



(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) 
1-0019798

(51)⁷ **A61K 47/48, C07D 487/04, A61P 35/00** (13) **B**

-
- | | | | |
|------|--|---------------|--------------------|
| (21) | 1-2012-02719 | (22) | 15.04.2011 |
| (86) | PCT/US2011/032632 | 15.04.2011 | (87) WO2011/130598 |
| (30) | 1006341.0 | 15.04.2010 GB | 20.10.2011 |
| | 1016802.9 | 06.10.2010 GB | |
| (45) | 25.09.2018 | 366 | (43) 27.05.2013 |
| (73) | MEDIMMUNE LIMITED (GB) | 302 | |
| | Milstein Building, Granta Park, Cambridge CB21 6GH, England. | | |
| (72) | HOWARD, Philip, Wilson (GB), MASTERSON, Luke (GB), TIBERGHIE, Arnaud (FR), FLYGARE, John, A. (US), GUNZNER, Janet, L. (US), POLAKIS, Paul (US), POLSON, Andrew (US), RAAB, Helga, E. (DE), SPENCER, Susan, D. (US) | | |
| (74) | Công ty TNHH Tâm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.) | | |
-

(54) **THỂ LIÊN HỢP CHỨA HỢP CHẤT PYROLOBENZODIAZEPIN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA THỂ LIÊN HỢP NÀY .**

(57) Sáng chế đề cập đến thể liên hợp và hợp chất dùng để tạo ra thể liên hợp mà là phân tử PBD được liên kết thông qua vị trí N10, và thể liên hợp này được sử dụng để điều trị các bệnh tăng sinh, bao gồm bệnh ung thư.

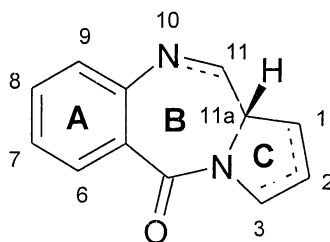
Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất pyrolobenzodiazepin (PBD), cụ thể là hợp chất pyrolobenzodiazepin có nhóm bảo vệ N10 không bền, ở dạng nhóm liên kết với chất gắn kết tế bào.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

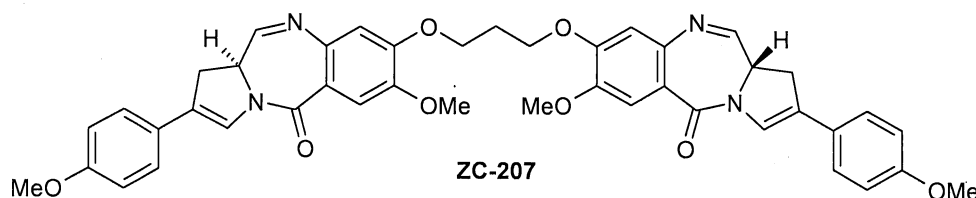
Hợp chất pyrolobenzodiazepin

Một số hợp chất pyrolobenzodiazepin (PBD) có khả năng nhận biết và gắn kết với các trình tự ADN đặc hiệu; trình tự được ưu tiên là PuGPu. Chất kháng sinh chống khối u chứa PBD đầu tiên, anthramyxin, được phát hiện vào năm 1965 (Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5793-5795 (1965); Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5791-5793 (1965)). Kể từ đó, nhiều PBD có trong tự nhiên đã được ghi nhận, và hơn 10 quy trình tổng hợp đã được phát triển cho nhiều chất tương tự (Thurston, et al., Chem. Rev. 1994, 433-465 (1994)). Các thành viên của họ này bao gồm abbeymyxin (Hochlowski, et al., J. Antibiotics, 40, 145-148 (1987)), chicamyxin (Konishi, et al., J. Antibiotics, 37, 200-206 (1984)), DC-81 (Patent Nhật Bản số 58-180 487; Thurston, et al., Chem. Brit., 26, 767-772 (1990); Bose, et al., Tetrahedron, 48, 751-758 (1992)), mazethramyxin (Kuminoto, et al., J. Antibiotics, 33, 665-667 (1980)), neothramyxin A và B (Takeuchi, et al., J. Antibiotics, 29, 93-96 (1976)), porothramyxin (Tsunakawa, et al., J. Antibiotics, 41, 1366-1373 (1988)), prothracarxin (Shimizu, et al., J. Antibiotics, 29, 2492-2503 (1982); Langley and Thurston, J. Org. Chem., 52, 91-97 (1987)), sibanomixin (DC-102) (Hara, et al., J. Antibiotics, 41, 702-704 (1988); Itoh, et al., J. Antibiotics, 41, 1281-1284 (1988)), sibiromyxin (Leber, et al., J. Am. Chem. Soc., 110, 2992-2993 (1988)) và tomamyxin (Arima, et al., J. Antibiotics, 25, 437-444 (1972)). Các hợp chất PBD có cấu trúc chung như sau:



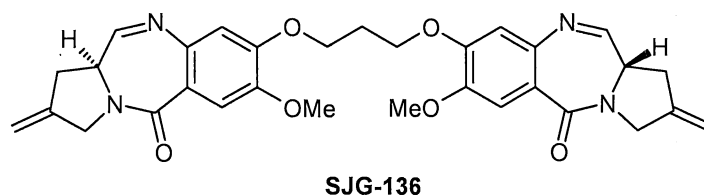
Chúng khác nhau về số lượng, loại và vị trí của các phần tử thế, ở cả các vòng A thơm và các vòng C pyrolo của chúng, và ở mức độ no của vòng C. Ở vòng B, có imin ($N=C$), carbinolamin ($NH-CH(OH)$) hoặc carbinolamin metyl ete ($NH-CH(OMe)$) tại vị trí N10-C11, là tâm ái điện tử chịu trách nhiệm cho việc alkyl hóa ADN. Tất cả các sản phẩm tự nhiên đã biết đều có cấu hình (*S*) tại vị trí C11a không đối xứng mà tạo ra cho chúng vòng xoắn theo chiều tay phải khi được nhìn từ vòng C hướng tới vòng A. Điều này mang lại cho chúng hình dạng ba chiều thích hợp cho tính xoắn đều (isohelicity) với rãnh nhỏ của ADN dạng B, tạo ra mỗi nối khít tại vị trí gắn kết (Kohn, In Antibiotics III. Springer-Verlag, New York, pp. 3-11 (1975); Hurley and Needham-VanDevanter, Acc. Chem. Res., 19, 230-237 (1986)). Khả năng tạo ra sản phẩm cộng trong rãnh nhỏ của chúng cho phép chúng can thiệp vào quá trình xử lý ADN, do đó cho phép sử dụng chúng làm chất chống khối u.

Trước đó, các tác giả sáng chế đã bộc lộ trong WO 2005/085251 các hợp chất PBD dạng dime mang các phần tử thế C2 aryl, như:

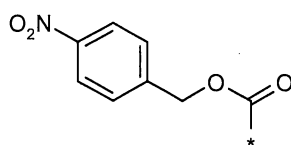


Các hợp chất này được mô tả là các chất gây độc tế bào có tính hữu dụng cao.

Hợp chất pyrrolizidine có lợi đặc biệt được mô tả bởi Gregson và cộng sự (Chem. Commun. 1999, 797-798) là hợp chất 1, và bởi Gregson và cộng sự (J. Med. Chem. 2001, 44, 1161-1174) là hợp chất 4a. Hợp chất này, còn được gọi là SJG-136, được nêu dưới đây:



Trước đó, các tác giả sáng chế đã mô tả rằng các hợp chất PBD có thể được sử dụng làm tiền dược chất bằng cách bảo vệ chúng tại vị trí N10 bằng nhóm bảo vệ nitơ mà có thể loại bỏ được *in vivo* (WO 00/12507). Nhiều nhóm bảo vệ trong số các nhóm bảo vệ này là các carbamat, và, ví dụ, có cấu trúc nêu dưới đây:



trong đó dấu hoa thị (*) biểu thị điểm gắn vào nguyên tử N10 của PBD.

Các tác giả sáng chế cũng đã mô tả việc điều chế các hợp chất PBD có nhóm bảo vệ nitơ carbamat tại vị trí N10 (WO 2005/023814). Các nhóm bảo vệ này có thể loại bỏ được ra khỏi vị trí N10 của gốc PBD để lại liên kết N10-C11 imin. Nhiều nhóm bảo vệ đã được mô tả, bao gồm các nhóm có thể phân cắt được nhờ tác động của enzym.

WO 2007/085930 mô tả việc điều chế các hợp chất PBD dạng dime có các nhóm liên kết để nối với chất gắn kết tế bào, như kháng thể. Nhóm liên kết này có mặt ở cầu nối liên kết các đơn vị PBD monome của dime này.

Thể liên hợp được chất-kháng thể

Liệu pháp kháng thể đã được thiết lập cho việc điều trị nhắm đích đối với các bệnh nhân mắc bệnh ung thư, các rối loạn miễn dịch và tạo mạch (Carter, P. (2006) *Nature Reviews Immunology* 6:343-357). Việc sử dụng thể liên hợp được chất-kháng thể (ADC), tức là thể liên hợp miễn dịch, để đưa các chất gây độc tế bào hoặc kim tế bào, tức là các dược chất để tiêu diệt hoặc ức chế các tế bào khối u trong điều trị bệnh ung thư, theo cách cục bộ tại chỗ, nhằm mục đích đưa gốc dược chất đến khối u và tích lũy nội bào ở đó, trong khi đó việc sử dụng các dược chất không được liên hợp này theo cách toàn thân có thể gây ra mức độ độc tính không thể chấp nhận được đối với các tế bào bình thường cũng như các tế bào khối u cần phải loại bỏ (Xie et al (2006) *Expert. Opin. Biol. Ther.* 6(3):281-291; Kovtun et al (2006) *Cancer Res.* 66(6):3214-3121; Law et al (2006) *Cancer Res.* 66(4):2328-2337; Wu et al (2005) *Nature Biotech.* 23(9):1137-1145; Lambert J. (2005) *Current Opin. in Pharmacol.* 5:543-549; Hamann P. (2005) *Expert Opin. Ther. Patents* 15(9):1087-1103; Payne, G. (2003) *Cancer Cell* 3:207-212; Trail et al (2003) *Cancer Immunol. Immunother.* 52:328-337; Syrigos and Epenetos (1999) *AntiCancer Research* 19:605-614).

Do đó, hiệu quả tối đa cùng với độc tính tối thiểu được tìm kiếm. Các nỗ lực nhằm thiết kế và tinh lọc ADC tập trung vào tính chọn lọc của các kháng thể đơn dòng (mAb) cũng như cơ chế tác động của dược chất, sự liên kết của dược chất, tỷ lệ dược chất/kháng thể (tải lượng), và các tính chất giải phóng dược chất (Junutula, et al., 2008b *Nature Biotech.*, 26(8):925-932; Dornan et al (2009) *Blood* 114(13):2721-2729; US 7521541; US

7723485; WO2009/052249; McDonagh (2006) Protein Eng. Design & Sel. 19(7): 299-307; Doronina et al (2006) Bioconj. Chem. 17:114-124; Erickson et al (2006) Cancer Res. 66(8):1-8; Sanderson et al (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852; Jeffrey et al (2005) J. Med. Chem. 48:1344-1358; Hamblett et al (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070). Các gốc được chất có thể thực hiện các tác động gây độc tế bào và kìm tế bào của chúng bằng các cơ chế bao gồm gắn kết tubulin, gắn kết ADN, hoặc ức chế topoisomeraza. Một số được chất gây độc tế bào có xu hướng không hoạt động hoặc ít hoạt động hơn khi được liên hợp với các kháng thể hoặc các phối tử thụ thể protein lớn.

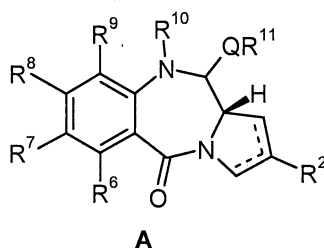
Các tác giả sáng chế đã phát triển phương pháp mới để tạo ra thể liên hợp PBD với chất gắn kết tế bào, và cụ thể là thể liên hợp PBD-kháng thể.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo khía cạnh chung, sáng chế đề xuất thể liên hợp chứa hợp chất PBD được nối thông qua vị trí N10 bằng nhóm liên kết với chất gắn kết tế bào. Nhóm liên kết này là nhóm liên kết không bền, và có thể là nhóm liên kết không bền đối với enzym. Tốt hơn là, chất gắn kết tế bào là kháng thể.

Theo một phương án, thể liên hợp chứa chất gắn kết tế bào được nối với nhóm đệm, nhóm đệm này được nối với nhóm khởi động, nhóm khởi động này được nối với nhóm liên kết tự phân hủy, và nhóm liên kết tự phân hủy này được nối với vị trí N10 của hợp chất PBD.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất hợp chất liên hợp mới có công thức (A):



và muối và solvat của chúng, trong đó:

các đường chấm biểu thị sự có mặt tùy ý của liên kết đôi giữa C1 và C2 hoặc C2 và C3;

R^2 độc lập được chọn từ H, OH, =O, =CH₂, CN, R, OR, =CH-R^D, =C(R^D)₂, O-SO₂-R, CO₂R và COR, và tùy ý được chọn tiếp từ halo hoặc dihalo;

trong đó R^D độc lập được chọn từ R, CO_2R , COR, CHO, CO_2H và halo;

R^6 và R^9 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR' , NO_2 , Me_3Sn và halo;

R^7 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR' , NO_2 , Me_3Sn và halo;

R^8 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR' , NO_2 , Me_3Sn và halo;

R^{10} là nhóm liên kết được nối với chất gắn kết tế bào;

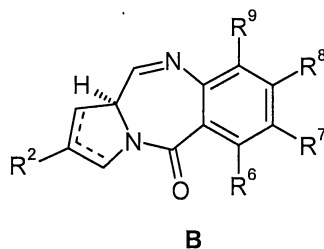
Q độc lập được chọn từ O, S và NH;

R^{11} là H hoặc R hoặc, khi Q là O, SO_3M , trong đó M là cation kim loại;

mỗi nhóm R và R' độc lập được chọn từ các nhóm C_{1-12} alkyl, C_{3-20} heteroxyclyl và C_{5-20} aryl được thế tùy ý, và tùy ý liên quan đến nhóm NRR' , R và R' cùng với nguyên tử nito mà chúng được gắn vào tạo thành vòng dạng dị vòng có 4, 5, 6 hoặc 7 cạnh được thế tùy ý;

hoặc cặp bất kỳ của các nhóm gần kề từ R^6 đến R^9 cùng nhau tạo thành nhóm $-O-(CH_2)_p-O-$, trong đó p là 1 hoặc 2,

hoặc hợp chất này là dime trong đó mỗi monome có công thức (A), hoặc trong đó một monome có công thức (A) và monome còn lại có công thức (B):



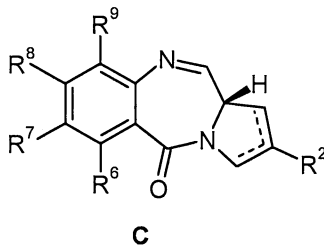
trong đó R^2 , R^6 , R^9 , R^7 và R^8 là như được xác định theo các hợp chất có công thức (A), và các nhóm R^7 hoặc các nhóm R^8 của mỗi monome cùng nhau tạo thành cầu nối dime có công thức $-X-R''-X-$ liên kết các monome này;

trong đó R'' là nhóm C_{3-12} alkylen, chuỗi này có thể bị làm gián đoạn bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, ví dụ O, S, N(H), NMe và/hoặc các vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin, các vòng này được thế tùy ý;

và mỗi X là O, S hoặc N(H);

hoặc khi hợp chất này là dime trong đó mỗi monome có công thức (A), nhóm R^{10} ở một trong số các monome này sẽ là nhóm chụp mũ, R^C , hoặc là nhóm liên kết được nối với chất gắn kết tế bào. Để tránh nghi ngờ, chất gắn kết tế bào là một phần của nhóm R^{10} .

Sáng chế cũng đề xuất thể liên hợp dùng để cung cấp hợp chất có công thức (C) tại vị trí đích:



và muối và solvat của chúng, trong đó:

các đường chấm biểu thị sự có mặt tùy ý của liên kết đôi giữa C1 và C2 hoặc C2 và C3;

R^2 độc lập được chọn từ H, OH, =O, =CH₂, CN, R, OR, =CH- R^D , =C(R^D)₂, O-SO₂-R, CO₂R và COR, và tùy ý được chọn tiếp từ halo hoặc dihalo;

trong đó R^D độc lập được chọn từ R, CO₂R, COR, CHO, CO₂H và halo;

R^6 và R^9 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn và halo;

R^7 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn và halo;

R^8 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn và halo;

R và R' độc lập được chọn từ các nhóm C₁₋₁₂ alkyl, C₃₋₂₀ heterocyclyl và C₅₋₂₀ aryl được thể tùy ý, và tùy ý liên quan đến nhóm NRR', R và R' cùng với nguyên tử nitơ mà chúng được gắn vào tạo thành vòng dạng dị vòng có 4, 5, 6 hoặc 7 cạnh được thể tùy ý;

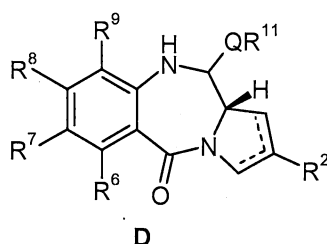
hoặc cặp bất kỳ của các nhóm gần kề từ R^6 đến R^9 cùng nhau tạo thành nhóm -O-(CH₂)_p-O-, trong đó p là 1 hoặc 2;

hoặc hợp chất này là dime trong đó mỗi monome có công thức (C), và các nhóm R^7 hoặc các nhóm R^8 của mỗi monome cùng nhau tạo thành cầu nối dime có công thức $-X-R''-$ X- liên kết các monome này;

trong đó R'' là nhóm C_{3-12} alkylen, chuỗi này có thể bị làm gián đoạn bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, ví dụ O, S, N(H), NMe và/hoặc các vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin, các vòng này được thế tùy ý bởi NH_2 ;

và mỗi X là O, S hoặc N(H).

Sáng chế cũng đề xuất thể liên hợp dùng để cung cấp hợp chất có công thức (D) tại vị trí đích:



và muối và solvat của chúng, trong đó:

các đường chấm biểu thị sự có mặt tùy ý của liên kết đôi giữa C1 và C2 hoặc C2 và C3;

R^2 độc lập được chọn từ H, OH, =O, =CH₂, CN, R, OR, =CH- R^D , =C(R^D)₂, O-SO₂-R, CO₂R và COR, và tùy ý được chọn tiếp từ halo hoặc dihalo;

trong đó R^D độc lập được chọn từ R, CO₂R, COR, CHO, CO₂H và halo;

R^6 và R^9 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn và halo;

R^7 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn và halo;

R^8 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn và halo;

Q độc lập được chọn từ O, S và NH;

R^{11} là H hoặc R hoặc, khi Q là O, SO₃M, trong đó M là cation kim loại;

mỗi nhóm R và R' độc lập được chọn từ các nhóm C₁₋₁₂ alkyl, C₃₋₂₀ heterocyclyl và C₅₋₂₀ aryl được thể tùy ý, và tùy ý liên quan đến nhóm NRR', R và R' cùng với nguyên tử nitơ mà chúng được gắn vào tạo thành vòng dạng dị vòng có 4, 5, 6 hoặc 7 cạnh được thể tùy ý;

hoặc cặp bất kỳ của các nhóm gần kề từ R⁶ đến R⁹ cùng nhau tạo thành nhóm -O-(CH₂)_p-O-, trong đó p là 1 hoặc 2;

hoặc hợp chất này là dime trong đó mỗi monome có công thức (D), hoặc trong đó một monome có công thức (D) và monome còn lại có công thức (C);

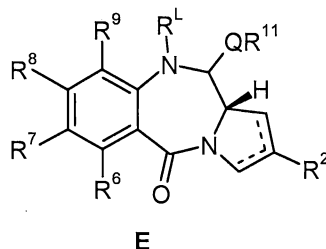
và các nhóm R⁷ hoặc các nhóm R⁸ của mỗi monome cùng nhau tạo thành cầu nối dime có công thức -X-R''-X- liên kết các monome này;

trong đó R'' là nhóm C₃₋₁₂ alkylen, chuỗi này có thể bị làm gián đoạn bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, ví dụ O, S, N(H), NMe và/hoặc các vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin, các vòng này được thể tùy ý bởi NH₂;

và mỗi X là O, S hoặc N(H);

trong đó đơn vị monome có công thức (C) là như được xác định ở trên.

Sáng chế còn đề xuất các hợp chất có công thức (E) dùng để điều chế các hợp chất liên hợp theo sáng chế:



và muối và solvat của chúng, trong đó:

các đường chấm biểu thị sự có mặt tùy ý của liên kết đôi giữa C1 và C2 hoặc C2 và C3;

R² độc lập được chọn từ H, OH, =O, =CH₂, CN, R, OR, =CH-R^D, =C(R^D)₂, O-SO₂-R, CO₂R và COR, và tùy ý được chọn tiếp từ halo hoặc dihalo;

trong đó R^D độc lập được chọn từ R, CO₂R, COR, CHO, CO₂H và halo;

R⁶ và R⁹ độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn và halo;

R^7 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR' , NO_2 , Me_3Sn và halo;

R^8 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR' , NO_2 , Me_3Sn và halo;

R^L là nhóm liên kết để nối với chất gắn kết tế bào;

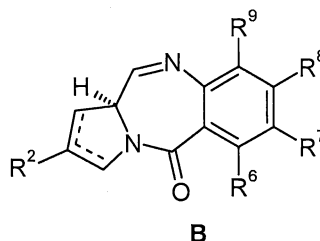
Q độc lập được chọn từ O, S và NH;

R^{11} là H hoặc R hoặc, khi Q là O, R^{11} là SO_3M , trong đó M là cation kim loại;

mỗi nhóm R và R' độc lập được chọn từ các nhóm C_{1-12} alkyl, C_{3-20} heteroxyclyl và C_{5-20} aryl được thể tùy ý, và tùy ý liên quan đến nhóm NRR' , R và R' cùng với nguyên tử nitơ mà chúng được gắn vào tạo thành vòng dạng dị vòng có 4, 5, 6 hoặc 7 cạnh được thể tùy ý;

hoặc cặp bất kỳ của các nhóm gần kề từ R^6 đến R^9 cùng nhau tạo thành nhóm $-O-(CH_2)_p-O-$, trong đó p là 1 hoặc 2;

hoặc hợp chất này là dime trong đó mỗi monome có công thức (E), hoặc trong đó một monome có công thức (E) và monome còn lại có công thức (B):



trong đó R^2 , R^6 , R^9 , R^7 và R^8 là như được xác định theo các hợp chất có công thức (A), và các nhóm R^7 hoặc các nhóm R^8 của mỗi monome cùng nhau tạo thành cầu nối dime có công thức $-X-R''-X-$ liên kết các monome này;

trong đó R'' là nhóm C_{3-12} alkylen, chuỗi này có thể bị làm gián đoạn bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, ví dụ O, S, N(H), NMe và/hoặc các vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin, các vòng này được thể tùy ý bởi NH_2 ;

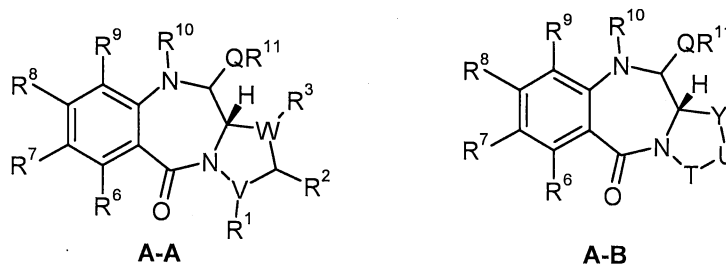
và mỗi X là O, S hoặc N(H);

và khi hợp chất này là dime trong đó mỗi monome có công thức (E), nhóm R^L ở một trong số các monome này sẽ là nhóm chụp mũ, R^C , hoặc là nhóm liên kết để nối với chất gắn kết tế bào.

