phương pháp gắn kết mô tả ở trên được thực hiện theo hai hướng. Theo hướng thứ nhất, kháng thể đối chiếu được cho gắn kết với protein MSR1 trong điều kiện no sau đó đánh giá sự gắn kết của kháng thể thử nghiệm với phân tử MSR1. Theo hướng thứ hai, kháng thể thử nghiệm được cho gắn kết với phân tử MSR1 trong điều kiện no sau đó đánh giá sự gắn kết của kháng thể đối chiếu với phân tử MSR1. Nếu, theo cả hai hướng, chỉ có kháng thể (bão hòa) thứ nhất có khả năng gắn kết với phân tử MSR1, thì kết luận rằng kháng thể thử nghiệm và kháng thể đối chiếu cạnh tranh để gắn kết với MSR1. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật liên quan sẽ hiểu được rằng, kháng thể cạnh tranh để gắn kết với kháng thể đối chiếu có thể không nhất thiết phải gắn kết với cùng một epitop như kháng thể đối chiếu, nhưng có thể phong bế trong không gian sự gắn kết của kháng thể đối chiếu bằng cách gắn kết epitop chồng lặp hoặc liền kề.

Tạo ra kháng thể người thích hợp cho ADC

Các kháng thể thích hợp cho thể liên hợp kháng thể-thuốc được bộc lộ ở đây có thể là kháng thể người đầy đủ. Phương pháp tạo ra kháng thể đơn dòng, gồm kháng thể đơn dòng đầy đủ của người là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Phương pháp đã biết bất kỳ như vậy có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế để tạo ra kháng thể người gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên đích, như đích liên quan đến bệnh lây nhiễm (ví dụ, MSR1, WTA hoặc Protein A).

Bằng cách sử dụng công nghệ VELOCIMMUNE™, ví dụ, hoặc phương pháp tương tự đã biết bất kỳ khác để tạo ra kháng thể đơn dòng đầy đủ của người, thì kháng thể khảm ái lực cao với MSR1 được phân lập từ đầu có vùng biến đổi của người và vùng hằng định của chuột nhắt. Như trong phần thử nghiệm dưới đây, kháng thể được mô tả đặc trưng và chọn lọc các đặc tính mong muốn, gồm ái lực, hoạt tính phong bế phối tử,

tính chọn lọc, epitop, *v.v.*. Nếu cần thì, vùng hằng định của chuột nhắt được thay thế bằng vùng hằng định mong muốn của người, ví dụ, IgG1 hoặc IgG4 kiểu dại hoặc được cải biến, để tạo ra kháng thể người đầy đủ. Trong khi vùng hằng định được chọn có thể thay đổi theo mục đích sử dụng cụ thể, đặc tính gắn kết kháng nguyên với ái lực cao và độ đặc hiệu đích tập trung vào vùng biến đổi. Trong một số trường hợp, kháng thể người đầy đủ được phân lập trực tiếp từ tế bào B dương tính với kháng nguyên.

Độ tương đương sinh học

Thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa các kháng thể và mảnh kháng thể được bộc lộ ở đây chứa protein có trình tự axit amin thay đổi theo các kháng thể được mô tả nhưng vẫn giữ được khả năng gắn kết với kháng nguyên đích, như đích liên quan đến bệnh lây nhiễm (ví dụ, MSR1, WTA hoặc Protein A). Các kháng thể và mảnh kháng thể biến thể như vậy chứa một hoặc nhiều đột biến thêm vào, đột biến khuyết hoặc thay thế các axit amin khi so với trình tự gốc, nhưng có hoạt tính sinh học gần như tương đương với hoạt tính sinh học của kháng thể được mô tả. Tương tự, trình tự ADN mã hóa kháng thể được bộc lộ ở đây bao gồm các trình tự chứa một hoặc nhiều đột biến thêm vào, đột biến khuyết hoặc thay thế các nucleotit khi so với trình tự được bộc lộ, nhưng mã hóa kháng thể hoặc mảnh kháng thể gần như tương đương sinh học với kháng thể hoặc mảnh kháng thể được bộc lộ ở đây. Các ví dụ về các trình tự axit amin và trình tự ADN biến thể như vậy được bộc lộ ở trên.

Hai protein gắn kết kháng nguyên, hoặc kháng thể, được coi là tương đương sinh học nếu, ví dụ, chúng là các dạng tương đương dược lý hoặc dạng thay thế dược lý có tốc độ và mức độ hấp thu không thể hiện sự khác biệt đáng kể khi dùng ở cùng liều lượng tính theo mol trong các điều kiện thử nghiệm tương tự, một liều hoặc nhiều liều. Một số kháng thể sẽ được coi là dạng tương đương hoặc dạng thay thế dược lý nếu chúng tương đương về mức độ hấp thu của chúng nhưng không tương đương về tốc độ hấp thu của chúng và có thể được coi là tương đương sinh học do các chênh lệch ở tốc độ hấp thu như vậy là có chủ ý và được phản ánh trong nhãn mác, là không cần thiết để đạt được nồng độ thuốc hữu hiệu trong cơ thể khi, ví dụ, sử dụng mạn tính, và được coi là có ý

nghĩa về mặt y học đối với sản phẩm thuốc cụ thể được nghiên cứu.

Theo một phương án, hai protein gắn kết kháng nguyên tương đương sinh học nếu không có chênh lệch có ý nghĩa về mặt lâm sàng về độ an toàn, độ tinh khiết, và hoạt lực của chúng.

Theo một phương án, hai protein gắn kết kháng nguyên tương đương sinh học nếu bệnh nhân có thể thay đổi một hoặc nhiều lần giữa sản phẩm tham chiếu và sản phẩm sinh học mà không mong làm tăng nguy cơ của các tác dụng phụ, gồm sự thay đổi có ý nghĩa về mặt lâm sàng về khả năng tạo miễn dịch, hoặc làm giảm hiệu quả, so với liệu pháp liên tục mà không có sự thay đổi như vậy.

Theo một phương án, hai protein gắn kết kháng nguyên tương đương sinh học nếu chúng đều tác động theo cơ chế hoặc các cơ chế tác động chung trong điều kiện hoặc các điều kiện sử dụng, đến mức độ mà cơ chế này được biết đến.

Độ tương đương sinh học có thể được chứng minh bằng các phương pháp *in vivo* và *in vitro*. Phép đo độ tương đương sinh học bao gồm, ví dụ, (a) thử nghiệm *in vivo* ở người hoặc các động vật có vú khác, trong đó nồng độ của kháng thể hoặc chất chuyển hóa của nó được đo trong máu, huyết tương, huyết thanh, hoặc dịch sinh học khác dưới dạng hàm thời gian; (b) thử nghiệm *in vitro* mà đã tương quan với và dự đoán hợp lý về dữ liệu sinh khả dụng ở người *in vivo*; (c) thử nghiệm *in vivo* ở người hoặc động vật có vú khác trong đó tác dụng dược lý cấp tính thích hợp của kháng thể (hoặc đích của nó) được đo dưới dạng hàm thời gian; và (d) trong thử nghiệm lâm sàng được kiểm soát tốt thiết lập độ an toàn, độ hiệu nghiệm, hoặc tính sinh khả dụng hoặc độ tương đương sinh học của kháng thể.

Các biến thể tương đương sinh học của kháng thể thích hợp cho thể liên hợp kháng thể-thuốc được bộc lộ ở đây có thể được xây dựng cấu trúc bằng cách, ví dụ, tạo nhiều đột biến thay thế khác nhau ở các gốc hoặc trình tự hoặc làm khuyết các gốc hoặc trình tự tận cùng hoặc bên trong không cần cho hoạt tính sinh học. Ví dụ, gốc xystein không cần cho hoạt tính sinh học có thể được làm khuyết hoặc được thay thế bằng các

axit amin khác để ngăn chặn việc tạo ra cầu disulfua nội phân tử không cần thiết hoặc không đúng khi hồi tính. Trong các ngữ cảnh khác, kháng thể tương đương sinh học có thể bao gồm các biến thể kháng thể chứa các thay đổi axit amin mà làm biến đổi các đặc tính glycosyl hóa của kháng thể, ví dụ, đột biến loại bỏ hoặc bổ sự glycosyl hóa.

Tính chọn lọc theo loài và chọn lọc chéo theo loài

Theo một số phương án nhất định, sáng chế đề cập đến thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 gắn kết với MSR1 người nhưng không gắn kết với MSR1 từ loài khác. Các phương án còn bao gồm thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 gắn kết với MSR1 người và với MSR1 từ một hoặc nhiều loài không phải người. Ví dụ, thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 được bộc lộ ở đây có thể gắn kết với MSR1 người và có thể gắn kết hoặc không gắn kết, như trường hợp có thể có, với một hoặc nhiều trong số MSR1 của chuột nhắt, chuột cống, chuột lang nhà, chuột đất vàng, chuột nhảy, lợn, mèo, chó, thỏ, dê, cừu, bò, ngựa, lạc đà, khỉ đuôi dài, khỉ đuôi sóc, khỉ nâu hoặc tinh tinh. Theo một số phương án lấy làm ví dụ nhất định, sáng chế đề cập đến thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 gắn kết đặc hiệu MSR1 người và MSR1 khỉ đuôi dài (ví dụ, *Macaca fascicularis*). Các thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể kháng MSR1 được bộc lộ ở đây gắn kết MSR1 người nhưng không gắn kết, hoặc chỉ gắn kết yếu, với MSR1 khỉ đuôi dài.

Kháng thể đa hiệu

Kháng thể thích hợp cho thể liên hợp kháng thể-thuốc được bộc lộ ở đây có thể là đơn hiệu hoặc đa hiệu (ví dụ, đặc hiệu kép). Kháng thể đa hiệu có thể đặc hiệu đối với các epitop khác nhau của một polypeptit đích hoặc có thể chứa miền gắn kết kháng nguyên đặc hiệu đối với nhiều hơn một polypeptit đích. Xem tài liệu, ví dụ, Tutt *et al.*, 1991, *J. Immunol.* 147:60-69; Kufer *et al.*, 2004, *Trends Biotechnol.* 22:238-244. Kháng thể được bộc lộ ở đây có thể được liên kết với hoặc được biểu hiện đồng thời với một phân tử chức năng khác, ví dụ, một peptit hoặc protein khác. Ví dụ, kháng thể hoặc mảnh của nó có thể được liên kết chức năng (ví dụ, bằng cách ghép cặp hóa học, dung hợp di truyền, liên kết không cộng hóa trị hoặc cách khác) với một hoặc nhiều phân tử khác,

như một kháng thể hoặc mảnh kháng thể khác để tạo ra kháng thể đặc hiệu kép hoặc kháng thể đa hiệu có tính đặc hiệu gắn kết thứ hai.

Các phương án bao gồm thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể đặc hiệu kép trong đó một nhánh của globulin miễn dịch gắn kết kháng nguyên thứ nhất, và nhánh còn lại của globulin miễn dịch đặc hiệu đối với kháng nguyên thứ hai. Kháng nguyên này có thể là đích liên quan đến bệnh lây nhiễm. Là một ví dụ không giới hạn, thể liên hợp kháng thể-thuốc có thể chứa kháng thể đặc hiệu kép trong đó một nhánh của globulin miễn dịch gắn kết MSR1 người, và nhánh còn lại của globulin miễn dịch đặc hiệu đối với WTA hoặc Protein A. Là một ví dụ không giới hạn khác, thể liên hợp kháng thể-thuốc có thể chứa kháng thể đặc hiệu kép trong đó một nhánh của globulin miễn dịch gắn kết WTA, và nhánh còn lại của globulin miễn dịch đặc hiệu đối với Protein A.

Ví dụ, nhánh gắn kết MSR1 có thể chứa trình tự axit amin bất kỳ trong số các trình tự axit amin của HCVR/LCVR hoặc CDR như nêu trong Bảng 9 trong bản mô tả. Theo một số phương án nhất định, nhánh gắn kết MSR1 gắn kết MSR1 người và phong bế LDL cải biến gắn kết với MSR1. Theo các phương án khác, nhánh gắn kết MSR1 gắn kết MSR1 người nhưng không ngăn chặn LDL cải biến gắn kết với MSR1. Theo một số phương án, nhánh gắn kết MSR1 gắn kết MSR1 người và hoạt hóa sự truyền tín hiệu MSR1. Theo các phương án khác, nhánh gắn kết MSR1 phong bế sự kích thích thụ thể qua trung gian MSR1. Các phương án còn bao gồm kháng thể đặc hiệu kép trong đó một nhánh của kháng thể gắn kết epitop thứ nhất của MSR1 người, và nhánh còn lại của kháng thể này gắn kết epitop khác thứ hai của MSR1 người.

Hình thức kháng thể đặc hiệu kép lấy làm ví dụ có thể được sử dụng trong ngữ cảnh về thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế bao gồm việc sử dụng miền globulin miễn dịch (Ig) C_H3 thứ nhất và miền Ig C_H3 thứ hai, trong đó miền Ig C_H3 thứ nhất và thứ hai này khác với một miền khác ở ít nhất một axit amin, và trong đó ít nhất một sự sai khác axit amin làm giảm sự gắn kết của kháng thể đặc hiệu kép với Protein A so với kháng thể đặc hiệu kép thiếu sự khác biệt axit amin này. Theo một phương án, miền Ig C_H3 thứ nhất gắn kết Protein A và miền Ig C_H3 thứ hai chứa đột biến làm giảm hoặc hủy

bỏ sự gắn kết Protein A như cải biến H95R (bằng cách đánh số theo IMGT exon; H435R bằng cách đánh số theo EU). Miền C_H3 thứ hai có thể còn chứa cải biến Y96F (theo IMGT; Y436F theo EU). Các cải biến khác có thể được tìm thấy trong C_H3 thứ hai bao gồm: D16E, L18M, N44S, K52N, V57M, và V82I (theo IMGT; D356E, L358M, N384S, K392N, V397M, và V422I theo EU) trong trường hợp kháng thể IgG1; N44S, K52N, và V82I (IMGT; N384S, K392N, và V422I theo EU) trong trường hợp kháng thể IgG2; và Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q, và V82I (theo IMGT; Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q, và V422I theo EU) trong trường hợp kháng thể IgG4. Các biến thể đối với hình thức kháng thể đặc hiệu kép được mô tả ở trên nằm trong phạm vi của sáng chế.

Các hình thức đặc hiệu kép lấy làm ví dụ khác mà có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế bao gồm, mà không giới hạn ở, ví dụ, hình thức đặc hiệu kép dựa trên scFv hoặc thể đôi, thể dung hợp IgG-scFv, miền biến đổi kép (DVD)-Ig, thể lai-lai (Quadroma), kỹ thuật đóng nút vào lỗ, chuỗi nhẹ chung (ví dụ, chuỗi nhẹ chung với kỹ thuật đóng nút vào lỗ, v.v.), CrossMab, CrossFab, thể (SEED), leuxin khóa kéo, thể kép, IgG1/IgG2, Fa (DAF)-IgG tác động kép, và hình thức đặc hiệu kép Mab^2 (Xem tài liệu, ví dụ, Klein *et al.* 2012, mAbs 4:6, 1-11, và các tài liệu được trích dẫn trong đó, để có thông tin về các hình thức nêu trên). Kháng thể đặc hiệu kép cũng có thể được xây dựng cấu trúc bằng cách sử dụng kỹ thuật liên hợp peptit/axit nucleic, ví dụ, trong đó các axit amin không tự nhiên có tính phản ứng hóa học trực giao được sử dụng để tạo ra thể liên hợp kháng thể-oligonucleotit đặc hiệu điểm mà sau đó tự lắp ghép thành phức multime với hợp phần, hóa trị và hình học đã xác định. (Xem tài liệu, ví dụ, Kazane *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* [*Epub*: *Dec. 4, 2012*]).

Điều trị kết hợp

Theo một phương án về phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp ở trên, phương pháp này còn bao gồm bước dùng chất trị liệu thứ hai.

Theo một phương án, chất trị liệu thứ hai là kháng sinh thứ hai.

Theo một phương án, chất trị liệu thứ hai là kháng sinh gồm kháng sinh kháng *S. aureus* nói chung và/hoặc MRSA nói riêng.

Theo một phương án, chất trị liệu thứ hai là kháng sinh thứ hai được chọn từ aminoglycosit, beta-lactam, macrolit, peptit vòng, tetraxyclin, floquinolin, floquinolon, và oxazolidinon.

Theo một phương án, chất trị liệu thứ hai là kháng sinh thứ hai được chọn từ clindamyxin, novobioxin, retapamulin, daptomyxin, sitafloxaxin, teicoplanin, triclosan, naptyridon, radezolid, doxorubixin, ampixilin, vancomyxin, imipenem, doripenem, gemxitabin, dalbavanxin, và azithromyxin.

Các phương án bao gồm dược phẩm và chế phẩm trị liệu chứa bất kỳ trong số các kháng thể hoặc ADC được mô tả ở đây kết hợp với một hoặc nhiều thành phần có hoạt tính trị liệu bổ sung, và phương pháp điều trị bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị dùng tổ hợp này.

Kháng thể hoặc ADC được bộc lộ ở đây có thể được phối trộn đồng thời với và/hoặc được dùng kết hợp với một hoặc nhiều (các) thành phần có hoạt tính trị liệu bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm: chất ức chế xytokin, gồm chất ức chế xytokin phân tử nhỏ và kháng thể gắn kết với xytokin như IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-17, IL-18, hoặc với các thụ thể tương ứng của chúng.

Kháng thể hoặc ADC được bộc lộ ở đây có thể cũng được dùng và/hoặc được phối trộn đồng thời kết hợp với chất kháng viêm, chất điều biến miễn dịch, chất giảm đau, corticosteroit, steroit, chất chống oxy hóa, chất ức chế COX, chất bảo vệ tim, chất chelat hóa kim loại, IFN-gama, và/hoặc NSAID. Theo một số phương án, kháng thể hoặc ADC có thể được dùng và/hoặc được phối trộn đồng thời kết hợp với kháng thể kháng PCSK9, kháng thể kháng ANGPTL3, statin, ezetimibe và các liệu pháp hạ lipit khác.

(Các) thành phần có hoạt tính trị liệu bổ sung, ví dụ, chất bất kỳ trong số các chất được liệt kê ở trên hoặc các dẫn xuất của chúng, có thể được dùng ngay trước, đồng thời với, hoặc một thời gian ngắn sau khi dùng kháng thể hoặc ADC được bộc lộ trong bản

mô tả; (đối với các mục đích của sáng chế, chế độ dùng như vậy được coi là dùng kháng thể hoặc ADC "kết hợp với" thành phần có hoạt tính trị liệu bổ sung). Các phương án bao gồm dược phẩm trong đó kháng thể hoặc ADC được bộc lộ ở đây được phối trộn đồng thời với một hoặc nhiều (các) thành phần có hoạt tính trị liệu bổ sung như được mô tả trong bản mô tả này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ dưới đây minh họa các khía cạnh cụ thể của phần mô tả sáng chế. Các ví dụ này không nên được hiểu là giới hạn, do các ví dụ này chỉ nhằm cung cấp kiến thức và thực tiễn cụ thể của các phương án và các khía cạnh khác nhau của chúng.

Như được sử dụng trong bản mô tả, các ký hiệu và quy ước được dùng trong các quy trình, và các ví dụ, ở đây, nhất quán với các ký hiệu và quy ước dùng trong tài liệu khoa học hiện có, ví dụ, the Journal of the American Chemical Society hoặc the Journal of Biological Chemistry trừ khi có quy định cụ thể trái ngược. Cụ thể, nhưng không giới hạn ở, các chữ viết tắt sau có thể được sử dụng trong các ví dụ và toàn bộ bản mô tả:

Chữ viết tắt	Thuật ngữ
ADC	Thể liên hợp kháng thể-thuốc
Kháng thể được loại glycan	Kháng thể không có bất kỳ glycan nào
aq	Chứa nước
BARAC	Biarylazaxycloctynon
BCN	(1*R*,8*S*,9*s*)-Bixyclo[6.1.0]non-4-yn-9-yl
Boc	N-tert-butoxycacbonyl
BupHTM	Thermo Scientific Prod# 28372, chứa natri phosphat 100mM và natri clorua 150mM, không kali, độ pH được điều chỉnh từ 7,2 đến 7,6-7,8 MQ, trừ khi được lưu ý khác đi.
CD	Xyclodextrin
COT	Xyclooctynol
Da	Dalton
DAR	Tỷ lệ thuốc đối với kháng thể
DCM	Diclometan

Chữ viết tắt	Thuật ngữ
DIBAC	Dibenz[b,f]azoxin, 11,12-didehydro-5,6-dihydro- hoặc Dibenzoxyclooctyn hoặc axit dibenz[b,f]azoxin-5(6H)-butanoic, 11,12-didehydro
DIBAC-Suc	Axit dibenz[b,f]azoxin-5(6H)-butanoic, 11,12-didehydro
DIBACT	3H-Benzo[c]-1,2,3-triazolo[4,5-e][1]benzazoxin, 8,9-dihydro-
DIBO	Dibenzoxyclooctyn
DIFO	Xyclooctyn được diflo hóa
DIPEA	Diisopropyletylamin
DMF	N,N-dimetylformamit
DMSO	Dimetylsulfoxit
ESI	Ion hóa tia điện
g	Gam
HATU	2-(7-Aza-1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyluroni hexaflophosphat
HC	Chuỗi nặng của globulin miễn dịch
HEK	Thận phôi người (tế bào)
HPLC	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
hr hoặc hrs	Giờ
LC	Chuỗi nhẹ của globulin miễn dịch
LC	Sắc ký lỏng
MC	Maleimidocaproyl
mg	Milligam
min	Phút
mL	Millilit
mM	Millimol
MMAE	Monometyl auristatin E
MS	Phép đo phổ khối
MSD	Bộ dò chọn lọc khối
MTG	Transglutaminaza vi trùng
MW	Phân tử lượng
ncADC	Thể liên hợp kháng thể-thuốc không gây độc tế bào
NHS	N-hydroxy sucxinimit
nM	Nanomol
NMR	Cộng hưởng từ nhân
NOESY	Phổ hiệu ứng Overhauser hạt nhân
PAB	Para-aminobezyloxy(carbonyl)
PBS	Dung dịch đệm natri phosphat 10mM và natri clorua 150mM

Chữ viết tắt	Thuật ngữ
PBSg	Phosphat 10mM, natri clorua 150mM, glyxerol 5%
PEG	Polyetylenglycol
ppm	Phần triệu (dịch chuyển hóa học)
RP	Pha đảo
RT hoặc rt	Nhiệt độ trong phòng
SDS-PAGE	Điện di gel natri dodexylsulfat polyacrylamit
SEC	Sắc ký loại trừ kích thước
Suc	Axit sucxinic
TCEP	Tris(2-carboxyetyl)phosphin hydroclorua
TEA	Trietylamin
TFA	Axit trifloaxetic
TG	Transglutaminaza
THF	Tetrahydrofuran
TOF	Thời gian bay
UPLC	Sắc ký lỏng siêu hiệu năng
UV	Cực tím
VA	Valin-Anilin
VC	Valin-xitrulin
µL	Microlit
µM	Micromol

Như được sử dụng ở đây, các ký hiệu và quy ước dùng trong các quy trình, sơ đồ, và ví dụ này, bất kể việc chữ viết tắt cụ thể có được định nghĩa riêng hay không, đều nhất quán với các ký hiệu và quy ước trong tài liệu khoa học hiện có, ví dụ, the Journal of the American Chemical Society hoặc the Journal of Biological Chemistry.

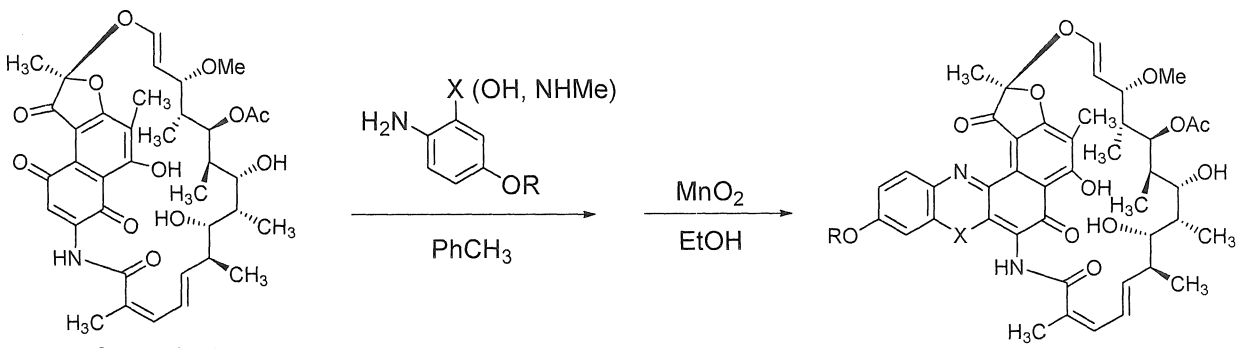
Phương pháp chung

Tất cả các dung môi được sử dụng đều được mua từ Sigma Aldrich hoặc Fisher Scientific và được sử dụng mà không tinh chế thêm. Rifamyxin S được mua từ Bosche Scientific. Phổ ^{1}H-NMR được ghi lại trên các công cụ Varian Inova 300MHz và NMR 500MHz. Dịch chuyển hóa học (δ) được báo cáo theo ppm đối với dung môi NMR được dùng cho phân tích và được báo cáo dưới dạng s - mức đơn, d - mức đôi, t - mức ba, q - mức bốn, dd - mức đôi của mức đôi, dt - mức đôi của mức ba, dq - mức đôi của mức bốn, và m - mức bội. Hằng số ghép cặp (*J*) được báo cáo theo hertz (Hz). Độ tinh khiết

sắc ký được xác định trên hệ thống Agilent 1100, 1260 Infinity, hoặc 1200 Series LC/MS bằng cách sử dụng cột phân tích Chromolith® FastGradient RP-18e (50 × 2mm, Merck KGaA, P/N 1.52007.0001) và phương pháp HPLC phân tích sau: thể tích tiêm 5 hoặc 10µL; tốc độ dòng chảy 1 mL/phút; axetonitril 5-95% trong nước trong 4 phút; bộ dò dãy điốt Agilent ở λ = 254nM; nhiệt độ trong phòng. Phép đo phổ khối độ phân giải thấp được thực hiện trên hệ Agilent bằng cách sử dụng nguồn ion hóa tia điện và được phân tích bằng bộ dò tứ cực đơn hoặc bộ dò khối bẫy ion.

Ví dụ 1: Tổng hợp các chất tương tự từ 1a đến 1d theo sáng chế

Sơ đồ 1, dưới đây, thể hiện quy trình tổng hợp hợp chất lấy làm ví dụ 1a-1d theo sáng chế từ nguyên liệu có bán trên thị trường.



Ryfamyxin S

1a, R = Me X = O
1b, R = Bn X = O
1c, R = H X = O
1d, R = H X = NHMe

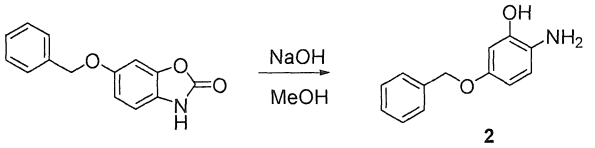
Ví dụ 1A: Chất tương tự rifamyxin 4-MeO-Phenol (1a):

Quy trình ghép cặp chung trong Ví dụ 1 được sử dụng để điều chế hợp chất nêu ở tiêu đề: Dung dịch đang khuấy trong điều kiện khí argon chứa rifamyxin S (200mg, 0,287mmol) trong 15mL toluen ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung 2-amino-5-metoxyphenol (44mg, 0,316mmol). Dung dịch hỗn hợp được khuấy trong 3 ngày ở nhiệt độ trong phòng. Quy trình phản ứng được theo dõi bằng LC/MS, sau đó hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô. Phần cặn sẫm màu được hòa tan trong 10mL etanol, và 100mg (1,14mmol) mangan oxit (MnO_2) được bổ sung với một phần vào dung dịch etanol. Hỗn hợp phản ứng chậm được khuấy trong 15 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi lọc các

nguyên liệu không tan bằng cách sử dụng đệm Celite, dịch lọc được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn sẫm màu được tinh chế trên cột silicagel 40 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 5 → 95% EA trong hexan) và các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 1a dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (85mg, 37%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{44}H_{50}N_2O_{13}$, 814,33; trên thực tế 815,3 (M+H), 837,3 (M+Na). ^{1}H NMR (500MHz; $CDCl_3$) δ 7,96 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,05 - 7,01 (m, 2H), 6,86 (s, 1H), 5,99 (s, 2H), 4,97 (dd, J = 12,4, 7,4 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,08 (s, 3H), 3,00 - 2,99 (m, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), 2,03 (d, J = 18,1 Hz, 3H), 1,81 (s, 3H), 1,70 - 1,67 (m, 1H), 1,59 - 1,54 (m, 16H), 1,53 (s, 3H), 0,96 - 0,95 (m, 3H).

Ví dụ 1B: chất tương tự rifamyxin 4-BnO-Phenol (1b):

Chất tương tự 1b được điều chế bằng cách sử dụng hợp chất trung gian 2, quy trình tổng hợp được thể hiện trong Sơ đồ 2, dưới đây.



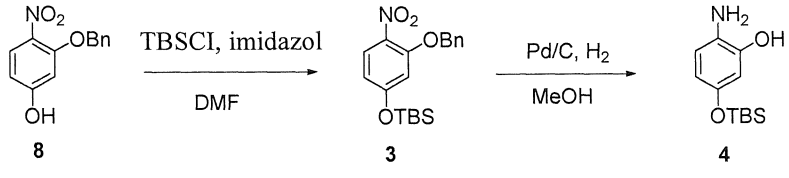
2

Tổng hợp hợp chất 2. Hỗn hợp của 6-(benzyloxy)benzo[d]oxazol-2(3H)-on (500mg, 2,07mmol) và metanol (6mL) được xử lý bằng dung dịch chứa 1,2g NaOH trong 6mL nước. Hỗn dịch này được gia nhiệt ở nhiệt độ 90°C qua đêm. Sau khi làm mát ở nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp này được xử lý bằng HCl 6*N* (5mL) sau đó được lọc. Dịch lọc được điều chỉnh để thu được độ pH = 8-9 bằng $NaHCO_3$ bão hòa trong nước và chất kết tủa được lọc, được rửa bằng nước để thu được chất rắn sẫm màu, mà được tinh chế bằng cột silicagel 40 g HP Gold RediSep (0 → 90% EA trong hexan) để thu được 220mg (49%) hợp chất 2. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{13}H_{13}NO_2$, 215,09; trên thực tế 216,1 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6) δ 7,39 - 7,37 (m, 5H), 7,31 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 6,49 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,37 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 6,25 (dd, J = 8,4, 2,7 Hz, 1H), 4,91 (s, 2H).

Tổng hợp chất tương tự 1b. Dung dịch đã được khuấy chứa rifamyxin S (20mg, 0,0287mmol) trong điều kiện khí argon trong 1mL toluen ở nhiệt độ trong phòng được xử lý bằng 2-amino-5-(benzyloxy)phenol 2 (6,8mg, 0,0316mmol). Dung dịch này được khuấy trong 3 ngày ở nhiệt độ trong phòng và 2-amino-5-(benzyloxy)phenol (6,8mg) được bổ sung thêm. Quy trình phản ứng được theo dõi bằng LC/MS. Sau 5 ngày, hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô. Phần cặn sẫm màu được hòa tan trong 3,5mL etanol và 10mg (0,11mmol) mangan oxit (MnO_2) được bổ sung với một phần vào dung dịch etanol. Hỗn hợp phản ứng chậm được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi lọc các nguyên liệu không tan bằng cách sử dụng đệm Celite, dịch lọc được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn sẫm màu được tinh chế trên cột silicagel 24 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 5 → 98% EA trong hexan) và các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 1b dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (8,5mg, 33%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{50}H_{54}N_2O_{13}$, 890,36; trên thực tế 891,3 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz; $CDCl_3$) δ 7,97 (s, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,44 - 7,41 (m, 5H), 7,14 - 7,11 (m, 2H), 7,07 (s, 1H), 6,94 (s, 1H), 5,32 (s, 1H), 5,23 (s, 1H), 5,18 (d, J = 11,9 Hz, 2H), 4,99 (s, 2H), 3,11 (s, 3H), 3,04 (dd, J = 2,0, 0,6 Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,07 (s, 6H), 1,83 (s, 3H), 1,71 - 1,69 (m, 1H), 1,61 (d, J = 0,4 Hz, 9H), 1,58—1,52 (m, 6H), 1,28 (s, 1H), 0,97 (td, J = 1,9, 1,2 Hz, 3H), 0,79 (t, J = 0,8 Hz, 1H).

Ví dụ 1C: chất tương tự rifamyxin 4-OH-Phenol (1c):

Chất tương tự 1c được điều chế bằng cách sử dụng hợp chất trung gian 4, quy trình tổng hợp được thể hiện trong Sơ đồ 3, dưới đây.



2-amino-5-((tert-butyldimetylsilyl) oxy)phenol (4):

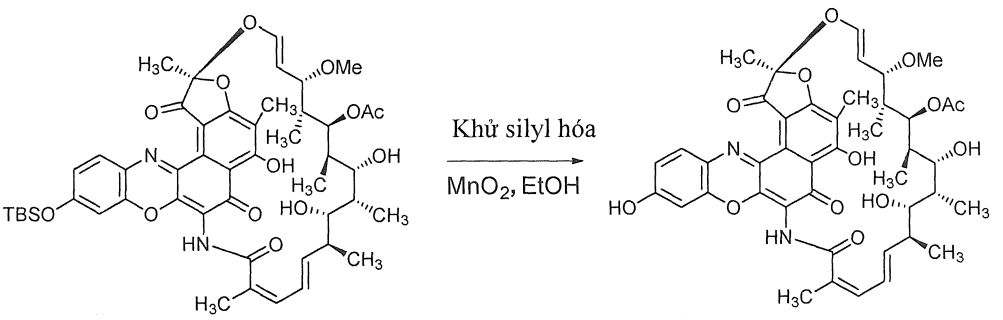
Tổng hợp hợp chất 3. Hợp chất 8 được điều chế từ sản phẩm trong Ví dụ 1B.

Dung dịch chứa 3-benzyloxy-4-nitrophenol 8 (400mg, 1,63mmol) trong điều kiện khí argon trong DMF (2mL) được bổ sung TBSCl (0,247 mL, 2,44mmol), imidazol (222mg, 3,26mmol), và DMAP (0,5mg). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm sau đó được pha loãng với etyl axetat (25mL), được rửa bằng nước (2 x 10mL), dung dịch nước muối (10mL), và được làm khô trên natri sulfat. Sản phẩm thô tinh chế bằng cột silicagel 40g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 0 → 20% EA trong hexan) và các phần tinh khiết được làm bay hơi để thu được hợp chất mong muốn 3 (540mg, 92%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{19}H_{25}N_2O_4Si$, 359,16; trên thực tế 382,1 (M+Na).

Tổng hợp hợp chất 4. Dung dịch trong điều kiện khí argon chứa hợp chất 3 (120mg, 0,33mmol) trong 3mL metanol (được khử khí bằng argon ba lần) được bổ sung Pd/C 10% (10mg). Hỗn hợp này được khử khí một lần nữa và được sục khí từ bóng hydro. Bóng hydro được gài vào qua vách ngăn và hỗn hợp được hóa già qua đêm. Hỗn hợp này được lọc qua Celite và được cô để thu được chất rắn màu xanh lá cây sẫm (71mg, 90%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{12}H_{21}NO_2Si$, 239,13; trên thực tế 240,2 (M+H).

Tổng hợp chất tương tự 1c. Dung dịch đang khuấy trong điều kiện khí argon chứa rifamyxin S (120mg, 0,172mmol) trong 10mL toluen ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung hợp chất 4 (46mg, 0,192mmol). Dung dịch hỗn hợp này được khuấy trong 3 ngày ở nhiệt độ trong phòng. Quy trình phản ứng được theo dõi bằng LC/MS, sau đó hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô. Phần cặn sẫm màu được hòa tan trong 10mL etanol, và 50mg (0,6mmol) mangan oxit (MnO_2) được bổ sung với một phần vào dung dịch etanol. Hỗn hợp phản ứng chậm được khuấy trong 12 h ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi lọc các nguyên liệu không tan bằng cách sử dụng đệm Celite, dịch lọc được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn sẫm màu được tinh chế trên cột silicagel 24 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 5 → 95% EA trong hexan). Các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 1c dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (48mg, 35%). MS: theo tính toán đối với

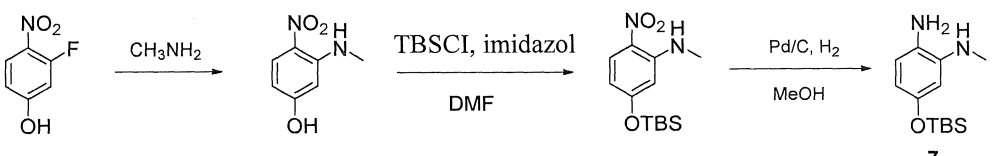
$C_{43}H_{48}N_2O_{13}$, 800,32; trên thực tế 801,3 (M+H), 799,2 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6) δ 11,43 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 9,33 - 9,32 (m, 1H), 7,82 (dt, J = 2,0, 1,0 Hz, 1H), 7,02 - 7,01 (m, 1H), 6,89 (t, J = 1,3 Hz, 1H), 6,04 (dd, J = 2,5, 0,9 Hz, 1H), 5,83 (dt, J = 1,9, 1,0 Hz, 1H), 5,25 - 5,24 (m, 1H), 4,78 - 4,77 (m, 1H), 4,14 - 4,14 (m, 1H), 3,52 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 3,07 (d, J = 0,7 Hz, 1H), 3,03 (t, J = 0,6 Hz, 3H), 2,89 (s, 1H), 2,78 (t, J = 2,7 Hz, 1H), 2,19 (d, J = 16,7 Hz, 3H), 1,99 (d, J = 12,2 Hz, 4H), 1,95 (t, J = 0,5 Hz, 4H), 1,67 (d, J = 1,9 Hz, 3H), 1,24 (s, 2H), 0,89 (dd, J = 2,5, 1,1 Hz, 2H), 0,85 (d, J = 6,5 Hz, 6H), 0,69 (d, J = 1,5 Hz, 3H).



1c-TBS **1c**

Ví dụ 1D: chất tương tự rifamyxin 4-OH-Phenol N-Metyl (1d):

Chất tương tự 1d được điều chế bằng cách sử dụng hợp chất trung gian 7, quy trình tổng hợp được thể hiện trong Sơ đồ 4, dưới đây.



5 **6** **7**

5-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-N1-metylbenzen-1,2-diamin (7):

Tổng hợp hợp chất 5. Hợp chất nêu ở tiêu đề được điều chế bằng cách sử dụng phương pháp được bộc lộ trong tài liệu PTC *Int. Appl.* 2008051805. Ống bịt kín được đặt hỗn hợp của 3-flo-4-nitrophenyl (1 g, 6,36mmol) và 2mL dung dịch chứa nước metylamin 40%. Bình thót cổ được bịt kín thông qua vách ngăn, được dẫn lọc bằng khí argon, và được gia nhiệt ở nhiệt độ 80°C trong bể dầu trong 18 giờ. Phản ứng hoàn tất theo phân tích LCMS và được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng. Dung dịch này được

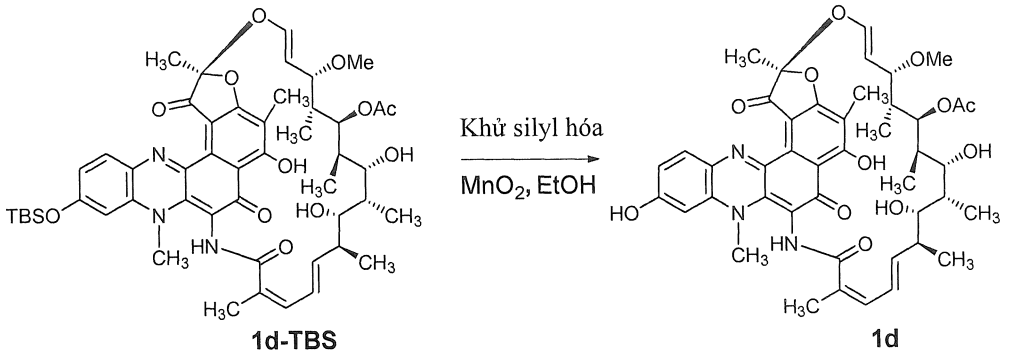
hòa tan bằng cách bổ sung nước (15-20mL) và được chiết bằng cách sử dụng etyl axetat (3 x 30mL). Sau đó lớp hữu cơ đã kết hợp được rửa bằng nước, nước muối, được làm khô (Na_2SO_4), và sau đó được cô để thu được sản phẩm thô, chất rắn màu nâu trắng 5 (900mg, 84%), được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_7H_8N_2O_3$, 168,05; trên thực tế 169,1 (M+H).

Tổng hợp hợp chất 6. Trong điều kiện khí argon, 3-(metylamino)-4-nitrophenol 5 (200mg, 1,19mmol) và imidazol (162mg, 2,38mmol) được hòa tan trong DMF khan với sự có mặt của DMAP xúc tác (0,7mg). Dung dịch màu vàng đã được khuấy được làm lạnh trong bể đá và TBSCl (269mg, 1,79mmol) được bổ sung theo một phần vào dung dịch màu vàng này. Sau 5 phút, bể được loại bỏ và dung dịch được để ấm đến nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp này được làm nguội bằng dung dịch $NaHCO_3$ bão hòa và được chiết bằng etyl axetat (2 x 25mL). Các chất hữu cơ liên kết được làm khô bằng cách bổ sung Na_2SO_4 và sau đó được cô để thu được sản phẩm thô. Phần cặn được tinh chế trên cột silicagel 24g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 0 → 90% EA trong hexan) và các phần tinh khiết được làm bay hơi sau đó được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 6 dưới dạng chất rắn màu vàng (220mg, 66%). MS: theo tính toán đối với $C_{13}H_{22}N_2O_3Si$, 282,14; trên thực tế 283,1 (M+H).

Tổng hợp hợp chất 7. Trong điều kiện khí argon, 5-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-N1-metylbenzen-1,2-diamin 6 (50mg, 0,177mmol) được hòa tan trong 2mL metanol. Dung dịch này được khử khí bằng khí argon ba lần sau đó bổ sung Pd/C (5mg) vào. Hỗn hợp này được khử khí thêm bằng khí argon và được nối với bóng hydro thông qua vách ngăn. Sau 2,5 h, phân tích bằng LC/MS từ phần phân ước đang xử lý cho thấy phản ứng hoàn tất. Hỗn hợp được lọc qua Celite và được cô để thu được 46mg hợp chất 7 về mặt định lượng, được sử dụng ngay trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS: theo tính toán đối với $C_{13}H_{24}N_2OSi$, 252,17; trên thực tế 253,2 (M+H).

Tổng hợp chất tương tự 1d. Dung dịch đang khuấy trong điều kiện khí argon chứa rifamyxin S (58mg, 0,083mmol) trong 3mL toluen ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung

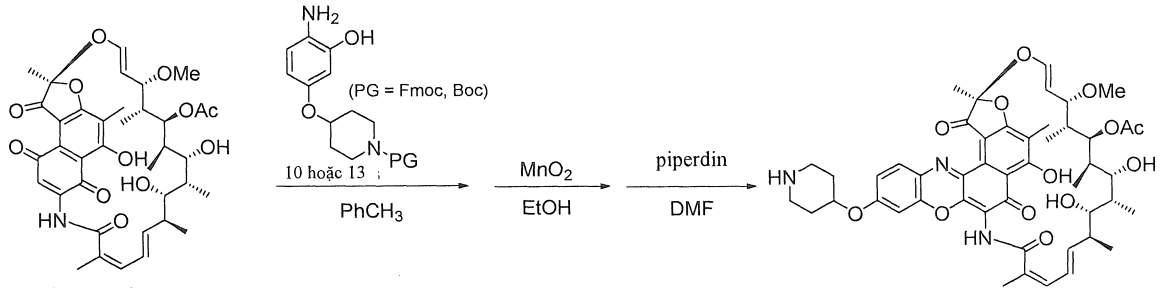
hợp chất 7 (21mg, 0,083mmol). Dung dịch này được khuấy trong 2 ngày ở nhiệt độ trong phòng. Quy trình phản ứng được theo dõi bằng LC/MS, sau đó dung dịch này được làm bay hơi đến khô. Phần cặn sẫm màu được hòa tan trong 5mL etanol và 10mg mangan oxit (MnO_2) được bổ sung với một phần vào dung dịch etanol. Hỗn hợp phản ứng chậm được khuấy trong 12 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi lọc các nguyên liệu không tan bằng cách sử dụng đệm Celite, dịch lọc được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn sẫm màu được tinh chế trên cột silicagel 12 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 5 → 95% EA trong hexan) và các phần tinh khiết được làm bay hơi sau đó được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 1d dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (22,3mg, 33%). Hợp chất này được phát hiện ra là không tinh khiết bằng LC/MS, vì thế nó được hòa tan trong MeCN/nước và được tinh chế lại trên cột 15,5 g C18 Aq Gold (gradien rửa giải: 10 – 95% MeCN trong nước, axit axetic 0,05% ở cả hai, trong 20 phút). Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp, được cấp đông trên đá khô, và được làm khô lạnh để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 1d dưới dạng chất rắn màu trắng (13,5mg, 20%). MS: theo tính toán đối với $C_{44}H_{51}N_3O_{12}$, 813,35; trên thực tế 814,3 (M+H), 812,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6) δ 11,31 (b, J = 0,8 Hz, 2H), 9,41 (s, 1H), 9,22 (s, 1H), 8,86 (s, 1H), 8,01 - 7,95 (m, 2H), 7,19 - 7,13 (m, 2H), 7,04 (s, 2H), 6,79 - 6,74 (m, 1H), 6,39 - 6,37 (m, 1H), 6,19 (t, J = 11,4 Hz, 2H), 6,08 (d, J = 12,4 Hz, 1H), 6,02 - 5,92 (m, 1H), 5,73 (d, J = 26,4 Hz, 1H), 5,49 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 5,28 (d, J = 0,6 Hz, 1H), 5,09 - 5,02 (m, 2H), 4,82 (dd, J = 11,5, 10,2 Hz, 1H), 4,54 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 4,36 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 3,96 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 3,88 (s, 1H), 3,83 (s, 1H), 3,79 (s, 1H), 3,70 (s, 1H), 3,09 (s, 1H), 2,91 (s, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,15 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 1,97 (s, 2H), 1,72 (s, 2H), 1,64 (s, 2H), 1,59 (s, 2H), 0,90 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 0,70 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 0,62 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 0,20 - 0,18 (m, 1H), 0,07 (d, J = 0,7 Hz, 1H).



1d-TBS 1d

Ví dụ 2: Tổng hợp chất tương tự 14 theo sáng chế

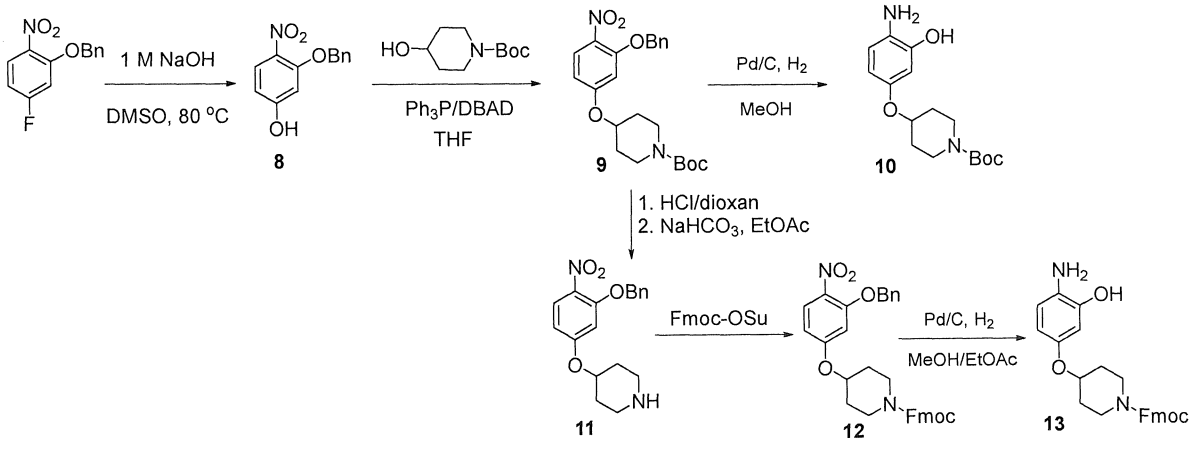
Chất tương tự rifamyxin 14 được tổng hợp từ rifamyxin S như được thể hiện trong Sơ đồ 5, dưới đây, và như được mô tả dưới đây.



Ryfamyxin S 14

Ví dụ 2A: Điều chế hợp chất (10 và 13):

Hợp chất trung gian 10 và hợp chất trung gian 13 được điều chế theo Sơ đồ 6, được thể hiện dưới đây.



8 9 10 11 12 13

Tổng hợp hợp chất 8. Hợp chất nêu ở tiêu đề được điều chế bằng cách sử dụng

phương pháp đã thay đổi một chút được báo cáo bởi Otten *et. al.* (*Bioconjugate Chem.* 2001, *12*, 76−83). Dung dịch chứa 3-flo-4-nitrophenyl (2,09 g, 8,45mmol) trong DMSO (10mL) được bổ sung NaOH 1M (10mL) và được gia nhiệt đến 80°C trên khối gia nhiệt trong 18 giờ. Phản ứng hoàn tất theo LCMS và được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được axit hóa bằng HCl 1M (15-20mL) cho đến khi độ pH = 3-4 và dung dịch thu được được chiết bằng cách sử dụng etyl axetat (3 x 30mL). Các lớp hữu cơ liên kết được rửa bằng nước, nước muối, được làm khô (Na_2SO_4), và được cô trong chân không. Sau đó dầu thô được tinh chế trên cột silicagel 80 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 0 → 100% etyl axetat trong hexan) và các phần tinh khiết được làm bay hơi sau đó được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 8 dưới dạng chất rắn màu trắng hơi vàng (1,51g, 73%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{13}H_{11}NO_4$, 245,1; trên thực tế 268,1 (M+Na), 244,1 (M-H).

Tổng hợp hợp chất 9. Dung dịch đang khuấy trong điều kiện khí argon chứa hợp chất 8 (1,51g, 6,157mmol) trong THF (16mL) ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung BOC-piperidin-4-ol (1,61g, 8,005mmol) và PPh_3 (2,91g, 11,083mmol). Dung dịch chứa DBAD (2,55g, 11,083mmol) trong THF (9mL) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng từng giọt. Sau khi khuấy trong 16 giờ, hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô và phần cặn được tinh chế trên cột silicagel 40 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 0 → 100% etyl axetat trong hexan) và các phần tinh khiết được làm bay hơi sau đó được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 9 dưới dạng chất rắn màu trắng hơi vàng (2,41g, 91%). MS: theo tính toán đối với $C_{23}H_{28}N_2O_6$, 428,2; trên thực tế 451,1 (M+Na).

Tổng hợp hợp chất 10. Dung dịch đã được khử khí trong điều kiện khí argon chứa hợp chất 9 (100mg, 0,233mmol) trong 3mL metanol được bổ sung 5mg Pd/C 10%. Hỗn hợp này được khử khí thêm và được nối với bóng hydro. Sau 2,5 giờ, phân tích bằng LC/MS từ phần phân ước đang xử lý cho thấy phản ứng hoàn tất. Hỗn hợp này được lọc qua Celite và được cô để thu được 75mg hợp chất 10 về mặt định lượng, được sử dụng ngay trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS: theo tính toán đối với

$C_{16}H_{24}N_2O_4$, 308,17; trên thực tế 331,2 (M+Na), 307,1 (M-H).

Tổng hợp hợp chất 11. Dung dịch chứa hợp chất 9 (1100mg, 2,561mmol) trong 1,4-dioxan (15mL) được bổ sung HCl 4M trong 1,4-dioxan (5mL). Sau khi khuấy trong 15 h, phần phân ước đang xử lý cho thấy phản ứng hoàn tất. Dung dịch này được bổ sung dietyl ete (50mL), sau đó hỗn hợp này được khuấy mạnh trong 1 giờ cho đến khi chất kết tủa màu trắng xuất hiện. Chất rắn được lọc và được rửa bằng ete để thu được muối HCl của hợp chất 11. Chất rắn màu trắng được bổ sung EtOAc (10mL) và $NaHCO_3$ bão hòa (15mL) cho đến khi độ pH = 8-9 và được khuấy trong 15 phút. Hai lớp được tách và lớp chứa nước được chiết bằng EtOAc (3 x 30mL). Các lớp hữu cơ liên kết được làm khô (Na_2SO_4) và được cô trong chân không để thu được hợp chất 11 (372mg, 44%) mà được sử dụng ngay trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS: theo tính toán đối với $C_{18}H_{21}N_2O_4$, 328,1; trên thực tế 329,1 (M+H).

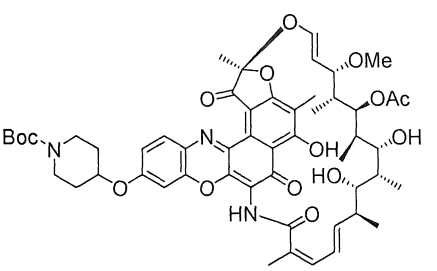
Tổng hợp hợp chất 12. Dung dịch trong điều kiện khí argon chứa hợp chất 11 (372mg, 1,128mmol) trong 1,4-dioxan/nước (thể tích/thể tích, 10:1, 11mL) được bổ sung Fmoc-OSu (399mg, 1,184mmol). Sau khi khuấy trong 15 giờ, phân tích LC/MS đang thực hiện cho thấy phản ứng hoàn tất. Hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không để thu được hợp chất 12 mà được sử dụng ngay trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS: theo tính toán đối với $C_{33}H_{30}N_2O_6$, 550,2; trên thực tế 551,2 (M+H).

Tổng hợp hợp chất 13. Dung dịch trong điều kiện khí argon chứa hợp chất 12 (72mg, 0,131mmol) trong 2mL metanol và được khử khí bằng khí argon được bổ sung 9mg Pd/C 10%. Hỗn hợp này được khử khí thêm bằng khí argon và được nối với bóng hydro. Sau 45 phút, phân tích bằng LC/MS từ phần phân ước đang xử lý cho thấy phản ứng hoàn tất. Hỗn hợp được lọc qua Celite và được cô trong chân không để thu được 55mg hợp chất 13 về mặt định lượng, được sử dụng ngay trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS: theo tính toán đối với $C_{26}H_{26}N_2O_4$, 430,1; trên thực tế 431,2 (M+H).

Ví dụ 2B: Điều chế chất tương tự 14 từ hợp chất trung gian 10

Tổng hợp hợp chất 14-Boc: Dung dịch đang khuấy chứa rifamyxin S (100mg,

0,143mmol) trong 5mL toluen ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung hợp chất 10 (44mg, 0,143mmol). Dung dịch hỗn hợp được khuấy trong 4 ngày ở nhiệt độ trong phòng. Quy trình phản ứng được theo dõi bằng LC/MS cho đến khi hoàn tất, sau đó hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô. Phần cặn sẫm màu được hòa tan trong 10mL etanol và 62mg (0,715mmol) mangan oxit (MnO_2) được bổ sung một phần vào dung dịch etanol. Hỗn hợp phản ứng chậm được khuấy trong 15 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi lọc các nguyên liệu không tan bằng cách sử dụng đệm Celite, dịch lọc được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn sẫm màu được tinh chế trên cột silicagel 12g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 5% → 95% etyl axetat trong hexan). Sau khi cô trong điều kiện áp suất giảm sản phẩm thô (độ tinh khiết khoảng 85%) được tinh chế lại trên cột 50 g C18 Aq Gold (gradien rửa giải: 10 – 95% MeCN trong nước, axit axetic 0,05% trong cả hai). Các phần tinh khiết được kết hợp, được cấp đông trên đá khô, và được làm khô lạnh để thu được 14-Boc dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (36mg, 26%). MS: theo tính toán đối với $C_{53}H_{65}N_3O_{15}$, 983,44; trên thực tế 984,4 (M+H).

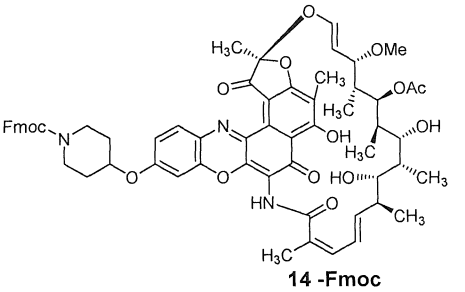


14 -Boc

Tổng hợp hợp chất 14: 14-Boc (30mg, 0,03mmol) được xử lý bằng hỗn hợp của TFA/axetonitril/nước (0,25mL/5mL/5mL) ở nhiệt độ trong phòng trong 20 giờ để thu được hợp chất 14. Hỗn hợp phản ứng được tinh chế trên cột 15,5g C18 Aq. Gold thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 10% - 100% MeCN trong nước, axit axetic 0,05% ở cả hai, trong 30 phút). Phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp, được cấp đông trên đá khô, và được làm khô lạnh qua đêm để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 14 (10mg, 37%) dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm. MS: theo tính toán đối với $C_{48}H_{57}N_3O_{13}$, 883,4; trên thực tế 884,3 (M+H).

Ví dụ 2C: Điều chế chất tương tự 14 từ hợp chất trung gian 13

Tổng hợp hợp chất 14: bình thót cổ đáy tròn chứa hydroxyanilin 13 (55mg, 0,1278mmol) được bổ sung toluen (1,5mL) và rifamyxin S (67mg, 0,0956mmol). Hỗn hợp phản ứng được nghiền bằng sóng âm trong 1 phút để hòa tan hỗn hợp phản ứng, được bịt kín bằng vách ngăn cao su, được dẫn lọc bằng khí argon, và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 2 ngày, một phần khác của hydroxyanilin (45mg, 0,1045mmol) được bổ sung vào và được khuấy trong 1 ngày. Hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không để loại bỏ toluen, được hòa tan trong EtOH (6mL) và MnO_2 (20mg) được bổ sung vào. Sau khi khuấy trong 3 ngày, hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không và được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trên cột silicagel 40 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 0 → 100% etyl axetat trong hexan). Các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 14-Fmoc dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (35mg, 33%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{63}H_{67}N_3O_{15}$, 1105,4; trên thực tế 1106,5 (M+H), 1128,5 (M+Na).



14 -Fmoc

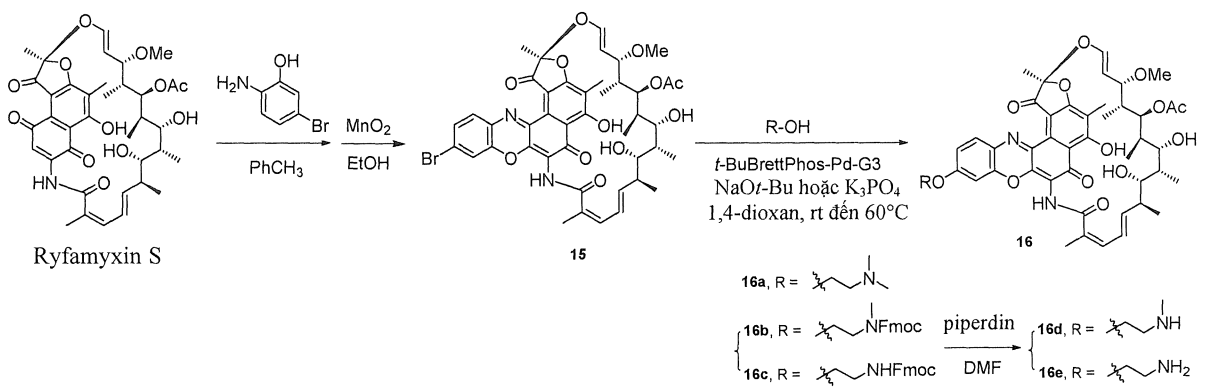
Dung dịch đã được khuấy trong điều kiện khí argon chứa Fmoc-rifamyxin-piperidine-O-phenol 14-Fmoc trong bước trước đó (35mg, 0,0361mmol) trong *N,N*-dimetylformamit (DMF, 1mL), được xử lý bằng dung dịch chứa piperidin 2% (3,5mg, 0,2mL, 0,0411mmol) trong DMF và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 2 h, hỗn hợp phản ứng được tinh chế trực tiếp trên cột 50 g C18 RediSep Gold thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 – 100% MeCN trong nước, axit axetic 0,05% ở cả hai, trong 30 phút). Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp, được cấp đông trên đá khô, và được làm khô lạnh qua đêm để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề

14 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (12mg, 43%). MS: theo tính toán đối với $C_{48}H_{57}N_3O_{13}$, 883,4; trên thực tế 884,3 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6) δ 9,40 (s, 1H), 7,87 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 7,16 – 7,23 (m, 4H), 5,99 – 6,05 (m, 2H), 5,76 – 5,85 (m, 2H), 5,18 – 5,23 (m, 2H), 4,83 – 4,95 (m, 2H), 4,80 (br. s, 2H), 4,12 (br. S., 1H), 2,91 – 3,18 (m, 13H), 2,88 (s, 1H), 2,78 (t, J = 0,9 Hz, 2H), 2,67 (s, 2H), 2,22 (d, J = 3,7 Hz, 4H), 2,15 (s, 2H), 2,02 (s, 2H), 1,96 (d, J = 1,2 Hz, 2H), 1,90 (s, 1H), 1,68 (s, 2H), 0,85 – 0,92 (m, 12H), 0,69 (br. s, 9H).

Ví dụ 3: Tổng hợp các chất tương tự từ 16a đến 16z-1 theo sáng chế

Các chất tương tự rifamyxin 16a-16z-1 được tổng hợp từ rifamyxin S như được thể hiện trong Sơ đồ 7 và Sơ đồ 7a, dưới đây, và như được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 7



O-alkyl hóa xúc tác bằng Pd (16a-16z-1):

Tổng hợp hợp chất 15. Dung dịch đang khuấy trong điều kiện khí argon chứa rifamyxin S (2,0g, 2,87mmol) trong 80mL toluen ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung 2-amino-5-bromophenol (0,54g, 2,87mmol). Dung dịch này được khuấy trong 2 ngày ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi đến khô và phần cặn sẫm màu được hòa tan trong 20mL etanol và 300mg mangan oxit (MnO_2) được bổ sung theo một phần vào dung dịch etanol. Hỗn hợp phản ứng chậm được khuấy trong điều kiện khí argon trong 15 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi lọc các nguyên liệu không tan bằng cách sử dụng đệm Celite, dịch lọc được làm bay hơi trong điều kiện áp suất

giảm. Phần cặn sẫm màu được tinh chế trên cột silicagel 120 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 5 → 95% EA trong hexan). Các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 15 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (1,6g, 65%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{43}H_{47}BrN_2O_{13}$, 862,23; trên thực tế 863,1 và 865,1 (M+H), 885,1 và 888,0 (M+Na). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,49 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 7,92 (ddd, J = 3,6, 2,9, 1,8 Hz, 1H), 7,86 - 7,85 (m, 1H), 7,75 - 7,74 (m, 1H), 6,06 - 6,05 (m, 1H), 5,84 (dt, J = 2,6, 1,4 Hz, 2H), 5,25 - 5,23 (m, 2H), 4,80 (dt, J = 2,5, 1,0 Hz, 1H), 4,23 (td, J = 2,4, 1,0 Hz, 1H), 3,49 (d, J = 1,1 Hz, 1H), 3,10 - 3,09 (m, 2H), 3,03 (s, 3H), 2,79 (s, 1H), 2,19 (s, 3H), 2,01 (s, 4H), 1,96 (s, 4H), 1,81 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 1,68 (s, 3H), 1,60 (dq, J = 2,8, 0,9 Hz, 1H), 1,48 (t, J = 1,4 Hz, 1H), 0,90 (dt, J = 2,1, 1,1 Hz, 2H), 0,84 (d, J = 7,1 Hz, 4H), 0,69 (dd, J = 2,2, 1,2 Hz, 5H).

Tổng hợp hợp chất 16a. Bằng cách sử dụng phương pháp tương tự được báo cáo bởi Buchwald S. L. *et al.* (*Org. Lett.* 2018, *20*, 1580), quy trình ghép cặp C-O được xúc tác bằng paladi của rượu bậc một với hợp chất 15 được sử dụng cho hợp chất nêu ở tiêu đề 16a-16c. Ống thử nghiệm 2 dram có nắp vặn sấy khô bằng lò, được trang bị thanh khuấy, và được bịt kín bằng nắp vặn được nạp hợp chất 15 (40mg, 0,0463mmol, 1,00 đương lượng), 2-(dimetylamino)etan-1-ol (42mg, 0,462mmol, 10 đương lượng), tBuBrettPhos Pd G3-palladacycle (11,8mg, 30% mol), và NaO*t*-Bu (5mg, 0,051mmol, 1,1 đương lượng). Ống phản ứng được đậy lại bằng vách ngăn và được đâm xuyên bằng kim đã gắn vào để hút chân không và được làm đầy lại bằng argon (quy trình này được lặp lại hai lần) sau đó bổ sung 1,4-dioxan (2,0mL) thông qua xi lanh. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 55°C ± 5 trong bể dầu trong điều kiện áp suất argon trong 15 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng trước khi lọc qua đệm Celite® và được rửa bằng EtOAc. Nguyên liệu được cô trong chân không và được tinh chế trên cột 15,5 g C18 Aq Gold (gradien rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, axit axetic 0,05% trong cả hai). Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp, được cấp đông trên đá khô, và được làm khô lạnh để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 16a dưới dạng chất rắn

màu đỏ sẫm (12,5mg, 32%). MS: theo tính toán đối với $C_{47}H_{57}N_3O_{13}$, 871,39; trên thực tế 872,3 (M+H), 870,2 (M-H). ^{1}H NMR (300MHz; DMSO-d_6) δ 9,40 (s, 1H), 7,87 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 7,23—7,16 (m, 2H), 6,83 (dt, J = 2,3, 1,1 Hz, 1H), 6,23 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 6,06 (dd, J = 5,9, 1,1 Hz, 1H), 5,82 (dd, J = 2,3, 1,5 Hz, 2H), 5,24 (dt, J = 1,4, 0,7 Hz, 1H), 4,83—4,75 (m, 1H), 4,24 (d, J = 29,9 Hz, 3H), 3,80 (d, J = 1,3 Hz, 1H), 3,03 (t, J = 0,5 Hz, 3H), 2,88 (s, 1H), 2,78 (t, J = 0,9 Hz, 2H), 2,67 (s, 2H), 2,22 (d, J = 3,7 Hz, 4H), 2,15 (s, 2H), 2,02 (s, 2H), 1,96 (d, J = 1,2 Hz, 2H), 1,90 (s, 1H), 1,68 (s, 2H), 0,85 (d, J = 6,7 Hz, 3H), 0,69 (t, J = 1,2 Hz, 3H).

Tổng hợp hợp chất 16b. Lọ dung tích 8mL có nắp vặn sấy khô bằng lò, được trang bị thanh khuấy, và được bịt kín bằng nắp vặn được nạp hợp chất 15 (40mg, 0,0463mmol, 1,00 đương lượng), Fmoc-glycinol (131mg, 0,463mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (16mg, 0,4 đương lượng), và K_3PO_4 (20mg, 0,0942mmol, 2,0 đương lượng). Lọ phản ứng được đậy bằng vách ngăn cao su, được đâm xuyên bằng kim đã gắn vào để hút chân không và được làm đầy lại bằng khí argon (quy trình này được lặp lại hai lần), sau đó đến bổ sung 1,4-dioxan (2,0mL). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 60°C trong khối gia nhiệt trong điều kiện áp suất argon trong 15 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng trước khi lọc qua đệm Celite® và được rửa bằng MeOH. Nguyên liệu được cô trong chân không và được tinh chế trên cột 50 g C18 Aq Gold (gradien rửa giải: 5 - 100% MeCN trong nước, axit axetic 0,05% trong cả hai). Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp, được cấp đông trên đá khô, và được làm khô lạnh để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 16b dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (19mg, 38%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{60}H_{63}N_3O_{15}$, 1065,4; trên thực tế 1066,4 (M+H).

Tổng hợp hợp chất 16d. Hợp chất 16b trong bước trước đó (26mg, 0,0244mmol) được hòa tan trong DMF (1mL), được xử lý bằng dung dịch chứa piperidin 2% (3,1mg, 0,2mL, 0,0366mmol) trong DMF và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong điều kiện khí argon ở nhiệt độ môi trường. Sau 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được tinh chế trực tiếp trên cột 50 g C18 Aq Gold thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 - 100% MeCN trong

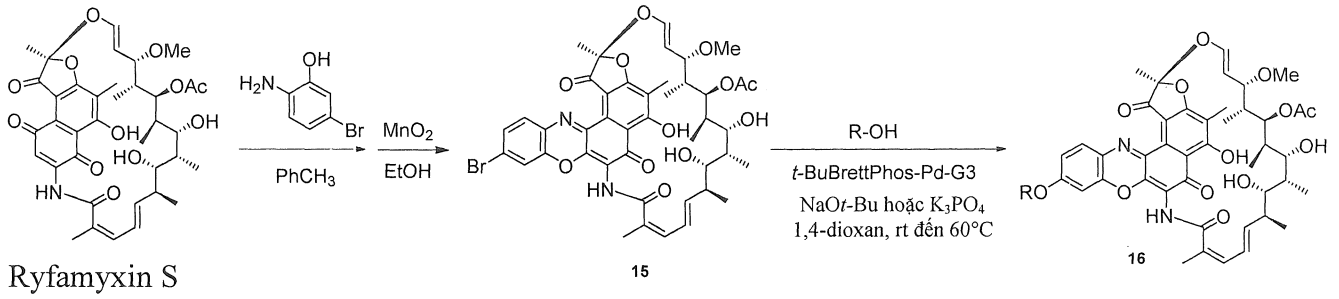
nước, axit axetic 0,05% ở cả hai, trong 30 phút). Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp, được cấp đông trên đá khô, và được làm khô lạnh qua đêm để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 16d dưới dạng chất rắn màu xanh dương sẫm (9mg, 44%). MS: theo tính toán đối với $C_{45}H_{53}N_3O_{13}$, 843,4; trên thực tế 844,4 (M+H), 842,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; CD_3OD): δ 7,83 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,91 - 7,03 (m, 2H), 6,55 (s, 1H), 6,43 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 6,21 - 6,30 (m, 2H), 4,98 - 5,08 (m, 2H), 3,76 (br. s, 3H), 3,43 - 3,47 (m, 1H), 3,41 (d, J = 5,37 Hz, 2H), 3,12 (br. s, 1H), 2,97 - 3,04 (m, 4H), 2,39 (br. s, 1H), 2,19 - 2,32 (m, 4H), 2,09 - 2,14 (m, 4H), 1,95 - 2,07 (m, 4H), 1,78 (s, 4H), 1,67 (d, J = 6,84 Hz, 1H), 1,31 (br. s., 2H), 0,97 (br. s, 8H), 0,66 - 0,85 (m, 4H), 0,08 (d, J = 5,5 Hz, 3H), -0,26 (d, J = 6,5 Hz, 3H).

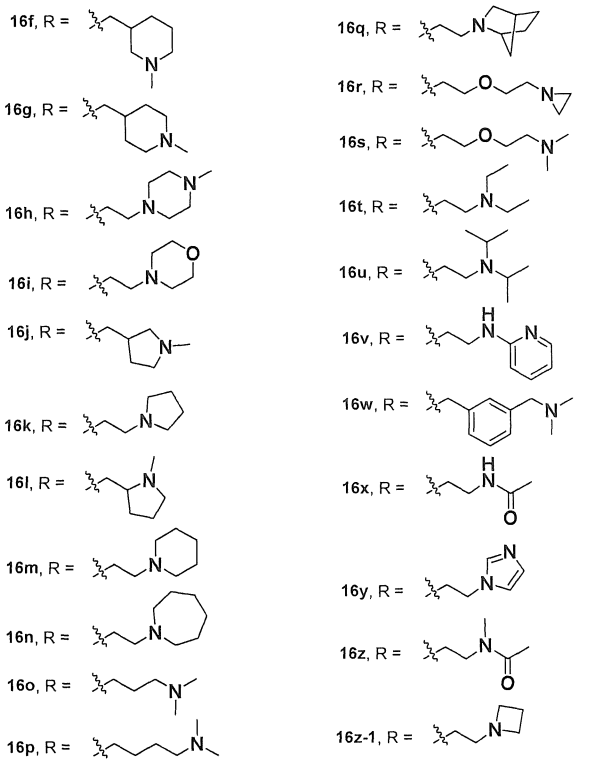
Tổng hợp hợp chất 16c. Lọ dung tích 8mL có nắp vặn sấy khô bằng lò, được trang bị thanh khuấy và được bịt kín bằng nắp vặn được nạp hợp chất 15 (80mg, 0,0926mmol, 1,00 đương lượng), Fmoc-sarcosinol (275mg, 0,9262mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (40mg, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (39mg, 0,1852mmol, 2 đương lượng). Lọ phản ứng được đậy bằng vách ngăn cao su, được đâm xuyên bằng kim đã gắn vào để hút chân không và được làm đầy lại bằng khí argon (quy trình này được lặp lại hai lần) sau đó bổ sung 1,4-dioxan (3,0mL) thông qua xi lanh. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 60°C trong khối gia nhiệt trong điều kiện áp suất argon trong 15 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng trước khi lọc qua đệm Celite® và được rửa bằng MeOH. Nguyên liệu được cô trong chân không và được tinh chế trên cột 50 g C18 Aq Gold (gradien rửa giải: 5 - 100% MeCN trong nước, axit axetic 0,05% trong cả hai). Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp, được cấp đông trên đá khô, và được làm khô lạnh để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 16c dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (49mg, 49%). MS: theo tính toán đối với $C_{61}H_{65}N_3O_{15}$, 1079,4; trên thực tế 1080,5 (M+H).

Tổng hợp hợp chất 16e. Hợp chất 16c trong bước trước đó (49mg, 0,045mmol) được hòa tan trong DMF (1mL), được xử lý bằng dung dịch chứa piperidin 2% (7,7mg, 0,45mL, 0,091mmol) trong DMF và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong điều kiện khí

argon ở nhiệt độ môi trường. Sau 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được tinh chế trực tiếp trên cột 50 g C18 Aq Gold thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 - 100% MeCN trong nước, axit axetic 0,05% ở cả hai, trong 30 phút). Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp, được cấp đông trên đá khô, và được làm khô lạnh qua đêm để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 16e dưới dạng chất rắn màu xanh dương sẫm (18mg, 46%). MS: theo tính toán đối với $C_{46}H_{55}N_3O_{13}$, 857,3; trên thực tế 858,3 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz; CD_3OD): δ 7,84 (d, J = 8,79 Hz, 1H), 7,11 - 7,20 (m, 1H), 6,88 - 6,96 (m, 1H), 6,64 (s, 1H), 6,42 (d, J = 10,26 Hz, 1H), 6,17 - 6,28 (m, 2H), 4,93 - 5,06 (m, 2H), 3,86 (br. s, 1H), 3,66 - 3,84 (m, 8H), 3,18 - 3,31 (m, 7H), 3,10 (br. s, 2H), 2,94 - 3,05 (m, 6H), 2,37 (br. s, 1H), 2,25 (d, J = 4,88 Hz, 4H), 2,05 - 2,22 (m, 7H), 1,85 - 2,05 (m, 7H), 1,78 (s, 6H), 1,65 (br. s, 1H), 1,30 (br. s., 2H), 0,95 (br. s, 8H), 0,82 - 0,92 (m, 4H), 0,78 (br. s., 1H), 0,70 (br. s, 1H), 0,03 (d, J = 5,86 Hz, 3H), -0,28 (d, J = 5,86 Hz, 3H).

Sơ đồ 7a





Hợp chất 16f: Lọ dung tích 8mL có nắp vặn sấy khô bằng lò, được trang bị thanh khuấy và được bịt kín bằng nắp vặn được nạp hợp chất 15 (40mg, 0,0463mmol, 1,00 đương lượng), (1-metylpiperidin-3-yl)metanol (60mg, 0,463mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (19mg, 0,0222mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (20mg, 0,0942mmol, 2,0 đương lượng). Lọ phản ứng được đậy bằng vách ngăn cao su. Vách ngăn này được đâm xuyên bằng kim đã gắn vào để hút chân không và được làm đầy lại bằng khí argon (quy trình này được lặp lại hai lần) sau đó đến bổ sung 1,4-dioxan (2,0mL). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 60°C trong khối gia nhiệt trong điều kiện áp suất argon trong 15 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng trước khi lọc qua đệm Celite® và được rửa bằng MeOH. Nguyên liệu được

cô trong chân không và được tinh chế trên cột 50 g C18 Aq Gold (gradien rửa giải: 5 - 100% MeCN trong nước, axit axetic 0,05% trong cả hai). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp, được cấp đông trên đá khô, và được làm khô lạnh để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 16f dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (16,2mg, 39%). MS: theo tính toán đối với $C_{50}H_{61}N_3O_{13}$, 911,4; trên thực tế 912,4 (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,38 (s, 1H), 7,86-7,84 (m, 1H), 7,19-7,18 (m, 2H), 6,06 (td, *J* = 2,9, 1,9 Hz, 1H), 5,86-5,80 (m, 1H), 5,24-5,21 (m, 1H), 4,80-4,76 (m, 1H), 4,08-4,07 (m, 2H), 3,51 (ddq, *J* = 5,7, 2,9, 1,0 Hz, 1H), 3,09 (t, *J* = 0,6 Hz, 2H), 3,02-3,01 (m, 3H), 2,77 (d, *J* = 0,7 Hz, 3H), 2,61-2,59 (m, 1H), 2,14 (s, 6H), 2,00 (s, 3H), 1,95-1,94 (m, 3H), 1,83-1,76 (m, 2H), 1,66 (s, 9H), 1,50-1,47 (m, 3H), 1,37 (d, *J* = 15,9 Hz, 3H), 1,27-1,20 (m, 2H), 1,07 (d, *J* = 6,5 Hz, 2H), 0,85 (d, *J* = 6,5 Hz, 6H), 0,70-0,67 (m, 3H).

Hợp chất 16g: hợp chất 16g được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (40mg, 0,0463mmol, 1,00 đương lượng), (1-metylpiperidin-4-yl)-metanol (90mg, 0,719mmol, 15 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (21mg, 0,0245mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (23mg, 0,108mmol, 2,3 đương lượng) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 16g (5,6mg, 13%). MS: theo tính toán đối với $C_{50}H_{61}N_3O_{13}$, 911,4; trên thực tế 912,4 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz, CD_3OD): δ 8,01 (br. s., 1H), 7,18 (br. s., 1H), 6,94 (br. s., 2H), 6,43 (br. s., 1H), 6,23 (br. s., 2H), 5,06 (br. s., 1H), 5,01 (br. s., 1H), 4,01 - 4,19 (m, 1H), 3,93 (br. s., 1H), 3,75 (br. s., 1H), 3,07 (br. s., 1H), 2,86 - 3,05 (m, 7H), 2,33 - 2,45 (m, 4H), 2,30 (br. s., 4H), 2,11 - 2,20 (m, 5H), 1,98 (br. s., 4H), 1,83 - 1,93 (m, 4H), 1,78 (br. s., 4H), 1,48 (d, *J* = 11,72 Hz, 2H), 1,32 (d, *J* = 18,07 Hz, 1H), 0,95 (br. s., 8H), 0,80 (br. s., 2H), 0,03 (br. s., 2H), -0,23 (br. s., 2H).

Hợp chất 16h: hợp chất 16h được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (40mg, 0,0463mmol, 1,00 đương lượng), 2-(4-metylpiperazin-1-yl)etan-1-ol (80mg, 0,554mmol, 12 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (20mg, 0,0234mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (23mg, 0,108mmol, 2,3 đương lượng) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 16h (9,6mg,

22%). MS: theo tính toán đối với $C_{50}H_{62}N_4O_{13}$, 926,4; trên thực tế 927,4 (M+H), 925,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,36-9,41 (m, 1H), 7,87 (br. s., 1H), 7,19 (br. s., 2H), 5,81 (br. s., 1H), 5,25 (br. s., 1H), 4,78 (br. s., 1H), 4,31 (br. s., 1H), 4,23 (br. s., 1H), 4,16 (br. s., 1H), 3,51 (br. s., 1H), 3,03 (br. s., 2H), 2,86 (d, J = 10,75 Hz, 1H), 2,78 (br. s., 1H), 2,72 (br. s., 3H), 2,31 (br. s., 5H), 2,14 (br. s., 7H), 2,10 (br. s., 1H), 2,01 (br. s., 5H), 1,95 (br. s., 3H), 1,90 (br. s., 2H), 1,67 (br. s., 3H), 1,59 (br. s., 1H), 1,51 (br. s., 1H), 1,26 - 1,46 (m, 1H), 1,23 (br. s., 1H), 0,85 (br. s., 8H), 0,79 (br. s., 2H), 0,69-0,67 (m, 5H).