Theo cách khác, theo một phương án, R'' là nhóm C_{3-12} alkylen, chuỗi này có thể bị làm gián đoạn bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, ví dụ O, S, N(H), NMe và/hoặc các vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin, các vòng này được thể tùy ý bởi NH_2 .

Theo cách khác, các hợp chất liên hợp mới có thể được chọn từ các hợp chất có công thức (A) như được mô tả ở trên và (A-I),

trong đó (A-I) được chọn từ (A-A) và (A-B):



và muối và solvat của chúng, trong đó:

R^6 , R^9 , R^{10} , Q, R^{11} , R và R' là như được xác định theo các hợp chất có công thức (A);

R^7 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR' , NO_2 , Me_3Sn và halo;

R^8 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR' , NO_2 , Me_3Sn và halo;

hoặc cặp bất kỳ của các nhóm gần kề từ R^6 đến R^9 cùng nhau tạo thành nhóm -O-(CH_2)_p-O-, trong đó p là 1 hoặc 2,

R^2 với một trong số R^1 hoặc R^3 , cùng với các nguyên tử cacbon của vòng C mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng benzen được thể tùy ý;

mỗi V và W được chọn từ $(CH_2)_n$, O, S, NR, CHR và CRR' trong đó n là 1, 2 hoặc 3, ngoại trừ việc V là C khi R^1 và R^2 , cùng với các nguyên tử cacbon của vòng C mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng benzen được thể tùy ý, và W là C khi R^3 và R^2 , cùng với các nguyên tử cacbon của vòng C mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng benzen được thể tùy ý;

T được chọn từ CH₂, NR, CO, BH, SO và SO₂;

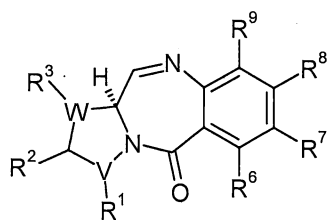
U được chọn từ CH₂, NR, O và S;

Y là (CH₂)_n, trong đó n là 1, 2, 3 hoặc 4;

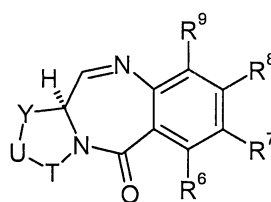
ngoại trừ việc không phải tất cả T, U và Y đều là CH₂;

hoặc hợp chất này là dime trong đó mỗi monome có công thức (A), mỗi monome có công thức (A-I), trong đó một monome có công thức (A) và monome còn lại có công thức (B) như được mô tả ở trên hoặc (B-I), hoặc trong đó một monome có công thức (A-I) và monome còn lại có công thức (B) hoặc (B-I),

và (B-I) được chọn từ (B-A) và (B-B):



B-A



B-B

trong đó R¹, R², R³, R⁶, R⁹, R⁷ và R⁸ là như được xác định theo các hợp chất có công thức (A-I), và các nhóm R⁷ hoặc các nhóm R⁸ của mỗi monome cùng nhau tạo thành cầu nối dime có công thức -X-R''-X- liên kết các monome này;

trong đó R'' là nhóm C₃₋₁₂ alkylen, chuỗi này có thể bị làm gián đoạn bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, ví dụ O, S, N(H), NMe và/hoặc các vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin, các vòng này được thế tùy ý bởi NH₂;

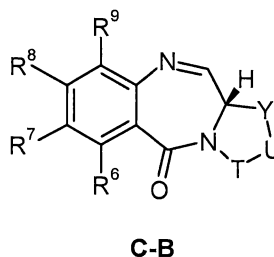
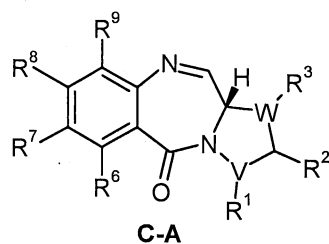
và mỗi X là O, S hoặc N(H);

và khi hợp chất này là dime trong đó mỗi monome có công thức (A-I) và/hoặc công thức (A), nhóm R¹⁰ ở một trong số các monome này sẽ là nhóm chụp mũ, R^C, hoặc là nhóm liên kết được nối với chất gắn kết tế bào.

Để thuận tiện, tất cả các đề cập đến A đều có thể được sử dụng cho A-I (và A-A và A-B), và tất cả các đề cập đến B đều có thể được sử dụng cho B-I (và B-A và B-B). Các đề cập tương tự đến C, D và E cũng thích hợp với (C-I), (D-I) và (E-I), khi thích hợp.

Theo cách khác, thể liên hợp có thể được sử dụng để cung cấp hợp chất tại vị trí đích, trong đó hợp chất này là hợp chất có công thức (C) như được mô tả ở trên hoặc (C-I),

trong đó (C-I) được chọn từ (C-A) và (C-B):



và muối và solvat của chúng, trong đó:

R^6 , R^9 , R và R' là như được xác định theo các hợp chất có công thức (C);

R^7 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR' , NO_2 , Me_3Sn và halo;

R^8 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR' , NO_2 , Me_3Sn và halo;

hoặc cặp bất kỳ của các nhóm gần kề từ R^6 đến R^9 cùng nhau tạo thành nhóm -O-(CH_2)_p-O-, trong đó p là 1 hoặc 2,

R^2 với một trong số R^1 hoặc R^3 , cùng với các nguyên tử cacbon của vòng C mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng benzen được thế tùy ý;

mỗi V và W được chọn từ $(CH_2)_n$, O, S, NR, CHR và CRR' trong đó n là 1, 2 hoặc 3, ngoại trừ việc V là C khi R^1 và R^2 , cùng với các nguyên tử cacbon của vòng C mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng benzen được thế tùy ý, và W là C khi R^3 và R^2 , cùng với các nguyên tử cacbon của vòng C mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng benzen được thế tùy ý;

T được chọn từ CH_2 , NR, CO, BH, SO và SO_2 ;

U được chọn từ CH_2 , NR, O và S;

Y là $(CH_2)_n$, trong đó n là 1, 2, 3 hoặc 4;

ngoại trừ việc không phải tất cả T, U và Y đều là CH_2 ;

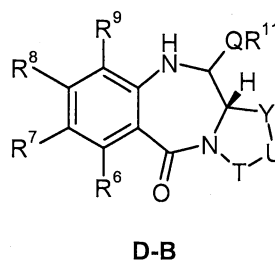
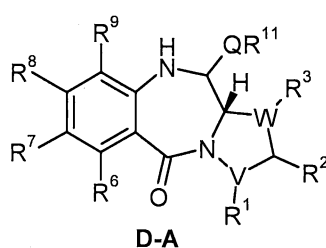
hoặc hợp chất này là dime trong đó mỗi monome có công thức (C), mỗi monome có công thức (C-I), hoặc trong đó một monome có công thức (C) và monome còn lại có công thức (C-I), và các nhóm R^7 hoặc các nhóm R^8 của mỗi monome cùng nhau tạo thành cầu nối dime có công thức -X-R"-X- liên kết các monome này;

trong đó R'' là nhóm C_{3-12} alkylen, chuỗi này có thể bị làm gián đoạn bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, ví dụ O, S, N(H), NMe và/hoặc các vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin, các vòng này được thể tùy ý bởi NH_2 ;

và mỗi X là O, S hoặc N(H).

Sáng chế cũng đề xuất thể liên hợp dùng để cung cấp hợp chất tại vị trí đích, trong đó hợp chất này là hợp chất có công thức (D) như được mô tả ở trên hoặc công thức (D-I);

trong đó (D-I) được chọn từ (D-A) và (D-B):



và muối và solvat của chúng, trong đó:

R^6 , R^9 , R và R' là như được xác định theo các hợp chất có công thức (D);

R^7 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR' , NO_2 , Me_3Sn và halo;

R^8 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR' , NO_2 , Me_3Sn và halo;

hoặc cặp bất kỳ của các nhóm gần kề từ R^6 đến R^9 cùng nhau tạo thành nhóm -O-
(CH_2)_p-O-, trong đó p là 1 hoặc 2,

Q độc lập được chọn từ O, S và NH;

R^{11} là H hoặc R hoặc, khi Q là O, SO_3M , trong đó M là cation kim loại;

R^2 với một trong số R^1 hoặc R^3 , cùng với các nguyên tử cacbon của vòng C mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng benzen được thể tùy ý;

mỗi V và W được chọn từ $(CH_2)_n$, O, S, NR, CHR và CRR' trong đó n là 1, 2 hoặc 3, ngoại trừ việc V là C khi R^1 và R^2 , cùng với các nguyên tử cacbon của vòng C mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng benzen được thể tùy ý, và W là C khi R^3 và R^2 , cùng với các nguyên tử cacbon của vòng C mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng benzen được thể tùy ý;

T được chọn từ CH_2 , NR, CO, BH, SO và SO_2 ;

U được chọn từ CH_2 , NR, O và S;

Y là $(\text{CH}_2)_n$, trong đó n là 1, 2, 3 hoặc 4;

ngoại trừ việc không phải tất cả T, U và Y đều là CH_2 ;

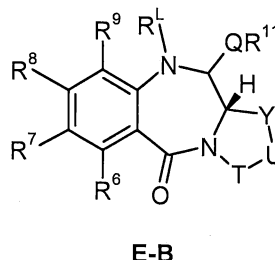
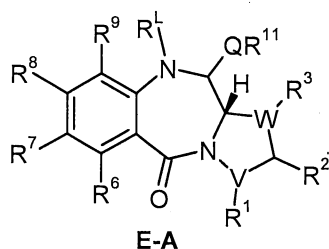
hoặc hợp chất này là dime trong đó mỗi monome có công thức (D), mỗi monome có công thức (D-I), hoặc trong đó một monome có công thức (D) và monome còn lại có công thức (D-I), và các nhóm R^7 hoặc các nhóm R^8 của mỗi monome cùng nhau tạo thành cầu nối dime có công thức $-\text{X}-\text{R}''-\text{X}-$ liên kết các monome này;

trong đó R'' là nhóm C_{3-12} alkylen, chuỗi này có thể bị làm gián đoạn bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, ví dụ O, S, N(H), NMe và/hoặc các vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin, các vòng này được thể tùy ý bởi NH_2 ;

và mỗi X là O, S hoặc N(H).

Theo cách khác, sáng chế còn đề xuất các hợp chất có công thức (E) như được mô tả ở trên và (E-I) dùng để điều chế các hợp chất liên hợp theo sáng chế;

trong đó (E-I) được chọn từ (E-A) và (E-B):



và muối và solvat của chúng, trong đó:

R^6 , R^9 , R và R' là như được xác định theo các hợp chất có công thức (D);

R^7 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR' , NO_2 , Me_3Sn và halo;

R^8 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR' , NO_2 , Me_3Sn và halo;

hoặc cặp bất kỳ của các nhóm gần kề từ R^6 đến R^9 cùng nhau tạo thành nhóm $-\text{O}-$ $(\text{CH}_2)_p-\text{O}-$, trong đó p là 1 hoặc 2,

R^L là nhóm liên kết để nối với chất gắn kết tế bào;

Q được lập được chọn từ O, S và NH;

R^{11} là H hoặc R hoặc, khi Q là O, SO_3M , trong đó M là cation kim loại;

R^2 với một trong số R^1 hoặc R^3 , cùng với các nguyên tử cacbon của vòng C mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng benzen được thể tùy ý;

mỗi V và W được chọn từ $(CH_2)_n$, O, S, NR, CHR và CRR' trong đó n là 1, 2 hoặc 3, ngoại trừ việc V là C khi R^1 và R^2 , cùng với các nguyên tử cacbon của vòng C mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng benzen được thể tùy ý, và W là C khi R^3 và R^2 , cùng với các nguyên tử cacbon của vòng C mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng benzen được thể tùy ý;

T được chọn từ CH_2 , NR, CO, BH, SO và SO_2 ;

U được chọn từ CH_2 , NR, O và S;

Y là $(CH_2)_n$, trong đó n là 1, 2, 3 hoặc 4;

ngoại trừ việc không phải tất cả T, U và Y đều là CH_2 ;

hoặc hợp chất này là dime trong đó mỗi monome có công thức (E), mỗi monome có công thức (E-I), hoặc trong đó một monome có công thức (E) hoặc (E-1) và monome còn lại có công thức (E), (E-I), (B) hoặc (B-1);

và các nhóm R^7 hoặc các nhóm R^8 của mỗi monome cùng nhau tạo thành cầu nối dime có công thức -X-R"-X- liên kết các monome này;

trong đó R" là nhóm C_{3-12} alkylen, chuỗi này có thể bị làm gián đoạn bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, ví dụ O, S, N(H), NMe và/hoặc các vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin, các vòng này được thể tùy ý bởi NH_2 ;

và mỗi X là O, S hoặc N(H).

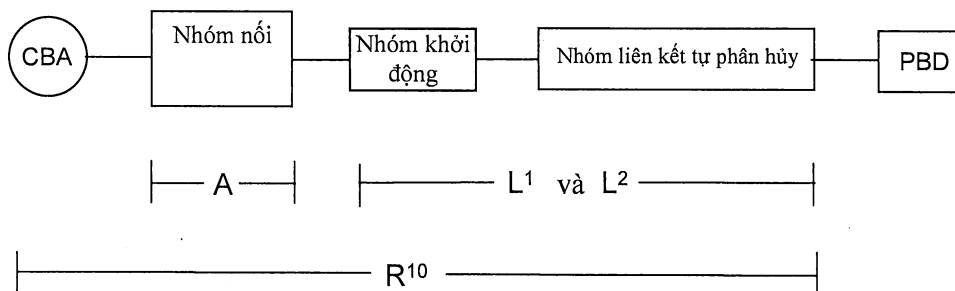
Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện các phương án cụ thể của sáng chế;

Fig.2 đến Fig.6 thể hiện kết quả của các thử nghiệm sinh học cho các phương án cụ thể của sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất thể liên hợp chứa hợp chất PBD được nối thông qua vị trí N10 bằng nhóm liên kết với chất gắn kết tế bào. Theo một phương án, thể liên hợp này chứa chất gắn kết tế bào được nối với nhóm đệm nối, nhóm đệm này được nối với nhóm khởi động, nhóm khởi động này được nối với nhóm liên kết tự phân hủy, và nhóm liên kết tự phân hủy này được nối với vị trí N10 của hợp chất PBD. Thể liên hợp như vậy được minh họa dưới đây:



trong đó CBA là chất gắn kết tế bào và PBD là hợp chất pyrolobenzodiazepin, như được nêu trong bản mô tả này. Sơ đồ minh họa thể hiện các phần tương ứng với R^{10} , A, L^1 và L^2 theo một số phương án của sáng chế.

Sáng chế thích hợp để sử dụng trong việc cung cấp hợp chất PBD đến vị trí được ưu tiên ở đối tượng. Theo một số phương án được ưu tiên, thể liên hợp này cho phép giải phóng hợp chất PBD hoạt tính mà không giữ lại bất kỳ phần nào của nhóm liên kết. Không có mặt bất kỳ phần nào mà có thể gây ảnh hưởng đến tính phản ứng của hợp chất PBD.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất thể liên hợp chứa nhóm dime PBD có nhóm liên kết được nối với chất gắn kết tế bào. Trong bản mô tả này, các tác giả sáng chế mô tả các phương pháp tổng hợp cho phép điều chế các thể liên hợp dạng dime này bằng cách sử dụng các kỹ thuật mới làm mất tính đối xứng của PBD.

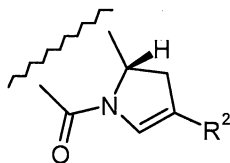
Các phương án ưu tiên

Các phương án ưu tiên nêu dưới đây có thể được sử dụng cho tất cả các khía cạnh của sáng chế như được mô tả ở trên, hoặc có thể liên quan đến một khía cạnh riêng lẻ. Các phương án ưu tiên có thể được kết hợp với nhau ở dạng kết hợp bất kỳ.

Liên kết đôi

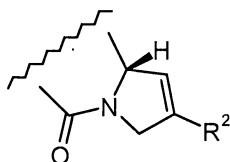
Theo một phương án, không có liên kết đôi giữa C1 và C2, và C2 và C3.

Theo một phương án, các đường chấm biểu thị sự có mặt tùy ý của liên kết đôi giữa C2 và C3, như được thể hiện dưới đây:



Theo một phương án, liên kết đôi có mặt giữa C2 và C3 khi R^2 là C_{5-20} aryl hoặc C_{1-12} alkyl.

Theo một phương án, các đường chấm biểu thị sự có mặt tùy ý của liên kết đôi giữa C1 và C2, như được thể hiện dưới đây:



Theo một phương án, liên kết đôi có mặt giữa C1 và C2 khi R^2 là C_{5-20} aryl hoặc C_{1-12} alkyl.

R^2

Theo một phương án, R^2 độc lập được chọn từ H, OH, =O, =CH₂, CN, R, OR, =CH-R^D, =C(R^D)₂, O-SO₂-R, CO₂R và COR, và tùy ý được chọn tiếp từ halo hoặc dihalo.

Theo một phương án, R^2 độc lập được chọn từ H, OH, =O, =CH₂, CN, R, OR, =CH-R^D, =C(R^D)₂, O-SO₂-R, CO₂R và COR.

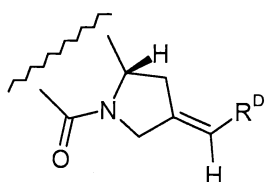
Theo một phương án, R^2 độc lập được chọn từ H, =O, =CH₂, R, =CH-R^D và =C(R^D)₂.

Theo một phương án, R^2 độc lập là H.

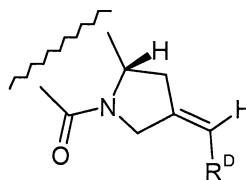
Theo một phương án, R^2 độc lập là =O.

Theo một phương án, R^2 độc lập là =CH₂.

Theo một phương án, R^2 độc lập là =CH-R^D. Trong hợp chất PBD, nhóm =CH-R^D có thể có cấu hình bất kỳ được thể hiện dưới đây:



(I)



(II)

Theo một phương án, cấu hình là cấu hình (I).

Theo một phương án, R^2 độc lập là $=C(R^D)_2$.

Theo một phương án, R^2 độc lập là $=CF_2$.

Theo một phương án, R^2 độc lập là R.

Theo một phương án, R^2 độc lập là C_{5-20} aryl được thể tùy ý.

Theo một phương án, R^2 độc lập là C_{1-12} alkyl được thể tùy ý.

Theo một phương án, R^2 độc lập là C_{5-20} aryl được thể tùy ý.

Theo một phương án, R^2 độc lập là C_{5-7} aryl được thể tùy ý.

Theo một phương án, R^2 độc lập là C_{8-10} aryl được thể tùy ý.

Theo một phương án, R^2 độc lập là phenyl được thể tùy ý.

Theo một phương án, R^2 độc lập là naptyl được thể tùy ý.

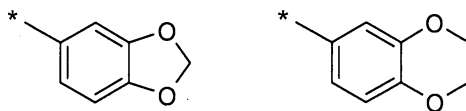
Theo một phương án, R^2 độc lập là pyridyl được thể tùy ý.

Theo một phương án, R^2 độc lập là quinolinyl hoặc isoquinolinyl được thể tùy ý.

Theo một phương án, R^2 mang từ một đến ba nhóm thế, trong đó 1 và 2 nhóm thế sẽ được ưu tiên hơn, và các nhóm được thể một lần được ưu tiên nhất. Các phần tử thế có thể ở vị trí bất kỳ.

Khi R^2 là nhóm C_{5-7} aryl, tốt hơn là phần tử thế đơn lẻ ở trên nguyên tử vòng mà không nằm ngay cạnh liên kết với phần còn lại của hợp chất, tức là tốt hơn là nó ở vị trí β hoặc γ so với liên kết với phần còn lại của hợp chất. Vì vậy, khi nhóm C_{5-7} aryl là phenyl, tốt hơn là phần tử thế ở các vị trí meta hoặc para, và tốt hơn nữa là ở vị trí para.

Theo một phương án, R^2 được chọn từ:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn.

Khi R^2 là nhóm C_{8-10} aryl, ví dụ quinolinyll hoặc isoquinolinyll, nó có thể mang số lượng phần tử thế bất kỳ tại vị trí bất kỳ của các vòng quinolin hoặc isoquinolin. Theo một số phương án, nó mang một, hai hoặc ba phần tử thế, và các phần tử thế này có thể ở trên vòng gần hoặc vòng xa hoặc cả hai (nếu nhiều hơn một phần tử thế).

Theo một phương án, khi R^2 được thế tùy ý, các phần tử thế này được chọn từ các phần tử thế được nêu trong phần mô tả về phần tử thế dưới đây.

Khi R được thế tùy ý, tốt hơn là các phần tử thế được chọn từ:

halo, hydroxyl, ete, formyl, axyl, carboxy, este, axyloxy, amino, amido, axylamido, aminocacbonxyloxy, ureido, nitro, xyano và thioete.

Theo một phương án, khi R hoặc R^2 được thế tùy ý, các phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm R, OR, SR, NRR' , NO_2 , halo, CO_2R , COR, $CONH_2$, $CONHR$ và $CONRR'$.

Khi R^2 là C_{1-12} alkyl, phần tử thế tùy ý có thể bao gồm thêm các nhóm C_{3-20} heteroxyclyl và C_{5-20} aryl.

Khi R^2 là C_{3-20} heteroxyclyl, phần tử thế tùy ý có thể bao gồm thêm các nhóm C_{1-12} alkyl và C_{5-20} aryl.

Khi R^2 là nhóm C_{5-20} aryl, phần tử thế tùy ý có thể bao gồm thêm nhóm C_{3-20} heteroxyclyl và C_{1-12} alkyl.

Cần phải hiểu rằng thuật ngữ “alkyl” bao gồm các phân lớp alkenyl và alkynyl cũng như xycloalkyl. Do đó, khi R^2 là C_{1-12} alkyl được thế tùy ý, cần phải hiểu rằng nhóm alkyl tùy ý chứa một hoặc nhiều liên kết đôi hoặc liên kết ba cacbon-cacbon, mà có thể tạo thành một phần của hệ liên hợp. Theo một phương án, nhóm C_{1-12} alkyl được thế tùy ý chứa ít nhất một liên kết đôi hoặc liên kết ba cacbon-cacbon, và liên kết này được liên hợp với liên kết đôi có mặt giữa C1 và C2, hoặc C2 và C3. Theo một phương án, nhóm C_{1-12} alkyl là nhóm được chọn từ C_{1-12} alkyl, C_{2-12} alkenyl, C_{2-12} alkynyl và C_{3-12} xycloalkyl no.

Nếu phần tử thế trên R^2 là halo, tốt hơn nếu nó là F hoặc Cl, tốt hơn nữa là Cl.

Nếu phần tử thế trên R^2 là ete, theo một số phương án, nó có thể là nhóm alkoxy, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkoxy (ví dụ metoxy, etoxy) hoặc theo một số phương án, nó có thể là nhóm C_{5-7} aryloxy (ví dụ phenoxy, pyridyloxy, furanyloxy).

Nếu phần tử thế trên R^2 là C_{1-7} alkyl, tốt hơn nếu nó có thể là nhóm C_{1-4} alkyl (ví dụ methyl, ethyl, propyl, butyl).

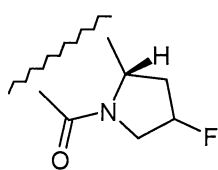
Nếu phần tử thế trên R^2 là C_{3-7} heteroxyclyl, theo một số phương án, nó có thể là nhóm heteroxyclyl chứa C_6 nitơ, ví dụ morpholino, thiomorpholino, piperidinyl, piperazinyl. Các nhóm này có thể được gắn kết với phần còn lại của gốc PBD thông qua nguyên tử nitơ. Các nhóm này có thể được thế tiếp, ví dụ, bởi nhóm C_{1-4} alkyl.

Nếu phần tử thế trên R^2 là bis-oxy- C_{1-3} alkylen, tốt hơn nếu nó là bis-oxy-metylen hoặc bis-oxy-etylen.

Các phần tử thế được ưu tiên đặc biệt đối với R^2 bao gồm metoxy, etoxy, flo, clo, xiano, bis-oxy-metylen, methyl-piperazinyl, morpholino và methyl-thienyl.

Các nhóm R^2 được thế được ưu tiên đặc biệt bao gồm, nhưng không giới hạn ở, 4-metoxy-phenyl, 3-metoxyphenyl, 4-etoxi-phenyl, 3-etoxi-phenyl, 4-flo-phenyl, 4-clo-phenyl, 3,4-bisoxymetylen-phenyl, 4-methylthienyl, 4-xyanophenyl, 4-phenoxyphenyl, quinolin-3-yl và quinolin-6-yl, isoquinolin-3-yl và isoquinolin-6-yl, 2-thienyl, 2-furanyl, metoxynaphtyl và naphtyl.

Theo một phương án, R^2 là halo hoặc dihalo. Theo một phương án, R^2 là -F hoặc -F₂, các phần tử thế này được minh họa dưới đây là (III) và (IV) một cách tương ứng:



(III)



(IV)

R^D

Theo một phương án, R^D độc lập được chọn từ R, CO₂R, COR, CHO, CO₂H và halo.

Theo một phương án, R^D độc lập là R.

Theo một phương án, R^D độc lập là halo.

R^6

Theo một phương án, R^6 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR' , NO_2 , Me_3Sn - và halo.

Theo một phương án, R^6 độc lập được chọn từ H, OH, OR, SH, NH_2 , NO_2 và halo.

Theo một phương án, R^6 độc lập được chọn từ H và halo.

Theo một phương án, R^6 độc lập là H.

Theo một phương án, R^6 và R^7 cùng nhau tạo thành nhóm $-O-(CH_2)_p-O-$, trong đó p là 1 hoặc 2.

 R^7

R^7 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR' , NO_2 , Me_3Sn và halo.

Theo một phương án, R^7 độc lập là OR.

Theo một phương án, R^7 độc lập là OR^{7A} , trong đó R^{7A} độc lập là C_{1-6} alkyl được thể tùy ý.

Theo một phương án, R^{7A} độc lập là C_{1-6} alkyl no được thể tùy ý.

Theo một phương án, R^{7A} độc lập là C_{2-4} alkenyl được thể tùy ý.

Theo một phương án, R^{7A} độc lập là Me.

Theo một phương án, R^{7A} độc lập là CH_2Ph .

Theo một phương án, R^{7A} độc lập là alyl.

Theo một phương án, hợp chất này là dime trong đó các nhóm R^7 của mỗi monome cùng nhau tạo thành cầu nối dime có công thức $X-R''-X$ liên kết các monome này.

 R^8

Theo một phương án, hợp chất này là dime trong đó các nhóm R^8 của mỗi monome cùng nhau tạo thành cầu nối dime có công thức $X-R''-X$ liên kết các monome này.

Theo một phương án, R^8 độc lập là OR^{8A} , trong đó R^{8A} độc lập là C_{1-4} alkyl được thể tùy ý.

Theo một phương án, R^{8A} độc lập là C_{1-6} alkyl no được thể tùy ý hoặc C_{2-4} alkenyl được thể tùy ý.

Theo một phương án, R^{8A} độc lập là Me.

Theo một phương án, R^{8A} độc lập là CH_2Ph .

Theo một phương án, R^{8A} độc lập là alyl.

Theo một phương án, R^8 và R^7 cùng nhau tạo thành nhóm $-O-(CH_2)_p-O-$, trong đó p là 1 hoặc 2.

Theo một phương án, R^8 và R^9 cùng nhau tạo thành nhóm $-O-(CH_2)_p-O-$, trong đó p là 1 hoặc 2.

R^9

Theo một phương án, R^9 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR', NO_2 , Me_3Sn- và halo.

Theo một phương án, R^9 độc lập là H.

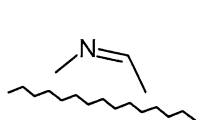
Theo một phương án, R^9 độc lập là R hoặc OR.

R^{10}

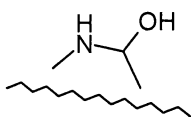
Để tránh nghi ngờ, khi R^{10} là nhóm liên kết được nối với chất gắn kết tế bào, thì chất gắn kết tế bào này là một phần của nhóm R^{10} .

Theo một số phương án của sáng chế, khi thể liên hợp là dime chứa hai monome A, một monome có nhóm R^{10} mà là nhóm liên kết được nối với chất gắn kết tế bào, và monome còn lại có nhóm R^{10} mà là nhóm liên kết được nối với chất gắn kết tế bào hoặc nhóm chụp mũ R^C . Tốt hơn là, monome còn lại có nhóm R^{10} mà là nhóm chụp mũ R^C . Do đó, theo phương án được ưu tiên này, chỉ có một liên kết với chất gắn kết tế bào.

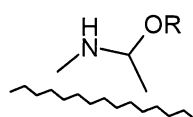
Theo một phương án, nhóm R^{10} có thể loại bỏ được ra khỏi vị trí N10 của gốc PBD để lại liên kết N10-C11 imin, carbinolamin, carbinolamin được thể, trong đó QR^{11} là OSO_3M , sản phẩm cộng bisulfit, thiocarbinolamin, thiocarbinolamin được thể, hoặc carbinalamin được thể, như được minh họa dưới đây:



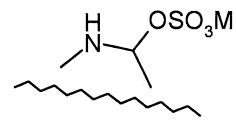
N10-C11 imin



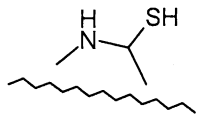
carbinolamin



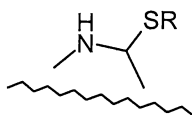
carbinolamin được thể



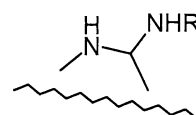
sản phẩm cộng bisulfite



thiocarbinolamin



thiocarbinolamin được thể



carbinalamin được thể

trong đó R và M là như được xác định cho các thể liên hợp theo sáng chế.

Theo một phương án, nhóm R^{10} có thể loại bỏ được ra khỏi vị trí N10 của gốc PBD để lại liên kết N10-C11 imin.

Theo một số phương án, thể liên hợp theo sáng chế là hợp chất dime chứa monome có công thức (A) và monome có công thức (B). Theo phương án này, nhóm R^{10} không cần phải là có thể loại bỏ được ra khỏi vị trí N10, vì monome (B) có nhóm chức thích hợp tại các vị trí N10 và C11 cho hoạt tính sinh học.

Tuy nhiên, tốt hơn là nhóm R^{10} là có thể loại bỏ được, nhờ đó tạo ra dime có nhóm chức thích hợp tại các vị trí N10 và C11 ở các hai đơn vị monome. Nhóm chức như vậy được cho là cần thiết để thực hiện hoạt tính liên kết ngang của dime PBD.

Sáng chế đặc biệt quan tâm đến các nhóm R^{10} có liên kết carbamat với vị trí N10.

Nhóm liên kết gắn chất gắn kết tế bào (CBA), ví dụ kháng thể, vào gốc dược chất PBD D thông qua (các) liên kết cộng hóa trị. Nhóm liên kết này là gốc có hai nhóm chức hoặc đa chức mà có thể được sử dụng để liên kết một hoặc nhiều gốc dược chất (D) và đơn vị kháng thể (Ab) để tạo thành thể liên hợp dược chất-kháng thể (ADC). Nhóm liên kết (L) có thể ổn định bên ngoài tế bào, tức là ngoại bào, hoặc nó có thể phân cắt được nhờ hoạt động của enzym, thủy phân, hoặc các điều kiện chuyển hóa khác. Thể liên hợp dược chất-kháng thể (ADC) có thể được điều chế theo cách thông dụng bằng cách sử dụng nhóm liên kết có nhóm chức có tính phản ứng để gắn kết với gốc dược chất và với kháng thể. Xystein thiol, hoặc amin, ví dụ đầu tận cùng N hoặc chuỗi bên của axit amin như lysin, của kháng thể (Ab) có thể tạo thành liên kết với nhóm chức của chất phản ứng liên kết hoặc chất phản ứng đệm, gốc dược chất PBD (D) hoặc chất phản ứng dược chất-nhóm liên kết (D-L).

Nhiều nhóm chức trên nhóm liên kết được gắn vào vị trí N10 của gốc PBD có thể hữu dụng trong việc phản ứng với chất gắn kết tế bào. Ví dụ, các liên kết este, thioeste, amit, thioamit, carbamat, thiocarbamat, ure, thioure, ete, thioete hoặc disulfua có thể được tạo thành từ phản ứng của các sản phẩm trung gian nhóm liên kết-được chất PBD và chất gắn kết tế bào.

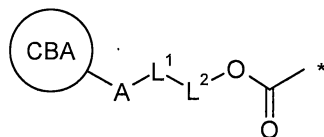
Tốt hơn là, các nhóm liên kết của ADC ngăn ngừa sự kết tụ của các phân tử ADC và giữ cho ADC tan tự do trong môi trường nước và ở trạng thái monome.

Tốt hơn là, các nhóm liên kết của ADC ổn định ngoại bào. Trước khi được chuyển hoặc được đưa vào trong tế bào, tốt hơn là thể liên hợp được chất-kháng thể (ADC) ổn định và vẫn còn nguyên vẹn, tức là kháng thể vẫn liên kết với gốc được chất. Các nhóm liên kết này ổn định bên ngoài tế bào đích và có thể bị phân cắt với tốc độ hữu hiệu nào đó bên trong tế bào. Nhóm liên kết hữu hiệu sẽ: (i) duy trì các tính chất gắn kết đặc hiệu của kháng thể; (ii) cho phép đưa thể liên hợp hoặc gốc được chất vào trong tế bào; (iii) vẫn còn ổn định và nguyên vẹn, tức là không bị phân cắt, cho đến khi thể liên hợp được đưa hoặc được chuyển đến vị trí đích của nó; và (iv) duy trì tác dụng gây độc tế bào, tiêu diệt tế bào hoặc tác dụng kìm tế bào của gốc được chất PBD. Độ ổn định của ADC có thể được đo bằng các kỹ thuật phân tích tiêu chuẩn như kỹ thuật khối phổ, kỹ thuật HPLC và kỹ thuật tách/phân tích LC/MS.

Quá trình gắn cộng hóa trị kháng thể và gốc được chất đòi hỏi nhóm liên kết phải có hai nhóm chức có tính phản ứng, tức là có hóa trị hai xét về tính phản ứng. Các chất phản ứng liên kết hóa trị hai mà hữu dụng để gắn hai hoặc nhiều gốc chức năng hoặc có hoạt tính sinh học, như peptit, axit nucleic, được chất, độc tố, kháng thể, hapten và nhóm chỉ thị là đã biết, và các phương pháp đã được mô tả cho các thể liên hợp tạo thành của chúng (Hermanson, G.T. (1996) *Bioconjugate Techniques*; Academic Press: New York, p 234-242).

Theo phương án khác, nhóm liên kết có thể được thể bằng các nhóm mà điều biến sự kết tụ, độ tan hoặc tính phản ứng. Ví dụ, phân tử thể sulfonat có thể làm tăng độ tan trong nước của chất phản ứng và tạo điều kiện thuận lợi cho phản ứng cộng hợp của chất phản ứng liên kết với kháng thể hoặc gốc được chất, hoặc tạo điều kiện thuận lợi cho phản ứng cộng hợp của Ab-L với D, hoặc D-L với Ab, tùy thuộc vào quy trình tổng hợp được sử dụng để điều chế ADC.

Theo một phương án, R^{10} là nhóm:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10, CBA là chất gắn kết tế bào, L^1 là nhóm liên kết, A là nhóm nối mà nối L^1 với chất gắn kết tế bào, L^2 là liên kết cộng hóa trị hoặc cùng với $-OC(=O)-$ tạo thành nhóm liên kết tự phân hủy, và L^1 hoặc L^2 là nhóm liên kết có thể phân cắt được.

Tốt hơn là, L^1 là nhóm liên kết có thể phân cắt được, và có thể được gọi là nhóm khởi động để hoạt hóa nhóm liên kết để phân cắt.

Bản chất của L^1 và L^2 , khi có mặt, có thể thay đổi rất nhiều. Các nhóm này được chọn dựa trên cơ sở các đặc tính phân cắt của chúng, các đặc tính này có thể được kiểm soát bởi các điều kiện ở vị trí mà thể liên hợp được đưa đến đó. Các nhóm liên kết mà bị phân cắt nhờ tác động của enzym được ưu tiên, mặc dù các nhóm liên kết mà có thể phân cắt được bởi sự thay đổi độ pH (ví dụ không bền đối với axit hoặc bazơ), nhiệt độ hoặc khi chiếu xạ (ví dụ không bền đối với ánh sáng) cũng có thể được sử dụng. Các nhóm liên kết mà có thể phân cắt được trong điều kiện khử hoặc oxy hóa cũng có thể được sử dụng trong sáng chế.

L^1 có thể chứa trình tự axit amin liên kề. Trình tự axit amin này có thể là cơ chất đích cho quá trình phân cắt bằng enzym, nhờ đó cho phép giải phóng R^{10} ra khỏi vị trí N10.

Theo một phương án, L^1 có thể phân cắt được nhờ tác động của enzym. Theo một phương án, enzym này là esteraza hoặc peptidaza.

Theo một phương án, L^2 có mặt và cùng với $-C(=O)O-$ tạo thành nhóm liên kết tự phân hủy. Theo một phương án, L^2 là cơ chất cho hoạt động của enzym, nhờ đó cho phép giải phóng R^{10} ra khỏi vị trí N10.

Theo một phương án, khi L^1 có thể phân cắt được nhờ tác động của enzym và L^2 có mặt, enzym này sẽ phân cắt liên kết giữa L^1 và L^2 .

L^1 và L^2 , khi có mặt, có thể được nối bằng liên kết được chọn từ:

$-C(=O)NH-$,

$-C(=O)O-$,

-NHC(=O)-,

-OC(=O)-,

-OC(=O)O-,

-NHC(=O)O-,

-OC(=O)NH-, và

-NHC(=O)NH-.

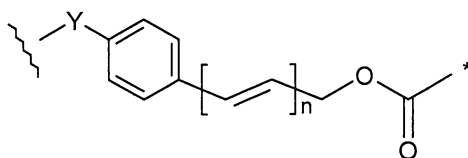
Nhóm amino của L^1 mà nối với L^2 có thể là đầu tận cùng N của axit amin hoặc có thể có nguồn gốc từ nhóm amino của chuỗi bên của axit amin, ví dụ chuỗi bên của axit amin lysin.

Nhóm carboxyl của L^1 mà nối với L^2 có thể là đầu tận cùng C của axit amin hoặc có thể có nguồn gốc từ nhóm carboxyl của chuỗi bên của axit amin, ví dụ chuỗi bên của axit amin là axit glutamic.

Nhóm hydroxyl của L^1 mà nối với L^2 có thể có nguồn gốc từ nhóm hydroxyl của chuỗi bên của axit amin, ví dụ chuỗi bên của axit amin serin.

Thuật ngữ “chuỗi bên của axit amin” bao gồm các nhóm được tìm thấy ở: (i) các axit amin có trong tự nhiên như alanin, arginin, asparagin, axit aspartic, xystein, glutamin, axit glutamic, glyxin, histidin, isoleuxin, leuxin, lysin, methionin, phenylalanin, prolin, serin, threonin, tryptophan, tyrosin và valin; (ii) các axit amin thứ yếu như ornithin và xitrlin; (iii) các axit amin không có trong tự nhiên, các axit beta-amin, các chất tương tự tổng hợp và các dẫn xuất của các axit amin có trong tự nhiên; và (iv) tất cả các chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang, dạng được làm giàu về mặt chất đồng phân, được đánh dấu bằng chất đồng vị (ví dụ ^2H , ^3H , ^{14}C , ^{15}N), được bảo vệ, và hỗn hợp racemic của chúng.

Theo một phương án, $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ và L^2 cùng nhau tạo thành nhóm:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10, đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào nhóm liên kết L^1 , Y là $-\text{N}(\text{H})-$, $-\text{O}-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{H})-$ hoặc $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$, và n nằm trong

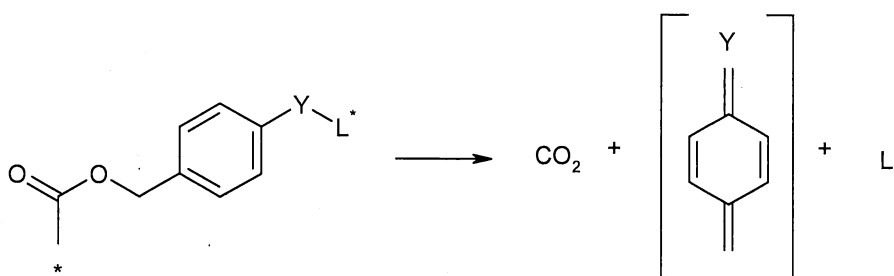
khoảng từ 0 đến 3. Vòng phenylen được thể tùy ý bằng một, hai hoặc ba phần tử thể như được nêu trong bản mô tả này. Theo một phương án, nhóm phenylen được thể tùy ý bằng halo, NO₂, R hoặc OR.

Theo một phương án, Y là NH.

Theo một phương án, n là 0 hoặc 1. Tốt hơn nếu n là 0.

Khi Y là NH và n là 0, nhóm liên kết tự phân hủy có thể được gọi là nhóm liên kết p-aminobenzylcacbonyl (PABC).

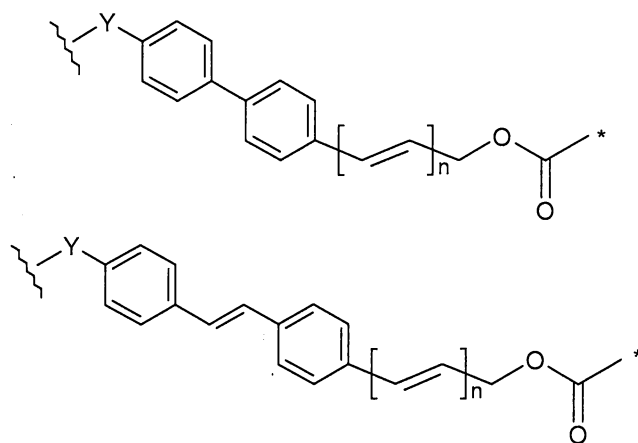
Nhóm liên kết tự phân hủy sẽ cho phép giải phóng hợp chất được bảo vệ khi vị trí ở xa được hoạt hóa, diễn tiến theo các dòng nêu dưới đây (đối với n=0):



trong đó L* là dạng được hoạt hóa của phần còn lại của nhóm liên kết. Các nhóm này có ưu điểm là tách vị trí hoạt hóa ra khỏi hợp chất được bảo vệ. Như được mô tả ở trên, nhóm phenylen có thể được thể tùy ý.

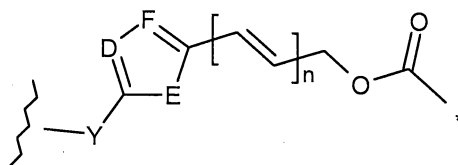
Theo một phương án được nêu trong bản mô tả này, nhóm L* là nhóm liên kết L¹ như được nêu trong bản mô tả này, mà có thể bao gồm nhóm dipeptit.

Theo phương án khác, -C(=O)O- và L² cùng nhau tạo thành nhóm được chọn từ:



trong đó dấu hoa thị, đường gợn sóng, Y và n là như được xác định ở trên. Mỗi vòng phenylen được thế tùy ý bằng một, hai hoặc ba phần tử thế như được nêu trong bản mô tả này. Theo một phương án, vòng phenylen có phần tử thế Y được thế tùy ý và vòng phenylen không có phần tử thế Y không được thế. Theo một phương án, vòng phenylen có phần tử thế Y không được thế và vòng phenylen không có phần tử thế Y được thế tùy ý.

Theo phương án khác, $-C(=O)O-$ và L^2 cùng nhau tạo thành nhóm được chọn từ:



trong đó dấu hoa thị, đường gợn sóng, Y và n là như được xác định ở trên, E là O, S hoặc NR, D là N, CH, hoặc CR, và F là N, CH hoặc CR.

Theo một phương án, D là N.

Theo một phương án, D là CH.

Theo một phương án, E là O hoặc S.

Theo một phương án, F là CH.

Theo phương án được ưu tiên, nhóm liên kết này là nhóm liên kết không bền đối với cathepsin.

Theo một phương án, L^1 bao gồm dipeptit. Dipeptit này có thể được biểu thị dưới dạng $-NH-X_1-X_2-CO-$, trong đó $-NH-$ và $-CO-$ là các đầu tận cùng N và C của các nhóm axit amin X_1 và X_2 một cách tương ứng. Các axit amin trong dipeptit này có thể là tổ hợp bất kỳ của các axit amin có trong tự nhiên. Khi nhóm liên kết này là nhóm liên kết không bền đối

với cathepsin, dipeptit này có thể là vị trí tác động cho quá trình phân cắt gây ra bởi cathepsin.