Hợp chất 16i: hợp chất 16i được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (30mg, 0,0347mmol, 1,00 đương lượng), 2-morpholinoetan-1-ol (46mg, 0,347mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (15mg, 0,0173mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (15mg, 0,0704mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 69% (22mg). MS: theo tính toán đối với $C_{49}H_{59}N_3O_{14}$, 913,40; trên thực tế 914,3 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,41-9,40 (m, 1H), 7,86 (dd, J = 5,2, 2,0 Hz, 1H), 7,23-7,18 (m, 2H), 6,06-6,03 (m, 1H), 5,83-5,81 (m, 1H), 5,25-5,24 (m, 1H), 4,79-4,78 (m, 1H), 4,33-4,31 (m, 1H), 4,33-4,16 (m, 3H), 3,58 (s, 5H), 3,09-3,03 (m, 4H), 2,73 (s, 2H), 2,16 (s, 4H), 1,99 (d, J = 29,4 Hz, 8H), 1,67 (s, 3H), 1,52 (d, J = 4,2 Hz, 2H), 1,13 (d, J = 13,8 Hz, 1H), 0,85 (d, J = 6,5 Hz, 10H), 0,69-0,67 (m, 8H).

Hợp chất 16j: hợp chất 16j được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (30mg, 0,0347mmol, 1,00 đương lượng), (1-metylpyrolidin-3-yl)metanol (40mg, 0,347mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (15mg, 0,0173mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (15mg, 0,0704mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 23% (7,0mg). MS: theo tính toán đối với $C_{49}H_{59}N_3O_{13}$, 897,40; trên thực tế 898,4 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,39-9,38 (m, 1H), 7,89-7,86 (m, 1H), 7,19 (t, J = 7,0 Hz, 2H), 6,05-6,03 (m, 1H), 5,86-5,80 (m, 1H), 5,25-5,23 (m, 1H), 4,80-4,78 (m, 1H), 4,17-4,15 (m, 1H), 4,14-4,09 (m, 1H), 3,99 (s, 1H), 3,52-3,49 (m, 1H), 3,09-3,03 (m, 3H), 2,78-2,77 (m, 1H), 2,37 (dt,

J = 5,5, 2,7 Hz, 2H), 2,21 (d, J = 35,5 Hz, 6H), 1,98 (d, J = 31,1 Hz, 7H), 1,67-1,59 (m, 3H), 1,60-1,58 (m, 1H), 1,53-1,47 (m, 2H), 1,39-1,34 (m, 2H), 0,84 (d, J = 6,8 Hz, 11H), 0,67 (t, J = 2,9 Hz, 7H).

Hợp chất 16k: hợp chất 16k được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (50mg, 0,0579mmol, 1,00 đương lượng), 2-(pyrolidin-1-yl)etan-1-ol (67mg, 0,579mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (25mg, 0,0289mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (25mg, 0,1158mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 46% (23,6mg). MS: theo tính toán đối với $C_{49}H_{59}N_3O_{13}$, 897,40; trên thực tế 898,4 (M+H), 896,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,38 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 7,88-7,87 (m, 1H), 7,21 (s, 1H), 6,05-6,03 (m, 1H), 5,82 (dd, J = 1,3, 0,7 Hz, 1H), 5,25-5,20 (m, 1H), 4,81-4,79 (m, 1H), 4,33-4,30 (m, 1H), 4,24-4,15 (m, 1H), 3,54-3,50 (m, 2H), 3,09-3,03 (m, 6H), 2,85-2,78 (m, 6H), 2,18 (s, 4H), 1,99 (d, J = 31,9 Hz, 5H), 1,70 (s, 6H), 1,15-1,05 (m, 1H), 0,85 (d, J = 6,7 Hz, 11H), 0,68 (dt, J = 3,6, 0,9 Hz, 9H).

Hợp chất 16l: hợp chất 16l được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (50mg, 0,0579mmol, 1,00 đương lượng), (1-metylpyrolidin-2-yl)metanol (67mg, 0,579mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (25mg, 0,0289mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (25mg, 0,1158mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 35% (17,7mg). MS: theo tính toán đối với $C_{49}H_{59}N_3O_{13}$, 897,40; trên thực tế 898,4 (M+H), 896,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,38-9,37 (m, 1H), 7,88-7,87 (m, 1H), 7,20-7,18 (m, 1H), 6,06-6,04 (m, 1H), 5,84-5,82 (m, 1H), 5,25-5,24 (m, 1H), 4,81-4,79 (m, 1H), 4,19-4,11 (m, 2H), 3,54-3,50 (m, 1H), 3,10-3,07 (m, 1H), 3,03 (s, 2H), 2,97-2,96 (m, 1H), 2,79-2,78 (m, 3H), 2,64-2,61 (m, 6H), 2,37 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 1,99 (d, J = 32,7 Hz, 6H), 1,68 (s, 3H), 1,68-1,57 (m, 3H), 1,55-1,45 (m, 1H), 0,85 (d, J = 6,7 Hz, 11H), 0,69-0,67 (m, 7H).

Hợp chất 16m: hợp chất 16m được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (50mg, 0,0579mmol, 1,00 đương

lượng), 2-(piperidin-1-yl)etan-1-ol (75mg, 0,579mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (25mg, 0,0289mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (25mg, 0,1158mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 54% (28,3mg). MS: theo tính toán đối với $C_{50}H_{61}N_3O_{13}$, 911,42; trên thực tế 912,4 (M+H), 910,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,38-9,36 (m, 1H), 7,88-7,86 (m, 1H), 7,22 (dt, J = 1,7, 0,8 Hz, 1H), 6,07-6,05 (m, 1H), 5,83-5,82 (m, 1H), 5,26-5,22 (m, 1H), 4,81-4,78 (m, 1H), 4,31 (dd, J = 2,5, 1,0 Hz, 1H), 4,23-4,15 (m, 1H), 3,54-3,50 (m, 1H), 3,10-3,01 (m, 3H), 2,79-2,77 (m, 1H), 2,69 (s, 2H), 2,44 (d, J = 0,7 Hz, 6H), 2,17 (s, 6H), 1,99 (d, J = 32,3 Hz, 5H), 1,68 (s, 6H), 1,50 (s, 3H), 1,38-1,37 (m, 2H), 0,85 (d, J = 6,7 Hz, 9H), 0,69-0,67 (m, 7H).

Hợp chất 16n: hợp chất 16n được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (50mg, 0,0579mmol, 1,00 đương lượng), 2-(azepan-1-yl)etan-1-ol (83mg, 0,579mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (25mg, 0,0289mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (25mg, 0,1158mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 53% (28,4mg). MS: theo tính toán đối với $C_{51}H_{63}N_3O_{13}$, 925,44; trên thực tế 926,5 (M+H), 924,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,42-9,34 (m, 1H), 7,85-7,84 (m, 1H), 7,16 (td, J = 1,8, 0,5 Hz, 2H), 6,07-6,04 (m, 1H), 5,84-5,82 (m, 1H), 5,24 (s, 1H), 4,81-4,77 (m, 1H), 4,26-4,25 (m, 1H), 4,19-4,13 (m, 2H), 3,57-3,48 (m, 1H), 3,12-3,10 (m, 2H), 3,02-2,99 (m, 4H), 2,89 (s, 6H), 2,89-2,76 (m, 3H), 2,69 (s, 3H), 2,15-2,14 (m, 3H), 2,01 (s, 3H), 1,95 (s, 3H), 1,90 (s, 3H), 1,67 (s, 3H), 1,58-1,54 (m, 6H), 0,86 (d, J = 6,5 Hz, 8H), 0,71-0,67 (m, 6H).

Hợp chất 16o: hợp chất 16o được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (30mg, 0,0347mmol, 1,0 đương lượng), *N*,*N*-dimetylaminopropan-1-ol (35mg, 0,339mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (15mg, 0,0176mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (15mg, 0,0707mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 55% (17mg). MS: theo tính toán đối với $C_{48}H_{59}N_3O_{13}$, 885,4; trên thực tế 886,4 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz, CD_3OD) δ 7,86 - 8,10 (m, 1H), 7,16 (s, 1H), 6,93 (br. s., 1H), 6,43 (br. s., 1H), 6,22 (br. s., 2H), 5,06 (br.

s., 1H), 4,98 (br. s., 1H), 4,24 (br. s., 1H), 4,15 (br. s., 1H), 3,75 (br. s., 1H), 2,90 - 3,13 (m, 5H), 2,58 (br. s., 2H), 2,34 (br. s., 7H), 2,26 (br. s., 3H), 2,09 - 2,17 (m, 4H), 2,05 (br. s., 3H), 1,98 (br. s., 3H), 1,82 - 1,95 (m, 3H), 1,79 (s, 3H), 1,73 (s, 1H), 0,77 - 1,00 (m, 8H), 0,03 (s, 2H), -0,25 (s, 2H).

Hợp chất 16p: hợp chất 16p được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (30mg, 0,0347mmol, 1,0 đương lượng), *N*,*N*-dimetylaminobutan-1-ol (40mg, 0,341mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (15mg, 0,0176mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (15mg, 0,0707mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 35% (11mg). MS: theo tính toán đối với $C_{49}H_{61}N_3O_{13}$, 899,42; trên thực tế 900,4 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz, CD_3OD) δ 7,98 (br. s., 1H), 7,18 (br. s., 1H), 6,93 (br. s., 1H), 6,22 (br. s., 2H), 5,06 (br. s., 1H), 4,99 (br. s., 1H), 4,93 (br. s., 1H), 4,22 (br. s., 2H), 4,12 (br. s., 1H), 3,83 - 3,96 (m, 1H), 3,63 - 3,83 (m, 2H), 3,08 (br. s., 2H), 3,01 (d, J = 8,79 Hz, 5H), 2,51 (br. s., 3H), 2,35 (br. s., 6H), 2,28 (br. s., 3H), 2,09 - 2,17 (m, 3H), 2,07 (br. s., 1H), 1,98 (br. s., 3H), 1,81 - 1,92 (m, 3H), 1,68 - 1,81 (m, 2H), 1,52 - 1,65 (m, 2H), 1,36 - 1,52 (m, 3H), 1,32 (d, J = 18,56 Hz, 2H), 0,95 (br. s., 3H), 0,88 (d, J = 6,84 Hz, 4H) 0,04 (s, 2H), -0,24 (s, 2H).

Hợp chất 16q: hợp chất 16q được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (50mg, 0,0579mmol, 1,00 đương lượng), 2-(2-azabixyclo[2.2.1]heptan-2-yl)etan-1-ol (82mg, 0,579mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (25mg, 0,0289mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (25mg, 0,1158mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 55% (29mg). MS: theo tính toán đối với $C_{51}H_{61}N_3O_{13}$, 923,42; trên thực tế 924,4 (M+H), 922,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,34-9,32 (m, 1H), 7,88-7,86 (m, 1H), 7,18-7,17 (m, 2H), 6,06-6,03 (m, 1H), 5,84-5,81 (m, 1H), 5,25-5,22 (m, 1H), 4,82-4,78 (m, 1H), 4,21-4,13 (m, 3H), 3,46-3,39 (m, 1H), 3,13 (t, J = 2,6 Hz, 3H), 3,02-3,01 (m, 3H), 2,81-2,79 (m, 3H), 2,29 (d, J = 0,8 Hz, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,95 (s, 3H), 1,68 (s, 5H), 1,55-1,50 (m, 3H), 1,40 (s, 3H), 1,22 (d, J = 9,2 Hz, 6H), 0,86 (d, J = 6,8 Hz, 8H), 0,69-0,68 (m, 5H).

Hợp chất 16r: hợp chất 16r được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (50mg, 0,0579mmol, 1,00 đương lượng), 2-(aziridin-1-yl)etan-1-ol (50,4mg, 0,579mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (25mg, 0,0289mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (25mg, 0,1158mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 11% (5,6mg). MS: theo tính toán đối với $C_{51}H_{64}N_4O_{14}$, 956,44; trên thực tế 957,4 (M+H), 955,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,37-9,35 (m, 1H), 7,87-7,84 (m, 1H), 7,20-7,18 (m, 1H), 6,07-6,03 (m, 1H), 5,83-5,81 (m, 1H), 5,25-5,21 (m, 1H), 4,78 (dq, *J* = 2,8, 0,9 Hz, 1H), 4,34-4,31 (m, 2H), 4,23-4,15 (m, 1H), 3,47 (d, *J* = 5,8 Hz, 5H), 3,09-3,08 (m, 2H), 3,02 (dddd, *J* = 3,6, 2,6, 2,4, 1,3 Hz, 3H), 2,78-2,77 (m, 1H), 2,71-2,70 (m, 2H), 2,63 (d, *J* = 1,2 Hz, 2H), 2,41-2,34 (m, 8H), 2,17-2,15 (m, 3H), 2,01 (t, *J* = 0,4 Hz, 3H), 1,94 (t, *J* = 0,9 Hz, 3H), 1,89 (s, 2H), 1,66 (d, *J* = 0,4 Hz, 3H), 1,61-1,53 (m, 1H), 1,38 (d, *J* = 15,9 Hz, 2H), 0,86-0,84 (m, 9H), 0,69-0,67 (m, 6H).

Hợp chất 16s: hợp chất 16s được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (30mg, 0,0347mmol, 1,0 đương lượng), 2-(2-(dimetylamino)etoxy)etan-1-ol (50mg, 0,375mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (15mg, 0,0176mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (15mg, 0,0707mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 35% (11mg). MS: theo tính toán đối với $C_{49}H_{61}N_3O_{14}$, 915,4; trên thực tế 916,4 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz, CD_3OD) δ 8,01 (d, *J* = 15,1 Hz, 1H), 7,20 (br. s., 1H), 6,96 (br. s., 1H), 6,44 (br. s., 1H), 6,15 - 6,32 (m, 2H), 5,07 (d, *J* = 16,2 Hz, 1H), 4,34 (br. s., 2H), 4,24 (br. s., 1H), 3,86 (br. s., 3H), 3,78 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H), 3,69 (br. s., 3H), 3,18 (br. s., 1H), 3,06 - 3,15 (m, 2H), 3,02 (d, *J* = 9,77 Hz, 5H), 2,51 - 2,70 (m, 2H), 2,32 (d, *J* = 11,7 Hz, 6H), 2,11 (s., 3H), 1,94 - 2,07 (m, 6H), 1,90 (br. s., 1H), 1,75 - 1,86 (m, 5H), 1,73 (br. s., 1H), 1,67 (br. s., 2H), 1,24 - 1,45 (m, 3H), 0,89- 0,96 (m, 8H), 0,06 (s, 2H), -0,20 (s, 2H).

Hợp chất 16t: hợp chất 16t được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (30mg, 0,0347mmol, 1,0 đương lượng), 2-dietylaminoetan-1-ol (45mg, 0,383mmol, 11 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-

Pd-G3-palladacycle (15mg, 0,0176mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (15mg, 0,0707mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 14% (4,5mg). MS: theo tính toán đối với $C_{49}H_{61}N_3O_{13}$, 899,4; trên thực tế 900,4 (M+H), 898,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz, CD_3OD) δ 8,06 (br. s., 1H), 7,26 (br. s., 1H), 7,02 (br. s., 1H), 6,44 (br. s., 1H), 6,23 (br. s., 2H), 5,10 (br. s., 1H), 5,00 (br. s., 2H), 4,48 (br. s., 1H), 4,38 (br. s., 1H), 3,77 (br. s., 1H), 3,46 (br. s., 2H), 3,15 (s, 4H), 3,18 (s, 3H), 3,03 (d, J = 9,28 Hz, 6H), 2,32 (br. s., 4H), 2,09 - 2,16 (m, 4H), 1,99 (br. s., 4H), 1,78 (br. s., 4H), 1,38 (br. s., 1H), 1,30 (br. s., 10H), 0,96 (br. s., 8H), 0,11 (s, 2H), -0,20 (s, 2H).

Hợp chất 16u: hợp chất 16u được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (30mg, 0,0347mmol, 1,0 đương lượng), 2-diisopropylaminoetan-1-ol (45mg, 0,383mmol, 11 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (15mg, 0,0176mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (15mg, 0,0707mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 31% (10mg). MS: theo tính toán đối với $C_{51}H_{65}N_3O_{13}$, 927,45; trên thực tế 928,4 (M+H), 926,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz, CD_3OD) δ 8,03 (br. s., 1H), 7,10 - 7,29 (m, 1H), 6,94 (br. s., 1H), 6,23 (br. s., 1H), 5,01 – 5,06 (m, 2H), 4,23 (br. s., 1H), 3,18 (br. s., 1H), 3,12 (br. s., 2H), 2,91 - 3,06 (m, 4H), 2,31 (br. s., 4H), 2,11 (s, 4H), 1,98 (br. s., 4H), 1,78 (br. s., 4H), 1,64 (br. s., 1H), 1,28 - 1,41 (m, 2H), 1,18 (br. s., 14H), 1,06 (d, J = 6,84 Hz, 1H), 0,95 (s, 9H), 0,81 (s, 2H), 0,07 - 0,13 (m, 1H), 0,04 (s, 2H), -0,23 (s, 2H).

Hợp chất 16v: hợp chất 16v được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (40mg, 0,0463mmol, 1,0 đương lượng), 2-(metyl(pyridin-2-yl)amino)etan-1-ol (75mg, 0,463mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (20mg, 0,0213mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (20mg, 0,094mmol, 2,0 đương lượng) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 16v (15,6mg, 36%). MS: theo tính toán đối với $C_{51}H_{58}N_4O_{13}$, 934,40; trên thực tế 935,3 (M+H), 933,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz, CD_3OD): δ 8,09 (t, J = 1,4 Hz, 1H), 8,02-8,00 (m, 1H), 7,56-7,53 (m, 1H), 7,19-7,17 (m, 1H), 7,07 (s, 1H), 6,86-6,84 (m, 1H), 6,70-6,68 (m, 2H), 6,61 (td, J = 1,8, 0,7 Hz, 2H), 6,42-6,41 (m, 1H), 6,22-6,20 (m, 2H), 5,04-5,02 (m, 1H),

4,59 (s, 2H), 4,39-4,36 (m, 1H), 4,32-4,29 (m, 1H), 4,01 (s, 2H), 3,72-3,68 (m, 1H), 3,15 (s, 7H), 3,00-2,99 (m, 4H), 2,31 (s, 4H), 2,11 (s, 4H), 1,95 (d, J = 22,7 Hz, 3H), 1,77 (s, 3H), 1,63-1,60 (m, 1H), 1,30 (s, 2H), 0,94 (d, J = 6,6 Hz, 4H), 0,80-0,79 (m, 4H), -0,03 (dd, J = 2,4, 0,5 Hz, 2H), -0,24 (dd, J = 2,3, 1,1 Hz, 2H).

Hợp chất 16w: hợp chất 16w được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (40mg, 0,0463mmol, 1,0 đương lượng), (2-((dimetylamino)metyl)phenyl)metanol (76mg, 0,463mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (20mg, 0,0213mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (20mg, 0,094mmol, 2,0 đương lượng) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 16w (5,6mg, 18%). MS: theo tính toán đối với $C_{53}H_{61}N_3O_{13}$, 947,42; trên thực tế 948,4 (M+H), 946,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz, CD_3OD): δ 8,05-8,04 (m, 1H), 7,46-7,44 (m, 1H), 7,34-7,33 (m, 1H), 7,07-7,05 (m, 1H), 6,80 (d, J = 4,2 Hz, 1H), 6,53-6,48 (m, 1H), 6,24-6,22 (m, 1H), 5,51 (d, J = 12,1 Hz, 1H), 5,44-5,42 (m, 1H), 5,07-5,00 (m, 1H), 4,59 (s, 1H), 3,82-3,69 (m, 2H), 3,55 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 3,31-3,11 (m, 12H), 3,03-3,01 (m, 4H), 2,33 (s, 3H), 2,24 (s, 5H), 2,09 (dd, J = 1,9, 1,0 Hz, 3H), 1,99 (s, 3H), 1,92 (s, 1H), 1,77 (d, J = 0,5 Hz, 4H), 1,67-1,61 (m, 1H), 1,30 (d, J = 0,3 Hz, 1H), 0,96-0,87 (m, 5H), 0,11 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 0,06-0,04 (m, 3H), -0,20-0,22 (m, 2H).

Hợp chất 16x: hợp chất 16x được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (40mg, 0,0463mmol, 1,0 đương lượng), *N*-(2-hydroxyetyl)axetamit (48mg, 0,463mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (20mg, 0,0213mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (20mg, 0,094mmol, 2,0 đương lượng) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 16x (20mg, 41%). MS: theo tính toán đối với $C_{47}H_{55}N_3O_{14}$, 885,37; trên thực tế 886,3 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz, CD_3OD) δ 7,98 (br. s., 1H), 7,18 (s, 2H), 6,94 (br. s., 1H), 6,23 (br. s., 1H), 5,01 – 5,06 (m, 2H), 4,14 (br. s., 1H), 3,62 (br. s., 4H), 2,94 - 3,18 (m, 5H), 2,31 (br. s., 5H), 2,11 (s, 5H), 1,98 (br. s., 10H), 1,78 (br. s., 5H), 1,64 (br. s., 1H), 1,28 - 1,41 (m, 2H), 1,06 (d, J = 6,84 Hz, 1H), 0,95 (s, 8H), 0,07 - 0,13 (m, 1H), 0,04 (s, 2H), -0,23 (s, 2H).

Hợp chất 16y: hợp chất 16y được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (40mg, 0,0463mmol, 1,0 đương lượng), 2-(1*H*-imidazol-1-yl)etan-1-ol (52mg, 0,463mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (20mg, 0,0213mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (20mg, 0,094mmol, 2,0 đương lượng) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 16y (8mg, 8%). MS: theo tính toán đối với $C_{48}H_{54}N_4O_{13}$, 894,37; trên thực tế 895,3 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz, CD_3OD) δ 7,75 (br. s., 1H), 7,16 - 7,26 (m, 2H), 6,98 (s, 1H), 6,94 (s, 1H), 4,58 (br. s., 5H), 4,44 - 4,54 (m, 3H), 4,31 - 4,35 (m, 1H), 3,83 - 3,90 (m, 2H), 3,72 (br. s., 1H), 3,66 (s, 1H), 3,55 (s, 1H), 3,33 - 3,36 (m, 1H), 3,00 (d, *J* = 8,30 Hz, 3H), 2,30 (br. s., 3H), 2,00 - 2,11 (m, 4H), 1,92 - 2,00 (m, 3H), 1,90 (s, 2H), 1,76 (br. s., 3H), 1,70 (d, *J* = 6,84 Hz, 1H), 1,52 - 1,65 (m, 2H), 1,49 (d, *J* = 15,14 Hz, 2H), 1,32 - 1,41 (m, 2H), 1,11 - 1,32 (m, 3H), 0,83 - 1,00 (m, 6H), 0,09 - 0,10 (m, 1H), 0,00 (br. s., 2H), -0,23 (br. s., 1H).

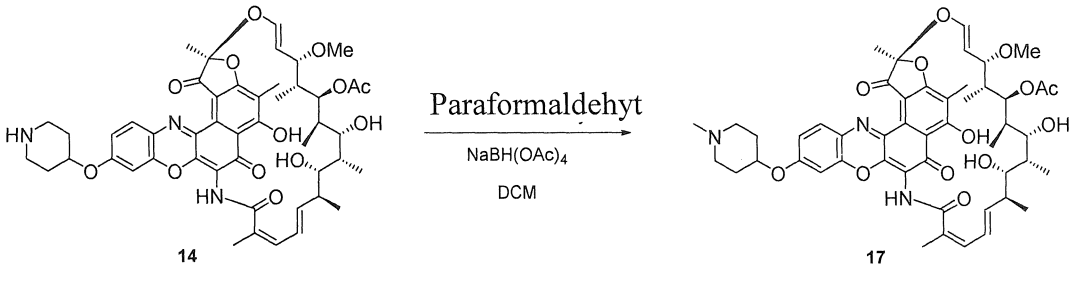
Hợp chất 16z: hợp chất 16z được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (40mg, 0,0463mmol, 1,0 đương lượng), *N*-(2-hydroxyetyl)-*N*-metylaxetamit (54mg, 0,463mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (20mg, 0,0213mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (20mg, 0,094mmol, 2,0 đương lượng) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 16z (6,5mg, 16%). MS: theo tính toán đối với $C_{48}H_{57}N_3O_{14}$, 899,38; trên thực tế 900,4 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz, CD_3OD) δ 8,03 (br. s., 1H), 7,20 (br. s., 2H), 6,42 (br. s., 1H), 6,22 (br. s., 1H), 5,06 (br. s., 1H), 4,99 (br. s., 2H), 4,58 (s, 3H), 4,38 (d, *J* = 3,91 Hz, 1H), 4,31 (br. s., 2H), 4,23 (br. s., 2H), 3,86 (br. s., 2H), 3,80 (br. s., 2H), 3,74 (br. s., 1H), 3,19 (s, 3H), 2,96 - 3,06 (m, 5H), 2,31 (br. s., 2H), 2,20 (s, 2H), 2,11 (d, *J* = 6,84 Hz, 3H), 2,04 (s, 1H), 1,97 (br. s., 6H), 1,93 (s, 2H), 1,76 (br. s., 3H), 1,65 (br. s., 2H), 1,29 (s, 1H), 0,94 (br. s., 3H), 0,10 (d, *J* = 2,93 Hz, 1H), 0,03 (br. s., 2H), -0,23 (br. s., 2H).

Hợp chất 16z-1: hợp chất 16z-1 được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 15 (40mg, 0,0463mmol, 1,0 đương lượng), 2-(azetidin-1-yl)etan-1-ol (47mg, 0,463mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-

Pd-G3-palladacycle (20mg, 0,0213mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (20mg, 0,094mmol, 2,0 đương lượng) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 16z-1 (8,7mg, 21%). MS: theo tính toán đối với $C_{48}H_{57}N_3O_{13}$, 883,39; trên thực tế 884,4 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz, CD_3OD) δ 7,19 (br. s., 1H), 4,58 (br. s., 2H), 4,19 (br. s., 1H), 3,83 - 3,89 (m, 1H), 3,73 - 3,82 (m, 1H), 3,52 (s, 1H), 3,46 (br. s., 6H), 3,00 (br. s., 1H), 2,30 (br. s., 4H), 2,13 - 2,22 (m, 3H), 2,10 (br. s., 3H), 1,97 (br. s., 3H), 1,92 (s, 8H), 1,76 (br. s., 4H), 1,56 - 1,69 (m, 2H), 1,43 (s, 2H), 1,46 (s, 2H), 1,31 - 1,39 (m, 2H), 1,29 (br. s., 1H), 1,24 (d, J = 14,17 Hz, 1H), 1,15 (d, J = 5,86 Hz, 1H), 0,95 (br. s., 3H), 0,10 (d, J = 2,44 Hz, 2H), 0,03 (br. s., 2H), -0,23 (br. s., 1H).

Ví dụ 4: Amin hóa khử

Chất tương tự rifamyxin (17) được tổng hợp từ hợp chất 14 bằng cách sử dụng phản ứng amin hóa khử như được thể hiện trong Sơ đồ 8, dưới đây.



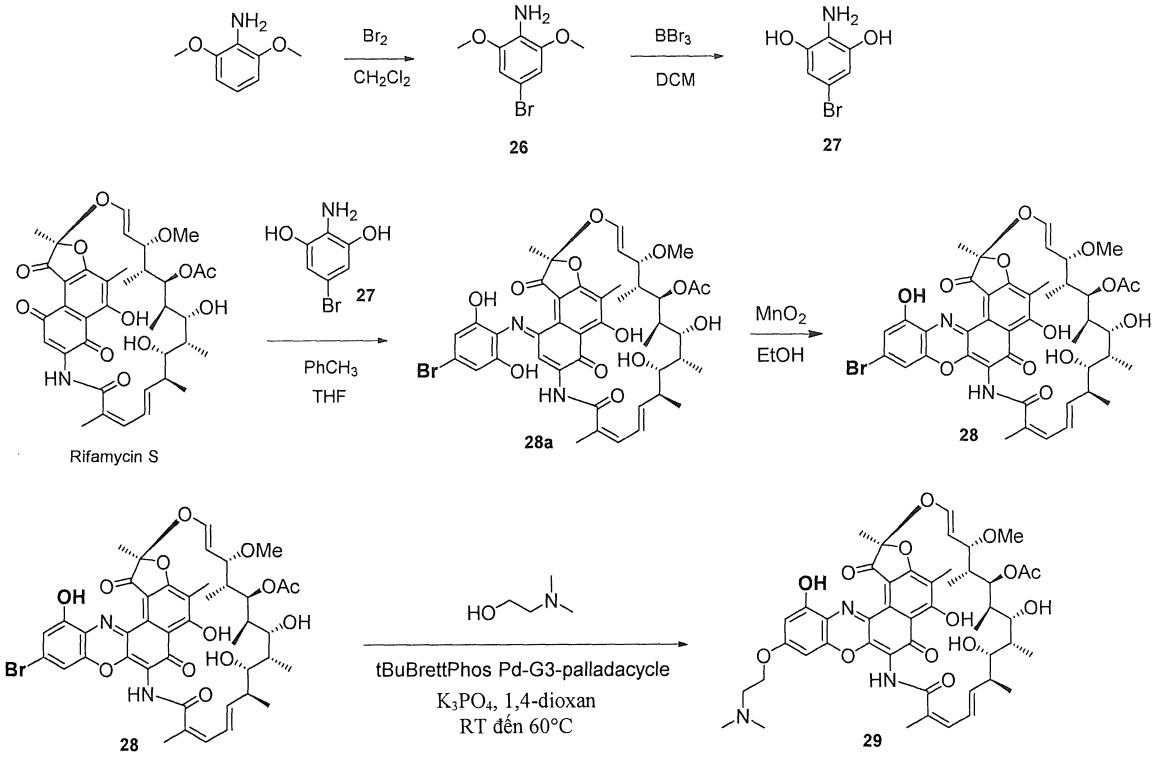
14 17

Dung dịch chứa hợp chất 14 (9mg, 0,0102mmol) và paraformaldehyt (1,52mg, 0,051mmol) trong 1,0mL DCM khan ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung $NaBH(OAc)_3$ (4,3mmol, 0,0204mmol). Hỗn hợp được khuấy trong 1 giờ. Quy trình phản ứng được theo dõi bằng LC/MS để thu được sản phẩm mong muốn. Hỗn hợp phản ứng thô được làm nguội bằng cách bổ sung 2-3 giọt nước. Tất cả các chất bay hơi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm, sau đó được pha loãng với DMSO (0,5mL). Hỗn hợp thô được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và được làm khô lạnh để thu được 6mg (66%) hợp chất 17 dưới dạng chất rắn màu hơi đỏ. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{49}H_{59}N_3O_{13}$, 897,40; trên thực tế 898,4 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,38 (br. s., 1H), 7,86 (br. s., 1H), 7,17 - 7,25

(m, 4H), 6,04 (d, J = 6,35 Hz, 1H), 5,81 (br. s., 2H), 4,79 (br. s., 2H), 4,70 (br. s., 2H), 4,15 (br. s., 1H), 3,53 (br. s., 1H), 3,30 (br. s., 5H), 3,09 (br. s., 3H), 3,03 (br. s., 4H), 2,87 (s, 1H), 2,78 (br. s., 2H), 2,58 - 2,66 (m, 6H), 2,54 (br. s., 8H), 2,37 (d, J = 1,47 Hz, 2H), 2,15 - 2,27 (m, 20H), 2,12 (br. s., 1H), 2,03 - 2,09 (m, 3H), 2,00 (s, 9H), 1,95 (br. s., 10H), 1,91 (s, 3H), 1,72 (br. s., 3H), 1,67 (br. s., 8H), 1,58 (s, 1H), 1,50 (br. s., 1H), 1,24 (br. s., 2H), 0,81 - 0,94 (m, 15H), 0,78 (d, J = 6,84 Hz, 3H), 0,69 (br. s., 9H).

Ví dụ 5: Điều chế hợp chất 29

Chất tương tự rifamyxin 29 được điều chế như được thể hiện trong Sơ đồ 9, dưới đây, và được mô tả dưới đây.



Tổng hợp Hợp chất 26. Dung dịch đã được khuấy chứa 2,6-dimetoxyanilin (9,0g, 58,7mmol, 1,0 đương lượng) trong 350mL DCM khan được bổ sung từng giọt dung dịch Br_2 trong 50mL DCM khan trong 30 phút ở nhiệt độ 4°C. 200mL nữa được bổ sung vào huyền phù đặc để thu được dung dịch bán đồng nhất. Hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp màu nâu sẫm được làm lạnh xuống 4°C và được kiềm hóa bằng cách bổ sung dung dịch NaOH 1,0M (khoảng 100mL) đến độ pH

= 10-11. Hỗn hợp này được pha loãng với 200mL DCM và các lớp được tách. Lớp chứa nước được chiết bằng DCM (tổng cộng 200mL). Các lớp DCM đã kết hợp được rửa bằng nước, nước muối, và được làm khô trên Na_2SO_4. Sau khi cô trong chân không, thu được sản phẩm thô dưới dạng chất rắn màu phớt đỏ. Phần cặn được hòa tan trong DCM (8mL) và được nạp lên trên cột silicagel 220 g HP Gold RediSep và được tinh chế thông qua ISCO (gradien rửa giải: 5 - 95% EA trong hexan), các phân đoạn tinh khiết được kết hợp, và dung môi được làm bay hơi trong chân không. Chất rắn được nghiền với DCM và hexan và được lọc. Chất rắn màu trắng đục được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 26 dưới dạng chất rắn màu trắng đục (9,4g, 70%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_8H_{10}BrNO_2$, 230,99; trên thực tế 231,9 và 234,0 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz; $CDCl_3$) δ 6,66 (s, 2H), 3,84 (s, 6H).

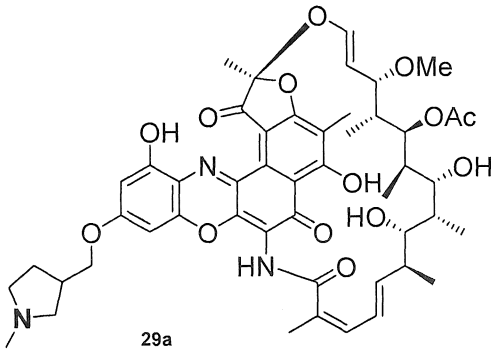
Tổng hợp Hợp chất 27. Hợp chất 26 (2,2g, 9,47mmol, 1,0 đương lượng) được hòa tan trong 10mL DCM khan và dung dịch BBr_3 được bổ sung từng giọt vào trong 10 phút (10mL, dung dịch 1,0M trong DCM) ở nhiệt độ 4°C. Phản ứng này tỏa nhiệt và tạo ra chất kết tủa. Thêm một lượng BBr_3 (9mL, 94,7mmol, 10 đương lượng) được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn dịch hơi đỏ được kiểm tra bằng LC/MS để xác nhận sản phẩm mong muốn. Hỗn hợp phản ứng được chuyển sang bình thót cổ dung tích 250mL và được làm lạnh xuống 4°C. Hỗn hợp này được làm nguội cẩn thận bằng nước sau đó xử lý bằng dung dịch $NaHCO_3$ bão hòa trong nước để thu được độ pH = 7-8. Hỗn hợp này được chiết bằng DCM và lớp chứa nước được làm lạnh xuống 4°C để thu được chất kết tủa màu nâu sẫm. Hỗn hợp này được lọc và chất rắn màu nâu được hòa tan trong 10mL metanol và được làm khô trên Na_2SO_4 để thu được sản phẩm mong muốn 27 (1,9g, 100%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_6H_6BrNO_2$, 202,96; trên thực tế 204,0 và 206,1 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz; CD_3OD) δ 6,45 (s, 2H), 4,87 (s, 2H).

Tổng hợp Hợp chất 28. Dung dịch đã được khuấy chứa hợp chất 27 (0,146g, 0,72mmol) trong hỗn hợp của toluen (20mL) và THF (20mL) ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung rifamyxin S (0,5g, 0,72mmol). Dung dịch này được khuấy trong 3 ngày ở

nhiệt độ trong phòng để thu được sản phẩm mong muốn. Dung môi được loại bỏ trong chân không, phần cặn sẫm màu được hòa tan trong 10mL etanol sau đó đến 100mg mangan dioxit (MnO_2). Hỗn hợp phản ứng chậm được khuấy trong 5 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi lọc các nguyên liệu không tan bằng cách sử dụng đệm Celite, dịch lọc được làm bay hơi trong chân không. Phần cặn sẫm màu được tinh chế trên cột silicagel 120 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 5 - 95% EA trong hexan). Các phần tinh khiết được kết hợp và được làm bay hơi trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 28 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (270mg, 43%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{43}H_{47}BrN_2O_{13}$, 878,23; trên thực tế 879,2 và 880,2 (M+H), 878,1 và 879,1 (M-1). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6) δ 10,22 (br. s., 1H), 9,52 (br. s., 1H), 7,43 (br. s., 1H), 7,35 (br. s., 1H), 6,04 (br. s., 1H), 5,83 (br. s., 2H), 5,21 (d, J = 6,35 Hz, 2H), 4,89 (t, J = 10,50 Hz, 1H), 4,16 (br. s., 1H), 3,51 (br. s., 1H), 3,15 (br. s., 2H), 3,02 (br. s., 4H), 2,80 (t, J = 8,55 Hz, 1H), 2,21 (br. s., 3H), 2,08 (br. s., 1H), 1,96 (s, 4H), 1,99 (s, 4H), 1,78 (br. s., 1H), 1,71 (br. s., 3H), 1,60 (br. s., 1H), 1,47 (br. s., 1H), 0,84 (d, J = 6,84 Hz, 6H), 0,69 (br. s., 6H).

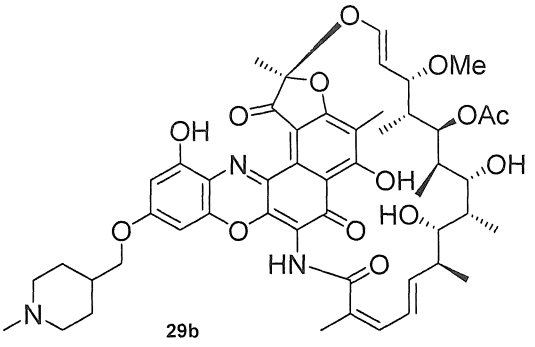
Tổng hợp Hợp chất 29. Lọ dung tích 8mL có nắp vặn sấy khô bằng lò, được trang bị thanh khuấy được nạp hợp chất 15 (60mg, 0,069mmol, 1,00 đương lượng), 2-(dimetylamino)etan-1-ol (61mg, 0,69mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (31mg, 0,0345mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (30mg, 0,141mmol, 2,0 đương lượng). Lọ phản ứng được đậy bằng vách ngăn cao su. Vách ngăn được đâm xuyên bằng kim đã gắn vào để hút chân không và được làm đầy lại bằng khí argon (quy trình này được lặp lại hai lần) sau đó đến bổ sung 1,4-dioxan (1,5mL). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 60°C trong điều kiện áp suất argon trong 15 h, hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng, được lọc qua đệm Celite®, và được rửa bằng MeOH. Nguyên liệu được cô trong chân không và được tinh chế trên cột 50 g C18 Aq (gradien rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, axit axetic 0,05% trong cả hai). Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp và được làm khô lạnh để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 29 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (21mg, 35%). MS (ESI, pos.): theo tính toán

đối với $C_{47}H_{57}N_3O_{14}$, 887,38; trên thực tế 888,3 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6) δ 10,12 (br. s., 1H), 9,39 (br. s., 1H), 6,75 (br. s., 1H), 6,70 (br. s., 1H), 6,03 (br. s., 1H), 5,77 (d, J = 15,14 Hz, 1H), 5,21 (br. s., 1H), 4,83 - 4,90 (m, 1H), 4,15 - 4,30 (m, 2H), 4,08 (br. s., 1H), 3,53 (br. s., 1H), 3,29 (s, 1H), 3,16 (br. s., 1H), 3,03 (br. s., 3H), 2,87 (br. s., 1H), 2,79 (br. s., 1H), 2,62 - 2,71 (m, 2H), 2,36 (s, 1H), 2,23 (s, 6H), 2,19 (br. s., 3H), 1,93 - 2,11 (m, 7H), 1,91 (s, 1H), 1,76 (br. s., 1H), 1,69 (br. s., 3H), 1,53 - 1,65 (m, 1H), 1,50 (br. s., 1H), 1,32 - 1,45 (m, 1H), 0,76 - 0,94 (m, 6H), 0,68 (br. s., 5H).



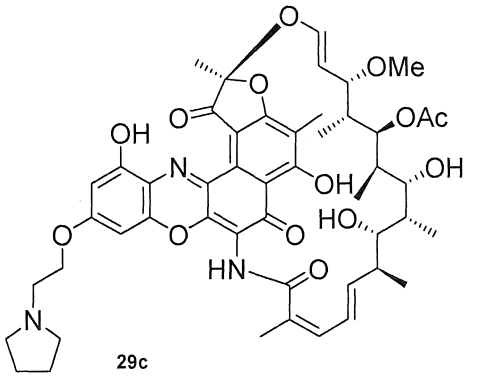
29a

Hợp chất 29a: hợp chất 29a được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 29: Hợp chất 28 (50mg, 0,0568mmol, 1,00 đương lượng), (1-metylpyrolidin-3-yl)metanol (65mg, 0,568mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (24mg, 0,0284mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (24mg, 0,115mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 19% (9,8mg). MS: theo tính toán đối với $C_{49}H_{59}N_3O_{14}$, 913,40; trên thực tế 914,4 (M+H), 912,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,38-9,34 (m, 1H), 6,74-6,64 (m, 1H), 6,26 (s, 1H), 6,02-6,00 (m, 1H), 5,80-5,78 (m, 1H), 5,23-5,19 (m, 1H), 4,87-4,82 (m, 1H), 4,06-4,03 (m, 2H), 3,55-3,51 (m, 1H), 3,17-3,15 (m, 1H), 3,03 (dd, J = 3,2, 1,1 Hz, 2H), 2,87 (s, 3H), 2,78 (tdd, J = 2,8, 1,5, 0,6 Hz, 3H), 2,64-2,58 (m, 1H), 2,37 (s, 1H), 2,30 (s, 6H), 2,18 (s, 6H), 1,97 (d, J = 16,7 Hz, 5H), 1,69 (t, J = 0,4 Hz, 3H), 1,53-1,51 (m, 2H), 0,85 (dt, J = 2,6, 1,3 Hz, 11H), 0,69-0,67 (m, 4H).



29b

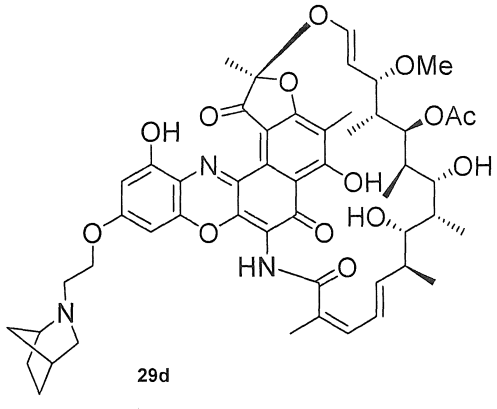
Hợp chất 29b: hợp chất 29b được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 29: Hợp chất 28 (60mg, 0,068mmol, 1,00 đương lượng), (1-metylpiperidin-4-yl)metanol (88mg, 0,683mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (29mg, 0,034mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (29mg, 0,136mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 9,5% (6,0mg). MS: theo tính toán đối với $C_{50}H_{61}N_3O_{14}$, 927,42; trên thực tế 928,4 (M+H), 926,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 8,84 (dd, J = 1,5, 0,9 Hz, 1H), 7,13 (dd, J = 1,7, 0,9 Hz, 1H), 6,92-6,88 (m, 1H), 6,29-6,26 (m, 1H), 6,21-6,18 (m, 1H), 5,67 (t, J = 0,6 Hz, 1H), 5,00-4,99 (m, 1H), 4,75-4,73 (m, 1H), 3,92-3,90 (m, 1H), 3,81-3,79 (m, 4H), 2,85 (d, J = 2,5 Hz, 2H), 2,75-2,72 (m, 1H), 2,63 (s, 2H), 2,36 (s, 3H), 2,12 (t, J = 5,7 Hz, 6H), 1,93 (d, J = 9,7 Hz, 4H), 1,81 (ddd, J = 3,6, 3,0, 1,4 Hz, 2H), 1,72 (s, 6H), 1,66 (s, 6H), 1,37-1,34 (m, 5H), 0,88-0,85 (m, 7H), 0,69-0,64 (m, 4H).



29c

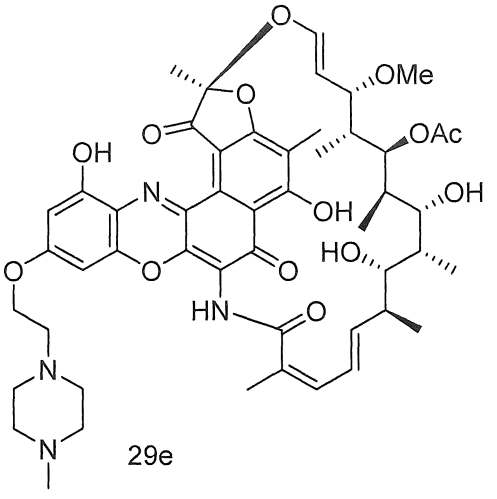
Hợp chất 29c: 29c được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 29: Hợp chất 28 (60mg, 0,068mmol, 1,00 đương lượng), 2-(pyrolidin-1-yl)etan-1-ol (88mg, 0,682mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-

palladacycle (29mg, 0,034mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (29mg, 0,136mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 26% (16,2mg). MS: theo tính toán đối với $C_{49}H_{59}N_3O_{14}$, 913,40; trên thực tế 914,4 (M+H), 912,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,40-9,39 (m, 1H), 6,77-6,76 (m, 1H), 6,67-6,65 (m, 1H), 6,02-6,00 (m, 1H), 5,78-5,76 (m, 1H), 5,21-5,19 (m, 1H), 4,86 (t, *J* = 10,6 Hz, 1H), 4,27-4,20 (m, 2H), 4,08-4,06 (m, 1H), 3,54-3,50 (m, 1H), 3,17-3,14 (m, 1H), 3,03 (d, *J* = 0,8 Hz, 3H), 2,86 (d, *J* = 0,4 Hz, 3H), 2,79-2,77 (m, 1H), 2,64-2,57 (m, 4H), 2,18 (s, 8H), 1,97 (d, *J* = 18,7 Hz, 7H), 1,70 (s, 7H), 1,60-1,56 (m, 1H), 1,51-1,46 (m, 1H), 0,84 (d, *J* = 5,8 Hz, 7H), 0,67 (dt, *J* = 1,5, 0,7 Hz, 5H).



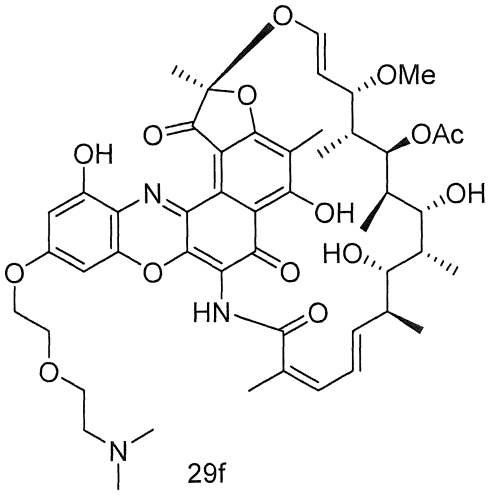
29d

Hợp chất 29d: hợp chất 29d được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 29: Hợp chất 28 (60mg, 0,068mmol, 1,00 đương lượng), 2-(2-azabixyclo[2.2.1]heptan-2-yl)etan-1-ol (96mg, 0,682mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (29mg, 0,034mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (29mg, 0,136mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 37% (23,7mg). MS: theo tính toán đối với $C_{51}H_{61}N_3O_{14}$, 939,42; trên thực tế 940,5 (M+H), 938,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,37-9,35 (m, 1H), 6,72-6,65 (m, 1H), 6,04-6,00 (m, 1H), 5,79 (tdd, *J* = 3,6, 1,8, 1,1 Hz, 1H), 5,22-5,19 (m, 1H), 4,86-4,82 (m, 1H), 4,19-4,16 (m, 2H), 4,07-4,05 (m, 2H), 3,54-3,52 (m, 1H), 3,17-3,14 (m, 1H), 3,07-3,02 (m, 2H), 2,86-2,80 (m, 3H), 2,80-2,77 (m, 1H), 2,32 (d, *J* = 1,2 Hz, 3H), 2,18 (s, 7H), 1,98-1,91 (m, 8H), 1,69 (d, *J* = 0,5 Hz, 3H), 1,58 (ddd, *J* = 5,0, 2,0, 0,9 Hz, 1H), 1,52-1,43 (m, 2H), 1,42-1,40 (m, 2H), 1,27-1,24 (m, 2H), 0,85 (dt, *J* = 2,2, 1,1 Hz, 9H), 0,68-0,67 (m, 5H).



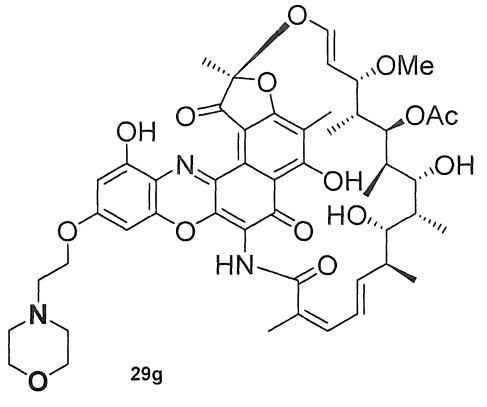
29e

Hợp chất 29e: hợp chất 29e được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 29: Hợp chất 28 (60mg, 0,068mmol, 1,00 đương lượng), 2-(4-metylpiperazin-1-yl)etan-1-ol (100mg, 0,693mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (30mg, 0,0351mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (30mg, 0,141mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 15% (9,8mg). MS: theo tính toán đối với $C_{50}H_{62}N_4O_{14}$, 942,43; trên thực tế 943,4 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz, CD_3OD) δ 6,53 - 6,63 (m, 2H), 6,24 (br. s., 1H), 4,99 - 5,11 (m, 2H), 4,27 - 4,40 (m, 2H), 3,67 (s, 1H), 3,01 (d, J = 8,30 Hz, 4H), 2,89 (br. s., 2H), 2,56 - 2,68 (m, 6H), 2,46 (br. s., 1H), 2,32 (s, 8H), 2,12 (br. s., 3H), 2,06 (s, 1H), 1,92 - 2,04 (m, 3H), 1,83 (s, 3H), 1,65 (d, J = 8,79 Hz, 2H), 1,56 (s, 1H), 1,31 (br. s., 3H), 1,03 (br. s., 1H), 0,95 (s, 8H), 0,81 (s, 4H), 0,01 (s, 2H), -0,28 (s, 2H).



29f

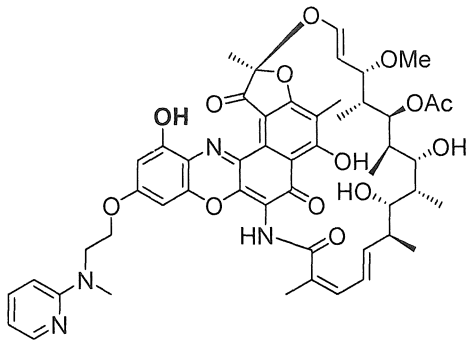
Hợp chất 29f: hợp chất 29f được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 29: : Hợp chất 28 (60mg, 0,068mmol, 1,00 đương lượng), 2-(2-(dimetylamino)etoxy)etan-1-ol (100mg, 0,693mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (30mg, 0,0351mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (30mg, 0,141mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 11% (7,1mg). MS: theo tính toán đối với $C_{49}H_{61}N_3O_{15}$, 931,41; trên thực tế 932,3 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz, CD_3OD) δ 6,49 - 6,59 (m, 2H), 6,21 (br. s., 1H), 4,95 - 5,07 (m, 2H), 4,24 - 4,40 (m, 2H), 3,87 (br. s., 3H), 3,72 (br. s., 3H), 3,00 (d, *J* = 8,79 Hz, 5H), 2,67 (d, *J* = 4,88 Hz, 3H), 2,36 (s, 10H), 2,30 (s, 5H), 2,11 (s, 5H), 1,99 (s, 5H), 1,82 (s, 4H), 1,30 (s, 2H), 0,93 (s, 6H), 0,00 (s, 2H), -0,30 (s, 2H).



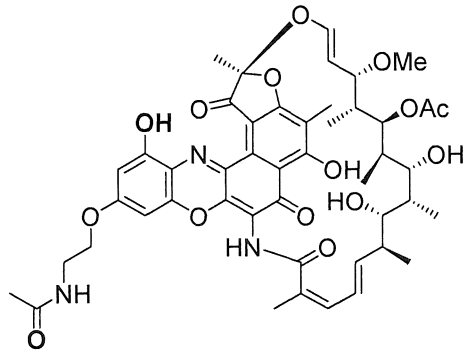
29g

Hợp chất 29g: hợp chất 29g được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 29: Hợp chất 28 (50mg, 0,0568mmol, 1,00 đương lượng), 2-morpholinoetan-1-ol (75mg, 0,568mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (24mg, 0,028mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (24mg, 0,115mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 12% (5,8mg). MS: theo tính toán đối với $C_{49}H_{59}N_3O_{15}$, 929,39; trên thực tế 930,4 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 10,14-10,11 (m, 1H), 9,38-9,31 (m, 1H), 6,76-6,59 (m, 1H), 6,34-6,20 (m, 1H), 6,04-6,01 (m, 1H), 5,79-5,76 (m, 2H), 5,21 (td, *J* = 2,0, 1,1 Hz, 1H), 4,83 (t, *J* = 0,8 Hz, 1H), 4,27-4,22 (m, 1H), 4,06-4,05 (m, 1H), 3,57 (s, 6H), 3,15 (d, *J* = 0,7 Hz, 3H), 3,03 (d, *J* = 1,5 Hz, 4H), 2,86 (s, 1H), 2,71 (dt, *J* = 2,0, 1,5 Hz, 4H), 2,17 (s, 3H), 1,97 (d, *J* = 15,3 Hz, 6H), 1,69 (s, 3H), 1,60-1,59 (m, 3H), 1,50-1,44 (m, 3H), 1,37 (s, 1H), 1,24 (d, *J* = 1,0 Hz, 2H), 1,15-

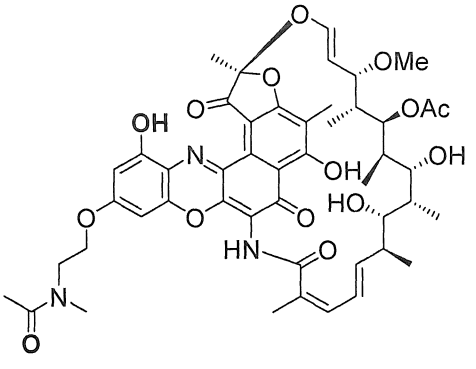
1,14 (m, 1H), 0,85 (td, J = 1,9, 0,8 Hz, 6H), 0,67 (dtd, J = 4,1, 2,1, 0,9 Hz, 4H).



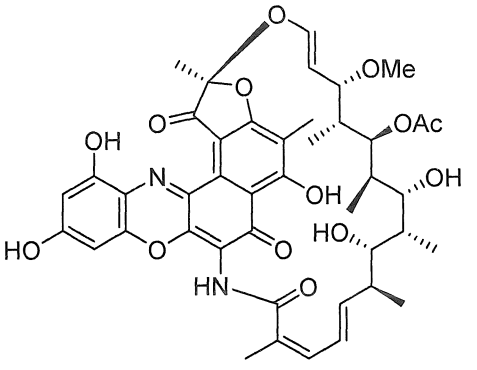
Hợp chất 29h: hợp chất 29h được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 29: Hợp chất 28 (40mg, 0,0454mmol, 1,0 đương lượng), 2-(metyl(pyridin-2-yl)amino)etan-1-ol (69mg, 0,454mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (20mg, 0,0223mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (20mg, 0,0921mmol, 2,0 đương lượng) để thu được 29h (5,6mg, 13%). MS: theo tính toán đối với $C_{51}H_{58}N_4O_{14}$, 950,39; trên thực tế 951,3 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz;, CD_3OD): δ 8,07 (d, J = 3,91 Hz, 1H), 7,53 (t, J = 7,08 Hz, 1H), 6,69 (d, J = 8,79 Hz, 1H), 6,59 - 6,66 (m, 2H), 6,44 (d, J = 1,95 Hz, 1H), 6,22 (d, J = 10,26 Hz, 1H), 5,95 (d, J = 1,95 Hz, 1H), 5,74 (d, J = 11,72 Hz, 1H), 5,13 - 5,18 (m, 2H), 4,58 (s, 5H), 4,30 (d, J = 6,35 Hz, 2H), 4,22 (dd, J = 2,93, 5,86 Hz, 1H), 4,00 (t, J = 5,62 Hz, 2H), 3,86 (d, J = 10,26 Hz, 1H), 3,35 (br. s., 2H), 3,13 (s, 2H), 2,95 - 3,03 (m, 3H), 2,11 - 2,17 (m, 2H), 2,03 - 2,11 (m, 4H), 1,92 - 2,00 (m, 8H), 1,71 (br. s., 1H), 1,42 (d, J = 2,93 Hz, 1H), 1,35 (d, J = 6,35 Hz, 2H), 1,22 - 1,32 (m, 5H), 0,85 - 1,00 (m, 3H), 0,33 (d, J = 6,84 Hz, 2H), 0,09 - 0,10 (m, 1H), -0,33 (d, J = 7,33 Hz, 2H).



Hợp chất 29i: hợp chất 29i được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 29: Hợp chất 28 (40mg, 0,0454mmol, 1,0 đương lượng), 2*N*-(2-hydroxyetyl)axetamit (47mg, 0,454mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (20mg, 0,0227mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (20mg, 0,0939mmol, 2,0 đương lượng) để thu được hợp chất 29i (12,2mg, 31%). MS: theo tính toán đối với $C_{47}H_{55}N_3O_{15}$, 901,36; trên thực tế 902,3 (M+H), 900,3 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; CD_3OD): 6,65 - 6,84 (m, 1H), 6,43 - 6,64 (m, 3H), 6,31 - 6,43 (m, 1H), 6,07 - 6,28 (m, 2H), 4,92 - 5,10 (m, 2H), 4,08 - 4,24 (m, 4H), 3,62 (br. s., 5H), 2,91 - 3,09 (m, 4H), 2,29 (s, 5H), 2,11 (br. s., 5H), 2,04 (s, 2H), 1,90 - 2,02 (m, 7H), 1,82 (s, 5H), 0,91 (br. s., 5H), 0,10 (s, 3H), -0,34 (s, 2H).



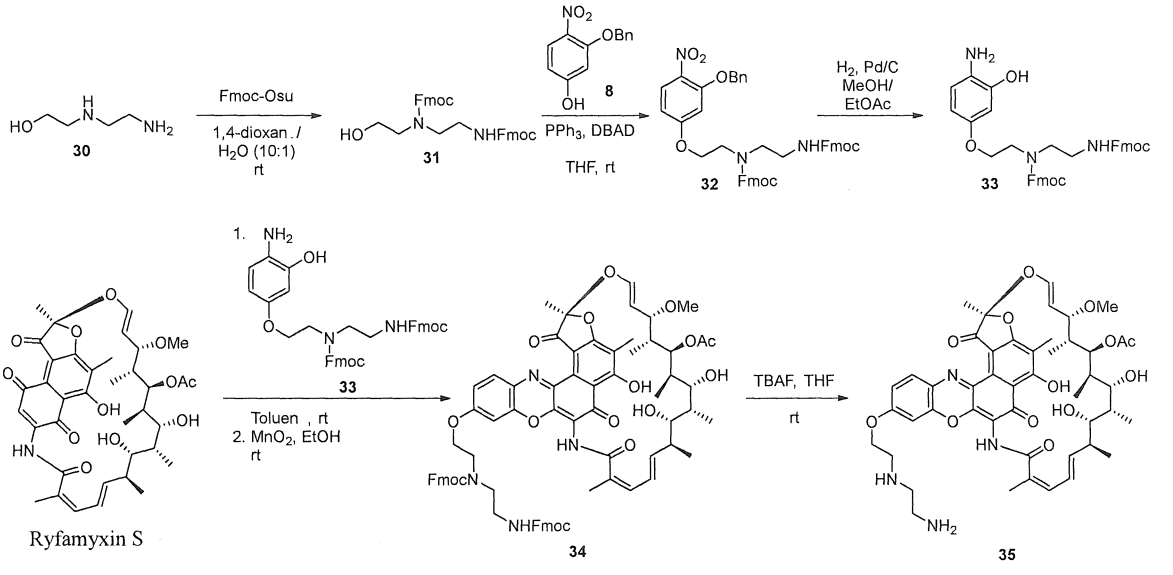
Hợp chất 29j: hợp chất 29j được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 29: Hợp chất 28 (40mg, 0,0454mmol, 1,0 đương lượng), *N*-(2-hydroxyetyl)-*N*-metylaxetamit (53mg, 0,454mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (20mg, 0,0227mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (20mg, 0,0939mmol, 2,0 đương lượng) để thu được hợp chất 29j (7mg, 17%). MS: theo tính toán đối với $C_{48}H_{57}N_3O_{15}$, 915,38; trên thực tế 916,3 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz; CD_3OD): δ 6,45 - 6,68 (m, 2H), 6,30 - 6,45 (m, 1H), 6,11 - 6,30 (m, 1H), 5,09 - 5,34 (m, 1H), 4,95 - 5,09 (m, 5H), 4,58 (s, 3H), 4,18 - 4,40 (m, 2H), 3,73 - 3,90 (m, 2H), 3,14 - 3,23 (m, 2H), 2,99 (d, J = 9,28 Hz, 6H), 2,31 (br. s., 5H), 2,10 (s, 5H), 2,13 (s, 2H), 2,04 (s, 1H), 1,98 (br. s., 3H), 1,93 (s, 1H), 1,81 (s, 6H), 0,79 - 1,02 (m, 6H), -0,10 - 0,04 (m, 2H), -0,21 – 0,41 (m, 2H).



Hợp chất 29k: hợp chất 29k là sản phẩm phụ đối với tất cả các phản ứng ghép cặp chéo C-O bắt đầu bằng hợp chất 28. MS: theo tính toán đối với $C_{43}H_{48}N_2O_{14}$, 816,3; trên thực tế 817,3 (M+H), 839,3 (M+Na). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 10,09 (s, 1H), 9,31 (s, 1H), 6,44 (s, 2H), 6,00 (s, 1H), 5,77 (br. s., 2H), 5,20 (br. s., 1H), 4,81 - 4,88 (m, 2H), 4,05 (br. s., 1H), 3,48 - 3,54 (m, 1H), 3,16 (br. s., 1H), 3,02 (br. s., 3H), 2,97 (br. s., 1H), 2,77 (br. s., 1H), 2,51 - 2,54 (m, 1H), 2,12 - 2,21 (m, 4H), 2,00 (br. s., 1H), 1,92 - 1,98 (m, 5H), 1,90 (s, 1H), 1,74 (s, 3H), 1,61 - 1,71 (m, 6H), 1,43 - 1,61 (m, 3H), 1,22 - 1,24 (m, 1H), 0,83 (d, J = 6,35 Hz, 2H), 0,66 (br. s., 3H), 0,06 (d, J = 0,98 Hz, 1H).

Ví dụ 6: Điều chế hợp chất 35

Chất tương tự rifamyxin 35 được tổng hợp từ rifamyxin S như được thể hiện trong Sơ đồ 10, dưới đây, và được mô tả dưới đây.



Tổng hợp hợp chất 31. Dung dịch chứa hợp chất 30 (200mg, 1,920mmol) trong điều kiện khí argon trong 1,4-dioxan/nước (thể tích/thể tích, 10:1, 11mL) được bổ sung Fmoc-OSu (1360mg, 4,032mmol) vào. Sau khi khuấy trong 5 giờ, phân tích LC/MS cho thấy phản ứng hoàn tất. Hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng $NaHCO_3$ bão hòa (5mL) và được chiết bằng EtOAc (3 X 15mL). Sau đó lớp hữu cơ đã kết hợp được xử lý bằng nước muối (10mL), được làm khô (Na_2SO_4) và được cô trong chân không để thu được hợp chất thô 31 dưới dạng bọt trắng (800mg, 76%), được sử dụng ngay trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS: theo tính toán đối với $C_{34}H_{32}N_2O_5$, 548,2; trên thực tế 549,2 (M+H).

Tổng hợp hợp chất 32. Dung dịch đang khuấy chứa hợp chất 8 (160mg, 0,652mmol) trong điều kiện khí argon trong THF (2mL) ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung rượu 31 (432mg, 0,788mmol) và PPh_3 (308mg, 1,174mmol). Sau đó dung dịch chứa DBAD (270mg, 1,174mmol) trong THF (1mL) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng từng giọt. Sau khi khuấy trong 15 giờ, hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô và phần cặn được tinh chế trên cột silicagel 40 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 0 - 100% etyl axetat trong hexan), và các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 32 dưới dạng chất rắn màu trắng hơi vàng (286mg, 56%). MS: theo tính toán đối với $C_{47}H_{41}N_3O_8$, 775,3;

trên thực tế 776,3 (M+H), 798,2 (M+Na).

Tổng hợp hợp chất 33. Dung dịch trong điều kiện khí argon chứa hợp chất 32 (220mg, 0,284mmol) trong 5mL metanol/EtOAc (2:3) và được khử khí bằng khí argon được bổ sung 31mg Pd/C 10%. Hỗn hợp này được khử khí thêm bằng argon và được nối với bóng hydro. Sau 2 giờ, phân tích bằng LC/MS từ phần phân ước đang xử lý cho thấy phản ứng hoàn tất. Hỗn hợp được lọc qua Celite và được cô để thu được 150mg hợp chất 33 (độ tinh khiết 85% theo LC/MS) dưới dạng dầu màu hơi vàng, được sử dụng ngay trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS: theo tính toán đối với $C_{40}H_{37}N_3O_6$, 655,3; trên thực tế 656,3 (M+H).

Tổng hợp hợp chất 34. Bình thót cổ đáy tròn chứa hydroxyanilin 33 (150mg, 0,194mmol, độ tinh khiết 85%), được bổ sung toluen (2mL) và rifamyxin S (129mg, 0,185mmol) vào. Hỗn hợp phản ứng được nghiền bằng sóng âm trong 1 phút để hòa tan hỗn hợp phản ứng, được bịt kín bằng vách ngăn cao su, được dẫn lọc bằng argon, và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 1 ngày một phần khác của hydroxyanilin 33 (45mg, 0,059mmol, độ tinh khiết 86%, được tổng hợp bằng cách sử dụng cùng quy trình được mô tả ở trên) trong toluen (2mL) được bổ sung vào và được khuấy trong 5 ngày. Hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không để loại bỏ toluen, được hòa tan trong EtOH (4mL) và MnO_2 (20mg) được bổ sung vào. Sau khi khuấy trong 4 d, hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không và được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trên cột silicagel 40 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 0 - 100% etyl axetat trong hexan). Các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 34 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (65mg, 26%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{77}H_{78}N_4O_{17}$, 1330,5; trên thực tế, 1353,5 (M+Na).

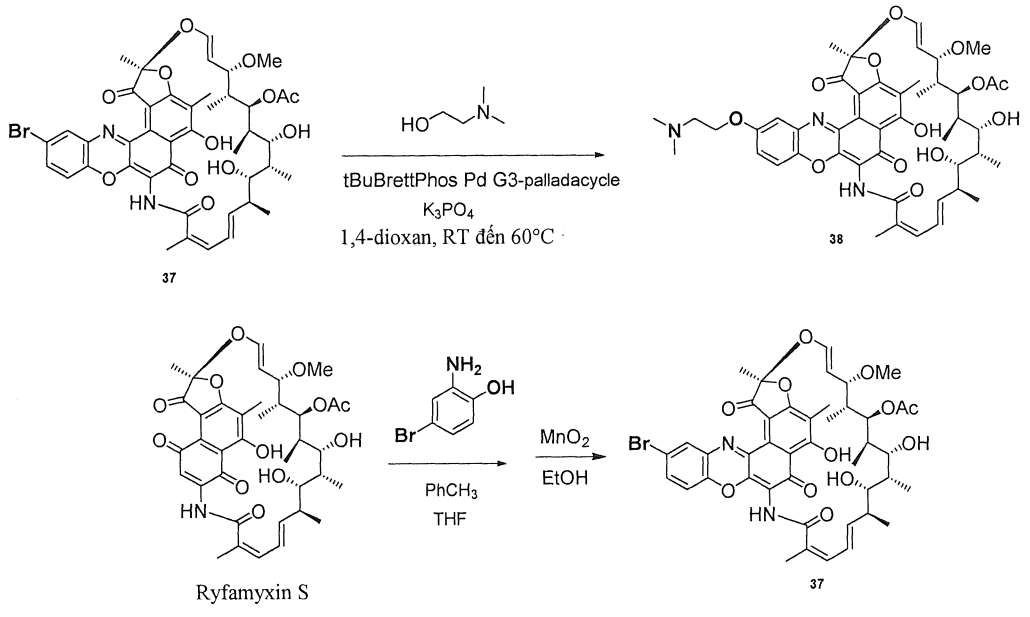
Tổng hợp hợp chất 35. Dung dịch đã được khuấy chứa hợp chất 34 (28mg, 0,021mmol) trong điều kiện khí argon trong THF (1mL), được xử lý bằng dung dịch chứa TBAF (13mg, 0,05mL, 0,050mmol, 1M trong THF) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 2 h, hỗn hợp phản ứng được tinh chế trực tiếp trên cột

50 g C18 RediSep Gold thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 - 100% MeCN trong nước, axit axetic 0,05% ở cả hai, trong 30 phút). Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp, được cấp đông trên đá khô, và được làm khô lạnh qua đêm để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 35 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (9mg, 48%). MS: theo tính toán đối với $C_{47}H_{58}N_4O_{13}$, 886,4; trên thực tế 887,3 (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; CD_3OD): δ 7,86-7,74 (m, 1H), 7,18-7,08 (m, 1H), 6,98-6,84 (m, 1H), 6,78-6,68 (m, 1H), 6,53-6,40 (m, 1H), 6,23-6,15 (m, 1H), 6,23-6,15 (m, 1H), 6,00-5,79 (m, 1H), 6,00-5,79 (m, 1H), 5,30-4,95 (m, 2H), 3,81-3,65 (m, 6H), 3,35 (s, 3H), 3,09-2,93 (m, 7H), 2,25-2,20 (m, 2H), 2,17-2,03 (m, 4H), 2,00-1,87 (m, 5H), 1,76-1,68 (m, 4H), 1,03-0,85 (m, 7H), 0,78-0,65 (m, 2H), 0,14-0,03 (m, 4H), 0,13-0,00 (m, 3H), -0,30 (m, 2H).

Ví dụ 7: Tổng hợp chất tương tự 38 theo sáng chế

Chất tương tự rifamyxin 38 được tổng hợp từ rifamyxin S như được thể hiện trong Sơ đồ 11 dưới đây, và như được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 11



Ví dụ 6A: O-alkyl hóa được xúc tác bằng Pd (37):

Hợp chất 37: như được mô tả trong ví dụ 3, rifamyxin S (2,0g, 2,87mmol) trong 80mL toluen ở nhiệt độ trong phòng được xử lý bằng 2-amino-4-bromophenol (0,54g,

2,87mmol). Dung dịch hỗn hợp được khuấy trong 2 ngày ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô và phần cặn được hòa tan trong 20mL etanol và 300mg mangan oxit (MnO_2) được bổ sung với một phần vào dung dịch etanol. Hỗn hợp này được khuấy trong điều kiện khí argon trong 15 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi lọc các nguyên liệu không tan bằng cách sử dụng đệm Celite, dịch lọc được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn sẫm màu được tinh chế trên cột silicagel 120 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 5 - 95% EA trong hexan). Các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 37 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (1,5g, 60%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{43}H_{47}BrN_2O_{12}$, 862,23; trên thực tế 863,1 và 865,1 (M+H), 885,1 và 888,0 (M+Na). ^{1}H NMR ^{1}H-NMR (500MHz; $CDCl_3$): δ 8,19-8,19 (m, 1H), 7,66-7,64 (m, 1H), 7,48 (s, 2H), 7,06 (s, 1H), 6,23-6,18 (m, 1H), 6,01 (d, J = 12,3 Hz, 2H), 5,06-5,05 (m, 1H), 4,98 (dd, J = 12,2, 7,1 Hz, 2H), 3,11 (s, 3H), 3,03-3,00 (m, 2H), 2,33 (s, 6H), 2,13 (s, 3H), 2,07 (s, 6H), 1,83 (s, 6H), 1,70 (s, 2H), 1,54 (s, 1H), 0,97 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,80 (d, J = 5,2 Hz, 6H), 0,58-0,57 (m, 4H).

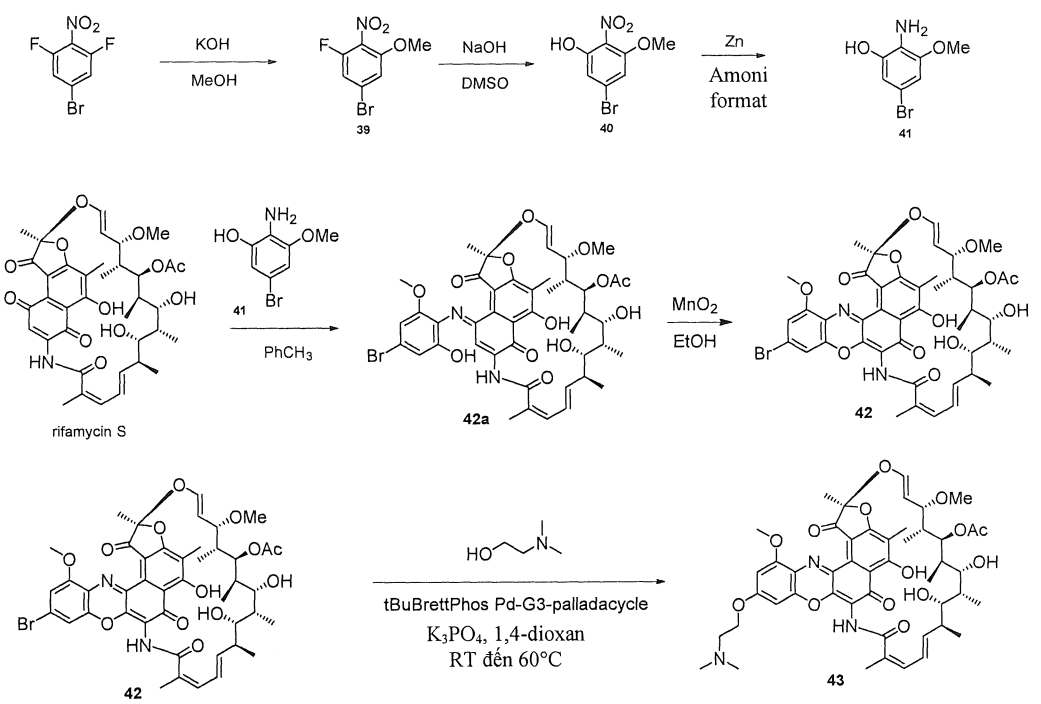
Hợp chất 38*:* sản phẩm ghép cặp C-O được xúc tác bằng paladi chứa rượu bậc một tương tự như các hợp chất nêu ở tiêu đề 15 và 29 được sử dụng. Hợp chất 37 (60mg, 0,069mmol, 1,00 đương lượng) được bổ sung 2-(dimetylamino)etan-1-ol (62mg, 0,69mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (30mg, 0,0345mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (30mg, 0,141mmol, 2,0 đương lượng). Vách ngăn được đâm xuyên bằng kim để hút chân không và được làm đầy lại bằng argon (quy trình này được lặp lại hai lần) sau đó bổ sung 1,4-dioxan (1,5mL). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 60°C trong bể dầu trong điều kiện áp suất argon trong 15 giờ. Nguyên liệu được cô trong chân không và được tinh chế trên cột 50 g C18 Aq (gradien rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, axit axetic 0,05% trong cả hai). Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp, được cấp đông trên đá khô, và được làm khô lạnh để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 38 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (6,8mg, 12%). Một bước tinh chế khác bằng phương pháp HPLC điều chế (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải:

10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%) được tiến hành và được làm khô lạnh để thu được sản phẩm tinh khiết (4,5mg). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{47}H_{57}N_3O_{13}$, 871,39; trên thực tế 872,4 (M+H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6) δ 9,48-9,32 (m, 2H), 7,68-7,49 (m, 2H), 7,44-7,27 (m, 1H), 6,11-5,95 (m, 1H), 5,88-5,76 (m, 2H), 5,28-5,16 (m, 2H), 4,84-4,71 (m, 1H), 4,21-4,18 (m, 1H), 3,57-3,43 (m, 2H), 3,09-3,01 (m, 1H), 2,82-2,75 (m, 1H), 2,67 (dd, J = 15,5, 10,1 Hz, 3H), 2,29-2,23 (m, 13H), 2,19 (d, J = 0,6 Hz, 9H), 1,99-1,91 (m, 1H), 1,69 (s, 1H), 1,64-1,56 (m, 1H), 1,55-1,43 (m, 1H), 1,24 (s, 1H), 0,85-0,84 (m, 7H), 0,69-0,68 (m, 4H).

Ví dụ 8: Điều chế hợp chất 43

Chất tương tự rifamyxin 43 được tổng hợp từ rifamyxin S như được thể hiện trong Sơ đồ 12 dưới đây, và như được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 12



Hợp chất 39: Dung dịch đã được khuấy chứa 5-bromo-1,3-diflo-2-nitrobenzen (2,0g, 8,40mmol, 1,0 đương lượng) trong 15mL metanol ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung KOH (504mg, 8,98mmol, 1,07 đương lượng) vào. Hỗn hợp thu được được hồi

lưu ở nhiệt độ 90°C trong 1 giờ. Sau khi phản ứng hoàn tất, hỗn hợp này được làm mát ở nhiệt độ trong phòng và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được pha loãng với etyl axetat (20mL) và được rửa bằng nước, nước muối, và được làm khô trên Na_2SO_4. Sau khi cô trong chân không, thu được sản phẩm thô dưới dạng chất rắn sẫm màu. Phần cặn được hòa tan trong DCM (5mL) và được nạp trên cột silicagel 80 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: hexan - 90% EA trong hexan), và các phần tinh khiết được làm bay hơi để thu được chất rắn màu vàng nhạt của 39 (1,48g, 70%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_7H_5BrFNO_3$, 250,02; trên thực tế 273,2 (M+Na). ^{1}H-NMR (500MHz; $CDCl_3$): δ 7,06 (dd, J = 8,6, 1,5 Hz, 1H), 7,02 (s, 1H), 3,95 (s, 3H).

Hợp chất 40: Dung dịch đã được khuấy chứa 5-bromo-1-flo-3-metoxy-2-nitrobenzen 39 (400mg, 1,56mmol) trong DMSO (3mL) được bổ sung NaOH 1M (2mL, 2mmol) và được gia nhiệt đến 85°C trong bể dầu trong 15 giờ. Phản ứng hoàn tất theo LCMS và được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng sau đó được axit hóa bằng HCl 1M cho đến khi độ pH = 2-3. Dung dịch thu được được chiết bằng cách sử dụng etyl axetat (2 x 10mL). Các lớp hữu cơ đã kết hợp được rửa bằng nước, nước muối, được làm khô (Na_2SO_4), và sau đó được cô. Sau đó dầu thô được tinh chế trên cột silicagel 24 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 0 - 100% etyl axetat trong hexan), và các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được 40 dưới dạng chất rắn màu trắng hơi vàng (0,35g, 89%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_7H_6BrNO_4$, 248,03; trên thực tế 247,9 và 248,9 đối với chất đồng vị (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; $CDCl_3$): δ10,50 (t, J = 0,4 Hz, 1H), 6,94 (s, 1H), 6,71 (s, 1H), 3,97 (s, 3H).

Hợp chất 41: Dung dịch đã được khuấy chứa 5-bromo-3-metoxy-2-nitrophenol 40 (150mg, 0,605mmol, 1,0 đương lượng) và amoni axetat (114mg, 1,814mmol, 3,0 đương lượng) trong THF khan (3mL) ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung bụi Zn (593mg, 9,07mmol, 15 đương lượng) và được khử khí bằng nitơ. Hỗn hợp này được gia nhiệt đến 50°C trong bể dầu qua đêm. Phản ứng hoàn tất theo LCMS. Hỗn hợp phản ứng

được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng và sản phẩm thô được lọc qua đệm Celite và được cô. Sau đó dầu thô được tinh chế trên cột silicagel 24 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 0 - 20% DCM trong metanol), và các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được 41 dưới dạng chất rắn màu nâu (40mg, 31%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_7H_8BrNO_2$, 218,05; trên thực tế 219,9 và 220,9 đối với chất đồng vị (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; $CDCl_3$): δ 6,65 (s, 1H), 6,62 (s, 1H), 3,85 (s, 3H), 1,45 (s, 2H).