Ngoài ra, đối với các nhóm axit amin có nhóm chức chuỗi bên carboxyl hoặc amino, ví dụ Glu và Lys một cách tương ứng, CO và NH có thể là nhóm chức chuỗi bên đó.

Theo một phương án, nhóm $-X_1-X_2-$ trong dipeptit, $-NH-X_1-X_2-CO-$, được chọn từ:

-Phe-Lys-,

-Val-Ala-,

-Val-Lys-,

-Ala-Lys-,

-Val-Cit-,

-Phe-Cit-,

-Leu-Cit-,

-Ile-Cit-,

-Phe-Arg-,

-Trp-Cit-

trong đó Cit là xitruilin.

Tốt hơn là, nhóm $-X_1-X_2-$ trong dipeptit, $-NH-X_1-X_2-CO-$, được chọn từ:

-Phe-Lys-,

-Val-Ala-,

-Val-Lys-,

-Ala-Lys-,

-Val-Cit-.

Tốt nhất là, nhóm $-X_1-X_2-$ trong dipeptit, $-NH-X_1-X_2-CO-$, là -Phe-Lys- hoặc -Val-Ala-.

Các tổ hợp dipeptit khác có thể được sử dụng, bao gồm các tổ hợp dipeptit được mô tả bởi ấn phẩm Dubowchik et al., Bioconjugate Chemistry, 2002, 13,855-869, ấn phẩm này được kết hợp vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn.

Theo một phương án, chuỗi bên của axit amin được tạo dẫn xuất, khi thích hợp. Ví dụ, nhóm amino hoặc nhóm carboxy của chuỗi bên của axit amin có thể được tạo dẫn xuất.

Theo một phương án, nhóm amino NH_2 của chuỗi bên của axit amin, như lysin, là dạng được tạo dẫn xuất được chọn từ nhóm bao gồm NHR và NRR'.

Theo một phương án, nhóm carboxy COOH của chuỗi bên của axit amin, như axit aspartic, là dạng được tạo dẫn xuất được chọn từ nhóm bao gồm COOR , CONH_2 , CONHR và CONRR' .

Theo một phương án, chuỗi bên của axit amin được bảo vệ về mặt hóa học, khi thích hợp. Nhóm bảo vệ chuỗi bên có thể là nhóm như được nêu dưới đây liên quan đến nhóm R^L . Các tác giả sáng chế đã xác định được rằng các trình tự axit amin được bảo vệ có thể phân cắt được bằng enzym. Ví dụ, đã xác định được rằng trình tự dipeptit chứa gốc Lys được bảo vệ chuỗi bên bằng Boc có thể phân cắt được bằng cathepsin.

Các nhóm bảo vệ cho chuỗi bên của axit amin đã được biết rõ trong tình trạng kỹ thuật và được mô tả trong ấn phẩm Novabiochem Catalog. Các chiến lược về nhóm bảo vệ bổ sung được nêu trong phần Protective Groups trong ấn phẩm Organic Synthesis, Greene and Wuts.

Các nhóm bảo vệ chuỗi bên có thể sử dụng được nêu dưới đây cho các axit amin có nhóm chức chuỗi bên có tính phản ứng:

Arg: Z, Mtr, Tos;

Asn: Trt, Xan;

Asp: Bzl, t-Bu;

Cys: Acn, Bzl, Bzl-OMe, Bzl-Me, Trt;

Glu: Bzl, t-Bu;

Gln: Trt, Xan;

His: Boc, Dnp, Tos, Trt;

Lys: Boc, Z-Cl, Fmoc, Z, Alloc;

Ser: Bzl, TBDMS, TBDPS;

Thr: Bz;

Trp: Boc;

Tyr: Bzl, Z, Z-Br.

Theo một phương án, sự bảo vệ chuỗi bên được lựa chọn sao cho trực giao với nhóm được đưa vào dưới dạng, hoặc là một phần của, nhóm chụp mũ, khi có mặt. Do đó, việc loại bỏ nhóm bảo vệ chuỗi bên không làm mất nhóm chụp mũ, hoặc nhóm chức bất kỳ của nhóm bảo vệ mà là một phần của nhóm chụp mũ.

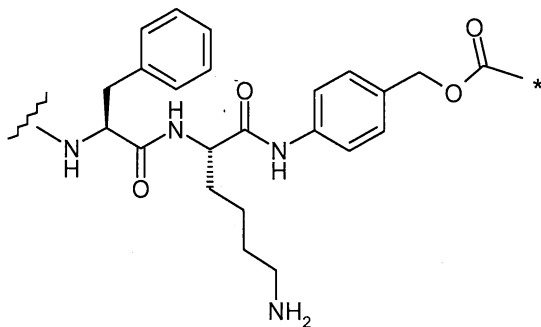
Theo các phương án khác của sáng chế, các axit amin được chọn là các axit amin không có nhóm chức chuỗi bên có tính phản ứng. Ví dụ, các axit amin này có thể được chọn từ: Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro và Val.

Theo một phương án, dipeptit được sử dụng kết hợp với nhóm liên kết tự phân hủy. Nhóm liên kết tự phân hủy này có thể được nối với $-X_2-$.

Khi nhóm liên kết tự phân hủy có mặt, $-X_2-$ được nối trực tiếp với nhóm liên kết tự phân hủy này. Tốt hơn là, nhóm $-X_2-CO-$ được nối với Y, trong đó Y là NH, nhờ đó tạo thành nhóm $-X_2-CO-NH-$.

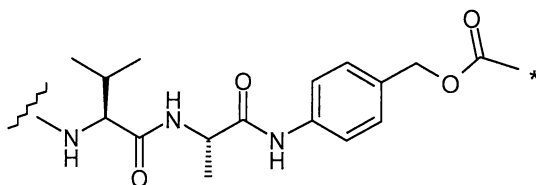
$-NH-X_1-$ được nối trực tiếp với A. A có thể chứa nhóm chức $-CO-$, nhờ đó tạo thành liên kết amit với $-X_1-$.

Theo một phương án, L^1 và L^2 cùng với $-OC(=O)-$ chứa nhóm $NH-X_1-X_2-CO-PABC-$. Nhóm PABC được nối trực tiếp với vị trí N10. Tốt hơn là, nhóm liên kết tự phân hủy và dipeptit cùng nhau tạo thành nhóm $-NH-Phe-Lys-CO-NH-PABC-$, được minh họa dưới đây:



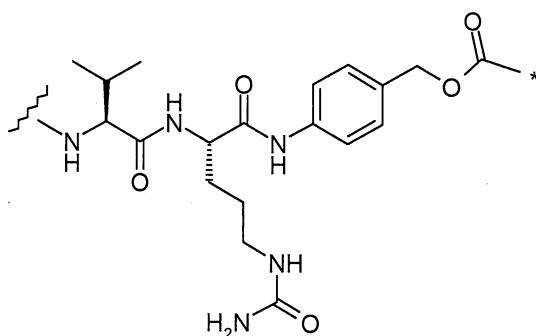
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10, và đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào phần còn lại của nhóm liên kết L^1 hoặc điểm gắn vào A. Tốt hơn là, đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào A. Chuỗi bên của axit amin Lys có thể được bảo vệ, ví dụ, bằng Boc, Fmoc hoặc Alloc, như được mô tả ở trên.

Theo cách khác, nhóm liên kết tự phân hủy và dipeptit cùng nhau tạo thành nhóm -NH-Val-Ala-CO-NH-PABC-, được minh họa dưới đây:



trong đó dấu hoa thị và đường gợn sóng là như được xác định ở trên.

Theo cách khác, nhóm liên kết tự phân hủy và dipeptit cùng nhau tạo thành nhóm -NH-Val-Cit-CO-NH-PABC-, được minh họa dưới đây:



trong đó dấu hoa thị và đường gợn sóng là như được xác định ở trên.

Theo một số phương án của sáng chế, có thể ưu tiên nếu PBD/gốc được chất chứa liên kết imin không được bảo vệ, ví dụ nếu gốc B có mặt, thì nhóm liên kết không chứa nhóm amino ($\text{H}_2\text{N}-$) tự do. Do đó, nếu nhóm liên kết có cấu trúc $-\text{A}-\text{L}^1-\text{L}^2-$, thì tốt hơn là nhóm liên kết này không chứa nhóm amino tự do. Phương án ưu tiên này là đặc biệt thích hợp khi nhóm liên kết chứa dipeptit, ví dụ dưới dạng L^1 ; theo phương án này, tốt hơn là một trong số hai axit amin này không được chọn từ lysin.

Không bị giới hạn bởi lý thuyết, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng tổ hợp của liên kết imin không được bảo vệ trong gốc được chất và nhóm amino tự do trong nhóm liên kết có thể gây ra sự dime hóa gốc được chất-nhóm liên kết mà có thể cản trở sự liên hợp của gốc được chất-nhóm liên kết này với kháng thể. Phản ứng chéo của các nhóm này có thể được tăng tốc trong trường hợp nhóm amino tự do có mặt dưới dạng ion amoni (H_3N^+), như khi axit mạnh (ví dụ TFA) được sử dụng để phá bỏ sự bảo vệ nhóm amino tự do.

Theo một phương án, A là liên kết cộng hóa trị. Do đó, L^1 và chất gắn kết tế bào được nối trực tiếp. Ví dụ, khi L^1 chứa trình tự axit amin liên kề, đầu tận cùng N của trình tự này có thể nối trực tiếp với chất gắn kết tế bào.

Do đó, khi A là liên kết cộng hóa trị, nhóm nối giữa chất gắn kết tế bào và L^1 có thể được chọn từ:

-C(=O)NH-,
 -C(=O)O-,
 -NHC(=O)-,
 -OC(=O)-,
 -OC(=O)O-,
 -NHC(=O)O-,
 -OC(=O)NH-,
 -NHC(=O)NH-,
 -C(=O)NHC(=O)-,
 -S-,
 -S-S-,
 -CH₂C(=O)-, và
 =N-NH-.

Nhóm amino của L^1 mà nối với chất gắn kết tế bào có thể là đầu tận cùng N của axit amin hoặc có thể có nguồn gốc từ nhóm amino của chuỗi bên của axit amin, ví dụ chuỗi bên của axit amin lysin.

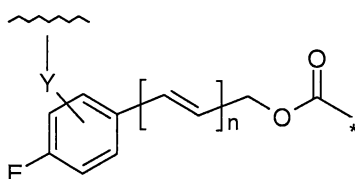
Nhóm carboxyl của L^1 mà nối với chất gắn kết tế bào có thể là đầu tận cùng C của axit amin hoặc có thể có nguồn gốc từ nhóm carboxyl của chuỗi bên của axit amin, ví dụ chuỗi bên của axit amin là axit glutamic.

Nhóm hydroxyl của L^1 mà nối với chất gắn kết tế bào có thể có nguồn gốc từ nhóm hydroxyl của chuỗi bên của axit amin, ví dụ chuỗi bên của axit amin serin.

Nhóm thiol của L^1 mà nối với chất gắn kết tế bào có thể có nguồn gốc từ nhóm thiol của chuỗi bên của axit amin, ví dụ chuỗi bên của axit amin serin.

Các chú thích nêu trên về các nhóm amino, carboxyl, hydroxyl và thiol của L^1 cũng được sử dụng cho chất gắn kết tế bào.

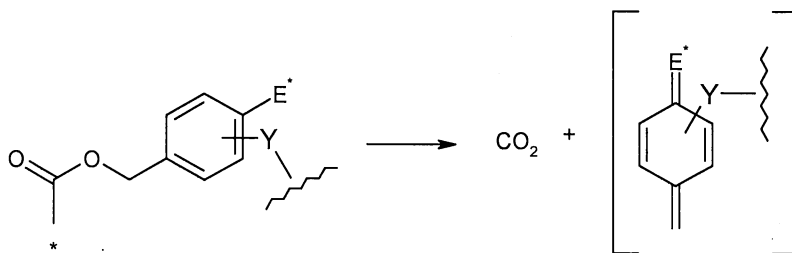
Theo một phương án, L^2 cùng với $-OC(=O)-$ là:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10, đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào L^1 , n nằm trong khoảng từ 0 đến 3, Y là liên kết cộng hóa trị hoặc nhóm chức, và E là nhóm có thể hoạt hóa được, ví dụ bằng tác động của enzym hoặc ánh sáng, nhờ đó tạo ra đơn vị tự phân hủy. Vòng phenylen được thế tiếp tùy ý bằng một, hai hoặc ba phần tử thế như được nêu trong bản mô tả này. Theo một phương án, nhóm phenylen được thế tiếp tùy ý bằng halo, NO_2 , R hoặc OR . Tốt hơn là n là 0 hoặc 1, tốt nhất là 0.

E được chọn sao cho nhóm này dễ được hoạt hóa, ví dụ bởi ánh sáng hoặc bởi tác động của enzym. E có thể là $-NO_2$ hoặc axit glucuronic. $-NO_2$ có thể dễ bị tác động bởi nitroreductaza, axit glucuronic dễ bị tác động bởi β -glucuronidaza.

Theo phương án này, nhóm liên kết tự phân hủy sẽ cho phép giải phóng hợp chất được bảo vệ khi E được hoạt hóa, diễn tiến theo các dòng nêu dưới đây (đối với $n=0$):



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10, E^* là dạng được hoạt hóa của E , và Y là như được mô tả ở trên. Các nhóm này có ưu điểm là tách vị trí hoạt hóa ra khỏi hợp chất được bảo vệ. Như được mô tả ở trên, nhóm phenylen có thể được thế tiếp tùy ý.

Nhóm Y có thể là liên kết cộng hóa trị với L^1 .

Nhóm Y có thể là nhóm chức được chọn từ:

$-C(=O)-$

-NH-

-O-

-C(=O)NH-,

-C(=O)O-,

-NHC(=O)-,

-OC(=O)-,

-OC(=O)O-,

-NHC(=O)O-,

-OC(=O)NH-,

-NHC(=O)NH-,

-NHC(=O)NH,

-C(=O)NHC(=O)-, và

-S-.

Khi L^1 là dipeptit, tốt hơn là Y là -NH- hoặc -C(=O)-, nhờ đó tạo thành liên kết amit giữa L^1 và Y. Theo phương án này, trình tự dipeptit không cần phải là cơ chất cho hoạt động của enzym.

Theo phương án khác, A là nhóm đệm. Do đó, L^1 và chất gắn kết tế bào được nối gián tiếp.

L^1 và A có thể được nối bằng liên kết được chọn từ:

-C(=O)NH-,

-C(=O)O-,

-NHC(=O)-,

-OC(=O)-,

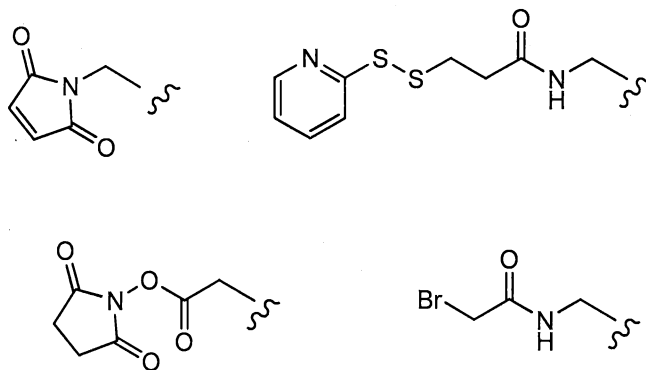
-OC(=O)O-,

-NHC(=O)O-,

-OC(=O)NH-, và

-NHC(=O)NH-.

Tốt hơn là, nhóm liên kết chứa nhóm chức ái điện tử để phản ứng với nhóm chức ái nhân trên chất gắn kết tế bào. Các nhóm ái nhân trên kháng thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở: (i) nhóm amin đầu tận cùng N, (ii) nhóm amin chuỗi bên, ví dụ lysin, (iii) nhóm thiol chuỗi bên, ví dụ xystein, và (iv) nhóm amino hoặc hydroxyl đường khi kháng thể được glycosyl hóa. Các nhóm amin, thiol và hydroxyl là ái nhân và có khả năng phản ứng để tạo thành các liên kết cộng hóa trị với các nhóm ái điện tử trên các gốc liên kết và chất phản ứng liên kết bao gồm: (i) nhóm maleimit, (ii) disulfua được hoạt hóa, (iii) este hoạt tính như NHS (N-hydroxysuxinimit) este, HOBt (N-hydroxybenzotriazol) este, haloformat và halogenua axit; (iv) halogenua alkyl và benzyl như haloaxetamit; và (v) aldehyt, keton, carboxyl, và, một số trong số chúng được nêu ví dụ minh họa dưới đây:

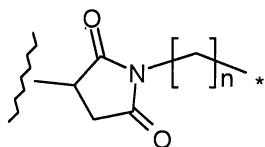


Các kháng thể nhất định có các disulfua liên chuỗi có thể khử được, tức là các cầu nối xystein. Các kháng thể có thể được làm cho có tính phản ứng để liên hợp với chất phản ứng liên kết bằng cách xử lý bằng chất khử như DTT (dithiothreitol). Do đó, theo lý thuyết, mỗi cầu nối xystein sẽ tạo ra hai nhóm ái nhân thiol có tính phản ứng. Các nhóm ái nhân bổ sung có thể được đưa vào trong kháng thể thông qua phản ứng của các lysin với 2-iminothiolan (chất phản ứng Traut), gây ra sự chuyển hóa amin thành thiol. Các nhóm thiol có tính phản ứng có thể được đưa vào trong kháng thể (hoặc mảnh của chúng) bằng cách đưa một, hai, ba, bốn hoặc nhiều gốc xystein (ví dụ, tạo ra các kháng thể đột biến chứa một hoặc nhiều gốc axit amin xystein không nguyên gốc). US 7521541 bộc lộ các kháng thể được thiết kế bằng cách đưa các axit amin xystein có tính phản ứng vào.

Theo một số phương án, nhóm liên kết có nhóm ái nhân có tính phản ứng mà có khả năng phản ứng với nhóm ái điện tử có mặt trên kháng thể. Các nhóm ái điện tử hữu dụng trên kháng thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các nhóm aldehyt và keton cacbonyl.

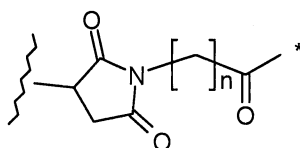
Nguyên tử khác loại của nhóm ái nhân của nhóm liên kết có thể phản ứng với nhóm ái điện tử trên kháng thể và tạo thành liên kết cộng hóa trị với đơn vị kháng thể. Các nhóm ái nhân hữu dụng trên nhóm liên kết bao gồm, nhưng không giới hạn ở, hydrazit, oxim, amino, hydroxyl, hydrazin, thiosemicarbazon, hydrazin carboxylat và arylhydrazit. Nhóm ái điện tử trên kháng thể tạo ra vị trí thuận tiện để gắn vào nhóm liên kết.

Theo một phương án, nhóm A là:



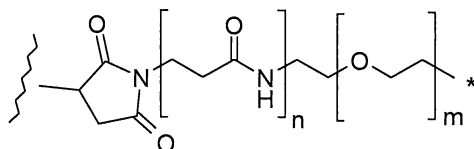
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^1 , đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào chất gắn kết tế bào, và n nằm trong khoảng từ 0 đến 6. Theo một phương án, n là 5.

Theo một phương án, nhóm A là:



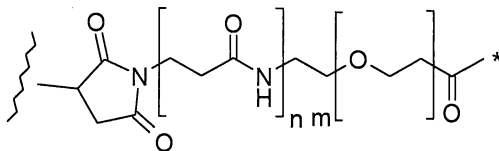
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^1 , đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào chất gắn kết tế bào, và n nằm trong khoảng từ 0 đến 6. Theo một phương án, n là 5.

Theo một phương án, nhóm A là:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^1 , đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào chất gắn kết tế bào, n là 0 hoặc 1, và m nằm trong khoảng từ 0 đến 30. Theo phương án được ưu tiên, n là 1 và m nằm trong khoảng từ 0 đến 10, từ 1 đến 8, tốt hơn là từ 4 đến 8, và tốt nhất là 4 hoặc 8. Theo phương án khác, m nằm trong khoảng từ 10 đến 30, và tốt hơn là nằm trong khoảng từ 20 đến 30. Theo cách khác, m nằm trong khoảng từ 0 đến 50. Theo phương án này, tốt hơn là m nằm trong khoảng từ 10 đến 40 và n là 1.

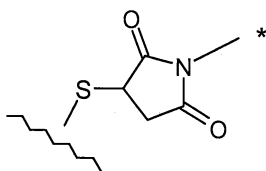
Theo một phương án, nhóm A là:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^1 , đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào chất gắn kết tế bào, n là 0 hoặc 1, và m nằm trong khoảng từ 0 đến 30. Theo phương án được ưu tiên, n là 1 và m nằm trong khoảng từ 0 đến 10, từ 1 đến 8, tốt hơn là từ 4 đến 8, và tốt nhất là 4 hoặc 8. Theo phương án khác, m nằm trong khoảng từ 10 đến 30, và tốt hơn là nằm trong khoảng từ 20 đến 30. Theo cách khác, m nằm trong khoảng từ 0 đến 50. Theo phương án này, tốt hơn là m nằm trong khoảng từ 10 đến 40 và n là 1.

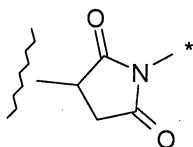
Theo một phương án, việc nối giữa chất gắn kết tế bào và A là thông qua gốc thiol của chất gắn kết tế bào và nhóm maleimit của A.

Theo một phương án, nhóm nối giữa chất gắn kết tế bào và A là:



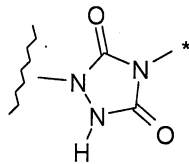
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào phần còn lại của A và đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào phần còn lại của chất gắn kết tế bào. Theo phương án này, nguyên tử S thường có nguồn gốc từ chất gắn kết tế bào.

Theo mỗi phương án trong số các phương án nêu trên, nhóm chức thay thế có thể được sử dụng thay cho nhóm có nguồn gốc từ maleimit được nêu dưới đây:



trong đó đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào chất gắn kết tế bào như nêu trên, và dấu hoa thị biểu thị liên kết với phần còn lại của nhóm A.

Theo một phương án, nhóm có nguồn gốc từ maleimit được thay thế bằng nhóm:

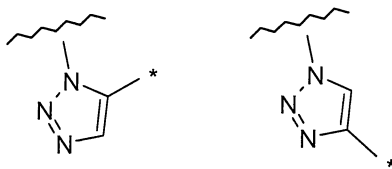


trong đó đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào chất gắn kết tế bào, và dấu hoa thị biểu thị liên kết với phần còn lại của nhóm A.

Theo một phương án, nhóm có nguồn gốc từ maleimit được thay thế bằng nhóm, mà tùy ý cùng với chất gắn kết tế bào, được chọn từ:

- C(=O)NH-,
- C(=O)O-,
- NHC(=O)-,
- OC(=O)-,
- OC(=O)O-,
- NHC(=O)O-,
- OC(=O)NH-,
- NHC(=O)NH-,
- NHC(=O)NH,
- C(=O)NHC(=O)-,
- S-,
- S-S-,
- CH₂C(=O)-
- C(=O)CH₂-,
- =N-NH-, và
- NH-N=.

Theo một phương án, nhóm có nguồn gốc từ maleimit được thay thế bằng nhóm, mà tùy ý cùng với chất gắn kết tế bào, được chọn từ:



trong đó đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào chất gắn kết tế bào hoặc liên kết với phần còn lại của nhóm A, và dấu hoa thị biểu thị lựa chọn còn lại trong số điểm gắn vào chất gắn kết tế bào hoặc liên kết với phần còn lại của nhóm A.

Các nhóm khác thích hợp để nối L^1 với chất gắn kết tế bào được mô tả trong WO 2005/082023.

Nhóm R^{10} có thể nhận được từ nhóm R^L . Nhóm R^L có thể được chuyển hóa thành nhóm R^{10} bằng cách nối chất gắn kết tế bào với nhóm chức của R^L . Các bước khác có thể được thực hiện để chuyển hóa R^L thành R^{10} . Các bước này có thể bao gồm việc loại bỏ các nhóm bảo vệ, khi có mặt, hoặc cài đặt nhóm chức thích hợp.

Q

Theo một phương án, Q được chọn từ O, S hoặc N(H).

Tốt hơn là, Q là O.

R^{11}

Theo một phương án, R^{11} là H hoặc R hoặc, khi Q là O, SO_3M , trong đó M là cation kim loại.

Theo một phương án, R^{11} là H.

Theo một phương án, R^{11} là R.

Theo một phương án, khi Q là O, R^{11} là SO_3M , trong đó M là cation kim loại. Cation này có thể là Na^+ .

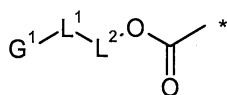
R^L

Theo một phương án, R^L là nhóm liên kết để nối với chất gắn kết tế bào.

Theo một phương án, nhóm liên kết này được cung cấp nhóm chức để tạo sự kết nối với chất gắn kết tế bào. Sáng chế đặc biệt quan tâm đến các nhóm R^L mà có liên kết carbamat vào vị trí N10. Phần mô tả về nhóm liên kết ở R^{10} nêu trên cũng liên quan đến các tiền chất gần nhất của chúng trong bản mô tả này.

R^L khác với R^C , mà không thích hợp để phản ứng với chất gắn kết tế bào. Tuy nhiên, theo một số phương án, R^C có thể được chuyển hóa thành nhóm R^L , ví dụ bằng cách thao tác thích hợp các nhóm bảo vệ này và các nhóm chức khác mà là, hoặc tạo thành một phần của, R^C .

Theo một phương án, R^L là nhóm:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10, G^1 là nhóm chức để tạo sự kết nối với chất gắn kết tế bào, L^1 là nhóm liên kết, L^2 là liên kết cộng hóa trị hoặc cùng với $-OC(=O)-$ tạo thành nhóm liên kết tự phân hủy, và L^1 hoặc L^2 là nhóm liên kết có thể phân cắt được.

L^1 và L^2 là như được xác định ở trên liên quan đến R^{10} . Tham chiếu đến việc nối với A có thể được hiểu ở đây là tham chiếu đến việc nối với G^1 .

Theo một phương án, khi L^1 chứa axit amin, chuỗi bên của axit amin đó có thể được bảo vệ. Nhóm bảo vệ thích hợp bất kỳ có thể được sử dụng. Theo một phương án, các nhóm bảo vệ chuỗi bên là có thể loại bỏ được với các nhóm bảo vệ khác trong hợp chất, khi có mặt. Theo các phương án khác, các nhóm bảo vệ này có thể là trực giao với các nhóm bảo vệ khác trong phân tử, khi có mặt.

Các nhóm bảo vệ thích hợp cho chuỗi bên của axit amin bao gồm các nhóm được mô tả trong ấn phẩm Novabiochem Catalog 2006/2007. Các nhóm bảo vệ để sử dụng trong nhóm liên kết không bền đối với cathepsin cũng được mô tả trong ấn phẩm của Dubowchik và các đồng tác giả.

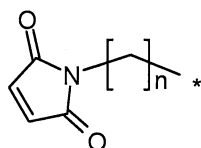
Theo một số phương án của sáng chế, nhóm L^1 bao gồm gốc axit amin Lys. Chuỗi bên của axit amin này có thể được bảo vệ bằng nhóm bảo vệ Boc hoặc Alloc. Nhóm bảo vệ Boc được ưu tiên nhất.

Nhóm chức G^1 tạo thành nhóm nối A khi phản ứng với chất gắn kết tế bào.

Theo một phương án, nhóm chức G^1 là hoặc chứa nhóm amino, axit carboxylic, hydroxyl, thiol hoặc maleimide để phản ứng với nhóm thích hợp trên chất gắn kết tế bào. Theo phương án được ưu tiên, G^1 chứa nhóm maleimide.

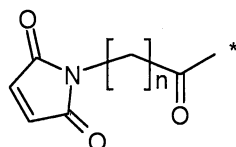
Theo một phương án, nhóm G^1 là nhóm alkyl maleimide. Nhóm này thích hợp để phản ứng với các nhóm thiol, đặc biệt là các nhóm cysteine thiol, có mặt ở chất gắn kết tế bào, ví dụ có mặt ở kháng thể.

Theo một phương án, nhóm G^1 là:



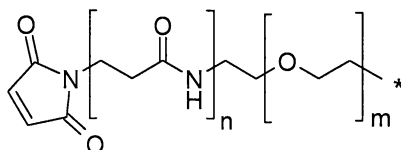
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^1 và n nằm trong khoảng từ 0 đến 6. Theo một phương án, n là 5.

Theo một phương án, nhóm G^1 là:



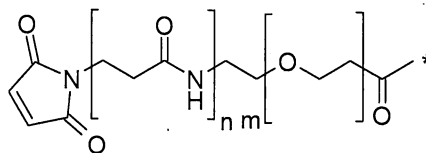
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^1 và n nằm trong khoảng từ 0 đến 6. Theo một phương án, n là 5.

Theo một phương án, nhóm G^1 là:



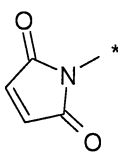
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^1 , n là 0 hoặc 1, và m nằm trong khoảng từ 0 đến 30. Theo phương án được ưu tiên, n là 1 và m nằm trong khoảng từ 0 đến 10, từ 1 đến 2, tốt hơn là từ 4 đến 8, và tốt nhất là 4 hoặc 8. Theo cách khác, m nằm trong khoảng từ 0 đến 50. Theo phương án này, tốt hơn là m nằm trong khoảng từ 10 đến 40 và n là 1.

Theo một phương án, nhóm G^1 là:



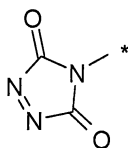
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^1 , n là 0 hoặc 1, và m nằm trong khoảng từ 0 đến 30. Theo phương án được ưu tiên, n là 1 và m nằm trong khoảng từ 0 đến 10, từ 1 đến 8, tốt hơn là từ 4 đến 8, và tốt nhất là 4 hoặc 8. Theo cách khác, m nằm trong khoảng từ 0 đến 50. Theo phương án này, tốt hơn là m nằm trong khoảng từ 10 đến 40 và n là 1.

Theo mỗi phương án trong số các phương án nêu trên, nhóm chức thay thế có thể được sử dụng thay cho nhóm maleimit được nêu dưới đây:



trong đó dấu hoa thị biểu thị liên kết với phần còn lại của nhóm G.

Theo một phương án, nhóm có nguồn gốc từ maleimit được thay thế bằng nhóm:



trong đó dấu hoa thị biểu thị liên kết với phần còn lại của nhóm G.

Theo một phương án, nhóm maleimit được thay thế bằng nhóm được chọn từ:

-C(=O)OH,

-OH,

-NH₂,

-SH,

-C(=O)CH₂D, khi D là Cl, Br hoặc I,

-CHO,

-NHNH₂

-C≡CH, và

-N₃ (azit).

Theo một phương án, khi L¹ có mặt, G¹ là -NH₂, -NHMe, -COOH, -OH hoặc -SH.

Theo một phương án, khi L¹ có mặt, G¹ là -NH₂ hoặc -NHMe. Mỗi nhóm này có thể là đầu tận cùng N của trình tự axit amin L¹.

Theo một phương án, khi L¹ có mặt, G¹ là -NH₂, và L¹ là trình tự axit amin -X₁-X₂-, như được xác định ở trên liên quan đến R¹⁰.

Theo một phương án, khi L¹ có mặt, G¹ là COOH. Nhóm này có thể là đầu tận cùng C của trình tự axit amin L¹.

Theo một phương án, khi L¹ có mặt, G¹ là OH.

Theo một phương án, khi L¹ có mặt, G¹ là SH.

Nhóm G¹ có thể là có thể chuyển hóa được từ nhóm chức này thành nhóm chức khác. Theo một phương án, khi L¹ có mặt, G¹ là -NH₂. Nhóm này có thể chuyển hóa được thành nhóm G¹ khác chứa nhóm maleimit. Ví dụ, nhóm -NH₂ có thể được cho phản ứng với axit hoặc axit được hoạt hóa (ví dụ dạng N-suxinimit) của các nhóm G¹ chứa maleimit nêu trên.

Vì vậy, nhóm G¹ có thể được chuyển hóa thành nhóm chức mà thích hợp hơn cho phản ứng với chất gắn kết tế bào.

Theo các phương án khác, R^L là nhóm mà là tiền chất đối với nhóm liên kết mà được cung cấp nhóm chức.

Như nêu trên, theo một phương án, khi L¹ có mặt, G¹ là -NH₂, -NHMe, -COOH, -OH hoặc -SH. Theo phương án khác, các nhóm này được tạo ra ở dạng được bảo vệ về mặt hóa học. Vì vậy, dạng được bảo vệ về mặt hóa học là tiền chất đối với nhóm liên kết mà được cung cấp nhóm chức.

Theo một phương án, G¹ là -NH₂ ở dạng được bảo vệ về mặt hóa học. Nhóm này có thể được bảo vệ bằng nhóm bảo vệ carbamat. Nhóm bảo vệ carbamat có thể được chọn từ nhóm bao gồm:

Alloc, Fmoc, Boc, Troc, Teoc, Cbz và PNZ.

Tốt hơn là, khi G¹ là -NH₂, nó được bảo vệ bằng nhóm Alloc hoặc Fmoc.

Theo một phương án, khi G¹ là -NH₂, nó được bảo vệ bằng nhóm Fmoc.

Theo một phương án, nhóm bảo vệ này giống với nhóm bảo vệ carbamat của nhóm chụp mũ.

Theo một phương án, nhóm bảo vệ này không giống với nhóm bảo vệ carbamat của nhóm chụp mũ. Theo phương án này, tốt hơn là, nhóm bảo vệ có thể loại bỏ được trong điều kiện mà không loại bỏ nhóm bảo vệ carbamat của nhóm chụp mũ.

Nhóm bảo vệ hóa học có thể được loại bỏ để tạo ra nhóm chức để tạo sự kết nối với chất gắn kết tế bào. Tùy ý, sau đó, nhóm chức này có thể được chuyển hóa thành nhóm chức khác như được mô tả ở trên.

Theo một phương án, nhóm hoạt tính là amin. Tốt hơn là, amin này là amin đầu tận cùng N của peptit, và có thể là amin đầu tận cùng N của các dipeptit được ưu tiên theo sáng chế.

Nhóm hoạt tính có thể được cho phản ứng để thu được nhóm chức mà được dự định là để tạo sự kết nối với chất gắn kết tế bào.

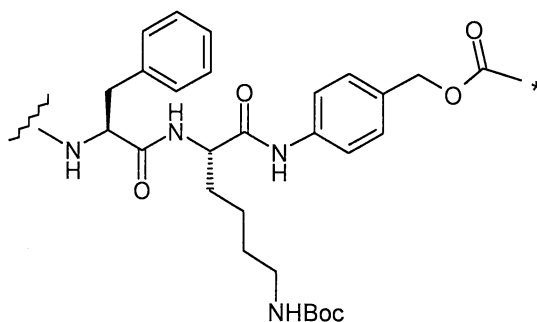
Theo các phương án khác, nhóm liên kết là tiền chất đối với nhóm liên kết có nhóm hoạt tính. Theo phương án này, nhóm liên kết chứa nhóm hoạt tính, mà được bảo vệ bằng nhóm bảo vệ. Nhóm bảo vệ có thể được loại bỏ để tạo ra nhóm liên kết có nhóm hoạt tính.

Khi nhóm hoạt tính là amin, nhóm bảo vệ có thể là nhóm bảo vệ amin, như các nhóm bảo vệ amin được mô tả trong tài liệu của Green và Wuts.

Tốt hơn là, nhóm bảo vệ trực giao với các nhóm bảo vệ khác, khi có mặt, trong nhóm R^L .

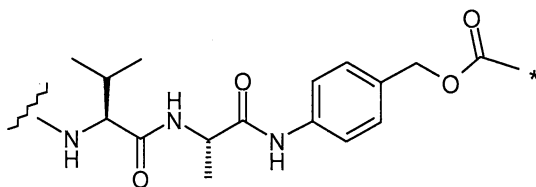
Theo một phương án, nhóm bảo vệ trực giao với nhóm chụp mũ. Do đó, nhóm bảo vệ của nhóm hoạt tính có thể loại bỏ được trong khi vẫn giữ được nhóm chụp mũ. Theo các phương án khác, nhóm bảo vệ và nhóm chụp mũ có thể loại bỏ được trong điều kiện giống như điều kiện được sử dụng để loại bỏ nhóm chụp mũ.

Theo một phương án, R^L là:



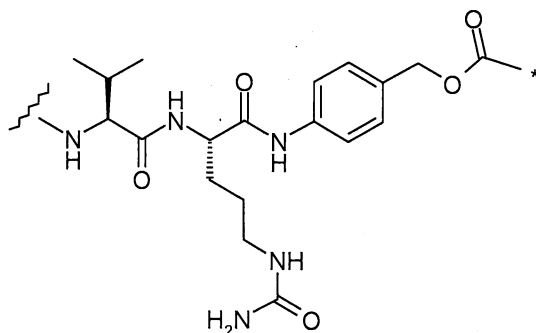
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10, và đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào phần còn lại của nhóm liên kết L^1 hoặc điểm gắn vào G^1 . Tốt hơn là, đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào G^1 .

Theo một phương án, R^L là:



trong đó dấu hoa thị và đường gợn sóng là như được xác định ở trên.

Theo một phương án, R^L là:



trong đó dấu hoa thị và đường gợn sóng là như được xác định ở trên.

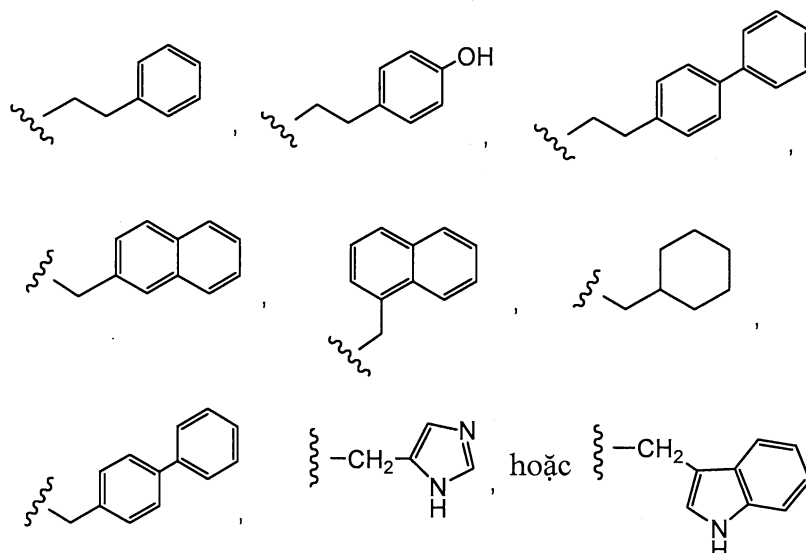
Các nhóm chức khác thích hợp để sử dụng trong việc tạo sự kết nối giữa L^1 và chất gắn kết tế bào được mô tả trong WO 2005/082023.

Các nhóm liên kết có thể bao gồm các gốc peptit có thể phân cắt được bằng proteaza chứa một hoặc nhiều đơn vị axit amin. Các chất phản ứng liên kết peptit có thể được điều chế bằng các phương pháp tổng hợp pha rắn hoặc pha lỏng (E. Schröder and K. Lübke, *The Peptides*, volume 1, pp 76-136 (1965) Academic Press) đã biết rõ trong lĩnh vực hóa học

peptit, bao gồm hóa học t-BOC (Geiser et al "Automation of solid-phase peptide synthesis" in *Macromolecular Sequencing and Synthesis*, Alan R. Liss, Inc., 1988, pp. 199-218) và hóa học Fmoc/HBTU (Fields, G. and Noble, R. (1990) "Solid phase peptide synthesis utilizing 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino acids", *Int. J. Peptide Protein Res.* 35:161-214), trên thiết bị tổng hợp tự động như Rainin Symphony Peptide Synthesizer (Protein Technologies, Inc., Tucson, AZ), hoặc Model 433 (Applied Biosystems, Foster City, CA).

Các nhóm liên kết axit amin tiêu biểu bao gồm dipeptit, tripeptit, tetrapeptit hoặc pentapeptit. Các dipeptit tiêu biểu bao gồm: valin-xitruilin (vc hoặc val-cit), alanin-phenylalanin (af hoặc ala-phe). Các tripeptit tiêu biểu bao gồm: glyxin-valin-xitruilin (gly-val-cit) và glyxin-glyxin-glyxin (gly-gly-gly). Các gốc axit amin mà chứa thành phần liên kết axit amin bao gồm các gốc axit amin có trong tự nhiên, cũng như các axit amin thứ yếu và các chất tương tự axit amin không có trong tự nhiên, như xitruilin. Các thành phần liên kết axit amin có thể được thiết kế và được tối ưu hóa về độ chọn lọc của chúng để phân cắt bằng enzym bởi các enzym cụ thể, ví dụ, proteaza liên quan đến khối u, cathepsin B, C và D, hoặc plasmin proteaza.

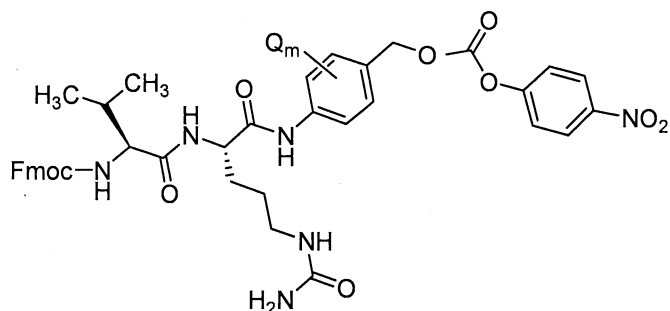
Các chuỗi bên của axit amin bao gồm các chuỗi bên của axit amin có trong tự nhiên, cũng như các axit amin thứ yếu và các chất tương tự axit amin không có trong tự nhiên, như xitruilin. Các chuỗi bên của axit amin bao gồm hydro, methyl, isopropyl, isobutyl, sec-butyl, benzyl, p-hydroxybenzyl, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{COOH}$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCHO}$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCHO}$, $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCONH}_2$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NHCONH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_2$, 2-pyridylmetyl-, 3-pyridylmetyl-, 4-pyridylmetyl-, phenyl, xyclohexyl, cũng như các cấu trúc nêu dưới đây:



Khi các chuỗi bên của axit amin bao gồm không phải là hydro (glyxin), nguyên tử cacbon mà chuỗi bên của axit amin này được gắn vào sẽ là không đối xứng. Mỗi nguyên tử cacbon mà chuỗi bên của axit amin này được gắn vào độc lập ở dạng cấu hình (*S*) hoặc (*R*), hoặc hỗn hợp racemic. Do đó, chất phản ứng được chất-nhóm liên kết có thể là tinh khiết về mặt chất đồng phân đối ảnh, có dạng racemic, hoặc có dạng chất đồng phân không đối quang.

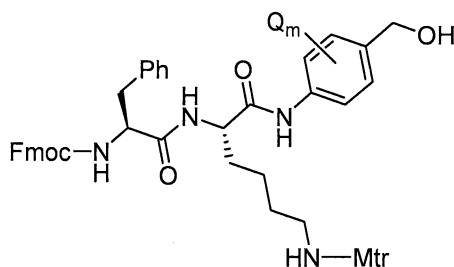
Theo các phương án tiêu biểu, các chuỗi bên của axit amin được chọn từ các chuỗi bên của các axit amin có trong tự nhiên và không có trong tự nhiên, bao gồm alanin, axit 2-amino-2-cyclohexylacetic, axit 2-amino-2-phenylacetic, arginin, asparagin, axit aspartic, cystein, glutamin, axit glutamic, glyxin, histidin, isoleuxin, leuxin, lysin, methionin, norleuxin, phenylalanin, prolin, serin, threonin, tryptophan, tyrosin, valin, axit γ -aminobutyric, axit α,α -dimethyl γ -aminobutyric, axit β,β -dimethyl γ -aminobutyric, ornithin và citrulin (Cit).

Chất phản ứng liên kết dipeptit valin-citrulin (val-cit hoặc vc) tiêu biểu hữu dụng để tạo cấu trúc sản phẩm trung gian nhóm liên kết-gốc được chất PBD để liên hợp với chất gắn kết tế bào, ví dụ kháng thể, có nhóm đệm tự phân hủy para-aminobenzylcarbonyl (PAB) có cấu trúc:



trong đó Q là C_1-C_8 alkyl, $-O-(C_1-C_8$ alkyl), -halogen, $-NO_2$ hoặc $-CN$; và m là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 4.

Chất phản ứng liên kết dipeptit phe-lys(Mtr) tiêu biểu có nhóm p-aminobenzyl có thể được điều chế theo ấn phẩm Dubowchik, et al. (1997) Tetrahedron Letters, 38:5257-60, và có cấu trúc:

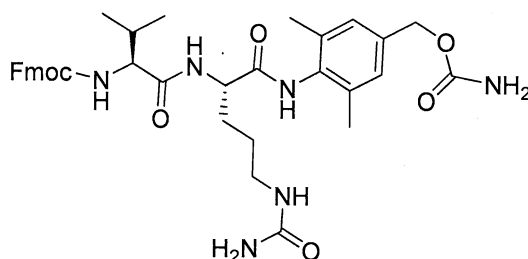


trong đó Mtr là mono-4-metoxymethyl, Q là C_1-C_8 alkyl, $-O-(C_1-C_8$ alkyl), -halogen, $-NO_2$ hoặc $-CN$; và m là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 4.