Hợp chất 42: sau quy trình tổng quát trong Ví dụ 3, dung dịch đang khuấy trong điều kiện khí argon chứa rifamyxin S (118mg, 0,169mmol) trong 4mL toluen ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung 2-amino-5-bromo-3-metoxyphenol 41 (37mg, 0,169mmol). Dung dịch hỗn hợp được khuấy trong 2 ngày ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô và phần cặn sẫm màu được hòa tan trong 5mL etanol và 30mg mangan oxit (MnO_2) được bổ sung một phần vào dung dịch etanol. Hỗn hợp phản ứng chậm được khuấy trong điều kiện khí argon trong 15 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi lọc các nguyên liệu không tan bằng cách sử dụng đệm Celite, dịch lọc được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn sẫm màu được tinh chế trên cột silicagel 24 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 5 - 95% EA trong hexan). Các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 42 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (70mg, 47%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{44}H_{49}BrN_2O_{13}$, 893,78; trên thực tế 893,7 và 895,7 (M+H), 891,3 và 893,1 (M-H). ^{1}H-NMR (500MHz; $CDCl_3$): δ 7,06 (d, J = 9,8 Hz, 1H), 6,00-5,98 (m, 1H), 5,32 (s, 1H), 5,10-5,05 (m,1H), 5,00-4,96 (m, 1H), 4,13 (s, 4H), 3,11 (s, 3H), 3,03-3,01 (m, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), 2,07 (d, J = 4,3 Hz, 4H), 1,85 (s, 3H), 1,74 (dtd, J = 6,2, 1,7, 1,2 Hz, 1H), 1,67-1,65 (m, 1H), 1,54 (s, 2H), 1,29-1,26 (m, 1H), 0,99-0,97 (m, 3H), 0,85-0,80 (m, 3H), 0,63-0,59 (m, 3H).

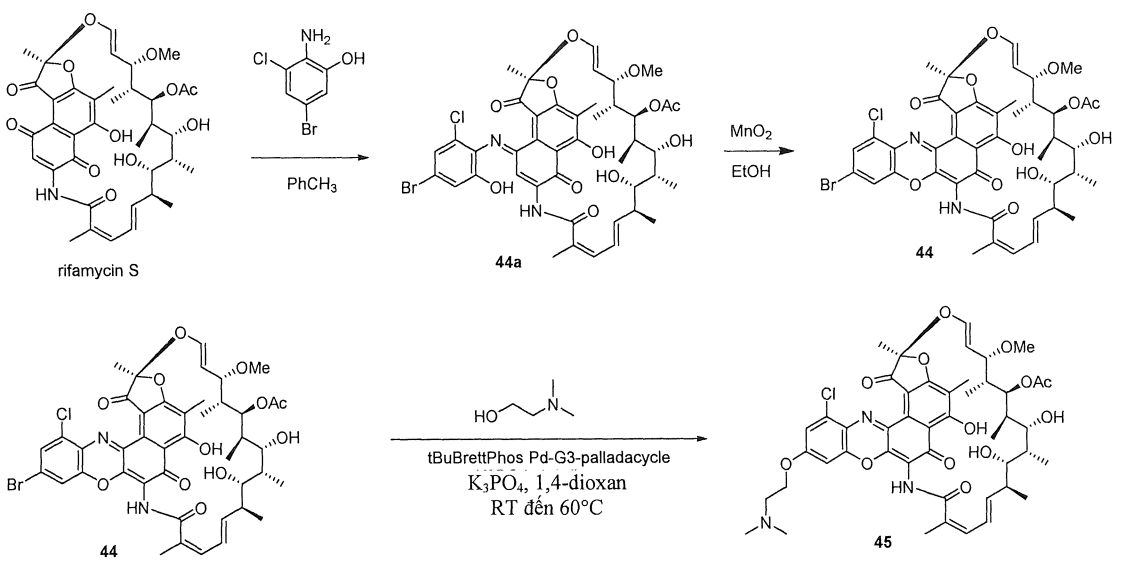
Hợp chất 43: hợp chất 43 được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 42 (37mg, 0,0447mmol, 1,0 đương lượng), 2-(dimetylamino)etan-1-ol (40mg, 0,447mmol, 10 đương lượng), *t*-

BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (20mg, 0,0223mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (20mg, 0,091mmol, 2,0 đương lượng) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 43 (15,0mg, 40%). MS: theo tính toán đối với $C_{48}H_{59}N_3O_{14}$, 901,40; trên thực tế 902,3 (M+H), 900,3 (M-H). ^{1}H-NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,31-9,30 (m, 1H), 6,79-6,76 (m, 1H), 6,70 (d, J = 6,2 Hz, 2H), 6,05-6,03 (m, 1H), 5,81-5,80 (m, 2H), 5,25-5,22 (m, 2H), 4,77-4,77 (m, 2H), 4,29 (dt, J = 1,9, 1,0 Hz, 2H), 4,21-4,13 (m, 3H), 4,00 (s, 3H), 3,57-3,54 (m, 1H), 3,04 (t, J = 0,9 Hz, 4H), 2,96-2,87 (m, 1H), 2,80-2,76 (m, 2H), 2,66 (s, 6H), 2,22 (s, 2H), 2,15 (s, 3H), 2,00 (s, 3H), 1,95 (s, 3H), 1,80-1,78 (m, 1H), 1,66-1,59 (m, 3H), 0,85-0,84 (m, 6H), 0,69-0,66 (m, 6H).

Ví dụ 9: Điều chế hợp chất 45

Chất tương tự rifamyxin 45 được tổng hợp từ rifamyxin S như được thể hiện trong Sơ đồ 13 dưới đây, và như được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 13



Hợp chất 44: Sau quy trình tổng quát trong Ví dụ 3, dung dịch đang khuấy trong điều kiện khí argon chứa rifamyxin S (250mg, 0,359mmol) trong 5mL toluen ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung 2-amino-5-bromo-3-clophenol có bán trên thị trường (80mg, 0,359mmol). Dung dịch hỗn hợp được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô và phần cặn màu đỏ sẫm được hòa tan trong

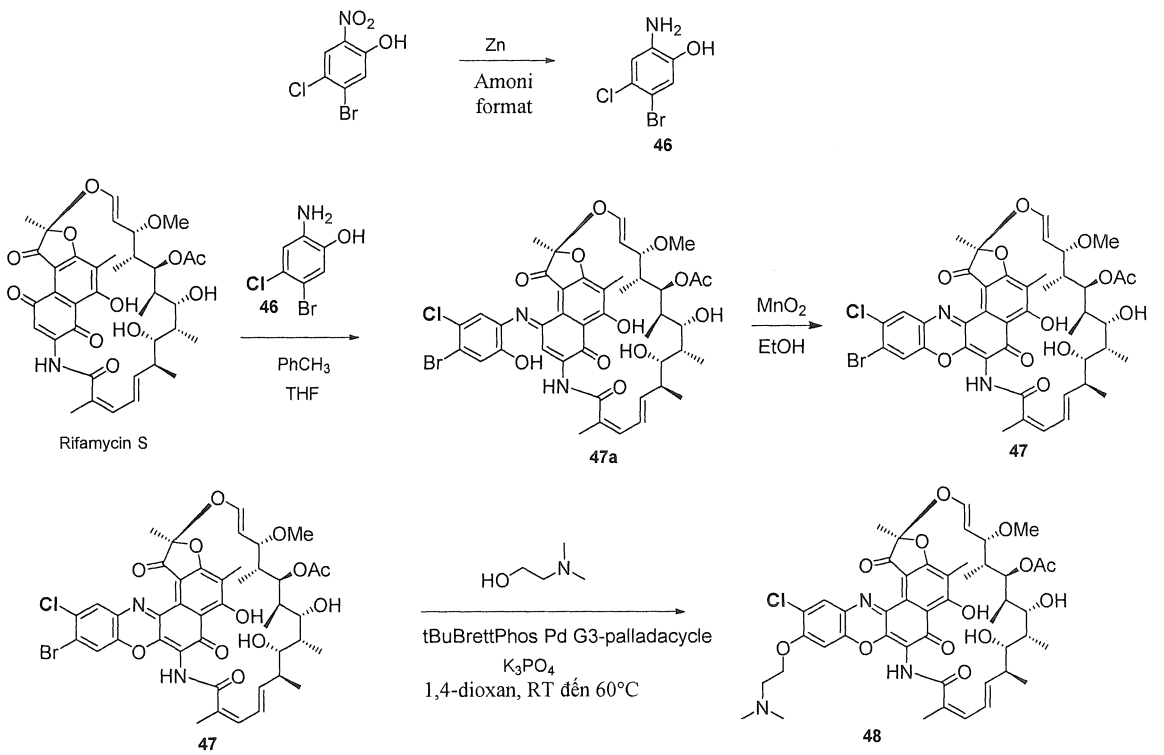
15mL etanol và 300mg mangan oxit (MnO_2) được bổ sung với một phần vào dung dịch etanol. Hỗn hợp phản ứng chậm được khuấy trong điều kiện khí argon trong 15 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi lọc các nguyên liệu không tan bằng cách sử dụng đệm Celite, dịch lọc được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn sẫm màu được tinh chế trên cột silicagel 40 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: hexan - 95% EA trong hexan). Các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 44 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (161mg, 50%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{43}H_{46}BrClN_2O_{12}$, 898,19; trên thực tế 899,1 (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; $CDCl_3$): δ 13,81 (s, 1H), 7,65 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 7,44 (s, 1H), 6,24-6,22 (m, 1H), 6,01 (d, J = 12,2 Hz, 1H), 5,07-5,05 (m, 1H), 4,99 (dd, J = 12,3, 6,8 Hz, 1H), 3,11 (s, 3H), 3,04-3,02 (m, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), 2,08 (s, 4H), 1,84 (s, 3H), 1,74-1,71 (m, 1H), 1,71-1,66 (m, 1H), 1,60 (s, 9H), 0,98 (d, J = 6,5 Hz, 4H), 0,82-0,81 (m, 4H), 0,63 (d, J = 0,5 Hz, 4H).

Hợp chất 45: hợp chất 45 được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 44 (20mg, 0,0222mmol, 1,0 đương lượng), 2-(dimetylamino)etan-1-ol (20mg, 0,222mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (9,5mg, 0,0111mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (9,6mg, 0,045mmol, 2,0 đương lượng) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 45 (6,8mg, 34%). MS: theo tính toán đối với $C_{47}H_{56}ClN_3O_{13}$, 905,35; trên thực tế 906,3 (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; CD_3OD): δ 7,30 (d, J = 0,4 Hz, 1H), 6,93-6,92 (m, 1H), 6,78-6,76 (m, 1H), 6,39-6,37 (m, 1H), 6,20 (dd, J = 12,5, 0,4 Hz, 2H), 5,09-5,07 (m, 1H), 4,58 (dq, J = 2,2, 0,6 Hz, 1H), 4,30 (dd, J = 9,1, 4,5 Hz, 1H), 4,21 (dtd, J = 2,8, 1,4, 0,7 Hz, 1H), 3,04 (d, J = 9,5 Hz, 6H), 2,83 (s, 3H), 2,36 (s, 6H), 2,31 (s, 3H), 2,11 (s, 1H), 2,00 (s, 2H), 1,91 (s, 4H), 1,76 (s, 3H), 1,73-1,62 (m, 2H), 1,30 (s, 1H), 0,96 (d, J = 5,4 Hz, 6H), 0,88 (d, J = 6,4 Hz, 4H), 0,25 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 0,11 (s, 2H), -0,16--0,19 (m, 2H).

Ví dụ 10: Điều chế hợp chất 48

Chất tương tự rifamyxin 48 được tổng hợp từ rifamyxin S như được thể hiện trong Sơ đồ 14 dưới đây, và như được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 14



Hợp chất 46*:* Dung dịch đã được khuấy chứa 5-bromo-4-clo-2-nitrophenol bán trên thị trường (100mg, 0,396mmol, 1,0 đương lượng) và amoni axetat (75mg, 1,188mmol, 3,0 đương lượng) trong THF khan (5mL) ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung bụi Zn (388mg, 5,94mmol, 15 đương lượng) và được khử khí bằng nitơ. Hỗn hợp được gia nhiệt đến 50°C trong bể dầu trong 2 giờ. Phản ứng hoàn tất theo LCMS và được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng. Sản phẩm thô được lọc qua đệm Celite và được cô. Sau đó dầu thô được tinh chế trên cột silicagel 24 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 0 - 20% DCM trong metanol), và các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được 46 dưới dạng chất rắn màu nâu (37mg, 42%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_6H_5BrClNO$, 222,47; trên thực tế 222,9 và 223,9 đối với các chất đồng vị (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; CD_3OD): δ 6,89 (s, 1H), 6,81 (s, 1H) NH_2 và OH không thấy.

Hợp chất 47*:* Sau quy trình tổng quát trong Ví dụ 3, dung dịch đang khuấy trong điều kiện khí argon chứa rifamyxin S (62mg, 0,0899mmol) trong 1,5mL toluen và

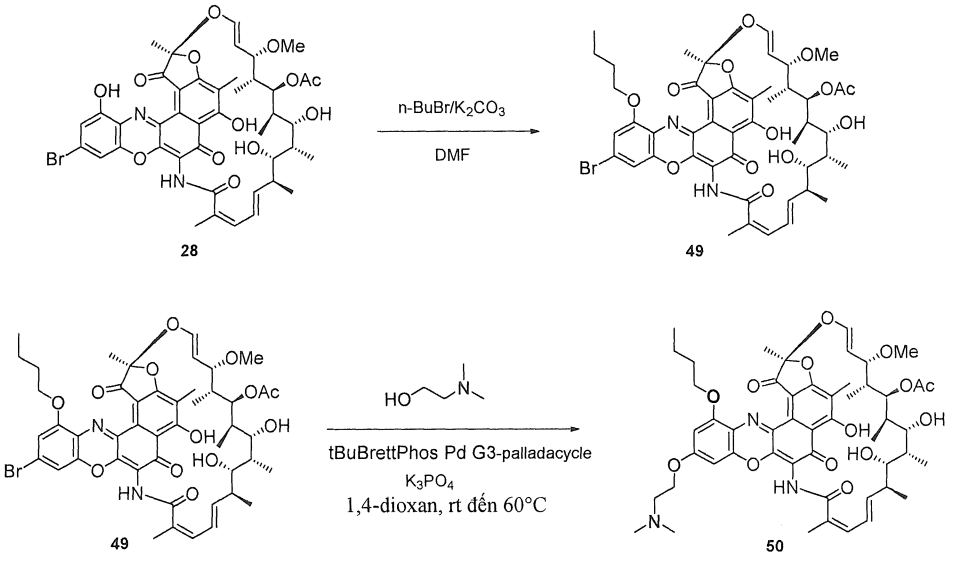
0,25mL THF ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung 2-amino-5-bromo-4-clophenol 46 (20mg, 0,0899mmol). Dung dịch hỗn hợp được khuấy trong 7 ngày ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô và phần cặn màu đỏ sẫm được hòa tan trong 10mL etanol và 100mg mangan oxit (MnO_2) được bổ sung một phần vào dung dịch etanol. Hỗn hợp phản ứng chậm được khuấy trong điều kiện khí argon trong 15 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi lọc các nguyên liệu không tan bằng cách sử dụng đệm Celite, dịch lọc được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn sẫm màu được tinh chế trên cột silicagel 40 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: hexan - 95% EA trong hexan). Các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 47 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (40mg, 51%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{43}H_{46}BrClN_2O_{12}$, 898,19; trên thực tế 899,1 (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; $CDCl_3$): δ 13,87 (s, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 6,32 (s, 1H), 6,01 (d, J = 12,4 Hz, 2H), 5,04-5,04 (m, 1H), 4,98 (dd, J = 12,2, 6,5 Hz, 2H), 3,11 (s, 6H), 3,03-3,01 (m, 2H), 2,34 (s, 6H), 2,14 (s, 7H), 2,07 (s, 6H), 1,83 (s, 6H), 1,73 (dt, J = 6,4, 0,6 Hz, 3H), 1,65-1,56 (m, 17H), 0,99 (d, J = 6,2 Hz, 6H), 0,83-0,82 (m, 6H), 0,60 (t, J = 0,7 Hz, 5H).

Hợp chất 48*:* hợp chất 48 được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 47 (20mg, 0,0222mmol, 1,0 đương lượng), 2-(dimetylamino)etan-1-ol (20mg, 0,222mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (9,5mg, 0,0111mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (9,6mg, 0,045mmol, 2,0 đương lượng) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 48 (2,8mg, 12%). MS: theo tính toán đối với $C_{47}H_{56}ClN_3O_{13}$, 905,35; trên thực tế 906,3 (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; CD_3OD): δ 8,04 (t, J = 0,6 Hz, 1H), 7,15-7,14 (m, 1H), 6,90-6,89 (m, 2H), 6,42-6,41 (m, 2H), 6,22-6,20 (m, 1H), 5,02-4,99 (m, 1H), 4,59 (s, 1H), 4,42-4,41 (m, 1H), 4,24-4,21 (m, 1H), 3,77-3,74 (m, 1H), 3,04-3,02 (m, 1H), 2,94 (d, J = 0,4 Hz, 1H), 2,43 (s, 6H), 2,31 (s, 5H), 2,12 (s, 6H), 1,99 (s, 5H), 1,92 (s, 4H), 1,79 (s, 1H), 1,69 (t, J = 1,4 Hz, 1H), 1,31 (s, 1H), 0,96 (t, J = 0,5 Hz, 6H), 0,85-0,70 (m,4H), 0,11 (s, 1H), -0,22 (td, J = 2,3, 1,2 Hz, 1H).

Ví dụ 11: Điều chế hợp chất 50

Chất tương tự rifamyxin 50 được tổng hợp từ hợp chất 28 như được thể hiện trong Sơ đồ 15 dưới đây, và như được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 15



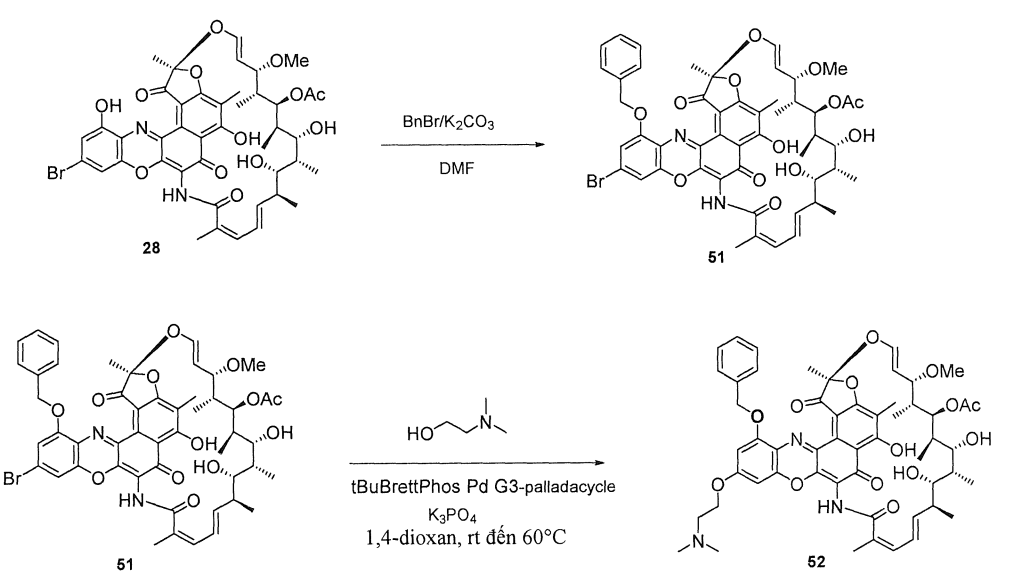
Hợp chất 49: Dung dịch đã được khuấy chứa hợp chất 28 (50mg, 0,0568mmol, 1,0 đương lượng) trong 1,5mL DMF khan ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung K_2CO_3 (12mg, 0,0852mmol, 1,5 đương lượng) sau đó bổ sung n-BuBr (15,5mg, 0,1136mmol, 2,0 đương lượng). Hỗn hợp thu được được hồi lưu ở nhiệt độ 50°C qua đêm. Sản phẩm thô được pha loãng với axetonitril/nước và được tinh chế trên hệ thống ISCO bằng cột điều chế EZ (các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, 0,05% trong AcOH). Các phân đoạn tinh khiết theo LC/MS được gom, được cấp đông ở bể đá khô/axeton, và được làm khô lạnh trong 30 giờ để thu được 34mg (65%) hợp chất 49. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{47}H_{55}BrN_2O_{13}$, 935,85; trên thực tế 935,2 và 937,2(M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; $CDCl_3$): δ 7,48 (s, 2H), 7,13 (s, 1H), 7,07 (s, 2H), 7,02 (s, 1H), 5,92 - 6,07 (m, 1H), 4,98 (dd, J = 6,84, 12,21 Hz, 1H), 4,18 - 4,25 (m, 2H), 3,11 (s, 3H), 3,02 (br. s., 1H), 2,31 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), 2,07 (s, 4H), 1,95 - 2,03 (m, 2H), 1,80 (s, 4H), 1,74 (br. s., 2H), 1,60 - 1,71 (m, 2H), 1,50 - 1,59 (m, 12H), 1,05 (t, J = 7,33 Hz, 4H), 0,98 (br. s., 3H), 0,81 (br. s., 2H), 0,62 (br. s., 2H)

Hợp chất 50: hợp chất 50 được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 49 (20mg, 0,0213mmol, 1,0 đương lượng), 2-(dimetylamino)etan-1-ol (19mg, 0,213mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (9,1mg, 0,01065mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (9,2mg, 0,043mmol, 2,0 đương lượng) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 50 (6,1mg, 30%). Cột điều chế ISCO EZ (Gemini) được sử dụng để tinh chế sản phẩm mong muốn (các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, 0,05% trong AcOH). MS: theo tính toán đối với $C_{51}H_{65}N_3O_{14}$, 943,45; trên thực tế 944,4 (M+H), 942,3 (M-H). ^{1}H-NMR (500MHz; CD_3OD): δ 6,82-6,81 (m, 2H), 6,70 (s, 1H), 6,58-6,55 (m, 1H), 6,38-6,37 (m, 2H), 6,23 (ddd, *J* = 3,0, 1,6, 0,8 Hz, 2H), 5,07 (bs, 2H), 4,59 (s, 6H), 4,29 (t, *J* = 5,3 Hz, 4H), 4,20-4,14 (m, 2H), 3,74-3,71 (m, 2H), 3,03 (s, 6H), 2,83 (d, *J* = 0,3 Hz, 2H), 2,36 (s, 6H), 2,31 (s, 1H), 2,11 (s, 3H), 1,98 (s, 2H), 1,76 (s, 3H), 1,69-1,60 (m, 1H), 1,30 (s, 2H), 1,08 (s, 6H), 0,97-0,91 (m, 4H), 0,11 (s, 3H), -0,21 (dd, *J* = 2,2, 0,9 Hz, 2H).

Ví dụ 12: Điều chế hợp chất 52

Chất tương tự rifamyxin 52 được tổng hợp từ hợp chất 28 như được thể hiện trong Sơ đồ 16 dưới đây, và như được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 16



Hợp chất 51: Dung dịch đã được khuấy chứa hợp chất 28 (50mg, 0,0568mmol,

1,0 đương lượng) trong 1,5mL DMF khan ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung K_2CO_3 (12mg, 0,0852mmol, 1,5 đương lượng) sau đó bổ sung benzyl bromua (19,4mg, 0,1136mmol, 2,0 đương lượng). Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Cột điều chế EZ hệ thống ISCO được sử dụng để tinh chế sản phẩm mong muốn (các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, 0,05% trong AcOH). Các phân đoạn tinh khiết theo LC/MS được gom, được cấp đông tại bể đá khô/axeton, và được làm khô lạnh trong 30 giờ để thu được 25mg (45%) của hợp chất 51. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{50}H_{53}BrN_2O_{13}$, 969,88; trên thực tế 969,2 và 971,2 (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; $CDCl_3$): δ 7,68-7,66 (m, 1H), 7,45-7,42 (m, 2H), 7,39-7,37 (m, 2H), 7,19 (dt, J = 1,0, 0,5 Hz, 2H), 7,14 (t, J = 0,4 Hz, 2H), 5,99 (dd, J = 12,2, 0,4 Hz, 1H), 5,44-5,38 (m, 1H), 5,29-5,22 (m, 2H), 5,00-4,96 (m, 2H), 3,10 (s, 3H), 3,03-3,01 (m, 1H), 2,31 (s, 6H), 2,14 (s, 3H), 2,07 (s, 3H), 1,78 (d, J = 0,4 Hz, 3H), 1,66-1,64 (m, 3H), 1,54 (s, 3H), 1,27 (s, 3H), 1,00-0,98 (m, 3H), 0,90 (dd, J = 8,5, 4,8 Hz, 3H), 0,83 (dddd, J = 2,9, 2,1, 1,5, 0,7 Hz, 2H), 0,63-0,61 (m, 1H), 0,14 (s, 1H).

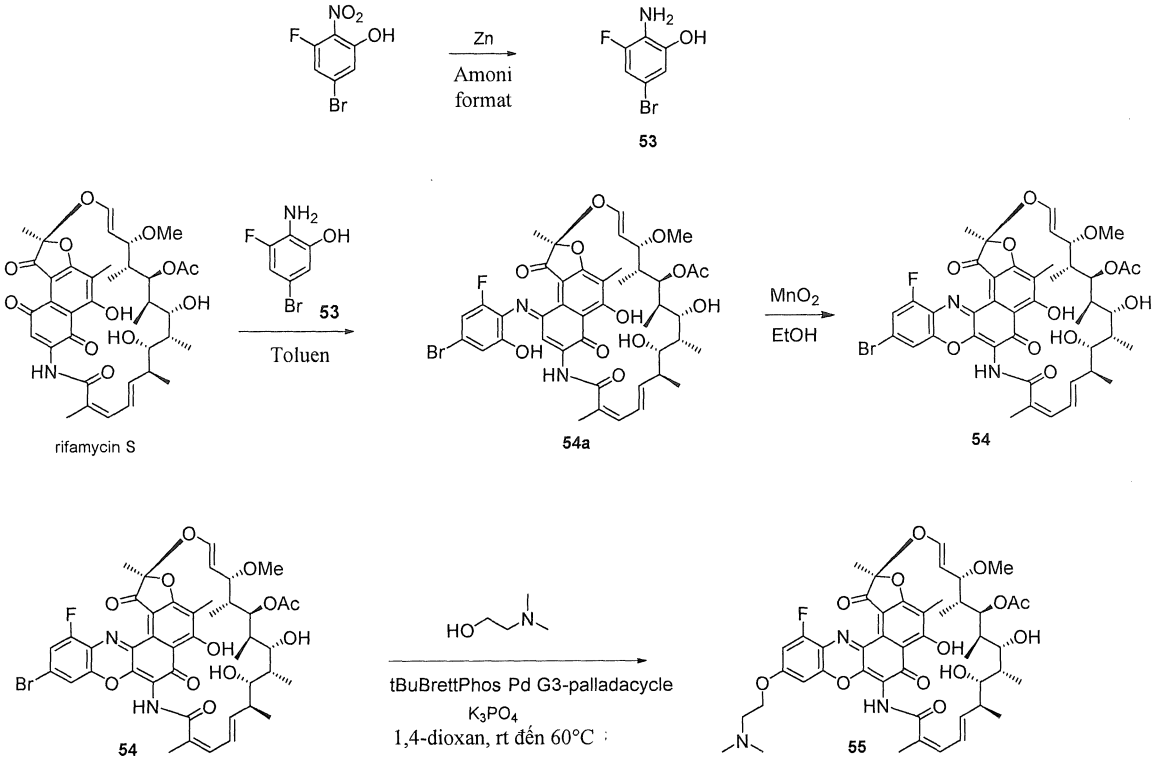
Hợp chất 52: hợp chất 52 được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 51 (26mg, 0,0268mmol, 1,0 đương lượng), 2-(dimetylamino)etan-1-ol (24mg, 0,268mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (11,4mg, 0,0134mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (11,5mg, 0,054mmol, 2,0 đương lượng) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 52 (7,0mg, 27%). Cột điều chế ISCO EZ (Gemini) được sử dụng để tinh chế sản phẩm mong muốn (các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, 0,05% trong AcOH). MS: theo tính toán đối với $C_{54}H_{63}N_3O_{14}$, 977,43; trên thực tế 978,4 (M+H), 976,3 (M-H). ^{1}H-NMR (500MHz; CD_3OD): δ 7,73 (d, J = 7,0 Hz, 2H), 7,43 (d, J = 4,3 Hz, 2H), 7,38-7,37 (m, 1H), 6,81 (s, 2H), 6,58 (d, J = 0,9 Hz, 1H), 6,42-6,40 (m, 1H), 6,21-6,18 (m, 1H), 6,03 (d, J = 12,6 Hz, 1H), 5,41-5,36 (m, 2H), 5,05-5,01 (m, 1H), 4,59 (s, 1H), 4,29 (d, J = 5,1 Hz, 1H), 4,18 (dt, J = 2,6, 1,3 Hz, 1H), 3,72-3,70 (m, 1H), 3,00 (d, J = 9,9 Hz, 4H), 2,83 (s, 2H), 2,37 (s, 7H), 2,29 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 2,03 (d, J = 18,5 Hz, 6H), 1,74 (s, 4H), 1,64-1,63 (m, 1H), 1,30 (s, 1H), 0,96-0,90 (m, 10H), 0,11-0,09 (m, 2H), -0,25 (t, J = 0,6

Hz, 2H).

Ví dụ 13: Điều chế hợp chất 55

Chất tương tự rifamyxin 55 được tổng hợp từ Rifamyxin S như được thể hiện trong Sơ đồ 17 dưới đây, và như được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 17

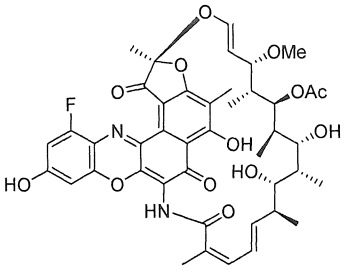


Hợp chất 53: Dung dịch chứa 5-bromo-3-flo-2-nitrophenol bán trên thị trường (150mg, 0,635mmol, 1,0 đương lượng) và amoni axetat (120mg, 1,906mmol, 3,0 đương lượng) trong THF khan (5mL) ở nhiệt độ trong phòng, được khử khí bằng nitơ, được bổ sung bụi Zn (622mg, 9,52mmol, 15 đương lượng). Hỗn hợp được gia nhiệt đến 50°C trong bể dầu trong 2 giờ. Phản ứng hoàn tất theo LCMS và được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng. Sản phẩm thô được lọc qua đệm Celite và được cô. Sau đó dầu thô được tinh chế trên cột silicagel 24 g HP Gold RediSep thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 - 20% DCM trong metanol), và các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được 53 dưới chất rắn màu nâu (67mg, 52%). MS (ESI,

pos.): theo tính toán đối với C_6H_5BrFNO, 206,01; trên thực tế các chất đồng vị 205,9 và 207,9 (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; CD_3OD): δ 6,71-6,67 (m, 2H). NH_2 và OH không thấy.

Hợp chất 54: Sau quy trình tổng quát trong Ví dụ 9, dung dịch đang khuấy trong điều kiện khí argon chứa rifamyxin S (120mg, 0,172mmol) trong 1,5mL toluen ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung hợp chất 53 (36mg, 0,172mmol) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 54 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (92mg, 61%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{43}H_{46}BrFN_2O_{12}$, 881,75; trên thực tế 882,1 và 883,2 (M+H), 880,1 và 881,1 (M-H). ^{1}H-NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,54 (s, 1H), 7,80-7,79 (m, 2H), 6,04-6,01 (m, 1H), 5,74 (s, 1H), 5,22 (s, 2H), 4,80-4,76 (m, 1H), 4,23 (dt, J = 1,4, 0,6 Hz, 1H), 3,09-3,02 (m, 5H), 2,78 (td, J = 10,0, 1,8 Hz, 1H), 2,16 (s, 3H), 1,99 (s, 4H), 1,95 (s, 4H), 1,65 (s, 3H), 1,60-1,59 (m, 2H), 1,46 (dt, J = 1,9, 0,9 Hz, 1H), 0,88-0,85 (m, 2H), 0,83 (t, J = 7,8 Hz, 4H), 0,67 (s, 5H).

Hợp chất 55: hợp chất 55 được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 54 (40mg, 0,0453mmol, 1,0 đương lượng), 2-(dimetylamino)etan-1-ol (40mg, 0,453mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (19,3mg, 0,0226mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (19,6mg, 0,0919mmol, 2,0 đương lượng) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 55 (16,8mg, 42%). MS: theo tính toán đối với $C_{47}H_{56}FN_3O_{13}$, 889,38; trên thực tế 890,4 (M+H), 888,3 (M-H). ^{1}H-NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,43-9,42 (m, 1H), 7,15-7,12 (m, 1H), 7,05-7,03 (m, 1H), 6,04 (dtd, J = 4,5, 2,2, 1,1 Hz, 1H), 5,85-5,80 (m, 1H), 5,23 (dtd, J = 3,5, 1,8, 1,0 Hz, 1H), 4,79-4,75 (m, 1H), 4,27 (s, 1H), 4,19-4,18 (m, 2H), 3,52-3,51 (m, 1H), 3,09-2,99 (m, 4H), 2,80-2,75 (m, 1H), 2,64-2,63 (m, 2H), 2,15 (s, 9H), 1,99 (s, 3H), 1,94 (s, 2H), 1,64 (s, 2H), 1,48-1,44 (m, 1H), 1,36-1,33 (m, 1H), 1,23-1,22 (m, 1H), 1,14-1,13 (m, 1H), 1,05 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 0,83 (d, J = 6,8 Hz, 6H), 0,68-0,66 (m, 5H).

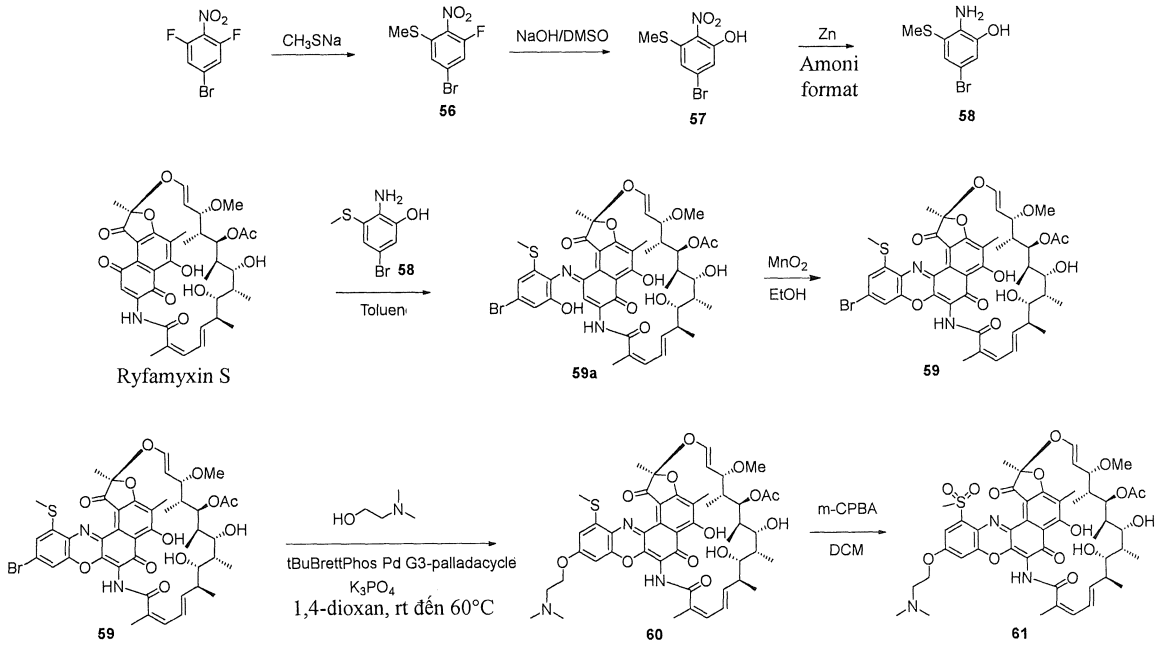


Hợp chất 55a: hợp chất 55a là sản phẩm phụ đối với phản ứng ghép cặp chéo C-O bắt đầu bằng hợp chất 54. MS: theo tính toán đối với $C_{43}H_{47}N_2O_{13}$, 818,3; trên thực tế 819,3 (M+H), 817,2 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,31 (s, 1H), 5,82 (s, 2H), 4,76 (s, 2H), 4,13 (br. s., 1H), 3,52 (d, J = 5,86 Hz, 1H), 3,08 (br. s., 2H), 3,02 (br. s., 3H), 2,97 (s, 1H), 2,88 (s, 1H), 2,77 (br. s., 2H), 2,72 (s, 1H), 2,52 (d, J = 8,79 Hz, 1H), 2,19 (br. s., 1H), 2,14 (br. s., 3H), 1,92 - 2,01 (m, 7H), 1,90 (s, 1H), 1,64 (br. s., 3H), 1,58 (br. s., 2H), 1,22 (s, 1H), 0,72 - 0,95 (m, 6H), 0,67 (br. s., 3H), 0,06 (s, 2H).

Ví dụ 14: Điều chế hợp chất 60 và hợp chất 61

Các chất tương tự rifamyxin 60 và 61 được tổng hợp từ Rifamyxin S như được thể hiện trong Sơ đồ 18 dưới đây, và như được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 18



Hợp chất 56: Dung dịch đã được khuấy chứa 5-bromo-1,3-diflo-2-nitrobenzen (1,0g, 4,2mmol, 1,0 đương lượng) trong 7,5mL DMF trong bể đá được bổ sung CH_3SNa (320mg, 4,6mmol, 1,1 đương lượng) trong 2,5mL nước. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Hỗn dịch màu vàng được pha loãng với nước (5mL) và được lọc để thu được chất rắn màu vàng (0,91g) với tạp chất của sản phẩm phụ di-sulfua. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_7H_5BrFNO_2S$, 266,08; trên thực tế 299,1 (M+Na).

Hợp chất 57: sản phẩm thô 56 (900mg) trong DMSO (10mL) được xử lý bằng NaOH 1M (6mL, 6mmol) và được gia nhiệt đến 85°C trong bể dầu trong 1,5 giờ. Phản ứng hoàn tất theo LCMS và được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được axit hóa bằng HCl 1M cho đến khi độ pH = 2-3 và dung dịch thu được được chiết bằng cách sử dụng etyl axetat (2 x 10mL). Các lớp hữu cơ đã kết hợp được rửa bằng nước, nước muối, được làm khô (Na_2SO_4), và sau đó được cô. Sau đó sản phẩm thô này được tinh chế trên cột silicagel 24 g HP Gold RediSep thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 - 100% etyl axetat trong hexan), và các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được 57 dưới dạng chất rắn màu trắng hơi vàng (0,51g, 46%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_7H_6BrNO_3S$, 264,09; trên thực tế 263,9 và 262,9 đối với các chất đồng vị (M-H). ^{1}H-NMR (500MHz; $CDCl_3$): δ 11,40 (s, 1H), 7,10 (dd, J = 2,0, 1,1 Hz, 1H), 6,91 (d, J = 1,1 Hz, 1H), 6,91 (d, J = 1,1 Hz, 1H), 2,48 (s, 3H).

Hợp chất 58: Dung dịch chứa hợp chất 57 (200mg, 0,757mmol, 1,0 đương lượng) và amoni axetat (143mg, 2,271mmol, 3,0 đương lượng) trong THF khan (7mL) ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung bụi Zn (495mg, 7,57mmol, 10 đương lượng) và được khử khí bằng nitơ. Hỗn hợp được gia nhiệt đến 50°C trong bể dầu trong 2 giờ. Phản ứng hoàn tất theo LCMS và được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng. Sản phẩm thô được lọc qua đệm Celite và được cô. Sau đó sản phẩm thô được tinh chế trên cột silicagel 24 g HP Gold RediSep thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 - 20% DCM trong metanol), và các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không

để thu được 58 dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt (120mg, 68%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với C_7H_8BrNOS, 234,11; trên thực tế là 235,9 và 236,9 đối với chất đồng vị (M+H), 232,9 và 231,9 đối với chất đồng vị (M-H). ^{1}H-NMR (300MHz; $CDCl_3$): δ 7,09 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,84 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 5,07-5,06 (m, 1H), 4,15-4,09 (m, 2H), 2,42 (s, 3H).

Hợp chất 59: Sau quy trình tổng quát trong Ví dụ 9, dung dịch đã được khuấy trong điều kiện khí argon chứa rifamyxin S (267mg, 0,384mmol) trong 5mL toluen ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung hợp chất 58 (90mg, 0,384mmol). Sau 2 ngày, hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không để loại bỏ toluen, được hòa tan trong EtOH (10mL) và MnO_2 (30mg) được bổ sung vào. Sau khi khuấy trong 1 ngày, hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không. Sản phẩm thô được tinh chế trên cột silicagel 40 g HP Gold RediSep thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 - 100% etyl axetat trong hexan) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 59 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (181mg, 52%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{44}H_{49}BrN_2O_{12}S$, 909,84; trên thực tế 910,2 và 911,2 (M+H), 908,1 và 907,1 (M-H). ^{1}H-NMR (500MHz; CD_3OD): δ 7,35 (s, 1H), 7,25-7,23 (m, 1H), 6,74 (dt, *J* = 1,7, 0,9 Hz, 1H), 6,37-6,35 (m, 1H), 6,26-6,22 (m, 2H), 5,20 (ddt, *J* = 7,1, 2,9, 1,1 Hz, 1H), 5,09-5,08 (m, 1H), 3,70-3,68 (m,), 3,05-3,03 (m, 4H), 2,57 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 1,99 (s, 3H), 1,75 (s, 3H), 1,67-1,64 (m, 1H), 0,94 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H), 0,87-0,86 (m, 3H), 0,07-0,06 (m, 2H), -0,17--0,18 (m, 1H).

Hợp chất 60: hợp chất 60 được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tổng quát như được mô tả đối với hợp chất 16b: Hợp chất 59 (40mg, 0,044mmol, 1,0 đương lượng), 2-(dimetylamino)etan-1-ol (40mg, 0,439mmol, 10 đương lượng), *t*-BuBrettPhos-Pd-G3-palladacycle (19mg, 0,022mmol, 0,5 đương lượng), và K_3PO_4 (19mg, 0,089mmol, 2,0 đương lượng) để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 60 (22mg, 55%). MS: theo tính toán đối với $C_{48}H_{59}N_3O_{13}S$, 917,38; trên thực tế 918,4 (M+H), 916,3 (M-H). ^{1}H-NMR (500MHz; CD_3OD): δ 6,85-6,81 (m, 2H), 6,68-6,67 (m, 1H), 6,41-6,39 (m, 1H), 6,27 (dt, *J* = 1,5, 0,7 Hz, 1H), 6,19-6,16 (m, 1H), 5,25-5,22 (m, 1H), 5,03-5,02 (m, 1H), 4,30

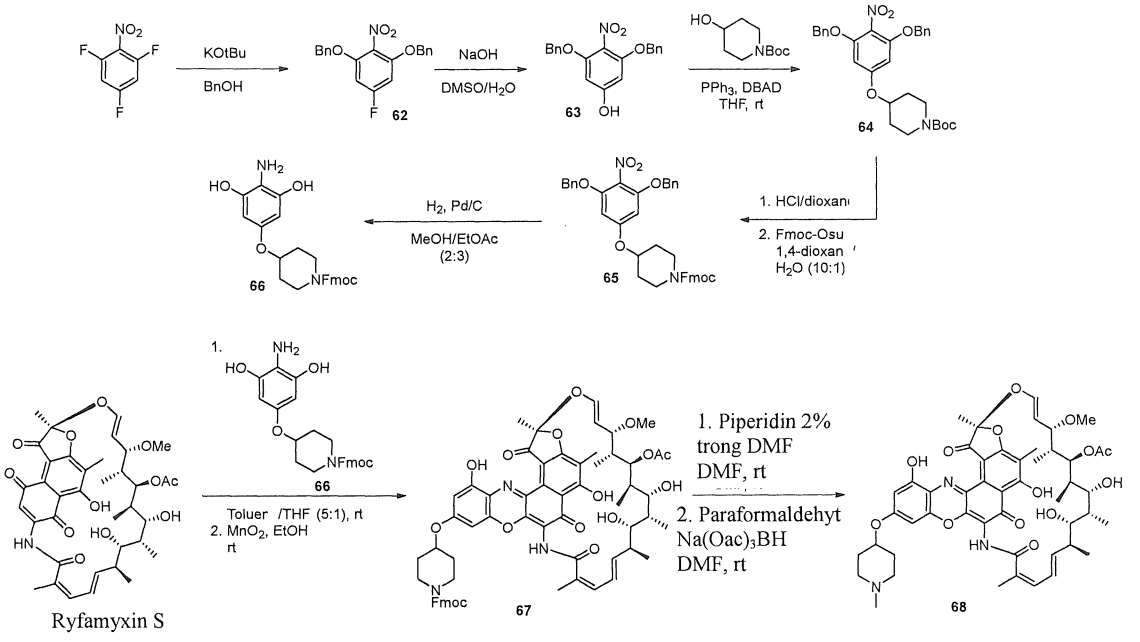
(t, J = 5,1 Hz, 1H), 4,19-4,17 (m, 1H), 3,68 (ddd, J = 5,5, 2,2, 1,0 Hz, 1H), 3,48-3,44 (m, 1H), 3,02 (d, J = 8,9 Hz, 6H), 2,81 (d, J = 4,9 Hz, 3H), 2,56 (s, 3H), 2,43-2,37 (m, 6H), 2,29 (s, 4H), 2,14-2,04 (m, 3H), 1,98 (s, 3H), 1,79-1,71 (m, 3H), 1,63-1,59 (m, 2H), 1,25-1,22 (m, 2H), 1,08-1,05 (m, 2H), 0,94 (d, J = 7,0 Hz, 6H), 0,89-0,87 (m, 3H), 0,05-0,03 (m, 2H), -0,24 (ddt, J = 2,8, 2,2, 1,4 Hz, 2H).

Hợp chất 61: Dung dịch đang khuấy chứa hợp chất 60 (12mg, 0,013mmol) trong 3mL DCM khan trong bể đá được bổ sung *m*-CPBA (6,8mg, 0,039mmol). Dung dịch thu được được để ấm đến nhiệt độ trong phòng trong 3h để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 61. Sản phẩm thô được cô và được tinh chế bằng cột HPLC điều chế EZ hệ thống ISCO (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được gom, được cấp đông trong bể đá khô/axeton, và được làm khô bằng máy làm khô lạnh trong 30 giờ để thu được 6,5mg (52%) của hợp chất 61 dưới dạng chất rắn màu đỏ tía. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{48}H_{59}N_3O_{15}S$, 949,37; trên thực tế 950,37 (M+H), 948,2 (M-H). ^{1}H-NMR (500MHz; CD_3OD): δ 7,94-7,85 (m, 1H), 7,59 (d, J = 0,7 Hz, 1H), 7,42 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,37 (dd, J = 7,2, 0,6 Hz, 1H), 7,18-7,15 (m, 1H), 6,85-6,81 (m, 1H), 6,41-6,36 (m, 1H), 6,23-6,21 (m, 1H), 5,11-5,08 (m, 1H), 4,74-4,72 (m, 2H), 3,83-3,81 (m, 4H), 3,14-3,06 (m, 2H), 3,03 (dd, J = 10,2, 2,1 Hz, 6H), 2,33 (s, 6H), 2,11 (d, J = 5,2 Hz, 4H), 2,04 (s, 3H), 1,98 (s, 3H), 1,77 (d, J = 10,6 Hz, 2H), 1,70-1,65 (m, 1H), 1,29 (s, 1H), 0,94 (d, J = 6,9 Hz, 6H), 0,87-0,86 (m, 3H), 0,10 (d, J = 2,8 Hz, 3H), 0,05-0,02 (m, 2H), -0,17-0,19 (m, 2H).

Ví dụ 15: Điều chế hợp chất 68

Chất tương tự rifamyxin 68 được tổng hợp từ Rifamyxin S như được thể hiện trong Sơ đồ 19 dưới đây, và như được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 19



Hợp chất 62: Dung dịch đã được khuấy chứa 1,3,5-triflo-2-nitrobenzen (1,0g, 5,65mmol, 1,0 đương lượng) trong 5mL THF khan trong bể đá được bổ sung từng giọt dung dịch chứa rượu benzylic (1,34g, 12,42mmol, 2,2 đương lượng) trong 7mL THF, mà sau đó được xử lý bằng dung dịch chứa KO^{t}Bu (12mL, 11,86mmol, 2,1 đương lượng) trong THF trong điều kiện khí argon. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Dung dịch thu được được chiết bằng cách sử dụng etyl axetat (2 x 40mL). Các lớp hữu cơ đã kết hợp được rửa bằng nước, nước muối, được làm khô (Na_2SO_4), và sau đó được cô. Sản phẩm thô được tái kết tinh bằng THF/etanol để thu được chất rắn màu trắng đục của hợp chất 62 (1,63g, 82%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{20}H_{16}FNO_4$, 353,35; trên thực tế 376,1 (M+Na). ^{1}H-NMR (500MHz; $CDCl_3$): δ 7,40-7,35 (m, 10H), 6,40 (d, J = 10,1 Hz, 2H), 5,16 (s, 4H).

Hợp chất 63: Hợp chất 62 (1,4g, 3,96mmol) trong DMSO (7mL) được xử lý bằng NaOH 2M (5mL, 10mmol) và được gia nhiệt đến 85°C trong bể dầu qua đêm. Phản ứng hoàn tất theo LCMS và được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được axit hóa bằng HCl 1M cho đến khi độ pH = 2-3 và dung dịch thu được được chiết bằng cách sử dụng etyl axetat (2 x 30mL). Các lớp hữu cơ đã kết hợp được rửa bằng nước, nước muối, được làm khô (Na_2SO_4), và sau đó được cô. Sau đó sản phẩm thô này

được tinh chế trên cột silicagel 80 g HP Gold RediSep thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 - 100% etyl axetat trong hexan), và các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được 63 dưới dạng chất rắn màu vàng (1,29g, 82%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{20}H_{17}NO_5$, 351,11; trên thực tế 374,1 (M+H) và 350,1 (M-H). ^{1}H-NMR (300MHz; $CDCl_3$): δ 7,40-7,35 (m, 10H), 6,20 (d, *J* = 10,1 Hz, 2H), 5,15(s, 4H).

Hợp chất 64: Hợp chất nêu ở tiêu đề được điều chế bằng cách sử dụng cùng một phương pháp được báo cáo trong Ví dụ 2. Dung dịch đã được khuấy trong điều kiện khí argon chứa hợp chất 63 (200mg, 0,569mmol) trong THF (5mL) ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung BOC-piperidin-4-ol (115mg, 0,569mmol) và PPh_3 (224mg, 0,853mmol) sau đó bổ sung từng giọt DBAD (157mg, 0,682mmol) trong THF (2mL). Sau khi khuấy qua đêm, hỗn hợp này được làm bay hơi đến khô và phần cặn được tinh chế trên cột silicagel 40 g HP Gold RediSep thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 - 100% etyl axetat trong hexan), và các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 64 dưới dạng chất rắn màu trắng đục (285mg, 93%). MS: theo tính toán đối với $C_{30}H_{34}N_2O_7$, 534,24; trên thực tế 557,2 (M+Na). ^{1}H-NMR (500MHz; $CDCl_3$): δ 7,39 (d, *J* = 4,3 Hz, 6H), 7,34 (d, *J* = 4,7 Hz, 4H), 6,14 (s, 2H), 5,15 (s, 4H), 4,29 (dd, *J* = 3,6, 3,0 Hz, 1H), 3,67-3,63 (m, 2H), 3,28-3,26 (m, 2H), 1,79-1,76 (m, 2H), 1,63-1,56 (m, 2H), 1,49 (d, *J* = 2,0 Hz, 9H).

Hợp chất 65: Dung dịch chứa hợp chất 64 (285mg, 0,54mmol) trong 1,4-dioxan (2,0mL) được bổ sung HCl 4M trong 1,4-dioxan (1,4mL). Sau khi khuấy trong 15 giờ, phần phân ước đang xử lý cho thấy phản ứng hoàn tất. Dung dịch này được bổ sung dietyl ete (50mL), sau đó hỗn hợp này được khuấy mạnh trong 1 h cho đến khi tạo thành chất kết tủa màu trắng. Chất rắn được lọc và được rửa bằng ete để thu được muối HCl của amin tương ứng, được sử dụng ngay trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS: theo tính toán đối với $C_{25}H_{26}N_2O_5$, 434,18; trên thực tế 435,2 (M+H).

Dung dịch chứa muối HCl trong 1,4-dioxan/nước (thể tích/thể tích, 1:1, 6mL) được bổ sung $NaHCO_3$ (182mg, 2,17mmol, 4,0 đương lượng) sau đó bổ sung Fmoc-OSu

(219mg, 0,65mmol, 1,2 đương lượng). Sau khi khuấy trong 5 giờ, phân tích LC/MS đang thực hiện cho thấy phản ứng hoàn tất. Hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng nước (5mL) và được chiết bằng EtOAc (3 x 15mL). Sau đó các lớp hữu cơ đã kết hợp được xử lý bằng nước muối (10mL), được làm khô (Na_2SO_4) và được cô trong chân không. Hợp chất thô được tinh chế trên cột silicagel 24g HP Gold RediSep thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 - 100% etyl axetat trong hexan), và các phần tinh khiết được làm bay hơi để thu được bọt màu trắng đục (250mg, 70%). MS: theo tính toán đối với $C_{40}H_{36}N_2O_7$, 656,25; trên thực tế 657,2 (M+H), 689,3 (M+Na). ^{1}H-NMR (500MHz; $CDCl_3$): δ 7,79 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,59 (d, J = 7,4 Hz, 2H), 7,40 (quintet, J = 5,6 Hz, 10H), 7,34 (t, J = 6,9 Hz, 4H), 6,13 (s, 2H), 5,15 (s, 4H), 4,48-4,47 (m, 2H), 4,31-4,30 (m, 1H), 4,26 (t, J = 6,5 Hz, 1H), 3,63 (dddt, J = 5,1, 2,7, 1,7, 0,9 Hz, 2H), 3,35-3,32 (m, 2H), 1,74-1,72 (m, 2H), 1,62-1,58 (m, 2H).

Hợp chất 66: Dung dịch chứa hợp chất 65 (220mg, 0,304mmol) trong 5mL metanol/EtOAc (2:3), được khử khí bằng argon, được bổ sung 28mg Pd/C 10%. Hỗn hợp này được khử khí thêm bằng argon và được nối với bóng hydro. Sau 2 giờ, phân tích bằng LC/MS từ phần phân ước đang xử lý cho thấy phản ứng hoàn tất. Hỗn hợp được lọc qua Celite, được rửa bằng MeOH (2 X 10mL) và EtOAc (10mL) và được cô để thu được 130mg hợp chất 66 (độ tinh khiết 70% theo LC/MS) dưới dạng dầu màu hơi vàng mà được sử dụng ngay trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS: theo tính toán đối với $C_{26}H_{26}N_2O_5$, 446,1; trên thực tế 447,1 (M+H).

Hợp chất 67: Bình thót cổ đáy tròn chứa hydroxyanilin 66 (130mg, 0,204mmol, độ tinh khiết 70%), được bổ sung THF (1mL) và được nghiền bằng sóng âm trong 1 phút. Sau đó rifamyxin S (135mg, 0,194mmol) và toluen (5mL) được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng được nghiền bằng sóng âm trong 2 phút để hòa tan chất rắn màu vàng sẫm, được bịt kín bằng vách ngăn cao su, được dẫn lọc bằng argon, và hỗn hợp phản ứng được khuấy mạnh ở nhiệt độ môi trường. Sau 10 ngày, hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không để loại bỏ toluen/THF, được hòa tan trong EtOH (10mL) và MnO_2 (70mg, 0,805mmol) được bổ sung vào. Sau khi khuấy trong 4 ngày, hỗn hợp phản ứng

được cô trong chân không và được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trên cột silicagel 24 g HP Gold RediSep thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 - 50% MeOH/DCM). Các phân đoạn tinh khiết tương ứng được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 67 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (120mg, 38%). Hợp chất 67 không ion hóa trong LCMS.

Hợp chất 68: Dung dịch đã được khuấy chứa hợp chất thô 67 (120mg, 0,041mmol, độ tinh khiết 38%) trong điều kiện khí argon trong DMF (2mL), được xử lý bằng dung dịch chứa piperidin (0,5mL, 2% trong DMF) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được tinh chế trực tiếp trên cột 50 g C18 RediSep Gold thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 - 100% MeCN trong nước, axit axetic 0,05% ở cả hai, trong 30 phút). Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp, được cấp đông trên đá khô, và được làm khô lạnh qua đêm để thu được sản phẩm được khử bảo vệ Fmoc dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (9mg, 25%). MS: theo tính toán đối với $C_{48}H_{57}N_3O_{14}$, 899,4; trên thực tế 900,4 (M+H).

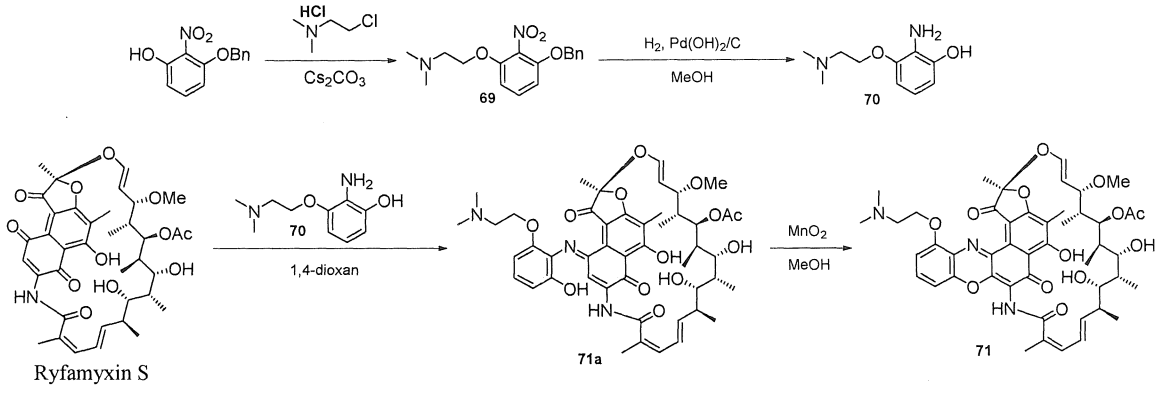
Dung dịch đã được khuấy chứa sản phẩm (7mg, 0,0078mmol) trong điều kiện khí argon trong DCM (2mL), được bổ sung paraformaldehyt (3,5mg, 0,1167mmol) và $Na(OAc)_3BH$ (6,6mg, 0,0312mmol) ở nhiệt độ môi trường. Sau 4 giờ, một phần khác của paraformaldehyt (3,5mg, 0,1167mmol) và $Na(OAc)_3BH$ (6,0mg, 0,0283mmol) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng. Sau 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được lọc qua Celite, được rửa bằng MeOH (2 X 10mL), được cô và được tinh chế trực tiếp trên cột 15,5 g C18 RediSep Gold thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 - 100% MeCN trong nước, axit axetic 0,05% ở cả hai, trong 30 phút). Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp, được cấp đông trên đá khô, và được làm khô lạnh qua đêm để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 68. Hợp chất này được tinh chế lại bằng cột HPLC điều chế EZ (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp, được cấp đông trên đá khô/Axeton, và được làm khô lạnh qua đêm để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 68 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm. (2mg, 28%). MS: theo tính toán đối với $C_{49}H_{59}N_3O_{14}$, 913,4; trên thực tế 914,4 (M+H).

^{1}H-NMR (500MHz; CD_3OD): δ 6,68 (br. s., 1H), 6,47 - 6,58 (m, 1H), 6,32 - 6,46 (m, 1H), 6,13 - 6,32 (m, 1H), 4,64 - 4,75 (m, 1H), 4,59 (br. s., 1H), 3,46 (s, 1H), 3,18 (br. s., 1H), 2,91 - 3,12 (m, 4H), 2,76 (br. s., 2H), 2,51 (br. s., 2H), 2,35 - 2,42 (m, 3H), 2,31 (br. s., 2H), 2,22 (br. s., 2H), 2,04 - 2,17 (m, 3H), 1,97 - 2,04 (m, 3H), 1,94 (s, 6H), 1,90 (br. s., 2H), 1,72 - 1,83 (m, 6H), 1,55 - 1,71 (m, 3H), 1,39 - 1,52 (m, 3H), 1,25 - 1,37 (m, 3H), 0,76 - 1,06 (m, 4H), 0,02 (br. s., 2H), -0,25 (br. s., 3H).

Ví dụ 16: Điều chế hợp chất 71

Chất tương tự rifamyxin 71 được tổng hợp từ Rifamyxin S như được thể hiện trong Sơ đồ 20 dưới đây, và như được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 20



Hợp chất 69*:* Hỗn hợp đã được khuấy của 3-(benzyloxy)-2-nitrophenol (500mg, 2,03mmol, 1,0 đương lượng), muối HCl của 2-clo-*N,N*-dimetyletan-1-amin (380mg, 2,65mmol, 1,3 đương lượng), và Cs_2CO_3 (1,65g, 5,07mmol, 2,5 đương lượng) được bổ sung axeton khan (7mL) và được gia nhiệt ở nhiệt độ 50°C qua đêm. Phản ứng hoàn tất theo LC/MS và được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng. Sản phẩm thô được lọc qua đệm Celite và được cô. Sau đó sản phẩm thô được tinh chế trên cột silicagel 40 g HP Gold RediSep thông qua ISCO (gradien rửa giải: 0 - 20% DCM trong metanol), và các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được 69 dưới dạng dầu sẫm màu (428mg, 67%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{17}H_{20}N_2O_4$, 316,36; trên thực tế 317,2 (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; $CDCl_3$): δ 7,39-7,29 (m, 6H), 6,65 (t, *J* = 8,5 Hz, 2H), 5,18 (s, 2H), 4,17 (t, *J* = 5,9 Hz, 2H), 2,75 (t, *J* =

5,9 Hz, 2H), 2,33 (s, 6H).

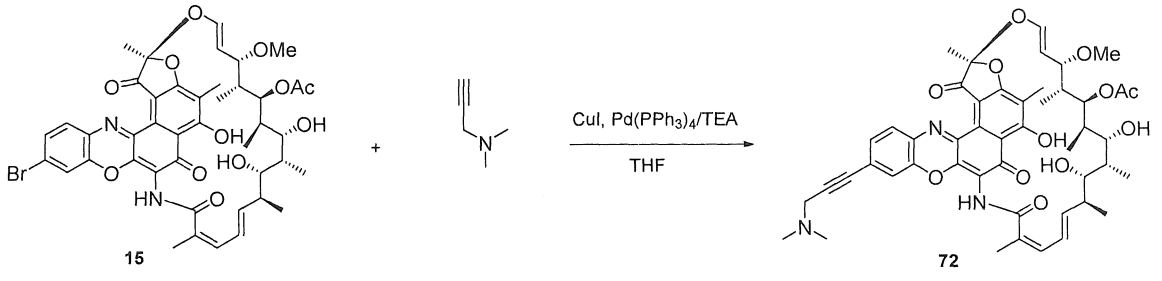
Hợp chất 70: Dung dịch đã được khuấy, trong điều kiện khí argon, chứa hợp chất 69 (185mg, 0,585mmol) trong metanol (3mL) được bổ sung 37mg 20% $Pd(OH)_2/C$ (chứa ~50% nước). Hỗn hợp được khử khí thêm bằng argon và được nối với bóng hydro. Sau 2 giờ, phân tích bằng LC/MS từ phần phân ước đang xử lý cho thấy phản ứng hoàn tất. Hỗn hợp được lọc qua Celite và được cô để thu được 110mg hợp chất nêu ở tiêu đề 70 (độ tinh khiết 85% theo LC/MS) dưới dạng dầu màu vàng sẫm, được sử dụng ngay trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS: theo tính toán đối với $C_{10}H_{16}N_2O_2$, 196,1; trên thực tế 197,1 (M+H).

Hợp chất 71: Bình thót cổ đáy tròn chứa hydroxyanilin 70 (110mg, 0,476mmol, độ tinh khiết 85%), được bổ sung 1,4-dioxan (6,8mL) và rifamyxin S (663mg, 0,953mmol). Hỗn hợp phản ứng được bịt kín thông qua vách ngăn cao su, được dẫn lọc bằng argon, và hỗn hợp phản ứng được khuấy mạnh ở nhiệt độ môi trường. Sau 7 ngày, hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không, được hòa tan trong MeOH (10mL) và MnO_2 (104mg, 1,191mmol) được bổ sung vào. Sau khi khuấy trong 4 tuần, hỗn hợp phản ứng được lọc qua Celite, được rửa bằng MeOH (2 X 20mL) được cô trong chân không và được tinh chế bằng phương pháp sắc ký trên cột silicagel 40 g HP Gold RediSep thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 - 10% sau đó 10 - 50% MeOH/DCM). Các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không. Các phân đoạn đậm đặc được hòa tan trong $MeCN/H_2O$ (1:1), được cấp đông trên đá khô/Axeton, và được làm khô lạnh qua đêm để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 71 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm (48mg, 12%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{47}H_{57}N_3O_{13}$, 871,4; trên thực tế, 872,4 (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,37 (s, 1H), 7,65 (t, J = 8,55 Hz, 1H), 7,15 (d, J = 8,30 Hz, 1H), 5,23 (br. s., 1H), 4,33 (br. s., 2H), 4,28 (br. s., 1H), 3,13 (br. s., 1H), 3,01 (br. s., 4H), 2,95 (br. s., 1H), 2,91 (br. s., 3H), 2,78 (t, J = 9,28 Hz, 1H), 2,31 (br. s., 9H), 2,17 (br. s., 4H), 1,98 (s, 5H), 1,94 (br. s., 4H), 1,67 (br. s., 3H), 1,59 (br. s., 1H), 0,80 - 0,93 (m, 8H), 0,78 (br. s., 1H), 0,67 (br. s., 6H).

Ví dụ 17: Điều chế hợp chất 72

Chất tương tự rifamyxin 72 được tổng hợp từ hợp chất 15 như được thể hiện trong Sơ đồ 21 dưới đây, và như được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 21



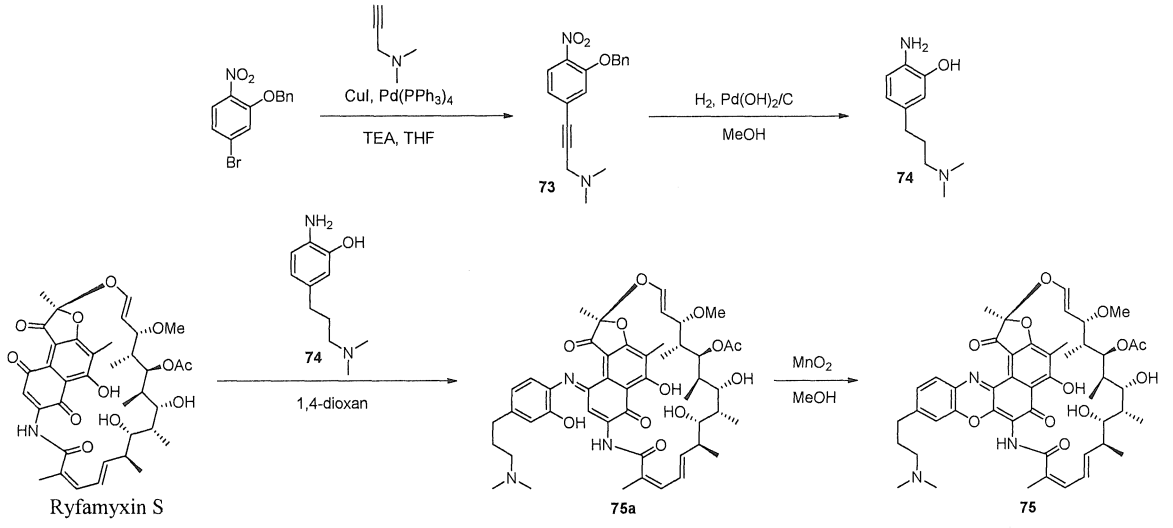
Hợp chất 72: Hợp chất nêu ở tiêu đề được điều chế bằng cách sử dụng phản ứng ghép cặp Sonogashira. Hỗn hợp của hợp chất 15 (100mg, 0,115mmol, 1,0 đương lượng), *N,N*-dimetylprop-2-yn-1-amin (19µL, 0,173mmol, 1,5 đương lượng), CuI (1,1mg, 0,00575mmol, 0,05 đương lượng), $Pd(PPh_3)_4$ (3,3mg, 0,00287mmol, 0,025 đương lượng), và trietylamin (64µL, 0,46mmol, 4,0 đương lượng) trong THF khan (3mL), được khử khí, ở nhiệt độ trong phòng, được khuấy qua đêm. Quy trình phản ứng được theo dõi bằng LC/MS và chất xúc tác bổ sung (10mg) được bổ sung vào. Hỗn hợp được gia nhiệt đến 40°C trong bể dầu qua đêm. Phản ứng hoàn tất theo LC/MS. Sản phẩm thô được lọc qua đệm Celite và được cô. Sau đó sản phẩm thô được tinh chế bằng cột C18 50g sau đó đến một bước tinh chế khác bằng cột HPLC điều chế EZ ISCO (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được gom, được cấp đông trong bể đá khô/axeton, và được làm khô bằng máy làm khô lạnh trong 20 h để thu được 12mg (9%) hợp chất 72 dưới dạng chất rắn màu hơi đỏ. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{48}H_{55}N_3O_{12}$, 865,38; trên thực tế 866,4 (M+H), 864,4 (M-H). ^{1}H-NMR (500MHz; CD_3OD): δ 7,97-7,94 (m, 1H), 7,54 (t, J = 1,7 Hz, 1H), 7,39-7,35 (m, 1H), 6,89-6,86 (m, 1H), 6,38-6,35 (m, 1H), 6,17-6,15 (m, 2H), 5,12-5,09 (m, 1H), 4,95-4,93 (m, 2H), 3,82-3,79 (m, 1H), 3,58 (s, 2H), 3,02 (s, 6H), 2,40 (s, 3H), 2,27-2,27 (m, 4H), 2,12-2,01 (m, 3H), 1,97 (d, J = 10,6 Hz, 8H), 1,74 (s, 4H), 1,72-1,68 (m, 2H), 1,54-1,49 (m, 1H), 1,29 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 0,95

(s, 3H), 0,89 (dd, *J* = 5,2, 1,5 Hz, 3H), 0,21-0,17 (m, 2H), -0,08--0,12 (m, 2H).

Ví dụ 18: Điều chế hợp chất 75

Chất tương tự rifamyxin 75 được tổng hợp từ Rifamyxin S như được thể hiện trong Sơ đồ 22 dưới đây, và như được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 22



Hợp chất 73: Hỗn hợp của 2-(benzyloxy)-4-bromo-1-nitrobenzen (500mg, 1,622mmol, 1,0 đương lượng), *N,N*-dimetylprop-2-yn-1-amin (262µL, 2,433mmol, 1,5 đương lượng), CuI (15,4mg, 0,0811mmol, 0,05 đương lượng), $Pd(PPh_3)_4$ (47mg, 0,0405mmol, 0,025 đương lượng), và trietylamin (904µL, 6,488mmol, 4,0 đương lượng) trong THF khan (15mL) ở nhiệt độ trong phòng, được khử khí và được khuấy trong 5 giờ. Quy trình phản ứng được theo dõi bằng LC/MS. Sản phẩm thô được lọc qua đệm Celite và được cô. Sau đó sản phẩm thô được tinh chế trên cột silicagel 40 g HP Gold RediSep thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 - 20% DCM trong metanol), và các phần tinh khiết được làm bay hơi và được làm khô trong chân không để thu được 73 (492mg, 98%). MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{18}H_{18}N_2O_3$, 310,13; trên thực tế 311,2 (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; CD_3OD): δ 7,81 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,47 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,38 (dd, *J* = 8,4, 1,4 Hz, 4H), 7,14 (dd, *J* = 8,3, 1,5 Hz, 1H), 5,28 (s, 2H), 3,52 (s, 2H), 2,36 (dd, *J* = 1,3, 0,6 Hz, 6H).

Hợp chất 74: Dung dịch chứa hợp chất 73 (100mg, 0,322mmol) trong điều kiện khí argon trong metanol (4mL) được bổ sung 20mg 20% $Pd(OH)_2/C$. Hỗn hợp được khử khí thêm bằng argon và được nối với bóng hydro. Sau 16 giờ, phân tích bằng LC/MS từ phần phân ước đang xử lý cho thấy phản ứng hoàn tất. Hỗn hợp được lọc qua Celite, được rửa bằng MeOH (2 X 10mL) và được cô để thu được 72mg hợp chất nêu ở tiêu đề 74 dưới dạng dầu màu vàng hơi đỏ, được sử dụng ngay trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS: theo tính toán đối với $C_{11}H_{18}N_2O$, 194,1; trên thực tế 195,2 (M+H).

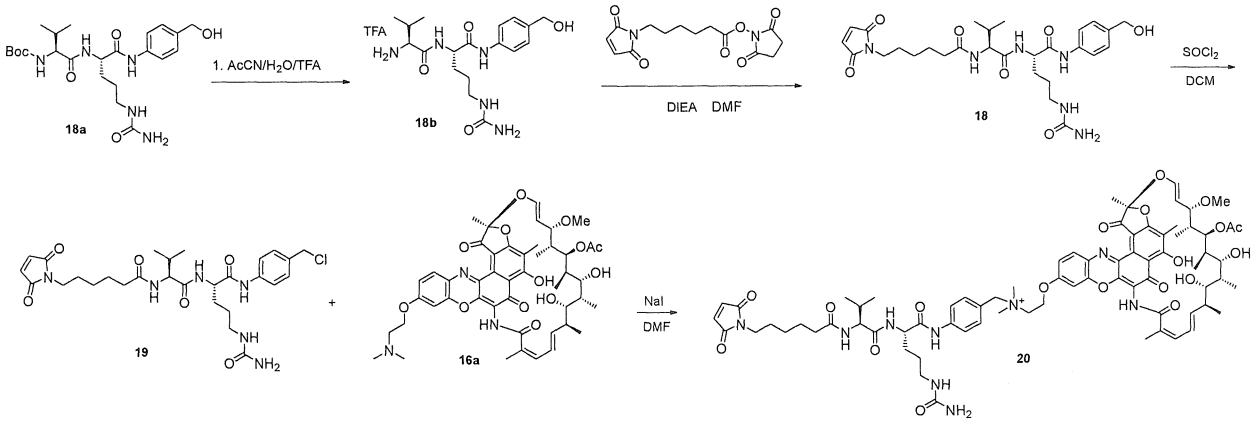
Hợp chất 75: Bình thót cổ đáy tròn chứa hydroxyanilin 74 (72mg, 0,304mmol, độ tinh khiết 82%), được bổ sung 1,4-dioxan (3mL) và rifamyxin S (423mg, 0,608mmol). Hỗn hợp phản ứng được bịt kín thông qua vách ngăn cao su, được dẫn lọc bằng argon, và hỗn hợp phản ứng được khuấy mạnh ở nhiệt độ môi trường. Sau 12 ngày, hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không để loại bỏ dioxan, được hòa tan trong MeOH (6mL) và MnO_2 (106mg, 1,216mmol) được bổ sung vào. Sau khi khuấy trong 20 giờ, hỗn hợp phản ứng được lọc qua Celite, được rửa bằng MeOH (2 X 10mL), được cô trong chân không và được tinh chế trực tiếp trên cột 50 g C18 RediSep Gold thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 0 - 100% MeCN trong nước, axit axetic 0,05% trong cả hai). Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp, được cấp đông trên đá khô/axeton, và được làm khô lạnh qua đêm để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 75. Hợp chất này được tinh chế lại bằng cột HPLC điều chế EZ (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, 10mM NH_4OAc trong cả hai). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp, được cấp đông trên đá khô/axeton, và được làm khô lạnh qua đêm để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 75 dưới dạng chất rắn màu nâu hơi đỏ (6mg, 2,2%). MS: theo tính toán đối với $C_{48}H_{59}N_3O_{12}$, 869,4; trên thực tế 870,4 (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; CD_3OD): δ 8,46 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,00 (s, 1H), 6,28 (d, J = 8,79 Hz, 1H), 6,20 (s, 1H), 5,98 - 6,11 (m, 2H), 5,21 (dd, J = 6,11, 12,46 Hz, 1H), 5,11 (d, J = 10,26 Hz, 1H), 3,85 - 3,99 (m, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,65 - 3,70 (m, 3H), 3,58 (s, 3H), 3,45 (br. s., 3H), 3,04 - 3,15 (m, 3H), 2,35 (br. s., 3H), 2,03 (s, 3H), 1,99 (s, 3H), 1,77 (s, 3H), 1,61 - 1,69 (m, 3H), 1,29 (s, 3H), 1,00 (d, J = 6,84 Hz, 3H), 0,92 (d, J = 7,33 Hz, 3H), 0,75 -

0,89 (m, 3H), 0,63 (d, J = 6,84 Hz, 3H), 0,10 (s, 3H), 0,00 (d, J = 6,84 Hz, 2H).

Ví dụ 19: Điều chế tác nhân liên kết-tải lượng hợp chất

Hóa học Tác nhân liên kết-tải lượng được sử dụng để điều chế hợp chất 20, như được thể hiện trong Sơ đồ 23, dưới đây, và được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 23



Tổng hợp Hợp chất 18. Hợp chất nêu ở tiêu đề được điều chế bằng cách sử dụng quy trình trong đơn sáng chế quốc tế, 2014145090. tert-butyl ((S)-1-(((S)-1-((4-(hydroxymetyl) phenyl)amino)-1-oxo-5-ureidopentan-2-yl)amino)-3-metyl-1-oxobutan-2-yl)carbamat 18a, (500mg, 1,04mmol) được hòa tan trong hỗn hợp của CH_3CN/H_2O/TFA (3:1:1 = thể tích/thể tích/thể tích, 12mL/4mL/4mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 48 h. Quy trình phản ứng được xác định là hoàn tất theo LCMS. Sau khi cô trong chân không, sản phẩm thô 18b (0,9g ướt) được sử dụng trực tiếp cho bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{18}H_{29}N_5O_4$, 379,22; trên thực tế 380,2 (M+H).

Dung dịch chứa hợp chất 18b (700mg, 1,47mmol, 1,0 đương lượng) trong nước (8mL) được pha loãng với 2mL dung dịch $NaHCO_3$ chứa nước ở nhiệt độ 4°C và hỗn hợp (pH = 8,0) được xử lý bằng 2,5-dioxopyrolidin-1-yl 6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)hexanoat bán trên thị trường (408mg, 0,9 đương lượng) trong 10mL axetonitril. Hỗn dịch được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 h cho đến khi phản ứng hoàn tất. Sản phẩm thô được cô trong điều kiện áp suất giảm và được pha loãng với

DMSO (5mL). Sản phẩm thô được tinh chế bằng cột ISCO 150g C18 (các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, 0,05% trong AcOH). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và được làm khô lạnh để thu được 368mg (44%) hợp chất 18 dưới dạng chất rắn màu trắng. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{28}H_{40}N_6O_7$, 572,30; trên thực tế 573,6 (M+H), (2M+H), 1145,9. ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,89 (s, 1H), 8,05 (d, J = 7,33 Hz, 1H), 7,81 (d, J = 8,79 Hz, 1H), 7,52 - 7,57 (m, J = 8,79 Hz, 2H), 7,21 - 7,26 (m, J = 8,79 Hz, 2H), 6,99 - 7,02 (m, 2H), 5,98 (br. s., 1H), 5,40 (s, 2H), 5,10 (t, J = 5,62 Hz, 1H), 4,35 - 4,45 (m, 3H), 4,18 (dd, J = 6,84, 8,30 Hz, 1H), 3,26 - 3,33 (m, 2H), 2,91 - 3,06 (m, 2H), 2,08 - 2,22 (m, 2H), 1,93 - 2,01 (m, 1H), 1,66 - 1,74 (m, 1H), 1,59 (dd, J = 4,40, 9,28 Hz, 1H), 1,43 - 1,55 (m, 5H), 1,32 - 1,43 (m, 1H), 1,19 (quin, J = 7,57 Hz, 2H), 0,84 (d, J = 8,30 Hz, 3H), 0,80 - 0,89 (m, 3H).

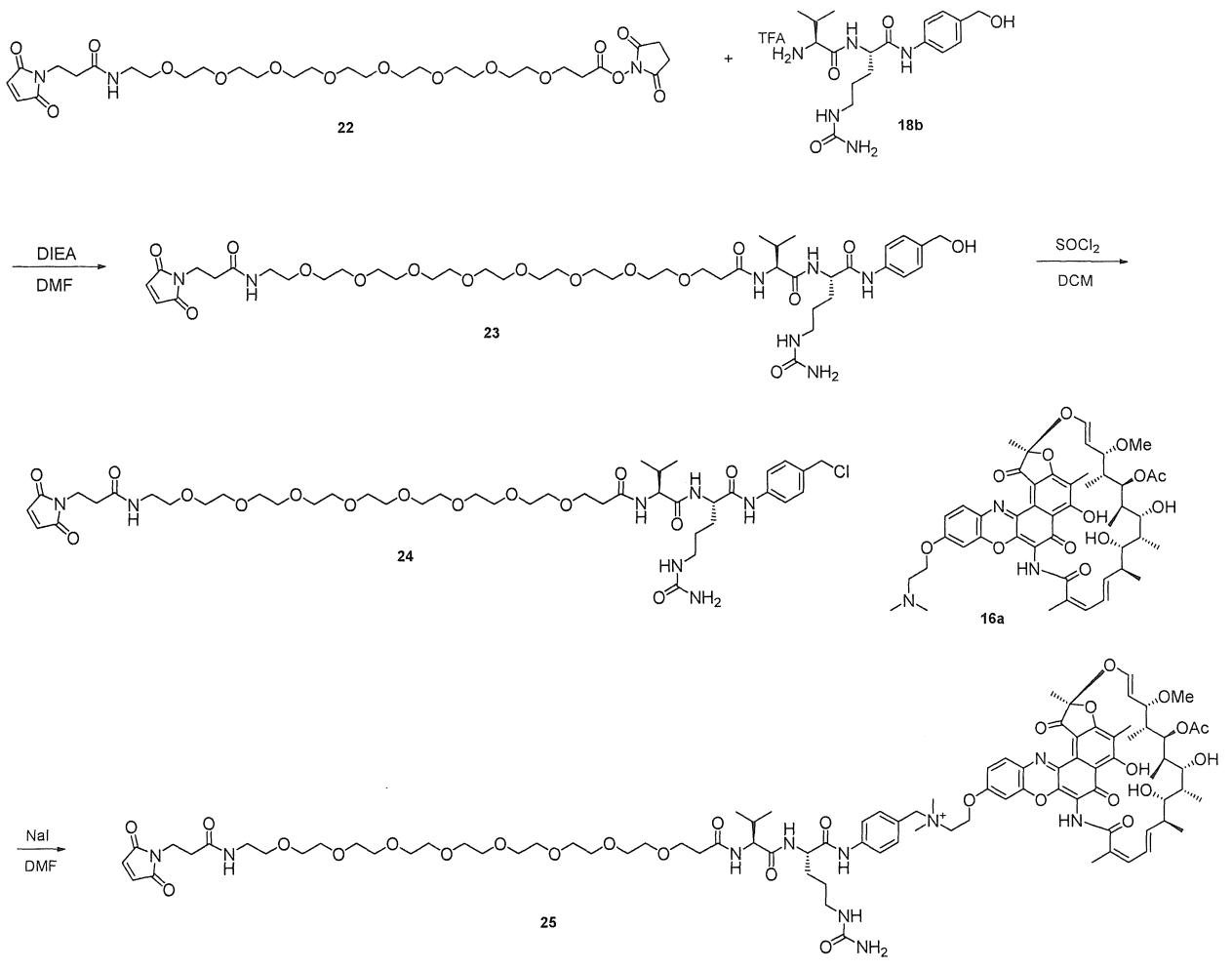
Tổng hợp Hợp chất 19. Hỗn dịch đã được khuấy chứa 18 (100mg, 0,174mmol, 1,0 đương lượng) ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung từ từ $SOCl_2$ (14µL, 0,192mmol, 1,1 đương lượng) bằng cách sử dụng xi lanh cỡ micro. Hỗn hợp phản ứng huyền phù đặc được khuấy trong 1,5 giờ và phần phân ước được phân tích bằng LC/MS chỉ ra sự tạo thành hỗn hợp mong muốn. Hỗn hợp thô được cô để loại bỏ tất cả các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Hỗn hợp được pha loãng với 2mL DMSO và được nạp trên cột ISCO C18 Aq 50g để tinh chế (10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phần tinh khiết được kết hợp và được làm khô lạnh để thu được 72mg (71%) hợp chất 19 dưới dạng chất rắn màu trắng đục. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{28}H_{39}ClN_6O_6$, 590,26; trên thực tế 591,3 (M+H), 1181,5 (2M+H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6) δ 10,03 (s, 1H), 8,03 - 8,11 (m, 1H), 7,79 (d, J = 8,30 Hz, 1H), 7,57 - 7,63 (m, J = 8,79 Hz, 2H), 7,34 - 7,38 (m, J = 8,79 Hz, 2H), 6,99 - 7,02 (m, 2H), 5,97 (br. s., 1H), 5,40 (br. s., 2H), 4,71 (s, 2H), 4,34 - 4,43 (m, 2H), 4,16 - 4,21 (m, 1H), 3,36 - 3,42 (m, 3H), 2,90 - 3,06 (m, 3H), 2,07 - 2,22 (m, 3H), 1,91 - 2,00 (m, 1H), 1,66 - 1,73 (m, 1H), 1,31 - 1,41 (m, 1H), 1,18 (quin, J = 7,69 Hz, 3H), 0,79 - 0,89 (m, 7H).

Tổng hợp Hợp chất 20. Hỗn hợp của hợp chất 19 (13,5mg, 0,0228mmol, 1,2 đương lượng), hợp chất 16a (16,6mg, 0,0190mmol, 1,0 đương lượng), và NaI (14,2mg,

0,095mmol) trong lọ 2 dram được hòa tan trong 1mL DMF khan. Một lượng xúc tác (10µL) của dung dịch DIPEA 0,5M trong DMF được bổ sung vào bằng xi lanh. Hỗn hợp được gia nhiệt ở nhiệt độ 55°C trong bể dầu qua đêm. Phản ứng hoàn tất theo LC/MS để thu được sản phẩm mong muốn. Hỗn hợp được làm mát xuống 4°C và được pha loãng với 1mL nước. Sau khi lọc, hỗn hợp thô sẫm màu được tinh chế bằng cột HPLC điều chế EZ (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và được làm khô lạnh để thu được 14,6mg (55%) hợp chất 20 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{75}H_{96}N_9O_{19}^+$, 1426,68; trên thực tế 1427,3 (M+1) và 1425,5 (M-1). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6) δ 10,25 (s, 1H), 8,19 (d, J = 6,84 Hz, 1H), 7,82 (d, J = 8,30 Hz, 2H), 7,76 (d, J = 8,79 Hz, 3H), 7,50 (d, J = 8,30 Hz, 3H), 7,00 (s, 2H), 6,12 (d, J = 12,70 Hz, 1H), 6,03 (br. s., 1H), 5,43 (s, 2H), 4,70 - 4,80 (m, 2H), 4,58 (br. s., 3H), 4,36 - 4,41 (m, 1H), 4,18 (t, J = 7,82 Hz, 1H), 3,77 (br. s., 2H), 3,36 - 3,45 (m, 8H), 3,13 (d, J = 8,30 Hz, 1H), 2,89 - 3,06 (m, 12H), 2,78 (t, J = 9,04 Hz, 1H), 2,06 - 2,22 (m, 3H), 2,03 (br. s., 1H), 1,91 - 2,00 (m, 10H), 1,85 (s, 3H), 1,66 - 1,74 (m, 1H), 1,56 - 1,64 (m, 6H), 1,42 - 1,56 (m, 8H), 1,38 (d, J = 6,84 Hz, 2H), 1,15 - 1,25 (m, 3H), 0,75 - 0,88 (m, 14H), 0,07 (s, 1H).

Hợp chất tác nhân liên kết-tải lượng 25 được điều chế như được thể hiện trong Sơ đồ 24, dưới đây, và được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 24



Tổng hợp Hợp chất 23. Hỗn hợp của hợp chất 22 (100mg, 0,144mmol) và hợp chất 18b (82mg, 0,217mmol) trong DMF khan (1,5mL) sau đó được xử lý bằng DIEA (50µL, 0,288mmol) thông qua xi lanh cỡ micro. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng và được xác định để thu được hợp chất 23 bằng LC/MS. Hỗn hợp thô được tinh chế bằng cột ISCO C18 100g Aq (các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, 0,05% trong AcOH), các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và được làm khô lạnh để thu được 84,4mg (62%) hợp chất 23. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{44}H_{71}N_7O_{16}$, 953,50; trên thực tế 954,4 (M+H), 976,4 (M+Na), 952,4 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6) δ 9,88 (s, 1H), 8,08 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 8,00 (s, 1H), 7,86 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,55 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,23 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 7,00 (s, 2H), 5,98 (s, 1H), 5,40 (s, 1H), 4,43 (s, 2H), 4,39 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 4,23 (dd, J = 8,3, 6,8 Hz, 2H), 3,60 (d, J = 6,9 Hz, 6H), 3,44 - 3,54 (m, 30H), 3,37 (t, J = 5,8 Hz, 3H), 3,15 (d, J = 5,7 Hz,

2H), 2,99 (d, J = 29,6 Hz, 2H), 2,33 (t, J = 7,3 Hz, 3H), 1,98 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 1,71 - 1,70 (m, 1H), 1,61 - 1,58 (m, 1H), 1,44 - 1,36 (m, 2H), 0,85 (dd, J = 15,5, 6,7 Hz, 7H).

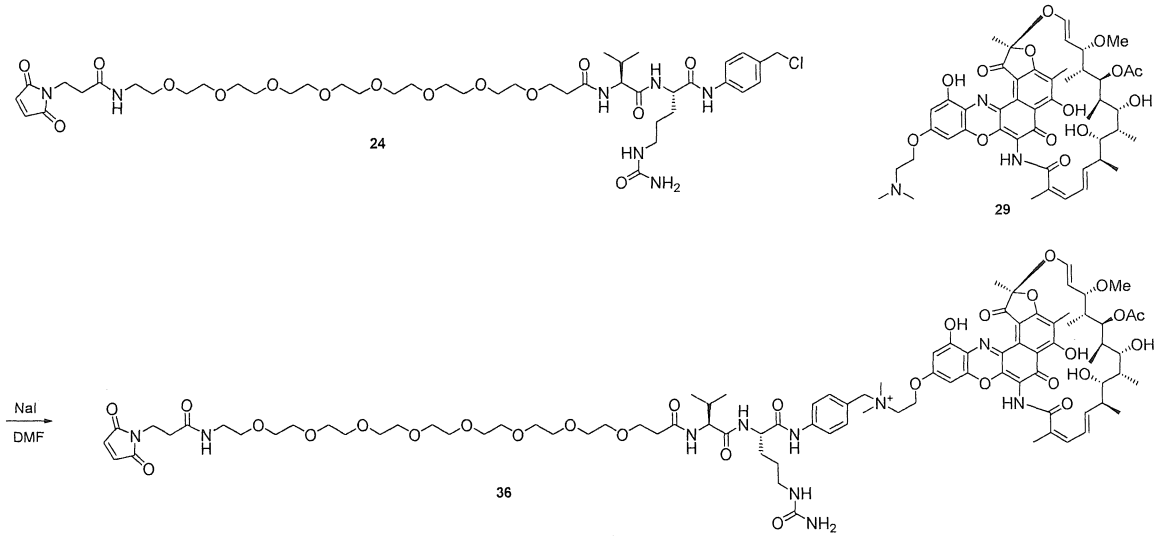
Tổng hợp Hợp chất 24. Hỗn dịch đã được khuấy chứa hợp chất 23 (15mg, 0,0157mmol, 1,0 đương lượng) trong lọ nhỏ ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung từ từ $SOCl_2$ (1,3µL, 0,0173mmol, 1,1 đương lượng) thông qua xi lanh cỡ micro. Sau 1 giờ, phần phân ước được phân tích bằng LC/MS chỉ ra sự hình thành của sản phẩm mong muốn. Hỗn hợp thô được cô để loại bỏ tất cả các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Hỗn hợp thô được pha loãng với 0,8mL MeCN và được nạp lên trên cột HPLC điều chế EZ và được rửa giải (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và được làm khô lạnh để thu được 9,5mg (63%) hợp chất 24 dưới dạng chất rắn màu trắng đục. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{44}H_{70}ClN_7O_{15}$, 971,46; trên thực tế 972,4 (M+H), 994,4 (M+Na), 970,3 (M-1).

Tổng hợp hợp chất tác nhân liên kết-tải lượng *25.* Hỗn hợp của hợp chất 24 (9,5mg, 0,00976mmol, 1,0 đương lượng), hợp chất 16a (8,51mg, 0,00976mmol, 1,0 đương lượng), và NaI (7,3mg, 0,0488mmol) trong lọ 1 dram được hòa tan trong 1mL DMF khan. Một lượng xúc tác (20µL) của dung dịch DIEA 0,5M trong DMF được bổ sung vào bằng xi lanh. Hỗn hợp được gia nhiệt ở nhiệt độ 55°C trong bể dầu qua đêm. Phản ứng hoàn tất theo LC/MS để thu được sản phẩm mong muốn. Hỗn hợp được làm lạnh trong bể đá và được pha loãng với 1mL nước. Sau khi lọc, hỗn hợp thô sẫm màu được tinh chế bằng cột HPLC điều chế EZ (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và được làm khô lạnh để thu được 7,4mg (42%) hợp chất 25 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{91}H_{127}N_{10}O_{28}^+$, 1807,88; trên thực tế 1808,8 (M+H) và 1806,5 (M-1). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6) δ 10,23 (s, 1H), 8,22—8,17 (m, 1H), 8,03—7,98 (m, 1H), 7,86 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,75 (d, J = 8,2 Hz, 4H), 7,50 (d, J = 8,3 Hz, 3H), 7,00 (s, 2H), 6,01 (s, 1H), 5,76 (s, 1H), 5,43 (s, 1H), 4,80—4,80 (m, 1H), 4,58 (s, 1H), 4,43—4,41 (m, 1H), 4,27—4,23 (m, 1H), 3,76 (t, J = 0,6 Hz, 2H),

3,59 (t, J = 7,3 Hz, 5H), 3,49 (d, J = 2,9 Hz, 54H), 3,14 (d, J = 5,8 Hz, 4H), 3,03 (s, 8H), 2,90 (t, J = 0,7 Hz, 3H), 2,77 (d, J = 0,7 Hz, 1H), 2,33 (t, J = 7,3 Hz, 4H), 2,08 (d, J = 6,1 Hz, 4H), 1,94 (d, J = 18,9 Hz, 10H), 1,83 (s, 5H), 1,59 (s, 8H), 0,85 (dd, J = 16,1, 6,7 Hz, 8H).

Hợp chất tác nhân liên kết-tải lượng 36 được điều chế như được thể hiện trong Sơ đồ 25, dưới đây, và được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 25

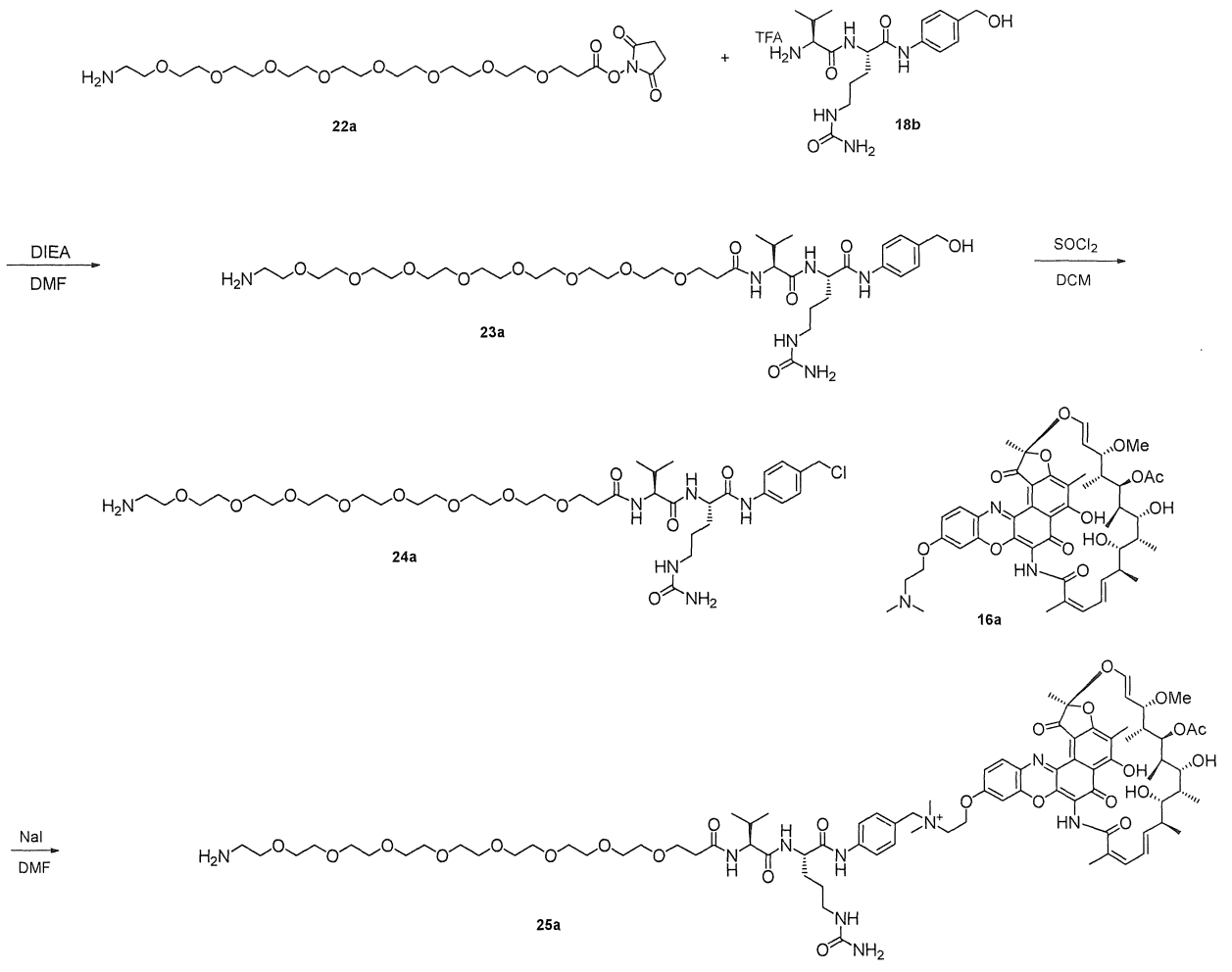


Hợp chất 36: Hỗn hợp của hợp chất 24 (14,4mg, 0,00149mmol, 1,2 đương lượng), hợp chất 16a (11,0mg, 0,00123mmol, 1,0 đương lượng), và NaI (9,1mg, 0,0615mmol) trong lọ 1 dram được hòa tan trong 1mL DMF khan. Một lượng xúc tác của dung dịch DIEA 0,5M trong DMF (10µL) được bổ sung vào thông qua xi lanh. Hỗn hợp được gia nhiệt ở nhiệt độ 55°C trong bể dầu qua đêm. Phản ứng này hoàn tất khi được thử nghiệm bằng LC/MS để thu được sản phẩm mong muốn. Hỗn hợp được làm lạnh trong bể đá và được pha loãng với 0,5mL nước. Sau khi lọc, hỗn hợp thô sẫm màu được tinh chế bằng cột HPLC điều chế EZ (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được gom, được cấp đông, và được làm khô lạnh để thu được 11,7mg (53%) hợp chất 36 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{91}H_{127}N_{10}O_{29}^{+}$, 1823,88; trên thực tế

1824,8 (M+H) và 1821,7 (M-1). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 10,22 (s, 1H), 8,85 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 8,18-8,17 (m, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,86 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,75-7,73 (m, 2H), 7,49-7,47 (m, 2H), 7,00 (s, 2H), 6,28 (dd, J = 9,9, 0,9 Hz, 1H), 6,21 (dd, J = 12,4, 0,6 Hz, 1H), 6,00-5,98 (m, 1H), 5,86 (s, 1H), 5,48 (s, 1H), 5,42 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,04-4,99 (m, 1H), 4,72-4,69 (m, 1H), 4,58-4,50 (m, 3H), 4,40-4,38 (m, 1H), 4,25-4,22 (m, 1H), 3,89-3,87 (m, 1H), 3,73-3,70 (m, 4H), 3,62-3,58 (m, 7H), 3,54-3,47 (m, 29H), 3,36 (t, J = 5,8 Hz, 7H), 3,15 (d, J = 5,7 Hz, 4H), 3,03-2,98 (m, 4H), 2,85 (s, 3H), 2,66 (d, J = 23,9 Hz, 3H), 2,34 (dd, J = 16,4, 9,2 Hz, 4H), 2,12-2,05 (m, 3H), 1,92 (d, J = 18,7 Hz, 13H), 1,67 (s, 3H), 1,61 (t, J = 0,6 Hz, 3H), 1,47-1,37 (m, 3H), 1,24 (d, J = 0,6 Hz, 1H), 0,88-0,78 (m, 8H), 0,78-0,65 (m, 4H), 0,17-0,16 (m, 1H), 0,07 (s, 1H), -0,41 (td, J = 2,5, 0,9 Hz, 1H).

Hợp chất tác nhân liên kết-tải lượng 25a được điều chế như được thể hiện trong Sơ đồ 26, dưới đây, và được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 26



Tổng hợp Hợp chất 23a. Hỗn hợp của hợp chất 22a (100mg, 0,144mmol) và hợp chất 18b (82mg, 0,217mmol) trong DMF khan (1,5mL) sau đó được xử lý bằng DIEA (50µL, 0,288mmol) thông qua xi lanh cỡ micro. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 h ở nhiệt độ trong phòng và được xác định để thu được hợp chất 23a bằng LC/MS. Hỗn hợp thô được tinh chế bằng cột ISCO C18 100g Aq (các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, 0,05% trong AcOH), các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và được làm khô lạnh để thu được 84,4mg (62%) hợp chất 23. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{44}H_{71}N_7O_{16}$, 953,50; trên thực tế 954,4 (M+H), 976,4 (M+Na), 952,4 (M-H). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6) δ 9,88 (s, 1H), 8,08 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 8,00 (s, 1H), 7,86 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,55 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,23 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 7,00 (s, 2H), 5,98 (s, 1H), 5,40 (s, 1H), 4,43 (s, 2H), 4,39 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 4,23 (dd, J = 8,3, 6,8 Hz, 2H), 3,60 (d, J = 6,9 Hz, 6H), 3,44 - 3,54 (m, 30H), 3,37 (t, J = 5,8 Hz, 3H), 3,15 (d, J = 5,7 Hz,

2H), 2,99 (d, J = 29,6 Hz, 2H), 2,33 (t, J = 7,3 Hz, 3H), 1,98 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 1,71 - 1,70 (m, 1H), 1,61 - 1,58 (m, 1H), 1,44 - 1,36 (m, 2H), 0,85 (dd, J = 15,5, 6,7 Hz, 7H).

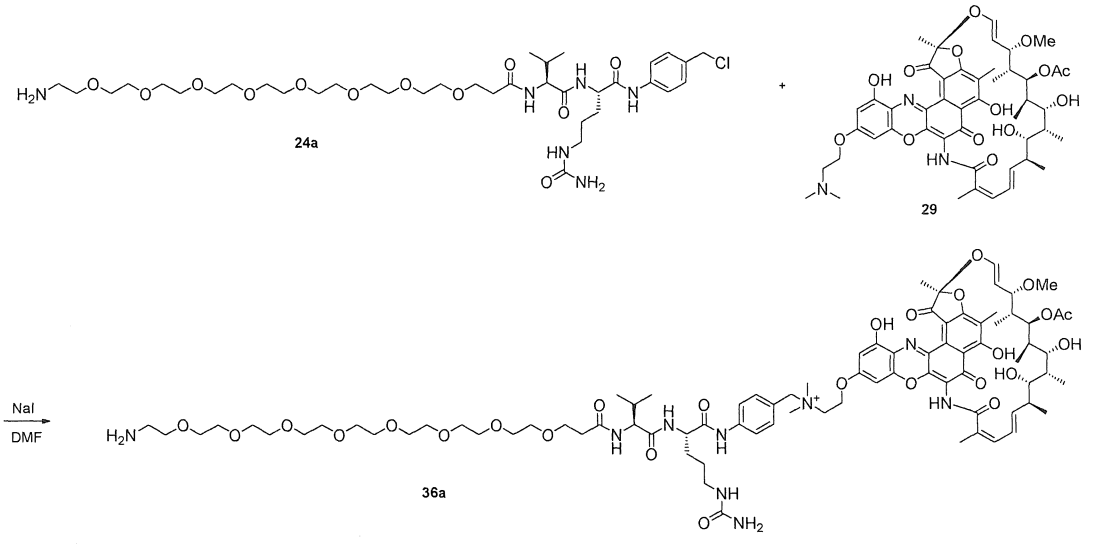
Tổng hợp Hợp chất 24a. Hỗn dịch đã được khuấy chứa hợp chất 23a (15mg, 0,0157mmol, 1,0 đương lượng) trong lọ nhỏ ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung từ từ $SOCl_2$ (1,3µL, 0,0173mmol, 1,1 đương lượng) vào thông qua xi lanh cỡ micro. Sau 1 giờ, phần phân ước được phân tích bằng LC/MS chỉ ra sự hình thành của sản phẩm mong muốn. Hỗn hợp thô được cô để loại bỏ tất cả các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Hỗn hợp thô được pha loãng với 0,8mL MeCN và được nạp lên trên cột HPLC điều chế EZ và được rửa giải (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và được làm khô lạnh để thu được 9,5mg (63%) hợp chất 24 dưới dạng chất rắn màu trắng đục. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{44}H_{70}ClN_7O_{15}$, 971,46; trên thực tế 972,4 (M+H), 994,4 (M+Na), 970,3 (M-1).

Tổng hợp hợp chất tác nhân liên kết-tải lượng 25a. Hỗn hợp của hợp chất 24a (9,5mg, 0,00976mmol, 1,0 đương lượng), hợp chất 16a (8,51mg, 0,00976mmol, 1,0 đương lượng), và NaI (7,3mg, 0,0488mmol) trong lọ 1 dram được hòa tan trong 1mL DMF khan. Một lượng xúc tác (20µL) của dung dịch DIEA 0,5M trong DMF được bổ sung vào bằng xi lanh. Hỗn hợp được gia nhiệt ở nhiệt độ 55°C trong bể dầu qua đêm. Phản ứng hoàn tất theo LC/MS để thu được sản phẩm mong muốn. Hỗn hợp được làm lạnh trong bể đá và được pha loãng với 1mL nước. Sau khi lọc, hỗn hợp thô sẫm màu được tinh chế bằng cột HPLC điều chế EZ (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và được làm khô lạnh để thu được 7,4mg (42%) hợp chất 25 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{91}H_{127}N_{10}O_{28}^+$, 1807,88; trên thực tế 1808,8 (M+H) và 1806,5 (M-1). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6) δ 10,23 (s, 1H), 8,22—8,17 (m, 1H), 8,03—7,98 (m, 1H), 7,86 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,75 (d, J = 8,2 Hz, 4H), 7,50 (d, J = 8,3 Hz, 3H), 7,00 (s, 2H), 6,01 (s, 1H), 5,76 (s, 1H), 5,43 (s, 1H), 4,80—4,80 (m, 1H), 4,58 (s, 1H), 4,43—4,41 (m, 1H), 4,27—4,23 (m, 1H), 3,76 (t, J = 0,6 Hz, 2H),

3,59 (t, J = 7,3 Hz, 5H), 3,49 (d, J = 2,9 Hz, 54H), 3,14 (d, J = 5,8 Hz, 4H), 3,03 (s, 8H), 2,90 (t, J = 0,7 Hz, 3H), 2,77 (d, J = 0,7 Hz, 1H), 2,33 (t, J = 7,3 Hz, 4H), 2,08 (d, J = 6,1 Hz, 4H), 1,94 (d, J = 18,9 Hz, 10H), 1,83 (s, 5H), 1,59 (s, 8H), 0,85 (dd, J = 16,1, 6,7 Hz, 8H).

Hợp chất tác nhân liên kết-tải lượng 36a được điều chế như được thể hiện trong Sơ đồ 27, dưới đây, và được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 27

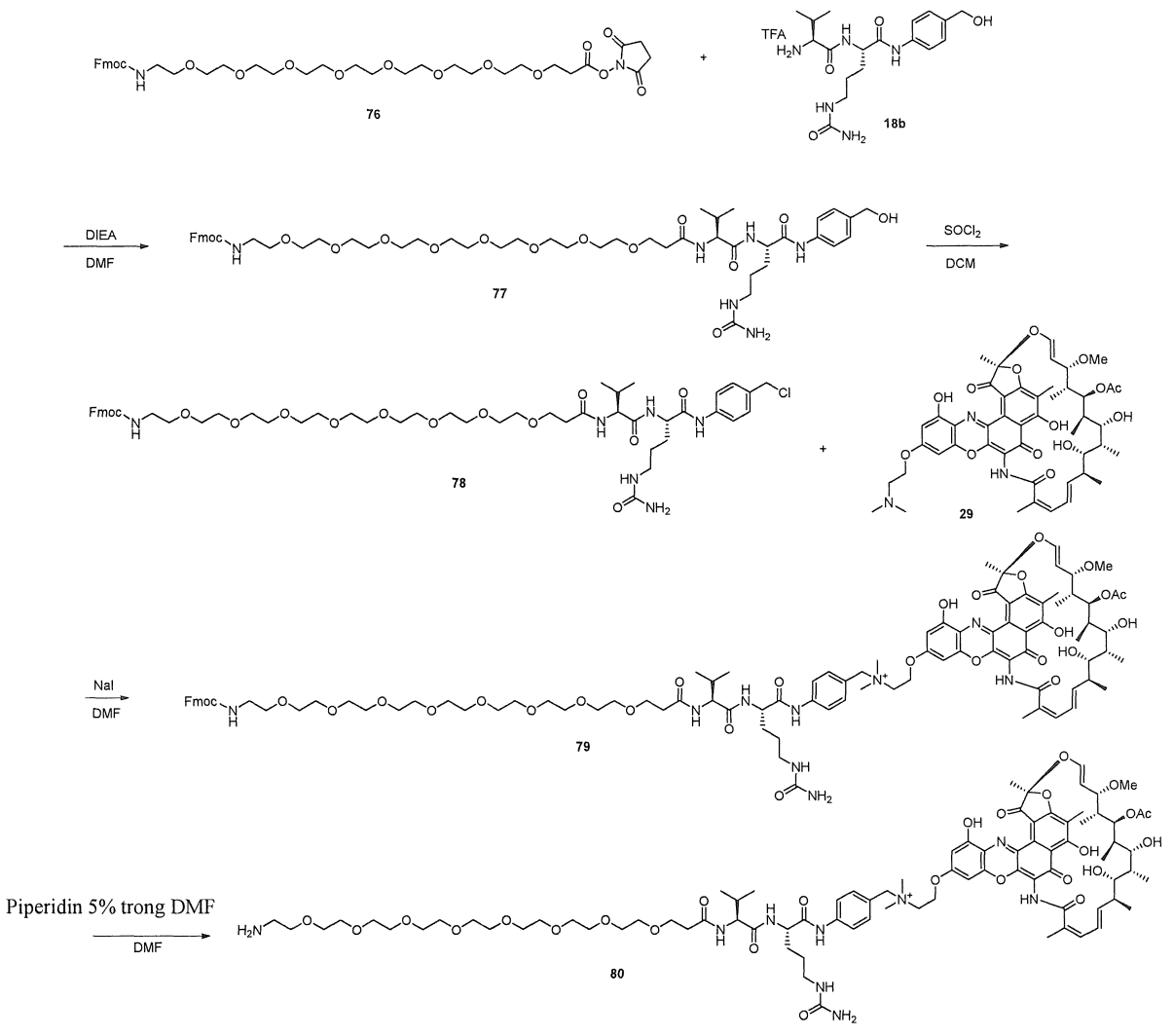


Hợp chất 36a: Hỗn hợp của hợp chất 24a (14,4mg, 0,00149mmol, 1,2 đương lượng), hợp chất 16a (11,0mg, 0,00123mmol, 1,0 đương lượng), và NaI (9,1mg, 0,0615mmol) trong lọ 1 dram được hòa tan trong 1mL DMF khan. Một lượng xúc tác của dung dịch DIEA 0,5M trong DMF (10µL) được bổ sung vào thông qua xi lanh. Hỗn hợp được gia nhiệt ở nhiệt độ 55°C trong bể dầu qua đêm. Phản ứng này hoàn tất khi được thử nghiệm bằng LC/MS để thu được sản phẩm mong muốn. Hỗn hợp được làm lạnh trong bể đá và được pha loãng với 0,5mL nước. Sau khi lọc, hỗn hợp thô sẫm màu được tinh chế bằng cột HPLC điều chế EZ (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được gom, được cấp đông, và được làm khô lạnh để thu được 11,7mg (53%) hợp chất 36 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{91}H_{127}N_{10}O_{29}^{+}$, 1823,88;

trên thực tế 1824,8 (M+H) và 1821,7 (M-1). ^{1}H NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 10,22 (s, 1H), 8,85 (d, J = 0,8 Hz, 1H), 8,18-8,17 (m, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,86 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,75-7,73 (m, 2H), 7,49-7,47 (m, 2H), 7,00 (s, 2H), 6,28 (dd, J = 9,9, 0,9 Hz, 1H), 6,21 (dd, J = 12,4, 0,6 Hz, 1H), 6,00-5,98 (m, 1H), 5,86 (s, 1H), 5,48 (s, 1H), 5,42 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,04-4,99 (m, 1H), 4,72-4,69 (m, 1H), 4,58-4,50 (m, 3H), 4,40-4,38 (m, 1H), 4,25-4,22 (m, 1H), 3,89-3,87 (m, 1H), 3,73-3,70 (m, 4H), 3,62-3,58 (m, 7H), 3,54-3,47 (m, 29H), 3,36 (t, J = 5,8 Hz, 7H), 3,15 (d, J = 5,7 Hz, 4H), 3,03-2,98 (m, 4H), 2,85 (s, 3H), 2,66 (d, J = 23,9 Hz, 3H), 2,34 (dd, J = 16,4, 9,2 Hz, 4H), 2,12-2,05 (m, 3H), 1,92 (d, J = 18,7 Hz, 13H), 1,67 (s, 3H), 1,61 (t, J = 0,6 Hz, 3H), 1,47-1,37 (m, 3H), 1,24 (d, J = 0,6 Hz, 1H), 0,88-0,78 (m, 8H), 0,78-0,65 (m, 4H), 0,17-0,16 (m, 1H), 0,07 (s, 1H), -0,41 (td, J = 2,5, 0,9 Hz, 1H).

Hợp chất tác nhân liên kết-tải lượng 80 được điều chế như được thể hiện trong Sơ đồ 28, dưới đây, và được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 28



Hợp chất 77: Dung dịch chứa hợp chất 76 bán trên thị trường (100mg, 0,131mmol) và hợp chất 18b (71mg, 0,144mmol) trong DMF khan (1,5mL) được bổ sung DIEA (34µL, 0,197mmol) thông qua xi lanh cỡ micro. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Phản ứng hoàn tất theo LC/MS và được cô trong chân không. Sản phẩm thô được tinh chế bằng hệ thống ISCO bằng cách sử dụng cột C18 100g Aq (các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, 0,05% trong AcOH). Các phân đoạn tinh khiết bằng LC/MS được gom, được cấp đông trong bể đá khô/axeton, và được làm khô lạnh trong 24 h để thu được 114mg (85%) hợp chất 77. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{52}H_{76}N_6O_{15}$, 1024,54; trên thực tế 1025,5 (M+H), 1047,4 (M+Na).

Hợp chất 78: Hỗn dịch đã được khuấy chứa hợp chất 77 (46mg, 0,0448mmol, 1,0 đương lượng) trong 1,5mL DCM khan ở nhiệt độ trong phòng được bổ sung từ từ $SOCl_2$ (3,6µL, 0,0493mmol, 1,1 đương lượng) bằng cách sử dụng xi lanh cỡ micro. Sau 30 phút, phần phân ước đang xử lý được phân tích bằng LC/MS để chỉ ra sự tạo thành của sản phẩm mong muốn. Hỗn hợp thô được cô trong chân không và được pha loãng với 1mL MeCN. Dung dịch được nạp trên cột C18 50g Ag hệ thống ISCO (các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được gom, được cấp đông trong bể đá khô/axeton, và được làm khô lạnh để thu được 40mg (85%) hợp chất 77 dưới dạng chất rắn màu trắng đục. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{52}H_{75}ClN_6O_{14}$, 1042,50; trên thực tế 1043,4 (M+H), 1065,4 (M+Na).

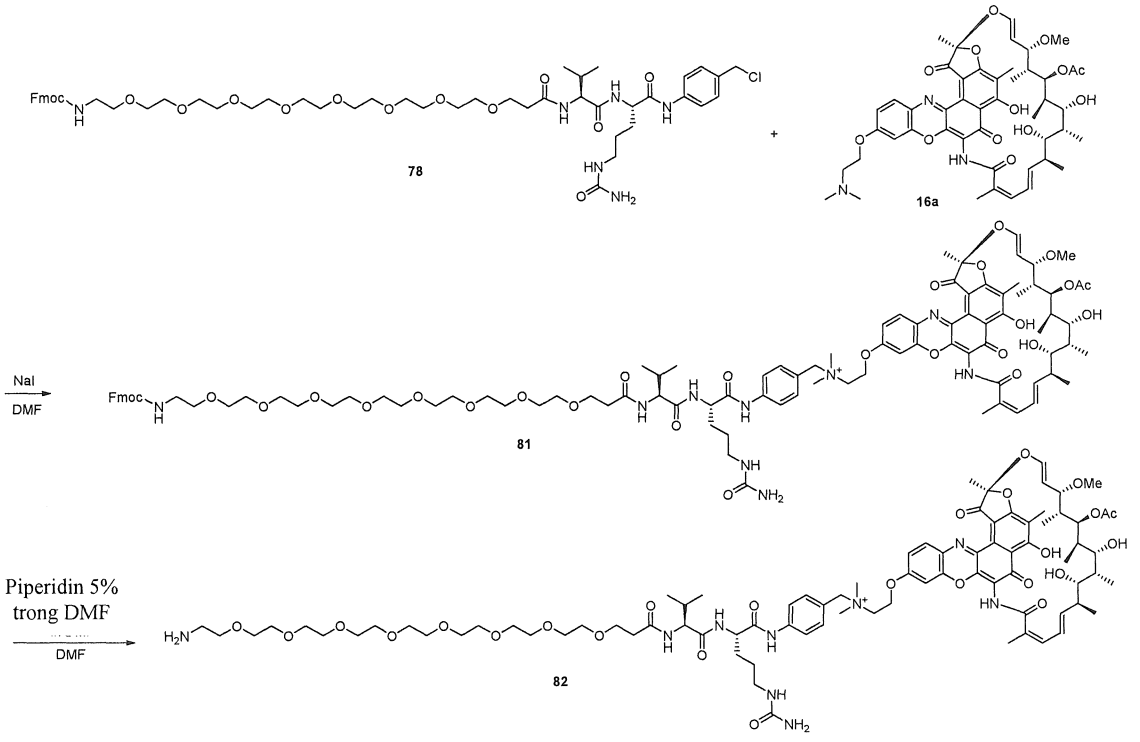
Hợp chất 79: Hỗn hợp của hợp chất 78 (35mg, 0,0337mmol, 1,2 đương lượng), hợp chất 29 (25mg, 0,0281mmol, 1,0 đương lượng), và NaI (21mg, 0,145mmol, 5,0 đương lượng) trong lọ 2 dram được bổ sung 1,5mL DMF khan. Một lượng xúc tác của dung dịch DIEA 0,5M trong DMF (20µL) được bổ sung bằng xi lanh thông qua vách ngăn. Hỗn hợp được gia nhiệt ở nhiệt độ 55°C trong bể dầu qua đêm. Phản ứng hoàn tất theo LC/MS để thu được sản phẩm mong muốn. Hỗn hợp được làm lạnh bằng bể đá và được pha loãng với 1mL nước. Sau khi lọc, hỗn hợp thô sẫm màu được tinh chế bằng cột HPLC điều chế EZ (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được gom, được cấp đông trong bể đá khô/axeton, và được làm khô lạnh để thu được 42mg (79%) hợp chất 79 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{99}H_{132}N_9O_{28}^+$, 1894,92; trên thực tế 1895,9 (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 10,22 (s, 1H), 8,85 (s, 1H), 8,19-8,17 (m, 1H), 7,89-7,84 (m, 2H), 7,74-7,73 (m, 2H), 7,70-7,68 (m, 2H), 7,48-7,46 (m, 2H), 7,41 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,32 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 6,91-6,87 (m, 1H), 6,28-6,26 (m, 1H), 6,20 (dd, J = 12,8, 0,7 Hz, 1H), 6,09-6,07 (m, 1H), 6,06-5,97 (m, 2H), 5,85 (t, J = 0,7 Hz, 1H), 5,72-5,65 (m, 1H), 5,48 (d, J = 0,7 Hz, 1H), 5,42 (s, 3H), 5,23-5,22 (m, 1H), 5,04-4,98 (m, 2H), 4,71-4,69 (m, 1H), 4,51 (t, J = 0,8 Hz, 6H), 4,39-4,38 (m, 12H), 4,29 (d, J = 6,9 Hz, 3H), 4,23-4,20 (m, 2H), 3,87 (dd, J = 8,2, 1,1

Hz, 1H), 3,70 (dd, J = 1,7, 0,9 Hz, 4H), 3,59 (d, J = 5,7 Hz, 4H), 3,46 (s, 12H), 3,40 (d, J = 5,8 Hz, 3H), 3,13-3,11 (m, 2H), 3,03-2,97 (m, 6H), 2,85 (s, 3H), 2,68 (dd, J = 1,3, 0,8 Hz, 2H), 2,63 (d, J = 1,7 Hz, 5H), 2,36 (dd, J = 3,5, 1,7 Hz, 4H), 2,22-2,18 (m, 1H), 2,12 (s, 3H), 2,05 (dd, J = 1,4, 0,7 Hz, 1H), 1,98-1,93 (m, 3H), 1,86 (s, 1H), 1,67 (s, 1H), 1,60 (t, J = 0,8 Hz, 3H), 1,45-1,44 (m, 2H), 1,38-1,37 (m, 1H), 1,24-1,20 (m, 1H), 0,85 (dd, J = 16,5, 6,6 Hz, 2H), 0,78-0,76 (m, 3H), 0,70-0,60 (m, 2H), 0,17-0,16 (m, 2H), -0,42 (dd, J = 5,2, 0,8 Hz, 2H).

Hợp chất 80: Dung dịch đã được khuấy chứa hợp chất 79 (25mg, 0,0131mmol) trong 2mL DMF được bổ sung dung dịch chứa piperidin 5% (400µL) trong DMF và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 1 giờ, phản ứng hoàn tất theo LC/MS. Sau đó sản phẩm thô được tinh chế bằng cột HPLC điều chế EZ (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được gom, được cấp đông trong bể đá khô/axeton, và được làm khô lạnh để thu được 18,6mg (82%) hợp chất 80 dưới dạng chất rắn màu hơi đỏ. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{84}H_{122}N_9O_{26}^+$, 1672,85 (bazơ tự do); trên thực tế 1673,8 (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 10,26 (s, 1H), 8,85 (d, J = 0,9 Hz, 1H), 8,23 (dd, J = 6,3, 0,4 Hz, 1H), 7,89-7,87 (m, 1H), 7,75-7,74 (m, 2H), 7,48-7,47 (m, 2H), 6,90-6,87 (m, 1H), 6,28-6,26 (m, 1H), 6,21-6,19 (m, 1H), 6,04 (t, J = 10,3 Hz, 2H), 5,88-5,85 (m, 1H), 5,74-5,72 (m, 1H), 5,50 (ddt, J = 3,3, 1,0, 0,8 Hz, 1H), 5,43 (s, 2H), 5,03-4,98 (m, 1H), 4,71-4,69 (m, 1H), 4,52 (s, 4H), 4,38 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 4,23 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 3,89-3,87 (m, 1H), 3,70 (d, J = 0,7 Hz, 3H), 3,60 (d, J = 5,2 Hz, 4H), 3,48 (s, 24H), 3,00-2,97 (m, 12H), 2,85 (s, 2H), 2,64 (s, 2H), 2,39-2,36 (m, 1H), 2,23-2,20 (m, 1H), 2,11 (d, J = 0,4 Hz, 3H), 1,93 (s, 9H), 1,83 (s, 3H), 1,67-1,60 (m, 6H), 1,46-1,38 (m, 3H), 1,24 (s, 1H), 0,85 (dd, J = 16,2, 6,6 Hz, 12H), 0,76 (d, J = 8,3 Hz, 5H), 0,15-0,15 (m, 2H), 0,07 (s, 1H), -0,40 (d, J = 1,9 Hz, 1H).

Hợp chất tác nhân liên kết-tải lượng 82 được điều chế như được thể hiện trong Sơ đồ 29, dưới đây, và được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 29



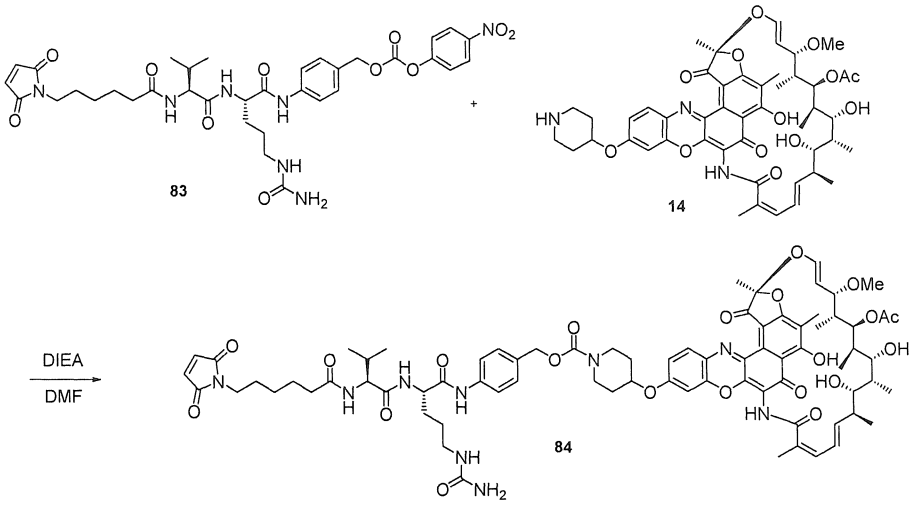
Hợp chất 81: Hỗn hợp của hợp chất 78 (43mg, 0,0414mmol, 1,0 đương lượng), hợp chất 16a (36mg, 0,0412mmol, 1,0 đương lượng), và NaI (30mg, 0,206mmol, 5,0 đương lượng) trong lọ 2 dram được hòa tan trong 2mL DMF khan. Một lượng xúc tác (20µL) của dung dịch DIEA 0,5M trong DMF được bổ sung vào thông qua xi lanh. Hỗn hợp được gia nhiệt ở nhiệt độ 55°C trong bể dầu qua đêm. Phản ứng hoàn tất theo LC/MS. Hỗn hợp được làm lạnh trong bể đá và được pha loãng với 1mL nước. Sau khi lọc, hỗn hợp thô sẫm màu được tinh chế bằng cột HPLC điều chế EZ (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được gom, được cấp đông trong bể đá khô/axeton, và được làm khô lạnh để thu được 48mg (62%) hợp chất 81 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{99}H_{132}N_9O_{27}^+$, 1878,92; trên thực tế 1879,9 (M+H). ^{1}H-NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 10,35 (s, 1H), 8,86-8,81 (m, 1H), 8,34-8,33 (m, 1H), 7,93 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,89 (t, J = 12,9 Hz, 3H), 7,75 (d, J = 8,7 Hz, 3H), 7,68 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,48 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 7,40 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 7,31 (td, J = 7,4, 0,8 Hz, 3H), 7,05-7,03 (m, 1H), 6,81-6,74 (m, 1H), 6,70-6,67 (m, 1H), 6,22-6,19 (m, 1H), 6,13-6,08 (m, 2H), 5,44 (s, 2H), 5,12-5,09 (m, 1H), 4,75 (dd, J = 12,8, 8,4 Hz, 1H), 4,71-4,68 (m,

1H), 4,56 (s, 3H), 4,37-4,35 (m, 1H), 4,28 (d, J = 6,9 Hz, 2H), 4,20 (dd, J = 9,5, 2,8 Hz, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,58 (d, J = 5,5 Hz, 4H), 3,49-3,46 (m, 32H), 3,12 (d, J = 6,0 Hz, 4H), 3,02 (s, 8H), 2,88 (d, J = 0,4 Hz, 3H), 2,78-2,74 (m, 1H), 2,62 (quintet, J = 1,8 Hz, 1H), 2,37-2,34 (m, 1H), 1,95-1,91 (m, 10H), 1,74 (s, 5H), 1,58 (s, 5H), 1,45-1,43 (m, 2H), 1,37-1,34 (m, 1H), 0,83 (dd, J = 16,3, 6,8 Hz, 13H), 0,29 (s, 1H), 0,21-0,16 (m, 2H), 0,03-0,02 (m, 1H).

Hợp chất 82: Dung dịch đã được khuấy chứa hợp chất 81 (26mg, 0,0138mmol) trong bước trước đó trong 1,5mL DMF được bổ sung dung dịch chứa piperidin 5% (500µL) trong DMF và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 50 phút, phản ứng hoàn tất theo LC/MS. Sau đó sản phẩm thô được tinh chế bằng cột HPLC điều chế EZ (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được gom, được cấp đông trong bể đá khô/axeton, và được làm khô lạnh để thu được 17,6mg (77%) hợp chất 82 dưới dạng chất rắn màu hơi đỏ. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{84}H_{122}N_9O_{25}^+$, 1656,85 (bazơ tự do); trên thực tế 1658,7 (M+H), 1655,7 (M-H). ^{1}H-NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 10,25 (d, J = 1,1 Hz, 1H), 8,26-8,17 (m, 1H), 7,89-7,87 (m, 1H), 7,75 (d, J = 8,4 Hz, 3H), 7,49 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,08-7,05 (m, 1H), 6,12-6,09 (m, 1H), 6,04-6,01 (m, 1H), 5,42 (s, 2H), 5,13-5,09 (m, 1H), 4,76 (dd, J = 12,6, 8,7 Hz, 1H), 4,70 (dq, J = 3,2, 1,0 Hz, 1H), 4,57 (s, 3H), 4,37-4,36 (m, 1H), 4,23-4,20 (m, 1H), 3,75 (s, 2H), 3,58 (t, J = 5,5 Hz, 3H), 3,48 (t, J = 1,9 Hz, 32H), 3,14-3,07 (m, 3H), 3,02 (d, J = 9,5 Hz, 10H), 2,96-2,93 (m, 4H), 2,91-2,87 (m, 4H), 2,78-2,76 (m, 1H), 2,63-2,62 (m, 3H), 2,38-2,35 (m, 1H), 1,95 (dd, J = 3,4, 0,7 Hz, 8H), 1,92 (s, 3H), 1,83 (s, 3H), 1,68 (dd, J = 2,2, 1,6 Hz, 1H), 1,59 (s, 5H), 1,45-1,43 (m, 2H), 1,38-1,35 (m, 1H), 1,22 (s, 1H), 0,84 (dt, J = 12,6, 5,0 Hz, 10H), 0,79-0,77 (m, 2H), 0,06-0,01 (m, 1H).

Hợp chất tác nhân liên kết-tải lượng 84 được điều chế như được thể hiện trong Sơ đồ 30, dưới đây, và được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 30

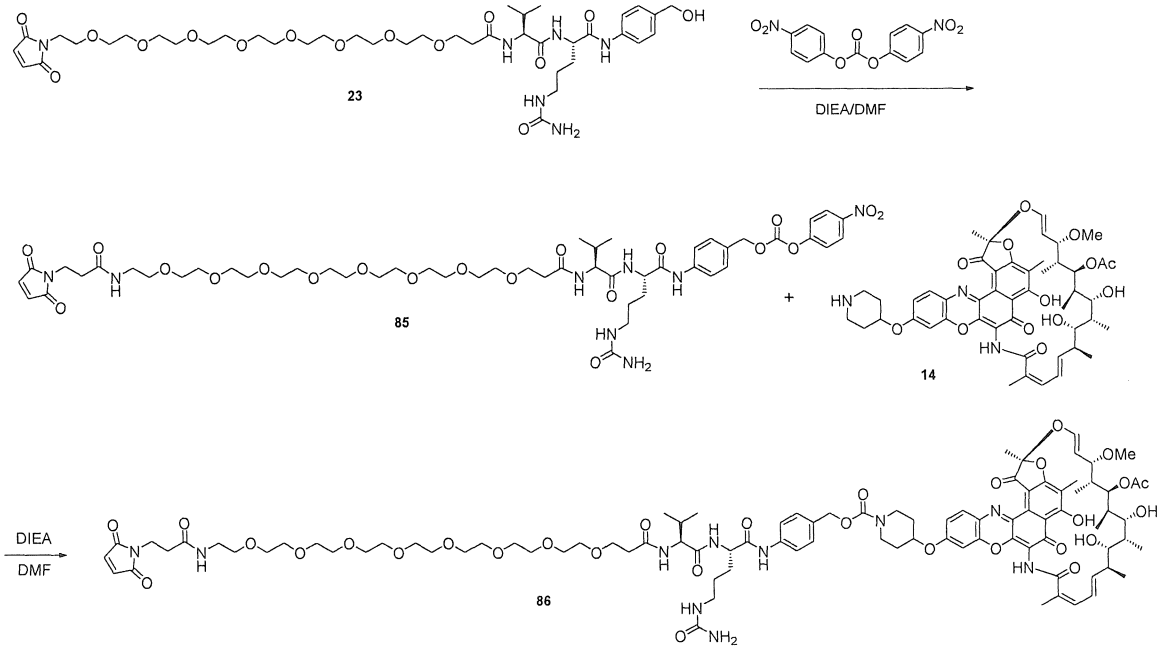


Hợp chất 84: Dung dịch đã được khuấy chứa hợp chất 83 bán trên thị trường (14mg, 0,0186mmol, 1,5 đương lượng) và hợp chất 14 (11mg, 0,0124mmol, 1,0 đương lượng) trong 2,5mL DMF khan được bổ sung DIEA (4,3µL, 0,0248mmol, 2,0 đương lượng) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 15 phút, phản ứng hoàn tất theo LC/MS. Sau đó sản phẩm thô được tinh chế bằng cột HPLC điều chế EZ (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được gom, được cấp đông trong bể đá khô/axeton, và được làm khô lạnh để thu được 11,4mg (64%) hợp chất 84 dưới dạng chất rắn màu hơi đỏ. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{77}H_{95}N_9O_{21}$, 1481,66; trên thực tế 1482,6 (M+H), 1480,6 (M-H). ^{1}H-NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,99 (s, 1H), 8,08 (d, J = 7,33 Hz, 1H), 7,87 (br. s., 1H), 7,80 (d, J = 8,30 Hz, 1H), 7,60 (d, J = 8,30 Hz, 2H), 7,24 - 7,34 (m, 3H), 7,21 (d, J = 8,79 Hz, 1H), 7,00 (s, 2H), 5,95 - 6,00 (m, 1H), 5,81 (br. s., 1H), 5,40 (s, 2H), 5,02 (s, 2H), 4,91 (br. s., 1H), 4,79 (br. s., 1H), 4,35 - 4,41 (m, 1H), 4,19 (t, J = 7,57 Hz, 2H), 3,73 (br. s., 2H), 3,38 (br. s., 2H), 3,08 (s, 3H), 3,10 (s, 3H), 2,82 - 3,05 (m, 6H), 2,78 (br. s., 1H), 2,64 (br. s., 1H), 2,54 (br. s., 1H), 2,37 (d, J = 4,40 Hz, 6H), 2,25 (br. s., 1H), 2,02 - 2,23 (m, 6H), 1,93 - 2,02 (m, 9H), 1,90 (s, 2H), 1,67 (br. s., 5H), 1,60 (br. s., 4H), 1,43 - 1,55 (m, 6H), 1,28 - 1,43 (m, 2H), 1,14 - 1,28 (m, 3H), 0,72 - 0,95 (m, 6H), 0,67 (br. s., 2H), 0,07 (s, 1H).

Hợp chất tác nhân liên kết-tải lượng 86 được điều chế như được thể hiện trong

Sơ đồ 31, dưới đây, và được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 31



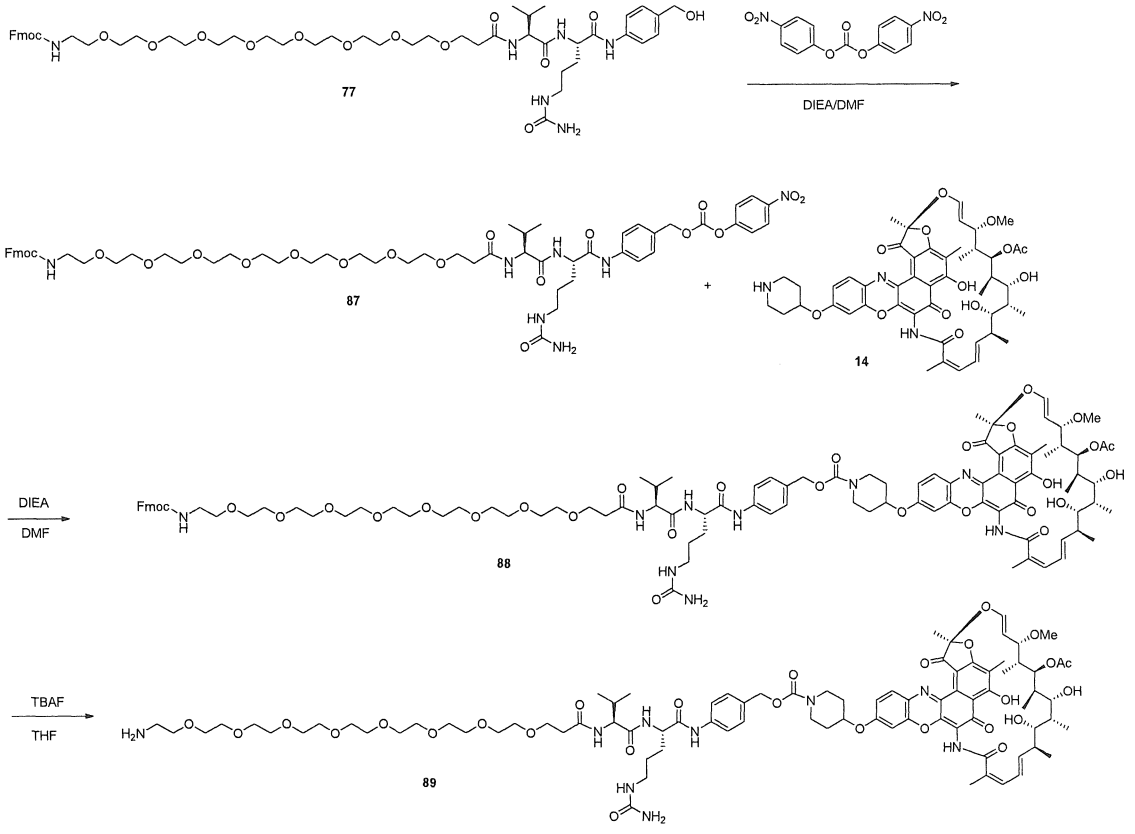
Hợp chất 85: Dung dịch đã được khuấy chứa hợp chất 23 (85mg, 0,0894mmol, 1,0 đương lượng) và bis(4-nitrophenyl) carbonat (82mg, 0,2682mmol, 3,0 đương lượng) trong điều kiện khí argon trong DMF khan (2,5mL), được bổ sung DIEA (31µL, 0,1788mmol, 2,0 đương lượng) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường qua đêm. Phản ứng hoàn tất theo phân tích LC/MS. Hỗn hợp thu được được tinh chế trực tiếp trên cột 100 g C18 Aq. thông qua hệ thống ISCO (gradien rửa giải: 10 – 100% MeCN trong nước, axit axetic 0,05% ở cả hai, trong 30 phút). Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp, được cấp đông trên đá khô, và được làm khô lạnh qua đêm để thu được hợp chất nêu ở tiêu đề 85 dưới dạng chất rắn màu đỏ sẫm. (68mg, 69%). MS: theo tính toán đối với $C_{51}H_{74}N_8O_{20}$, 1118,50; trên thực tế 1120,0 (M+H).

Hợp chất 86: Hợp chất nêu ở tiêu đề được điều chế bằng cách sử dụng hóa học tác nhân liên kết-tải lượng được mô tả trong hợp chất 84. Dung dịch đã được khuấy chứa hợp chất 85 (12mg, 0,01085mmol, 1,2 đương lượng) và hợp chất 14 (8mg, 0,00905mmol, 1,0 đương lượng) trong DMF khan (1,5mL), được bổ sung DIEA (3,2µL, 0,0180mmol, 2,0 đương lượng) và hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ môi

trường. Sau 30 phút, phản ứng hoàn tất để thu được sản phẩm mong muốn bằng LC/MS. Sau đó sản phẩm thô được tinh chế bằng cột HPLC điều chế EZ (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được gom, được cấp đông trong bể đá khô/axeton, và được làm khô lạnh để thu được 12,5mg (74%) hợp chất 86 dưới dạng chất rắn màu hơi đỏ. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{93}H_{126}N_{10}O_{30}$, 1862,86; trên thực tế 1863,8 (M+H), 1886,8 (M+Na). ^{1}H-NMR (500MHz; DMSO-d_6): δ 9,99 (s, 1H), 9,38 (s, 1H), 8,11 (d, J = 7,33 Hz, 1H), 8,00 (t, J = 5,37 Hz, 1H), 7,86 (d, J = 8,79 Hz, 2H), 7,60 (d, J = 8,30 Hz, 2H), 7,25 - 7,34 (m, 3H), 7,21 (d, J = 8,79 Hz, 1H), 7,00 (s, 2H), 5,97 (t, J = 5,62 Hz, 1H), 5,81 (br. s., 1H), 5,40 (s, 2H), 5,24 (br. s., 1H), 5,02 (s, 2H), 4,91 (br. s., 1H), 4,78 (br. s., 1H), 4,35 - 4,41 (m, 1H), 4,21 - 4,25 (m, 1H), 3,74 (br. s., 2H), 3,53 - 3,69 (m, 5H), 3,43 - 3,53 (m, 38H), 3,34 - 3,39 (m, 3H), 3,29 (br. s., 1H), 3,06 - 3,18 (m, 4H), 2,84 - 3,06 (m, 5H), 2,78 (br. s., 1H), 2,45 - 2,49 (m, 1H), 2,30 - 2,40 (m, 3H), 2,17 (br. s., 2H), 1,93 - 2,05 (m, 9H), 1,90 (s, 1H), 1,72 (br. s., 1H), 1,53 - 1,69 (m, 7H), 1,42 - 1,53 (m, 1H), 1,33 - 1,42 (m, 1H), 0,86 (d, J = 6,84 Hz, 6H), 0,82 (d, J = 6,84 Hz, 6H), 0,67 (br. s., 4H).

Hợp chất tác nhân liên kết-tải lượng 89 được điều chế như được thể hiện trong Sơ đồ 32, dưới đây, và được mô tả dưới đây.

Sơ đồ 32



Hợp chất 87: Hợp chất nêu ở tiêu đề được điều chế bằng cách sử dụng cùng một quy trình được mô tả đối với hợp chất 85. Dung dịch đã được khuấy chứa hợp chất 77 (56mg, 0,0546mmol, 1,0 đương lượng) và bis(4-nitrophenyl) carbonat (50mg, 0,1638mmol, 3,0 đương lượng) trong điều kiện khí argon trong DMF khan (1,5mL), được bổ sung DIEA (19µL, 0,1092mmol, 2,0 đương lượng) để thu được chất rắn màu đỏ sẫm. (43mg, 67%). MS: theo tính toán đối với $C_{59}H_{79}N_7O_{19}$, 1189,54; trên thực tế 1190,5 (M+H), 1212,5 (M+Na).

Hợp chất 88: Hợp chất nêu ở tiêu đề được điều chế bằng cách sử dụng hóa học tác nhân liên kết-tải lượng được mô tả đối với hợp chất 86. Dung dịch chứa hợp chất 87 (40,3mg, 0,0339mmol, 1,0 đương lượng) và hợp chất 14 (30mg, 0,0339mmol, 1,0 đương lượng) trong DMF khan (3mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng để thu được 50,7mg (77%) hợp chất 88 dưới dạng chất rắn màu hơi đỏ. MS: theo tính toán đối với $C_{101}H_{131}N_9O_{29}$, 1933,91; trên thực tế 1935,7 (M+H), 1957,8 (M+Na).

Hợp chất 89: Dung dịch đã được khuấy chứa hợp chất 88 (34mg, 0,0175mmol,

1,0 đương lượng) trong THF khan (2,5mL) được bổ sung TBAF (dung dịch 1,0M trong THF, 35µL, 0,0351mmol, 2,0 đương lượng) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 30 phút, phản ứng hoàn tất theo LC/MS. Sản phẩm thô tinh chế bằng cột HPLC điều chế EZ (Gemini, 5µm, 150mm x 30mm, các chất rửa giải: 10 - 95% MeCN trong nước, AcOH 0,05%). Các phân đoạn tinh khiết được gom, được cấp đông trong bể đá khô/axeton, và được làm khô lạnh trong 30 giờ để thu được 23,5mg (79%) hợp chất 89 dưới dạng chất rắn màu hơi đỏ. MS (ESI, pos.): theo tính toán đối với $C_{86}H_{121}N_9O_{27}$, 1711,84; trên thực tế 1713,7 (M+H), 1711,6 (M-H). ^{1}H-NMR (500MHz; DMSO-d_6): 9,99 (s, 1H), 8,11 (d, J = 7,33 Hz, 1H), 7,83 - 7,89 (m, 2H), 7,58 - 7,62 (m, J = 8,79 Hz, 2H), 7,29 - 7,33 (m, J = 8,30 Hz, 2H), 7,18 (br. s., 1H), 5,97 (t, J = 5,37 Hz, 1H), 5,40 (s, 2H), 5,02 (s, 2H), 4,89 (br. s., 1H), 4,76 - 4,83 (m, 1H), 4,35 - 4,41 (m, 1H), 4,21 - 4,25 (m, 1H), 3,73 (br. s., 2H), 3,44 - 3,68 (m, 39H), 3,38 (t, J = 5,62 Hz, 3H), 3,29 (br. s., 2H), 2,90 - 3,14 (m, 7H), 2,75 - 2,81 (m, 1H), 2,68 (t, J = 5,62 Hz, 2H), 2,64 (d, J = 1,95 Hz, 1H), 2,45 - 2,48 (m, 1H), 2,35 - 2,41 (m, 2H), 2,15 (br. s., 3H), 1,92 - 2,02 (m, 10H), 1,90 (s, 1H), 1,63 - 1,72 (m, 5H), 1,59 (d, J = 9,28 Hz, 3H), 1,45 (d, J = 6,84 Hz, 1H), 1,37 (dd, J = 6,35, 16,12 Hz, 1H), 0,73 - 0,93 (m, 13H), 0,68 (br. s., 3H).

Ví dụ 20: thử nghiệm nồng độ ức chế tối thiểu canh trường (MIC) 1

Để thử nghiệm hoạt lực của chất tương tự rifamyxin theo sáng chế *in vitro*, thử nghiệm ức chế sự phát triển của canh trường được phát triển. Đối với thử nghiệm này, *S. aureus* NRS384 được cho phát triển trong canh trường đậu nành tryptic (Tryptic Soy Broth-TSB) qua đêm, sau đó được nuôi cấy cấp hai 1:50 trong TSB mới và được cho phát triển trong hai giờ nữa. Sau đó môi trường nuôi cấy kết viên bằng cách ly tâm và được rửa hai lần trong PBS. Sau đó môi trường nuôi cấy được pha loãng đến nồng độ $1x10^4$ cfu/mL trong TSB và 50µL hỗn dịch được bổ sung trong mỗi lỗ vào đĩa vi chuẩn 96 lỗ hai lần. Dãy pha loãng của kháng sinh được chỉ định (chất tương tự theo sáng chế hoặc chất tương tự Rifampixin đã biết từ trước) được bổ sung với tỷ lệ 1:1 để có nồng độ bắt đầu cuối cùng là $1x10^{-5}$M với các phần pha loãng tỷ lệ 1:3. Các đĩa được ủ ở nhiệt

độ 37°C kèm lắc trong 24h và sau đó OD 600nM được đọc trên thiết bị Spectramax i3 Minimax 300.

Các hất phản ứng được sử dụng và số lô được thể hiện trong Bảng 4, dưới đây.

Bảng 4: Các chất phản ứng và số lô đối với thử nghiệm MIC

Chất phản ứng	Nhà cung cấp	Hạng mục #	Lô
PBS	Gibco	20012-043	2003838
S. aureus NRS384	BEI resources	NR-46070	
Canh trường đậu nành tryptic (TSB)	Teknova	T1525	T014420G1801
Đĩa pha loãng	Greiner Bio One	780261	B17073CP

Các nồng độ thấp nhất ức chế sự phát triển của *S. aureus* (nồng độ ức chế tối thiểu, MIC) được liệt kê trong Bảng 5. Biểu đồ về thử nghiệm ức chế *S. aureus* được thực hiện với các chất tương tự rifamyxin theo sáng chế được thể hiện như Fig.1.

Bảng 5: Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của kháng sinh trong thử nghiệm ức chế sự phát triển trong canh trường

Chất tương tự rifamyxin được thử nghiệm	Trọng lượng mol (Da)	MIC canh trường *S. aureus* (M)
Rifampixin	823	4.6E-09
1a	815	1.4E-08
1b	890	1.2E-07
1d	813	3.7E-07
14	883	4.1E-08
16a	823	1.5E-09
16d	843	4.1E-08
16e	858	4.6E-09

Như được thể hiện trong Bảng 5, tất cả các chất tương tự rifamyxin theo sáng chế đều có hiệu quả trong việc ức chế sự phát triển của *S. aureus* ở nồng độ từ dưới micromol đến nanomol. Chất tương tự 16a ức chế sự phát triển của *S. aureus* nhiều hoạt lực hơn so với rifampixin với MIC là 1,5 x 10^{-9}M.

Ví dụ 21: Thử nghiệm tiêu diệt nội bào 1

Hoạt tính của hợp chất tương tự rifamyxin kháng *S. aureus* được thử nghiệm trong thử nghiệm "tiêu diệt" nội bào.

Các chất phản ứng được sử dụng và số lô được thể hiện trong Bảng 6, dưới đây.

Bảng 6: Các chất phản ứng và số lô đối với thử nghiệm nội bào

Chất phản ứng	Nhà cung cấp	Hạng mục #	Lô
TSB	Teknova	T1525	T152517E1701
PBS	Gibco	20012-043	1951145
Triton X-100	Sigma	TX1568-1	
RPMI	Gibco	11875-093	1989237
FBS	Gibco	172667	138252-100
PMA	Sigma	P8139	MkBV849TV
Đĩa Costa 96 lỗ	Corning	3904	16618025
Đĩa TSA	Teknova	T0144	T014420G1801
Pen/Strep	Gibco	15140-122	1953095
Đĩa pha loãng	Greiner Bio One	780261	B17073CP
Gentamixin	Gibco	10131-035	1729122

Dòng tế bào bạch cầu đơn nhân THP-1 được cho phát triển trong môi trường (RMPI + FBS 10% + Penixilin/Streptomyxin 1%), sau đó gieo ở mật độ bằng $1e^5$ tế bào/lỗ trong đĩa 96 lỗ và được biệt hóa thành đại thực bào trong ba ngày trước khi lây nhiễm bằng cách sử dụng PMA 200nM. Giống cấy qua đêm của *S. aureus* NRS384 được cho phát triển trong RPMI, được rửa hai lần bằng PBS và được tạo huyền phù lại ở mật độ $1e^7$ cfu/mL trong PBS. THP-1 được rửa bằng môi trường ấm (RMPI không có FBS) để loại bỏ Penixilin/Streptomyxin và sau đó được cho lây nhiễm hỗn dịch *S. aureus* ở bội số lây nhiễm bằng 10:1 (*S. aureus*:đại thực bào). Các đĩa được xoay ở 300 x g trong 5 phút để đồng bộ sự kết dính của vi khuẩn, sau đó được ủ ở nhiệt độ 37°C trong 2 giờ. Vi khuẩn trôi nổi tự do được loại bỏ bằng cách rửa hai lần bằng môi trường ấm và *S. aureus* ngoại bào còn lại được tiêu diệt bằng cách bổ sung môi trường chứa gentamixin (50 ug/mL). Sau 1 giờ, môi trường này được hút ra và hợp chất được chỉ định được bổ sung vào các đại thực bào đã lây nhiễm trong môi trường chứa 50µg/mL gentamixin để

ngăn chặn sự phát triển ngoại bào của *S. aureus*. Sau 2 giờ, các đĩa được rửa hai lần bằng RPMI ấm không có FBS, và 100ul dung dịch đệm phân giải THP-1 (Triton 0,1% trong PBS) được bổ sung vào mỗi lỗ. *S. aureus* còn sống được đếm bằng các đơn vị tạo khuẩn lạc thông qua pha loãng theo dãy và dàn lên trên TSA.

Kết quả của thử nghiệm tiêu diệt nội bào được thể hiện trong Bảng 7 và Fig.2 và Fig.3. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) tương ứng với nồng độ thấp nhất của từng hợp chất mà dẫn đến việc triệt tiêu *S. aureus* nội bào.

Bảng 7: các kết quả của thử nghiệm tiêu diệt nội bào

Chất tương tự rifamyxin được thử nghiệm	MIC tiêu diệt nội bào
Rifampixin	>1.0E-06
1a	1.0E-06
1b	>1.0E-06
1d	>1.0E-06
14	1.0E-06
16a	4.0E-08
16d	1.0E-06
16e	1.0E-06

Như bảng trên và Fig.2 và Fig.3 thể hiện, các hợp chất 1a, 14, 16a, 16d, và 16e có khả năng tiêu diệt *S. aureus* nội bào gia tăng so với rifampixin, trong đó hợp chất 16a có hoạt tính cao nhất.

Ví dụ 22: thể liên hợp kháng thể MSR1-thuốc

Kháng thể MSR1 (1-10mg/ml) trong HEPES 50mM, NaCl 150mM, độ pH = 7,5, được xử lý bằng dithiothreitol 1mM ở nhiệt độ 37°C trong 30 phút. Sau khi lọc gel (G-25, độ pH = 4,5 natri axetat), hợp chất dẫn xuất tác nhân liên kết tải lượng maleimido 25 (1,2 đương lượng/nhóm SH) trong DMSO (10mg/ml) được bổ sung vào kháng thể đã được khử và hỗn hợp được điều chỉnh đến độ pH = 7,0 bằng HEPES 1M (độ pH = 7,4). Sau 1 h phản ứng được ngừng bằng lượng dư N-etyl maleimit. Thể liên hợp được tinh chế bằng cách sử dụng PBS với glyxerol 5% bằng phương pháp sắc ký loại trừ kích

thước và được lọc vô trùng. Các nồng độ protein và tỷ lệ tải lượng đối với kháng thể được xác định bằng phân tích phổ UV. Phương pháp HPLC loại trừ kích thước thiết lập rằng tất cả các thể liên hợp được sử dụng đều có >90% monome, và RP-HPLC thiết lập rằng có <1% tác nhân liên kết tải lượng không được liên hợp. Tất cả các kháng thể được liên hợp được phân tích bằng HIC để có các giá trị nạp tải lượng tác nhân liên kết. Các tỷ lệ tải lượng đối với kháng thể được báo cáo trong Bảng 8.

Bảng 8: Phần trăm hiệu suất và các tỷ lệ tải lượng đối với kháng thể đối với từng thể liên hợp kháng thể thuốc

Kháng thể	Hiệu suất (%)	DAR (HIC)
MSR1 ncADC H1H21234N-N297Q-25	50	3
Kháng thể đối chứng isotyp N297Q-25	50	2

Đặc trưng hóa các thể liên hợp bằng phương pháp sắc ký tương tác kỵ nước (Hydrophobic Interaction Chromatography - HIC)

Để xác định lượng nạp của tác nhân liên kết-tải lượng lên kháng thể, thể liên hợp được cho chạy trên Agilent 1260 bằng cách sử dụng cột TSK-NPR Butyl HIC bằng cách sử dụng gradien tuyến tính của kali phosphat 1M độ pH = 8,5 với nước trong 60 phút. Lượng nạp tải lượng được xác định bằng cách tích phân các diện tích đỉnh tương ứng với loại kháng thể được liên hợp và kháng thể không được liên hợp.

Ví dụ 23: tạo ra kháng thể kháng MSR1

Kháng thể kháng MSR1 thu được bằng cách tạo miễn dịch chuột nhắt được thiết kế di truyền chứa ADN mã hóa vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ kappa của globulin miễn dịch người có chất kháng nguyên chứa miền ngoại bào MSR1 người tái tổ hợp được dung hợp với đuôi nonahistidin đầu tận N (SEQ ID NO: 688) (R&D Systems, Catalog # 2708-MS-050, Minneapolis, MN). Chuột nhắt được sử dụng để tạo miễn dịch là chuột nhắt Velocimmune hoặc chuột nhắt biểu hiện "chuỗi nhẹ phổ cập" (chuột nhắt "ULC"). Chuột nhắt ULC sản sinh kháng thể có vùng biến đổi chuỗi nặng khác nhau nhưng miền biến đổi chuỗi nhẹ gần giống nhau.

Đáp ứng miễn dịch kháng thể được theo dõi bằng thử nghiệm miễn dịch đặc hiệu MSR1. Khi đạt được đáp ứng miễn dịch mong muốn thì tế bào lách được thu lại và được dung hợp với tế bào u tủy chuột nhắt để bảo toàn khả năng sống của chúng và tạo ra dòng tế bào lai. Các dòng tế bào lai này được sàng lọc và chọn để nhận biết dòng tế bào sản sinh ra kháng thể đặc hiệu MSR1. Bằng cách sử dụng kỹ thuật này, thu được một vài kháng kháng thể khảm MSR1 (tức là, kháng thể có miền biến đổi của người và miền hằng định của chuột nhắt). Ngoài ra, một vài kháng thể người đầy đủ kháng MSR1 được phân lập trực tiếp từ tế bào B dương tính với kháng nguyên mà không dung hợp với tế bào u tủy, như được mô tả trong tài liệu US 2007/0280945A1.

Một số tính chất sinh học nhất định của kháng thể kháng MSR1 lấy làm ví dụ được tạo ra theo phương pháp trong Ví dụ này được mô tả chi tiết trong các ví dụ nêu dưới đây.

Ví dụ 24: Trình tự axit amin và trình tự axit nucleic của vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ

Bảng 9 nêu các bộ định danh trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ và CDR của kháng thể kháng MSR1 đã chọn được mô tả ở đây. Các bộ định danh trình tự axit nucleic tương ứng được nêu trong Bảng 10.

Bảng 9: Bộ định danh trình tự axit amin

	SEQ ID NO:							
Ký hiệu kháng thể	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H21227N	2	4	6	8	10	12	14	16
H1H21228N	18	20	22	24	26	28	30	32
H1H21231N	34	36	38	40	42	44	46	48
H1H21234N	50	52	54	56	58	60	62	64
H1H21235N	66	68	70	72	74	76	78	80
H1H25685N	82	84	86	88	90	92	94	96
H1H25690N	98	100	102	104	106	108	110	112

	SEQ ID NO:							
Ký hiệu kháng thể	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H25695N	114	116	118	120	122	124	126	128
H1H25700N	130	132	134	136	138	140	142	144
H1H27729P	146	148	150	152	154	156	158	160
H1H27731P	162	164	166	168	170	172	174	176
H1H27732P	178	180	182	184	186	188	190	192
H1H27734P	194	196	198	200	202	204	206	208
H1H27736P	210	212	214	216	218	220	222	224
H1H27739P	226	228	230	232	234	236	238	240
H1H27747P	242	244	246	248	250	252	254	256
H1H27749P	258	260	262	264	266	268	270	272
H1H27751P	274	276	278	280	282	284	286	288
H1H27754P	290	292	294	296	298	300	302	304
H1H27756P	306	308	310	312	314	316	318	320
H1H27760P2	322	324	326	328	90	92	94	96
H1H27761P2	330	332	334	336	90	92	94	96
H1H27762P2	338	340	342	344	90	92	94	96
H1H27766P2	346	348	350	352	90	92	94	96
H1H27771P2	354	356	358	360	362	364	366	368
H1xH27759P2	370	372	374	376	90	92	94	96
H1xH27773P2	378	380	382	384	362	364	366	368
H1xH27778P2	386	388	390	392	362	364	366	368
H1xH29273P2	394	396	397	400	90	92	94	96
H1xH29282P2	402	404	406	408	90	92	94	96
H1xH29283P2	410	412	414	416	90	92	94	96
H2M21229N	420	422	424	426	428	430	432	434
H2M21230N	436	438	440	442	444	446	448	450
H2M21232N	452	454	456	458	460	462	464	466

Bảng 10: bộ định danh trình tự axit nucleic

	SEQ ID NO:							
Ký hiệu kháng thể	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H21227N	1	3	5	7	9	11	13	15
H1H21228N	17	19	21	23	25	27	29	31
H1H21231N	33	35	37	39	41	43	45	47
H1H21234N	49	51	53	55	57	59	61	63
H1H21235N	65	67	69	71	73	75	77	79
H1H25685N	81	83	85	87	89	91	93	95
H1H25690N	97	99	101	103	105	107	109	111
H1H25695N	113	115	117	119	121	123	125	127
H1H25700N	129	131	133	135	137	139	141	143
H1H27729P	145	147	149	151	153	155	157	159
H1H27731P	161	163	165	167	169	171	173	175
H1H27732P	177	179	181	183	185	187	189	191
H1H27734P	193	195	197	199	201	203	205	207
H1H27736P	209	211	213	215	217	219	221	223
H1H27739P	225	227	229	231	233	235	237	239
H1H27747P	241	243	245	247	249	251	253	255
H1H27749P	257	259	261	263	265	267	269	271
H1H27751P	273	275	277	279	281	283	285	287
H1H27754P	289	291	293	295	297	299	301	303
H1H27756P	305	307	309	311	313	315	317	319
H1H27760P2	321	323	325	327	89	91	93	95
H1H27761P2	329	331	333	335	89	91	93	95
H1H27762P2	337	339	341	343	89	91	93	95
H1H27766P2	345	347	349	351	89	91	93	95
H1H27771P2	353	355	357	359	361	363	365	367
H1xH27759P2	369	371	373	375	89	91	93	95

Ký hiệu kháng thể	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1xH27773P2	377	379	381	383	361	363	365	367
H1xH27778P2	385	387	389	391	361	363	365	367
H1xH29273P2	393	395	397	399	89	91	93	95
H1xH29282P2	401	403	405	407	89	91	93	95
H1xH29283P2	409	411	413	415	89	91	93	95
H2M21229N	419	421	423	425	427	429	431	433
H2M21230N	435	437	439	441	443	445	447	449
H2M21232N	451	453	455	457	459	461	463	465

Kháng thể thường được đề cập trong bản mô tả này theo danh pháp sau: tiền tố Fc (ví dụ "H1H", "H2aM", *v.v.*), sau đó đến số định danh (ví dụ "21227", "21228", "21231", *v.v.*), sau đó đến hậu tố "P", "N", hoặc "P2", như được thể hiện trong Bảng 9 và 10. Vì vậy, theo danh pháp này, kháng thể có thể được đề cập trong bản mô tả này là, ví dụ, "H1H21227N", "H2aM21228N", "H1H27729P", "H1H27760P2", *v.v.*. Tiền tố trên ký hiệu kháng thể được sử dụng ở đây chỉ isotyp vùng Fc cụ thể của kháng thể. Cụ thể, kháng thể "H1H" có IgG1 Fc người (tất cả các vùng biến đổi là người đầy đủ như được lưu ý bởi chữ 'H' đầu tiên trong ký hiệu kháng thể), trong khi kháng thể "H2aM" có IgG2a Fc chuột nhắt. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật liên quan sẽ hiểu rằng kháng thể có isotyp Fc cụ thể có thể được chuyển hóa thành kháng thể có isotyp Fc khác (ví dụ, kháng thể có IgG4 Fc chuột nhắt có thể được chuyển hóa thành kháng thể có IgG1 người, *v.v.*), nhưng trong sự kiện bất kỳ, các miền biến đổi (gồm cả các CDR) - được chỉ định bởi bộ định danh số được thể hiện trong Bảng 9 và Bảng 10 - sẽ vẫn giữ nguyên, và các tính chất gắn kết được mong đợi là giống hệt hoặc gần như tương tự bất kể bản chất của miền Fc.