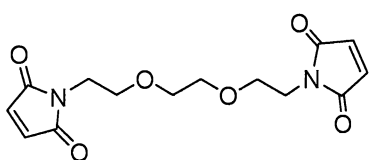
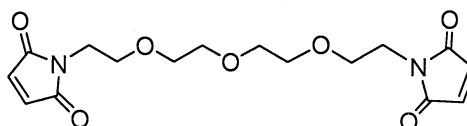
“Nhóm liên kết tự phân hủy” PAB (para-aminobenzylloxycarbonyl) gắn gốc được chất với kháng thể trong thể liên hợp được chất-kháng thể (Carl et al (1981) J. Med. Chem. 24:479-480; Chakravarty et al (1983) J. Med. Chem. 26:638-644; US 6214345; US20030130189; US20030096743; US6759509; US20040052793; US6218519; US6835807; US6268488; US20040018194; WO98/13059; US20040052793; US6677435; US5621002; US20040121940; WO2004/032828). Các ví dụ khác về nhóm đệm tự phân hủy ngoài PAB bao gồm, nhưng không giới hạn ở: (i) hợp chất thơm mà tương tự về mặt điện tử với nhóm PAB như dẫn xuất 2-aminoimidazol-5-metanol (Hay et al. (1999) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237), thiazol (US 7375078), các đơn vị PAB phức và kéo dài (de Groot et al (2001) J. Org. Chem. 66:8815-8830); và ortho hoặc para-aminobenzylaxetal; và (ii) chất tương tự styryl PAB được công nhận (US 7223837). Các nhóm đệm có thể được sử dụng mà trải qua quá trình đóng vòng khi thủy phân liên kết amit, như amit của axit 4-aminobutyric được thể và không được thể (Rodrigues et al (1995) Chemistry Biology

2:223), hệ vòng bixyclo[2,2,1] và bixyclo[2,2,2] được thể thích hợp (Storm et al (1972) J. Amer. Chem. Soc. 94:5815) và amit của axit 2-aminophenylpropionic (Amsberry, et al (1990) J. Org. Chem. 55:5867). Việc loại bỏ các dược chất chứa amin mà được thể ở glyxin (Kingsbury et al (1984) J. Med. Chem. 27:1447) cũng là ví dụ về nhóm đệm tự phân hủy hữu dụng trong ADC.

Theo một phương án, chất phản ứng là chất tương tự dipeptit PAB valin-xitruin có nhóm 2,6 dimetyl phenyl và có cấu trúc:



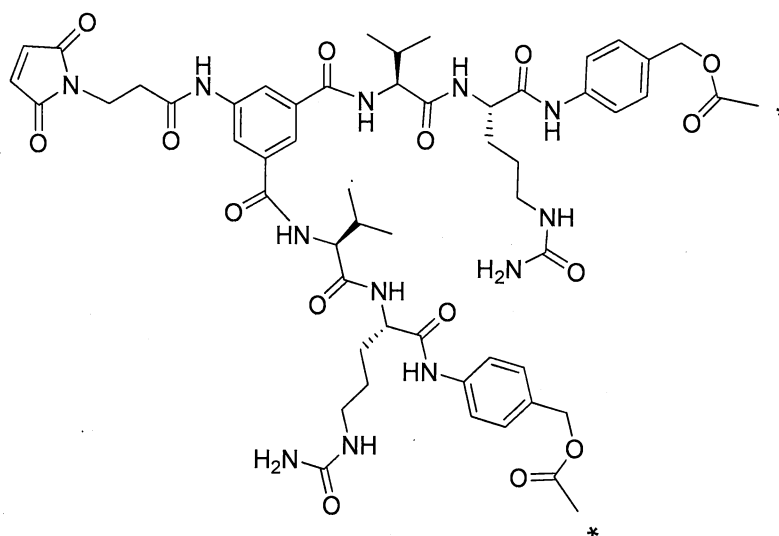
Các chất phản ứng liên kết hữu dụng cho thể liên hợp dược chất-kháng thể theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở: chất phản ứng BMPEO, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, sulfo-EMCS, sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB, sulfo-SMCC và sulfo-SMPB, và SVSB (suxinimidyl-(4-vinylsulfon)benzoat), và bis-maleimit: DTME, BMB, BMDB, BMH, BMOE, 1,8-bis-maleimidodietylenglycol (BM(PEO)₂), và 1,11-bis-maleimidotriethylenglycol (BM(PEO)₃), có bán trên thị trường bởi Pierce Biotechnology, Inc., ThermoScientific, Rockford, IL, và các nhà cung cấp chất phản ứng khác. Các chất phản ứng bis-maleimit cho phép gắn nhóm thiol tự do của gốc xystein của kháng thể vào gốc dược chất, chất đánh dấu hoặc sản phẩm trung gian của nhóm liên kết chứa thiol, theo cách liên tiếp hoặc đồng thời. Các nhóm chức khác ngoài maleimit, mà có tính phản ứng với nhóm thiol của kháng thể, gốc dược chất PBD hoặc sản phẩm trung gian của nhóm liên kết bao gồm iodoaxetamid, bromoaxetamid, vinyl pyridin, disulfua, pyridyl disulfua, isoxyanat và isothioxyanat.

BM(PEO)₂BM(PEO)₃

Các phương án khác của chất phản ứng liên kết là: N-suxinimidyl-4-(2-pyridylthio)pentanoat (SPP), N-suxinimidyl-3-(2-pyridyldithio) propionat (SPDP, Carlsson et al (1978) *Biochem. J.* 173:723-737), suxinimidyl-4-(N-maleimidometyl) xyclohexan-1-carboxylat (SMCC), iminothiolan (IT), dẫn xuất chức kép của imidoeste (như dimetyl adipimidat HCl), este hoạt tính (như disuxinimidyl suberat), aldehyt (như glutaraldehyt), hợp chất bis-azido (như bis (p-azidobenzoyl) hexandiamin), dẫn xuất bis-diazoni (như bis-(p-diazonibenzoyl)-etylendiamin), diisoxyanat (như toluen 2,6-diisoxyanat), và hợp chất bis-flo hoạt tính (như 1,5-diflo-2,4-dinitrobenzen). Các chất phản ứng liên kết hữu dụng cũng có thể được thu nhận thông qua các nguồn thương mại khác, như Molecular Biosciences Inc.(Boulder, CO), hoặc được tổng hợp theo các quy trình được mô tả trong ấn phẩm Toki et al (2002) *J. Org. Chem.* 67:1866-1872; US 6214345; WO 02/088172; US 2003130189; US2003096743; WO 03/026577; WO 03/043583 và WO 04/032828.

Nhóm liên kết có thể là nhóm liên kết dạng cây để gắn theo cách cộng hóa trị nhiều hơn một gốc được chất thông qua gốc liên kết đa chức phân nhánh với kháng thể (US 2006/116422; US 2005/271615; de Groot et al (2003) *Angew. Chem. Int. Ed.* 42:4490-4494; Amir et al (2003) *Angew. Chem. Int. Ed.* 42:4494-4499; Shamis et al (2004) *J. Am. Chem. Soc.* 126:1726-1731; Sun et al (2002) *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 12:2213-2215; Sun et al (2003) *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 11:1761-1768; King et al (2002) *Tetrahedron Letters* 43:1987-1990). Nhóm liên kết dạng cây có thể làm tăng tỷ số mol giữa được chất và kháng thể, tức là tải lượng, điều này liên quan đến hiệu lực của ADC. Do đó, khi kháng thể chỉ mang một nhóm xystein thiol có tính phản ứng, rất nhiều gốc được chất có thể được gắn thông qua nhóm liên kết dạng cây hoặc phân nhánh.

Một phương án ví dụ về nhóm liên kết dạng cây có cấu trúc:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10 của gốc PBD.

Chất gắn kết tế bào

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

Thuật ngữ “kháng thể” trong bản mô tả này được sử dụng theo nghĩa rộng nhất và cụ thể là bao gồm kháng thể đơn dòng, kháng thể đa dòng, dime, multimer, kháng thể đa đặc hiệu (ví dụ, kháng thể đặc hiệu kép), và mảnh kháng thể, miễn là chúng thể hiện hoạt tính sinh học mong muốn (Miller et al (2003) *Jour. of Immunology* 170:4854-4861). Các kháng thể có thể là của chuột, của người, được làm giống như của người, dạng khảm, hoặc có nguồn gốc từ các loài khác. Kháng thể là protein được tạo ra bởi hệ miễn dịch mà có khả năng nhận biết và gắn kết với kháng nguyên đặc hiệu. (Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York). Kháng nguyên đích thường có nhiều vị trí gắn kết, còn được gọi là epitop, được nhận biết bởi các CDR trên nhiều kháng thể. Mỗi kháng thể mà liên kết đặc hiệu với epitop khác nhau thì có cấu trúc khác nhau. Do đó, một kháng nguyên có thể có nhiều hơn một kháng thể tương ứng. Kháng thể bao gồm phân tử globulin miễn dịch có chiều dài đầy đủ hoặc phần có hoạt tính miễn dịch của phân tử globulin miễn dịch có chiều dài đầy đủ, tức là, phân tử chứa vị trí gắn kết kháng nguyên mà gắn kết đặc hiệu về mặt miễn dịch với kháng nguyên của đích đang quan tâm hoặc một phần của nó, các đích này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tế

bào hoặc các tế bào ung thư mà tạo ra các kháng thể tự miễn liên quan đến bệnh tự miễn. Các globulin miễn dịch có thể là thuộc loại bất kỳ (ví dụ IgG, IgE, IgM, IgD và IgA), lớp bất kỳ (ví dụ IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 và IgA2) hoặc phân lớp phân tử globulin miễn dịch bất kỳ. Các globulin miễn dịch có thể có nguồn gốc từ loài bất kỳ, bao gồm có nguồn gốc từ người, chuột hoặc thỏ.

"Mảnh kháng thể" chứa một phần của kháng thể có chiều dài đầy đủ, thường là vùng biến đổi hoặc liên kết kháng nguyên của chúng. Ví dụ về mảnh kháng thể bao gồm mảnh Fab, Fab', F(ab')₂ và Fv; kháng thể dạng dime (diabody); kháng thể dạng thẳng; mảnh được tạo ra bởi thư viện biểu hiện Fab, kháng thể kháng idiotyp (kháng Id), CDR (vùng xác định bổ trợ), và các mảnh liên kết epitop của kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể nêu trên mà liên kết đặc hiệu về mặt miễn dịch với kháng nguyên tế bào ung thư, kháng nguyên virus hoặc kháng nguyên vi khuẩn, phân tử kháng thể chuỗi đơn; và kháng thể đa đặc hiệu được tạo thành từ các mảnh kháng thể.

Thuật ngữ "kháng thể đơn dòng" trong bản mô tả này chỉ kháng thể thu được từ tập hợp các kháng thể đồng nhất về cơ bản, tức là các kháng thể riêng lẻ chứa trong tập hợp là giống nhau ngoại trừ các đột biến xuất hiện một cách tự nhiên có thể có mà có thể có mặt với lượng nhỏ. Kháng thể đơn dòng có tính đặc hiệu cao, hướng vào một vị trí kháng nguyên riêng lẻ. Ngoài ra, trái ngược với các chế phẩm kháng thể đa dòng mà bao gồm các kháng thể khác nhau hướng vào các yếu tố quyết định (epitop) khác nhau, mỗi kháng thể đơn dòng hướng vào một yếu tố quyết định riêng lẻ trên kháng nguyên. Ngoài tính đặc hiệu, kháng thể đơn dòng có ưu điểm ở chỗ chúng có thể được tổng hợp mà không bị nhiễm tạp bởi các kháng thể khác. Từ bỏ nghĩa "đơn dòng" thể hiện đặc điểm của kháng thể này là được thu nhận từ tập hợp các kháng thể đồng nhất về cơ bản, và không được hiểu là cần tạo ra kháng thể này bằng bất kỳ phương pháp cụ thể nào. Ví dụ, các kháng thể đơn dòng được sử dụng theo sáng chế có thể được tạo ra bằng phương pháp tế bào lai được mô tả lần đầu tiên bởi ấn phẩm Kohler et al (1975) *Nature* 256:495, hoặc có thể được tạo ra bằng các phương pháp ADN tái tổ hợp (xem, US 4816567). Các kháng thể đơn dòng cũng có thể được phân lập từ các thư viện kháng thể thực khuẩn bằng cách sử dụng các kỹ thuật được mô tả trong ấn phẩm Clackson et al (1991) *Nature*, 352:624-628; Marks et al (1991) *J. Mol. Biol.*, 222:581-597.

Kháng thể đơn dòng trong bản mô tả này cụ thể là bao gồm kháng thể "dạng khảm" trong đó một phần của chuỗi nặng và/hoặc chuỗi nhẹ giống hoặc tương đồng với các trình tự

tương ứng trong các kháng thể có nguồn gốc từ loài cụ thể hoặc thuộc lớp hoặc phân lớp kháng thể cụ thể, trong khi phần còn lại của (các) chuỗi giống hoặc tương đồng với các trình tự tương ứng trong các kháng thể có nguồn gốc từ loài khác hoặc thuộc lớp hoặc phân lớp kháng thể khác, cũng như mảnh của các kháng thể này, miễn là chúng thể hiện hoạt tính sinh học mong muốn (US 4816567; và Morrison et al (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855). Kháng thể dạng khảm bao gồm kháng thể “được làm giống như động vật linh trưởng” chứa các trình tự liên kết kháng nguyên của miền biến đổi có nguồn gốc từ động vật linh trưởng không phải là người (ví dụ, khi mũi hẹp hoặc vượn) và các trình tự vùng hằng định của người.

“Kháng thể nguyên vẹn” trong bản mô tả này là kháng thể chứa các miền VH và VL, cũng như miền hằng định (CL) chuỗi nhẹ và các miền hằng định chuỗi nặng, CH1, CH2 và CH3. Miền hằng định có thể là miền hằng định của trình tự gốc (ví dụ, miền hằng định của trình tự gốc của người) hoặc biến thể trình tự axit amin của chúng. Kháng thể nguyên vẹn có thể có một hoặc nhiều “chức năng tác động”, chỉ các hoạt tính sinh học mà có thể quy cho vùng Fc (vùng Fc của trình tự gốc hoặc vùng Fc của biến thể trình tự axit amin) của kháng thể. Ví dụ về chức năng tác động của kháng thể bao gồm liên kết C1q; tính gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể; liên kết thụ thể Fc; tính gây độc tế bào được điều tiết bởi tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC); sự thực bào; và sự điều tiết giảm các thụ thể bề mặt tế bào như thụ thể tế bào B và BCR.

Tùy thuộc vào trình tự axit amin của miền hằng định của các chuỗi nặng của chúng, các kháng thể nguyên vẹn có thể được gán vào “các lớp” khác nhau. Có năm lớp kháng thể nguyên vẹn chính: IgA, IgD, IgE, IgG và IgM, và một số lớp trong số này có thể được chia tiếp thành các “phân lớp” (isotyp), ví dụ, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA và IgA2. Các miền hằng định của chuỗi nặng mà tương ứng với các lớp kháng thể khác nhau được gọi là α , δ , ϵ , γ và μ , một cách tương ứng. Cấu trúc siêu phân tử và cấu hình ba chiều của các lớp globulin miễn dịch khác nhau là đã biết rõ.

Ví dụ về chất gắn kết tế bào bao gồm các chất được mô tả để sử dụng trong WO 2007/085930.

Chất gắn kết tế bào có thể là, hoặc chứa, polypeptit. Polypeptit này có thể là polypeptit vòng. Chất gắn kết tế bào có thể là kháng thể. Do đó, theo một phương án, sáng chế đề xuất thể liên hợp được chất-kháng thể (ADC).

Tải lượng dược chất

Tải lượng dược chất là số lượng trung bình của các dược chất PBD trên mỗi kháng thể. Tải lượng dược chất có thể nằm trong khoảng từ 1 đến 8 dược chất (D) trên mỗi kháng thể (Ab), tức là khi 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 và 8 gốc dược chất được gắn theo cách cộng hóa trị vào kháng thể. Các chế phẩm ADC bao gồm tập hợp các kháng thể được liên hợp với một số lượng dược chất, nằm trong khoảng từ 1 đến 8. Số lượng trung bình của các dược chất trên mỗi kháng thể trong chế phẩm ADC từ các phản ứng liên hợp có thể được xác định đặc điểm bằng các phương pháp thông dụng như khối phổ, thử nghiệm ELISA, điện di và HPLC. Phân phối định lượng của ADC xét theo p cũng có thể được xác định. Giá trị trung bình của p trong chế phẩm ADC cụ thể có thể được xác định bằng ELISA (Hamblett et al (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Sanderson et al (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852). Tuy nhiên, sự phân phối các giá trị p (dược chất) có thể không thấy rõ bởi sự liên kết kháng thể-kháng nguyên và giới hạn phát hiện của ELISA. Cũng như vậy, thử nghiệm ELISA để phát hiện thể liên hợp dược chất-kháng thể không xác định được nơi các gốc dược chất được gắn với kháng thể, như các mảnh chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ, hoặc các gốc axit amin cụ thể. Trong một số trường hợp, có thể tách, tinh chế và xác định đặc điểm của ADC đồng nhất trong đó p là một giá trị nhất định ra khỏi ADC với các tải lượng dược chất khác nhau bằng các phương pháp như HPLC pha đảo hoặc điện di.

Đối với một số thể liên hợp dược chất-kháng thể, p có thể bị giới hạn bởi số lượng vị trí gắn trên kháng thể. Ví dụ, kháng thể có thể chỉ có một hoặc một vài nhóm xystein thiol, hoặc có thể chỉ có một hoặc một vài nhóm thiol có tính phản ứng thỏa đáng mà nhóm liên kết có thể được gắn thông qua đó. Tải lượng dược chất cao hơn, ví dụ $p > 5$, có thể gây ra sự kết tụ, tính không tan, độc tính, hoặc sự mất tính thẩm tế bào của các thể liên hợp dược chất-kháng thể nhất định.

Thông thường, lượng ít hơn lượng tối đa theo lý thuyết của các gốc dược chất được liên hợp với kháng thể trong phản ứng liên hợp. Kháng thể có thể chứa, ví dụ, nhiều gốc lysin mà không phản ứng với sản phẩm trung gian dược chất-nhóm liên kết (D-L) hoặc chất phản ứng liên kết. Chỉ có các nhóm lysin có tính phản ứng nhất mới có thể phản ứng với chất phản ứng liên kết có tính phản ứng với amin. Cũng như vậy, chỉ có các nhóm xystein thiol có tính phản ứng nhất mới có thể phản ứng với chất phản ứng liên kết có tính phản ứng với thiol. Nói chung, các kháng thể không chứa nhiều, nếu có, nhóm xystein thiol tự do và có tính phản ứng mà có thể liên kết vào gốc dược chất. Hầu hết các gốc xystein thiol trong

kháng thể của hợp chất tồn tại dưới dạng các cầu nối disulfua và cần phải được khử bằng chất khử như dithiothreitol (DTT) hoặc TCEP, trong điều kiện khử một phần hoặc hoàn toàn. Tải lượng (tỷ lệ dược chất/kháng thể) của ADC có thể được kiểm soát theo một vài cách khác nhau, bao gồm: (i) hạn chế lượng mol dư của sản phẩm trung gian dược chất-nhóm liên kết (D-L) hoặc chất phản ứng liên kết so với kháng thể, (ii) hạn chế nhiệt độ và thời gian phản ứng liên hợp, và (iii) điều kiện khử giới hạn hoặc một phần để làm biến đổi xystein thiol.

Các axit amin xystein có thể được thiết kế ở các vị trí có tính phản ứng trong kháng thể và không tạo ra các liên kết disulfua liên phân tử hoặc bên trong chuỗi (Junutula, et al., 2008b *Nature Biotech.*, 26(8):925-932; Dornan et al (2009) *Blood* 114(13):2721-2729; US 7521541; US 7723485; WO2009/052249). Các xystein thiol được thiết kế này có thể phản ứng với chất phản ứng liên kết hoặc chất phản ứng dược chất-nhóm liên kết theo sáng chế mà có các nhóm ái điện tử có tính phản ứng với thiol như maleimide hoặc alpha-halo amide để tạo thành ADC với kháng thể được thiết kế xystein và gốc dược chất PBD. Theo đó, vị trí của gốc dược chất có thể được thiết kế, được kiểm soát và được nhận biết. Tải lượng dược chất có thể được kiểm soát vì các nhóm xystein thiol được thiết kế thường phản ứng với chất phản ứng liên kết hoặc chất phản ứng dược chất-nhóm liên kết có tính phản ứng với thiol với hiệu suất cao. Việc thiết kế kháng thể IgG để đưa axit amin xystein vào bằng cách thế tại một vị trí đơn lẻ trên chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ tạo ra hai xystein mới trên kháng thể đối xứng này. Có thể đạt được tải lượng dược chất gần bằng 2 và gần bằng độ đồng nhất của sản phẩm liên hợp ADC.

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

Do đó, chế phẩm liên hợp dược chất-kháng thể theo sáng chế bao gồm hỗn hợp của các hợp chất liên hợp dược chất-kháng thể trong đó kháng thể có một hoặc nhiều gốc dược

chất PBD và trong đó các gốc được chất này có thể được gắn vào kháng thể tại các gốc axit amin khác nhau.

Theo một phương án, số lượng trung bình của các nhóm pyrolobenzodiazepin dạng monome hoặc dime trên mỗi chất gắn kết tế bào nằm trong khoảng từ 1 đến 20. Theo một số phương án, khoảng giá trị này được chọn từ 1 đến 8, từ 2 đến 8, từ 2 đến 6, từ 2 đến 4 và từ 4 đến 8.

Theo một số phương án, có một nhóm pyrolobenzodiazepin dạng monome hoặc dime trên mỗi chất gắn kết tế bào.

Peptit

Theo một phương án, chất gắn kết tế bào là peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng chứa từ 4 đến 20, tốt hơn là từ 6 đến 20, gốc axit amin liên kề. Theo phương án này, tốt hơn là một chất gắn kết tế bào được liên kết với một hợp chất pyrolobenzodiazepin dạng monome hoặc dime.

Theo một phương án, chất gắn kết tế bào chứa peptit mà gắn kết với integrin $\alpha_v\beta_6$. Peptit có thể có tính chọn lọc đối với $\alpha_v\beta_6$ so với $\alpha_5\beta_1$.

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

Theo một phương án, kháng thể là kháng thể đơn dòng; kháng thể dạng khảm; kháng thể được làm giống như của người; kháng thể của người hoàn toàn; hoặc kháng thể chuỗi đơn. Theo một phương án, kháng thể là mảnh của một trong số các kháng thể có hoạt tính sinh học này. Ví dụ về mảnh này bao gồm mảnh Fab, Fab', F(ab')₂ và Fv.

Theo các phương án này, mỗi kháng thể có thể được liên kết với một hoặc một vài nhóm pyrolobenzodiazepin dạng monome hoặc dime. Tỷ lệ được ưu tiên giữa pyrolobenzodiazepin và chất gắn kết tế bào được nêu ở trên.

Kháng thể có thể là kháng thể miễn (DAB).

Theo một phương án, kháng thể là kháng thể đơn dòng.