Cải biến kháng thể. Ba kháng thể kháng MSR1 được mô tả trong Ví dụ 23 (21227N, 21231N, 21234N) được tạo ra có phần Fcγ ban đầu của người, cũng như phiên

bản có đột biến một điểm N297Q đối với tất cả ba kháng thể kháng MSR1. Tất cả các kháng thể khác được mô tả ở đây đều được tạo ra có đột biến một điểm N297Q ở phần Fcγ của người. Phiên bản thứ ba, đột biến N297D chỉ được tạo ra cho kháng thể 21227N.

Ví dụ 25: Ái lực gắn kết và hằng số động học thu được nhờ cộng hưởng plasmon bề mặt của kháng thể đơn dòng người kháng MSR1

Ái lực gắn kết và hằng số động học của kháng thể người kháng MSR1 đối với các chất phản ứng MSR1 khác nhau được xác định bằng kỹ thuật cộng hưởng plasmon bề mặt thời gian thực (Biacore 4000). Tất cả các nghiên cứu gắn kết được thực hiện trong HEPES 10mM, NaCl 150mM, EDTA 3mM, và chất hoạt động bề mặt Tween-20 0,05% thể tích/thể tích, dung dịch đệm vận hành độ pH = 7,4 (HBS-ET) ở nhiệt độ 25°C và nhiệt độ 37°C. Bề mặt chíp cảm biến CM4 của Biacore trước tiên được tạo dẫn xuất bằng cách ghép cặp amin với kháng thể đa dòng dê đặc hiệu kháng Fcγ người (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Cat# BR-1008-39) để bắt kháng thể đơn dòng kháng MSR1. Nghiên cứu gắn kết được thực hiện trên miền ngoại bào MSR1 người được biểu hiện với đuôi nonahistidin đầu tận N (SEQ ID NO: 688) (His9-hMSR1; R&D Systems, Cat# 2708-MS), và miền ngoại bào MSR1 khỉ được biểu hiện với đuôi hexahistidin-myc-myc đầu tận N ("hexahistidin" được bộc lộ dưới dạng SEQ ID NO: 689) (HMM-mfMSR1; SEQ ID NO: 418). Các nồng độ khác nhau của His9-hMSR1 và HMM-mfMSR1 (100nM - 3,7nM; pha loãng theo dãy 3 lần) trước tiên được điều chế trong dung dịch đệm chạy HBS-ET và được phun lên trên bề mặt kháng thể đơn dòng kháng MSR1 được bắt kháng Fcγ người trong 3 phút ở tốc độ dòng chảy là 30µL/phút, trong khi sự phân ly của chất phản ứng MSR1 gắn kết kháng thể đơn dòng được theo dõi trong 10 phút trong dung dịch đệm chạy HBS-ET.

Tốc độ kết hợp (k_a) và tốc độ phân ly (k_d) được xác định bằng cách làm phù hợp biểu đồ cảm biến gắn kết thời gian thực với mô hình gắn kết tỷ lệ 1:1 có giới hạn truyền chất bằng cách sử dụng phần mềm phù hợp đường cong Scrubber 2.0c. Hằng số cân bằng gắn kết phân ly (K_D) và thời gian bán thải phân ly ($t_{1/2}$) được tính từ các tốc độ động học dưới dạng:

K_D (M) = $\frac{kd}{ka}$, và t½ (phút) = $\frac{\ln(2)}{60*kd}$

Tham số động học gắn kết đối với His9-hMSR1 hoặc HMM-mfMSR1 gắn kết với các kháng thể đơn dòng kháng MSR1 khác nhau ở nhiệt độ 25°C và nhiệt độ 37°C được thể hiện trong Bảng 11 và Bảng 12, một cách tương ứng.

Bảng 11: Ái lực gắn kết Biacore của mAb kháng MSR1 ở nhiệt độ 25°C

Gắn kết ở nhiệt độ 25°C/Hình thức bắt kháng thể					
Kháng thể	Chất phân tích	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (Mol)	t½ (phút)
H1H21227N-N297Q	His9-hMSR1	1.23E+06	4.89E-05	3.97E-11	236
	HMM-mfMSR1	1.36E+06	7.51E-05	5.53E-11	154
H1H21227N-N297D	His9-hMSR1	1.14E+06	3.79E-05	3.33E-11	305
	HMM-mfMSR1	1.35E+06	4.03E-05	2.99E-11	287
H1H21231N-N297Q	His9-hMSR1	3.99E+05	5.88E-05	1.47E-10	196
	HMM-mfMSR1	2.40E+05	9.03E-05	3.76E-10	128
H1H21234N-N297Q	His9-hMSR1	4.97E+05	1.00E-05*	2.01E-11	1155
	HMM-mfMSR1	4.08E+05	1.95E-05	4.66E-11	593
H1H27729P-N297Q	His9-hMSR1	1.97E+05	1.07E-03	5.45E-09	11
	HMM-mfMSR1	2.69E+05	2.12E-03	7.90E-09	5
H1H27731P-N297Q	His9-hMSR1	1.29E+05	2.24E-05	1.74E-10	515
	HMM-mfMSR1	9.82E+04	4.69E-05	4.77E-10	247
H1H27732P-N297Q	His9-hMSR1	1.25E+05	1.00E-05*	8.01E-11	1155
	HMM-mfMSR1	1.28E+05	3.17E-05	2.48E-10	364
H1H27734P-N297Q	His9-hMSR1	4.20E+05	1.11E-03	2.64E-09	10
	HMM-mfMSR1	4.23E+05	2.91E-03	6.88E-09	4
H1H27736P-N297Q	His9-hMSR1	5.15E+05	2.31E-04	4.48E-10	50
	HMM-mfMSR1	4.64E+05	5.87E-04	1.27E-09	20
H1H27739P-N297Q	His9-hMSR1	3.75E+05	1.03E-03	2.74E-09	11
	HMM-	3.52E+05	1.44E-04	4.10E-10	80

Gắn kết ở nhiệt độ 25°C/Hình thức bắt kháng thể					
Kháng thể	Chất phân tích	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (Mol)	t½ (phút)
	mfMSR1				
H1H27747P-N297Q	His9-hMSR1	2.43E+05	6.52E-04	2.69E-09	18
	HMM-mfMSR1	2.31E+05	8.74E-04	3.78E-09	13
H1H27749P-N297Q	His9-hMSR1	3.18E+05	1.76E-05	5.54E-11	656
	HMM-mfMSR1	2.49E+05	4.27E-05	1.71E-10	271
H1H27751P-N297Q	His9-hMSR1	1.78E+06	3.05E-04	1.72E-10	38
	HMM-mfMSR1	7.44E+05	7.49E-04	1.01E-09	15
H1H27754P-N297Q	His9-hMSR1	2.90E+05	1.00E-05*	3.44E-11	1155
	HMM-mfMSR1	2.35E+05	1.76E-05	7.50E-11	657
H1H27756P-N297Q	His9-hMSR1	3.00E+05	1.22E-04	4.06E-10	94
	HMM-mfMSR1	3.58E+05	2.44E-03	6.81E-09	5
H1H27760P-N297Q	His9-hMSR1	4.54E+05	9.09E-04	2.00E-09	13
	HMM-mfMSR1	3.63E+05	7.01E-04	1.93E-09	16
H1H27759P-N297Q	His9-hMSR1	5.99E+05	1.22E-03	2.03E-09	9
	HMM-mfMSR1	4.17E+05	9.19E-04	2.20E-09	13
H1H27761P-N297Q	His9-hMSR1	3.12E+05	5.10E-04	1.63E-09	23
	HMM-mfMSR1	3.18E+05	5.97E-04	1.88E-09	19
H1H27762P-N297Q	His9-hMSR1	9.89E+05	1.83E-03	1.85E-09	6
	HMM-mfMSR1	1.25E+06	1.99E-03	1.59E-09	6
H1H27766P-N297Q	His9-hMSR1	2.34E+05	1.86E-05	7.96E-11	620
	HMM-mfMSR1	1.57E+05	7.94E-05	5.06E-10	145
H1H27771P-N297Q	His9-hMSR1	6.86E+05	9.58E-04	1.40E-09	12
	HMM-mfMSR1	5.19E+05	5.26E-03	1.01E-08	2,2
H1H27773P-N297Q	His9-hMSR1	6.58E+05	2.63E-03	3.99E-09	4
	HMM-mfMSR1	6.43E+05	1.96E-03	3.05E-09	6
H1H27778P-	His9-hMSR1	5.75E+05	3.94E-04	6.85E-10	29

Gắn kết ở nhiệt độ 25°C/Hình thức bắt kháng thể					
Kháng thể	Chất phân tích	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (Mol)	t½ (phút)
N297Q	HMM-mfMSR1	4.67E+05	1.36E-03	2.91E-09	8
H1H21234N	His9-hMSR1	6.04E+05	1.00E-05*	1.66E-11	1155
	HMM-mfMSR1	3.36E+05	1.00E-05*	2.98E-11	1155
H1H21231N	His9-hMSR1	4.77E+05	1.00E-05*	2.10E-11	1155
	HMM-mfMSR1	2.74E+05	6.39E-05	2.33E-10	181
H1H21227N	His9-hMSR1	1.20E+06	1.44E-05	1.20E-11	800
	HMM-mfMSR1	1.27E+06	4.41E-05	3.48E-11	262
Đối chứng không gắn kết	His9-hMSR1	NB[$]	NB[$]	NB[$]	NB[$]
	HMM-mfMSR1	NB[$]	NB[$]	NB[$]	NB[$]

* chỉ ra rằng không quan sát thấy có sự phân ly của His9-hMSR1 hoặc HMM-mfMSR1 trong các điều kiện thử nghiệm hiện tại và giá trị k_d được sửa thủ công ở 1.00E-05 trong khi làm phù hợp dữ liệu

[$] chỉ ra rằng không thấy có sự gắn kết trong các điều kiện thử nghiệm hiện tại.

Bảng 12: Ái lực gắn kết Biacore của mAb kháng MSR1 ở nhiệt độ 37°C

Gắn kết ở nhiệt độ 37°C/Hình thức bắt kháng thể					
Kháng thể	Chất phân tích	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (Mol)	t½ (phút)
H1H21227N-N297Q	His9-hMSR1	2.67E+06	1.23E-05	4.60E-12	941
	HMM-mfMSR1	2.74E+06	1.08E-05	3.95E-12	1069
H1H21227N-N297D	His9-hMSR1	2.73E+06	1.00E-05*	3.66E-12	1155
	HMM-mfMSR1	2.68E+06	2.42E-05	9.03E-12	477
H1H21231N-N297Q	His9-hMSR1	5.34E+05	1.15E-04	2.15E-10	101
	HMM-mfMSR1	5.87E+05	1.09E-04	1.86E-10	106
H1H21234N-N297Q	His9-hMSR1	7.87E+05	1.00E-05*	1.27E-11	1155
	HMM-	7.50E+05	1.00E-05*	1.33E-11	1155

Gắn kết ở nhiệt độ 37°C/Hình thức bắt kháng thể					
Kháng thể	Chất phân tích	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (Mol)	t½ (phút)
	mfMSR1				
H1H27729P-N297Q	His9-hMSR1	2.39E+05	2.04E-03	8.53E-09	6
	HMM-mfMSR1	4.07E+05	3.49E-03	8.58E-09	3,3
H1H27731P-N297Q	His9-hMSR1	2.86E+05	1.32E-04	4.62E-10	88
	HMM-mfMSR1	2.78E+05	1.87E-04	6.74E-10	62
H1H27732P-N297Q	His9-hMSR1	2.81E+05	3.12E-05	1.11E-10	370
	HMM-mfMSR1	3.34E+05	1.06E-04	3.17E-10	109
H1H27734P-N297Q	His9-hMSR1	1.09E+06	1.90E-03	1.74E-09	6
	HMM-mfMSR1	9.49E+05	3.20E-03	3.37E-09	4
H1H27736P-N297Q	His9-hMSR1	1.02E+06	7.33E-04	7.17E-10	16
	HMM-mfMSR1	2.01E+06	1.28E-03	6.37E-10	9
H1H27739P-N297Q	His9-hMSR1	7.76E+05	2.88E-03	3.72E-09	4
	HMM-mfMSR1	2.25E+06	8.42E-04	3.74E-10	14
H1H27747P-N297Q	His9-hMSR1	5.13E+05	2.76E-03	5.37E-09	4
	HMM-mfMSR1	6.57E+05	2.28E-03	3.47E-09	5
H1H27749P-N297Q	His9-hMSR1	4.97E+05	2.42E-04	4.86E-10	48
	HMM-mfMSR1	4.77E+05	1.72E-04	3.61E-10	67
H1H27751P-N297Q	His9-hMSR1	1.45E+06	9.43E-04	6.50E-10	12
	HMM-mfMSR1	1.17E+06	1.80E-03	1.55E-09	6
H1H27754P-N297Q	His9-hMSR1	6.63E+05	2.53E-05	3.81E-11	457
	HMM-mfMSR1	7.01E+05	3.53E-05	5.04E-11	327
H1H27756P-N297Q	His9-hMSR1	6.63E+05	7.71E-04	1.16E-09	15
	HMM-mfMSR1	8.02E+05	3.19E-03	3.97E-09	4
H1H27760P-N297Q	His9-hMSR1	1.08E+06	1.89E-03	1.74E-09	6
	HMM-mfMSR1	1.52E+06	1.59E-03	1.05E-09	7

Gắn kết ở nhiệt độ 37°C/Hình thức bắt kháng thể					
Kháng thể	Chất phân tích	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (Mol)	t½ (phút)
H1H27759P-N297Q	His9-hMSR1	1.03E+06	2.30E-03	2.24E-09	5
	HMM-mfMSR1	1.46E+06	1.88E-03	1.28E-09	6
H1H27761P-N297Q	His9-hMSR1	6.81E+05	2.22E-03	3.26E-09	5
	HMM-mfMSR1	9.20E+05	2.14E-03	2.32E-09	5
H1H27762P-N297Q	His9-hMSR1	3.06E+06	1.96E-03	6.40E-10	6
	HMM-mfMSR1	2.82E+06	1.97E-03	6.98E-10	6
H1H27766P-N297Q	His9-hMSR1	3.40E+05	7.72E-05	2.27E-10	150
	HMM-mfMSR1	3.43E+05	5.89E-04	1.72E-09	20
H1H27771P-N297Q	His9-hMSR1	1.35E+06	2.04E-03	1.51E-09	6
	HMM-mfMSR1	4.94E+05	9.07E-03	1.84E-08	1,3
H1H27773P-N297Q	His9-hMSR1	9.19E+05	3.07E-03	3.34E-09	4
	HMM-mfMSR1	9.60E+05	5.06E-03	5.27E-09	2,3
H1H27778P-N297Q	His9-hMSR1	1.19E+06	6.55E-04	5.49E-10	18
	HMM-mfMSR1	1.19E+06	1.25E-03	1.05E-09	9
H1H21234N	His9-hMSR1	6.76E+05	1.00E-05*	1.48E-11	1155
	HMM-mfMSR1	7.26E+05	1.00E-05*	1.38E-11	1155
H1H21231N	His9-hMSR1	7.02E+05	9.09E-05	1.30E-10	127
	HMM-mfMSR1	7.12E+05	7.82E-05	1.10E-10	148
H1H21227N	His9-hMSR1	2.56E+06	1.85E-05	7.24E-12	624
	HMM-mfMSR1	2.76E+06	1.00E-05*	3.62E-12	1155
Đối chứng không gắn kết	His9-hMSR1	NB[$]	NB[$]	NB[$]	NB[$]
	HMM-mfMSR1	NB[$]	NB[$]	NB[$]	NB[$]

* chỉ ra rằng không quan sát thấy có sự phân ly của His9-hMSR1 hoặc HMM-mfMSR1 trong các điều kiện thử nghiệm hiện tại và giá trị k_d được sửa thủ công ở 1.00E-05 trong khi khớp dữ liệu

$ chỉ ra rằng không thấy có sự gắn kết trong các điều kiện thử nghiệm hiện tại.

Ở nhiệt độ 25°C, tất cả các kháng thể đơn dòng kháng MSR1 theo sáng chế gắn kết với His9-hMSR1 với giá trị K_D nằm trong khoảng từ 12pM đến 5,45nM, như được thể hiện trong Bảng 11. Ở nhiệt độ 37°C, tất cả các kháng thể đơn dòng kháng MSR1 theo sáng chế gắn kết với His9-hMSR1 với giá trị K_D nằm trong khoảng từ 3,66pM đến 8,53nM, như được thể hiện trong Bảng 12.

Ở nhiệt độ 25°C, tất cả các kháng thể đơn dòng kháng MSR1 theo sáng chế gắn kết với HMM-mfMSR1 với giá trị K_D nằm trong khoảng từ 29,9pM đến 10,1nM, như được thể hiện trong Bảng 11. Ở nhiệt độ 37°C, tất cả các kháng thể đơn dòng kháng MSR1 theo sáng chế gắn kết với HMM-mfMSR1 với giá trị K_D nằm trong khoảng từ 3,62pM đến 18,4nM, như được thể hiện trong Bảng 12.

Ví dụ 26: Ái lực gắn kết và hằng số động học thu được từ Octet của kháng thể đơn dòng người kháng MSR1

Ái lực gắn kết và hằng số động học của kháng thể người kháng MSR1 đối với các chất phản ứng MSR1 khác nhau được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm giao thoa lớp sinh học không nhãn thời gian thực trên bệ cảm biến sinh học OCTET® HTX (Pall FortéBio Corp., Menlo Park, CA). Thử nghiệm được thực hiện ở nhiệt độ 25°C trong HEPES 10mM, NaCl 150mM, EDTA 3mM, chất hoạt động bề mặt Tween-20 0,05% thể tích/thể tích, và BSA 1mg/mL, dung dịch đệm độ pH = 7,4 (HBS-EBT) với đĩa lắc ở tốc độ là 1000 vòng/phút. Nghiên cứu gắn kết được thực hiện đối với miền ngoại bào MSR1 người được biểu hiện với đuôi nonahistidin đầu tận N (SEQ ID NO: 688) (His9-hMSR1; R&D Systems, Cat # 2708-MS), MSR1 miền ngoại bào khỉ được biểu hiện với đuôi myc-myc-hexahistidin đầu tận N (HMM-mfMSR1; SEQ ID NO: 418), và miền ngoại bào MSR1 chuột nhắt được biểu hiện với đuôi nonahistidin đầu tận N (SEQ ID NO: 688) ("hexahistidin" được bộc lộ dưới dạng SEQ ID NO: 689) (His9-mMSR1; R&D Systems, Cat# 1797-MS). Kháng thể đơn dòng kháng MSR1 được bắt bằng cách nhúng cảm biến sinh học Octet kháng Fc người (AHC) hoặc kháng Fc chuột nhắt (AMC) trong các lỗ chứa 5µg/mL hoặc 10µg/mL kháng thể đơn dòng kháng MSR1 trong thời gian từ

45 đến 90 giây. Kháng thể đơn dòng kháng MSR1 được bắt bằng AHC sau đó được nhúng trong các lỗ chứa His9-mMSR1 50nM, trong khi kháng thể đơn dòng kháng MSR1 được bắt bằng AMC được nhúng trong các lỗ chứa các nồng độ khác nhau của His9-hMSR1 hoặc HMM-mfMSR1 (100nM, 25nM) hoặc His9-mMSR1 100nM. Sự gắn kết của các chất phản ứng MSR1 khác nhau với kháng thể đơn dòng kháng MSR1 được bắt được đo trong 4 phút và sự phân ly của kháng thể đơn dòng gắn kết chất phản ứng MSR1 được theo dõi trong thời gian từ 8 đến 10 phút trong dung dịch đệm HBS-EBT.

Tốc độ kết hợp (k_a) và tốc độ phân ly (k_d) được xác định bằng cách làm phù hợp biểu đồ cảm biến gắn kết thời gian thực với mô hình gắn kết tỷ lệ 1:1 có giới hạn truyền chất bằng cách sử dụng phần mềm làm phù hợp đường cong Scrubber 2.0c. Hằng số cân bằng gắn kết phân ly (K_D) và thời gian bán thải phân ly (t½) được tính từ các tốc độ động học theo:

$$K_D\ (M) = \frac{kd}{ka},\ \text{và}\ t½\ (\text{phút}) = \frac{\ln(2)}{60*kd}$$

Tham số động học gắn kết đối với His9-hMSR1, HMM-mfMSR1 hoặc His9-mMSR1 gắn kết với các kháng thể đơn dòng kháng MSR1 khác nhau theo sáng chế ở nhiệt độ 25°C được thể hiện trong Bảng 13 và Bảng 14.

Bảng 13: Ái lực gắn kết OCTET® của mAb kháng MSR1 ở nhiệt độ 25°C

Gắn kết ở nhiệt độ 25°C/Hình thức bắt kháng thể					
Kháng thể	Chất phân tích	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (Mol)	t½ (phút)
H2aM21228N	His9-hMSR1	1.22E+05	1.16E-04	9.54E-10	100
	HMM-mfMSR1	1.00E+05	1.46E-04	1.45E-09	79
H2aM21229N	His9-hMSR1	3.00E+05	2.10E-04	7.00E-10	55
	HMM-mfMSR1	1.35E+05	2.22E-03	1.64E-08	5
H2aM21230N	His9-hMSR1	6.47E+05	2.87E-04	4.43E-10	40
	HMM-mfMSR1	2.37E+05	3.76E-04	1.59E-09	31
H2aM21232N	His9-hMSR1	1.30E+05	2.86E-04	2.20E-09	40
	HMM-mfMSR1	9.75E+04	3.27E-04	3.35E-09	35
H2aM21235N	His9-hMSR1	1.21E+05	4.58E-05	3.78E-10	252
	HMM-mfMSR1	1.02E+05	6.27E-05	6.12E-10	184
H2aM25700N	His9-hMSR1	5.58E+05	1.14E-04	2.05E-10	101

Gắn kết ở nhiệt độ 25°C/Hình thức bắt kháng thể					
Kháng thể	Chất phân tích	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (Mol)	t½ (phút)
	HMM-mfMSR1	5.53E+05	1.15E-04	2.08E-10	100
H2aM25690N	His9-hMSR1	2.29E+05	3.11E-04	1.36E-09	37
	HMM-mfMSR1	1.64E+05	5.47E-04	3.35E-09	21
H2aM25695N	His9-hMSR1	3.60E+05	5.27E-04	1.46E-09	22
	HMM-mfMSR1	3.12E+05	5.71E-04	1.83E-09	20
H2aM25685N	His9-hMSR1	2.01E+05	3.97E-04	1.98E-09	29
	HMM-mfMSR1	6.49E+04	1.28E-03	1.97E-08	9
Đối chứng isotyp mIgG	His9-hMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
	HMM-mfMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$

$ chỉ ra rằng không thấy có sự gắn kết trong các điều kiện thử nghiệm hiện tại.

Bảng 14: Ái lực gắn kết OCTET® của mAb kháng MSR1 ở nhiệt độ 25°C

Gắn kết ở nhiệt độ 25°C/Hình thức bắt kháng thể					
Kháng thể	Chất phân tích	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (Mol)	t½ (phút)
H2aM21228N	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H2aM21229N	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H2aM21230N	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H2aM21232N	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H2aM21235N	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H2aM25700N	His9-mMSR1	3.60E+04	1.85E-04	5.20E-09	63
H2aM25690N	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H2aM25695N	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H2aM25685N	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
đối chứng isotyp mIgG	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H21227N-N297Q	His9-mMSR1	3.74E+05	7.08E-04	1.89E-09	16
H1H21227N-N297D	His9-mMSR1	4.61E+05	7.86E-04	1.71E-09	15
H1H21231N-N297Q	His9-mMSR1	IC#	IC#	IC#	IC#
H1H21234N-N297Q	His9-mMSR1	3.82E+04	5.00E-05*	1.31E-09	231
H1H27729P N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27731P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27732P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27734P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27736P-N297Q	His9-mMSR1	IC#	IC#	IC#	IC#
H1H27739P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$

Gắn kết ở nhiệt độ 25°C/Hình thức bắt kháng thể					
Kháng thể	Chất phân tích	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (Mol)	t½ (phút)
H1H27747P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27749P-N297Q	His9-mMSR1	IC#	IC#	IC#	IC#
H1H27751P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27754P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27756P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27760P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27759P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27761P-N297Q	His9-mMSR1	IC#	IC#	IC#	IC#
H1H27762P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27766P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27771P-N297Q	His9-mMSR1	IC#	IC#	IC#	IC#
H1H27773P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27778P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H21234N	His9-mMSR1	4.60E+04	5.00E-05*	1.09E-09	231
H1H21231N	His9-mMSR1	IC#	IC#	IC#	IC#
H1H21227N	His9-mMSR1	4.15E+05	8.16E-04	1.97E-09	14
Đối chứng không gắn kết	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$

* chỉ ra rằng không quan sát thấy có sự phân ly của His9-mMSR1 trong các điều kiện thử nghiệm hiện tại và giá trị k_d được sửa thủ công ở 5.00E-05 trong khi làm phù hợp dữ liệu

$ chỉ ra rằng không thấy có sự gắn kết trong các điều kiện thử nghiệm hiện tại.

chỉ ra rằng dữ liệu gắn kết này không đem lại kết quả cuối cùng (IC)

Kháng thể đơn dòng kháng MSR1 gắn kết với His9-hMSR1 với giá trị K_D nằm trong khoảng từ 205pM đến 2,2nM, như được thể hiện trong Bảng 13. Kháng thể đơn dòng kháng MSR1 gắn kết với HMM-mfMSR1 với giá trị K_D nằm trong khoảng từ 208pM đến 19,7nM, như được thể hiện trong Bảng 13.

Như được thể hiện trong Bảng 14, 23 trong số 35 kháng thể đơn dòng kháng MSR1 không gắn kết với His9-mMSR1, trong khi dữ liệu gắn kết đối với 6 kháng thể đơn dòng kháng MSR1 không đem lại kết quả cuối cùng. Sáu (6) trong số 35 kháng thể đơn dòng kháng MSR1 gắn kết với His9-mMSR1 với giá trị K_D nằm trong khoảng từ 1,09nM đến 5,2nM, như được thể hiện trong Bảng 14.

Ví dụ 27: Kháng thể kháng MSR1 biểu hiện sự gắn kết đặc hiệu với MSR1 của người và khỉ biểu hiện trên bề mặt tế bào

Khả năng của kháng thể đơn dòng kháng MSR1 trong việc gắn kết với tế bào biểu hiện MSR1 của người hoặc khỉ được xác định bằng cách sử dụng kỹ thuật dò dựa trên điện hóa phát quang (electrochemiluminescence - ECL).

Tạo ra dòng tế bào biểu hiện MSR1. Hai dòng tế bào biểu hiện quá mức MSR1 người hoặc khỉ được tạo ra. Để tạo ra dòng tế bào hiểu hiện quá mức MSR1 người, các tế bào thận phôi người (HEK) 293 được thiết kế di truyền bằng cách tải nạp với vectơ lentivirut kháng hygromyxin mã hóa MSR1 người độ dài đầy đủ (hMSR1, axit amin M1-L451 có số gia nhập NP_619729.1) với đuôi Myc tận cùng C. Dòng tế bào thu được được đề cập đến là HEK293.Myc.hMSR1. Tương tự, để tạo ra dòng tế bào biểu hiện quá mức MSR1 khỉ, các tế bào HEK293 được thiết kế di truyền bằng cách chuyển nhiễm với plasmit biểu hiện kháng genetixin mã hóa MSR1 khỉ độ dài đầy đủ (*Macaca fascicularis*, mfMSR1, axit amin M1-L451 có số gia nhập XP_005562705.1). Dòng tế bào thu được được đề cập đến là tế bào HEK293.mfMSR1. Để xác định khả năng của kháng thể trong việc gắn kết với MSR1 người được biểu hiện nội sinh, các tế bào bạch cầu đơn nhân của người THP-1 được xử lý bằng phorbol 12-myristat 13-axetat 200nM (PMA; Sigma, Cat # P8139) trong 72 giờ để cảm ứng sự biểu hiện MSR1 cao trước khi gắn kết kháng thể. Các tế bào HEK293 không chuyển nhiễm được bao gồm dưới dạng đối chứng không gắn kết đặc hiệu do chúng không có sự biểu hiện MSR1 dễ phát hiện bằng cách giải trình tự sự biểu hiện tế bào thế hệ tiếp theo (dữ liệu không được thể hiện).

Thử nghiệm gắn kết kháng thể. Để thực hiện thử nghiệm gắn kết kháng thể, các tế bào từ mỗi dòng tế bào được mô tả ở trên được rửa một lần trong dung dịch đệm PBS không có Ca^{2+}/Mg^{2+} và được ủ trong 5 phút ở nhiệt độ 37°C với dung dịch phân ly tế bào không chứa enzym (Millipore, Cat. # S-004-C, Burlington, MA) để gỡ các tế bào ra khỏi bình thót cổ. Tất cả các tế bào được rửa một lần bằng 1xPBS có Ca^{2+}/Mg^{2+} và được đếm bằng bộ đếm tế bào tự động T4 Cellometer™ (Nexcelom Bioscience). Xấp xỉ $1,0x10^4$ tế bào được gieo tách biệt lên trên đĩa điện cực cacbon 96 lỗ [đĩa gắn kết cao

MULTI- ARRAY, Meso Scale Diagnostics] và được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ 37°C. các điểm không gắn kết đặc hiệu sau đó được phong bế bằng BSA 2% (trọng lượng/thể tích) trong PBS có Ca^{2+}/Mg^{2+} trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các tế bào THP-1 được ủ sơ bộ trong 0,5 giờ ở nhiệt độ trong phòng trong dung dịch đệm pha loãng mẫu với: 1) 1mg/mL chất phản ứng phong bế thụ thể Fc để phong bế thụ thể gama Fc trên bề mặt tế bào THP-1 [IgG người phân tử nguyên vẹn (Jackson Immunoresearch, Cat #009-000-003) đối với các lỗ đang được thử nghiệm với kháng thể kháng MSR1-mFc hoặc 2) mIgG phân tử nguyên vẹn (Jackson Immunoresearch, Cat #015-000-003) đối với các lỗ đang được thử nghiệm với kháng thể kháng MSR1-hFc. Sự gắn kết kháng thể trên tế bào HEK293.Myc.hMSR1, tế bào HEK293.mfMSR1 và tế bào HEK293 được thử nghiệm không có chất phản ứng phong bế thụ thể Fc. Đối với các tế bào HEK293.Myc.hMSR1, HEK293.mfMSR1 và HEK293 gắn kết trên đĩa hoặc khối THP-1+Fc, dung dịch chứa kháng thể kháng MSR1 hoặc kháng thể đối chứng trong các phần pha loãng theo dãy nằm trong khoảng từ 1,7pM đến 100nM, và các dung dịch không có kháng thể được bổ sung hai lần, và các đĩa được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó các đĩa được rửa để loại bỏ kháng thể không gắn kết bằng máy rửa đĩa AquaMax2000 với đầu rửa tế bào (MDS Analytical Technologies). Kháng thể gắn kết trên đĩa được phát hiện ra bằng kháng thể đa dòng dê kháng IgG người được liên hợp với SULFO-TAG™ đặc hiệu đối với mảnh Fcγ (Jackson Immunoresearch, Cat #109-005-098) hoặc kháng thể đa dòng dê kháng IgG chuột nhắt được liên hợp SULFO-TAG™ đặc hiệu đối với mảnh Fcγ (Jackson Immunoresearch, Cat #115-005-164) trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các đĩa được rửa và hiện màu bằng dung dịch đệm Read (Meso Scale Diagnostics, Cat # R92TD-2) theo quy trình được chỉ dẫn bởi nhà sản xuất và các tín hiệu phát quang được ghi lại bằng máy chụp hình SECTOR Imager 600 (Meso Scale Diagnostics). Cường độ phát quang, đo được theo đơn vị ánh sáng tương đối (relative light unit - RLU), được ghi lại để chỉ ra cường độ gắn kết của từng kháng thể trên một khoảng các nồng độ. Tỷ lệ tín hiệu được phát hiện đối với sự gắn kết trên bề mặt tế bào của từng kháng thể kháng MSR so với kháng thể đối chứng isotyp (cả hai đều ở 11nM) được báo cáo dưới dạng chỉ báo cho độ đặc hiệu gắn kết MSR1. Kháng thể có tỷ lệ gắn kết trên tế bào biểu hiện MSR-1

lớn hơn hoặc bằng 2 lần so với tỷ lệ trên tế bào HEK293 ban đầu được phân loại là các chất gắn kết đặc hiệu. Kháng thể có tỷ lệ gắn kết ít hơn 2 lần so với tỷ lệ trên tế bào HEK293 ban đầu được phân loại là các chất không gắn kết như được thể hiện. (Xem Bảng 15).

Bảng 15: Sự gắn kết của kháng thể kháng MSR1 với tế bào biểu hiện MSR1

Kháng thể	Tỷ lệ của tín hiệu gắn kết kháng thể 11nM (RLU) trên tế bào biểu hiện MSR1 và HEK293 ban đầu đối với đối chứng isotyp			
	HEK293.Myc. hMSR1	THP-1 được xử lý PMA	HEK293. mfMSR1	HEK293
Chất gắn kết đặc hiệu với MSR1 người và khỉ				
H1H21227N-N297Q	37	5	23	1
H1H21227N-N297D	34	6	25	1
H1H21227N	37	7	26	1
H1H21231N-N297Q	64	45	69	4
H1H21231N	61	42	75	<1
H1H21234N-N297Q	43	25	35	9
H1H21234N	32	18	31	3
H1H27729P-N297Q	17	8	6	3
H1H27731P-N297Q	48	38	43	7
H1H27732P-N297Q	72	56	46	6
H1H27734P-N297Q	40	21	28	14
H1H27736P-N297Q	58	48	45	12
H1H27739P-N297Q	22	9	20	1
H1H27747P-N297Q	26	13	21	5
H1H27749P-N297Q	27	33	24	3
H1H27751P-N297Q	63	54	49	15
H1H27754P-N297Q	55	66	53	18
H1H27756P-N297Q	38	21	20	6
H1H27759P2-N297Q	23	9	25	2
H1H27760P2-N297Q	29	15	25	3

Kháng thể	Tỷ lệ của tín hiệu gắn kết kháng thể 11nM (RLU) trên tế bào biểu hiện MSR1 và HEK293 ban đầu đối với đối chứng isotyp			
	HEK293.Myc. hMSR1	THP-1 được xử lý PMA	HEK293. mfMSR1	HEK293
H1H27761P2-N297Q	23	10	15	3
H1H27762P2-N297Q	33	11	25	3
H1H27771P2-N297Q	42	21	7	2
H1H27773P2-N297Q	5	3	10	2
H1H27778P2-N297Q	51	32	29	4
H1xH27759P2	22	6	21	<1
H1xH29283P2	26	9	24	1
H2aM25685N	75	11	25	2
H2aM25690N	166	25	77	5
H2aM25695N	35	8	45	5
H2aM25700N	46	3	39	1
H2aM21228N	66	16	60	2
H2aM21230N	78	21	55	5
H2aM21232N	86	21	51	1
H2aM21235N	68	20	40	6
Chất gắn kết chỉ đặc hiệu với MSR1 người				
H2aM21229N	78	56	27	36
H1xH29282P2	9	3	1	<1
H1H27766P2-N297Q	20	9	13	8
Chất liên kết không đặc hiệu				
H1xH29273P2	20	24	27	
Đối chứng isotyp				
Đối chứng isotyp hIgG1	1	1	1	1
Đối chứng isotyp mIgG	1	1	1	1

Như được minh họa trong Bảng 15, ba mươi tám trong số ba mươi chín kháng thể kháng MSR1 được thử nghiệm gắn kết đặc hiệu với tế bào HEK293.Myc.hMSR1 với tỷ

lệ gắn kết cao hơn trong khoảng từ 5 đến 166 lần so với đối chứng isotyp ở nồng độ 11nM của kháng thể kháng MSR1. Ba mươi ba trong số các kháng thể kháng MSR1 này gắn kết đặc hiệu với các tế bào THP-1 biểu hiện nội sinh MSR1 người sau khi biệt hóa tế bào PMA với tỷ lệ gắn kết tế bào cao hơn trong khoảng từ 3 đến 66 lần so với đối chứng isotyp ở nồng độ 11nM. Ba mươi lăm kháng thể kháng MSR1 gắn kết với tế bào hMSR1 được xử lý kỹ thuật cũng gắn kết đặc hiệu với tế bào được xử lý kỹ thuật bằng mfMSR1 với tỷ lệ gắn kết tế bào cao hơn trong khoảng từ 6 đến 77 lần so với đối chứng isotyp ở nồng độ 11nM. Mười hai kháng thể kháng MSR1 (H1H21234N-N297Q, H1H27731P-N297Q, H1H27732P-N297Q, H1H27734P-N297Q, H1H27736P-N297Q, H1H27751P-N297Q, H1H27754P-N297Q, H1H27756P-N297Q, H2aM25695N, H2aM21235N, H2aM21229N, H1H27766P2-N297Q) gắn kết với tế bào HEK293 ban đầu với tỷ lệ cao hơn 5 lần hoặc lớn hơn so với đối chứng isotyp. Kháng thể kháng MSR1 được tạo ra có IgG1 người chứa tế bào gắn kết đột biến một điểm N297Q hoặc N297D so với kháng thể ban đầu không được cải biến tương ứng của chúng.

Một kháng thể kháng MSR1, H1xH29273P2, được mô tả là chất gắn kết không đặc hiệu, do nó gắn kết với tế bào MSR1 với tỷ lệ thấp hơn 2 so với tế bào HEK293 ở nồng độ 11nM của kháng thể. Các đối chứng isotyp hIgG1 và mIgG1 không đặc hiệu như mong đợi.

Ví dụ 28: sự gắn kết tương đối của kháng thể kháng MSR1 với MSR1 được biểu hiện trên bề mặt tế bào chuột nhắt

Sự gắn kết tương đối trên bề mặt tế bào của kháng thể kháng MSR1 với tế bào biểu hiện MSR1 chuột nhắt được xác định bằng cách Đếm tế bào theo dòng bằng cách sử dụng tế bào RAW264.7 dương tính với MSR1 (ATCC, Catalog #TIB-71) và tế bào B16F10.9 âm tính với MSR1 (Lin *et al.* 1998. *PNAS* 95:8829-8834). Đối với thử nghiệm này, các tế bào được dàn trên đĩa trong PBS không có canxi và magie (VWR Cat# 45000-446) và FBS 2% (Saradigm Cat# 1500-500) (Dung dịch đệm nhuộm màu) trong đĩa 96 lỗ đáy chữ V (Axygen Scientific, Cat# P-96-450-V-C-S). Để chặn sự gắn kết với thụ thể Fc, tế bào RAW264.7 được ủ trong 30 phút ở nhiệt độ 4°C với 500µg/mL IgG chuột

nhắt (Jackson ImmunoResearch, Cat# 015-000-003) được pha loãng trong dung dịch đệm nhuộm màu, trong khi tế bào B16F10.9 vẫn ở trong dung dịch đệm nhuộm màu này. Sau khi phong bế thụ thể Fc, 10µg/mL kháng thể kháng MSR1 hoặc kháng thể đối chứng isotyp được bổ sung vào các tế bào và sau đó được ủ trong 30 phút trên đá. Đối với đối chứng dương, kháng thể kháng MSR1 chuột nhắt bán trên thị trường (Sino Biological, Cat# 50129-R004) được sử dụng, trong khi kháng thể IgG thỏ (Thermo Scientific, Cat# 26102) được sử dụng làm đối chứng âm. Sau đó các tế bào này được rửa một lần bằng dung dịch đệm nhuộm màu và được ủ với kháng thể thứ cấp kháng Fc người được liên hợp APC (Jackson ImmunoResearch, Cat# 109-136-170) hoặc kháng thể thứ cấp kháng Fc thỏ được liên hợp Alexa-Flour 647 [Jackson ImmunoResearch Cat# 111-606-046] ở nồng độ 10µg/mL trong 30 phút ở nhiệt độ 4°C. Sau đó các tế bào được rửa và được cố định bằng cách sử dụng dung dịch 50% chứa Cytofix (BD Biosciences, Cat# 554655) được pha loãng trong PBS. Các mẫu được cho chạy trên thiết bị Beckman Coulter Cytoflex và kết quả được phân tích trong phần mềm Flowjo 10.2 (BD) để tính cường độ huỳnh quang trung bình (MFI; Bảng 16). Tỷ số tín hiệu trên nhiễu (singal/noise-S/N) được xác định bằng cách tính tỷ lệ của kháng thể kháng MSR1 hoặc kháng thể đối chứng MFI với mẫu không được nhuộm MFI (Bảng 16).

Bảng 16: Sự gắn kết của kháng thể kháng MSR1 với tế bào RAW264.7 (Đếm tế bào theo dòng)

Kháng thể	RAW264.7 MFI	B16F10.9 MFI	RAW264.7 S/N	B16F10.9 S/N
Không được nhuộm	2524	3657	1	1
Chỉ có kháng thể thứ cấp kháng IgG người	3095	3174	1	1
Đối chứng không gắn kết	3402	3829	1	1
H1H21227N-N297Q	12810	3287	5	1
H1H21231N-N297Q	3582	3374	1	1
H1H21234N-N297Q	7052	3499	3	1
Kháng thể kháng MSR chuột nhắt	245149	6161	97	2
Chỉ có kháng thể thứ cấp kháng IgG thỏ	8720	5389	3	1

Kháng thể	RAW264.7 MFI	B16F10.9 MFI	RAW264.7 S/N	B16F10.9 S/N
H1H27729P-N297Q	3484	3459	1	1
H1H27731P-N297Q	3510	3688	1	1
H1H27732P-N297Q	3425	3730	1	1
H1H27734P-N297Q	4783	4505	1	1
H1H27736P-N297Q	3554	3759	1	1
H1H27739P-N297Q	3271	3580	1	1
H1H27747P-N297Q	3630	3875	1	1
H1H27749P-N297Q	3789	3693	1	1
H1H27751P-N297Q	3823	4992	1	1
H1H27754P-N297Q	5406	4091	1	1
H1H27756P-N297Q	4573	3782	1	1
H1H27759P-N297Q	3288	3425	1	1
H1H27760P-N297Q	3429	3521	1	1
H1H27761P-N297Q	3837	3734	1	1
H1H27762P-N297Q	3519	3608	1	1
H1H27766P-N297Q	3812	3793	1	1
H1H27771P-N297Q	4055	3865	1	1
H1H27773P-N297Q	3367	3735	1	1
H1H27778P-N297Q	3648	4138	1	1

Như được minh họa trong Bảng 16, hai kháng thể kháng MSR1 (H1H21227N-N297Q và H1H21234N-N297Q) gắn kết yếu với tế bào RAW264.7 với giá trị S/N lần lượt là 5 và 3. Đối chứng không gắn kết kháng thể không gắn kết với tế bào RAW264.7. Không kháng thể nào trong số 22 kháng thể kháng MSR1 gắn kết với tế bào B16F10.9. Đối chứng dương tham khảo (kháng thể MSR1 chuột nhắt/CD204, Sino Biological, Cat. # 50129-R004) gắn kết tế bào Raw 264.7 với S/N là 97.

Ví dụ 29: Kháng thể kháng MSR1 gắn kết với các epitop riêng biệt trên thụ thể MSR1/sự cạnh tranh chéo giữa các kháng thể kháng MSR1

Sự cạnh tranh gắn kết giữa các kháng thể kháng MSR1 khác nhau được đánh giá bằng cách sử dụng thử nghiệm giao thoa lớp sinh học không nhãn thời gian thực trên bệ cảm biến sinh học OCTET® HTX (Pall FortéBio Corp., Menlo Park, CA). Thử nghiệm

này được thực hiện ở nhiệt độ 25°C trong HEPES 10mM, NaCl 150mM, EDTA 3mM, chất hoạt động bề mặt Tween-20 0,05% thể tích/thể tích, và 1mg/mL BSA, dung dịch đệm độ pH = 7,4 (HBS-EBT) có đĩa lắc ở tốc độ là 1000 vòng/phút.

Để đánh giá xem liệu các kháng thể khác nhau có thể canh tranh với một kháng thể khác để gắn kết với các epitop tương ứng của chúng trên miền ngoại bào MSR1 người tái tổ hợp được biểu hiện với đuôi nonahistidin đầu tận N (SEQ ID NO: 688) (His9-hMSR1; R&D Systems, Cat# 2708-MS) hay không, thì khoảng từ 0,59 đến 0,79nM His9-hMSR1 được bắt đầu tiên lên trên các đầu cảm biến sinh học OCTET® được phủ kháng thể kháng Penta-His ("Penta-His" được bộc lộ dưới dạng SEQ ID NO: 690) (Pall FortéBio Corp., # 18-5122) bằng cách dìm đầu cảm biến sinh học này trong 45 giây vào các lỗ chứa 20µg/mL dung dịch chứa His9-hMSR1. Dầu cảm biến sinh học đã bắt kháng nguyên sau đó được bão hòa với kháng thể đơn dòng kháng MSR1 thứ nhất (sau đây được gọi là "mAb-1") bằng cách nhúng vào các lỗ chứa 50µg/mL dung dịch chứa mAb-1 trong 4 phút. Các đầu cảm biến sinh học này sau đó được dìm vào các lỗ chứa 50µg/mL dung dịch chứa kháng thể đơn dòng kháng MSR1 thứ hai (sau đây được gọi là "mAb-2") trong 4 phút. Tất cả các đầu cảm biến sinh học đều được rửa trong dung dịch đệm HBS-EBT giữa mỗi bước của thử nghiệm. Đáp ứng gắn kết thời gian thực được theo dõi trong chu trình thử nghiệm và đáp ứng gắn kết ở cuối mỗi bước được ghi lại. Đáp ứng của mAb-2 gắn kết với His9-hMSR1 tạo phức sơ bộ với mAb-1 được so sánh, và đặc tính cạnh tranh/không cạnh tranh của các kháng thể đơn dòng kháng MSR1 khác nhau được xác định bằng cách sử dụng ngưỡng ức chế 50%. Bảng 17 nêu rõ mối liên hệ trong cạnh tranh kháng thể theo cả hai hướng, tùy thuộc vào thứ tự gắn kết.

Bảng 17: Cạnh tranh chéo của kháng thể kháng MSR1 để gắn kết với His9-hMSR1

mAb thứ nhất (mAb-1) được bắt bằng cách sử dụng cảm biến sinh học Octet kháng Penta-His ("Penta-His" được bộc lộ dưới dạng SEQ ID NO: 690)	kháng thể mAb-2 cạnh tranh với mAb-1	mAb thứ nhất (mAb-1) được bắt bằng cách sử dụng cảm biến sinh học Octet kháng Penta-His ("Penta-His" được bộc lộ dưới dạng SEQ ID NO: 690)	kháng thể mAb-2 cạnh tranh với mAb-1
H1H27756P-N297Q	H1H21231N	H1H27751P-N297Q	H1H21234N-N297Q
	H1H27760P-N297Q		H1H27734P-N297Q
	H1H27762P-N297Q		H1H27732P-N297Q
	H1H21231N-N297Q		H1H27731P-N297Q
	H1H27747P-N297Q		H1H27754P-N297Q
	H1H27749P-N297Q		H1H27766P-N297Q
H1H21231N	H1H27756P-N297Q		H1H21227N-N297D
	H1H27760P-N297Q	H1H27732P-N297Q	H1H27734P-N297Q
	H1H27762P-N297Q		H1H27751P-N297Q
	H1H21231N-N297Q		H1H27731P-N297Q
	H1H27747P-N297Q		H1H27754P-N297Q
	H1H27749P-N297Q	H1H27731P-N297Q	H1H27734P-N297Q
H1H27760P-N297Q	H1H27756P-N297Q		H1H27751P-N297Q
	H1H21231N		H1H27732P-N297Q
	H1H27762P-N297Q		H1H27754P-N297Q
	H1H21231N-N297Q	H1H27754P-N297Q	H1H27734P-N297Q
	H1H27747P-N297Q		H1H27751P-N297Q
	H1H27749P-N297Q		H1H27732P-N297Q
H1H27762P-N297Q	H1H27756P-N297Q		H1H27731P-N297Q
	H1H21231N	H1H27761P-N297Q	H1H27736P-N297Q
	H1H27760P-N297Q		H1H27771P-N297Q
	H1H21231N-N297Q		H1H27778P-N297Q
	H1H27747P-N297Q		H1H27773P-N297Q

mAb thứ nhất (mAb-1) được bắt bằng cách sử dụng cảm biến sinh học Octet kháng Penta-His ("Penta-His" được bộc lộ dưới dạng SEQ ID NO: 690)	kháng thể mAb-2 cạnh tranh với mAb-1
	H1H27749P-N297Q
	H1H27766P-N297Q
H1H21231N-N297Q	H1H27756P-N297Q
	H1H21231N
	H1H27760P-N297Q
	H1H27762P-N297Q
	H1H27747P-N297Q
	H1H27749P-N297Q
H1H27747P-N297Q	H1H27760P-N297Q
	H1H27762P-N297Q
	H1H21231N-N297Q
H1H27749P-N297Q	H1H27760P-N297Q
	H1H27762P-N297Q
	H1H21231N-N297Q
H1H21234N-N297Q	H1H21234N
H1H21234N	H1H21234N-N297Q
H1H27734P-N297Q	H1H21234N-N297Q
	H1H27751P-N297Q
	H1H27732P-N297Q
	H1H27731P-N297Q
	H1H27754P-N297Q
	H1H27766P-N297Q
	H1H21227N-N297D

mAb thứ nhất (mAb-1) được bắt bằng cách sử dụng cảm biến sinh học Octet kháng Penta-His ("Penta-His" được bộc lộ dưới dạng SEQ ID NO: 690)	kháng thể mAb-2 cạnh tranh với mAb-1
	H1H27739P-N297Q
H1H27736P-N297Q	H1H27761P-N297Q
	H1H27771P-N297Q
	H1H27778P-N297Q
	H1H27759P-N297Q
	H1H27773P-N297Q
	H1H27773P-N297Q
H1H27771P-N297Q	H1H27761P-N297Q
	H1H27736P-N297Q
	H1H27778P-N297Q
	H1H27759P-N297Q
	H1H27773P-N297Q
	H1H27739P-N297Q
H1H27778P-N297Q	H1H27761P-N297Q
	H1H27736P-N297Q
	H1H27771P-N297Q
	H1H27759P-N297Q
	H1H27773P-N297Q
	H1H27739P-N297Q
H1H27759P-N297Q	H1H27736P-N297Q
	H1H27771P-N297Q
	H1H27778P-N297Q
	H1H27773P-N297Q

mAb thứ nhất (mAb-1) được bắt bằng cách sử dụng cảm biến sinh học Octet kháng Penta-His ("Penta-His" được bộc lộ dưới dạng SEQ ID NO: 690)	kháng thể mAb-2 cạnh tranh với mAb-1	mAb thứ nhất (mAb-1) được bắt bằng cách sử dụng cảm biến sinh học Octet kháng Penta-His ("Penta-His" được bộc lộ dưới dạng SEQ ID NO: 690)	kháng thể mAb-2 cạnh tranh với mAb-1
H1H27766P-N297Q	No mAb*		H1H27739P-N297Q
H1H21227N-N297D	H1H21234N-N297Q	H1H27773P-N297Q	H1H27749P-N297Q
	H1H21234N		H1H27766P-N297Q
	H1H27766P-N297Q		H1H21227N-N297D
H1H27739P-N297Q	H1H27759P-N297Q	H1H27729P-N297Q	Dữ liệu không mang tính quyết định**
H1H21227N	Dữ liệu không mang tính quyết định**	H1H21227N-N297Q	Dữ liệu không mang tính quyết định**

*Không cạnh tranh chéo với bất kỳ mAb nào khác để gắn kết với MSR1 khi được bắt dưới dạng 'mAb-1'

**mAb không bão hòa trên bề mặt MSR1 hoặc không gắn kết với bề mặt MSR1

Ví dụ 30: Sự hấp thu phối tử của kháng thể kháng MSR1

MSR1 có thể gắn kết và nhập bào phân tử polyanion được cải biến hoặc thay đổi về mặt hóa học, bao gồm lipoprotein tỷ trọng thấp (LDL) được cải biến (Platt, N. and S. Gordon. 2001. *J Clin Invest.* 108(5):649-654). Thử nghiệm sinh học được hình thành để đánh giá khả năng của kháng thể kháng MSR1 lấy làm ví dụ để điều hòa sự hấp thu của các phối tử MSR1 nhất định.

Tạo ra dòng tế bào biểu hiện MSR1 cho thử nghiệm. Tế bào thận phôi người (HEK293) được tải nạp để biểu hiện một cách ổn định MSR1 người (các axit amin từ 1 đến 451 của UniProtKB số gia nhập NP_619729.1) có đuôi Myc tận cùng C. Dòng tế bào thu được, ở đây gọi là "HEK293.Myc.hMSR1", được chọn lọc và giữ trong DMEM chứa FBS 10%, NEAA, penixilin/streptomyxin, L-glutamin, và 100µg/mL hygromyxin.

Thử nghiệm hấp thu phối tử. Đối với thử nghiệm sinh học này, các tế bào HEK293.Myc.hMSR1 được dàn lên trên đĩa thử nghiệm 96 lỗ được phủ poly-D-lysin (Greiner Bio One, Cat #655946) ở mật độ 20.000 tế bào mỗi lỗ trong Opti-MEM chứa FBS 0,1%, penixilin/streptomyxin, và L-Glutamin (môi trường thử nghiệm) và được ủ ở nhiệt độ 37°C trong CO_2 5% qua đêm. Ngày sau đó, các kháng thể được pha loãng theo dãy từ 300nM đến 5,08pM (pha loãng theo dãy tỷ lệ 1:3) và được ủ sơ bộ với các tế bào, cùng với đối chứng âm gồm một mình môi trường thử nghiệm, trong 30 phút ở nhiệt độ 37°C trong CO_2 5%. Sau 30 phút, lipoprotein tỷ trọng thấp (LDL) được oxy hóa hoặc được axetyl hóa được đánh dấu bằng 1,1'dioctadexyl-3,3,3',3'-tetrametylindocarboxyanin perclorat (được đề cập đến dưới dạng "DiI-OxLDL" hoặc "DiI-AcLDL", một cách tương ứng) được bổ sung vào các tế bào ở nồng độ không đổi là 10µg/mL. Để xác định đáp ứng liều của sự hấp thu phối tử, DiI-OxLDL hoặc DiI-AcLDL được pha loãng theo dãy từ 25µg/mL đến 24,4pg/mL (cộng thêm một mình môi trường thử nghiệm không có LDL) và được bổ sung vào các tế bào không có kháng thể. Sau khi ủ qua đêm ở nhiệt độ 37°C trong CO_2 5%, các tế bào được cố định với BD CytoFix™ (BD Biosciences, Cat# 554655) trong 2 giờ ở nhiệt độ 4°C, và mức hấp thu phối tử được ước tính bằng cách sử dụng bộ đọc đĩa Flexstation3 (Molecular Devices) có kích thích ở bước sóng 514nM và phát xạ ở bước sóng 565nM. Các kết quả được phân tích bằng cách sử dụng phương pháp hồi quy không tuyến tính (hàm logitic 4 tham số) với chương trình Prism 7 để thu được các giá trị EC_{50} và IC_{50}. Phần trăm ức chế được tính với các giá trị đơn vị huỳnh quang tương đối (RFU) bằng cách sử dụng đẳng thức sau:

$$\%\ \text{ức chế lớn nhất} = 100 \times \frac{RLU_{\text{đường cơ sở}} - RLU_{\text{ức chế}}}{RLU_{\text{đường cơ sở}} - RLU_{\text{nền}}}$$

Trong đẳng thức này, "$RFU_{\text{đường cơ sở}}$" là giá trị huỳnh quang từ các tế bào được xử lý bằng 10µg/mL phối tử không có kháng thể, "$RFU_{\text{ức chế}}$" là giá trị huỳnh quang nhỏ nhất với kháng thể cụ thể với 10µg/mL phối tử, và "$RFU_{\text{nền}}$" là giá trị huỳnh quang từ các tế bào không có phối tử hoặc kháng thể bất kỳ. Các kết quả và giá trị tính được của

thử nghiệm hấp thu phối tử được nêu trong Bảng 18.

Bảng 18: Sự ức chế kháng thể của Dil-OxLDL và sự hấp thu Dil-AcLDL trong tế bào HEK293.Myc.hMSR1

		LDL được oxy hóa bằng Dil		LDL được axetyl hóa bằng DiI	
Hàng	Kháng thể	% ức chế	IC_{50} (M)	% ức chế	IC_{50} (M)
1	H2aM21227N	90	3.1E-09	62	3.7E-09
2	H2aM21228N	79	3.1E-09	10	>1.0E-07
3	H2aM21229N	26	>1.0E-07	không ức chế	không ức chế
4	H2aM21230N	70	2.3E-09	47	>1.0E-08
5	H1M21231N	79	3.7E-09	50	>2.0E-08
6	H2aM21232N	79	4.8E-09	54	>1.0E-08
7	H2bM21234N	61	4.5E-09	19	1.8E-09
8	H2aM21235N	64	3.2E-09	24	>1.0E-07
9	mAb 1 đối chứng Isotyp của IgG2a chuột nhắt	không ức chế	không ức chế	không ức chế	không ức chế
10	mAb đối chứng isotyp của IgG1 chuột nhắt	không ức chế	không ức chế	không ức chế	không ức chế
11	H2aM25685N	43	>1.0E-07	22	>1.0E-07
12	H2aM25690N	83	1.7E-09	53	2.1E-09
13	H2aM25695N	69	>1.6E-08	40	>1.7E-07
14	H2aM25700N	91	2.2E-09	79	2.4E-09
15	mAb 2 đối chứng isotyp của IgG2a chuột nhắt	không ức chế	không ức chế	không ức chế	không ức chế
16	H1H21227N-N297Q	94	1.8E-09	65	2.4E-09
17	H1H21231N-N297Q	88	3.7E-09	62	3.7E-09
18	H1H21234N-N297Q	52	6.1E-09	34	1.3E-09
19	H1H21227N	89	2.0E-09	65	2.1E-09
20	H1H21231N	78	3.6E-09	63	3.5E-09
21	H1H21234N	64	4.3E-09	36	7.1E-10

		LDL được oxy hóa bằng DiI		LDL được axetyl hóa bằng DiI	
Hàng	Kháng thể	% ức chế	IC_{50} (M)	% ức chế	IC_{50} (M)
22	H1H27729P-N297Q	không ức chế	không ức chế	28	1.2E-09
23	H1H27731P-N297Q	62	>1.0E-08	37	1.8E-09
24	H1H27732P-N297Q	86	1.7E-09	62	2.2E-09
25	H1H27734P-N297Q	22	5.5E-09	không ức chế	không ức chế
26	H1H27736P-N297Q	83	3.2E-09	49	3.4E-09
27	H1H27739P-N297Q	55	>1.0E-07	không ức chế	không ức chế
28	H1H27747P-N297Q	42	>1.0E-07	26	>1.0E-07
29	H1H27749P-N297Q	42	1.7E-09	35	4.2E-10
30	H1H27751P-N297Q	85	2.9E-09	59	1.6E-09
31	H1H27754P-N297Q	73	4.6E-09	38	1.8E-09
32	H1H27756P-N297Q	76	3.4E-09	42	>1.0E-07
33	H1H27759P-N297Q	74	>1.0E-08	48	>1.0E-07
34	H1H27760P-N297Q	70	4.9E-09	46	2.6E-09
35	H1H27761P-N297Q	43	9.5E-09	29	>1.0E-07
36	H1H27762P-N297Q	78	4.0E-09	38	2.9E-09
37	H1H27766P-N297Q	72	3.7E-09	38	3.5E-09
38	H1H27771P-N297Q	73	3.0E-09	49	1.9E-09
39	H1H27773P-N297Q	41	>1.0E-07	31	>1.0E-07
40	H1H27778P-N297Q	88	2.2E-09	54	1.5E-09
41	IgG1-N297Q	không ức	không ức	không ức chế	không ức chế

		LDL được oxy hóa bằng DiI		LDL được axetyl hóa bằng DiI	
Hàng	Kháng thể	% ức chế	IC_{50} (M)	% ức chế	IC_{50} (M)
	người, mAb đối chứng isotyp	chế	chế		
42	mAb đối chứng isotyp của IgG1 người	không ức chế	không ức chế	không ức chế	không ức chế

Các ứng viên kháng thể thích hợp minh họa mức ức chế hiệu quả tương đối (ví dụ, giá trị IC_{50} ít hơn khoảng 10nM). Theo một số phương án, các ứng viên kháng thể thích hợp cũng minh họa mức ức chế hấp thu phối tử lớn nhất ít hơn khoảng 65%.

Như được thể hiện trong Bảng 18 (các hàng từ 1 đến 10), tám kháng thể thể hiện mức ức chế hấp thu DiI-OxLDL trên tế bào HEK293.Myc.hMSR1 với mức ức chế lớn nhất nằm trong khoảng từ 26% đến 90% và giá trị IC_{50} nằm trong khoảng từ 2,3nM đến >100nM. Bảy trong số 8 kháng thể cho thấy sự ức chế hấp thu DiI-AcLDL với mức ức chế lớn nhất nằm trong khoảng từ 10% đến 62% và giá trị IC_{50} nằm trong khoảng từ 1,8nM đến >100nM. Kháng thể H2aM21229N không thể hiện sự ức chế hấp thu DiI-AcLDL.

Như được thể hiện trong Bảng 18 (các hàng từ 11 đến 15), bốn kháng thể thể hiện sự ức chế hấp thu DiI-OxLDL qua trung gian MSR1 với mức ức chế lớn nhất nằm trong khoảng từ 43% đến 91% và giá trị IC_{50} nằm trong khoảng từ 1,7nM đến >100nM. Bốn kháng thể theo sáng chế thể hiện sự ức chế hấp thu DiI-OxLDL qua trung gian MSR1 với mức ức chế lớn nhất nằm trong khoảng từ 22% đến 79% và giá trị IC_{50} nằm trong khoảng từ 2,1nM đến >100nM.

Như được thể hiện trong Bảng 18 (các hàng từ 16 đến 42), hai mươi bốn trong số 25 kháng thể thể hiện sự ức chế hấp thu DiI-OxLDL qua trung gian MSR1 với mức ức chế lớn nhất nằm trong khoảng từ 22% đến 94% và giá trị IC_{50} nằm trong khoảng từ 1,7nM đến >100nM. Hai mươi ba trong số 25 kháng thể thể hiện sự ức chế hấp thu DiI-

AcLDL với mức ức chế lớn nhất nằm trong khoảng từ 26% đến 65% và giá trị IC_{50} nằm trong khoảng từ 0,42nM đến >100nM. Kháng thể H1H27729P-N297Q không thể hiện sự ức chế hấp thu DiI-OxLDL trong khi kháng thể H1H27739P-N297Q và H1H27734P-N297Q không thể hiện sự ức chế hấp thu DiI-AcLDL trên tế bào HEK293.Myc.hMSR1.

Kháng thể đối chứng isotyp của người và chuột nhắt không thể hiện sự ức chế hấp thu DiI-OxLDL và DiI-AcLDL bởi tế bào HEK293.Myc.hMSR1 trong thử nghiệm bất kỳ trong số các thử nghiệm này.

Ví dụ 31: Sự gắn kết và nhập bào của MSR1 được biểu hiện trên bề mặt tế bào bởi kháng thể kháng MSR1

Kháng thể kháng MSR1 lấy làm ví dụ được đánh giá về khả năng của chúng trong việc gắn kết và nhập bào MSR1 trên các tế bào biểu hiện MSR1.

Đối với thử nghiệm này, các tế bào THP-1 [ATCC, Cat #TIB-202] được gieo vào đĩa 96 lỗ được phủ PDL (Perkin Elmer, Cat# 6055500) trong RPMI (Irvine Scientific, Cat #9160) chứa FBS 10% (ATCC, Cat# 30-2020), penxilin/streptomyxin/L-glutamin (Gibco, Cat #10378-016), Beta-Mercaptoetanol 50µM (Sigma, Cat # M7522) (môi trường sinh trưởng) cộng Phorbol Myristat Axetat 200nM (PMA; Sigma, Cat# P1585). Các tế bào THP-1 được cho biệt hóa trong 4 ngày ở nhiệt độ 37°C trong CO_2 5%. Để nhuộm màu, đĩa gấp bốn tế bào được ủ với 10µg/mL kháng thể kháng MSR1 được pha loãng trong FBS 2% trong PBS, không có Canxi và Magie (Irving, Cat # 9240) (dung dịch đệm nhuộm màu) trong 30 phút ở nhiệt độ 4°C. Các tế bào được rửa hai lần bằng dung dịch đệm nhuộm màu được ủ với AB thứ cấp được liên hợp với Alexa-Flour 488 (Jackson Immunoresearch, Cat # 115-547-003 hoặc Jackson Immunoresearch, Cat # 109-547-003) ở nồng độ 10µg/mL trong 30 phút ở nhiệt độ 4°C, và sau đó được rửa hai lần nữa bằng dung dịch đệm nhuộm màu. Hai đĩa ngay lập tức được cố định và nhuộm bằng paraformaldehyt 4% (PFA; ThermoFisher, Cat #28908) + DRAQ5 5µM (ThermoFisher, Cat #62251) trong PBS trong 20 phút (đĩa không nhập bào). Hai đĩa còn lại được ủ ở nhiệt độ 37°C trong 1 giờ sau đó cố định và nhuộm màu trong 20 phút bằng cách sử dụng dung dịch chứa PFA 4% + DRAQ5 5µM được pha loãng trong PBS (đĩa

nhập bào). Sau khi cố định, tất cả các đĩa được rửa một lần bằng PBS. Một đĩa không nhập bào và một đĩa nhập bào được ủ với kháng thể kháng Alexa Fluor 488 (Regeneron) ở 50µg/mL trong PBS qua đêm ở nhiệt độ 4°C để làm nguội Alexa Fluor 488 florescence bề mặt. Các đĩa còn lại chỉ được ủ với PBS. Thu được các hình ảnh đồng tiêu trên Opera Phenix (Perkin Elmer) ở độ phóng đại 40X. Phần mềm phân tích Harmony (Perkin Elmer) được sử dụng để nhận biết tế bào được đánh dấu DRAQ5 và tổng số đơn vị huỳnh quang tương đối (RFU) Alexa-Flour 488 trong mỗi tế bào được xác định. Tổng mức gắn kết ở nhiệt độ 4°C (giá trị RFU trong các lỗ không được làm nguội 4°C), tổng mức gắn kết ở nhiệt độ 37°C (giá trị RFU trong các lỗ không được làm nguội 37°C), tổng số RFU được nhập bào, và % nhập bào được xác định đối với từng kháng thể như được thể hiện trong Bảng 19.

Đối với tất cả các phép tính, huỳnh quang nền từ lỗ không được nhuộm được trừ từ mọi lỗ. Tổng số RFU được nhập bào được tính như sau: Tổng RFU của các mẫu không được nhuộm 37°C - RFU bề mặt ở nhiệt độ 37°C. RFU bề mặt được xác định là RFU không được làm nguội ở nhiệt độ 37°C - RFU được làm nguội ở nhiệt độ 37°C)/QE. Hiệu suất làm nguội QE (quenching efficiency) được xác định là: 1-(RFU tổng của mẫu được làm nguội 4°C/RFU tổng của mẫu không được làm nguội 4°C). % nhập bào được xác định theo công thức sau: (RFU nhập bào tổng số ở nhiệt độ 37°C/RFU tổng ở nhiệt độ 37°C)*100.

Bảng 19: Sự nhập bào và sự gắn kết bề mặt của kháng thể kháng MSR1 trong các tế bào THP-1 được biệt hóa

Kháng thể	Tổng mức gắn kết ở nhiệt độ 4°C	Tổng mức gắn kết ở nhiệt độ 37°C	RFU được nhập bào tổng số	% nhập bào
H1H27729P-N297Q	1930685	6607625	3763127	57,0
H1H27731P-N297Q	1215319	1802404	977543	54,2
H1H27732P-N297Q	2513511	4924734	2414132	49,0
H1H27734P-N297Q	482859	1151348	737425	ND*

Kháng thể	Tổng mức gắn kết ở nhiệt độ 4°C	Tổng mức gắn kết ở nhiệt độ 37°C	RFU được nhập bào tổng số	% nhập bào
H1H27736P-N297Q	9514681	12267400	14468087	117,9**
H1H27739P-N297Q	3702857	5608380	4016378	71,6
H1H27747P-N297Q	2518361	5917858	3444330	58,2
H1H27749P-N297Q	4478384	12799899	5704834	44,6
H1H27751P-N297Q	5831744	7998767	6787876	84,9
H1H27754P-N297Q	3077308	7161570	6446236	90,0
H1H27756P-N297Q	6691792	11904608	9039171	75,9
H1H27759P-N297Q	4028970	2480463	1861578	75,0
H1H27760P-N297Q	1297337	6011876	3707164	61,7
H1H27761P-N297Q	1940392	2764577	1625899	58,8
H1H27762P-N297Q	2529645	3856573	3767717	97,7
H1H27766P-N297Q	1877240	3224247	2062539	64,0
H1H27771P-N297Q	6272656	7535203	6991358	92,8
H1H27773P-N297Q	490905	962752	-67811	ND*
H1H27778P-N297Q	9910952	16552831	12518725	75,6
H1H21227N-N297Q	1800012	4110990	3226161	78,5
H1H21234N-N297Q	1953248	5451125	722651	13,3
Đối chứng isotyp	185971	1087469	1704047	ND*

ND*: % nhập bào có thể không được xác định do sự gắn kết yếu và/hoặc không thể xác định hiệu suất làm nguội

**: giá trị % nhập bào >100% là do tổng các giá trị nhập bào cao hơn một chút so với tổng các giá trị ở nhiệt độ 37°C. Sự nhập bào 100% được xác nhận bằng mắt thường bởi sự xuất hiện của tất cả các huỳnh quang Alex488 vào cấu trúc bọng ở nhiệt độ 37°C.

Như được thể hiện trong Bảng 19, 19 trong số 21 kháng thể kháng MSR1 được thử nghiệm cho thấy mức nhập bào vào các tế bào THP-1 đã biệt hóa nằm trong khoảng nhập bào từ 13,3% đến 117,9%. Đối với hai trong số 21 kháng thể kháng MSR1, sự nhập

bào có thể không được xác định do liên kết yếu và/hoặc không thể xác định hiệu suất làm nguội. Dưới dạng đối chứng, đối chứng isotyp không cho thấy bất kỳ sự nhập bào đo được nào.

Ví dụ 32: Đánh giá khả năng phong bế của kháng thể kháng MSR1 đối với MSR1 người

Khả năng của kháng thể kháng MSR1 được bộc lộ ở đây trong việc phong bế sự gắn kết của các phối tử khác nhau đối với MSR1 người được đo bằng cách sử dụng ba thử nghiệm ELISA kẹp cạnh tranh. Các phối tử dùng trong thử nghiệm là: (1) LDL được axetyl hóa (Ac-LDL), (2) LDL được oxy hóa (Ox-LDL), và (3) các sản phẩm glycat hóa bền vững của albumin huyết thanh bò (AGE-BSA).

Đối với thử nghiệm này, protein MSR1 người dạng monome tái tổ hợp chứa một phần của miền ngoại bào MSR1 người được biểu hiện với đuôi 9-Histidin tận cùng N (SEQ ID NO: 688) (His9-hMSR1; R&D Systems, Cat# 2708-MS) được phủ ở nồng độ bằng 2μg/mL trong PBS trên đĩa vi chuẩn 96 lỗ qua đêm ở nhiệt độ 4°C để dùng trong thử nghiệm ELISA cạnh tranh với Ac-LDL, Ox-LDL, hoặc AGE-BSA được biotyl hóa ("biot-AGE-BSA"). Các điểm gắn kết không đặc hiệu sau đó được phong bế bằng cách sử dụng dung dịch 0,5% (trọng lượng/thể tích) chứa albumin huyết thanh bò (BSA) trong nước muối đệm phosphat (PBS). Kháng thể kháng MSR1 hoặc kháng thể đối chứng isotyp được pha loãng theo dãy thích hợp đối với từng phối tử được thử nghiệm và bổ sung hai lần đối với mỗi tập pha loãng theo dãy vào bộ vi chuẩn được phủ His9-hMSR1. Một mình dung dịch đệm cũng được bổ sung vào các lỗ mỗi lần phủ. Sau 1 giờ ủ ở nhiệt độ trong phòng, không rửa, nồng độ cuối cùng không đổi là 50pM Ac-LDL (Life Technologies/ThermoFisher Scientific, Cat # L-35354), 5nM hoặc 10nM Ox-LDL (Alfa Aesar, Cat # J65591), hoặc 400pM biot-AGE-BSA (R&D Systems, Cat # BT4127) được bổ sung vào các đĩa với His9-hMSR1, và các đĩa này được ủ trong 1 giờ nữa ở nhiệt độ trong phòng. (Nồng độ của Ac-LDL, Ox-LDL và biot-AGE-BSA đối với thử nghiệm ức chế kháng thể được chọn từ điểm Midway thích hợp trong phần tuyến tính của các đường cong gắn kết riêng rẽ của Ac-LDL, Ox-LDL hoặc biot-AGE-BSA với His9-hMSR1. được phủ trên đĩa). Các lỗ được rửa, và Ac-LDL hoặc Ox-LDL gắn kết trên đĩa được

phát hiện ra với kháng thể kháng LDL thỏ (Alfa Aesar, Cat # J64398) kết hợp với kháng thể đa dòng lừa đặc hiệu kháng IgG thỏ (H+L) được liên hợp với peroxidaza hồi hãi mã (HRP) (JacksonImmunoResearch, Cat #711-035-152) và biot-AGE-BSA được phát hiện ra với streptavidin-HRP (ThermoFisher Scientific, Cat # N200). Các đĩa được hiện ảnh bằng cách sử dụng dung dịch cơ chất TMB (BD Biosciences, Cat #51-2606KC & Cat #51-2607KC) theo khuyến cáo của nhà sản xuất và mức hấp thụ ở bước sóng 450nM được đo trên bộ đọc đĩa Victor™ Multilabel (PerkinElmer™). Thử nghiệm này được tiến hành trong bốn lần chạy thử nghiệm khác nhau.

Phân tích dữ liệu được thực hiện bằng cách sử dụng mô hình đáp ứng liều xích ma trong phần mềm Prism™ (GraphPad). Phần trăm phong bế ở nồng độ lớn nhất của kháng thể được thử nghiệm trong từng thử nghiệm được tính dưới dạng chỉ báo cho khả năng của kháng thể trong việc phong bế sự gắn kết của Ac-LDL, Ox-LDL hoặc biot-AGE-BSA với His9-hMSR1 trên đĩa so với đường cơ sở của thử nghiệm. Trong quá trình tính toán, tín hiệu gắn kết của các nồng độ giống nhau của Ac-LDL, Ox-LDL, hoặc biot-AGE-BSA dùng cho thử nghiệm này khi không có kháng thể được đề cập dưới dạng 100% gắn kết hoặc 0% phong bế, trong khi đường cơ sở của thử nghiệm, được xác định là tín hiệu gắn kết của mẫu dung dịch đệm không có phối tử MSR1 hoặc kháng thể, được đề cập là 0% gắn kết hoặc 100% phong bế. Phần trăm phong bế lớn nhất ở nồng độ kháng thể cao nhất được thử nghiệm trong từng thử nghiệm được báo cáo đối với tất cả các kháng thể. Số phần trăm phong bế âm phản ánh phối tử MSR1 gắn kết cao hơn với His9-hMSR1 phủ trên đĩa với sự có mặt của kháng thể. Các kết quả phong bế được tóm tắt trong Bảng 20.

Bảng 20: Khả năng phong bế của kháng thể kháng MSR1 trong thử nghiệm ELISA cạnh tranh

Kháng thể	Phong bế kháng thể kháng MSR1 của Ox-LDL gắn kết với His9-hMSR1			Phong bế kháng thể kháng MSR1 (100nM) của Ac-LDL gắn kết với His9-hMSR1	Phong bế kháng thể kháng MSR1 (300nM) của biot-AGE-BSA gắn kết với His9-hMSR1
	Nồng độ kháng thể kháng MSR1	Nồng độ Ox-LDL	% phong bế	% phong bế	% phong bế
Được phong bế >50% trong tất cả các hình thức thử nghiệm					
H2aM25700N	500nM	10nM	98	104	101
H1H21227N-N297Q	500nM	10nM	97	105	96
H1H21227N-N297D	500nM	10nM	99	101	97
H1H21227N	500nM	10nM	100	105	99
Được phong bế >50% trong một số hình thức thử nghiệm					
H2aM25695N	500nM	10nM	96	65	16
H1H27766P2-N297Q	1μM	10nM	54	52	27
H1H21234N-N297Q	500nM	10nM	49	75	-27
H1H21234N	500nM	10nM	98	70	21
Được phong bế <50% trong tất cả các hình thức thử nghiệm					
H2aM21228N	500nM	5nM	41	-32	-1
H2aM21229N	500nM	5nM	38	-11	3
H2aM21230N	500nM	5nM	45	-14	9
H2aM21232N	500nM	5nM	16	25	-50
H2aM21235N	500nM	5nM	-4	24	-24
H2aM25685N	500nM	10nM	28	-33	-86
H2aM25690N	500nM	10nM	8	-76	-96
H1H21231N-N297Q	500nM	10nM	26	-60	-50
H1H21231N	500nM	10nM	22	-62	-44
H1H27729P-N297Q	1μM	10nM	36	8	15
H1H27731P-N297Q	1μM	10nM	-1	-41	4

Kháng thể	Phong bế kháng thể kháng MSR1 của Ox-LDL gắn kết với His9-hMSR1			Phong bế kháng thể kháng MSR1 (100nM) của Ac-LDL gắn kết với His9-hMSR1	Phong bế kháng thể kháng MSR1 (300nM) của biot-AGE-BSA gắn kết với His9-hMSR1
	Nồng độ kháng thể kháng MSR1	Nồng độ Ox-LDL	% phong bế	% phong bế	% phong bế
H1H27732P-N297Q	1μM	10nM	-60	-61	-9
H1H27734P-N297Q	1μM	10nM	-15	-38	-4
H1H27736P-N297Q	1μM	10nM	3	-31	-3
H1H27739P-N297Q	1μM	10nM	-41	-47	-9
H1H27747P-N297Q	1μM	10nM	-31	-44	-2
H1H27749P-N297Q	1μM	10nM	-21	-51	-1
H1H27751P-N297Q	1μM	10nM	-31	-51	-11
H1H27754P-N297Q	1μM	10nM	-44	-42	-9
H1H27756P-N297Q	1μM	10nM	-45	-54	-8
H1H27759P2-N297Q	1μM	10nM	-62	-45	-19
H1H27760P2-N297Q	1μM	10nM	-47	-43	-4
H1H27761P2-N297Q	1μM	10nM	-21	-36	-4
H1H27762P2-N297Q	1μM	10nM	-65	-58	-16
H1H27771P2-N297Q	1μM	10nM	-23	-21	-1
H1H27773P2-N297Q	1μM	10nM	2	-11	1
H1H27778P2-N297Q	1μM	10nM	-59	-40	-8
Kháng thể đối chứng isotyp					
Đối chứng isotyp hIgG1	1μM	10nM	3	-8	4
Đối chứng isotyp mIgG1	1μM	10nM	16	-4	7

Bốn trong số 35 kháng thể kháng MSR1 được thử nghiệm được nhận biết là phong bế > 50% Ac-LDL, Ox-LDL, và biot-AGE-BSA gắn kết với hMSR1. Bốn kháng thể kháng MSR1 này phong bế hơn 95% của Ac-LDL 50pM, Ox-LDL 10nM và biot-AGE-

BSA 400pM gắn kết với His9-hMSR1.

Ở nồng độ lớn nhất của kháng thể được thử nghiệm, bốn trong số 35 kháng thể kháng MSR1 phong bế >50% Ac-LDL và/hoặc Ox-LDL gắn kết với hMSR1 nhưng không phong bế biot-AGE-BSA gắn kết với hMSR1. Ba trong số các kháng thể này phong bế cả Ac-LDL 50pM và Ox-LDL 10nM gắn kết với hMSR1 với mức phong bế từ 52% đến 98%. Một kháng thể (H1H21234N-N297Q) chỉ phong bế Ac-LDL 50pM gắn kết với hMSR1 với mức phong bế 75%.

Hai mươi bảy (27) trong số 35 kháng thể kháng MSR1 và kháng thể đối chứng isotyp không liên quan phong bế <50% Ac-LDL, Ox-LDL, và biot-AGE-BSA gắn kết với hMSR1.

Ba kháng thể kháng MSR1 (21227N, 21231N, 21234N) được sản xuất với cả phần Fcγ người ban đầu và phiên bản có đột biến một điểm N297Q. Kháng thể 21227N cũng được tạo ra dưới dạng phiên bản thứ ba với đột biến N297D. Các phiên bản được cải biến của kháng thể kháng MSR1 21227N (H1H21227N-N297Q và H1H21227N-N297D) và 21231N (H1H21231N-N297Q) giữ được các đặc tính ban đầu. Kháng thể H1H21227N-N297Q và H1H21227N-N297D phong bế >50% của Ac-LDL, Ox-LDL, và biot-AGE-BSA gắn kết với hMSR1, trong khi kháng thể H1H21231N-N297Q phong bế <50% của Ac-LDL, Ox-LDL, và biot-AGE-BSA gắn kết với hMSR1. Kháng thể kháng MSR1 được cải biến H1H21234N-N297Q chỉ phong bế 50pM Ac-LDL gắn kết với hMSR1 so với kháng thể H1H21234N không được cải biến, mà phong bế >50% đối với cả Ac-LDL và Ox-LDL gắn kết với hMSR1.

Ví dụ 33: thử nghiệm tiêu diệt thể liên hợp kháng thể-thuốc 1 (MSR1) *S. aureus* nội bào

Các chất phản ứng được sử dụng được thể hiện trong Bảng 21, dưới đây.

Bảng 21: Chất phản ứng dùng cho thử nghiệm nội bào

Chất phản ứng	Nhà cung cấp	Hạng mục #
RPMI	Gibco	11835-030

PBS	Gibco	20012-043
Triton X-100	Sigma	TX1568-1
RPMI	Gibco	11875-093
FBS	Gibco	10082-147
PMA	Sigma	P8139
Đĩa Costa 48 lỗ	Corning	3548
Đĩa TSA	Teknova	T0144
Pen/Strep	Gibco	15140-122
Đĩa pha loãng	Greiner Bio One	780271-FD
Gentamixin	BioWhittaker	17-519Z

Để thử nghiệm độ hiệu nghiệm của kháng sinh Ab kháng MSR1 ncADC theo sáng chế *in vitro*, thử nghiệm tiêu diệt *S. aureus* nội bào được sử dụng. Đối với thử nghiệm này, dòng tế bào bạch cầu đơn nhân THP-1 được cho phát triển trong môi trường chứa RPMI chứa FBS 10% và Penixilin/Streptomyxin 1%, sau đó được gieo ở mật độ là $1x10^5$ tế bào/lỗ trong đĩa 96 lỗ và được biệt hóa thành các đại thực bào trong ba ngày trước khi lây nhiễm bằng cách sử dụng Phorbol Myristat Axetat 200nM (PMA). Giống cấy qua đêm của chủng MRSA *S. aureus* NRS384 được cho phát triển trong RPMI, được rửa hai lần bằng PBS và sau đó được tạo huyền phù lại ở $1x10^7$ cfu/mL trong PBS. Các tế bào THP-1 được rửa bằng môi trường ấm (RPMI không có FBS) để loại bỏ Penixilin/Streptomyxin và sau đó được cho lây nhiễm với hỗn dịch *S. aureus* ở bội số lây nhiễm bằng 10:1 (*S. aureus*:đại thực bào). Các đĩa được xoay ở 300 xg trong 5 phút để đồng bộ sự kết dính của vi khuẩn, sau đó được ủ ở nhiệt độ 37°C trong 2 giờ. Vi khuẩn trôi nổi tự do được loại bỏ bằng cách rửa hai lần bằng môi trường ấm và *S. aureus* ngoại bào còn lại được tiêu diệt bằng cách bổ sung môi trường chứa 100µg/mL gentamixin. Sau 1 giờ, môi trường này được hút ra và Ab-kháng sinh kháng MSR1 ncADC (H1H21234N-N297Q-25 và H1H21234N-N297Q-80), là kháng thể kháng MSR1 theo sáng chế được liên hợp với hợp chất dẫn xuất tác nhân liên kết tải lượng maleimido 25 và 80 theo sáng chế thông qua các xystein liên chuỗi, ở các liều khác nhau (10µg/mL, 3,3µg/mL, 1,1µg/mL, 0,4µg/mL, 0,1µg/mL, và 0,04µg/mL) và đối chứng isotyp-kháng sinh ncADC (đối chứng isotyp-N297Q-25 và đối chứng isotyp-N297Q-

80) ở 10µg/mL được bổ sung vào các đại thực bào đã lây nhiễm trong môi trường chứa 50µg/mL gentamixin để ngăn chặn sự phát triển ngoại bào của *S. aureus*. Mẫu không có bất kỳ ncADC nào cũng được bao gồm để tham chiếu. Sau 24 giờ, các đĩa được rửa hai lần bằng RPMI ấm không có FBS, và sau đó 100µL Triton X-100 0,1% trong PBS được bổ sung vào và được ủ trong 10 phút để phân giải THP-1. *S. aureus* sống sót được đếm bằng các đơn vị tạo khuẩn lạc thông qua pha loãng theo dãy trong PBS và dàn lên trên đĩa agra đậu tương trypticaza.

Các DAR được tóm tắt trong Bảng 22, dưới đây.

Bảng 22: Tỷ lệ thuốc-kháng thể đối với thể liên hợp kháng thể-thuốc được sử dụng

Kháng thể	DAR
MSR1 ncADC H1H21234N-N297Q-25	3 (HIC)
Đối chứng isotyp-N297Q-25	2 (HIC)
MSR1 ncADC H1H21234N-N297Q-80	3 (HIC)
Đối chứng isotyp-N297Q-80	3 (HIC)

Các kết quả được tóm tắt trong Bảng 23, dưới đây.

Bảng 23: Các đơn vị tạo khuẩn lạc trung bình của Ab-kháng sinh kháng MSR1

	Liều ncADC (ug/mL)	Trung bình cfu/mL	Độ lệch tiêu chuẩn
Đối chứng *S. aureus*	không	1.350.000	139.194
Đối chứng isotyp-N297Q-25	10	608.333	52.042
MSR1 ncADC H1H21234N-N297Q-25	10	1.325	87
	3,3	4.917	722
	1,1	13.250	1887
	0,4	56.667	7.638
	0,1	82.500	17.500
	0,04	1.025.000	43.301
Đối chứng isotyp-N297Q-80	10	1.208.333	94.648
MSR1 ncADC H1H21234N-N297Q-80	10	50 (giới hạn phát hiện)	0
	3,3	50 (giới hạn phát hiện)	0

	1,1	50 (giới hạn phát hiện)	0
	0,4	7.417	2.876
	0,1	75.833	15.275
	0,04	758.333	230.940

Như được thể hiện trong Bảng 23, Ab-kháng sinh kháng MSR1 ncADC (H1H21234N-N297Q-25 và H1H21234N-N297Q-80) cho thấy khả năng trong việc làm giảm *S. aureus* nội bào từ các đại thực bào đã lây nhiễm *in vitro* theo cách phụ thuộc vào liều so với đối chứng không được điều trị. Các đại thực bào được xử lý bằng đối chứng isotyp-kháng sinh ncADC (đối chứng isotyp-N297Q-25 và đối chứng isotyp-N297Q-80) ở 10µg/mL *S. aureus* nội bào được mang ở mức tương tự với đối chứng không được điều trị. Dữ liệu này cho thấy rằng Ab-kháng sinh kháng MSR1 ncADC theo sáng chế có thể được sử dụng để tiêu diệt một cách hiệu quả các thể gây bệnh trú trong ổ chứa đại thực bào.

Ví dụ 34: Mô hình chuột nhắt nhiễm *S. aureus* lây qua tĩnh mạch IV

Để thử nghiệm độ hiệu nghiệm của Ab-kháng sinh kháng MSR1 ncADC theo sáng chế *in vivo*, mô hình nhiễm bệnh lây qua tĩnh mạch được sử dụng. Chủng MRSA của *S. aureus* NRS384 được phát triển qua đêm trong canh trường đậu tương trypic (TSB) và được nuôi cấy cấp hai đến pha mid-logarit. Sau đó vi khuẩn được rửa hai lần bằng PBS và được tạo huyền phù lại trong PBS ở nồng độ bằng 1,2x10^8 cfu/mL. Chuột nhắt biểu hiện theo hướng đồng hợp tử miền ngoại bào và miền xuyên màng MSR1 người thay cho miền xuyên màng và miền ngoại bào MSR1 chuột nhắt (MSR được biến đổi giống như của người, MAID 7343-MSR1 HumIn delHyg) sau đó được cho lây nhiễm trong tĩnh mạch thông qua tĩnh mạch đuôi với 100µL hỗn dịch vi khuẩn, trong liều lây nhiễm cuối cùng là 1,2x10^7 cfu/con chuột nhắt. Từ một đến ba ngày sau lây nhiễm, chuột nhắt được xử lý bằng 110mg/kg vancomyxin dưới da hai lần hằng ngày trong đó được chỉ định. Một trong số kháng thể đơn dòng kháng MSR1 (H1H21234N-N297Q), Ab-kháng sinh kháng MSR1 ncADC (H1H21234N-N297Q-25), mà là kháng thể kháng

MSR1 theo sáng chế được liên hợp với hợp chất dẫn xuất tác nhân liên kết tải lượng maleimido 25 theo sáng chế thông qua các xystein liên chuỗi, kháng thể đối chứng isotyp hoặc đối chứng isotyp ncADC được liên hợp với hợp chất dẫn xuất tác nhân liên kết tải lượng maleimido 25, được dùng dưới da ở liều được chỉ định, như được mô tả trong Bảng 24, một ngày sau lây nhiễm. Chuột nhắt được theo dõi về sự sụt cân và điểm số tình trạng cơ thể trong suốt quá trình lây nhiễm. Bốn ngày sau lây nhiễm, chuột nhắt được trợ tử và gánh nặng trên thận của *S. aureus* được định lượng bằng cách đồng nhất mô sau đó đếm số đơn vị tạo khuẩn lạc thông qua pha loãng theo dãy trong PBS và dàn lên trên đĩa thạch đậu tương trypicaza.

Bảng 24: Gánh nặng trung bình trên thận của *S. aureus* ở chuột nhắt được điều trị bằng Ab-kháng sinh kháng MSR1 ncADC kết hợp với vancomyxin

Điều trị	Điều trị bằng vancomyxin	mAb hoặc liều liên hợp (mg/kg)	Trung bình cfu/cặp thận	# chuột nhắt có *S. aureus* thấp hơn giới hạn phát hiện	Độ lệch tiêu chuẩn
Đối chứng bị lây nhiễm	-	(-)	4.33E+08	0/5	2.32E+08
Vancomyxin	+	(-)	2.07E+06	0/6	2.76E+06
Đối chứng isotyp 1mg/kg	+	1	2.44E+06	0/4	1.51E+06
đối chứng isotyp ncADC (đối chứng isotyp-25)	+	1	4.01E+05	1/5	6.49E+05
Ab kháng SR1(H1H21234N-N297Q)	+	1	1.55E+05	4/8	2.72E+05
Ab kháng MSR1(H1H21234N-N297Q)	+	0,1	2.43E+05	0/6	2.64E+05
Ab-kháng sinh kháng MSR1 ncADC (H1H21234N-	+	1	6.17E+03	7/9	1.69E+04

N297Q-25)					
Ab-kháng sinh kháng MSR1 ncADC (H1H21234N-N297Q-25)	+	0,1	1.16E+03	6/8	1.78E+03

Giới hạn phát hiện = 250 đơn vị tạo khuẩn lạc (cfu)

Như được thể hiện trong Bảng 24, ở trên, lây nhiễm trong tĩnh mạch chủng MRSA của *S. aureus* NRS384 tạo gánh nặng vi khuẩn cao cho thận, và việc điều trị cho chuột nhắt bằng kháng sinh điều trị tiêu chuẩn vancomyxin làm giảm gánh nặng trên thận của *S. aureus* đi xấp xỉ 2 log, nhưng không con chuột nhắt nào có mức *S. aureus* giảm thấp hơn giới hạn phát hiện (LOD). Ab-kháng sinh kháng MSR1 ncADC (H1H21234N-N297Q-25) ở các liều là 1 và 0,1mg/kg kết hợp với vancomyxin khiến 77% và 75% chuột nhắt có mức *S. aureus* thấp hơn LOD, cho thấy sự cải thiện rõ rệt về độ thanh thải *S. aureus* ở chuột nhắt được điều trị bằng liệu pháp kết hợp Ab-kháng sinh ncADC. Độ thanh thải *S. aureus* ít được thông báo ở chuột nhắt được điều trị bằng thể liên hợp đối chứng isotyp ncADC (đối chứng isotyp-N297Q-25) cộng thêm vancomyxin, cho thấy lợi ích của tải lượng hướng đích đến đại thực bào.

Ví dụ 35: Phương pháp liên hợp kháng thể được loại glycan với amino-tác nhân liên kết-tải lượng

Thể liên hợp vi khuẩn transglutaminaza của các hợp chất 80 và 82

Kháng thể kháng MSR1 H1H21234N chứa đột biến N297Q, mà loại bỏ sự glycosyl hóa liên kết N của Fc tại điểm này, được sử dụng. Đột biến này cho phép kháng thể được liên hợp với lượng nạp lớn nhất là 4 ở 295Q và 297Q của chuỗi nặng. Đối chứng kháng thể không hướng đích, chứa cùng đột biến N297Q, được sử dụng làm đối chứng isotyp không gắn kết.

Đối chứng được khử glycosyl hóa và kháng thể MSR1 được liên hợp ở 1mg/mL trong PBS độ pH = 7,4. Hợp chất 80 hoặc 82 được bổ sung ở lượng mol dư gấp từ 10 đến 40 lần so với kháng thể và phản ứng enzym hóa được bắt đầu bằng cách bổ sung 12

đơn vị transglutaminaza vi khuẩn (Zedira, T1001) trên mỗi mg kháng thể và được ủ ở nhiệt độ 37°C trong từ 4 đến 16 giờ. Các mẫu được tinh chế bằng SEC vào PBS. Thể liên hợp được phân tích bằng phương pháp ESI-MS để xác định tỷ lệ thuốc đối với kháng thể (DAR) và bằng phương pháp sắc ký tương tác kỵ nước (HIC). Các kết quả được liệt kê trong Bảng 25.

Bảng 25: Phần trăm hiệu suất và các tỷ lệ tải lượng đối với kháng thể đối với từng thể liên hợp kháng thể thuốc

Kháng thể	Độ tinh khiết (bằng SEC)	Hiệu suất (%)	DAR (HIC)	DAR (ESI-MS)
H1H21234N-82	>95%	50	3	3,6
Đối chứng kháng thể không hướng đích-82	>95%	50	3	3,5
H1H21234N-80	>95%	50	2	3,4
Đối chứng kháng thể không hướng đích-80	>95%	50	2	3,0

Đặc trưng hóa các thể liên hợp bằng phương pháp sắc ký tương tác kỵ nước (HIC)

Để xác định lượng nạp của tác nhân liên kết-tải lượng trên kháng thể, thể liên hợp được cho chạy trên Agilent 1260 bằng cách sử dụng cột TSK-NPR Butyl HIC bằng cách sử dụng gradien tuyến tính của kali phosphat 1M ở độ pH = 8,5 trong nước trong 60 phút. Lượng nạp tải lượng được xác định bằng cách tích phân các diện tích đỉnh tương ứng với loại kháng thể được liên hợp và kháng thể không được liên hợp.

Đặc trưng hóa các thể liên hợp bằng phương pháp ESI-MS

Có được sự tách sắc ký trên cột C4 (0,3 X 50mm ACQUITY UPLC BEH protein C4, 1,7um, 300A) trong gradien 10 phút (phút:phần trăm của pha động B; 0:5%, 2:50%, 2,1:26%, 6,5:40%, 6,6:90%, 8,5:90%, 8,6:5%, 10:5%, 10,5:90%, 12,5:90%, 12,9:5%, 15:5%). Pha động A là axit formic 0,1% trong nước và pha động B là axit formic 0,1% trong axetonitril. Tốc độ dòng chảy được thiết lập là 8µL/phút. Bộ dò TOF quét được

thiết lập từ m/z 500-4500 với các tham số chính như được liệt kê (Điện áp mao dẫn 3,0kV; Nón lấy mẫu 80V; độ lệch nguồn ở 100V; nhiệt độ nguồn 150°C; nhiệt độ khử solvat hóa 400°C; khí nón 0 L/giờ; khí khử solvat hóa 600 L/giờ). Phổ được giải chập với hàm MaxEnt trong phần mềm MassLynx.

Tính tỷ lệ thuốc đối với kháng thể (DAR) trung bình dựa trên cường độ đỉnh phổ khối được giải chập bằng cách sử dụng đẳng thức sau, trong đó PI=cường độ đỉnh và D= DAR riêng lẻ.

$$DAR = \frac{\sum(PI_o + PI_1 * D_1 + PI_2 * D_2 + PI_n * D_n)}{\sum(PI_o + PI_1 + PI_2 + PI_n)}$$

Ví dụ 36: Giải phong bế xystein được xử lý kỹ thuật bằng kháng thể

Kháng Protein A (H1xH15140P*/*) và kháng thể được xử lý kỹ thuật bằng đối chứng kháng thể không hướng đích được tạo ra bằng cách gây đột biến disulfua liên chuỗi tạo chuỗi nặng C103S. Kháng thể được biểu hiện trong các tế bào CHO và cần được giải phong bế trên xystein chuỗi nhẹ tự nhiên bằng cách sử dụng phương pháp khử nhẹ trong PBS ở nhiệt độ trong phòng bằng cách bổ sung một lượng mol dư gấp ba mươi lần của chất khử, TCEP sau đó đến trao đổi đệm. Để cải tổ hai liên kết disulfua liên chuỗi nặng, kháng thể được ủ trong ba giờ ở nhiệt độ trong phòng với $CuSO_4$ hoặc với dhAA ở lượng mol dư gấp từ hai đến hai mươi lần. Kháng thể được khử và được oxy hóa được trao đổi đệm vào PBS để loại bỏ chất oxy hóa. Quy trình này tạo ra hai thiol tự do nằm trên chuỗi nhẹ và sẵn có để liên hợp maleimit.

Kháng thể được xử lý kỹ thuật kháng WTA được lấy từ tài liệu tham khảo (Lehar *et al*, *Nature* 2015 527, 323–328; kháng thể 4497 được mô tả trong các tài liệu US20140356375 và WO2016090038, nội dung của các tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ) và có đột biến chuỗi nhẹ V205C để thu được 2 điểm liên hợp maleimit. Quy trình giống như trên được sử dụng để giải phong bế xystein được xử lý kỹ thuật.

Liên hợp xystein được giải phong bế và xử lý kỹ thuật bằng kháng thể với tác nhân liên

kết tải lượng

Đối với kháng thể được khử và được oxy hóa (1-10mg/ml) trong PBS độ pH = 7,5, tác nhân liên kết tải lượng maleimido (2 đương lượng/nhóm SH, Lehar et al, *Nature* 527, 323–328), hoặc tác nhân liên kết tải lượng của lần nạp này, trong DMSO (10mg/ml) được bổ sung vào. Phản ứng diễn ra trong 2 giờ. Thể liên hợp được tinh chế thành PBS bằng phương pháp sắc ký loại trừ kích thước và được lọc vô trùng. Các nồng độ protein và các tỷ lệ tải lượng đối với kháng thể được xác định bằng phân tích phổ UV. Phương pháp HPLC loại trừ kích thước thiết lập rằng tất cả các thể liên hợp được sử dụng đều >95% monome, và RP-HPLC thiết lập rằng có <1% tác nhân liên kết tải lượng không được liên hợp. Tất cả các kháng thể được liên hợp được phân tích bằng HIC về giá trị nạp tải lượng tác nhân liên kết. Các tỷ lệ tải lượng đối với kháng thể được báo cáo trong Bảng 26.

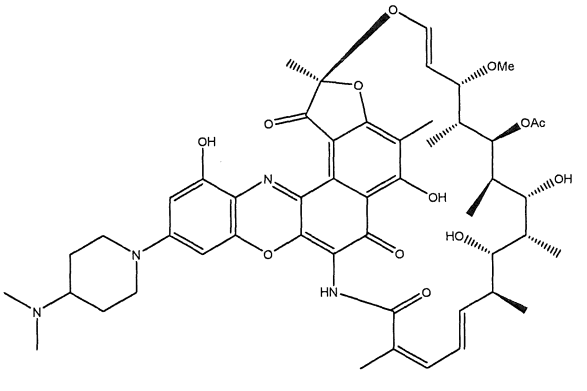
Phương pháp liên hợp cho kháng thể được loại glycan (H1H21234N và đối chứng kháng thể không hướng đích)

Kháng thể (1-10mg/ml) trong HEPES 50mM, NaCl 150mM, độ pH = 7,5, được xử lý bằng dithiothreitol 1mM ở nhiệt độ 37°C trong 30 phút. Sau khi lọc gel (G-25, độ pH = 4,5 natri axetat), hợp chất dẫn xuất tác nhân liên kết tải lượng maleimido 25 (1,2 đương lượng/nhóm SH) trong DMSO (10mg/ml) được bổ sung vào kháng thể đã được khử và hỗn hợp được điều chỉnh đến độ pH = 7,0 bằng HEPES 1M (độ pH = 7,4). Thể liên hợp được tinh chế bằng cách sử dụng PBS với glyxerol 5% bằng phương pháp sắc ký loại trừ kích thước và được lọc vô trùng. Các nồng độ protein và các tỷ lệ tải lượng đối với kháng thể được xác định bằng phân tích phổ UV. Phương pháp HPLC loại trừ kích thước thiết lập rằng tất cả các thể liên hợp được sử dụng đều >95% monome. Tất cả các kháng thể được liên hợp được phân tích bằng HIC về giá trị nạp tải lượng tác nhân liên kết. Các tỷ lệ tải lượng đối với kháng thể được báo cáo trong Bảng 26.

Bảng 26. Độ tinh khiết và tỷ lệ thuốc đối với kháng thể (DAR) trong các thể liên hợp

Thể liên hợp kháng thể thuốc	DAR (bằng HIC)	DAR (bằng ESI-MS)	Độ tinh khiết (bằng SEC)	Hiệu suất (%)
Kháng WTA-rifalog	1,8	1,8	>95%	53%
Kháng WTA-21 (đối chứng rifampixin)	2,0	1,5	>95%	70%
Kháng WTA-hợp chất 25	1,7	1,6	>95%	50%
Kháng WTA -hợp chất 36	1,8	1,4	>95%	40%
Kháng Protein A-rifalog	1,9	Không khả dụng	>95%	30%
Kháng Protein A-hợp chất 36	1,1	1,1	>95%	40%
H1H21234N-hợp chất 25	3	3,2	>95%	50%
Đối chứng kháng thể không hướng đích 1-rifalog	1,7	1,6	>95%	60%
Đối chứng kháng thể không hướng đích 1-rifampixin	2,0	1,7	>95%	70%
Đối chứng kháng thể không hướng đích 1- 25	1,3	0,6	>95%	50%
Đối chứng kháng thể không hướng đích 1- 36	1,2	0,7	>95%	40%
Đối chứng kháng thể không hướng đích 2- 25	2	2,0	>95%	50%

Rifalog (Lehar *et al*, *Nature* 2015 527, 323–328; WO2016090038):



Đặc trưng hóa các thể liên hợp bằng phương pháp sắc ký tương tác kỵ nước (HIC)

Để xác định lượng nạp của tác nhân liên kết-tải lượng trên kháng thể, thể liên hợp

được cho chạy trên Agilent 1260 bằng cách sử dụng cột TSK-NPR Butyl HIC bằng cách sử dụng gradien tuyến tính của kali phosphat 1M độ pH = 8,5 với nước trong 60 phút. Lượng nạp tải lượng được xác định bằng cách tích phân các diện tích đỉnh tương ứng với loại kháng thể được liên hợp và kháng thể không được liên hợp.

Đặc trưng hóa các thể liên hợp bằng phương pháp ESI-MS

Để xác định lượng nạp của tác nhân liên kết-tải lượng trên kháng thể (thể liên hợp xystein), thể liên hợp này được khử glycosyl hóa, khử, và phân tích bằng phương pháp LC-MS.

Đối với thử nghiệm này, 50µg thể liên hợp được pha loãng với nước mili-Q đến nồng độ cuối cùng là 1mg/mL. Mười µL dung dịch PNGase F [Dung dịch PNGase F được điều chế bằng cách bổ sung 150µL dung dịch gốc PNGase F (New England Biolabs, Cat#P0704L) và 850µL nước mili-Q và được trộn kỹ] được bổ sung vào dung dịch liên hợp đã pha loãng và sau đó được ủ ở nhiệt độ 37°C qua đêm. 2,4µL TCEP 0,5M được bổ sung vào mẫu sao cho nguyên liệu thu được có nồng độ TCEP cuối cùng là 20mM và sau đó hỗn hợp này được ủ ở nhiệt độ 50°C trong 30 phút. 10µL mỗi mẫu được tiêm lên trên LC-MS (Waters Synat G2-Si) và được rửa giải với tốc độ 0,1mL/phút có gradien pha động 20-40% của pha động B trong 25 phút (Pha động A: FA 0,1% thể tích/thể tích trong H_2O; Pha động B: FA 0,1% thể tích/thể tích trong Axetonitril). Đạt được sự tách LC trên cột Waters Acquity BEH C18 (1,0 X 50mM, 1,7µM).

Phổ đo phổ khối được giải chập và các đỉnh chuỗi nhẹ và chuỗi nặng đã định danh dùng để chỉ chuỗi nhẹ (L) với giá trị tác nhân liên kết-tải lượng = 0 và 1, chuỗi nặng (H) với giá trị tác nhân liên kết-tải lượng = 0, 1, 2, và 3. Từ giá trị cường độ của từng loài, tỷ lệ thuốc đối với kháng thể (DAR) được tính bằng cách sử dụng đẳng thức dưới đây cho thể liên hợp kháng thể homo-dime.

$$DAR = 2^* \left[\frac{L1}{L0 + L1} + \frac{H1 + 2^*H2 + 3^*H3}{H0 + H1 + H2 + H3} \right]$$

Ví dụ 37: thử nghiệm nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) 2 của canh trường

Để thử nghiệm hoạt lực của chất tương tự rifamyxin theo sáng chế *in vitro*, thử nghiệm ức chế sự phát triển của canh trường được phát triển. Đối với thử nghiệm này, *S. aureus* NRS384 được cho phát triển trong canh trường đậu nành tryptic (TSB) qua đêm, sau đó được nuôi cấy cấp hai 1:50 trong TSB mới và được cho phát triển trong hai giờ nữa. Sau đó môi trường nuôi cấy được kết viên bằng cách ly tâm và được rửa hai lần trong PBS. Sau đó môi trường nuôi cấy được pha loãng đến $1x10^6$ cfu/mL trong TSB và 100µL hỗn dịch được bổ sung mỗi lỗ vào đĩa pha loãng 2mL ba lần. Dãy pha loãng của kháng sinh được chỉ định (chất tương tự theo sáng chế hoặc chất tương tự rifampixin đã biết từ trước) được bổ sung tỷ lệ 1:1 đối với nồng độ bắt đầu cuối cùng là $1x10^{-5}$ M, sau đó pha loãng tỷ lệ 1:10 đối với nồng độ $1x10^{-6}$ M sau đó pha loãng tỷ lệ 1:4 để bao gồm $2,5x10^{-7}$ M, $6,25x10^{-8}$ M, $1,56x10^{-8}$ M, $3,91x10^{-9}$ M, $9,77x10^{-10}$ M, $2,44x10^{-10}$ M, $6,1x10^{-11}$ M, $1,53x10^{-11}$ M, và $3,81x10^{-12}$ M đối với tổng cộng 11 điểm. Các đĩa được bịt kín và được ủ ở nhiệt độ 37°C kèm lắc trong 24 giờ, sau đó 150µL mỗi mẫu được bổ sung vào bộ vi chuẩn 96 lỗ và OD 600nM được đọc trên Spectramax i3 Minimax 300.

Các chất phản ứng được sử dụng được thể hiện trong Bảng 27, dưới đây.

Bảng 27: Chất phản ứng dùng cho thử nghiệm MIC

Chất phản ứng	Nhà cung cấp	Hạng mục #
PBS	Gibco	20012-043
S. aureus NRS384	BEI resources	NR-46070
Canh trường đậu nành tryptic (TSB)	Teknova	T1525
Đĩa pha loãng	Greiner Bio One	780261
Bình thót cổ 250mL	Thermo Scientific	4116-0250
ống phản ứng sinh học 50mL	TPP	87050
Thạch đậu tương tryptic (TSA)	Teknova	T0144
DMSO	VWR	WN182
Bình chứa chất phản ứng	VWR	89094-658
Đĩa Costa 96 lỗ	Corning	3904

Nồng độ thấp nhất ức chế được sự phát triển của *S. aureus* (nồng độ ức chế tối thiểu, MIC) được liệt kê trong Bảng 28. Như được thể hiện trong Bảng 28, tất cả các

chất tương tự rifamyxin theo sáng chế đều hiệu quả trong việc ức chế sự phát triển của *S. aureus* ở nồng độ từ dưới micromol đến nanomol. Các thử nghiệm MIC canh trường được đánh giá trong ít nhất hai thử nghiệm độc lập và giá trị trung bình được bắt dưới đây trừ khi có quy định khác.

Bảng 28: Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của kháng sinh trong thử nghiệm ức chế sự phát triển của canh trường

Kháng sinh được thử nghiệm	MIC canh trường *S. aureus* (M)
Rifampixin	3.91E-09
Rifalog	9.77E-10
P1	6.25E-08
P2	6.25E-08
P3	1.56E-08
16f	1.56E-08
16g	1.56E-08
16h	1.56E-08
16i	1.56E-08
16j	6.25E-08
16k	9.77E-10
16l	3.91E-09
16m	3.91E-09
16n	1.56E-08
16o	3.91E-09
16p	1.56E-08
16q	3.91E-09
16r	1.56E-08
16s	6.25E-08
16t	6.25E-08
16u	1.00E-06
16v	6.25E-08
16w	6.25E-08
16x	9.77E-10
16y	1.56E-08
16z	3.91E-09
16z-1	3.91E-09

17	1.56E-08
29	3.91E-09
29a	3.91E-09
29b	3.91E-09
29c	3.91E-09
29d	3.91E-09
29e	1.56E-08
29f	1.56E-08
29g	3.91E-09
29h	6.25E-08
29i	2.44E-09
29j	9.77E-10
29k	6.25E-08
35	2.50E-07
38	6.25E-08
43	3.91E-09
45	3.91E-09
48	1.56E-08
50	1.56E-08
52	6.25E-08
55	1.56E-08
55a	6.25E-08
60	3.91E-09
68	1.56E-08
71	1.56E-08
72	6.25E-08
75	2.90E-07

Ví dụ 38: Thử nghiệm tiêu diệt nội bào 2

Hoạt tính của hợp chất tương tự rifamyxin kháng *S. aureus* được thử nghiệm trong thử nghiệm "tiêu diệt" nội bào.

Các chất phản ứng được sử dụng được thể hiện trong Bảng 29, dưới đây.

Bảng 29: Chất phản ứng dùng cho thử nghiệm nội bào

Chất phản ứng	Nhà cung cấp	Hạng mục #
RPMI	Gibco	11835-030
PBS	Gibco	20012-043
Triton X-100	Sigma	TX1568-1
RPMI	Gibco	11875-093
FBS	Gibco	10082-147
PMA	Sigma	P8139
Đĩa Costa 96 lỗ	Corning	3904
Đĩa TSA	Teknova	T0144
Pen/Strep	Gibco	15140-122
Đĩa pha loãng	Greiner Bio One	780271-FD
DMSO	VWR	WN182
Rifampixin	Sigma	R3501
Gentamixin	BioWhittaker	17-519Z

Dòng tế bào bạch cầu đơn nhân THP-1 được cho phát triển trong môi trường (RMPI + FBS 10% + Penixilin/Streptomyxin 1%), sau đó gieo ở mật độ bằng $1e^5$ tế bào/lỗ trong đĩa 96 lỗ và được biệt hóa thành các đại thực bào trong ba ngày trước khi lây nhiễm bằng cách sử dụng PMA 200nM. Giống cấy qua đêm của *S. aureus* NRS384 được cho phát triển trong RPMI, được rửa hai lần bằng PBS và được tạo huyền phù lại ở $1e^7$ cfu/mL trong PBS. THP-1 được rửa bằng môi trường ấm (RMPI không có FBS) để loại bỏ Penixilin/Streptomyxin và sau đó được cho lây nhiễm hỗn dịch *S. aureus* ở bội số lây nhiễm bằng 10:1 (*S. aureus*:đại thực bào). Các đĩa được xoay ở 300 xg trong 5 phút để đồng bộ sự kết dính của vi khuẩn, sau đó được ủ ở nhiệt độ 37°C trong 2 giờ. Vi khuẩn trôi nổi tự do được loại bỏ bằng cách rửa hai lần bằng môi trường ấm và *S. aureus* ngoại bào còn lại được tiêu diệt bằng cách bổ sung môi trường chứa gentamixin (50ug/mL). Sau 1 giờ, môi trường này được hút ra và hợp chất được chỉ định được bổ sung vào các đại thực bào đã lây nhiễm trong dãy pha loãng bắt đầu ở $1e^{-6}$ M, với các pha loãng tỷ lệ 1:5 trong 6 điểm ($1,0x10^{-6}$ M, $2,0x10^{-7}$ M, $4,0x10^{-8}$ M, $8,0x10^{-9}$ M, $1,6x10^{-9}$ M, và $3,2x10^{-10}$ M). Hợp chất được bổ sung trong môi trường chứa 50µg/mL

gentamixin để ngăn chặn sự phát triển ngoại bào của *S. aureus*. Sau 2 giờ, các đĩa được rửa hai lần bằng RPMI ấm không có FBS, và 100ul dung dịch đệm phân giải THP-1 (Triton 0,1% trong PBS) được bổ sung vào mỗi lỗ. *S. aureus* còn sống được đếm bằng các đơn vị tạo khuẩn lạc thông qua pha loãng theo dãy và dàn lên trên TSA.

Kết quả của thử nghiệm tiêu diệt nội bào được thể hiện trong Bảng 30. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) tương ứng với nồng độ thấp nhất của từng hợp chất mà dẫn đến *S. aureus* nội bào thấp hơn giới hạn phát hiện (50 cfu/mL). Giá trị MIC nội bào được chỉ định dùng để chỉ giá trị trung bình của ít nhất hai thử nghiệm độc lập, trừ khi có quy định khác.

Bảng 30: Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của kháng sinh theo sáng chế trong thử nghiệm tiêu diệt nội bào bằng cách sử dụng tế bào THP

Kháng sinh được thử nghiệm	MIC tiêu diệt nội bào *S. aureus* (M)
Rifampixin	1.0E-06
P1	2.0E-07
P2	>1.0E-06
16f	1.0E-06
16g	2.0E-07
16h	1.0E-06
16i	1.0E-06
16j	1.0E-06
16k	1.0E-06
16l	1.0E-06
16m	1.0E-06
16n	1.0E-06
16o	2.0E-07
16p	1.0E-06
16q	1.0E-06
16r	1.0E-06
16s	1.0E-06
16t	1.0E-06
16u	1.0E-06
16v	1.0E-06
16w	>1.0E-06

16x	>1.0E-06
16y	>1.0E-06
16z	>1.0E-06
16z-1	1.0E-06
17	2.0E-07
29	4.0E-08
29a	4.0E-08
29b	4.0E-08
29c	4.0E-08
29d	4.0E-08
29e	4.0E-08
29f	2.0E-07
29g	2.0E-07
29h	1.0E-06
29i	2.0E-07
29j	4.0E-08
29k	>1.0E-06
35	> 1.0E-06
38	1.0E-06
43	4.0E-08
45	1.0E-06
48	1.0E-06
50	1.0E-06
52	1.0E-06
55	2.0E-07
55a	>1.0E-06
60	2.0E-07
68	2.0E-07
71	>1.0E-06
72	>1.0E-06
75	>1.0E-06

Như Bảng 30 thể hiện, MIC tiêu diệt nội bào cho chất tương tự rifamyxin theo sáng chế (và rifampixin) nằm trong khoảng từ $>1e^{-6}$ M đến $4e^{-8}$ M, với 8 chất tương tự rifamyxin mới có hoạt tính tiêu diệt nội bào hoạt lực.

Ví dụ 39: Thử nghiệm tiêu diệt nội bào *S. aureus* 2 của thể liên hợp kháng thể-thuốc

(kháng WTA và kháng Protein A)

Chất phản ứng được sử dụng được thể hiện trong Bảng 31, dưới đây.

Bảng 31: Chất phản ứng dùng cho thử nghiệm nội bào

Chất phản ứng	Nhà cung cấp	Hạng mục #
RPMI	Gibco	11835-030
PBS	Gibco	20012-043
Triton X-100	Sigma	TX1568-1
RPMI	Gibco	11875-093
FBS	Gibco	10082-147
PMA	Sigma	P8139
Đĩa Costa 48 lỗ	Corning	3548
Đĩa TSA	Teknova	T0144
Pen/Strep	Gibco	15140-122
Đĩa pha loãng	Greiner Bio One	780271-FD
Gentamixin	BioWhittaker	17-519Z

Hợp chất tương tự rifamyxin theo sáng chế được liên hợp với kháng thể kháng WTA (mAb Kháng WTA, hIgG1), kháng thể kháng protein A (mAb kháng Protein A, hIgG1** C103S), hoặc kháng thể đối chứng (đối chứng isotyp không đối chứng, hIgG1**).

Để thử nghiệm độ hiệu nghiệm của thể liên hợp kháng thể-thuốc (ADC) kháng *Staphylococcus aureus* theo sáng chế *in vitro*, thử nghiệm tiêu diệt nội bào *S. aureus* được phát triển. Đối với thử nghiệm này, dòng tế bào bạch cầu đơn nhân THP-1 được cho phát triển trong môi trường (RMPI + FBS 10% + Penixilin/Streptomyxin 1%), sau đó gieo ở mật độ bằng $1e^5$ tế bào/lỗ trong đĩa 48 lỗ và được biệt hóa thành đại thực bào trong ba ngày trước khi lây nhiễm bằng cách sử dụng PMA 200nM. Giống cấy qua đêm của *S. aureus* NRS384 được cho phát triển trong RPMI, được rửa hai lần bằng PBS và được tạo huyền phù lại ở $1e^7$ cfu/mL trong PBS. Hỗn dịch *S. aureus* được ủ sơ bộ với ADC kháng *S. aureus* được chỉ định trong dãy pha loãng bắt đầu ở 10ug/mL, với pha loãng tỷ lệ 1:3 đối với 6 điểm (nồng độ cuối cùng là 10, 3,3, 1,1, 0,37, 0,12, và

0,041µg/mL) và ADC đối chứng isotyp được thử nghiệm chỉ ở nồng độ cao nhất. THP-1 được rửa bằng môi trường ấm (RMPI không có FBS) để loại bỏ Penixilin/Streptomyxin và sau đó được cho lây nhiễm hỗn dịch *S. aureus* được ủ sơ bộ và ADC, kháng thể trần hoặc không mAb ở bội số lây nhiễm bằng 10:1 (*S. aureus*:đại thực bào). Các đĩa được xoay ở 300 xg trong 5 phút để đồng bộ sự kết dính của vi khuẩn, sau đó được ủ ở nhiệt độ 37°C trong 2 giờ. Vi khuẩn trôi nổi tự do được loại bỏ bằng cách rửa hai lần bằng môi trường ấm và *S. aureus* ngoại bào còn lại được tiêu diệt bằng cách bổ sung môi trường chứa gentamixin (50µg/mL). Sau 24 giờ, môi trường này được hút ra và các lỗ được rửa 2x với RPMI ấm không có FBS, và 100µl dung dịch đệm phân giải THP-1 (Triton 0,1% trong PBS) và 150µl PBS được bổ sung vào mỗi lỗ. *S. aureus* còn sống được đếm bằng các đơn vị tạo khuẩn lạc thông qua pha loãng theo dãy và dàn lên trên TSA.

Kết quả của thử nghiệm tiêu diệt nội bào được thể hiện trên Fig.5 và Bảng 32, với giới hạn phát hiện là 50cfu/mL.

Bảng 32: Các đơn vị tạo khuẩn lạc của ADC kháng *Staphylococcus aureus* theo sáng chế trong thử nghiệm tiêu diệt nội bào bằng cách sử dụng tế bào THP

	Liều ncADC hoặc mAb (ug/mL)	Trung bình cfu/mL	Độ lệch tiêu chuẩn	Số lần giảm so với đối chứng *S. aureus*
Đối chứng *S. aureus*	không	1.025.000	212.132	1
Đối chứng isotyp không hướng đích	10	600.000	141.421	2
mAb kháng Protein A	10	500.000	70.711	2
mAb Kháng WTA	10	750.000	70.711	1
Đối chứng isotyp không hướng đích-21	10	1.175.000	70.711	1
Đối chứng isotyp không hướng đích-25	10	73.750	8.839	14
Đối chứng isotyp không hướng đích-Rifalog	10	128.750	22.981	8
Đối chứng isotyp không hướng đích-36	10	70.000	0	15
mAb-21kháng WTA	10	65.833	46.256	16
	3,3	109.167	3.819	9

	1,1	138.333	26.732	7
	0,4	350.000	108.972	3
	0,1	800.000	108.972	1
	0,04	1.175.000	139.194	1
mAb-25 kháng WTA	10	1.067	113	961
	3,3	11.250	2.883	91
	1,1	38.333	16.073	27
	0,4	61.667	28.976	17
	0,1	533.333	152.753	2
	0,04	883.333	289.756	1
mAb-Rifalog kháng WTA	10	50	0	20.500
	3,3	808	138	1.268
	1,1	10.250	4.265	100
	0,4	78.333	40.646	13
	0,1	110.833	39.713	9
	0,04	466.667	125.831	2
mAb-36 kháng Protein A	10	350	87	2.929
	3,3	5.917	1.258	173
	1,1	71.667	8.780	14
	0,4	100.000	22.220	10
	0,1	341.667	166.458	3
	0,04	883.333	128.290	1
mAb-36 kháng WTA	10	50	0	20.500
	3,3	50	0	20.500
	1,1	10.250	1.521	100
	0,4	82.500	32.692	12
	0,1	156.667	97.511	7
	0,04	883.333	189.297	1

ADC đối chứng (thể liên hợp đối chứng isotyp không hướng đích), mà là isotyp IgG1 người và do đó có thể gắn kết với Protein A trên *S. aureus*, khả năng sống *S. aureus* nội bào giảm đi ~1 log hoặc thấp hơn so với đối chứng không được điều trị. mAb-21 kháng WTA, mà giải phóng rifampixin tải lượng, gánh nặng vi khuẩn giảm tương tự với ADC đối chứng. ADC kháng *S. aureus* phân phối tải lượng với hoạt tính tiêu diệt nội bào hoạt lực (mAb-25 kháng WTA, mAb-36 kháng Protein A, mAb-Rifalog kháng WTA, và mAb-36 kháng WTA), hữu hiệu hơn so với thể liên hợp rifampixin (MAb-21

kháng WTA) trong việc làm giảm *S. aureus* nội bào, với lượng giảm 3 log hoặc lớn hơn so với đối chứng không được điều trị. mAb-36 kháng WTA làm giảm một cách nhất quán khả năng sống *S. aureus* hơn so với mAb-Rifalog kháng WTA trong nhiều thử nghiệm.

Ví dụ 40: Thử nghiệm tiêu diệt *S. aureus* nội bào của thể liên hợp kháng thể-thuốc 3 (MSR1)

Chất phản ứng được sử dụng được thể hiện trong Bảng 33, dưới đây.

Bảng 33: Chất phản ứng dùng cho thử nghiệm nội bào

Chất phản ứng	Nhà cung cấp	Hạng mục #
RPMI	Gibco	11835-030
PBS	Gibco	20012-043
Triton X-100	Sigma	TX1568-1
RPMI	Gibco	11875-093
FBS	Gibco	10082-147
PMA	Sigma	P8139
Đĩa Costa 48 lỗ	Corning	3548
Đĩa TSA	Teknova	T0144
Pen/Strep	Gibco	15140-122
Đĩa pha loãng	Greiner Bio One	780271-FD
Gentamixin	BioWhittaker	17-519Z

Để thử nghiệm độ hiệu nghiệm của Ab-kháng sinh kháng MSR1 ncADC theo sáng chế *in vitro*, thử nghiệm tiêu diệt *S. aureus* nội bào được sử dụng. Đối với thử nghiệm này, dòng tế bào bạch cầu đơn nhân THP-1 được cho phát triển trong môi trường chứa RPMI chứa FBS 10% và Penixilin/Streptomyxin 1%, sau đó gieo ở mật độ bằng $1x10^5$ tế bào/lỗ trong đĩa 48 lỗ và được biệt hóa thành đại thực bào trong ba ngày trước khi lây nhiễm bằng cách sử dụng Phorbol Myristat Axetat 200nM (PMA). Giống cấy qua đêm của Chủng MRSA của *S. aureus* NRS384 được cho phát triển trong RPMI, được rửa hai lần bằng PBS và sau đó được tạo huyền phù lại ở $1x10^7$ cfu/mL trong PBS. Các tế bào THP-1 được rửa bằng môi trường ấm (RPMI không có FBS) để loại bỏ

Penixilin/Streptomyxin và sau đó được cho lây nhiễm hỗn dịch *S. aureus* ở bội số lây nhiễm bằng 10:1 (*S. aureus*:đại thực bào). Các đĩa được xoay ở 300 xg trong 5 phút để đồng bộ sự kết dính của vi khuẩn, sau đó được ủ ở nhiệt độ 37°C trong 2 giờ. Vi khuẩn trôi nổi tự do được loại bỏ bằng cách rửa hai lần với môi trường ấm và *S. aureus* ngoại bào còn lại được tiêu diệt bằng cách bổ sung môi trường chứa 50µg/mL gentamixin. Sau 1 giờ, môi trường này được hút ra và Ab-kháng sinh kháng MSR1 ncADC (H1H21234N-N297Q-25 và H1H21234N-N297Q-80) ở các liều khác nhau (10µg/mL, 3,3µg/mL, 1,1µg/mL, 0,4µg/mL, 0,1µg/mL và 0,04µg/mL) và đối chứng isotyp- kháng sinh ncADC (đối chứng isotyp-N297Q-25 và đối chứng isotyp-N297Q-80) ở nồng độ 10µg/mL được bổ sung vào các đại thực bào đã lây nhiễm trong môi trường chứa 50µg/mL gentamixin để ngăn chặn sự phát triển ngoại bào của *S. aureus*. Mẫu không có bất kỳ ncADC nào cũng bao gồm để đối chiếu. Sau 24 giờ, các đĩa được rửa hai lần bằng RPMI ấm không có FBS và sau đó 100µL Triton X-100 0,1% trong PBS được bổ sung vào và được ủ trong 10 phút để phân giải THP-1. *S. aureus* còn sống được đếm bằng các đơn vị tạo khuẩn lạc thông qua pha loãng theo dãy trong PBS và dàn lên trên đĩa thạch đậu tương trypticaza.

Các kết quả được tóm tắt trong Bảng 34, dưới đây.

Bảng 34: các đơn vị tạo khuẩn lạc trung bình của Ab-kháng sinh kháng MSR1

	Liều ncADC (µg/mL)	Trung bình cfu/mL	Độ lệch tiêu chuẩn	Số lần giảm so với đối chứng *S. aureus*
Đối chứng *S. aureus*	không	1.350.000	139.194	1
Đối chứng isotyp-N297Q-25	10	608.333	52.042	2
MSR1 ncADC H1H21234N-N297Q-25	10	1.325	87	1.019
	3,3	4.917	722	275
	1,1	13.250	1.887	102
	0,4	56.667	7.638	24
	0,1	82.500	17.500	16
	0,04	1.025.000	43.301	1

Đối chứng isotyp-N297Q-80	10	1.208.333	94.648	1
MSR1 ncADC H1H21234N-N297Q-80	10	50	0	27.000
	3,3	50	0	27.000
	1,1	50	0	27.000
	0,4	7.417	2.876	182
	0,1	75.833	15.275	18
	0,04	758.333	230.940	2

Như được thể hiện trong Bảng 34, Ab-kháng sinh kháng MSR1 ncADC (H1H21234N-N297Q-25 và H1H21234N-N297Q-80) cho thấy khả năng trong việc làm giảm *S. aureus* nội bào trong đại thực bào *in vitro* theo cách phụ thuộc vào liều so với đối chứng không được điều trị. Đại thực bào được xử lý bằng đối chứng isotyp- kháng sinh ncADC (đối chứng isotyp-N297Q-25 và đối chứng isotyp-N297Q-80) ở nồng độ 10µg/mL mang *S. aureus* nội bào ở mức tương tự với đối chứng không được điều trị. Dữ liệu này cho thấy rằng Ab-kháng sinh kháng MSR1 ncADC theo sáng chế có thể được sử dụng để tiêu diệt một cách hiệu quả các thể gây bệnh trú trong ổ chứa đại thực bào.

Ví dụ 41: Mô hình chuột nhắt nhiễm *S. aureus* lây qua đường IV (mô hình 4 ngày)

Để thử nghiệm độ hiệu nghiệm của Ab-kháng sinh ncADC kháng *S. aureus* theo sáng chế một mình và kết hợp với kháng sinh MRSA điều trị tiêu chuẩn vancomyxin *in vivo*, mô hình nhiễm bệnh lây qua tĩnh mạch bốn ngày được sử dụng. Chủng *S. aureus* MSRA NRS384 được phát triển qua đêm trong canh trường đậu nành tryptic (TSB) và được nuôi cấy cấp hai đến pha mid-logarit. Sau đó vi khuẩn được rửa hai lần bằng PBS và được tạo huyền phù lại trong PBS ở nồng độ bằng 1,5x10^8 cfu/mL. Sau đó chuột nhắt Balb/c được cho lây nhiễm trong tĩnh mạch thông qua tĩnh mạch đuôi với 100µL hỗn dịch vi khuẩn, trong liều lây nhiễm cuối cùng là 1,5x10^7 cfu/con chuột nhắt. Trong nghiên cứu này, chuột nhắt được điều trị bằng vancomyxin một mình, đối chứng isotyp Ab-kháng sinh ncADC (đối chứng isotyp Ab-kháng sinh ncADC-Rifalog), là kháng thể kháng WTA được liên hợp với Rifalog, kháng thể kháng WTA, ncADC chứa Ab-kháng

sinh kháng WTA (ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-36), là kháng thể kháng WTA được liên hợp với hợp chất 36 theo sáng chế, ncADC thứ hai chứa Ab-kháng sinh kháng WTA (ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-25), là kháng thể kháng WTA được liên hợp với hợp chất 25 theo sáng chế, hoặc ncADC thứ ba chứa Ab-kháng sinh kháng WTA (ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-Rifalog), đối chứng isotyp Ab-kháng sinh ncADC (đối chứng isotyp Ab-kháng sinh ncADC-Rifalog) cộng thêm vancomyxin, kháng thể kháng WTA cộng thêm vancomyxin, ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA (ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-36), ncADC thứ hai chứa Ab-kháng sinh kháng WTA (ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-25) cộng thêm vancomyxin, hoặc ncADC thứ ba chứa Ab-kháng sinh kháng WTA (ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-Rifalog) cộng thêm vancomyxin. Đối với các nhóm điều trị bao gồm vancomyxin, nó được định liều từ 1 ngày đến 3 ngày sau lây nhiễm ở nồng độ 110mg/kg dưới da hai lần hằng ngày. Đối với các nhóm điều trị bao gồm kháng thể và ncADC, chúng được cho dùng dưới da 2 ngày sau lây nhiễm ở nồng độ 1mg/kg. đối chứng nhiễm bệnh không được điều trị và đối chứng nhiễm bệnh cũng được bao gồm trong nghiên cứu này. Chuột nhắt được theo dõi sự sụt cân và điểm số tình trạng cơ thể trong suốt quá trình lây nhiễm. Vào bốn ngày sau lây nhiễm, chuột nhắt được trợ tử, và gánh nặng trên thận của *S. aureus* được định lượng. Để định lượng, thận được đồng nhất hóa sau đó đếm các đơn vị tạo khuẩn lạc thông qua pha loãng theo dãy trong PBS và dàn lên trên đãi thạch đậu tương trypticaza. Sơ đồ lây nhiễm được trình bày trên Fig.4. Dữ liệu được trình bày trong Bảng 35 dưới dạng gánh nặng trung bình trên thận của *S. aureus* ở chuột nhắt.

Bảng 35: Gánh nặng trung bình trên thận của *S. aureus* ở chuột nhắt được điều trị bằng Ab-kháng sinh ncADC kháng *S. aureus* ở nồng độ 1mg/kg một mình và kết hợp với vancomyxin (mô hình lây nhiễm 4 ngày).

Liều mAb hoặc thể liên hợp (1mg/kg)	Điều trị bằng vancomyxin	Trung bình cfu/cặp thận	Độ lệch tiêu chuẩn	Tỷ lệ chết (n)
Đối chứng nhiễm bệnh	-	250 (giới hạn phát hiện)	-	0/1
Đối chứng nhiễm bệnh	-	3.63E+07	3.72E+07	2/5
Ab đối chứng isotyp không hướng đích-kháng sinh ncADC-Rifalog	-	1.50E+08	8.32E+07	2/5
mAb kháng WTA	-	2.19E+08	3.78E+08	1/5
NcADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA- Rifalog	-	5.38E+07	1.34E+08	0/5
NcADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-25	-	1.06E+06	2.77E+06	1/5
NcADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-36	-	1.61E+06	8.10E+07	1/5
Đối chứng vancomyxin	+	4.38E+05	6.92E+05	0/5
Ab đối chứng isotyp không hướng đích-kháng sinh ncADC-Rifalog	+	3.13E+06	5.70E+06	0/5
mAb kháng WTA	+	4.50E+05	8.12E+06	0/5
NcADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-Rifalog	+	2.50E+02	3.24E+06	0/5
NcADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-25	+	3.75E+02	1.55E+04	0/5
NcADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-36	+	2.50E+02	2.21E+05	0/5

Giới hạn phát hiện = 250 đơn vị tạo khuẩn lạc (cfu)

Như được thể hiện trong Bảng 35, lây nhiễm trong tĩnh mạch chủng MRSA của *S. aureus* NRS384 khiến gánh nặng vi khuẩn trung bình cao trong thận là 3.63E+07 cfus/cặp thận. Đối với liệu pháp đơn trị, Ab kháng WTA kháng sinh ncADC-25 và Ab kháng WTA kháng sinh ncADC -36 giảm gánh nặng vi khuẩn trên thận đi ~2 log. Khi Ab kháng WTA kháng sinh ncADC được thử nghiệm được dùng kết hợp với vancomyxin, tất cả các nhóm điều trị đều có sự giảm thêm gánh nặng vi khuẩn trên thận đi ~3 log so với đối chứng được điều trị bằng vancomyxin.

Ví dụ 42: Mô hình chuột nhắt nhiễm *S. aureus* lây qua đường IV tiến triển (mô hình 8 ngày)

Để thử nghiệm độ hiệu nghiệm của Ab-kháng sinh ncADC kháng *S. aureus* theo sáng chế trong liệu pháp kết hợp với vancomyxin điều trị tiêu chuẩn *in vivo*, hai mô hình nhiễm bệnh lây qua tĩnh mạch 8 ngày khác nhau được thực hiện. Trong mô hình này, việc điều trị được bắt đầu ở giai đoạn lây nhiễm tiến triển trong đó áp xe đã hình thành. Chủng *S. aureus* MSRA NRS384 được phát triển qua đêm trong canh trường đậu nành tryptic (TSB) và được nuôi cấy cấp hai đến pha mid-logarit. Sau đó vi khuẩn được rửa hai lần bằng PBS và được tạo huyền phù lại trong PBS ở nồng độ bằng 1,5x10^8 cfu/mL. Sau đó chuột nhắt Balb/c được cho lây nhiễm trong tĩnh mạch thông qua tĩnh mạch đuôi với 100ul hỗn dịch vi khuẩn, trong liều lây nhiễm cuối cùng là 1,5x10^7 cfu/con chuột nhắt. Trong nghiên cứu thứ nhất, chuột nhắt được điều trị bằng vancomyxin một mình, kháng thể đối chứng isotyp cộng thêm vancomyxin, đối chứng isotyp Ab-ncADC (đối chứng isotyp-36) cộng thêm vancomyxin, kháng thể kháng WTA cộng thêm vancomyxin, ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA (ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-36), hoặc ncADC khác chứa Ab-kháng sinh kháng WTA (ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-25) cộng thêm vancomyxin. Chuột nhắt cũng được điều trị bằng vancomyxin một mình, kháng thể đối chứng isotyp cộng thêm vancomyxin, đối chứng isotyp Ab-kháng sinh ncADC (đối chứng isotyp Ab-kháng sinh ncADC-36) cộng

thêm vancomyxin, kháng thể kháng protein A cộng thêm vancomyxin, hoặc ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng Protein A (ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng Protein A-36).

Trong nghiên cứu thứ hai, chuột nhắt được điều trị bằng vancomyxin một mình, kháng thể đối chứng isotyp cộng thêm vancomyxin, đối chứng isotyp Ab-kháng sinh ncADC (đối chứng isotyp Ab-kháng sinh ncADC -36) cộng thêm vancomyxin, Ab đối chứng isotyp thứ hai-kháng sinh ncADC (đối chứng isotyp Ab-kháng sinh ncADC -25) cộng thêm vancomyxin, Ab đối chứng isotyp thứ ba-kháng sinh ncADC (Ab đối chứng isotyp-kháng sinh ncADC-21) cộng thêm vancomyxin, kháng thể kháng WTA cộng thêm vancomyxin, ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA (ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA -36), ncADC thứ hai chứa Ab-kháng sinh kháng WTA (ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA -25) cộng thêm vancomyxin, hoặc ncADC thứ ba chứa Ab-kháng sinh kháng WTA (ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA -21) cộng thêm vancomyxin. Trong tất cả các nghiên cứu, đối với các nhóm điều trị bao gồm vancomyxin, nó được định liều từ ba đến bảy ngày sau lây nhiễm ở nồng độ 110mg/kg dưới da hai lần hằng ngày. Đối với các nhóm điều trị bao gồm kháng thể và ncADC, chúng được cho dùng dưới da bốn ngày sau lây nhiễm ở nồng độ 2mg/kg đối với nghiên cứu thứ nhất hoặc 5mg/kg đối với nghiên cứu thứ hai. Đối chứng nhiễm bệnh không được điều trị và đối chứng nhiễm bệnh cũng được bao gồm trong mỗi trong các nghiên cứu này. Chuột nhắt được theo dõi về sự sụt cân và điểm số tình trạng cơ thể trong suốt quá trình lây nhiễm. Vào tám ngày sau lây nhiễm, chuột nhắt được trợ tử, và gánh nặng trên thận của *S. aureus* được định lượng. Để định lượng, thận được đồng nhất hóa sau đó đếm các đơn vị tạo khuẩn lạc thông qua pha loãng theo dãy trong PBS và dàn lên trên đĩa thạch đậu tương trypticaza. Các điểm dữ liệu dùng để chỉ gánh nặng trên thận từ từng con chuột nhắt được thử nghiệm.

Bảng 36: Gánh nặng trung bình trên thận của *S. aureus* ở chuột nhắt được điều trị bằng đối chứng isotyp và ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA ở nồng độ 2mg/kg kết hợp với vancomyxin

Liều mAb hoặc thể liên hợp (2mg/kg)	Điều trị bằng vancomyxin	Trung bình cfu/cặp thận	Độ lệch tiêu chuẩn	Tỷ lệ chết (n)
Đối chứng nhiễm bệnh	-	2.50E+02 (giới hạn phát hiện)	0.00E+00	0/5
Đối chứng nhiễm bệnh	-	4.63E+08	2.56E+08	3/6
Đối chứng vancomyxin	+	7.25E+06	1.83E+07	7/11
mAb đối chứng isotyp	+	6.50E+06	1.12E+08	1/6
Ab đối chứng isotyp không hướng đích-kháng sinh ncADC-Rifalog	+	1.56E+06	1.12E+06	1/5
Ab đối chứng isotyp không hướng đích-kháng sinh ncADC-36	+	4.56E+06	1.21E+07	2/7
mAb kháng WTA	+	3.50E+06	8.78E+06	0/5
NcADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-Rifalog	+	2.25E+05	1.45E+06	1/6
NcADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-25	+	2.50E+02	1.84E+05	0/6
NcADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-36	+	4.13E+04	1.25E+05	0/5

Đối với nghiên cứu thứ nhất, như được thể hiện trên Fig.6 và Bảng 36, lây nhiễm trong tĩnh mạch chủng MRSA của *S. aureus* NRS384 khiến gánh nặng vi khuẩn trung bình cao trên thận bằng 4.63E+08 cfu/cặp thận. Điều trị bằng vancomyxin một mình làm giảm gánh nặng trên thận của *S. aureus* đi 1-2 log. Điều trị kết hợp của vancomyxin với mAb đối chứng isotyp, mAb đơn dòng kháng WTA, và Ab đối chứng isotyp-kháng sinh ncADC-36 không khiến giảm thêm gánh nặng vi khuẩn trên thận so với chuột nhắt được điều trị bằng vancomyxin. Khi ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-36 và ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-25 được dùng kết hợp với vancomyxin, có sự giảm thêm ~100 và ~10.000 lần gánh nặng vi khuẩn trung bình trên thận, một cách tương ứng.

Bảng 37: Gánh nặng trung bình trên thận của *S. aureus* ở chuột nhắt được điều trị bằng đối chứng isotyp và ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng Protein A ở nồng độ 2mg/kg kết hợp với vancomyxin

Liều mAb hoặc thể liên hợp (2mg/kg)	Điều trị bằng vancomyxin	Trung bình cfu/cặp thận	Độ lệch tiêu chuẩn	Tỷ lệ chết (n)
Đối chứng nhiễm bệnh	-	2,50E+02	0,00E+00	0/5
Đối chứng nhiễm bệnh	-	4,63E+08	2,56E+08	3/6
Đối chứng vancomyxin	+	7,25E+06	1,83E+07	7/11
mAb đối chứng isotyp không hướng đích	+	6,50E+06	1,12E+08	1/6
Ab đối chứng isotyp không hướng đích-kháng sinh ncADC 36	+	4,56E+06	1,21E+07	2/7
Ab kháng Protein A	+	5,69E+04	1,22E+07	0/6
NcADC chứa Ab-kháng sinh kháng Protein A - Rifalog	+	7,08E+04	2,13E+05	0/6
NcADC chứa Ab-kháng sinh kháng Protein A - 36	+	6,25E+03	3,64E+05	1/6

Cũng trong nghiên cứu thứ nhất, như được thể hiện trong Fig.7 và Bảng 37, lây nhiễm trong tĩnh mạch chủng MRSA của *S. aureus* NRS384 khiến gánh nặng vi khuẩn trung bình cao trên thận bằng 4.63E+08 cfu/cặp thận. Điều trị bằng vancomyxin một mình làm giảm gánh nặng vi khuẩn trên thận của *S. aureus* đi 1-2 log. Điều trị kết hợp của vancomyxin với mAb đối chứng isotyp và Ab đối chứng isotyp-kháng sinh ncADC -36 không khiến giảm thêm gánh nặng vi khuẩn trên thận so với chuột nhắt được điều trị bằng vancomyxin. Khi mAb kháng Protein A và ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng Protein A-36 được dùng kết hợp với vancomyxin, có sự giảm thêm ~100 và ~1000 lần gánh nặng vi khuẩn trung bình trên thận, một cách tương ứng.

Bảng 38: Gánh nặng trung bình trên thận của *S. aureus* ở chuột nhắt được điều trị bằng đối chứng isotyp và ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA ở nồng độ 5mg/kg kết hợp với vancomyxin

Liều mAb hoặc thể liên hợp (5mg/kg)	Điều trị bằng vancomyxin	Trung bình cfu/cặp thận	Độ lệch tiêu chuẩn	Tỷ lệ chết (n)
Đối chứng nhiễm bệnh	-	2.50E+02	0.00E+00	0/2
Đối chứng nhiễm bệnh	-	2.50E+07	1.00E+07	2/5
Đối chứng vancomyxin	+	1.88E+06	6.17E+05	2/5
mAb đối chứng isotyp không hướng đích	+	3.13E+06	1.28E+07	1/4
Ab đối chứng isotyp không hướng đích-kháng sinh ncADC-Rifalog	+	2.77E+06	1.28E+07	1/4
Ab đối chứng isotyp không hướng đích-kháng sinh ncADC-36	+	1.50E+06	5.78E+06	0/5
Ab đối chứng isotyp không hướng đích-kháng sinh ncADC 25	+	4.13E+05	1.68E+06	0/5
Ab đối chứng isotyp không hướng đích-kháng sinh ncADC-21	+	2.50E+06	1.56E+07	0/5
mAb kháng WTA	+	2.13E+06	1.95E+06	0/5
mAb kháng WTA-kháng sinh ncADC-Rifalog	+	3.50E+04	1.99E+04	2/5
mAb kháng WTA-kháng sinh ncADC-36	+	2.25E+06	3.21E+06	0/5
mAb kháng WTA-kháng sinh ncADC 25	+	8.56E+03	2.02E+04	1/5
mAb kháng WTA-kháng sinh ncADC 21	+	2.13E+06	1.48E+07	0/5

Đối với nghiên cứu thứ hai, như được thể hiện trong Fig.8 và Bảng 38, lây nhiễm trong tĩnh mạch chủng MRSA của *S. aureus* NRS384 khiến gánh nặng vi khuẩn trung bình cao trên thận bằng 2.50E+07 cfu/cặp thận. Điều trị bằng vancomyxin một mình làm giảm gánh nặng vi khuẩn trên thận do *S. aureus* đi 1-2 log. Điều trị kết hợp bằng vancomyxin và mAb đối chứng isotyp, mAb kháng WTA, Ab đối chứng isotyp-kháng sinh ncADC, ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-36, hoặc kháng WTA- Ab-kháng

sinh ncADC-21 (Rifampixin ADC) không làm giảm thêm gánh nặng vi khuẩn trên thận so với chuột nhắt được điều trị bằng vancomyxin. Tuy nhiên, khi ncADC chứa Ab-kháng sinh kháng WTA-25 thử nghiệm được dùng kết hợp với vancomyxin, có sự giảm thêm ~100 lần gánh nặng vi khuẩn trung bình trên thận.

Ví dụ 43: Giải phong bế xysten được xử lý kỹ thuật bằng kháng thể

Kháng Protein A (H1xH15140P*/*) và kháng thể được xử lý kỹ thuật bằng đối chứng kháng thể không hướng đích được tạo ra bằng cách gây đột biến disulfua liên chuỗi tạo chuỗi nặng C103S. Kháng thể được biểu hiện trong các tế bào CHO và cần được giải phong bế trên xystein chuỗi nhẹ tự nhiên bằng cách sử dụng phương pháp khử nhẹ trong PBS ở nhiệt độ trong phòng bằng cách bổ sung một lượng mol dư gấp ba mươi lần của chất khử, TCEP sau đó đến trao đổi đệm. Để cải tổ hai liên kết disulfua liên chuỗi nặng, kháng thể được ủ trong ba giờ ở nhiệt độ trong phòng với $CuSO_4$ hoặc với dhAA ở lượng mol dư gấp từ hai đến hai mươi lần. Kháng thể được khử và được oxy hóa được trao đổi đệm vào PBS để loại bỏ chất oxy hóa. Quy trình này tạo ra hai thiol tự do nằm trên chuỗi nhẹ và sẵn có để liên hợp maleimit.

Kháng thể được xử lý kỹ thuật kháng WTA được lấy từ tài liệu tham khảo (Lehar *et al*, *Nature* 2015 527, 323–328; kháng thể 4497 được mô tả trong US20140356375 và WO2016090038, nội dung của chúng được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ) và có đột biến chuỗi nhẹ V205C để thu được 2 điểm liên hợp maleimit. Quy trình giống như trên được sử dụng để giải phong bế xystein được xử lý kỹ thuật.

Thể liên hợp của xystein được giải phong bế và xử lý kỹ thuật bằng kháng thể với tác nhân liên kết tải lượng

Đối với kháng thể được khử và được oxy hóa (1-10mg/ml) trong PBS độ pH = 7,5, tác nhân liên kết tải lượng maleimido (2 đương lượng/nhóm SH, Lehar et al, Nature 527, 323–328), hoặc tác nhân liên kết tải lượng của lần nạp này, trong DMSO (10mg/ml) được bổ sung vào. Phản ứng diễn ra trong 2 giờ. Thể liên hợp được tinh chế thành PBS bằng phương pháp sắc ký loại trừ kích thước và được lọc vô trùng. Các nồng độ protein

và các tỷ lệ tải lượng đối với kháng thể được xác định bằng phân tích phổ UV. Phương pháp HPLC loại trừ kích thước thiết lập rằng tất cả các thể liên hợp được sử dụng đều >95% monome, và RP-HPLC thiết lập rằng có <1% tác nhân liên kết tải lượng không được liên hợp. Tất cả các kháng thể được liên hợp được phân tích bằng HIC về giá trị nạp tải lượng tác nhân liên kết. Các tỷ lệ tải lượng đối với kháng thể được báo cáo trong Bảng 39.

Phương pháp liên hợp cho kháng thể được loại glycan (H1H21234N và đối chứng kháng thể không hướng đích 2)

Kháng thể (1-10mg/ml) trong HEPES 50mM, NaCl 150mM, độ pH = 7,5, được xử lý bằng dithiothreitol 1mM ở nhiệt độ 37°C trong 30 phút. Sau khi lọc gel (G-25, độ pH = 4,5 natri axetat), hợp chất dẫn xuất tác nhân liên kết tải lượng maleimido 25 (chất tương tự Rifa M2767) (1,2 đương lượng/nhóm SH) trong DMSO (10mg/ml) được bổ sung vào kháng thể đã được khử và hỗn hợp được điều chỉnh đến độ pH = 7,0 bằng HEPES 1M (độ pH = 7,4). Thể liên hợp được tinh chế bằng cách sử dụng PBS với glyxerol 5% bằng phương pháp sắc ký loại trừ kích thước và được lọc vô trùng. Các nồng độ protein và các tỷ lệ tải lượng đối với kháng thể được xác định bằng phân tích phổ UV. Phương pháp HPLC loại trừ kích thước thiết lập rằng tất cả các thể liên hợp được sử dụng đều >95% monome. Tất cả các kháng thể được liên hợp được phân tích bằng HIC về giá trị nạp tải lượng tác nhân liên kết. Các tỷ lệ tải lượng đối với kháng thể được báo cáo trong Bảng 39.

Bảng 39. Độ tinh khiết và tỷ lệ thuốc đối với kháng thể (DAR) của các thể liên hợp

Thể liên hợp kháng thể thuốc	DAR (bằng HIC)	DAR (bằng ESI-MS)	Độ tinh khiết (bằng SEC)	Hiệu suất
Kháng WTA-rifalog	1,8		>95%	53%
Kháng WTA-21 (đối chứng rifampixin)	2,0		>95%	70%
Kháng WTA-25	1,7		>95%	50%
Kháng WTA-36	1,8		>95%	40%
Kháng Protein A-rifalog	1,9		>95%	30%

Kháng Protein A-36	1,1		>95%	40%
H1H21234N-25	3		>95%	50%
Đối chứng kháng thể không hướng đích 1- rifalog	1,7		>95%	60%
Đối chứng kháng thể không hướng đích 1-21 (Rifampixin)	2,0		>95%	70%
Đối chứng kháng thể không hướng đích 1-25	1,3		>95%	50%
Đối chứng kháng thể không hướng đích 1-36	1,2		>95%	40%
Đối chứng kháng thể không hướng đích 2-25	2		>95%	50%

Đặc trưng hóa các thể liên hợp bằng phương pháp sắc ký tương tác kỵ nước (HIC)

Để xác định lượng nạp của các tác nhân liên kết-tải lượng trên kháng thể, thể liên hợp được cho chạy trên Agilent 1260 bằng cách sử dụng cột TSK-NPR Butyl HIC bằng cách sử dụng gradien tuyến tính của kali phosphat 1M độ pH = 8,5 với nước trong 60 phút. Lượng nạp tải lượng được xác định bằng cách tích phân các diện tích đỉnh tương ứng với loại kháng thể được liên hợp và kháng thể không được liên hợp.

Đặc trưng hóa các thể liên hợp bằng ESI-MS

Để xác định lượng nạp của tác nhân liên kết-tải lượng trên kháng thể (thể liên hợp xystein), các thể liên hợp được khử glycosyl hóa, khử, và phân tích bằng phương pháp LC-MS.

Đối với thử nghiệm này, 50µg liên hợp được pha loãng với nước mili-Q đến nồng độ cuối cùng là 1mg/mL. Mười µL dung dịch PNGase F [Dung dịch PNGase F được điều chế bằng cách bổ sung 150µL dung dịch gốc PNGase F (New England Biolabs, Cat#P0704L) và 850µL nước mili-Q và được trộn kỹ] được bổ sung vào dung dịch liên hợp đã pha loãng và sau đó được ủ ở nhiệt độ 37°C qua đêm. 2,4µL TCEP 0,5M được bổ sung vào mẫu sao cho nguyên liệu thu được có nồng độ TCEP cuối cùng là 20mM và sau đó hỗn hợp này được ủ ở nhiệt độ 50°C trong 30 phút. 10µL mỗi mẫu được tiêm lên trên LC-MS (Waters Synat G2-Si) và được rửa giải bằng 0,1mL/phút trong gradien pha động 20-40% của pha động B trong 25 phút (Pha động A: FA 0,1% thể tích/thể tích

trong H_2O; Pha động B: FA 0,1% thể tích/thể tích trong Axetonitril). Đạt được sự tách LC trên cột Waters Acquity BEH C18 (1,0 X 50mM, 1,7μM).

Phổ đo phổ khối được giải chập và các đỉnh chuỗi nhẹ và chuỗi nặng đã định danh dùng để chỉ chuỗi nhẹ (L) với giá trị tác nhân liên kết-tải lượng = 0 và 1, chuỗi nặng (H) với giá trị tác nhân liên kết-tải lượng = 0, 1, 2, và 3. Từ giá trị cường độ của từng loài, tỷ lệ thuốc đối với kháng thể (DAR) được tính bằng cách sử dụng đẳng thức dưới đây cho thể liên hợp kháng thể homo-dime.

$$DAR = 2^* \left[\frac{L1}{L0 + L1} + \frac{H1 + 2^*H2 + 3^*H3}{H0 + H1 + H2 + H3} \right]$$

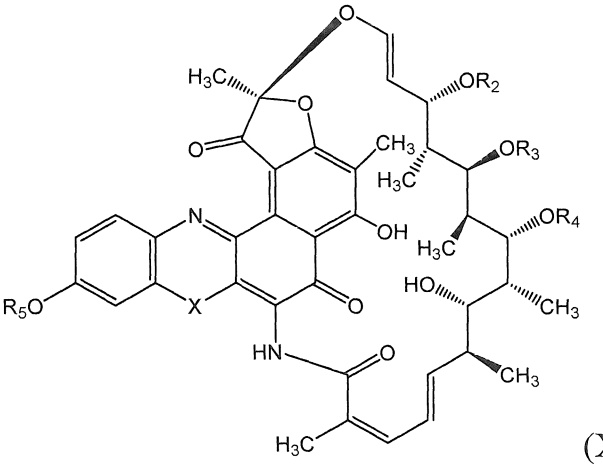
* * *

Do có thể thực hiện nhiều thay đổi khác nhau đối với đối tượng mô tả ở trên mà không vượt ra khỏi phạm vi và ý tưởng của sáng chế, dự tính rằng tất cả các đối tượng có trong phần mô tả trên, hoặc được xác định trong các điểm yêu cầu bảo hộ đi kèm, được diễn giải mang tính mô tả và minh họa sáng chế. Có thể có nhiều cải biến và biến thể của sáng chế dựa theo kiến thức cung cấp trên đây. Theo đó, phần mô tả này được dự định là bao hàm tất cả các thay đổi, cải biến, và biến thể nằm trong phạm vi của các điểm yêu cầu bảo hộ đi kèm như vậy.

Tất cả các patent, đơn sáng chế, công bố yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế, phương pháp thử nghiệm, tài liệu khoa học, và các tài nguyên khác được trích dẫn ở đây được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ như thể tồn tại về mặt vật lý trong bản mô tả này.

YÊU CẦU BẢO HỘ

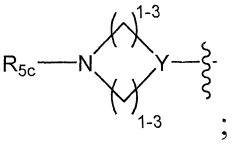
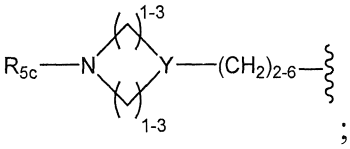
1. Thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp thông qua tác nhân liên kết hoặc thông qua tác nhân liên kết-tác nhân đệm với chất tương tự rifamyxin có cấu trúc có công thức (XXI):



(XXI),

trong đó:

X được chọn từ -O-, -S-, và -NR*-;

R_5 được chọn từ liên kết; C_1-C_{20} hydrocacbon béo mà còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;  ; hoặc  ; trong đó Y là C hoặc N;

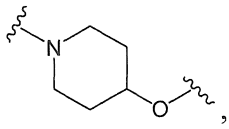
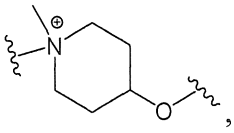
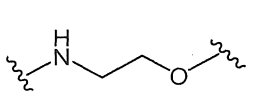
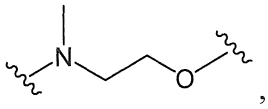
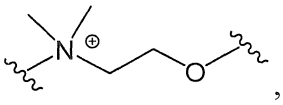
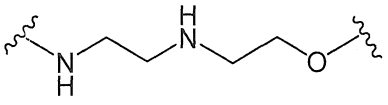
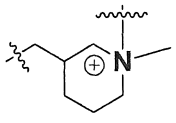
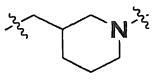
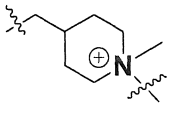
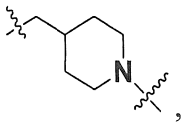
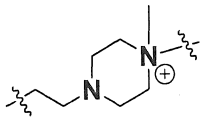
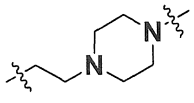
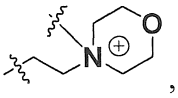
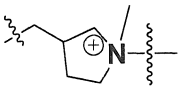
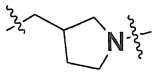
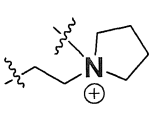
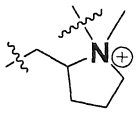
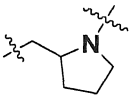
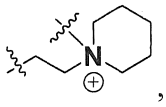
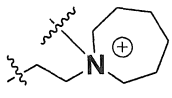
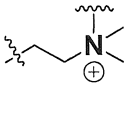
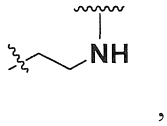
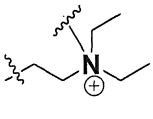
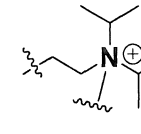
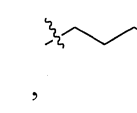
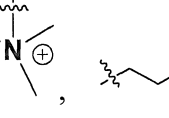
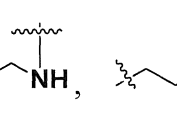
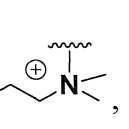
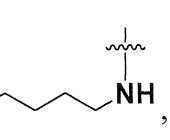
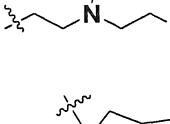
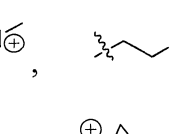
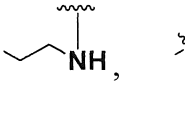
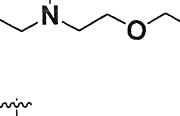
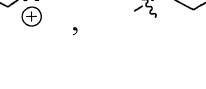
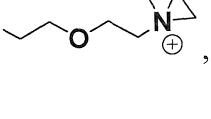
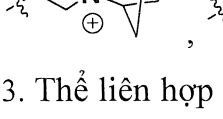
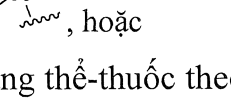
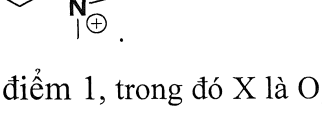
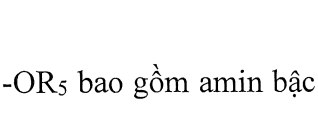
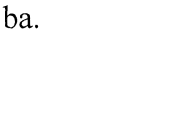
R_2, R_3, và R_4 độc lập được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon mạch thẳng, phân nhánh hoặc vòng béo, hoặc -(C=O)-R*, mỗi trong số đó còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S;

R* độc lập mỗi khi xuất hiện được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_5-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_3-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon dị vòng, và tổ hợp của chúng, còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử

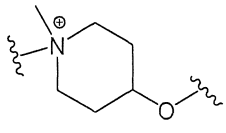
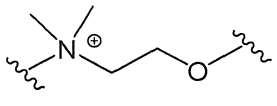
khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và tổ hợp của chúng, và

R_{5c} là liên kết hoặc C_1-C_8 hydrocacbon béo;

trong đó nhóm R_5 được liên kết với tác nhân liên kết.

2. Thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 1, trong đó -OR_5 là –O–,  ,  ,  ,  ,  ,  , hoặc trong đó -R_5 là  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  ,  , , hoặc .

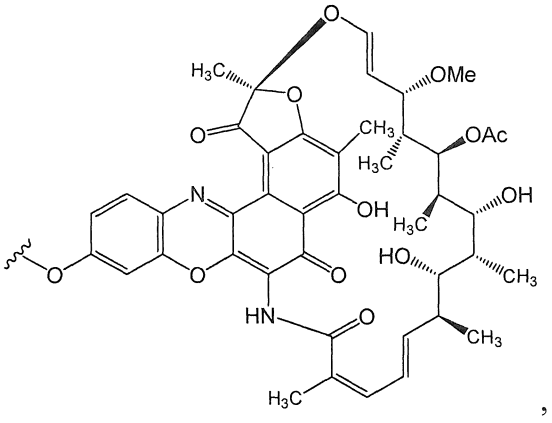
3. Thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 1, trong đó X là O, và -OR_5 bao gồm amin bậc ba.

4. Thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 1, trong đó -OR_5 là  hoặc  .

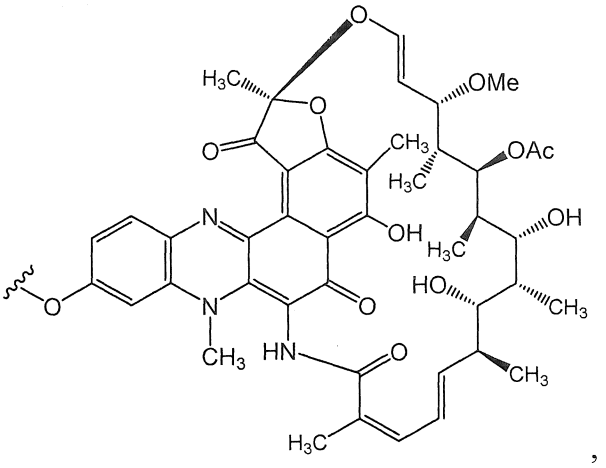
5. Thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 1, trong đó R_2 là metyl, etyl, propyl hoặc isopropyl; R_3 là CH_3-(C=O)-(axetyl), CH_3CH_2-(C=O)-, $CH_3CH_2CH_2$-(C=O)-, hoặc $(CH_3)_2CH$-(C=O)-, và R_4 là hydro.

6. Thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 1, trong đó R_2 là metyl, R_3 là axetyl, và R_4 là hydro.

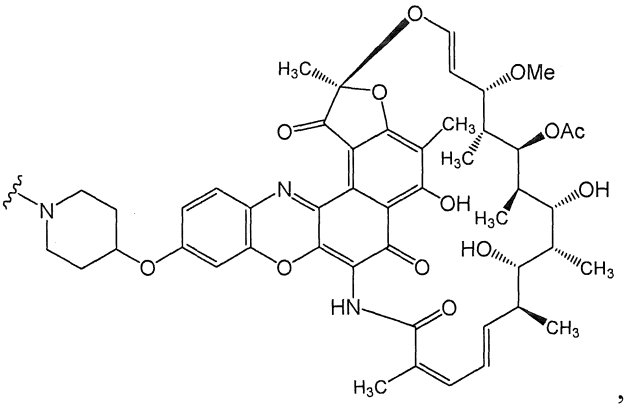
7. Thể liên hợp kháng thể-thuốc chứa kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, được liên hợp thông qua tác nhân liên kết hoặc thông qua tác nhân liên kết-nhóm đệm với hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:



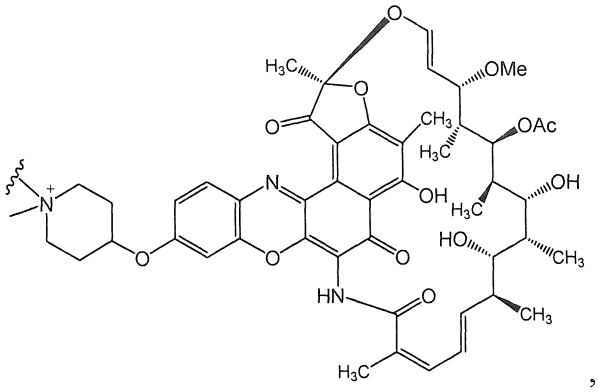
,



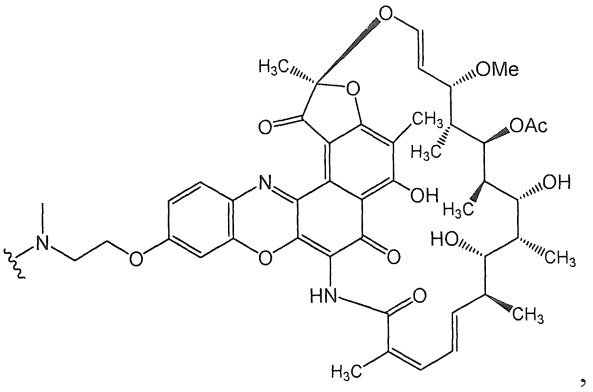
,



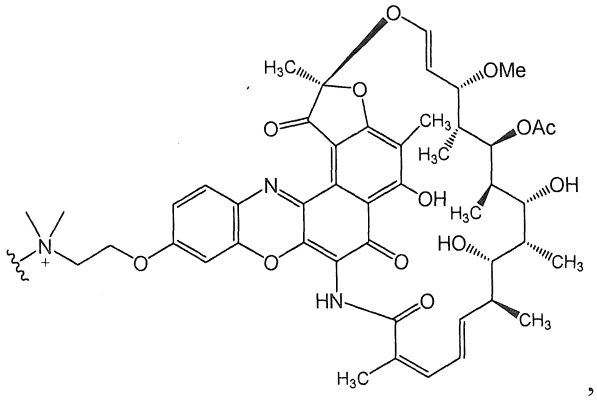
,



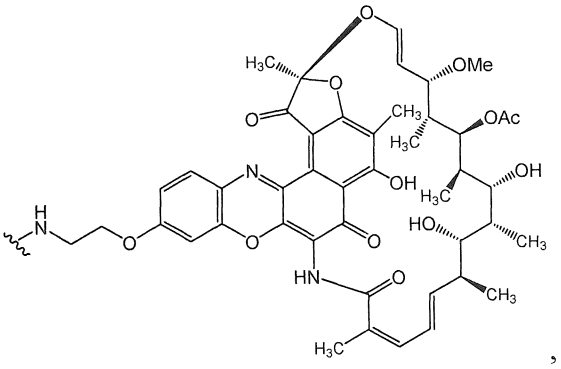
,



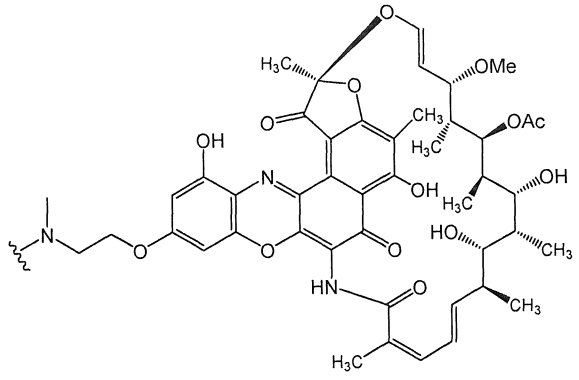
,



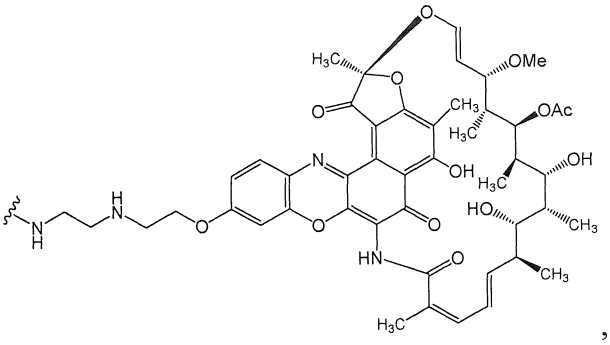
,



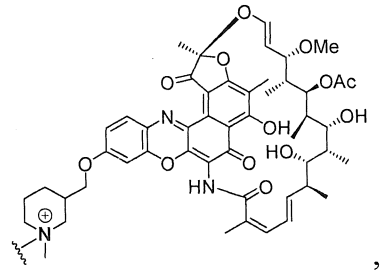
,



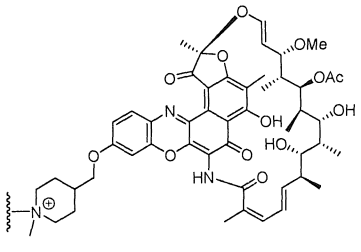
,



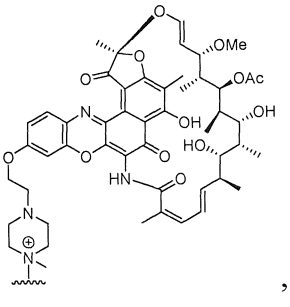
,



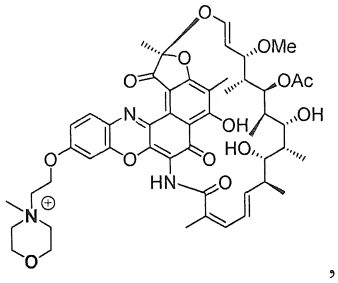
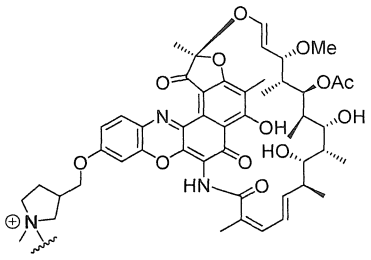
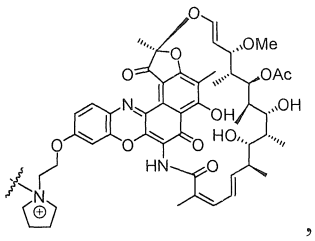
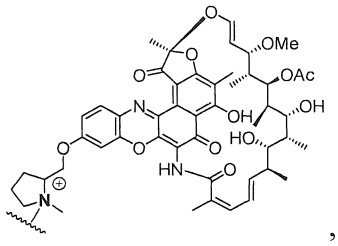
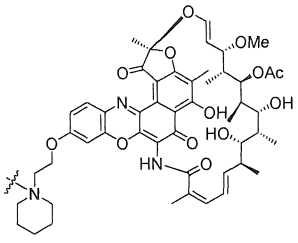
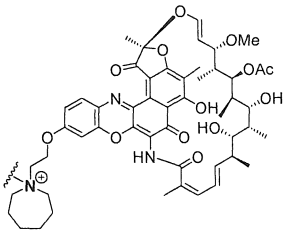
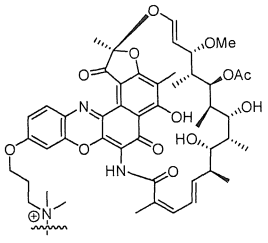
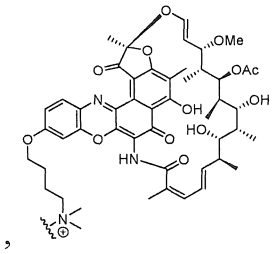
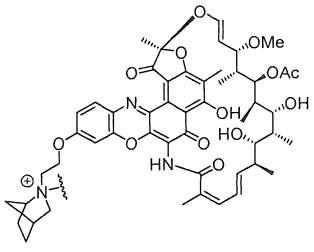
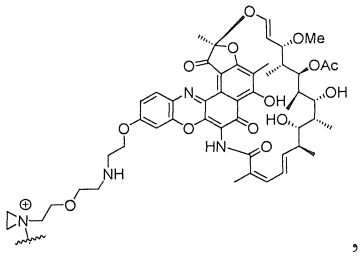
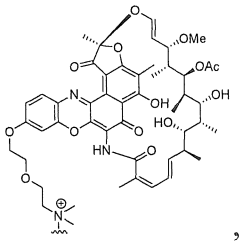
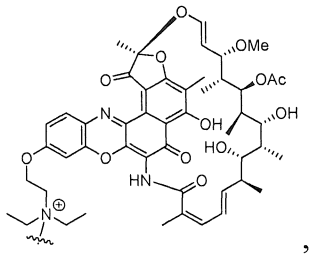
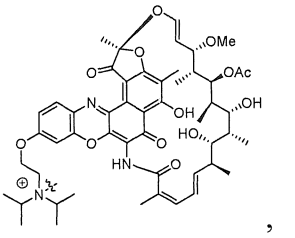
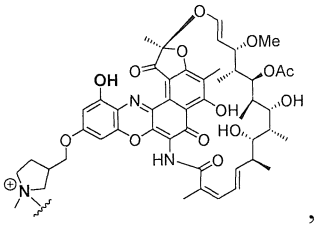
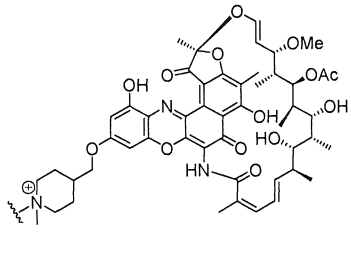
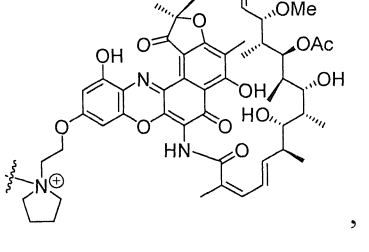
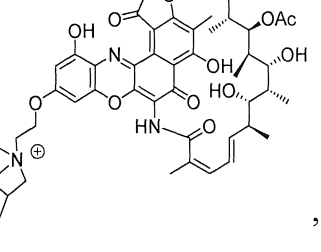
,



,



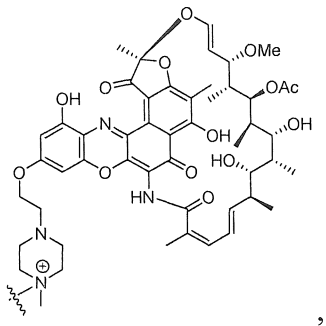
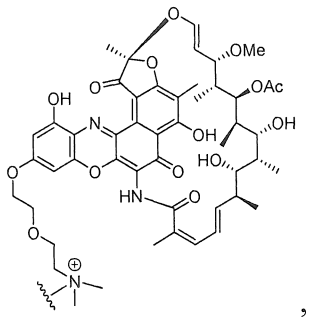
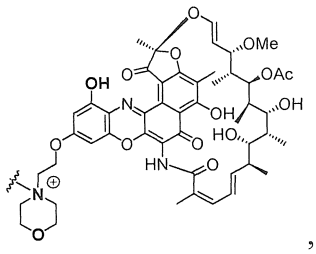
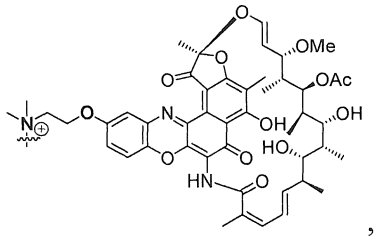
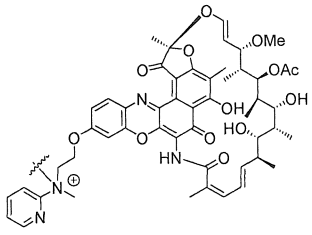
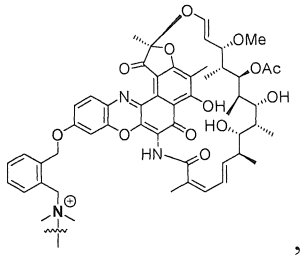
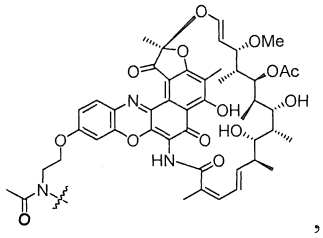
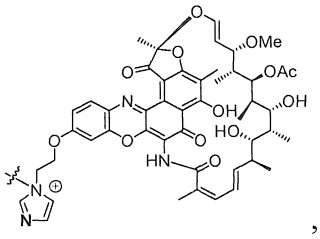
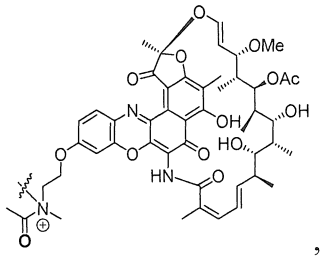
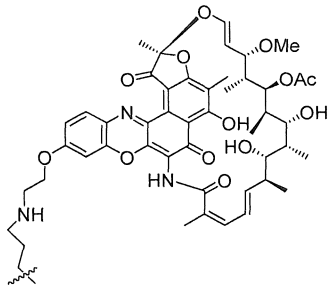
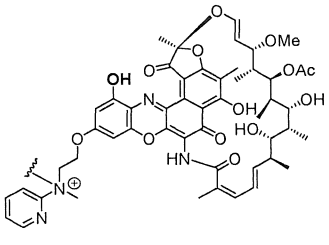
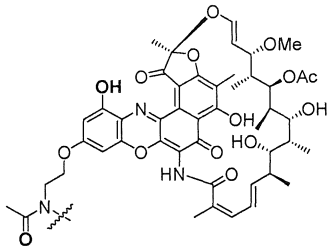
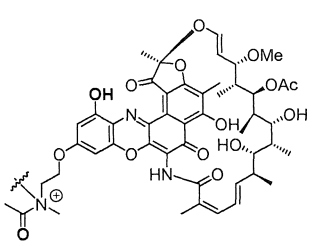
,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

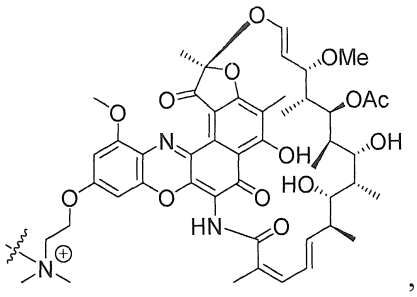
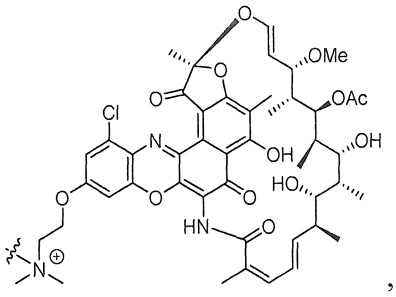
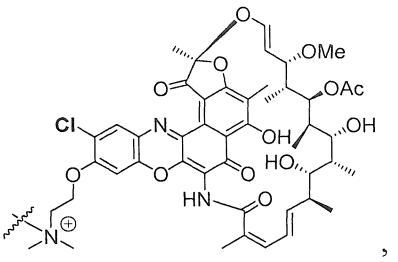
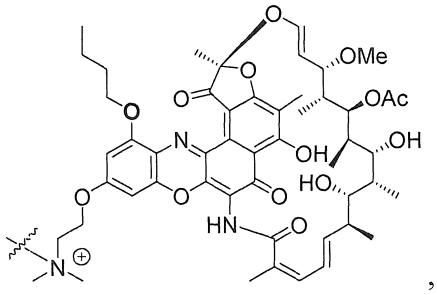
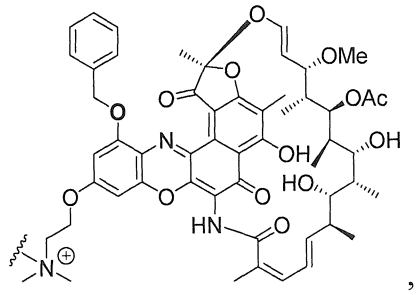
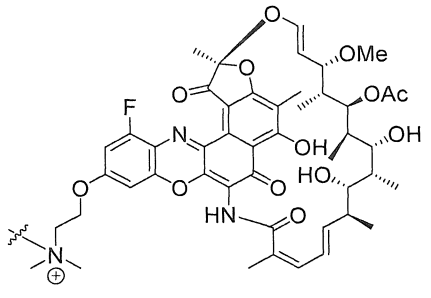
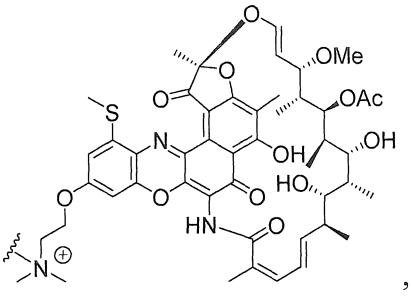
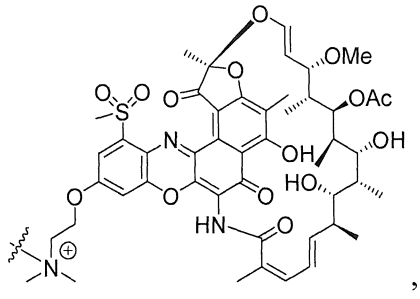
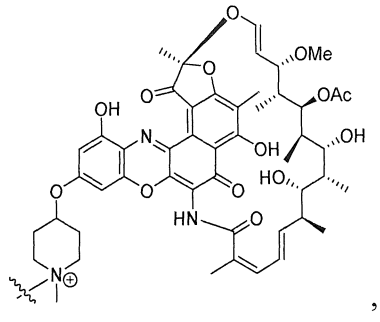
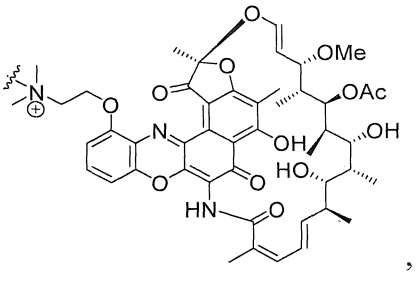
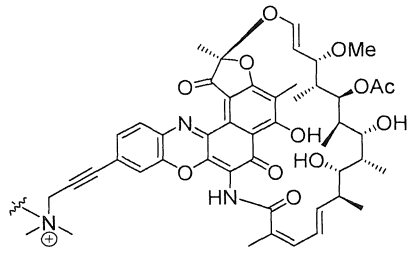
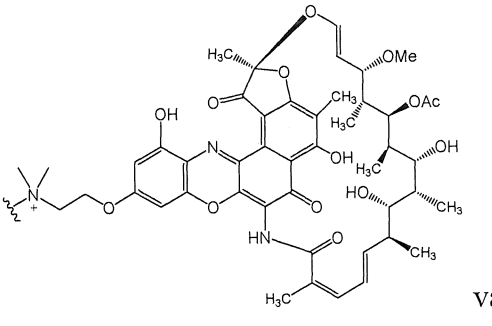
,

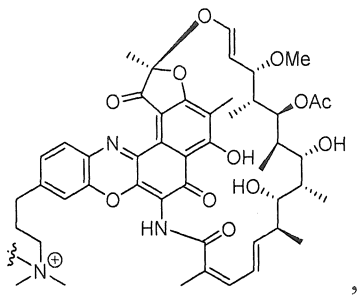

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

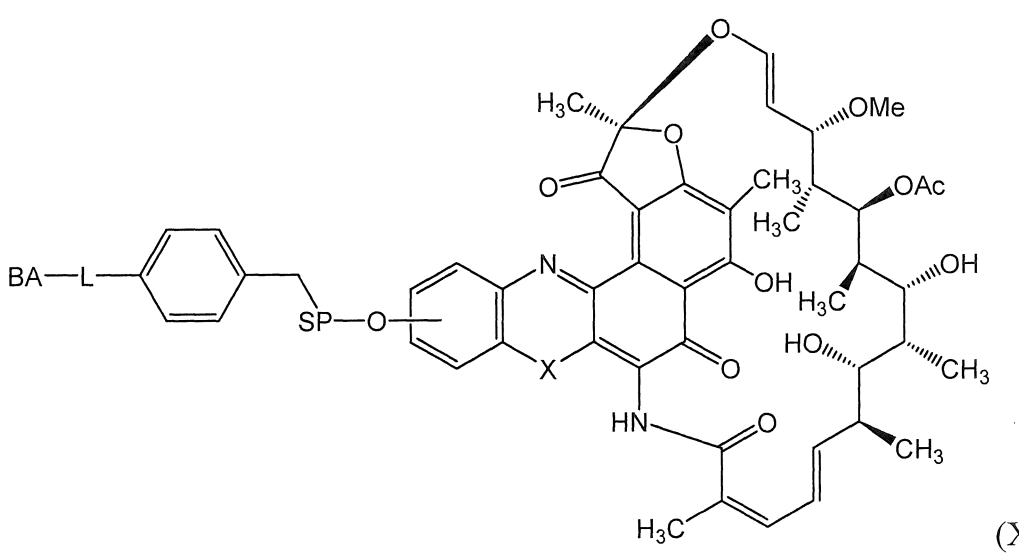
,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

và



trong đó ~ là liên kết với tác nhân liên kết, và khi hợp chất bao gồm muối amoni, đối ion là anion được chọn từ nhóm bao gồm F^-, Cl^-, Br^-, I^-, OH^-, $^-BF_4$, $CF_3SO_3^-$, monobazơ sulfat, dibazơ sulfat, monobazơ phosphat, dibazơ phosphat, hoặc tribazơ phosphat, NO_3^-, PF_6^-, NO_2^-, carboxylat, $C_eF_fSO_3^-$, trong đó e=2-10 và f=2e+1, axetat, aspartat, benzensulfonat, benzoat, besylat, bicarbonat, bitartrat, camsylat, carbonat, xitrat, decanoat, edetat, esylat, fumarat, gluxeptat, gluconat, glutamat, glycolat, glycollyalarsanilat, hexanoat, hydrabamin, hydroxynaphtoat, isthionat, lactat, lactobionat, malat, maleat, mandelat, mesylat, metylbromua, metylnitrat, mucat, napsylat, octanoat, oleat, pamoat, pantothenat, polygalacturonat, propionat, salixylat, stearat, subaxetat, sucxinat, tartrat, teoclat, tosylat, hoặc triethiiodit.

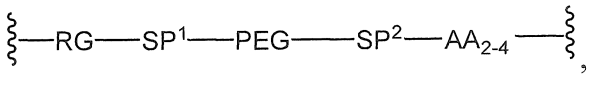
8. Thể liên hợp kháng thể-thuốc có cấu trúc có công thức (XXII):



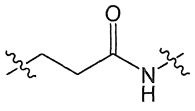
(XXII),

trong đó:

BA là kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó;

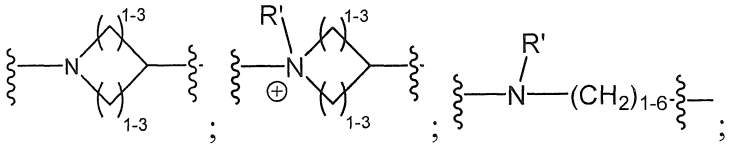
L là tác nhân liên kết có công thức  , trong đó

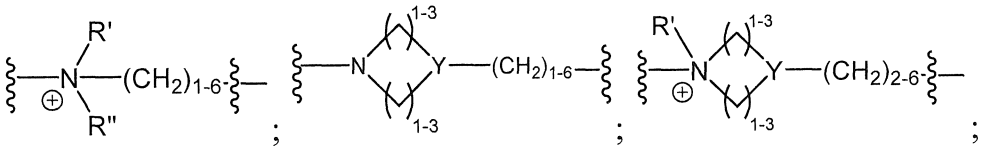
RG được chọn từ maleimit, N-hydroxysucxinimit, hoặc sucxinimit;

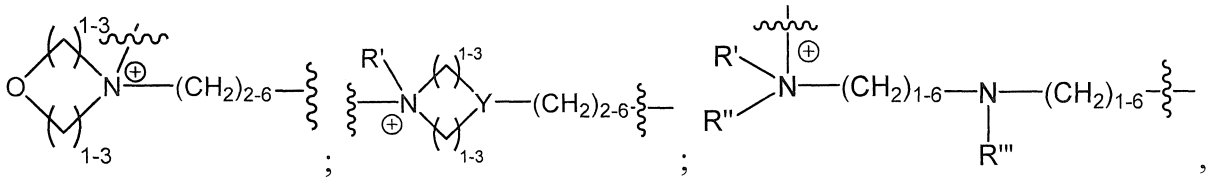
SP^1 và SP^2 độc lập vắng mặt hoặc là nhóm đệm được chọn từ nhóm bao gồm  ; C_{1-6} alkyl, -NH-, -C(O)-, $-CH_2-CH_2-C(O)-NH-$, $-(CH)_u-C(O)-NH-$, $(-CH_2-CH_2-O)_e$, $-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$, $-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$, $-C(O)-NH-(CH_2)_v-$, và tổ hợp của chúng, trong đó chỉ số dưới **e** là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 4, chỉ số dưới **u** là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8, và chỉ số dưới **v** là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 8;

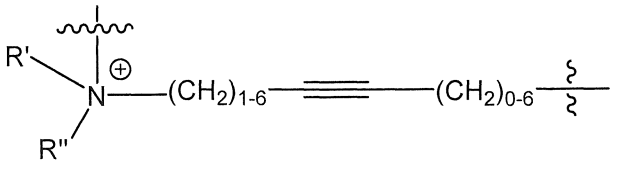
AA_{2-4} là dipeptit được chọn từ valin-xitrulin; xitrulin-valin; valin-alanin; alanin-valin; valin-glyxin, hoặc glyxin-valin, và

PEG là chuỗi polyetylen glycol chứa từ 1 đến 30 gốc polyetylen glycol;

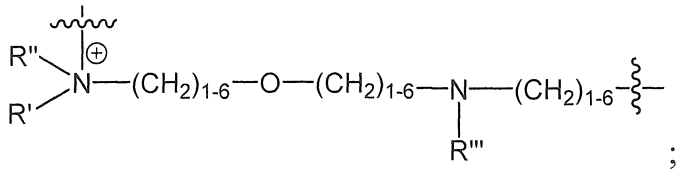
SP là nhóm đệm được chọn từ  ;

 ;

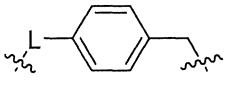
 ,

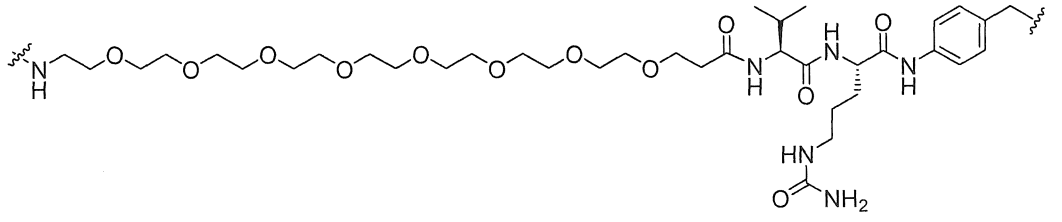


và

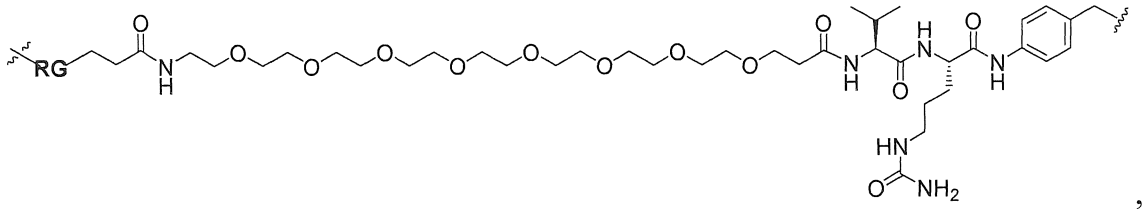


;

Y là C hoặc N; trong đó ký hiệu ~~~ dùng để chỉ điểm gắn; và R', R" và R''' được chọn từ hydro, C_1-C_6 hydrocacbon béo, và nhóm bảo vệ được chọn từ Floenylmetyloxycacbonyl (F_{MOC}) và *tert*-Butyloxycacbonyl (B_{OC}), hoặc trong đó R' và R'' cùng nhau tạo ra cấu trúc béo một vòng, béo hai vòng, hoặc béo nhiều vòng; hoặc trong đó  có cấu trúc:



hoặc,

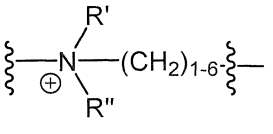


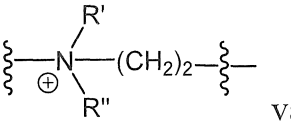
,

R* độc lập mỗi khi xuất hiện được chọn từ hydro, C_1-C_{20} hydrocacbon béo, C_5-C_{20} hydrocacbon thơm, C_1-C_{20} hydrocacbon thơm khác loại, C_3-C_{20} hydrocacbon vòng béo, C_1-C_{20} hydrocacbon dị vòng, và tổ hợp của chúng, còn bao gồm từ 0 đến 8 nguyên tử khác loại được chọn từ halogen, O, N, và S và tổ hợp của chúng, và

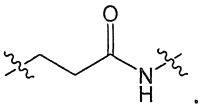
X được chọn từ -O-, -S-, và -NR*.

9. Thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 8, trong đó AA_{2-4} là valin-xitrulin.

10. Thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 8, trong đó SP là  và mỗi R' và R" là C_{1-6} alkyl.

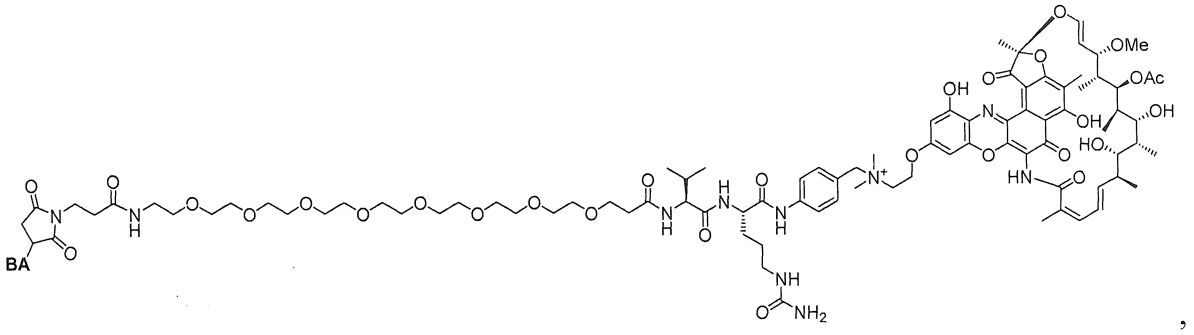
11. Thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 10, trong đó SP là  và mỗi R’ và R” là metyl.

12. Thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 8, trong đó mỗi SP^1 và SP^2 là

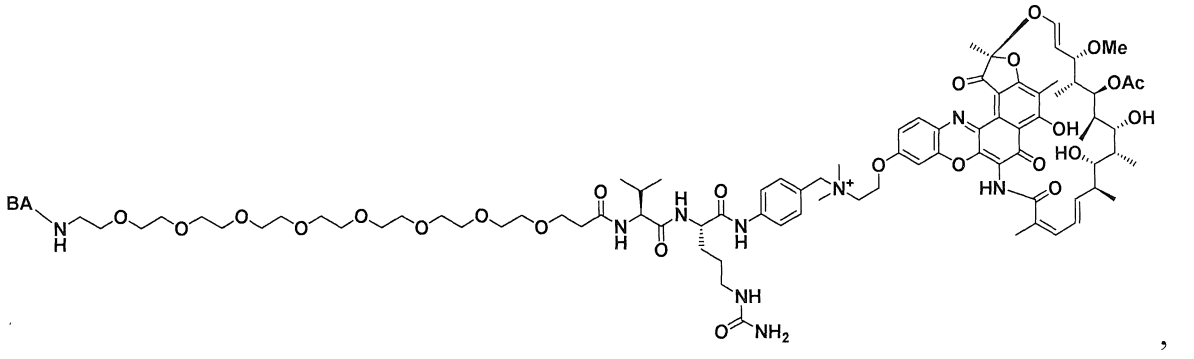


13. Thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 8, trong đó PEG chứa 8 đơn vị polyetylen glycol.

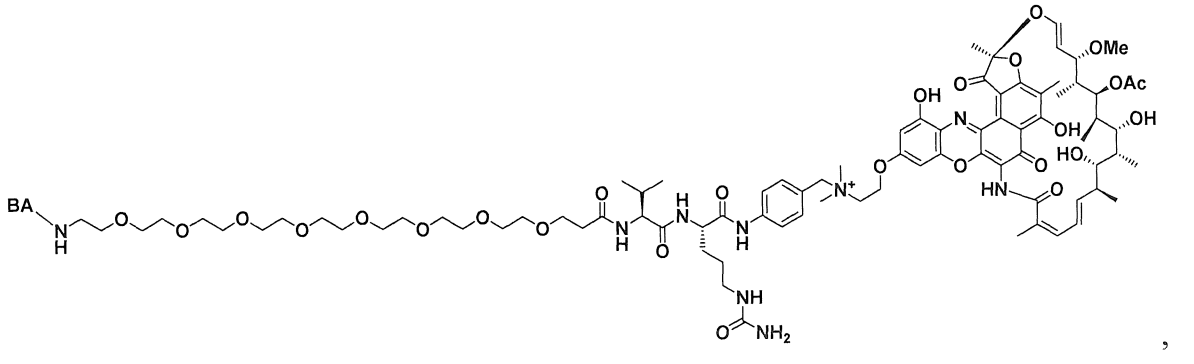
14. Thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 8, trong đó thể liên hợp kháng thể-thuốc này có cấu trúc được chọn từ nhóm bao gồm:



,



,



,

trong đó BA là kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

15. Thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 1, trong đó kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn kết đích liên quan đến bệnh lây nhiễm.

16. Dược phẩm chứa thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó và chất mang dược dụng.

17. Dạng liều lượng dược chứa thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó.

18. Thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 7, trong đó kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn kết đích liên quan đến bệnh lây nhiễm.

19. Dược phẩm chứa thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 7 hoặc muối dược dụng của nó và chất mang dược dụng.

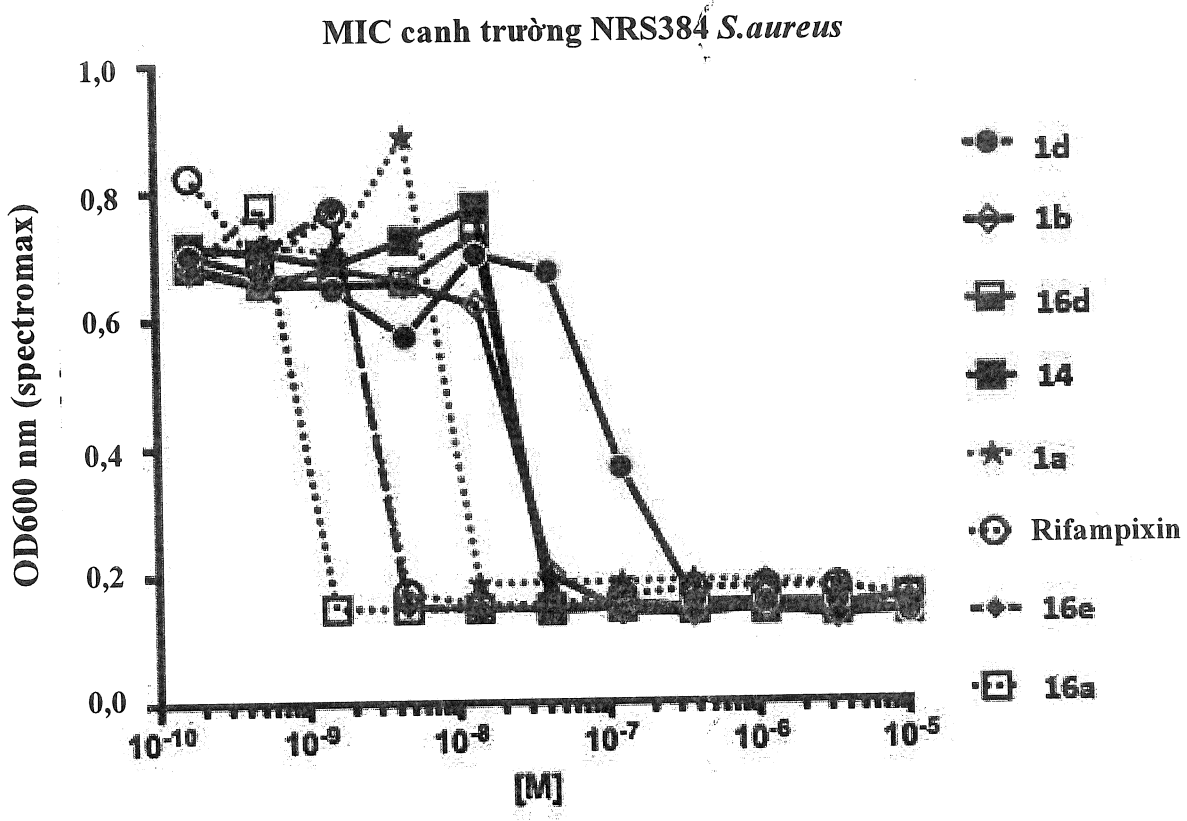
20. Dạng liều lượng dược chứa thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 7 hoặc muối dược dụng của nó.

21. Thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 8, trong đó kháng thể, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, gắn kết đích liên quan đến bệnh lây nhiễm.

22. Dược phẩm chứa thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 8 hoặc muối dược dụng của nó và chất mang dược dụng.

23. Dạng liều lượng dược chứa thể liên hợp kháng thể-thuốc theo điểm 8 hoặc muối dược dụng của nó.

Fig.1


MIC canh trường NRS384 S.aureus
OD600 nm (spectromax)
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
10-5
[M]
1d
1b
16d
14
1a
Rifampixin
16e
16a

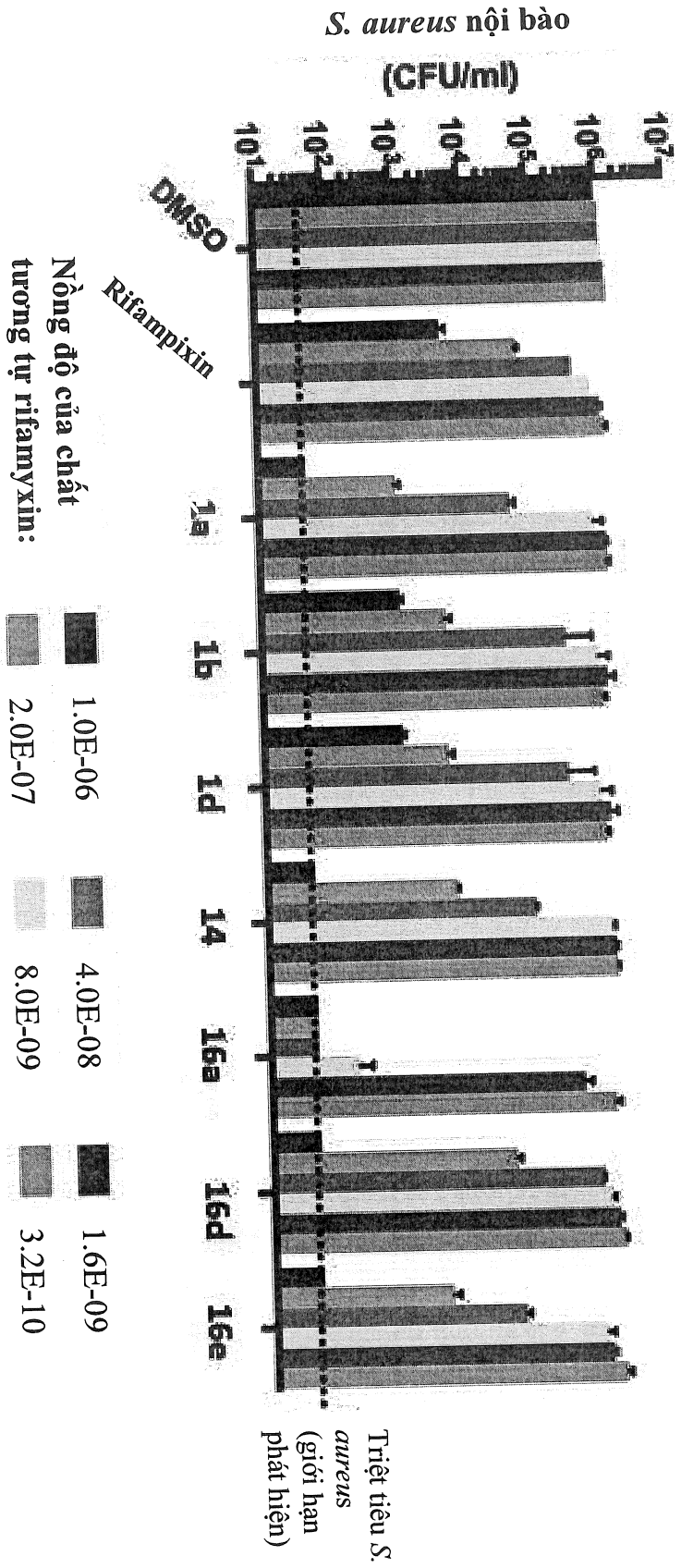

S. aureus nội bào
(CFU/ml)
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
10^6
10^7
DMSO
Rifampixin
1a
1b
1d
14
16a
16d
16e
Triệt tiêu S. aureus (giới hạn phát hiện)
Nồng độ của chất tương tự rifamyxin:
1.0E-06
4.0E-08
1.6E-09
2.0E-07
8.0E-09
3.2E-10

Fig.2

Fig.3

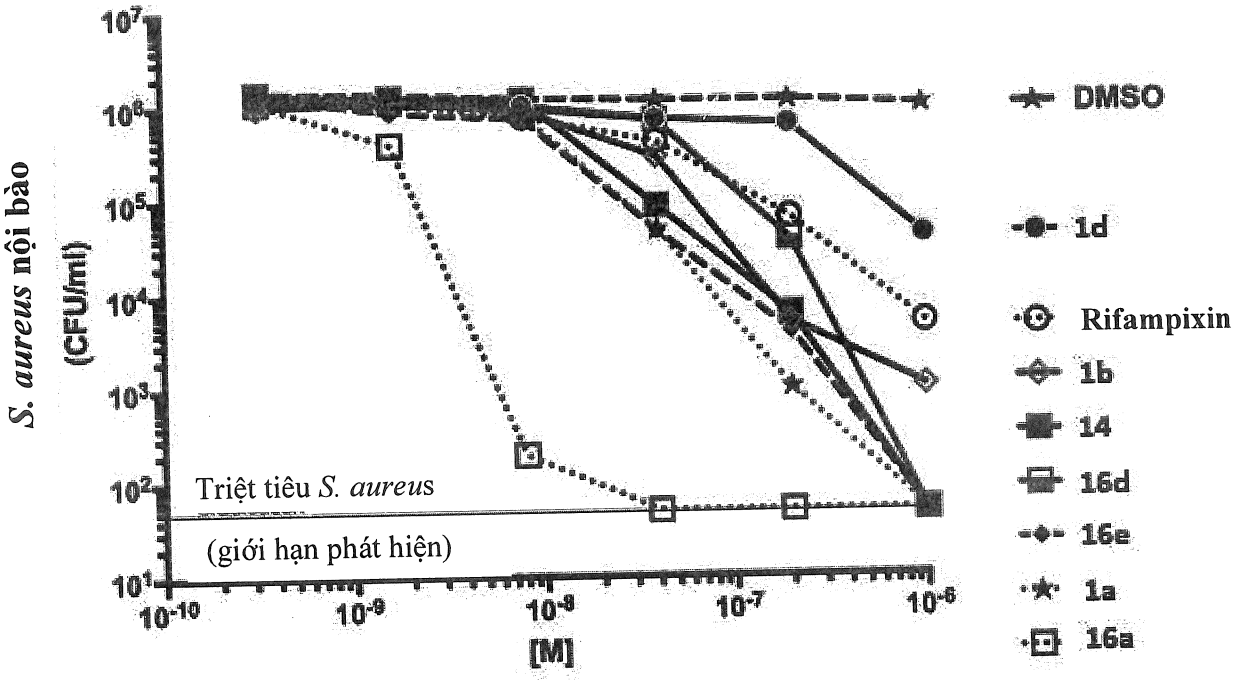

S. aureus nội bào
(CFU/ml)
10^7
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
Triệt tiêu S. aureus
(giới hạn phát hiện)
10^{-10}
10^{-9}
10^{-8}
10^{-7}
10^{-6}
[M]
DMSO
1d
Rifampixin
1b
14
16d
16e
1a
16a

Fig.4

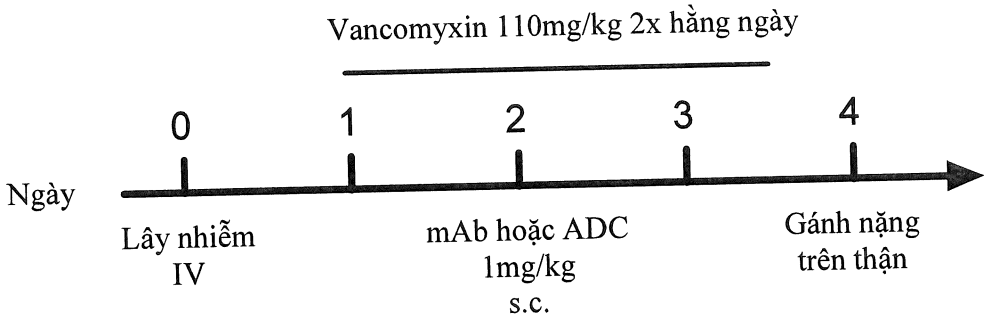

Vancomyxin 110mg/kg 2x hằng ngày
Ngày
0
1
2
3
4
Lây nhiễm
IV
mAb hoặc ADC
1mg/kg
s.c.
Gánh nặng
trên thận

Fig.5

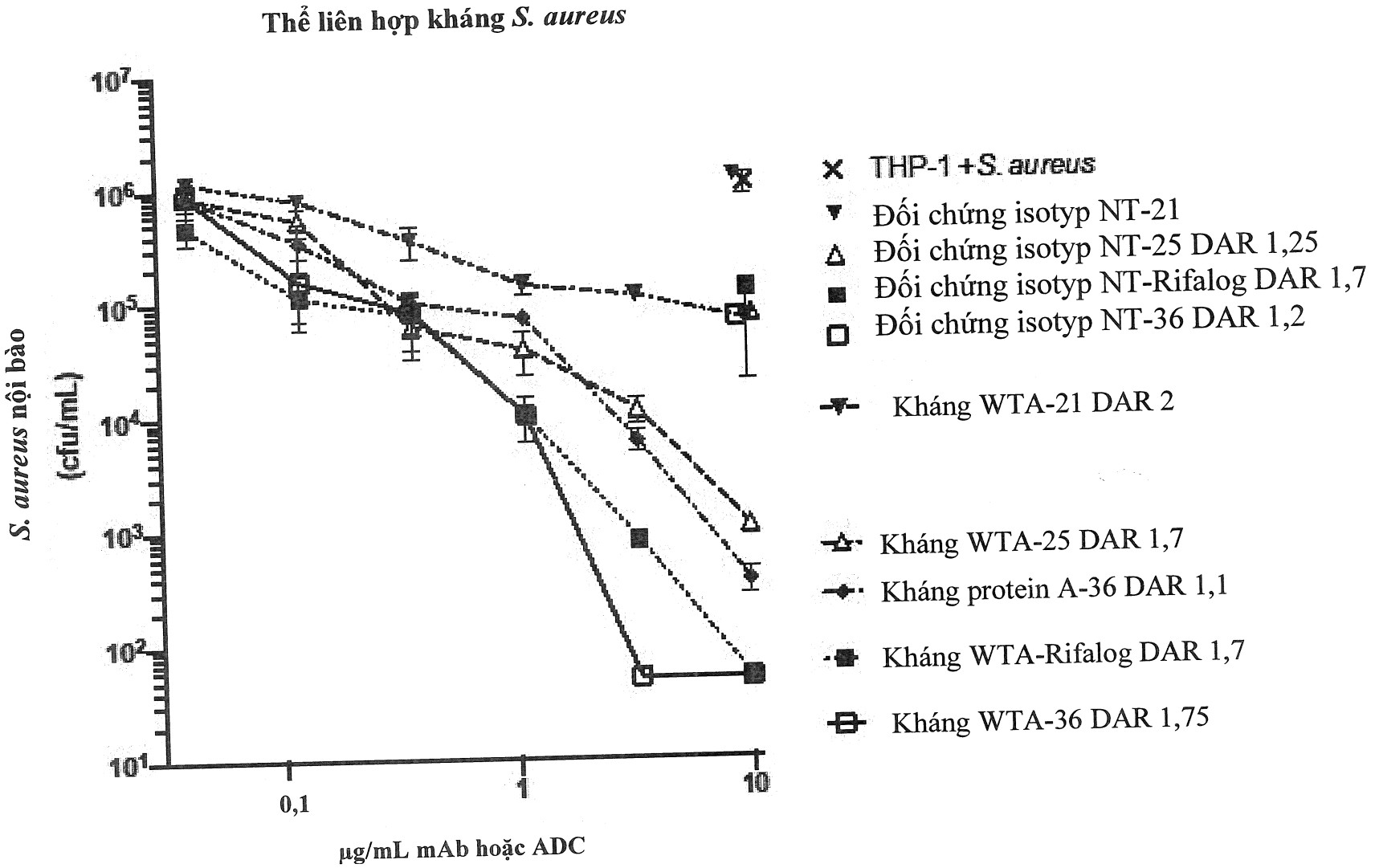

Thể liên hợp kháng S. aureus
S. aureus nội bào (cfu/mL)
10^7
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
10^1
0,1
1
10
µg/mL mAb hoặc ADC
THP-1 + S. aureus
Đối chứng isotyp NT-21
Đối chứng isotyp NT-25 DAR 1,25
Đối chứng isotyp NT-Rifalog DAR 1,7
Đối chứng isotyp NT-36 DAR 1,2
Kháng WTA-21 DAR 2
Kháng WTA-25 DAR 1,7
Kháng protein A-36 DAR 1,1
Kháng WTA-Rifalog DAR 1,7
Kháng WTA-36 DAR 1,75

Fig.6

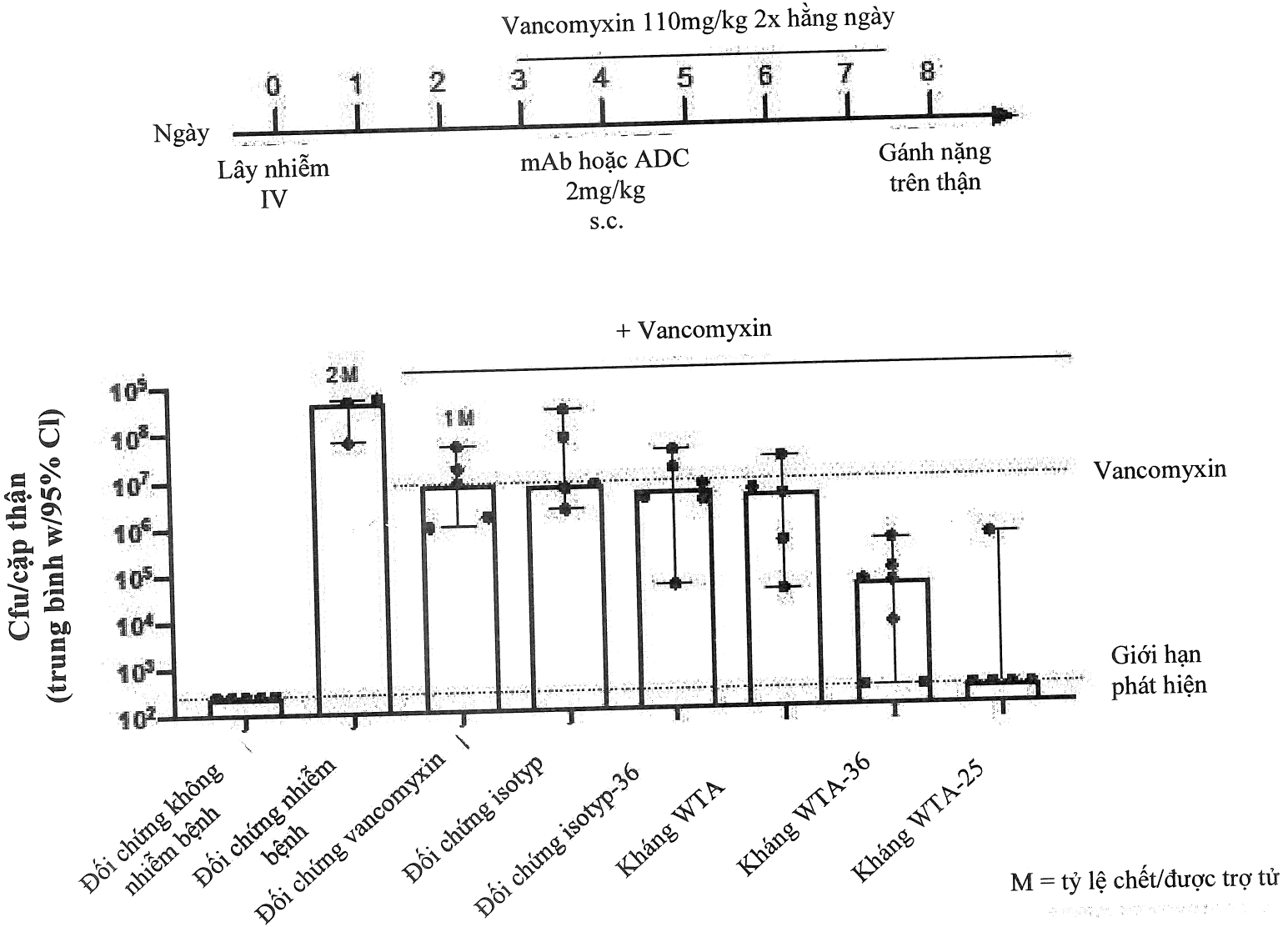

Vancomyxin 110mg/kg 2x hằng ngày
Ngày
0
1
2
3
4
5
6
7
8
Lây nhiễm IV
mAb hoặc ADC 2mg/kg s.c.
Gánh nặng trên thận
+ Vancomyxin
Cfu/cặp thận (trung bình w/95% CI)
2M
1M
Vancomyxin
Giới hạn phát hiện
Đối chứng không nhiễm bệnh
Đối chứng nhiễm bệnh
Đối chứng vancomyxin
Đối chứng isotyp
Đối chứng isotyp-36
Kháng WTA
Kháng WTA-36
Kháng WTA-25
M = tỷ lệ chết/được trợ tử

Fig.7

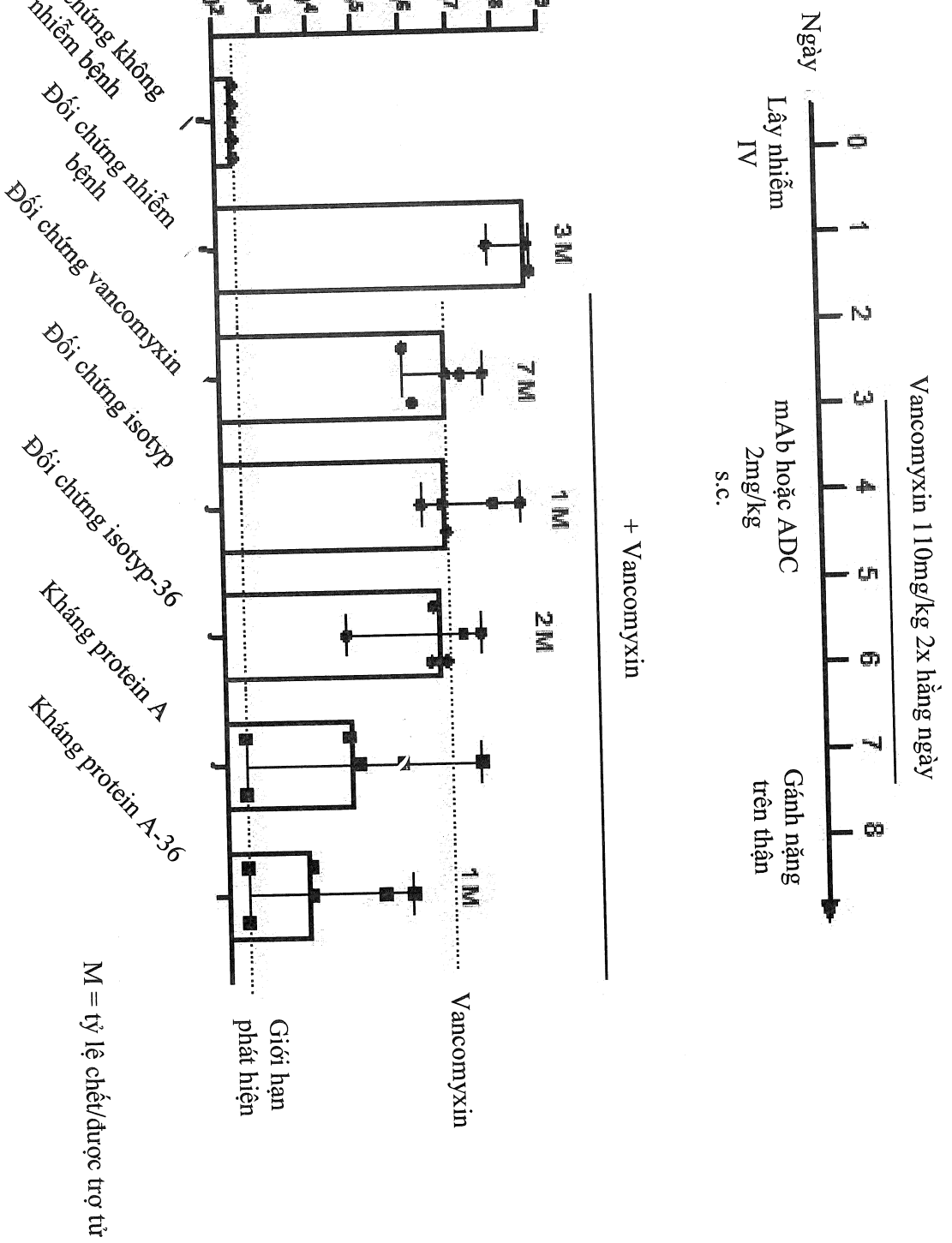
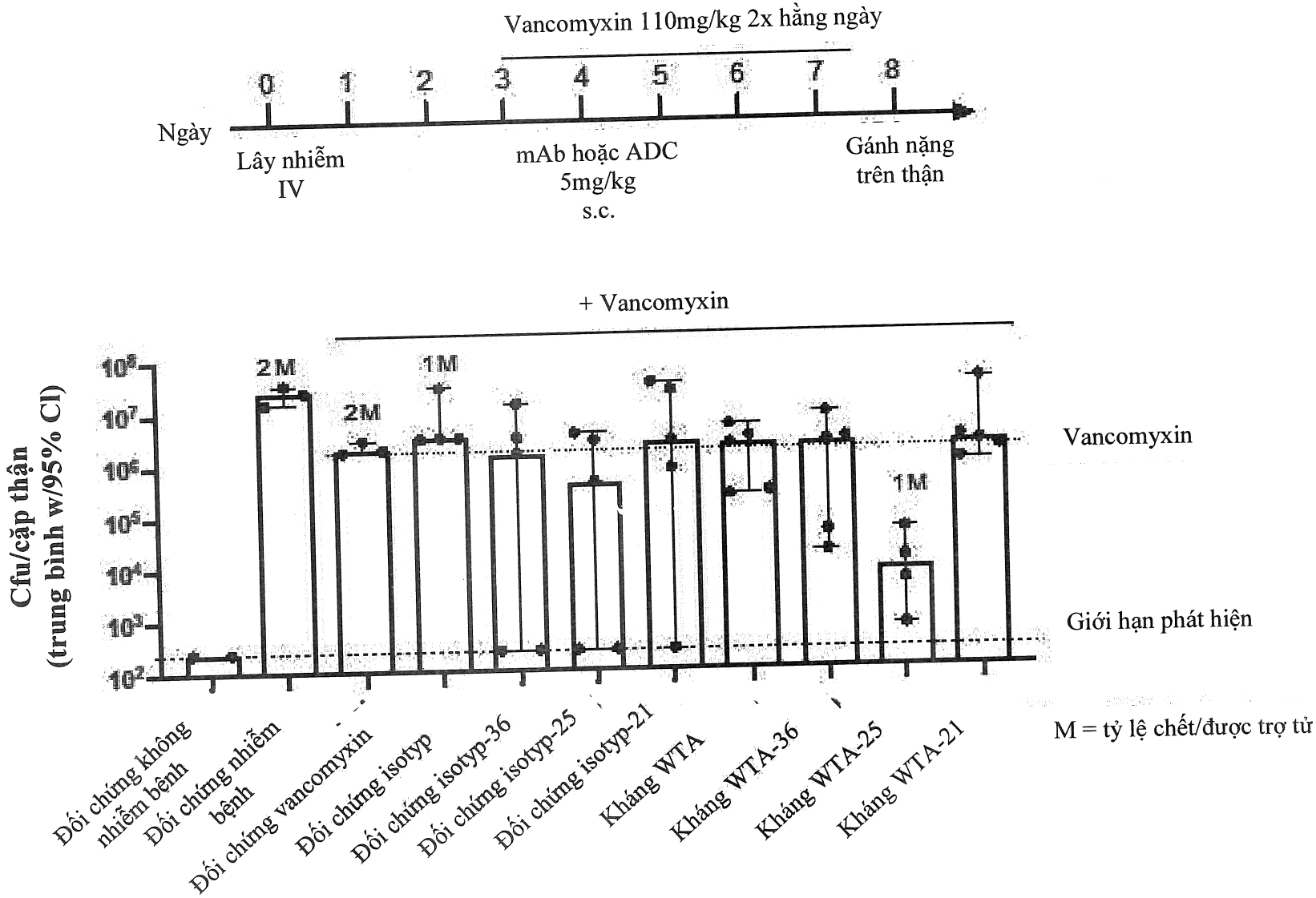

Vancomyxin 110mg/kg 2x hằng ngày
Ngày
0
1
2
3
4
5
6
7
8
Lây nhiễm IV
mAb hoặc ADC 2mg/kg s.c.
Gánh nặng trên thận
Cfu/cặp thận (trung bình w/95% Cl)
Đối chứng không nhiễm bệnh
Đối chứng nhiễm bệnh
Đối chứng vancomyxin
Đối chứng isotyp
Đối chứng isotyp-36
Kháng protein A
Kháng protein A-36
3M
7M
1M
2M
1M
+ Vancomyxin
Vancomyxin
Giới hạn phát hiện
M = tỷ lệ chết/được trợ tử

Fig.8


Vancomyxin 110mg/kg 2x hằng ngày
Ngày
0
1
2
3
4
5
6
7
8
Lây nhiễm IV
mAb hoặc ADC 5mg/kg s.c.
Gánh nặng trên thận
+ Vancomyxin
Cfu/cặp thận (trung bình w/95% CI)
2M
2M
1M
1M
Vancomyxin
Giới hạn phát hiện
M = tỷ lệ chết/được trợ tử
Đối chứng không nhiễm bệnh
Đối chứng nhiễm bệnh
Đối chứng vancomyxin
Đối chứng isotyp
Đối chứng isotyp-36
Đối chứng isotyp-25
Đối chứng isotyp-21
Kháng WTA
Kháng WTA-36
Kháng WTA-25
Kháng WTA-21

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.

<120> CHẤT TƯƠNG TỰ RIFAMYXIN VÀ THỂ LIÊN HỢP KHÁNG THỂ-THUỐC CHỨA CHẤT TƯƠNG TỰ NÀY

<130> 250298.000145

<140>
<141>

<150> 62/844,860
<151> 2019-05-08

<150> 62/783,506
<151> 2018-12-21

<160> 690

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 1
caggtccaat tggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtg 60

tcctgcaagg tttccggata caccctcact gaattatcca tacactgggt gcgccaggtt 120

cctggaaaag gacttgagtg gatgggaggt tttgatcctg aagagggtga aacaatcttc 180

gcacaggagt tccgggacag agtcaccttg accgaggaca catctccaga cacagcctac 240

atggagttga gcagcctgaa atctgaggac gcggccgtat attactgtac aacccccga 300

tattgtaata atggtatatg ttatgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctct 360

tca 363

<210> 2
<211> 121

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 2
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu
20 25 30

Ser Ile His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Gly Glu Thr Ile Phe Ala Gln Glu Phe
50 55 60

Arg Asp Arg Val Thr Leu Thr Glu Asp Thr Ser Pro Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Thr Pro Arg Tyr Cys Asn Asn Gly Ile Cys Tyr Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 3
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 3
ggatacaccc tcactgaatt atcc 24

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 4
Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu Ser
1 5

<210> 5
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 5
tttgatcctg aagagggtga aaca 24

<210> 6
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 6
Phe Asp Pro Glu Glu Gly Glu Thr
1 5

<210> 7
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 7
acaacccccc gatattgtaa taatggtata tgttatgact ac 42

<210> 8
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 8
Thr Thr Pro Arg Tyr Cys Asn Asn Gly Ile Cys Tyr Asp Tyr
1 5 10

<210> 9
<211> 327
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 9
gacatccaga tgacccagtc gccttcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatact gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tcttcaaact 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag agttacagta attttccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaacga 327

<210> 10
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 10
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Thr Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Thr
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Asn Phe Pro
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 11
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 11
cagagcatta gcaactat 18

<210> 12
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 12
Gln Ser Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 13
actgcatcc 9

<210> 14
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 14

Thr Ala Ser
1

<210> 15
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 15
caacagagtt acagtaattt tccgatcacc 30

<210> 16
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 16
Gln Gln Ser Tyr Ser Asn Phe Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 17
<211> 360
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 17
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtccagcctg gagggtccct gagactctcc 60

tgtgcagcct ctggattcac cttcagtgac cactacatgg actgggtccg tcaggctcct 120

gggaaggggc tggagtgggt tggccgaacc agaaacaaag ctaatagtca caccacagaa 180

tacgccgcgt ctgtgagtgg cagattcacc atctcaagag atgattcaaa gaactcattg 240

tatctgcaaa tgaacagcct gaaaaccgag gacacggccg tgtattattg cactagagcc 300

ggtataattg gaaccctctt tgactactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

<210> 18
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 18
Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
1 5 10 15

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His Tyr
20 25 30

Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly
35 40 45

Arg Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser His Thr Thr Glu Tyr Ala Ala Ser
50 55 60

Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu
65 70 75 80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Thr Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 19
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 19
ggattcacct tcagtgacca ctac 24

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 20
Gly Phe Thr Phe Ser Asp His Tyr
1 5

<210> 21
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 21
accagaaaca aagctaatag tcacaccaca 30

<210> 22
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 22
Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser His Thr Thr
1 5 10

<210> 23
<211> 36
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 23
actagagccg gtataattgg aaccctcttt gactac 36

<210> 24
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 24
Thr Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 25
<211> 327
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 25
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaacga 327

<210> 26
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 26
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 27
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 27
cagagcatta gcagctat 18

<210> 28
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 28
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 29
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 29
gctgcatcc 9

<210> 30

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

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 30
Ala Ala Ser
1

<210> 31
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 31
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30

<210> 32
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 32
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 33
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 33
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggagggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gaccactata tggactgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggaatg ggttggccgt actcgaaaca aagctaatag tcacaccaca 180

gaatacaccg cgtctgtgac aggcagattc accatctcaa gagatgattc aagaaactca 240

ctatatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacgg ccgtatatta ctgtgttaga 300

gccggtataa ttggaaccct ctttgactat tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 34
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 34
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His
20 25 30

Tyr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Arg Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser His Thr Thr Glu Tyr Thr Ala
50 55 60

Ser Val Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Arg Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 35
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 35
ggattcacct tcagtgacca ctat 24

<210> 36
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 36
Gly Phe Thr Phe Ser Asp His Tyr
1 5

<210> 37
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 37
actcgaaaca aagctaatag tcacaccaca 30

<210> 38
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 38
Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser His Thr Thr
1 5 10

<210> 39
<211> 36
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 39
gttagagccg gtataattgg aaccctcttt gactat 36

<210> 40
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 40
Val Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Leu Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 41
<211> 327
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 41
gacatccaga tgacccagtt tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agcttttaa attggtttca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagttcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctacaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagtt cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaacga 327

<210> 42
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 42
Asp Ile Gln Met Thr Gln Phe Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Phe
20 25 30

Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Pro
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 43
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 43
cagagcatta gcagcttt 18

<210> 44
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 44
Gln Ser Ile Ser Ser Phe
1 5

<210> 45
<211> 9
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 45
gctgcatcc 9

<210> 46
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 46
Ala Ala Ser
1

<210> 47
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 47
caacagagtt acagttcccc tccgatcacc 30

<210> 48
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 48
Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 49
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 49
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tcactggtgg ctccatcagt aggaactact ggagttggat ccggcagccc 120

ccagggaagg gactggaatg gattggatat atctattaca gtgggagtat cgactacaat 180

ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240

aagctgagtt ctatgaccgc tgcggacacg gccgtatact actgtgcgag agatcggtgg 300

aactggaaat acggtatgga cgtctggggc caagggacca cggtcatcgt ctcgtca 357

<210> 50
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 50
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Gly Ser Ile Ser Arg Asn
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ile Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Met Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Arg Trp Asn Trp Lys Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Ile Val Ser Ser
115

<210> 51
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 51
ggtggctcca tcagtaggaa ctac 24

<210> 52
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 52

Gly Gly Ser Ile Ser Arg Asn Tyr
1 5

<210> 53
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 53
atctattaca gtgggagtat c 21

<210> 54
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 54
Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ile
1 5

<210> 55
<211> 39
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 55
gcgagagatc ggtggaactg gaaatacggt atggacgtc 39

<210> 56
<211> 13

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 56
Ala Arg Asp Arg Trp Asn Trp Lys Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 57
<211> 327
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 57
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gactgttaga aacaactact tagcctggta ccaccagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttacagtgta ttactgtcac cagtatggta actcaccttg gacgttcggc 300

caagggacca aaatggaaat caaacga 327

<210> 58
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 58
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Val Arg Asn Asn
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Thr Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Gly Asn Ser Pro
85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Met Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 59
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 59
cagactgtta gaaacaacta c 21

<210> 60
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 60
Gln Thr Val Arg Asn Asn Tyr
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 61
ggtgcatcc 9

<210> 62
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 62
Gly Ala Ser
1

<210> 63
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 63
caccagtatg gtaactcacc ttggacg 27

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 64
His Gln Tyr Gly Asn Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 65
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 65
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggagggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gaccactaca tggactgggt ccgccaggct 120

cctgggaagg ggctggagtg ggttggccga actagaaaca aagctaatag ttacaccaca 180

gaatacgccg cgtctgtgag tggcagattc accatctcaa gagatgattc aaagaactca 240

ttatatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaggacacgg ccgtgtatta ttgcactaga 300

gccggtataa ttggaaccct ctttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 66
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 66
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His
20 25 30

Tyr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Arg Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Ser Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 67
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 67
ggattcacct tcagtgacca ctac 24

<210> 68
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 68
Gly Phe Thr Phe Ser Asp His Tyr
1 5

<210> 69
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 69
actagaaaca aagctaatag ttacaccaca 30

<210> 70
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 70
Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr
1 5 10

<210> 71
<211> 36
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 71
actagagccg gtataattgg aaccctcttt gactac 36

<210> 72
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 72
Thr Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 73
<211> 327
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 73
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gatcattggt agatatttaa attggtttca gcagaaacca 120

gggaaagtcc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaacgtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacaata cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaacga 327

<210> 74
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 74
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ile Ile Gly Arg Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Asn Thr Pro Pro
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 75
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 75
cagatcattg gtagatat 18

<210> 76
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 76
Gln Ile Ile Gly Arg Tyr
1 5

<210> 77
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 77
gctgcatcc 9

<210> 78
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 78
Ala Ala Ser
1

<210> 79

<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 79
caacagagtt acaatacccc tccgatcacc 30

<210> 80
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 80
Gln Gln Ser Tyr Asn Thr Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 81
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 81
caggtccagc tggtgcagtc tggggctgag gtgagggagc ctggggcctc agtgaagctc 60

tcctgcaagg tttccggata caccctcact gaattatcca tccactgggt gcgacaggct 120

cctggaaaag gacttgagtg gatgggaggt tttgatcctg aagagggtga aacagtctac 180

gcacagaagt tccggggcag agtcaccctg accgaggaca taagtccaga cacggcctac 240

atggagctga gcagcctgac ctctgaggac acggccgtat attattgtgc aacccccgc 300

tattgtaata atggtatatg ttatgactac tggggccagg gaaccctaat caccgtctcc 360

tca 363

<210> 82
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 82
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Arg Glu Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu
20 25 30

Ser Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Glu Gly Glu Thr Val Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Arg Gly Arg Val Thr Leu Thr Glu Asp Ile Ser Pro Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Pro Arg Tyr Cys Asn Asn Gly Ile Cys Tyr Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Ile Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 83

<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 83
ggatacaccc tcactgaatt atcc 24

<210> 84
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 84
Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu Ser
1 5

<210> 85
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 85
tttgatcctg aagagggtga aaca 24

<210> 86
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 86
Phe Asp Pro Glu Glu Gly Glu Thr
1 5

<210> 87
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 87
gcaacccccc gctattgtaa taatggtata tgttatgact ac 42

<210> 88
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 88
Ala Thr Pro Arg Tyr Cys Asn Asn Gly Ile Cys Tyr Asp Tyr
1 5 10

<210> 89
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 89
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 90
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 90
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 91
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 91
cagagcatta gcagctat 18

<210> 92
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 92
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 93
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 93
gctgcatcc 9

<210> 94
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 94
Ala Ala Ser
1

<210> 95
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 95
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30

<210> 96
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 96
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 97
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 97
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt aattatgcca tgacctgggt ccgccaggct 120

ccagggacgg ggctggagtg ggtctcagct attagtggtc gtggtagtaa cacatactac 180

acagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa catgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggcctcat attactgtgc gaaagatcgt 300

tttactacag tggggaactg gttcgacccc tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 98
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 98
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Thr Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Arg Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Met Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ser Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Asp Arg Phe Thr Thr Val Gly Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 99
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 99
ggattcacct ttagtaatta tgcc 24

<210> 100
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 100
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala
1 5

<210> 101
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 101
attagtggtc gtggtagtaa caca 24

<210> 102
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 102
Ile Ser Gly Arg Gly Ser Asn Thr
1 5

<210> 103
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 103
gcgaaagatc gttttactac agtggggaac tggttcgacc cc 42

<210> 104
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 104
Ala Lys Asp Arg Phe Thr Thr Val Gly Asn Trp Phe Asp Pro
1 5 10

<210> 105
<211> 327
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 105
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagtattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcgtccagtt tgcaaaatgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta gtcttccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggatat taaacga 327

<210> 106
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 106
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Asn Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Leu Pro
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Asp Ile Lys Arg
100 105

<210> 107
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 107
cagagtatta gcagctat 18

<210> 108
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 108
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 109
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 109
gctgcgtcc 9

<210> 110
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 110
Ala Ala Ser
1

<210> 111
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 111
caacagagtt acagtagtct tccgatcacc 30

<210> 112
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 112
Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Leu Pro Ile Thr

1 5 10

<210> 113
<211> 357
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 113
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tcactggtgg ctccatcagt aggaactact ggagttggat ccggcagccc 120

ccagggaagg gactggaatg gattggatat atctattaca gtgggagtat caactacaat 180

ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtggacatgt ctaagaacca gttctcccta 240

aagctgaatt ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtact actgtgcgag agatcgatgg 300

aactggaaat acggtatgga cgtctggggc caagggacca cggtcatcgt ctcgtca 357

<210> 114
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 114
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Gly Ser Ile Ser Arg Asn
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Met Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Arg Trp Asn Trp Lys Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Ile Val Ser Ser
115

<210> 115
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 115
ggtggctcca tcagtaggaa ctac 24

<210> 116
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 116
Gly Gly Ser Ile Ser Arg Asn Tyr
1 5

<210> 117
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 117
atctattaca gtgggagtat c 21

<210> 118
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 118
Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ile
1 5

<210> 119
<211> 39
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 119
gcgagagatc gatggaactg gaaatacggt atggacgtc 39