Các kháng thể để sử dụng trong sáng chế bao gồm các kháng thể được mô tả trong WO 2005/082023. Được ưu tiên đặc biệt là các kháng thể đối với các kháng nguyên liên quan đến khối u. Ví dụ về kháng nguyên đã biết trong tình trạng kỹ thuật bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các kháng nguyên liên quan đến khối u được nêu trong WO 2005/082023. Xem, ví dụ, các trang 41-55.

Các thể liên hợp theo sáng chế được thiết kế để nhắm đích tới các tế bào khối u thông qua các kháng nguyên bề mặt tế bào của chúng. Các kháng nguyên này thường là các kháng nguyên bề mặt tế bào bình thường mà được biểu hiện quá mức hoặc được biểu hiện ở các thời điểm bất thường. Lý tưởng là kháng nguyên đích được biểu hiện chỉ trên các tế bào tăng sinh (tốt hơn là các tế bào khối u), tuy nhiên hiếm khi quan sát được điều này trong thực tiễn. Kết quả là, các kháng nguyên đích thường được chọn dựa trên cơ sở biểu hiện khác biệt giữa mô tăng sinh và mô khỏe mạnh.

Các kháng thể được tạo ra để nhắm đích tới các kháng nguyên liên quan đến khối u đặc hiệu bao gồm:

Cripto, CD30, CD19, CD33, Glycoprotein NMB, CanAg, Her2 (ErbB2/Neu), CD56 (NCAM), CD22 (Siglec2), CD33 (Siglec3), CD79, CD138, PSCA, PSMA (kháng nguyên màng đặc hiệu tuyến tiền liệt), BCMA, CD20, CD70, E-selectin, EphB2, Melanotransferin, Muc16 và TMEFF2.

Các kháng nguyên liên quan đến khối u (TAA) là đã biết trong tình trạng kỹ thuật, và có thể được tạo ra để sử dụng trong việc tạo ra các kháng thể bằng cách sử dụng các phương pháp và thông tin đã biết rõ trong tình trạng kỹ thuật. Trong các cố gắng nhằm phát hiện các đích tế bào có hiệu quả đối với liệu pháp trị liệu và chẩn đoán bệnh ung thư, các nhà nghiên cứu đã và đang tìm kiếm để nhận diện các polypeptit xuyên màng hoặc theo cách khác là các polypeptit liên quan đến khối u mà được biểu hiện đặc hiệu trên bề mặt của một hoặc nhiều loại tế bào ung thư cụ thể so với trên một hoặc nhiều tế bào bình thường không ung thư. Thông thường, các polypeptit liên quan đến khối u này thường được biểu hiện nhiều hơn trên bề mặt của các tế bào ung thư so với trên bề mặt của các tế bào không ung thư. Việc nhận diện các polypeptit kháng nguyên bề mặt tế bào liên quan đến khối u này mang lại khả năng nhắm đích đặc hiệu tới các tế bào ung thư để tiêu diệt bằng các liệu pháp trị liệu dựa vào kháng thể.

Ví dụ về TAA bao gồm, nhưng không giới hạn ở, TAA (1)-(36) được liệt kê dưới đây. Để thuận tiện, tất cả các thông tin liên quan đến các kháng nguyên đã biết trong tình trạng kỹ thuật này được liệt kê dưới đây và bao gồm tên, tên thay thế, số truy cập Ngân hàng Gen và (các) tài liệu tham khảo gốc, theo các quy ước nhận diện trình tự axit nucleic và protein của National Center for Biotechnology Information (NCBI). Các trình tự axit nucleic và protein tương ứng với TAA (1)-(36) là có sẵn trong các cơ sở dữ liệu công khai như Ngân hàng Gen. Các kháng nguyên liên quan đến khối u được nhắm đích tới bởi kháng thể bao gồm tất cả các dạng isoform và biến thể trình tự axit amin có độ đồng nhất trình tự ít nhất khoảng 70%, 80%, 85%, 90% hoặc 95% so với các trình tự được nhận diện trong các tài liệu tham khảo được trích dẫn, hoặc thể hiện các tính chất hoặc đặc tính sinh học về cơ bản giống với TAA có trình tự được tìm thấy trong các tài liệu tham khảo được trích dẫn. Ví dụ, TAA có trình tự biến thể thường có khả năng gắn kết đặc hiệu với kháng thể mà gắn kết đặc hiệu với TAA có trình tự tương ứng đã được liệt kê. Các trình tự và phần bổ sung trong tài liệu tham khảo được trích dẫn cụ thể trong bản mô tả này được kết hợp một cách rõ ràng bằng cách viện dẫn.

Kháng nguyên liên quan đến khối u (1)-(36):

(1) BMPR1B (thụ thể protein tạo hình thái xương-typ IB, số truy cập Ngân hàng Gen NM_001203) ten Dijke,P., et al Science 264 (5155):101-104 (1994), Oncogene 14 (11):1377-1382 (1997)); WO2004/063362 (điểm 2); WO2003/042661 (điểm 12); US2003/134790-A1 (trang 38-39); WO2002/102235 (điểm 13; trang 296); WO2003/055443 (trang 91-92); WO2002/99122 (ví dụ 2; trang 528-530); WO2003/029421 (điểm 6); WO2003/024392 (điểm 2; Fig.112); WO2002/98358 (điểm 1; trang 183); WO2002/54940 (trang 100-101); WO2002/59377 (trang 349-350); WO2002/30268 (điểm 27; trang 376); WO2001/48204 (ví dụ; Fig.4); NP_001194 thụ thể protein tạo hình thái xương, typ IB /pid=NP_001194.1. Các viện dẫn chéo: MIM:603248; NP_001194.1; AY065994

(2) E16 (LAT1, SLC7A5, số truy cập Ngân hàng Gen NM_003486) Biochem. Biophys. Res. Commun. 255 (2), 283-288 (1999), Nature 395 (6699):288-291 (1998), Gaugitsch, H.W., et al (1992) J. Biol. Chem. 267 (16):11267-11273); WO2004/048938 (ví dụ 2); WO2004/032842 (ví dụ IV); WO2003/042661 (điểm 12); WO2003/016475 (điểm 1); WO2002/78524 (ví dụ 2); WO2002/99074 (điểm 19; trang 127-129); WO2002/86443 (điểm 27; các trang 222, 393); WO2003/003906 (điểm 10; trang 293); WO2002/64798 (điểm 33;

trang 93-95); WO2000/14228 (điểm 5; trang 133-136); US2003/224454 (Fig.3); WO2003/025138 (điểm 12; trang 150); NP_003477 họ yếu tố mang chất tan 7 (yếu tố vận chuyển axit amin dạng cation, hệ y+), thành viên 5 /pid=NP_003477.3 - Homo sapiens; Các viện dẫn chéo: MIM:600182; NP_003477,3; NM_015923; NM_003486_1

(3) STEAP1 (kháng nguyên biểu mô 6 miền xuyên màng của tuyến tiền liệt, số truy cập Ngân hàng Gen NM_012449); Cancer Res. 61 (15), 5857-5860 (2001), Hubert, R.S., et al (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96 (25):14523-14528); WO2004/065577 (điểm 6); WO2004/027049 (Fig.1L); EP1394274 (ví dụ 11); WO2004/016225 (điểm 2); WO2003/042661 (điểm 12); US2003/157089 (ví dụ 5); US2003/185830 (ví dụ 5); US2003/064397 (Fig.2); WO2002/89747 (ví dụ 5; trang 618-619); WO2003/022995 (ví dụ 9; Fig.13A, ví dụ 53; trang 173, ví dụ 2; Fig.2A); NP_036581 kháng nguyên biểu mô 6 miền xuyên màng của tuyến tiền liệt; Các viện dẫn chéo: MIM:604415; NP_036581,1; NM_012449_1

(4) 0772P (CA125, MUC16, số truy cập Ngân hàng Gen AF361486); J. Biol. Chem. 276 (29):27371-27375 (2001)); WO2004/045553 (điểm 14); WO2002/92836 (điểm 6; Fig.12); WO2002/83866 (điểm 15; trang 116-121); US2003/124140 (ví dụ 16); Các viện dẫn chéo: GI:34501467; AAK74120.3; AF361486_1

(5) MPF (MPF, MSLN, SMR, yếu tố tăng cường hiệu lực tế bào nhân khổng lồ, mesothelin, số truy cập Ngân hàng Gen NM_005823) Yamaguchi, N., et al Biol. Chem. 269 (2), 805-808 (1994), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96 (20):11531-11536 (1999), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93 (1):136-140 (1996), J. Biol. Chem. 270 (37):21984-21990 (1995)); WO2003/101283 (điểm 14); (WO2002/102235 (điểm 13; trang 287-288); WO2002/101075 (điểm 4; trang 308-309); WO2002/71928 (trang 320-321); WO94/10312 (trang 52-57); Các viện dẫn chéo: MIM:601051; NP_005814.2; NM_005823_1

(6) Napi3b (NAPI-3B, NPTIIB, SLC34A2, họ yếu tố mang chất tan 34 (natri phosphat), thành viên 2, yếu tố vận chuyển phosphat phụ thuộc natri typ II 3b, số truy cập Ngân hàng Gen NM_006424) J. Biol. Chem. 277 (22):19665-19672 (2002), Genomics 62 (2):281-284 (1999), Feild, J.A., et al (1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 258 (3):578-582); WO2004/022778 (điểm 2); EP1394274 (ví dụ 11); WO2002/102235 (điểm 13; trang 326); EP0875569 (điểm 1; trang 17-19); WO2001/57188 (điểm 20; trang 329);

WO2004/032842 (ví dụ IV); WO2001/75177 (điểm 24; trang 139-140); Các viện dẫn chéo: MIM:604217; NP_006415.1; NM_006424_1

(7) Sema 5b (FLJ10372, KIAA1445, Mm.42015, SEMA5B, SEMAG, Semaphorin 5b Hlog, miền sema, bảy đoạn lặp thrombospondin (typ 1 và giống typ 1), miền xuyên màng (TM) và miền tế bào chất ngắn, (semaphorin) 5B, số truy cập Ngân hàng Gen AB040878); Nagase T., et al (2000) DNA Res. 7 (2):143-150); WO2004/000997 (điểm 1); WO2003/003984 (điểm 1); WO2002/06339 (điểm 1; trang 50); WO2001/88133 (điểm 1; trang 41-43, 48-58); WO2003/054152 (điểm 20); WO2003/101400 (điểm 11); Số truy cập: Q9P283; EMBL; AB040878; BAA95969.1. Genew; HGNC:10737

(8) PSCA hlg (gen 2700050C12Rik, C530008O16Rik, RIKEN cDNA 2700050C12, RIKEN cDNA 2700050C12, số truy cập Ngân hàng Gen AY358628); Ross et al (2002) Cancer Res. 62:2546-2553; US2003/129192 (điểm 2); US2004/044180 (điểm 12); US2004/044179 (điểm 11); US2003/096961 (điểm 11); US2003/232056 (ví dụ 5); WO2003/105758 (điểm 12); US2003/206918 (ví dụ 5); EP1347046 (điểm 1); WO2003/025148 (điểm 20); Các viện dẫn chéo: GI:37182378; AAQ88991,1; AY358628_1

(9) ETBR (thụ thể endothelin typ B, số truy cập Ngân hàng Gen AY275463); Nakamuta M., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 177, 34-39, 1991; Ogawa Y., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 178, 248-255, 1991; Arai H., et al Jpn. Circ. J. 56, 1303-1307, 1992; Arai H., et al J. Biol. Chem. 268, 3463-3470, 1993; Sakamoto A., Yanagisawa M., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 178, 656-663, 1991; Elshourbagy N.A., et al J. Biol. Chem. 268, 3873-3879, 1993; Haendler B., et al J. Cardiovasc. Pharmacol. 20, s1-S4, 1992; Tsutsumi M., et al Gene 228, 43-49, 1999; Strausberg R.L., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99, 16899-16903, 2002; Bourgeois C., et al J. Clin. Endocrinol. Metab. 82, 3116-3123, 1997; Okamoto Y., et al Biol. Chem. 272, 21589-21596, 1997; Verheij J.B., et al Am. J. Med. Genet. 108, 223-225, 2002; Hofstra R.M.W., et al Eur. J. Hum. Genet. 5, 180-185, 1997; Puffenberger E.G., et al Cell 79, 1257-1266, 1994; Attie T., et al, Hum. Mol. Genet. 4, 2407-2409, 1995; Auricchio A., et al Hum. Mol. Genet. 5:351-354, 1996; Amiel J., et al Hum. Mol. Genet. 5, 355-357, 1996; Hofstra R.M.W., et al Nat. Genet. 12, 445-447, 1996; Svensson P.J., et al Hum. Genet. 103, 145-148, 1998; Fuchs S., et al Mol. Med. 7, 115-124, 2001; Pingault V., et al (2002) Hum. Genet. 111, 198-206; WO2004/045516 (điểm 1); WO2004/048938 (ví dụ 2); WO2004/040000 (điểm 151); WO2003/087768 (điểm 1); WO2003/016475 (điểm 1); WO2003/016475 (điểm 1);

WO2002/61087 (Fig.1); WO2003/016494 (Fig.6); WO2003/025138 (điểm 12; trang 144); WO2001/98351 (điểm 1; trang 124-125); EP0522868 (điểm 8; Fig.2); WO2001/77172 (điểm 1; trang 297-299); US2003/109676; US6518404 (Fig.3); US5773223 (điểm 1a; cột 31-34); WO2004/001004

(10) MSG783 (RNF124, protein giả thuyết FLJ20315, số truy cập Ngân hàng Gen NM_017763); WO2003/104275 (điểm 1); WO2004/046342 (ví dụ 2); WO2003/042661 (điểm 12); WO2003/083074 (điểm 14; trang 61); WO2003/018621 (điểm 1); WO2003/024392 (điểm 2; Fig.93); WO2001/66689 (ví dụ 6); Các viện dẫn chéo: LocusID:54894; NP_060233.2; NM_017763_1

(11) STEAP2 (HGNC_8639, IPCA-1, PCANAP1, STAMP1, STEAP2, STMP, gen liên quan đến bệnh ung thư tuyến tiền liệt 1, protein liên quan đến bệnh ung thư tuyến tiền liệt 1, kháng nguyên biểu mô 6 miền xuyên màng của tuyến tiền liệt 2, protein 6 miền xuyên màng của tuyến tiền liệt, số truy cập Ngân hàng Gen AF455138); Lab. Invest. 82 (11):1573-1582 (2002)); WO2003/087306; US2003/064397 (điểm 1; Fig.1); WO2002/72596 (điểm 13; trang 54-55); WO2001/72962 (điểm 1; Fig.4B); WO2003/104270 (điểm 11); WO2003/104270 (điểm 16); US2004/005598 (điểm 22); WO2003/042661 (điểm 12); US2003/060612 (điểm 12; Fig.10); WO2002/26822 (điểm 23; Fig.2); WO2002/16429 (điểm 12; Fig.10); Các viện dẫn chéo: GI:22655488; AAN04080.1; AF455138_1

(12) TrpM4 (BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, kênh cation điện thế thụ thể tạm thời, phân họ M, thành viên 4, số truy cập Ngân hàng Gen NM_017636); Xu, X.Z., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (19):10692-10697 (2001), Cell 109 (3):397-407 (2002), J. Biol. Chem. 278 (33):30813-30820 (2003)); US2003/143557 (điểm 4); WO2000/40614 (điểm 14; trang 100-103); WO2002/10382 (điểm 1; Fig.9A); WO2003/042661 (điểm 12); WO2002/30268 (điểm 27; trang 391); US2003/219806 (điểm 4); WO2001/62794 (điểm 14; Fig.1A-D); Các viện dẫn chéo: MIM:606936; NP_060106.2; NM_017636_1

(13) CRIPTO (CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc từ caxinom quái, số truy cập Ngân hàng Gen NP_003203 hoặc NM_003212); Ciccodicola, A., et al EMBO J. 8 (7):1987-1991 (1989), Am. J. Hum. Genet. 49 (3):555-565 (1991)); US2003/224411 (điểm 1); WO2003/083041 (ví dụ 1); WO2003/034984 (điểm 12); WO2002/88170 (điểm 2; trang 52-53); WO2003/024392 (điểm 2; Fig.58); WO2002/16413

(điểm 1; trang 94-95, 105); WO2002/22808 (điểm 2; Fig.1); US5854399 (ví dụ 2; cột 17-18); US5792616 (Fig.2); Các viện dẫn chéo: MIM:187395; NP_003203.1; NM_003212_1

(14) CD21 (CR2 (thụ thể bổ thể 2) hoặc C3d/thụ thể virut Epstein Barr) hoặc Hs.73792 Số truy cập Ngân hàng Gen M26004); Fujisaku et al (1989) J. Biol. Chem. 264 (4):2118-2125); Weis J.J., et al J. Exp. Med. 167, 1047-1066, 1988; Moore M., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84, 9194-9198, 1987; Barel M., et al Mol. Immunol. 35, 1025-1031, 1998; Weis J.J., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 83, 5639-5643, 1986; Sinha S.K., et al (1993) J. Immunol. 150, 5311-5320; WO2004/045520 (ví dụ 4); US2004/005538 (ví dụ 1); WO2003/062401 (điểm 9); WO2004/045520 (ví dụ 4); WO91/02536 (Fig.9.1-9.9); WO2004/020595 (điểm 1); Số truy cập: P20023; Q13866; Q14212; EMBL; M26004; AAA35786.1.

(15) CD79b (CD79B, CD79 β , Igb (chuỗi beta liên kết globulin miễn dịch), B29, số truy cập Ngân hàng Gen NM_000626 hoặc 11038674); Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (2003) 100 (7):4126-4131, Blood (2002) 100 (9):3068-3076, Muller et al (1992) Eur. J. Immunol. 22 (6):1621-1625); WO2004/016225 (điểm 2, Fig.140); WO2003/087768, US2004/101874 (điểm 1, trang 102); WO2003/062401 (điểm 9); WO2002/78524 (ví dụ 2); US2002/150573 (điểm 5, trang 15); US5644033; WO2003/048202 (điểm 1, các trang 306 và 309); WO 99/58658, US6534482 (điểm 13, Fig.17A/B); WO2000/55351 (điểm 11, các trang 1145-1146); Các viện dẫn chéo: MIM:147245; NP_000617.1; NM_000626_1

(16) FcRH2 (IFGP4, IRTA4, SPAP1A (Protein móc neo phosphataza chứa miền SH2 1a), SPAP1B, SPAP1C, số truy cập Ngân hàng Gen NM_030764, AY358130); Genome Res. 13 (10):2265-2270 (2003), Immunogenetics 54 (2):87-95 (2002), Blood 99 (8):2662-2669 (2002), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (17):9772-9777 (2001), Xu, M.J., et al (2001) Biochem. Biophys. Res. Commun. 280 (3):768-775; WO2004/016225 (điểm 2); WO2003/077836; WO2001/38490 (điểm 5; Fig.18D-1-18D-2); WO2003/097803 (điểm 12); WO2003/089624 (điểm 25); Các viện dẫn chéo: MIM:606509; NP_110391.2; NM_030764_1

(17) HER2 (ErbB2, số truy cập Ngân hàng Gen M11730); Coussens L., et al Science (1985) 230(4730):1132-1139); Yamamoto T., et al Nature 319, 230-234, 1986; Semba K., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82, 6497-6501, 1985; Swiercz J.M., et al J. Cell Biol. 165, 869-880, 2004; Kuhns J.J., et al J. Biol. Chem. 274, 36422-36427, 1999; Cho H.-S., et al

Nature 421, 756-760, 2003; Ehsani A., et al (1993) Genomics 15, 426-429; WO2004/048938 (ví dụ 2); WO2004/027049 (Fig.1I); WO2004/009622; WO2003/081210; WO2003/089904 (điểm 9); WO2003/016475 (điểm 1); US2003/118592; WO2003/008537 (điểm 1); WO2003/055439 (điểm 29; Fig.1A-B); WO2003/025228 (điểm 37; Fig.5C); WO2002/22636 (ví dụ 13; trang 95-107); WO2002/12341 (điểm 68; Fig.7); WO2002/13847 (trang 71-74); WO2002/14503 (trang 114-117); WO2001/53463 (điểm 2; trang 41-46); WO2001/41787 (trang 15); WO2000/44899 (điểm 52; Fig.7); WO2000/20579 (điểm 3; Fig.2); US5869445 (điểm 3; cột 31-38); WO9630514 (điểm 2; trang 56-61); EP1439393 (điểm 7); WO2004/043361 (điểm 7); WO2004/022709; WO2001/00244 (ví dụ 3; Fig.4); Số truy cập: P04626; EMBL; M11767; AAA35808.1. EMBL; M11761; AAA35808.1

(18) NCA (CEACAM6, số truy cập Ngân hàng Gen M18728); Barnett T., et al Genomics 3, 59-66, 1988; Tawaragi Y., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 150, 89-96, 1988; Strausberg R.L., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99:16899-16903, 2002; WO2004/063709; EP1439393 (điểm 7); WO2004/044178 (ví dụ 4); WO2004/031238; WO2003/042661 (điểm 12); WO2002/78524 (ví dụ 2); WO2002/86443 (điểm 27; trang 427); WO2002/60317 (điểm 2); Số truy cập: P40199; Q14920; EMBL; M29541; AAA59915.1. EMBL; M18728

(19) MDP (DPEP1, số truy cập Ngân hàng Gen BC017023); Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99 (26):16899-16903 (2002); WO2003/016475 (điểm 1); WO2002/64798 (điểm 33; trang 85-87); JP05003790 (Fig.6-8); WO99/46284 (Fig.9); Các viện dẫn chéo: MIM:179780; AAH17023.1; BC017023_1

(20) IL20R α (IL20Ra, ZCYTOR7, số truy cập Ngân hàng Gen AF184971); Clark H.F., et al Genome Res. 13, 2265-2270, 2003; Mungall A.J., et al Nature 425, 805-811, 2003; Blumberg H., et al Cell 104, 9-19, 2001; Dumoutier L., et al J. Immunol. 167, 3545-3549, 2001; Parrish-Novak J., et al J. Biol. Chem. 277, 47517-47523, 2002; Pletnev S., et al (2003) Biochemistry 42:12617-12624; Sheikh F., et al (2004) J. Immunol. 172, 2006-2010; EP1394274 (ví dụ 11); US2004/005320 (ví dụ 5); WO2003/029262 (trang 74-75); WO2003/002717 (điểm 2; trang 63); WO2002/22153 (trang 45-47); US2002/042366 (trang 20-21); WO2001/46261 (trang 57-59); WO2001/46232 (trang 63-65); WO98/37193 (điểm 1; trang 55-59); Số truy cập: Q9UHF4; Q6UWA9; Q96SH8; EMBL; AF184971; AAF01320.1.