<210> 120
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 120
Ala Arg Asp Arg Trp Asn Trp Lys Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 121
<211> 327
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 121
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gactgttaga aacagctact tagcctggta ccaccagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gttcatattg gacgttcggc 300

caagggacca aaatggaaat caaacga 327

<210> 122
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 122
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Thr Val Arg Asn Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Tyr
85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Met Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 123
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 123
cagactgtta gaaacagcta c 21

<210> 124
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 124

Gln Thr Val Arg Asn Ser Tyr
1 5

<210> 125
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 125
ggtgcatcc 9

<210> 126
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 126
Gly Ala Ser
1

<210> 127
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 127
cagcagtatg gtagttcata ttggacg 27

<210> 128
<211> 9

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 128
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Tyr Trp Thr
1 5

<210> 129
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 129
caggtccagc tggtgcagtc tgggtctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg tttccggata caccctcact gaattatcca tacactgggt gcgacaggct 120

cctggaaaag gacttgagtg gatgggaggt tttgatcctg aagatggtga aacaatctac 180

gcacagaagt tccggggcag agtcaccatg accgaggaca tatctccaga cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaagac acggccgtat attactgtgc aacccccgc 300

tattgtaata atggtatatg ttatgactat tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 130
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 130
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu
20 25 30

Ser Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Arg Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Ile Ser Pro Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Pro Arg Tyr Cys Asn Asn Gly Ile Cys Tyr Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 131
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 131
ggatacaccc tcactgaatt atcc 24

<210> 132
<211> 8

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 132
Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu Ser
1 5

<210> 133
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 133
tttgatcctg aagatggtga aaca 24

<210> 134
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 134
Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr
1 5

<210> 135
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 135
gcaacccccc gctattgtaa taatggtata tgttatgact at 42

<210> 136
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 136
Ala Thr Pro Arg Tyr Cys Asn Asn Gly Ile Cys Tyr Asp Tyr
1 5 10

<210> 137
<211> 327
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 137
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctataggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctatgctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaaact 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaacga 327

<210> 138
<211> 109
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 138
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ile Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Met Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Thr
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 139
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 139
cagagcatta gcagctat 18

<210> 140
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 140
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 141
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 141
gctgcatcc 9

<210> 142
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 142
Ala Ala Ser
1

<210> 143
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 143
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30

<210> 144
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 144
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 145
<211> 345
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 145
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cattttagt gactactaca tgagctggat ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtttcatac attagtagta gtggtactac catatatgga 180

gactctgtga agggccgatt caccatgtcc agggacaacg ccaagaactc actgtatctg 240

caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtgtatt actgtgcgag gaactacgct 300

ctctttgact actggggcca gggaaccctg gtcaccgtct cctca 345

<210> 146
<211> 115
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 146
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Thr Thr Ile Tyr Gly Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asn Tyr Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 147
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 147
ggattcattt ttagtgacta ctac 24

<210> 148
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 148
Gly Phe Ile Phe Ser Asp Tyr Tyr
1 5

<210> 149
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 149
attagtagta gtggtactac cata 24

<210> 150
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 150
Ile Ser Ser Ser Gly Thr Thr Ile

1 5

<210> 151
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 151
gcgaggaact acgctctctt tgactac 27

<210> 152
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 152
Ala Arg Asn Tyr Ala Leu Phe Asp Tyr
1 5

<210> 153
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 153
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aaatatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctactat acatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180

aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagatattg caacatatta ctgtcaccag tctgattatc tcccattcac tttcggccct 300

gggaccaaag tggatatcaa acga 324

<210> 154
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 154
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Ser Asp Tyr Leu Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
100 105

<210> 155
<211> 18
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 155
caggacatta gcaaatat 18

<210> 156
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 156
Gln Asp Ile Ser Lys Tyr
1 5

<210> 157
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 157
tatacatcc 9

<210> 158
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 158
Tyr Thr Ser
1

<210> 159
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 159
caccagtctg attatctccc attcact 27

<210> 160
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 160
His Gln Ser Asp Tyr Leu Pro Phe Thr
1 5

<210> 161
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 161
cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc cgtattagtt actactgggg ctggatccgc 120

cagcccccag ggaaggggct ggagtggatt gggagtatct atgatagtgg gagtacctac 180

tacaacccgt ccctcaagag tcgagtcacc atatccatag acacgtccaa gaaccagttc 240

tccctgaagc tgagctctgt gaccgccgca gacacggctg tgtattactg tgtgagatat 300

agcagttcgt ccgccttcgc ttttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 162
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 162
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Arg Ile
20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Asp Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Ile Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Val Arg Tyr Ser Ser Ser Ser Ala Phe Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 163
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 163
ggtggctcca tcagccgtat tagttactac 30

<210> 164
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 164
Gly Gly Ser Ile Ser Arg Ile Ser Tyr Tyr
1 5 10

<210> 165
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 165
atctatgata gtgggagtac c 21

<210> 166
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 166
Ile Tyr Asp Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 167
<211> 39
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 167
gtgagatata gcagttcgtc cgccttcgct tttgactac 39

<210> 168
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 168
Val Arg Tyr Ser Ser Ser Ser Ala Phe Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 169
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 169
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agttggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccattcac tttcggccct 300

gggaccaaag tggatatcaa acga 324

<210> 170
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 170
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
100 105

<210> 171
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 171
cagggtatta gcagttgg 18

<210> 172
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 172
Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 173
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 173

gctgcatcc 9

<210> 174
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 174
Ala Ala Ser
1

<210> 175
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 175
caacaggcta acagtttccc attcact 27

<210> 176
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 176
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 177
<211> 360

<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 177
cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtagtactt actactgggg ctggatccgc 120

cagcccccag ggaaggggct ggagtggatt gggagtttct attatagtgg gagcacctac 180

tacaacccgt ccctcaagag tcgagtcacc atatccgtag gcacgtccaa gaaccagttc 240

tccctgaagc tgagctctgt gaccgccgca gacacggctg tttatttctg tgcgagaggg 300

gggctcctgg ggagaccttt tgttatctgg ggccaaggga caatggtcac cgtctcttca 360

<210> 178
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 178
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Thr Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Phe Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Gly Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Phe
85 90 95

Cys Ala Arg Gly Gly Leu Leu Gly Arg Pro Phe Val Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 179
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 179
ggtggctcca tcagcagtag tacttactac 30

<210> 180
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 180
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Thr Tyr Tyr
1 5 10

<210> 181
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 181
ttctattata gtgggagcac c 21

<210> 182
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 182
Phe Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 183
<211> 36
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 183
gcgagagggg ggctcctggg gagacctttt gttatc 36

<210> 184
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 184
Ala Arg Gly Gly Leu Leu Gly Arg Pro Phe Val Ile
1 5 10

<210> 185
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 185
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccgctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa acga 324

<210> 186
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 186
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 187
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 187
cagggcatta gaaatgat 18

<210> 188
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 188
Gln Gly Ile Arg Asn Asp
1 5

<210> 189

<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 189
gctgcatcc 9

<210> 190
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 190
Ala Ala Ser
1

<210> 191
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 191
ctacagcata atagttaccc gctcact 27

<210> 192
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 192
Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 193
<211> 366
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 193
gaggtgcagc tggtggagtc taggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacttttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacattctac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacggtatat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagccctc 300

gtattgcgat ttttggagtg gttaggggac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360

tcctca 366

<210> 194
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 194
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Arg Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Ala Leu Val Leu Arg Phe Leu Glu Trp Leu Gly Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 195
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 195
ggattcactt ttagcagcta tgcc 24

<210> 196
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 196
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 197
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 197
attagtggta gtggtggtag caca 24

<210> 198
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 198
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 199
<211> 45
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 199
gcgaaagccc tcgtattgcg atttttggag tggttagggg actac 45

<210> 200
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 200
Ala Lys Ala Leu Val Leu Arg Phe Leu Glu Trp Leu Gly Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 201
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 201
gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggccagtca gagtattagt agctggttgg cctggtttca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gatgattttg caacttatta ctgtcaacag tataaaagtt attggacgtt cggccaaggg 300

accaaggtgg aaatcaaacg a 321

<210> 202
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 202
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Trp Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 203
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 203
cagagtatta gtagctgg 18

<210> 204
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 204
Gln Ser Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 205
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 205
aaggcgtct 9

<210> 206
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 206
Lys Ala Ser
1

<210> 207
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 207
caacagtata aaagttattg gacg 24

<210> 208
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 208
Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Trp Thr
1 5

<210> 209
<211> 372
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 209
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ctggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaagt attagtggta gtggtgatag cacattctac 180

acagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca tttccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcgt 300

cttctatggt tcggggactt aatatccccc tttcactact ggggccaggg aaccctggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 210
<211> 124
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 210
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr Phe Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ile Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Arg Leu Leu Trp Phe Gly Asp Leu Ile Ser Pro Phe His
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 211
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 211
ggattcacct ttagcagcta tgcc 24

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

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 212
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 213
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 213
attagtggta gtggtgatag caca 24

<210> 214
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 214
Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr
1 5

<210> 215
<211> 51
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 215
gcgaaagatc gtcttctatg gttcggggac ttaatatccc cctttcacta c 51

<210> 216
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 216
Ala Lys Asp Arg Leu Leu Trp Phe Gly Asp Leu Ile Ser Pro Phe His
1 5 10 15

Tyr

<210> 217
<211> 327
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 217
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc aacatctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctgcccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttta gtgtcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcacctcg gacgttcggc 300

caagggacca aggtggaaat caaacga 327

<210> 218
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 218
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Ile
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Ala Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Val Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 219
<211> 21

<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 219
cagagtgtta gcaacatcta c 21

<210> 220
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 220
Gln Ser Val Ser Asn Ile Tyr
1 5

<210> 221
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 221
ggtgcatcc 9

<210> 222
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 222
Gly Ala Ser
1

<210> 223
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 223
cagcagtatg gtagctcacc tcggacg 27

<210> 224
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 224
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Arg Thr
1 5

<210> 225
<211> 366
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 225
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtacag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagttgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggaatg ggtctcagct attagtggga ctggtagtag tacatacttc 180

acagactccg tgaagggccg gttcgccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatgga 300

gagtggctct ctacggtgac ccttttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360

tcctca 366

<210> 226
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 226
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Thr Gly Ser Ser Thr Tyr Phe Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Gly Glu Trp Leu Ser Thr Val Thr Leu Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 227
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 227
ggattcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 228
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 228
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 229
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 229
attagtggga ctggtagtag taca 24

<210> 230
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 230
Ile Ser Gly Thr Gly Ser Ser Thr
1 5

<210> 231
<211> 45
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 231
gcgaaagatg gagagtggct ctctacggtg acccttttg actac 45

<210> 232
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 232
Ala Lys Asp Gly Glu Trp Leu Ser Thr Val Thr Leu Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 233
<211> 330
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 233
gaaattgtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcaacttag cctggtacca gcagaaacct 120

ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccacca gggccactgg tatcccagcc 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240

gaagattttg cactttatta ctgtcagcag tattttatct ggcctccgca tcccactttc 300

ggccctggga ccaaagtgga tatcaaacga 330

<210> 234
<211> 110
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 234
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Phe Ile Trp Pro Pro
85 90 95

His Pro Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 235
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 235
cagagtgtta gcagcaac 18

<210> 236
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 236
Gln Ser Val Ser Ser Asn
1 5

<210> 237
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 237
ggtgcatcc 9

<210> 238
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 238
Gly Ala Ser
1

<210> 239
<211> 33
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 239
cagcagtatt ttatctggcc tccgcatccc act 33

<210> 240
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 240
Gln Gln Tyr Phe Ile Trp Pro Pro His Pro Thr
1 5 10

<210> 241

<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 241
caggtgcagc tggtggagtc tgggggagcc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt tactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa aaaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagatctg 300

acagtagact tctactacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 242
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 242
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Leu Thr Val Asp Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 243
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 243
ggattcacct tcagttacta tggc 24

<210> 244
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 244
Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr Gly
1 5

<210> 245

<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 245
atatcatatg atggaagtaa aaaa 24

<210> 246
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 246
Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Lys Lys
1 5

<210> 247
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 247
gcgaaagatc tgacagtaga cttctactac ggtatggacg tc 42

<210> 248
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 248
Ala Lys Asp Leu Thr Val Asp Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 249
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 249
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct acatccagtt tgcaaagtgg ggccccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttactt ttgtcaacag gctaacagtt tcccatacac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa acga 324

<210> 250
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 250
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Ala Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 251
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 251
cagggtatta gcagctgg 18

<210> 252
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 252
Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 253
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 253
gctacatcc 9

<210> 254
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 254
Ala Thr Ser
1

<210> 255
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 255
caacaggcta acagtttccc atacact 27

<210> 256
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 256
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 257
<211> 342
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 257
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctgatgg ctccatcagt agttactact ggagctggat ccggcagccc 120

ccagggaggg gactggagtg gattgggttt atctattaca gtgggagcac cagctacaac 180

ccctccctca agagtcgagt caccatttca gtagacacgt ccatgagcca gttctccctg 240

aagctgaggt ctgtgaccgc cgcagacacg gccgtgtatt actgtgcgcg tgggagcccc 300

tttgactact ggggcccggg aaccctggtc accgtctcct ca 342

<210> 258
<211> 114
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 258
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Asp Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Phe Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Met Ser Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Arg Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Ser Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 259
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 259
gatggctcca tcagtagtta ctac 24

<210> 260
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 260
Asp Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr
1 5

<210> 261
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 261
atctattaca gtgggagcac c 21

<210> 262
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 262
Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 263
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 263

gcgcgtggga gccccttga ctac 24

<210> 264
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 264
Ala Arg Gly Ser Pro Phe Asp Tyr
1 5

<210> 265
<211> 327
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 265
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcaaaga 120

cctggccagg ctcccagcct cctcatctct ggtgcatcca ggagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag aagactggag 240

cctgaagatt ttgcaatgta ttactgtcag cagtatggta gttcacctcc cactttcggc 300

ggagggacca aggtggagat caaacga 327

<210> 266
<211> 109
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 266
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ser Leu Leu
35 40 45

Ile Ser Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 267
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 267
cagagtgtta gcagcagcta c 21

<210> 268
<211> 7
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 268
Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr
1 5

<210> 269
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 269
ggtgcatcc 9

<210> 270
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 270
Gly Ala Ser
1

<210> 271
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 271
cagcagtatg gtagttcacc tcccact 27

<210> 272
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 272
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Pro Thr
1 5

<210> 273
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 273
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacgttcagt aactatgcta tgcactgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg gactggaata tgtttcagct attagtagta atgggggtag tacatattat 180

gcagactctg tgaagggcag aatcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

cttcaaatgg gcagcctgag agctgaggat atggctgtgt attactgtgc gagagggcga 300

ccgtactact actacttcgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 274
<211> 121

<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 274
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Ser Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Gly Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Arg Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Phe Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 275
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 275
ggattcacgt tcagtaacta tgct 24

<210> 276
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 276
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala
1 5

<210> 277
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 277
attagtagta atgggggtag taca 24

<210> 278
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 278
Ile Ser Ser Asn Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 279
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 279
gcgagagggc gaccgtacta ctactacttc ggtatggacg tc 42

<210> 280
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 280
Ala Arg Gly Arg Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Phe Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 281
<211> 339
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 281
gatattgtga tgactcagac tccagtctcc tcacctgtca cccttggaca gccggcctcc 60

atctcctgca ggtctagtca aagcctcgta cacagtgatg gaaacaccta cttgagttgg 120

tttcagcaga ggccgggcca gcctccaaga ctcctaattt ataagatttc taaccggttc 180

tctggggtcc cagacagatt cagtggcagt ggggcaggga cagatttcac actgaaaatc 240

agcagggtgg aagctgagga tgtcggggtt tattactgca tgcaagctac acaatttcct 300

ctcaatttcg gcggagggac caaggtggag atcaaacga 339

<210> 282
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 282
Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Val Ser Ser Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Thr Gln Phe Pro Leu Asn Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 283

<211> 33
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 283
caaagcctcg tacacagtga tggaaacacc tac 33

<210> 284
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 284
Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
1 5 10

<210> 285
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 285
aagatttct 9

<210> 286
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 286
Lys Ile Ser
1

<210> 287
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 287
atgcaagcta cacaatttcc tctcaat 27

<210> 288
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 288
Met Gln Ala Thr Gln Phe Pro Leu Asn
1 5

<210> 289
<211> 366
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 289
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagg acctatgcca tgacctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctagactg ggtctcagct attactggtg atggtggtaa tacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatt tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccatct attactgtgc gaaagatcag 300

agattcagct ttgctctata ctactttgac tactggggcc agggaaccct ggtcactgtc 360

tcctca 366

<210> 290
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 290
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Thr Tyr
20 25 30

Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Thr Gly Asp Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Gln Arg Phe Ser Phe Ala Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 291
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 291
ggattcacct ttaggaccta tgcc 24

<210> 292
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 292
Gly Phe Thr Phe Arg Thr Tyr Ala
1 5

<210> 293
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 293
attactggtg atggtggtaa taca 24

<210> 294
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 294
Ile Thr Gly Asp Gly Gly Asn Thr
1 5

<210> 295
<211> 45
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 295
gcgaaagatc agagattcag ctttgctcta tactactttg actac 45

<210> 296
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 296
Ala Lys Asp Gln Arg Phe Ser Phe Ala Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 297
<211> 324
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 297
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaacgccc ctaagctcct gatctatgct gcattcagtt tgcaaagtgg ggtcccgtca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacaatt tcccgtggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa acga 324

<210> 298
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 298
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Phe Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Asn Phe Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 299
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 299
cagggtatta gcagctgg 18

<210> 300
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 300
Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 301
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 301
gctgcattc 9

<210> 302
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 302
Ala Ala Phe
1

<210> 303
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 303
caacaggcta acaatttccc gtggacg 27

<210> 304
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 304
Gln Gln Ala Asn Asn Phe Pro Trp Thr
1 5

<210> 305
<211> 354
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 305
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt aactatgaca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg gatggcagtt atatcatatg atggaattaa taaatattat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaaggtact 300

tactcctggt acttcgatct ctggggccgt ggcaccctgg tcactgtctc ctca 354

<210> 306
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 306
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ile Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Thr Tyr Ser Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 307
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 307
ggattcacct tcagtaacta tgac 24

<210> 308
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 308
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Asp
1 5

<210> 309
<211> 24

<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 309
atatcatatg atggaattaa taaa 24

<210> 310
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 310
Ile Ser Tyr Asp Gly Ile Asn Lys
1 5

<210> 311
<211> 33
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 311
gcgaaaggta cttactcctg gtacttcgat ctc 33

<210> 312
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 312
Ala Lys Gly Thr Tyr Ser Trp Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 313
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 313
gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctacat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca gactattagt agctggttgg cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctcgtt tagaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attcgtggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa acga 324

<210> 314
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 314
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 315
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 315
cagactatta gtagctgg 18

<210> 316
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 316
Gln Thr Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 317
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 317
aaggcgtct 9

<210> 318
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 318
Lys Ala Ser
1

<210> 319
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 319
caacagtata atagttattc gtggacg 27

<210> 320
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 320
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Trp Thr
1 5

<210> 321
<211> 366
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 321
gaagtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gcttatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120

ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag cataggctat 180

gcggactctg tgaagggccg attcaccatt tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240

ctgcaaatga acagtctgag agaagaggac acggccttgt attactgtgc aaaagataaa 300

attttggaac tttactacta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360

tcctca 366

<210> 322
<211> 122
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 322
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Ala Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Glu Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Lys Ile Leu Glu Leu Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 323
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 323
ggattcacct ttgatgctta tgcc 24

<210> 324
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 324
Gly Phe Thr Phe Asp Ala Tyr Ala
1 5

<210> 325
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 325
attagttgga atagtggtag cata 24

<210> 326
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 326
Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile
1 5

<210> 327
<211> 45
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 327
gcaaaagata aaattttgga actttactac tacggtatgg acgtc 45

<210> 328
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 328
Ala Lys Asp Lys Ile Leu Glu Leu Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 329
<211> 369
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 329
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggagac ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgttcag cctctggatt cacctttaac atctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaggt attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attcaaagaa cacgctgtat 240

ttccaaatga atagcctgag agtcgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaaaaata 300

agcagctcgt cctactacta ctacgctatg gacgtctggg gccaagggac cacggtcacc 360

gtctcctca 369

<210> 330
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 330
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ile Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Phe Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Lys Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 331
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 331
ggattcacct ttaacatcta tgcc 24

<210> 332
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 332
Gly Phe Thr Phe Asn Ile Tyr Ala
1 5

<210> 333
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 333
attagtggta gtggtggtag caca 24

<210> 334
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 334
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 335

<211> 48
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 335
gcgaaaaaaa taagcagctc gtcctactac tactacgcta tggacgtc 48

<210> 336
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 336
Ala Lys Lys Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 337
<211> 355
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 337
caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc agatatgata tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag gacttgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac atcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accacggacg aatccacgag tacagtctac 240

atggagctga gcagtctgag atctgaagac acggccgtgt attattgtgc gagaggaggt 300

cgatatggct ggttcgaccc ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctcag 355

<210> 338
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 338
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Asp Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ser Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Thr Asp Glu Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Arg Tyr Gly Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 339
<211> 24
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 339
ggaggcacct tcagcagata tgat 24

<210> 340
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 340
Gly Gly Thr Phe Ser Arg Tyr Asp
1 5

<210> 341
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 341
atcatcccta tctttggtac atca 24

<210> 342
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 342
Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ser
1 5

<210> 343
<211> 33
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 343
gcgagaggag gtcgatatgg ctggttcgac ccc 33

<210> 344
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 344
Ala Arg Gly Gly Arg Tyr Gly Trp Phe Asp Pro
1 5 10

<210> 345
<211> 375
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 345
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctttgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg aactggagtg ggtctcatct attagtggtc gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaggggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagat cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatatt 300

gtcttccggt ataccagctc ggcctactgg tacttcgatc tctggggccg tggcaccctg 360

gtcaccgtct cctca 375

<210> 346
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 346
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Arg Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Ile Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ile Val Phe Arg Tyr Thr Ser Ser Ala Tyr Trp Tyr Phe
100 105 110

Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 347
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 347
ggattcacct ttagcagctt tgcc 24

<210> 348
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 348
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ala
1 5

<210> 349
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 349
attagtggtc gtggtggtag caca 24

<210> 350
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 350
Ile Ser Gly Arg Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 351
<211> 54
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 351
gcgaaagata ttgtcttccg gtataccagc tcggcctact ggtacttcga tctc 54

<210> 352
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 352
Ala Lys Asp Ile Val Phe Arg Tyr Thr Ser Ser Ala Tyr Trp Tyr Phe
1 5 10 15

Asp Leu

<210> 353

<211> 375
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 353
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatggca tgaactgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagtt attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcgt 300

tggacgtatt actatgatag tagtggttcc ccctttgact actggggcca gggaaccctg 360

gtcaccgtct cctca 375

<210> 354
<211> 125
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 354
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Arg Trp Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Ser Pro Phe
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 355
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 355
ggattcacct ttagcagcta tggc 24

<210> 356
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 356
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 357

<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 357
attagtggta gtggtggtag caca 24

<210> 358
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 358
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

<210> 359
<211> 54
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 359
gcgaaagatc gttggacgta ttactatgat agtagtggtt ccccctttga ctac 54

<210> 360
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 360
Ala Lys Asp Arg Trp Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Ser Pro Phe
1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 361
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 361
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcaccttg gacgttcggc 300

caagggacca aggtggaaat caaa 324

<210> 362
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 362
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 363
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 363
cagagtgtta gcagcagcta c 21

<210> 364
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 364
Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr
1 5

<210> 365
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 365
ggtgcatcc 9

<210> 366
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 366
Gly Ala Ser
1

<210> 367
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 367
cagcagtatg gtagctcacc ttggacg 27

<210> 368
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 368
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 369
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 369
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc tttgtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacttttagc agttatgcca tgagttgggt ccgccaggct 120

ccaggtaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta ctggtagtaa cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgttt actactgtgc gaaagatcgc 300

gtgactacag taacctacta ctttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 370
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 370
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Phe Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Thr Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Arg Val Thr Thr Val Thr Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 371
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 371
ggattcactt ttagcagtta tgcc 24

<210> 372
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 372
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 373
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 373
attagtggta ctggtagtaa caca 24

<210> 374
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 374
Ile Ser Gly Thr Gly Ser Asn Thr
1 5

<210> 375
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 375
gcgaaagatc gcgtgactac agtaacctac tactttgact ac 42

<210> 376
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 376
Ala Lys Asp Arg Val Thr Thr Val Thr Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 377
<211> 372
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 377
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggttt cacctttagc agctatgcca tgaactgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg gactggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtgatag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaggac cacgctgtct 240

ctgcaattga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcga 300

ctactatggt tcggggaatt aggatcccca tttcactact gggggccaggg aaccctggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 378
<211> 124
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 378
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Thr Thr Leu Ser
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Arg Leu Leu Trp Phe Gly Glu Leu Gly Ser Pro Phe His
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 379
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 379
ggtttcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 380
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 380
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 381
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 381
attagtggta gtggtgatag caca 24

<210> 382
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 382

Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr
1 5

<210> 383
<211> 51
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 383
gcgaaagatc gactactatg gttcggggaa ttaggatccc catttcacta c 51

<210> 384
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 384
Ala Lys Asp Arg Leu Leu Trp Phe Gly Glu Leu Gly Ser Pro Phe His
1 5 10 15

Tyr

<210> 385
<211> 363
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 385
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggaacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagtc attagtggta gtggtggtta cacaaactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga accgcctgag agccgaggac tcggccgttt attactgtgc gaggcataat 300

tggaactacg actattacgg tatggacgtc tggggccagg ggaccacggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 386
<211> 121
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 386
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Glu Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Arg Leu Arg Ala Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asn Trp Asn Tyr Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 387
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 387
ggattcacct ttagcagcta tgcc 24

<210> 388
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 388
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
1 5

<210> 389
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 389
attagtggta gtggtggtta caca 24

<210> 390
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 390
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Tyr Thr
1 5

<210> 391
<211> 42
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 391
gcgaggcata attggaacta cgactattac ggtatggacg tc 42

<210> 392
<211> 14
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 392
Ala Arg His Asn Trp Asn Tyr Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 393
<211> 360
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 393
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagt ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag ccgctggatt caccttcagt aattatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactt atgtcatttg atggaagtga taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgttgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctctgt attactgtgc gaaaggatac 300

gatttttgga gtggttattg ggactactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

<210> 394
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 394
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ser Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ala Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Leu Met Ser Phe Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

155

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Trp Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 395
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 395
ggattcacct tcagtaatta tggc 24

<210> 396
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 396
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly
1 5

<210> 397
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 397
atgtcatttg atggaagtga taaa 24

<210> 398
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 398
Met Ser Phe Asp Gly Ser Asp Lys
1 5

<210> 399
<211> 39
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 399
gcgaaaggat acgatttttg gagtggttat tgggactac 39

<210> 400
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 400

Ala Lys Gly Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Trp Asp Tyr
1 5 10

<210> 401
<211> 351
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 401
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacaac ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc acctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggcttgagtg ggtctcaact attagtggtc gttctgatat tacatacttc 180

gcagactccg tgaagggccg gtttaccgtc tccagagaca attccaagac cacgctatat 240

ctccaaatga acagtctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gacagatgac 300

gacctgcccc ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctcctc a 351

<210> 402
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 402
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Thr Ile Ser Gly Arg Ser Asp Ile Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ser Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Asp Asp Asp Leu Pro Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 403
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 403
ggattcacct ttagcaccta tgcc 24

<210> 404
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 404
Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala
1 5

<210> 405
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 405
attagtggtc gttctgatat taca 24

<210> 406
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 406
Ile Ser Gly Arg Ser Asp Ile Thr
1 5

<210> 407
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 407
gcgacagatg acgacctgcc ccttgactac 30

<210> 408
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 408
Ala Thr Asp Asp Asp Leu Pro Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 409
<211> 354
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 409
caggtgcagc tggtgcagtc tgggactgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctggagg caccttcagc agatatactt tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac aacaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacgatt accacggacg aatccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attattgtac cagaggaggt 300

cgatatggct ggttcgaccc ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 410
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 410
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Thr Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Thr Phe Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Thr Asp Glu Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Gly Arg Tyr Gly Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 411
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 411
ggaggcacct tcagcagata tact 24

<210> 412
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 412
Gly Gly Thr Phe Ser Arg Tyr Thr
1 5

<210> 413
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 413
atcatcccta tctttggtac aaca 24

<210> 414
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 414
Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Thr
1 5

<210> 415
<211> 33
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 415

accagaggag gtcgatatgg ctggttcgac ccc 33

<210> 416
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 416
Thr Arg Gly Gly Arg Tyr Gly Trp Phe Asp Pro
1 5 10

<210> 417
<211> 403
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="kháng thể MSR1 người đuôi His myc (miền ngoại bào)"

<400> 417
His His His His His His Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
1 5 10 15

Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Lys Trp Glu Thr
20 25 30

Lys Asn Cys Ser Val Ser Ser Thr Asn Ala Asn Asp Ile Thr Gln Ser
35 40 45

Leu Thr Gly Lys Gly Asn Asp Ser Glu Glu Glu Met Arg Phe Gln Glu
50 55 60

Val Phe Met Glu His Met Ser Asn Met Glu Lys Arg Ile Gln His Ile
65 70 75 80

Leu Asp Met Glu Ala Asn Leu Met Asp Thr Glu His Phe Gln Asn Phe

85 90 95

Ser Met Thr Thr Asp Gln Arg Phe Asn Asp Ile Leu Leu Gln Leu Ser
100 105 110

Thr Leu Phe Ser Ser Val Gln Gly His Gly Asn Ala Ile Asp Glu Ile
115 120 125

Ser Lys Ser Leu Ile Ser Leu Asn Thr Thr Leu Leu Asp Leu Gln Leu
130 135 140

Asn Ile Glu Asn Leu Asn Gly Lys Ile Gln Glu Asn Thr Phe Lys Gln
145 150 155 160

Gln Glu Glu Ile Ser Lys Leu Glu Glu Arg Val Tyr Asn Val Ser Ala
165 170 175

Glu Ile Met Ala Met Lys Glu Glu Gln Val His Leu Glu Gln Glu Ile
180 185 190

Lys Gly Glu Val Lys Val Leu Asn Asn Ile Thr Asn Asp Leu Arg Leu
195 200 205

Lys Asp Trp Glu His Ser Gln Thr Leu Arg Asn Ile Thr Leu Ile Gln
210 215 220

Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Glu Lys Gly Asp Arg Gly Pro Thr Gly
225 230 235 240

Glu Ser Gly Pro Arg Gly Phe Pro Gly Pro Ile Gly Pro Pro Gly Leu
245 250 255

Lys Gly Asp Arg Gly Ala Ile Gly Phe Pro Gly Ser Arg Gly Leu Pro
260 265 270

Gly Tyr Ala Gly Arg Pro Gly Asn Ser Gly Pro Lys Gly Gln Lys Gly
275 280 285

```
Glu Lys Gly Ser Gly Asn Thr Leu Thr Pro Phe Thr Lys Val Arg Leu
    290                 295                 300

Val Gly Gly Ser Gly Pro His Glu Gly Arg Val Glu Ile Leu His Ser
305                 310                 315                 320

Gly Gln Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Arg Trp Glu Val Arg Val Gly
                325                 330                 335

Gln Val Val Cys Arg Ser Leu Gly Tyr Pro Gly Val Gln Ala Val His
            340                 345                 350

Lys Ala Ala His Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asn Glu
        355                 360                 365

Val Phe Cys Phe Gly Arg Glu Ser Ser Ile Glu Glu Cys Lys Ile Arg
    370                 375                 380

Gln Trp Gly Thr Arg Ala Cys Ser His Ser Glu Asp Ala Gly Val Thr
385                 390                 395                 400

Cys Thr Leu
```

<210> 418
<211> 403
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="kháng thể MSR1 khỉ đuôi His-myc(miền ngoại bào)"

<400> 418

```
His His His His His His Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
1               5                   10                  15
```

```
Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Lys Trp Glu Thr
            20                  25                  30

Lys Asn Cys Ser Ile Gly Ser Thr Asn Ala Asp Asp Ile Thr Gln Ser
        35                  40                  45

Leu Thr Gly Lys Gly Asn Asp Ser Glu Ala Glu Thr Arg Phe Gln Glu
    50                  55                  60

Val Phe Met Glu His Met Ser Asn Met Glu Lys Arg Ile Gln His Ile
65                  70                  75                  80

Ser Asp Met Glu Ala Asn Leu Ile Asp Ala Glu His Phe Gln Asn Phe
                85                  90                  95

Ser Met Thr Thr Asp Gln Arg Phe Asn Asp Ile Leu Leu Gln Leu Ser
            100                 105                 110

Thr Leu Phe Ser Ser Val Gln Gly His Gly Asn Thr Ile Asp Glu Ile
        115                 120                 125

Ser Lys Ser Leu Ile Ser Leu Asn Thr Thr Leu Leu Asp Leu Gln Leu
    130                 135                 140

Asn Ile Glu Lys Leu Asn Gly Lys Ile Gln Glu Lys Thr Phe Lys Gln
145                 150                 155                 160

Gln Glu Glu Ile Ser Lys Leu Glu Glu His Val Tyr Asn Val Ser Ala
                165                 170                 175

Glu Ile Met Ala Met Lys Glu Glu Gln Val His Leu Glu Gln Glu Ile
            180                 185                 190

Lys Gly Glu Val Lys Val Leu Asn Asn Ile Thr Asn Asp Leu Arg Leu
        195                 200                 205

Lys Asp Trp Glu His Ser Gln Thr Leu Arg Asn Ile Thr Leu Ile Gln
```

210 215 220

Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Glu Lys Gly Asp Arg Gly Pro Thr Gly
225 230 235 240

Glu Ser Gly Pro Arg Gly Phe Pro Gly Pro Val Gly Pro Pro Gly Leu
245 250 255

Lys Gly Asp Arg Gly Ala Ile Gly Phe Pro Gly Ser Arg Gly Leu Pro
260 265 270

Gly Tyr Ala Gly Arg Pro Gly Asn Ser Gly Pro Lys Gly Gln Lys Gly
275 280 285

Glu Lys Gly Ser Gly Asn Thr Leu Thr Ser Phe Lys Lys Val Arg Leu
290 295 300

Val Gly Gly Ser Gly Pro His Glu Gly Arg Val Glu Ile Leu His Ser
305 310 315 320

Gly Gln Trp Gly Thr Ile Cys Asp Asp Arg Trp Glu Val Arg Val Gly
325 330 335

Gln Val Ile Cys Arg Ser Leu Gly Tyr Pro Gly Val Gln Ala Val His
340 345 350

Lys Ala Ala His Phe Gly Gln Gly Thr Gly Pro Ile Trp Leu Asn Glu
355 360 365

Val Tyr Cys Phe Gly Arg Glu Ser Ser Ile Glu Glu Cys Lys Ile Arg
370 375 380

Gln Trp Gly Thr Arg Thr Cys Ser His Ser Glu Asp Ala Gly Val Thr
385 390 395 400

Cys Thr Leu

<210> 419
<211> 360
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 419
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ctggtcaagc cgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt agatatagta tgaactgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcatcc attagcagta gcagtagtta catatactac 180

ggagacacag tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa gtcactgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtct attactgtgt gagagatcga 300

ggacagctcg tcctctactt tgactactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

<210> 420
<211> 120
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 420
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Gly Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Asp Arg Gly Gln Leu Val Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 421
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 421
ggattcactt tcagtagata tagt 24

<210> 422
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 422
Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Ser
1 5

<210> 423
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 423
attagcagta gcagtagtta cata 24

<210> 424
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 424
Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile
1 5

<210> 425
<211> 39
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 425
gtgagagatc gaggacagct cgtcctctac tttgactac 39

<210> 426
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 426
Val Arg Asp Arg Gly Gln Leu Val Leu Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 427
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 427
gacatccaga tgacccagtc tccagcctcc ctgtctacat ctataagaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtct gagcattagc agcttttaa attggtttca gcagagacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatgtt gcatccaatt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

agattcagtg acagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag aattacagta cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 428
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 428
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Thr Ser Ile Arg
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Leu Ser Ile Ser Ser Phe

20 25 30

Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Val Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Asp
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 429
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 429
ctgagcatta gcagcttt 18

<210> 430
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 430
Leu Ser Ile Ser Ser Phe

1 5

<210> 431
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 431
gttgcatcc 9

<210> 432
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 432
Val Ala Ser
1

<210> 433
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 433
caacagaatt acagtacccc tccgatcacc 30

<210> 434
<211> 10
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 434
Gln Gln Asn Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 435
<211> 369
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 435
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcgg gctctggatt caccttcagt agctatggct tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatattat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga gcagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagatcga 300

cttgtacgat attctgactg gccattcttt gactattggg gccagggaac cctggtcacc 360

gtctcctca 369

<210> 436
<211> 123
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 436

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Leu His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Arg Leu Val Arg Tyr Ser Asp Trp Pro Phe Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 437
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 437
ggattcacct tcagtagcta tggc 24

<210> 438
<211> 8
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 438
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 439
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 439
atatcatatg atggaagtaa taaa 24

<210> 440
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 440
Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

<210> 441
<211> 48
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 441
gcgaaagatc gacttgtacg atattctgac tggccattct ttgactat 48

<210> 442
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 442
Ala Lys Asp Arg Leu Val Arg Tyr Ser Asp Trp Pro Phe Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 443
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 443
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca aaacattacc agctatttga attgctatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tgyaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agtttcagta gtcctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taca 324

<210> 444
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<220>
<221> MOD_RES
<222> (55)..(55)
<223> Axit amin bất kỳ

<400> 444
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Thr Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Cys Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Xaa Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Phe Ser Ser Pro Pro
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Thr
100 105

<210> 445
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 445
caaaacatta ccagctat 18

<210> 446
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 446
Gln Asn Ile Thr Ser Tyr
1 5

<210> 447
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 447
gctgcatcc 9

<210> 448
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 448
Ala Ala Ser
1

<210> 449
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 449
caacagagtt tcagtagtcc tccgatcacc 30

<210> 450
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 450
Gln Gln Ser Phe Ser Ser Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 451
<211> 348
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 451
caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agttactact ggagctggat ccggcagccc 120

ccagggaagg gactggaatg gattgggtac atctattaca gtgggagcgc caactacaac 180

ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240

aagctaagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtgtgag agaccgggac 300

ctactccttg accactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcctca 348

<210> 452
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 452
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ala Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val
85 90 95

Arg Asp Arg Asp Leu Leu Leu Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 453

<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 453
ggtggctcca tcagtagtta ctac 24

<210> 454
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 454
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr
1 5

<210> 455
<211> 21
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 455
atctattaca gtgggagcgc c 21

<210> 456
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 456
Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ala
1 5

<210> 457
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 457
gtgagagacc gggacctact ccttgaccac 30

<210> 458
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 458
Val Arg Asp Arg Asp Leu Leu Leu Asp His
1 5 10

<210> 459
<211> 324
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 459
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 460
<211> 108
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 460
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 461
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 461
cagagcatta gcagctat 18

<210> 462
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 462
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 463
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 463
gctgcatcc 9

<210> 464
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 464
Ala Ala Ser
1

<210> 465
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 465
caacagagtt acagtacccc tccgatcacc 30

<210> 466
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 466
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 467
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 467
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Ser Arg Ala Asn Asn Asn Tyr Tyr Val
1 5 10 15

Ala

<210> 468
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 468
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Phe
1 5

<210> 469
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 469
Gln Gln Tyr Tyr Thr Ser Arg Arg Thr
1 5

<210> 470
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 470
Asp Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 471
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 471
Trp Ile Asn Pro Lys Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Arg Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 472
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 472
Asp Cys Gly Ser Gly Gly Leu Arg Asp Phe
1 5 10

<210> 473
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 473
Arg Ser Asn Gln Asn Leu Leu Ser Ser Ser Asn Asn Asn Tyr Leu Ala
1 5 10 15

<210> 474
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 474
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 475
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 475
Gln Gln Tyr Tyr Ala Asn Pro Arg Thr
1 5

<210> 476
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 476
Asp Tyr Tyr Ile His
1 5

<210> 477
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 477
Trp Ile Asn Pro Asn Thr Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe Arg
1 5 10 15

Asp

<210> 478
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 478
Asp Cys Gly Arg Gly Gly Leu Arg Asp Ile
1 5 10

<210> 479
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 479
Lys Ser Asn Gln Asn Val Leu Ala Ser Ser Asn Asp Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 480
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 480
Trp Ala Ser Ile Arg Glu Ser
1 5

<210> 481
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 481
Gln Gln Tyr Tyr Thr Asn Pro Arg Thr
1 5

<210> 482
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 482
Asp Tyr Tyr Ile His
1 5

<210> 483
<211> 17
<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 483
Trp Ile Asn Pro Asn Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 484
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 484
Asp Cys Gly Asn Ala Gly Leu Arg Asp Ile
1 5 10

<210> 485
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 485
Lys Ser Ser Gln Asn Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 486
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 486
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 487
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 487
Gln Gln Tyr Tyr Thr Ser Pro Pro Tyr Thr
1 5 10

<210> 488
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 488
Ser Tyr Trp Ile Gly
1 5

<210> 489
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 489
Ile Ile His Pro Gly Asp Ser Lys Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 490
<211> 29
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 490
Leu Tyr Cys Ser Gly Gly Ser Cys Tyr Ser Asp Arg Ala Phe Ser Ser
1 5 10 15

Leu Gly Ala Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Gly Val
20 25

<210> 491
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 491
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Ser Arg
20 25 30

Ala Asn Asn Asn Tyr Tyr Val Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Phe Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Asn Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Thr Ser Arg Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 492
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 492
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Arg Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Lys Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Arg Phe
50 55 60

```
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Gly Asp Thr Ser Ile Ser Ala Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Asp Leu Ala Ser Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Val Lys Asp Cys Gly Ser Gly Gly Leu Arg Asp Phe Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 493
<211> 112
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 493

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly
1               5                   10                  15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Asn Gln Asn Leu Leu Ser Ser
            20                  25                  30

Ser Asn Asn Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
        35                  40                  45

Leu Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65                  70                  75                  80
```

Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr
85 90 95

Tyr Ala Asn Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 494
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 494
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Arg Val Glu Val Lys Arg Pro Gly Thr
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Leu Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Leu Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Thr Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Arg Asp Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ala Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Met Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Cys Gly Arg Gly Gly Leu Arg Asp Ile Trp Gly Pro Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 495
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 495
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Asn Gln Asn Val Leu Ala Ser
20 25 30

Ser Asn Asp Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Phe Gln His Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Leu Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Ile Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Thr Asn Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Phe
100 105 110

Asn

<210> 496
<211> 119
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 496
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Thr
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Leu Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Leu Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ala Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Cys Gly Asn Ala Gly Leu Arg Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 497
<211> 114
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 497

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Asn Val Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Thr Ser Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu
100 105 110

Ile Glu

<210> 498
<211> 138
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 498
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile His Pro Gly Asp Ser Lys Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Leu Tyr Cys Ser Gly Gly Ser Cys Tyr Ser Asp Arg Ala Phe
100 105 110

Ser Ser Leu Gly Ala Gly Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Gly Val Trp
115 120 125

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
130 135

<210> 499
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 499
Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Gly Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 500
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 500
Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser
1 5

<210> 501
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 501
Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Ser Phe Asn
1 5

<210> 502
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 502
Ser Tyr Asp Ile Asn
1 5

<210> 503
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 503
Trp Met Asn Ala Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 504
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 504
Ser Ser Ile Leu Val Arg Gly Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp Leu
1 5 10 15

<210> 505
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 505
Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Gly Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 506
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 506
Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser
1 5

<210> 507
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 507
Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Ser Phe Asn
1 5

<210> 508
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 508
Ser Tyr Asp Ile Asn
1 5

<210> 509
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 509
Trp Met Asn Ala Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 510
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 510
Ser Ser Ile Leu Val Arg Gly Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp Leu
1 5 10 15

<210> 511
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 511
Arg Ala Ser Gln Phe Val Ser Arg Thr Ser Leu Ala
1 5 10

<210> 512
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 512
Glu Thr Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 513
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 513
His Lys Tyr Gly Ser Gly Pro Arg Thr
1 5

<210> 514
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 514
Asn Tyr Asp Phe Ile
1 5

<210> 515
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 515
Trp Met Asn Pro Asn Ser Tyr Asn Thr Gly Tyr Gly Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 516
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 516
Ala Val Arg Gly Gln Leu Leu Ser Glu Tyr
1 5 10

<210> 517
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 517
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 518
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 518
Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 519
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 519
Gln Lys Tyr Gly Ser Thr Pro Arg Pro
1 5

<210> 520
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 520
Ser Tyr Asp Ile Asn
1 5

<210> 521
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 521
Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Arg Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 522
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 522
Glu Arg Trp Ser Lys Asp Thr Gly His Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10 15

Val

<210> 523
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 523
Arg Ala Ser Leu Asp Ile Thr Asn His Leu Ala
1 5 10

<210> 524
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 524
Glu Ala Ser Ile Leu Gln Ser
1 5

<210> 525
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 525
Glu Lys Cys Asn Ser Thr Pro Arg Thr
1 5

<210> 526
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 526
Asn Tyr Asp Ile Asn
1 5

<210> 527
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 527
Trp Met Asn Pro Ser Ser Gly Arg Thr Gly Tyr Ala Pro Lys Phe Arg
1 5 10 15

Gly

<210> 528
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 528
Gly Gly Gly Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Asn Tyr His Ile Ser Gly Leu
1 5 10 15

Asp Val

<210> 529
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 529
Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ala Ile Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 530
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 530
Gly Val Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 531
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 531
Gln Leu Tyr Thr Ser Ser Arg Ala Leu Thr
1 5 10

<210> 532
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 532
Ala Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 533
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 533
Ser Ile Thr Lys Asn Ser Asp Ser Leu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 534
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 534
Leu Ala Ala Arg Ile Met Ala Thr Asp Tyr
1 5 10

<210> 535
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 535
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Gly Leu Gly
1 5 10

<210> 536
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 536
Pro Ala Ser Thr Leu Glu Ser
1 5

<210> 537
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 537

Leu Gln Asp His Asn Tyr Pro Pro Thr
1 5

<210> 538
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 538
Tyr Tyr Ser Met Ile
1 5

<210> 539
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 539
Ser Ile Asp Ser Ser Ser Arg Tyr Leu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 540
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 540

Asp Gly Asp Asp Ile Leu Ser Val Tyr Arg Gly Ser Gly Arg Pro Phe
1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 541
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 541
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Gly Leu Gly
1 5 10

<210> 542
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 542
Pro Ala Ser Thr Leu Glu Ser
1 5

<210> 543
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 543
Leu Gln Asp His Asn Tyr Pro Pro Ser

1 5

<210> 544
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 544
Tyr Tyr Ser Met Ile
1 5

<210> 545
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 545
Ser Ile Asp Ser Ser Ser Arg Tyr Arg Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 546
<211> 18
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 546
Asp Gly Asp Asp Ile Leu Ser Val Tyr Gln Gly Ser Gly Arg Pro Phe
1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 547
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 547
Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Thr Asn Val Ala
1 5 10

<210> 548
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 548
Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser
1 5

<210> 549
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 549
Leu Gln Tyr Asn Thr Trp Pro Arg Thr
1 5

<210> 550
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 550
Thr Asn Asp Met Ser
1 5

<210> 551
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 551
Thr Ile Ile Gly Ile Asp Asp Thr Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Arg
1 5 10 15

Gly

<210> 552
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 552
Asn Ser Gly Ile Tyr Ser Phe
1 5

<210> 553

<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 553
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Ser Ser Leu Ala
1 5 10

<210> 554
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 554
Ala Thr Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 555
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 555
Gln Gln Leu Asn Asn Tyr Val His Ser
1 5

<210> 556
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 556
Asp Tyr Ala Met Gly
1 5

<210> 557
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 557
Val Val Thr Gly His Ser Tyr Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 558
<211> 12
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 558
Arg Ile Trp Ser Tyr Gly Asp Asp Ser Phe Asp Val
1 5 10

<210> 559
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 559
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Asp Arg Leu Ala
1 5 10

<210> 560
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 560
Trp Ala Ser Asn Leu Glu Gly
1 5

<210> 561
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 561
Gln Gln Tyr Lys Ser Gln Trp Ser
1 5

<210> 562
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 562
Ser Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 563
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 563
Tyr Ile Ser Ser Ile Glu Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 564
<211> 13
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 564
Asp Arg Leu Val Asp Val Pro Leu Ser Ser Pro Asn Ser
1 5 10

<210> 565
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 565
Lys Ser Ser Gln Ser Ile Phe Arg Thr Ser Arg Asn Lys Asn Leu Leu
1 5 10 15

Asn

<210> 566
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 566
Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser
1 5

<210> 567
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 567
Gln Gln Tyr Phe Ser Pro Pro Tyr Thr
1 5

<210> 568
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 568
Ser Phe Trp Met His
1 5

<210> 569
<211> 17
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 569
Phe Thr Asn Asn Glu Gly Thr Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Arg
1 5 10 15

Gly

<210> 570
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 570
Gly Asp Gly Gly Leu Asp Asp
1 5

<210> 571
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 571
Arg Ala Ser Gln Phe Thr Asn His Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 572

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

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 572
Val Ala Ser Asn Leu Gln Ser
1 5

<210> 573
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 573
Gln Gln Ser Tyr Arg Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 574
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 574
Ser Gly Tyr Tyr Asn
1 5

<210> 575
<211> 16
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 575
Tyr Ile Leu Ser Gly Ala His Thr Asp Ile Lys Ala Ser Leu Gly Ser
1 5 10 15

<210> 576
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 576
Ser Gly Val Tyr Ser Lys Tyr Ser Leu Asp Val
1 5 10

<210> 577
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 577
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ile Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Gly Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Ala Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Gly Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Ser Phe
85 90 95

Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 578
<211> 124
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (1)..(1)
<223> /thay thế="Glu"

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (2)..(2)
<223> /thay thế="Ile" hoặc "Val"

<220>
<221> ĐIỂM
<222> (1)..(124)
<223> /lưu ý="các gốc biến thể nêu trong trình tự không có
ưu tiên đối với các gốc trong chú thích
cho các vị trí biến thể"

<400> 578
Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr

20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Met Asn Ala Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Gly Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Ser Ile Leu Val Arg Gly Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp
100 105 110

Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 579
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 579
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ile Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Gly Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Ala Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

```
Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Asp Asp Phe Gly Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Ser Phe
                85                  90                  95

Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 580
<211> 453
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 580
Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Met Asn Ala Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Gly Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Ser Ile Leu Val Arg Gly Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp
100 105 110

Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
130 135 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175

```
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
225                 230                 235                 240

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                245                 250                 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
            260                 265                 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
        275                 280                 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305                 310                 315                 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
                325                 330                 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
            340                 345                 350

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
        355                 360                 365
```

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly
450

<210> 581
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 581
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ile Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Gly Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Ala Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Gly Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Ser Phe
85 90 95

Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Cys Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 582
<211> 453
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<220>
<221> BIẾN THỂ
<222> (2)..(2)
<223> /thay thế="Ile" hoặc "Val"

<220>
<221> ĐIỂM
<222> (1)..(453)
<223> /lưu ý="các gốc biến thể nêu trong trình tự không có
ưu tiên đối với các gốc trong chú thích
cho các vị trí biến thể"

<400> 582

Glu	Met	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5				10						15	

Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Glu	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Leu	Thr	Ser	Tyr
			20					25					30		

Asp	Ile	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Thr	Gly	Gln	Gly	Pro	Glu	Trp	Met
		35					40					45			

Gly	Trp	Met	Asn	Ala	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Gly	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				

Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Gly	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
65				70					75						80

Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	

Ala	Arg	Ser	Ser	Ile	Leu	Val	Arg	Gly	Ala	Leu	Gly	Arg	Tyr	Phe	Asp
			100					105					110		

Leu	Trp	Gly	Arg	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys
		115					120					125			

```
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
    130                 135                 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
225                 230                 235                 240

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                245                 250                 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
            260                 265                 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
        275                 280                 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305                 310                 315                 320
```

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
325 330 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
340 345 350

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly
450

<210> 583
<211> 453
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<220>
<221> BIẾN THỂ

<222> (2)..(2)
<223> /thay thế="Ile" hoặc "Val"

<220>
<221> ĐIỂM
<222> (1)..(453)
<223> /lưu ý="các gốc biến thể nêu trong trình tự không có
ưu tiên đối với các gốc trong chú thích
cho các vị trí biến thể"

<400> 583

Glu	Met	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	

Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Glu	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Leu	Thr	Ser	Tyr
			20					25					30		

Asp	Ile	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Thr	Gly	Gln	Gly	Pro	Glu	Trp	Met
		35					40					45			

Gly	Trp	Met	Asn	Ala	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Gly	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				

Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Gly	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
65				70					75					80	

Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	

Ala	Arg	Ser	Ser	Ile	Leu	Val	Arg	Gly	Ala	Leu	Gly	Arg	Tyr	Phe	Asp
			100					105					110		

Leu	Trp	Gly	Arg	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Cys	Ser	Thr	Lys
		115					120					125			

Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly
	130					135					140				

Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro
145				150					155					160	

```
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
225                 230                 235                 240

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                245                 250                 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
            260                 265                 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
        275                 280                 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305                 310                 315                 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
                325                 330                 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
            340                 345                 350
```

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly
450

<210> 584
<211> 7
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 584
Gly Glu Gly Gly Leu Asp Asp
1 5

<210> 585
<211> 113
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 585
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Ile Phe Arg Thr
20 25 30

Ser Arg Asn Lys Asn Leu Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Arg Leu Leu Ile His Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Phe Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Thr Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Phe Ser Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 586
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 586

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Phe
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Ile
35 40 45

Ser Phe Thr Asn Asn Glu Gly Thr Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asp Gly Gly Leu Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 587
<211> 220
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 587
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Ile Phe Arg Thr
20 25 30

```
Ser Arg Asn Lys Asn Leu Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
        35                  40                  45

Pro Pro Arg Leu Leu Ile His Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
    50                  55                  60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Phe Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65                  70                  75                  80

Ile Thr Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln
                85                  90                  95

Tyr Phe Ser Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
            100                 105                 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
        115                 120                 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
    130                 135                 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145                 150                 155                 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
                165                 170                 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
            180                 185                 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
        195                 200                 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215                 220
```

<210> 588
<211> 445
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 588
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Phe
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Ile
35 40 45

Ser Phe Thr Asn Asn Glu Gly Thr Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Glu Gly Gly Leu Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 589
<211> 220
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 589
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Ile Phe Arg Thr
20 25 30

Ser Arg Asn Lys Asn Leu Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Arg Leu Leu Ile His Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Phe Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Thr Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Phe Ser Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 590
<211> 444
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 590
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Phe
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Ile
35 40 45

Ser Phe Thr Asn Asn Glu Gly Thr Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Glu Gly Gly Leu Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

```
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
            180                 185                 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
        195                 200                 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
    210                 215                 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225                 230                 235                 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                245                 250                 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
            260                 265                 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
    290                 295                 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305                 310                 315                 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
                325                 330                 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
            340                 345                 350

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
        355                 360                 365
```

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440

<210> 591
<211> 448
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 591
Gln Met Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Ser Cys Ser Val Ser Gly Ala Ser Ala Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Asn Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Gly Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Ala Tyr Ile Leu Ser Gly Ala His Thr Asp Ile Lys Ala Ser Leu Gly
50 55 60

Ser Arg Val Ala Val Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Thr Leu
65 70 75 80

```
Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Arg Ser Gly Val Tyr Ser Lys Tyr Ser Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270
```

```
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
```

<210> 592
<211> 450
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 592
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Ala Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Ser Val Val Thr Gly His Ser Tyr Arg Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Arg Ile Trp Ser Tyr Gly Asp Asp Ser Phe Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

```
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
            180                 185                 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
        195                 200                 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
    210                 215                 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225                 230                 235                 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
                245                 250                 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
            260                 265                 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
        275                 280                 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
    290                 295                 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305                 310                 315                 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
                325                 330                 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
            340                 345                 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
        355                 360                 365
```

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly
450

<210> 593
<211> 450
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 593
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ile Glu Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Arg Leu Val Asp Val Pro Leu Ser Ser Pro Asn Ser Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

256

```
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
            260                 265                 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
        275                 280                 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
    290                 295                 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305                 310                 315                 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
                325                 330                 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
            340                 345                 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
        355                 360                 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
    370                 375                 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385                 390                 395                 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
                405                 410                 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
            420                 425                 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
        435                 440                 445
```

Pro Gly
450

<210> 594
<211> 445
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 594
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Phe
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Ile
35 40 45

Ser Phe Thr Asn Asn Glu Gly Thr Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asp Gly Gly Leu Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

```
    130                 135                 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145                 150                 155                 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
                165                 170                 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
            180                 185                 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
        195                 200                 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
    210                 215                 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225                 230                 235                 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                245                 250                 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
            260                 265                 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
    290                 295                 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305                 310                 315                 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
                325                 330                 335
```

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 595
<211> 453
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 595
Glu Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr
20 25 30

```
Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Trp Met Asn Ala Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Gly Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Ser Ser Ile Leu Val Arg Gly Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp
            100                 105                 110

Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
    130                 135                 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
```

225 230 235 240

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
245 250 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
260 265 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
275 280 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
290 295 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305 310 315 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
325 330 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
340 345 350

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly
450

<210> 596
<211> 453
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 596
Glu Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Met Asn Ala Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Gly Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Ser Ile Leu Val Arg Gly Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp
100 105 110

```
Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
    130                 135                 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
225                 230                 235                 240

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                245                 250                 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
            260                 265                 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
        275                 280                 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
```

305 310 315 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
325 330 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
340 345 350

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly
450

<210> 597
<211> 453
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 597
Glu Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Met Asn Ala Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Gly Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Ser Ile Leu Val Arg Gly Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp
100 105 110

Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr Lys
115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
130 135 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190

```
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
225                 230                 235                 240

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                245                 250                 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
            260                 265                 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
        275                 280                 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305                 310                 315                 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
                325                 330                 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
            340                 345                 350

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
        355                 360                 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
    370                 375                 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
```

385 390 395 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly
450

<210> 598
<211> 453
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 598
Glu Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Met Asn Ala Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Gly Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

```
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Ser Ser Ile Leu Val Arg Gly Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp
            100                 105                 110

Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
    130                 135                 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
225                 230                 235                 240

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                245                 250                 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
            260                 265                 270
```

```
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
        275                 280                 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305                 310                 315                 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
                325                 330                 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
            340                 345                 350

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
        355                 360                 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
    370                 375                 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385                 390                 395                 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
                405                 410                 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
            420                 425                 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 599

<211> 453
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 599
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Met Asn Ala Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Gly Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Ser Ile Leu Val Arg Gly Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp
100 105 110

Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr Lys
115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
130 135 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

```
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
225                 230                 235                 240

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                245                 250                 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
            260                 265                 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
        275                 280                 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305                 310                 315                 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
                325                 330                 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
            340                 345                 350
```

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly
450

<210> 600
<211> 453
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 600
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
35 40 45

```
Gly Trp Met Asn Ala Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Gly Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Ser Ser Ile Leu Val Arg Gly Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp
            100                 105                 110

Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
    130                 135                 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
225                 230                 235                 240
```

```
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                245                 250                 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
            260                 265                 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
        275                 280                 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305                 310                 315                 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
                325                 330                 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
            340                 345                 350

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
        355                 360                 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
    370                 375                 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385                 390                 395                 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
                405                 410                 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
            420                 425                 430
```

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly
450

<210> 601
<211> 220
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 601
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Ile Phe Arg Thr
20 25 30

Ser Arg Asn Lys Asn Leu Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Arg Leu Leu Ile His Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Phe Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Thr Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Phe Ser Pro Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205

Ser Pro Cys Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 602
<211> 445
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 602
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Phe
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Ile
35 40 45

```
Ser Phe Thr Asn Asn Glu Gly Thr Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Arg Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Gly Asp Gly Gly Leu Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
        115                 120                 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
    130                 135                 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145                 150                 155                 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
                165                 170                 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
            180                 185                 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
        195                 200                 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
    210                 215                 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225                 230                 235                 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
```

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 603
<211> 445
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 603
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Phe
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Ile
35 40 45

Ser Phe Thr Asn Asn Glu Gly Thr Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Glu Gly Gly Leu Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Cys Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

```
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145                 150                 155                 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
                165                 170                 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
            180                 185                 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
        195                 200                 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
    210                 215                 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225                 230                 235                 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                245                 250                 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
            260                 265                 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
    290                 295                 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305                 310                 315                 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
                325                 330                 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
```

340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 604
<211> 330
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 604
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

```
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240
```

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 605
<211> 330
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 605
Cys Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

```
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
            100                 105                 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
        115                 120                 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
    130                 135                 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145                 150                 155                 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255
```

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 606
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 606
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 607
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 607
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Cys Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 608
<211> 116
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 608
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Phe
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Ile
35 40 45

Ser Phe Thr Asn Asn Glu Gly Thr Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Glu Gly Gly Leu Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 609
<211> 445
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 609
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Ser Phe
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Ile
35 40 45

Ser Phe Thr Asn Asn Glu Gly Thr Thr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Met Asn Asn Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Glu Gly Gly Leu Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

```
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
            180                 185                 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
        195                 200                 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
    210                 215                 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225                 230                 235                 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                245                 250                 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
            260                 265                 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
    290                 295                 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305                 310                 315                 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
                325                 330                 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
            340                 345                 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
        355                 360                 365
```

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 610
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 610
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ile Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Gly Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Ala Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

```
Asp Asp Phe Gly Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Ser Phe
                85                  90                  95

Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210


<210> 611
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"


<400> 611
```

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                  10                  15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Phe Val Ser Arg Thr
            20                  25                  30

Ser Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45

Ile Tyr Glu Thr Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80

Pro Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys His Lys Tyr Gly Ser Gly Pro
                85                  90                  95

Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Val Lys Arg Thr Val Ala
            100                 105                 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
        115                 120                 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
    130                 135                 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145                 150                 155                 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
                165                 170                 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
            180                 185                 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
```

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 612
<211> 215
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 612
Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Val Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Gly Ser Thr Pro
85 90 95

Arg Pro Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 613
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 613
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Ser Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Leu Asp Ile Thr Asn His
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Glu Leu Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Ile Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Glu Lys Cys Asn Ser Thr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 614
<211> 216
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 614
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ala Ile
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Glu Pro Gly Arg Ala Pro Thr Leu Leu
35 40 45

Phe Tyr Gly Val Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Cys Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Leu Tyr Thr Ser Ser Arg
85 90 95

Ala Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
115 120 125

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
130 135 140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
145 150 155 160

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
165 170 175

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
180 185 190

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 615
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 615
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Gly
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Pro Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Asp Arg Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp His Asn Tyr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

```
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210


<210> 616
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"


<400> 616
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Gly
            20                  25                  30
```

```
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Pro Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Asp Arg Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp His Asn Tyr Pro Pro
                85                  90                  95

Ser Phe Ser Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 617

<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 617
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Arg His Lys Ala Gly Gln Ala Pro Met Ile Leu Val
35 40 45

Ser Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Ala Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asn Thr Trp Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Val Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 618
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 618
Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Leu Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Ser Ser
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Thr Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Phe Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Thr Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Asn Tyr Val His

85 90 95

Ser Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 619
<211> 213
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 619
Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

```
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Asp Arg
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Trp Ala Ser Asn Leu Glu Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Thr Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ala Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Asp Asp Leu Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Gln Trp Ser
                85                  90                  95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
            100                 105                 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
        115                 120                 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
    130                 135                 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145                 150                 155                 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
                165                 170                 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
            180                 185                 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
        195                 200                 205
```

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 620
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 620
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Phe Thr Asn His Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu Met Ile
35 40 45

Ser Val Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Glu Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Arg Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Ser Arg Leu Glu Met Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

305

```
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 621
<211> 453
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 621

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Ser Tyr
            20                  25                  30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
        35                  40                  45

Gly Trp Met Asn Ala Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60
```

```
Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Gly Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Gly Ser Ser Ile Leu Val Arg Gly Ala Leu Gly Arg Tyr Phe Asp
            100                 105                 110

Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
        115                 120                 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
    130                 135                 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
                165                 170                 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
            180                 185                 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
        195                 200                 205

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
    210                 215                 220

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
225                 230                 235                 240

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
                245                 250                 255

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
```

```
            260                 265                 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
        275                 280                 285

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
    290                 295                 300

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305                 310                 315                 320

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
                325                 330                 335

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
            340                 345                 350

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
        355                 360                 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
    370                 375                 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385                 390                 395                 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
                405                 410                 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
            420                 425                 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
        435                 440                 445

Ser Leu Ser Pro Gly
    450
```

<210> 622
<211> 448
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 622
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Ile Ile Asn Tyr
20 25 30

Asp Phe Ile Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Tyr Asn Thr Gly Tyr Gly Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Trp Asp Ser Ser Met Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Val Arg Gly Gln Leu Leu Ser Glu Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

```
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
                                    310
```

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 623
<211> 455
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 623
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

```
Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Arg Phe
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Leu Thr Met Thr Lys Asn Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Thr Glu Arg Trp Ser Lys Asp Thr Gly His Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
            100                 105                 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
        115                 120                 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
    130                 135                 140

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
145                 150                 155                 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
                165                 170                 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
            180                 185                 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
        195                 200                 205

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
    210                 215                 220

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
225                 230                 235                 240
```

```
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
                245                 250                 255

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
            260                 265                 270

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
        275                 280                 285

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
    290                 295                 300

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
305                 310                 315                 320

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
                325                 330                 335

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
            340                 345                 350

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
        355                 360                 365

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
    370                 375                 380

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
385                 390                 395                 400

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
                405                 410                 415

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
            420                 425                 430

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
```

435 440 445

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
450 455

<210> 624
<211> 456
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 624
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Val Ser Asn Tyr
20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Met Asn Pro Ser Ser Gly Arg Thr Gly Tyr Ala Pro Lys Phe
50 55 60

Arg Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Ser Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Gly Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Asn Tyr His Ile Ser
100 105 110

Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120 125

```
Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
    130                 135                 140

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
145                 150                 155                 160

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
                165                 170                 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
            180                 185                 190

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
        195                 200                 205

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
    210                 215                 220

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
225                 230                 235                 240

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
                245                 250                 255

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
            260                 265                 270

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
        275                 280                 285

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
    290                 295                 300

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
305                 310                 315                 320
```

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
325 330 335

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
340 345 350

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
355 360 365

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
370 375 380

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
385 390 395 400

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
405 410 415

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
420 425 430

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
435 440 445

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
450 455

<210> 625
<211> 448
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 625
Gln Ile Thr Leu Lys Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ile Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Pro Phe Ser Ala Tyr
            20                  25                  30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Ser Ile Thr Lys Asn Ser Asp Ser Leu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Gly Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Thr Leu Ala Ala Arg Ile Met Ala Thr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205
```

```
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
                245                 250                 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
        275                 280                 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
    290                 295                 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305                 310                 315                 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
                325                 330                 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
            340                 345                 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
        355                 360                 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400
```

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 626
<211> 456
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 626
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asp Tyr Tyr
20 25 30

Ser Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Asp Ser Ser Ser Arg Tyr Leu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Gln Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Gly Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Gly Asp Asp Ile Leu Ser Val Tyr Arg Gly Ser Gly Arg
100 105 110

```
Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
        115                 120                 125

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
    130                 135                 140

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
145                 150                 155                 160

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
                165                 170                 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
            180                 185                 190

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
        195                 200                 205

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
    210                 215                 220

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
225                 230                 235                 240

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
                245                 250                 255

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
            260                 265                 270

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
        275                 280                 285

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
    290                 295                 300
```

```
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
305                 310                 315                 320

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                325                 330                 335

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
            340                 345                 350

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
        355                 360                 365

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
    370                 375                 380

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
385                 390                 395                 400

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
                405                 410                 415

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
            420                 425                 430

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
        435                 440                 445

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    450                 455
```

<210> 627
<211> 456
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 627
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Asn Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ser Phe Asn Tyr Tyr
20 25 30

Ser Met Ile Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Asp Ser Ser Ser Arg Tyr Arg Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Gln Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ala Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Gly Asp Asp Ile Leu Ser Val Tyr Gln Gly Ser Gly Arg
100 105 110

Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120 125

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
130 135 140

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
145 150 155 160

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
165 170 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
180 185 190

```
Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
        195                 200                 205

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
    210                 215                 220

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
225                 230                 235                 240

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
                245                 250                 255

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
            260                 265                 270

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
        275                 280                 285

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
    290                 295                 300

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
305                 310                 315                 320

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                325                 330                 335

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
            340                 345                 350

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
        355                 360                 365

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
    370                 375                 380
```

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
385 390 395 400

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
405 410 415

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
420 425 430

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
435 440 445

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
450 455

<210> 628
<211> 445
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: polypeptit tổng hợp"

<400> 628
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Gly Gly Leu Glu Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Asn
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Gln Trp Val
35 40 45

Ser Thr Ile Ile Gly Ile Asp Asp Thr Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Met Val Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Lys Asn Ser Gly Ile Tyr Ser Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

325

```
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
    290                 295                 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305                 310                 315                 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
                325                 330                 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
            340                 345                 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
        355                 360                 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
    370                 375                 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385                 390                 395                 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
                405                 410                 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
            420                 425                 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445
```

<210> 629
<211> 351
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 629
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgacactc 60

tcctgtacag cctctggatt ctcctttagc agctatgtca tgagctgggt ccgccagtct 120

cctgggaagg ggctggagtg ggtctcagct attggtggta gtggtactag tacatactac 180

agagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgaat 240

ctgcaaatga gcagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gagagatggg 300

ctggggcacc gggactactg gggccaggga accctggtca ccgtctcctc a 351

<210> 630
<211> 117
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 630
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Val Met Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Gly Gly Ser Gly Thr Ser Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asn

65 70 75 80

Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Gly Leu Gly His Arg Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 631
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 631
ggattctcct ttagcagcta tgtc 24

<210> 632
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 632
Gly Phe Ser Phe Ser Ser Tyr Val
1 5

<210> 633
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 633
attggtggta gtggtactag taca 24

<210> 634
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 634
Ile Gly Gly Ser Gly Thr Ser Thr
1 5

<210> 635
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 635
gcgagagatg ggctggggca ccgggactac 30

<210> 636
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 636

Ala Arg Asp Gly Leu Gly His Arg Asp Tyr
1 5 10

<210> 637
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 637
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattaac agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggttc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctccagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccattcac tttcggccct 300

gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 638
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 638
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asn Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 639
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 639
cagggtatta acagctgg 18

<210> 640
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 640
Gln Gly Ile Asn Ser Trp
1 5

<210> 641
<211> 9

<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 641
gctgcatcc 9

<210> 642
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 642
Ala Ala Ser
1

<210> 643
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 643
caacaggcta acagtttccc attcact 27

<210> 644
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 644
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 645
<211> 990
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng hIgG1 (WT) NA

<400> 645
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 360

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 420

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 720

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960

cagaagtccc tctccctgtc tccgggtaaa 990

<210> 646
<211> 330
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng hIgG1 (WT)

<400> 646

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5				10					15		
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
		35					40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
	50					55					60				
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70					75					80
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
				85					90					95	
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
			100					105					110		
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
		115					120					125			
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
	130					135					140				
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150					155					160

```
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
                165                 170                 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
            180                 185                 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
        195                 200                 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
    210                 215                 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225                 230                 235                 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
                245                 250                 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
            260                 265                 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
        275                 280                 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
    290                 295                 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305                 310                 315                 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                325                 330
```

<210> 647
<211> 990
<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> chuỗi nặng hIgG1 */* đột biến NA

<400> 647
gcctcaacta agggcccaag cgtctttcca ttggctccat ccagtaaatc aacttcaggg 60

gggaccgcag ctctggggtg cctcgtgaag gactacttcc ctgaacctgt cacagtctcc 120

tggaactccg gggctctgac cagcggagtt cacacctttc ctgccgtgct tcagtcttcc 180

gggctgtact cattgagcag tgtcgttact gtaccatcct cctccctggg tactcaaacc 240

tacatctgta atgtgaacca caagccctcc aacaccaagg ttgacaaaaa ggtggaacca 300

aagagttgtg ataagactca tacctgcccc ccatgtcctg cccccgagct gctgggagga 360

ccttcagtgt tcttgttccc tcccaaacca aaagacactt tgatgatttc acgaacccct 420

gaagtgacct gtgtggtggt cgatgtcagc cacgaagacc ctgaagttaa gtttaactgg 480

tatgtggatg gcgtagaggt tcacaacgct aagactaaac ccagagagga gcaatataat 540

agtacctata gggtcgtgtc tgtgctgaca gtcttgcatc aggactggct taacggtaag 600

gagtacaagt gtaaggtgtc aaacaaggca ctgcctgcac ctatcgagaa gaccatctct 660

aaggccaaag gtcaaccaag ggagccccag gtatatactt tgccaccctc tcgggacgag 720

ctgacaaaaa atcaggtgag tctgacctgt ctcgtgaaag gattttaccc tagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagtaa tggccagccc gagaataact acaagaccac cccaccagtt 840

ctggactctg acgggtcttt cttcctttat agtaagctga ccgtagataa gtctcgctgg 900

cagcaaggca atgtattctc ttgcagtgtc atgcacgagg ccctccataa ccgattcacc 960

caaaaatctc tgtctctgtc tcctggaaag 990

<210> 648
<211> 330
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng hIgG1 */* Đột biến (H435R,Y436F)

<400> 648
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 649
<211> 378
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 649
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag tgtctggact catcttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180

gtagactccg tgaagggccg cttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag aggcgaggac acggctatat attactgtgc gagagatcgg 300

agagggctgg aactatttaa ctactactac cacggtttgg acgtctgggg ccaagggacc 360

acggtcaccg tctcctca 378

<210> 650
<211> 126
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 650
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Leu Ile Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Arg Arg Gly Leu Glu Leu Phe Asn Tyr Tyr Tyr His Gly

100 105 110

Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 651
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 651
ggactcatct tcagtaacta tggc 24

<210> 652
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 652
Gly Leu Ile Phe Ser Asn Tyr Gly
1 5

<210> 653
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 653
atatggtatg atggaagtaa taaa 24

<210> 654
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 654
Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5

<210> 655
<211> 57
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 655
gcgagagatc ggagagggct ggaactattt aactactact accacggttt ggacgtc 57

<210> 656
<211> 19
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 656
Ala Arg Asp Arg Arg Gly Leu Glu Leu Phe Asn Tyr Tyr Tyr His Gly
1 5 10 15

Leu Asp Val

<210> 657
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 657
gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggcattagc aatttttag cctggtttca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccattcac tttcggccct 300

gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 658
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 658
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Phe
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 659
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 659
cagggcatta gcaatttt 18

<210> 660
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 660
Gln Gly Ile Ser Asn Phe
1 5

<210> 661
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 661
gctgcatcc 9

<210> 662
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 662
Ala Ala Ser
1

<210> 663
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 663
caacagtata atagttaccc attcact 27

<210> 664
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 664
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 665
<211> 1371
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 665
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag tgtctggact catcttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180

gtagactccg tgaagggccg cttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag aggcgaggac acggctatat attactgtgc gagagatcgg 300

agagggctgg aactatttaa ctactactac cacggtttgg acgtctgggg ccaagggacc 360

acggtcaccg tctcctcagc ctcaacaaaa ggtccctcag tctttcctct tgctccatcc 420

tccaaaagta catcaggagg taccgcagcc cttggatgcc tcgtcaagga ttattttccc 480

gaaccagtta ccgtttcctg gaactcaggc gctctcacct ctggagtaca tacttttcct 540

gcagtcctcc aatcctctgg cctttactcc ctttctagcg tagtaaccgt accatcatca 600

tccctcggaa cccaaactta tatctgtaat gttaatcaca aacccagcaa caccaaagta 660

gacaaaaaag ttgaacctaa atcatgcgat aaaacccaca cttgcccccc ctgtccagca 720

ccagaactcc ttggcggccc ctcagttttc ctttttccac caaagcccaa agacaccctt 780

atgatctcca gaacccccga agttacatgc gtagtcgttg acgtttctca cgaagatcca 840

gaagtcaaat tcaattggta cgttgatggc gttgaagtcc ataatgcaaa aacaaaaccc 900

cgagaagaac agtacaattc aacatatcga gtagttagcg tacttacagt tctgcaccaa 960

gattggctga acggaaaaga atataaatgt aaagtctcta acaaagcact ccctgcccca 1020

attgaaaaaa caatctcaaa agccaaaggc caacctcgcg aacctcaggt ttacacactt 1080

cccccctccc gcgacgaact gactaaaaac caggtttcct tgacatgcct tgtaaaaggt 1140

ttttaccccct ccgatatcgc cgtagaatgg gaatctaatg gacaaccaga aaacaattac 1200

aaaactaccc ctcctgtgct cgattccgat ggctcttttt tcctctattc taagctcacc 1260

gttgacaagt ctcgttggca gcagggaaac gtattcagtt gcagcgtcat gcacgaagcc 1320

cttcataata gattcaccca aaagtctctt tctctctctc ctggtaagta g 1371

<210> 666
<211> 456
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 666
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Leu Ile Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Gly Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Arg Arg Gly Leu Glu Leu Phe Asn Tyr Tyr Tyr His Gly
100 105 110

```
Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
        115                 120                 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
    130                 135                 140

Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
145                 150                 155                 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
                165                 170                 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
            180                 185                 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
        195                 200                 205

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
    210                 215                 220

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
225                 230                 235                 240

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
                245                 250                 255

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
            260                 265                 270

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
        275                 280                 285

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
    290                 295                 300
```

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
305 310 315 320

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
325 330 335

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
340 345 350

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
355 360 365

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
370 375 380

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
385 390 395 400

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
405 410 415

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
420 425 430

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys
435 440 445

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 667
<211> 645
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 667
gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggcattagc aatttttag cctggtttca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt acccattcac tttcggccct 300

gggaccaaag tggatatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 645

<210> 668
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 668
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Phe
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

```
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Phe
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 669
<211> 354
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 669
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ctggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttaac agctatgcca tgagctggtt ccgccagact 120

ccagggaagg ggctggagtg gctctcagct atgactggta gtggtggtaa cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acaacctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc ggtggataca 300

accatggccc actttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 670
<211> 118
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 670
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Phe Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Ser Ala Met Thr Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Val Asp Thr Thr Met Ala His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 671
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 671
ggattcacct ttaacagcta tgcc 24

<210> 672
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 672
Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr Ala
1 5

<210> 673
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 673
atgactggta gtggtggtaa caca 24

<210> 674
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 674
Met Thr Gly Ser Gly Gly Asn Thr
1 5

<210> 675
<211> 33
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 675
gcggtggata caaccatggc ccactttgac tac 33

<210> 676
<211> 11
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 676
Ala Val Asp Thr Thr Met Ala His Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 677
<211> 321
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 677
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcttccactt tacaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacgg attaacagtt tcccattcac tttcggccct 300

gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 678
<211> 107
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 678
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Ile Asn Ser Phe Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 679
<211> 18
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 679
cagggtatta gcagctgg 18

<210> 680
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 680
Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 681
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 681
gctgcttcc 9

<210> 682
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 682
caacggatta acagtttccc attcact 27

<210> 683
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 683
Gln Arg Ile Asn Ser Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 684
<211> 1347
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 684
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ctggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttaac agctatgcca tgagctggtt ccgccagact 120

ccagggaagg ggctggagtg gctctcagct atgactggta gtggtggtaa cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acaacctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc ggtggataca 300

accatggccc actttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctcagcctca 360

acaaaaggtc cctcagtctt tcctcttgct ccatcctcca aaagtacatc aggaggtacc 420

gcagcccttg gatgcctcgt caaggattat tttcccgaac cagttaccgt ttcctggaac 480

tcaggcgctc tcacctctgg agtacatact tttcctgcag tcctccaatc ctctggcctt 540

tactcccttt ctagcgtagt aaccgtacca tcatcatccc tcggaaccca aacttatatc 600

tgtaatgtta atcacaaacc cagcaacacc aaagtagaca aaaaagttga acctaaatca 660

tgcgataaaa cccacacttg ccccccctgt ccagcaccag aactccttgg cggcccctca 720

gttttccttt ttccaccaaa gcccaaagac acccttatga tctccagaac ccccgaagtt 780

acatgcgtag tcgttgacgt ttctcacgaa gatccagaag tcaaattcaa ttggtacgtt 840

gatggcgttg aagtccataa tgcaaaaaca aaaccccgag aagaacagta caattcaaca 900

tatcgagtag ttagcgtact tacagttctg caccaagatt ggctgaacgg aaaagaatat 960

aaatgtaaag tctctaacaa agcactccct gccccaattg aaaaaacaat ctcaaaagcc 1020

aaaggccaac ctcgcgaacc tcaggtttac acacttcccc cctcccgcga cgaactgact 1080

aaaaaccagg tttccttgac atgccttgta aaaggttttt acccctccga tatcgccgta 1140

gaatgggaat ctaatggaca accagaaaac aattacaaaa ctacccctcc tgtgctcgat 1200

tccgatggct ctttttttcct ctattctaag ctcaccgttg acaagtctcg ttggcagcag 1260

ggaaacgtat tcagttgcag cgtcatgcac gaagcccttc ataatagatt cacccaaaag 1320

tctctttctc tctctcctgg taagtag 1347

<210> 685

<211> 448
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 685
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Phe Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Ser Ala Met Thr Gly Ser Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Val Asp Thr Thr Met Ala His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

```
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
                165                 170                 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
            180                 185                 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
        195                 200                 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
    210                 215                 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225                 230                 235                 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
                245                 250                 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
            260                 265                 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
        275                 280                 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
    290                 295                 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305                 310                 315                 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
                325                 330                 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
            340                 345                 350
```

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 686
<211> 645
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 686
gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcttccactt tacaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacgg attaacagtt tcccattcac tttcggccct 300

gggaccaaag tggatatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 645

<210> 687
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="Tổng hợp"

<400> 687
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Ile Asn Ser Phe Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 688
<211> 9
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 688
His His His His His His His His His
1 5

<210> 689
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn

<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 689
His His His His His His
1 5

<210> 690
<211> 5
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<221> nguồn
<223> /lưu ý="mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"

<400> 690
His His His His His
1 5