(21) Brevican (BCAN, BEHAB, số truy cập Ngân hàng Gen AF229053); Gary S.C., et al Gene 256, 139-147, 2000; Clark H.F., et al Genome Res. 13, 2265-2270, 2003; Strausberg R.L., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99, 16899-16903, 2002; US2003/186372 (điểm 11); US2003/186373 (điểm 11); US2003/119131 (điểm 1; Fig.52); US2003/119122 (điểm 1; Fig.52); US2003/119126 (điểm 1); US2003/119121 (điểm 1; Fig.52); US2003/119129 (điểm 1); US2003/119130 (điểm 1); US2003/119128 (điểm 1; Fig.52); US2003/119125 (điểm 1); WO2003/016475 (điểm 1); WO2002/02634 (điểm 1)

(22) EphB2R (DRT, ERK, Hek5, EPHT3, Tyro5, số truy cập Ngân hàng Gen NM_004442); Chan, J. and Watt, V.M., Oncogene 6 (6), 1057-1061 (1991) Oncogene 10 (5):897-905 (1995), Annu. Rev. Neurosci. 21:309-345 (1998), Int. Rev. Cytol. 196:177-244 (2000); WO2003042661 (điểm 12); WO200053216 (điểm 1; trang 41); WO2004065576 (điểm 1); WO2004020583 (điểm 9); WO2003004529 (trang 128-132); WO200053216 (điểm 1; trang 42); Các viện dẫn chéo: MIM:600997; NP_004433.2; NM_004442_1

(23) ASLG659 (B7h, số truy cập Ngân hàng Gen AX092328); US2004/0101899 (điểm 2); WO2003104399 (điểm 11); WO2004000221 (Fig.3); US2003/165504 (điểm 1); US2003/124140 (ví dụ 2); US2003/065143 (Fig.60); WO2002/102235 (điểm 13; trang 299); US2003/091580 (ví dụ 2); WO2002/10187 (điểm 6; Fig.10); WO2001/94641 (điểm 12; Fig.7b); WO2002/02624 (điểm 13; Fig.1A-1B); US2002/034749 (điểm 54; trang 45-46); WO2002/06317 (ví dụ 2; trang 320-321, điểm 34; trang 321-322); WO2002/71928 (trang 468-469); WO2002/02587 (ví dụ 1; Fig.1); WO2001/40269 (ví dụ 3; các trang 190-192); WO2000/36107 (ví dụ 2; trang 205-207); WO2004/053079 (điểm 12); WO2003/004989 (điểm 1); WO2002/71928 (trang 233-234, 452-453); WO 01/16318

(24) PSCA (Tiền chất kháng nguyên tế bào gốc tuyến tiền liệt, số truy cập Ngân hàng Gen AJ297436); Reiter R.E., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95, 1735-1740, 1998; Gu Z., et al Oncogene 19, 1288-1296, 2000; Biochem. Biophys. Res. Commun. (2000) 275(3):783-788; WO2004/022709; EP1394274 (ví dụ 11); US2004/018553 (điểm 17); WO2003/008537 (điểm 1); WO2002/81646 (điểm 1; trang 164); WO2003/003906 (điểm 10; trang 288); WO2001/40309 (ví dụ 1; Fig.17); US2001/055751 (ví dụ 1; Fig.1b); WO2000/32752 (điểm 18; Fig.1); WO98/51805 (điểm 17; trang 97); WO98/51824 (điểm 10; trang 94); WO98/40403 (điểm 2; Fig.1B); Số truy cập: O43653; EMBL; AF043498; AAC39607.1

(25) GEDA (Số truy cập Ngân hàng Gen AY260763); AAP14954 protein giống đối tác dung hợp HMGIC u mỡ /pid=AAP14954.1 - Homo sapiens (người); WO2003/054152 (điểm 20); WO2003/000842 (điểm 1); WO2003/023013 (ví dụ 3, điểm 20); US2003/194704 (điểm 45); Các viện dẫn chéo: GI:30102449; AAP14954.1; AY260763_1

(26) BAFF-R (thụ thể yếu tố hoạt hóa tế bào B, thụ thể BLyS 3, BR3, số truy cập Ngân hàng Gen AF116456); thụ thể BAFF /pid=NP_443177.1 - Homo sapiens: Thompson, J.S., et al Science 293 (5537), 2108-2111 (2001); WO2004/058309; WO2004/011611; WO2003/045422 (ví dụ; trang 32-33); WO2003/014294 (điểm 35; Fig.6B); WO2003/035846 (điểm 70; trang 615-616); WO2002/94852 (cột 136-137); WO2002/38766 (điểm 3; trang 133); WO2002/24909 (ví dụ 3; Fig.3); Các viện dẫn chéo: MIM:606269; NP_443177.1; NM_052945_1; AF132600

(27) CD22 (dạng isoform CD22-B thụ thể tế bào B, BL-CAM, Lyb-8, Lyb8, SIGLEC-2, FLJ22814, số truy cập Ngân hàng Gen AK026467); Wilson et al (1991) J. Exp. Med. 173:137-146; WO2003/072036 (điểm 1; Fig.1); Các viện dẫn chéo: MIM:107266; NP_001762.1; NM_001771_1.

(28) CD79a (CD79A, CD79 α , chuỗi alpha liên kết globulin miễn dịch, protein đặc hiệu tế bào B mà tương tác theo cách cộng hóa trị với Ig beta (CD79B) và tạo thành phức hợp trên bề mặt với các phân tử Ig M, truyền tín hiệu tham gia vào quá trình biệt hóa tế bào B), pI: 4,84, MW: 25028 TM: 2 [P] Nhiễm sắc thể gen: 19q13.2, số truy cập Ngân hàng Gen NP_001774.10); WO2003/088808, US2003/0228319; WO2003/062401 (điểm 9); US2002/150573 (điểm 4, các trang 13-14); WO99/58658 (điểm 13, Fig.16); WO92/07574 (Fig.1); US5644033; Ha et al (1992) J. Immunol. 148(5):1526-1531; Müller et al (1992) Eur. J. Immunol.. 22:1621-1625; Hashimoto et al (1994) Immunogenetics 40(4):287-295; Preud'homme et al (1992) Clin. Exp. Immunol. 90(1):141-146; Yu et al (1992) J. Immunol. 148(2) 633-637; Sakaguchi et al (1988) EMBO J. 7(11):3457-3464

(29) CXCR5 (thụ thể u lympho Burkitt 1, thụ thể được cộng hợp với protein G mà được hoạt hóa bởi chemokin CXCL13, đóng vai trò trong quá trình di cư của lympho bào và bảo vệ thể dịch, đóng vai trò trong quá trình nhiễm HIV-2 và có thể là quá trình phát triển của AIDS, u lympho, u tủy và bệnh bạch cầu); 372 aa, pI: 8,54 MW: 41959 TM: 7 [P] Nhiễm sắc thể gen: 11q23.3, số truy cập Ngân hàng Gen NP_001707.1); WO2004/040000; WO2004/015426; US2003/105292 (ví dụ 2); US6555339 (ví dụ 2); WO2002/61087 (Fig.1);

WO2001/57188 (điểm 20, trang 269); WO2001/72830 (các trang 12-13); WO2000/22129 (ví dụ 1, các trang 152-153, ví dụ 2, các trang 254-256); WO99/28468 (điểm 1, trang 38); US5440021 (ví dụ 2, cột 49-52); WO94/28931 (các trang 56-58); WO92/17497 (điểm 7, Fig.5); Dobner et al (1992) Eur. J. Immunol. 22:2795-2799; Barella et al (1995) Biochem. J. 309:773-779

(30) HLA-DOB (cấu trúc siêu phân tử beta của phân tử MHC lớp II (kháng nguyên Ia) mà gắn kết các peptit và trình diện chúng với các lympho bào CD4+ T); 273 aa, pI: 6,56, MW: 30820.TM: 1 [P] Nhiễm sắc thể gen: 6p21.3, số truy cập Ngân hàng Gen NP_002111.1); Tonnelle et al (1985) EMBO J. 4(11):2839-2847; Jonsson et al (1989) Immunogenetics 29(6):411-413; Beck et al (1992) J. Mol. Biol. 228:433-441; Strausberg et al (2002) Proc. Natl. Acad. Sci USA 99:16899-16903; Serenius et al (1987) J. Biol. Chem. 262:8759-8766; Beck et al (1996) J. Mol. Biol. 255:1-13; Naruse et al (2002) Tissue Antigens 59:512-519; WO99/58658 (điểm 13, Fig.15); US6153408 (cột 35-38); US5976551 (cột 168-170); US6011146 (cột 145-146); Kasahara et al (1989) Immunogenetics 30(1):66-68; Larhammar et al (1985) J. Biol. Chem. 260(26):14111-14119

(31) P2X5 (kênh ion đóng mở nhờ phối tử P2X thụ thể gây tiết purin 5, kênh ion đóng mở nhờ ATP ngoại bào, có thể tham gia vào quá trình truyền synap và hình thành thần kinh, sự thiếu hụt có thể góp phần vào quá trình sinh lý bệnh của sự không ổn định cơ chớp tự phát); 422 aa, pI: 7.63, MW: 47206 TM: 1 [P] Nhiễm sắc thể gen: 17p13.3, số truy cập Ngân hàng Gen NP_002552.2); Le et al (1997) FEBS Lett. 418(1-2):195-199; WO2004/047749; WO2003/072035 (điểm 10); Touchman et al (2000) Genome Res. 10:165-173; WO2002/22660 (điểm 20); WO2003/093444 (điểm 1); WO2003/087768 (điểm 1); WO2003/029277 (trang 82)

(32) CD72 (kháng nguyên biệt hóa tế bào B CD72, Lyb-2); 359 aa, pI: 8,66, MW: 40225, TM: 1 [P] Nhiễm sắc thể gen: 9p13.3, số truy cập Ngân hàng Gen NP_001773.1); WO2004042346 (điểm 65); WO2003/026493 (các trang 51-52, 57-58); WO2000/75655 (các trang 105-106); Von Hoegen et al (1990) J. Immunol. 144(12):4870-4877; Strausberg et al (2002) Proc. Natl. Acad. Sci USA 99:16899-16903.

(33) LY64 (kháng nguyên lympho bào 64 (RP105), protein màng typ I của họ đoạn lặp giàu leuxin (LRR), điều tiết sự hoạt hóa tế bào B và sự gây chết tế bào theo chương trình, sự mất chức năng liên quan đến hoạt tính của bệnh tăng ở bệnh nhân mắc bệnh luput ban đỏ

toàn thân); 661 aa, pI: 6,20, MW: 74147 TM: 1 [P] Nhiễm sắc thể gen: 5q12, số truy cập Ngân hàng Gen NP_005573.1); US2002/193567; WO97/07198 (điểm 11, các trang 39-42); Miura et al (1996) Genomics 38(3):299-304; Miura et al (1998) Blood 92:2815-2822; WO2003/083047; WO97/44452 (điểm 8, các trang 57-61); WO2000/12130 (các trang 24-26)

(34) FcRH1 (protein giống thụ thể Fc 1, thụ thể giả định đối với miền Fc của globulin miễn dịch mà chứa các miền ITAM và giống Ig typ C2, có thể có chức năng trong quá trình biệt hóa lympho bào B); 429 aa, pI: 5.28, MW: 46925 TM: 1 [P] Nhiễm sắc thể gen: 1q21-1q22, số truy cập Ngân hàng Gen NP_443170.1); WO2003/077836; WO2001/38490 (điểm 6, Fig.18E-1-18-E-2); Davis et al (2001) Proc. Natl. Acad. Sci USA 98(17):9772-9777; WO2003/089624 (điểm 8); EP1347046 (điểm 1); WO2003/089624 (điểm 7)

(35) IRTA2 (yếu tố liên quan đến sự hoán vị thụ thể siêu họ globulin miễn dịch 2, thụ thể miễn dịch giả định với các vai trò có thể có trong quá trình phát triển của tế bào B và hình thành u lympho; sự mất điều tiết gen bởi việc hoán vị xảy ra ở một số khối u ác tính tế bào B); 977 aa, pI: 6,88, MW: 106468, TM: 1 [P] Nhiễm sắc thể gen: 1q21, số truy cập Ngân hàng Gen Người: AF343662, AF343663, AF343664, AF343665, AF369794, AF397453, AK090423, AK090475, AL834187, AY358085; Chuột nhất: AK089756, AY158090, AY506558; NP_112571.1; WO2003/024392 (điểm 2, Fig.97); Nakayama et al (2000) Biochem. Biophys. Res. Commun. 277(1):124-127; WO2003/077836; WO2001/38490 (điểm 3, Fig.18B-1-18B-2)

(36) TENB2 (TMEFF2, tomoregulin, TPEF, HPP1, TR, proteoglycan xuyên màng giả định, liên quan đến họ EGF/hereregulin của các yếu tố sinh trưởng và follistatin); 374 aa, Số truy cập NCBI: AAD55776, AAF91397, AAG49451, NCBI RefSeq: NP_057276; NCBI Gene: 23671; OMIM: 605734; SwissProt Q9UIK5; Số truy cập Ngân hàng Gen AF179274; AY358907, CAF85723, CQ782436; WO2004/074320; JP2004113151; WO2003/042661; WO2003/009814; EP1295944 (các trang 69-70); WO2002/30268 (trang 329); WO2001/90304; US2004/249130; US2004/022727; WO2004/063355; US2004/197325; US2003/232350; US2004/005563; US2003/124579; Horie et al (2000) Genomics 67:146-152; Uchida et al (1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 266:593-602; Liang et al (2000) Cancer Res. 60:4907-12; Glynn-Jones et al (2001) Int J Cancer. Oct 15; 94(2):178-84.

Kháng thể gốc cũng có thể là protein dung hợp chứa trình tự peptit gắn kết albumin (ABP) (Dennis et al. (2002) "Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins" J Biol Chem. 277:35035-35043; WO 01/45746). Kháng thể theo sáng chế bao gồm các protein dung hợp với các trình tự ABP được bộc lộ bởi: (i) Dennis et al (2002) J Biol Chem. 277:35035-35043 ở các bảng III và IV, trang 35038; (ii) US 2004/0001827 ở đoạn [0076]; và (iii) WO 01/45746 ở các trang 12-13, và tất cả các tài liệu này được kết hợp vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn.

Theo một phương án, kháng thể được tạo ra để nhắm đích đặc hiệu tới kháng nguyên liên quan đến khối u $\alpha_v\beta_6$.

Chất gắn kết tế bào được nối với nhóm liên kết. Theo một phương án, chất gắn kết tế bào được nối với A, khi có mặt, của nhóm liên kết.

Theo một phương án, sự kết nối giữa chất gắn kết tế bào và nhóm liên kết là thông qua liên kết thioete.

Theo một phương án, sự kết nối giữa chất gắn kết tế bào và nhóm liên kết là thông qua liên kết disulfua.

Theo một phương án, sự kết nối giữa chất gắn kết tế bào và nhóm liên kết là thông qua liên kết amit.

Theo một phương án, sự kết nối giữa chất gắn kết tế bào và nhóm liên kết là thông qua liên kết este.

Theo một phương án, sự kết nối giữa chất gắn kết tế bào và nhóm liên kết được tạo thành giữa nhóm thiol của gốc xystein của chất gắn kết tế bào và nhóm maleimit của nhóm liên kết.

Các gốc xystein của chất gắn kết tế bào có thể là có sẵn để phản ứng với nhóm chức của R^L để tạo thành sự kết nối. Theo các phương án khác, ví dụ khi chất gắn kết tế bào là kháng thể, các nhóm thiol của kháng thể có thể tham gia vào các liên kết disulfua liên chuỗi. Các liên kết liên chuỗi này có thể được chuyển hóa thành các nhóm thiol tự do bằng cách, ví dụ, xử lý kháng thể bằng DTT trước khi phản ứng với nhóm chức của R^L .

Chất gắn kết tế bào có thể được đánh dấu, ví dụ để hỗ trợ cho việc phát hiện hoặc tinh chế chất này trước khi kết hợp dưới dạng thể liên hợp, hoặc dưới dạng một phần của thể liên

hợp. Chất đánh dấu có thể là chất đánh dấu biotin. Theo phương án khác, chất gắn kết tế bào có thể được đánh dấu bằng chất đồng vị phóng xạ.

R và R'

Theo một phương án, R độc lập được chọn từ các nhóm C_{1-12} alkyl, C_{3-20} heterocyclyl và C_{5-20} aryl được thể tùy ý. Mỗi nhóm trong số các nhóm này được xác định trong phần mô tả về các phần tử thể dưới đây.

Theo một phương án, R độc lập là C_{1-12} alkyl được thể tùy ý.

Theo một phương án, R độc lập là C_{3-20} heterocyclyl được thể tùy ý.

Theo một phương án, R độc lập là C_{5-20} aryl được thể tùy ý.

Theo một phương án, R độc lập là C_{1-12} alkyl được thể tùy ý.

Được mô tả ở trên liên quan đến R^2 là các phương án khác nhau liên quan đến các nhóm alkyl và aryl được ưu tiên và tính đồng nhất và số lượng của các phần tử thể tùy ý. Các phương án ưu tiên được nêu cho R^2 khi được áp dụng cho R cũng có thể áp dụng được, khi thích hợp, cho tất cả các nhóm R khác, ví dụ, khi R^6 , R^7 , R^8 hoặc R^9 là R.

Các phương án ưu tiên cho R cũng được áp dụng cho R'.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có nhóm thể -NRR'. Theo một phương án, R và R' cùng với nguyên tử nitơ mà chúng được gắn vào tạo thành vòng dạng dị vòng có 4, 5, 6 hoặc 7 cạnh được thể tùy ý. Vòng này có thể chứa nguyên tử khác loại khác nữa, ví dụ N, O hoặc S.

Theo một phương án, vòng dạng dị vòng tự nó được thể bằng nhóm R. Khi nguyên tử khác loại N khác có mặt, phần tử thể có thể là trên nguyên tử khác loại N này.

R''

R'' là nhóm C_{3-12} alkylen, chuỗi này có thể bị làm gián đoạn bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, ví dụ O, S, N(H), NMe và/hoặc các vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin, các vòng này được thể tùy ý.

Theo một phương án, R'' là nhóm C_{3-12} alkylen, chuỗi này có thể bị làm gián đoạn bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại và/hoặc các vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin.

Theo một phương án, nhóm alkylen bị làm gián đoạn tùy ý bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại được chọn từ O, S, và NMe và/hoặc các vòng thơm, các vòng này được thể tùy ý.

Theo một phương án, vòng thơm là nhóm C₅₋₂₀ arylen, trong đó arylen chỉ gốc hóa trị hai thu được bằng cách loại bỏ hai nguyên tử hydro ra khỏi hai nguyên tử vòng thơm của hợp chất thơm, gốc này có từ 5 đến 20 nguyên tử vòng.

Theo một phương án, R" là nhóm C₃₋₁₂ alkylen, chuỗi này có thể bị làm gián đoạn bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, ví dụ O, S, N(H), NMe và/hoặc các vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin, các vòng này được thể tùy ý bởi NH₂.

Theo một phương án, R" là nhóm C₃₋₁₂ alkylen.

Theo một phương án, R" được chọn từ nhóm C₃, C₅, C₇, C₉ và C₁₁ alkylen.

Theo một phương án, R" được chọn từ nhóm C₃, C₅ và C₇ alkylen.

Theo một phương án, R" được chọn từ nhóm C₃ và C₅ alkylen.

Theo một phương án, R" là nhóm C₃ alkylen.

Theo một phương án, R" là nhóm C₅ alkylen.

Các nhóm alkylen được liệt kê ở trên có thể bị làm gián đoạn tùy ý bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại và/hoặc các vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin, các vòng này được thể tùy ý.

Các nhóm alkylen được liệt kê ở trên có thể bị làm gián đoạn tùy ý bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại và/hoặc các vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin.

Các nhóm alkylen được liệt kê ở trên có thể là các nhóm alkylen béo mạch thẳng không được thể.

X

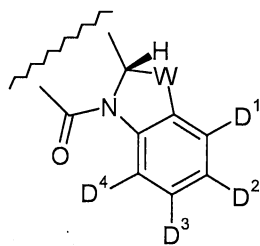
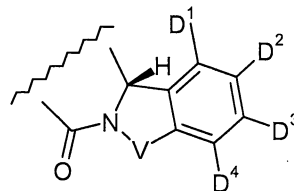
Theo một phương án, X được chọn từ O, S, hoặc N(H).

Tốt hơn là, X là O.

A-A, B-A, C-A, D-A và E-A

Các hợp chất có công thức A-A, B-A, C-A, D-A và E-A có nhóm R² mà với một trong số R¹ hoặc R³, cùng với các nguyên tử cacbon của vòng C mà chúng được gắn vào, tạo

thành vòng benzen được thể tùy ý. Vòng benzen được thể tùy ý này có thể được xem là được ngưng tụ với vòng C của pyrolobenzodiazepin. Vòng benzen ngưng tụ có thể được gọi là vòng D. Cấu trúc của vòng ngưng tụ được minh họa dưới đây:

R¹ và R²R³ và R²

trong đó mỗi nhóm trong số D¹, D², D³ và D⁴ biểu thị H hoặc phân tử thế.

Theo một phương án, vòng benzen không được thế.

Theo một phương án, vòng benzen được thế tùy ý bằng một, hai, ba hoặc bốn nhóm được chọn từ OH, CN, R, OR, O-SO₂-R, CO₂R, COR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn và halo.

Theo một phương án, vòng benzen được thế một lần. Phân tử thế một lần có thể là nhóm bất kỳ trong số D¹, D², D³ hoặc D⁴ (còn lại là H). Theo một phương án, vòng benzen được thế ở D², và mỗi D¹, D³ và D⁴ là H. Theo một phương án, vòng benzen được thế ở D³, và mỗi D¹, D² và D⁴ là H.

Theo một phương án, R² với R¹, cùng với các nguyên tử cacbon của vòng C mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng benzen được thể tùy ý.

Các phương án ưu tiên cho V và W được nêu dưới đây.

A-B, B-B, C-B, D-B và E-B

Theo một phương án, U là CH₂ khi T là NR, BH, SO hoặc SO₂.

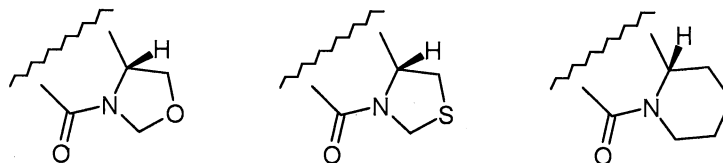
Theo một phương án, T là CH₂ hoặc CO khi U là NR, O hoặc S.

Theo một phương án, T được chọn từ CH₂ và CO.

Theo một phương án, U được chọn từ NR, O và S.

Theo một phương án, Y là (CH₂)_n, trong đó n là 1 hoặc 2.

Theo một phương án, vòng C của hợp chất A-B có cấu trúc được chọn từ các cấu trúc nêu dưới đây:



V và W

Mỗi V và W được chọn từ $(\text{CH}_2)_n$, O, S, NR, CHR và CRR' trong đó n là 2, 3 hoặc 4, ngoại trừ việc V là C khi R¹ và R², cùng với các nguyên tử cacbon của vòng C mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng benzen được thể tùy ý, và W là C khi R³ và R², cùng với các nguyên tử cacbon của vòng C mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng benzen được thể tùy ý.

Theo một phương án, khi một trong số V và W là C, thì nhóm còn lại trong số V và W được chọn từ CH₃ và NR.

Theo một phương án, khi một trong số V và W là C, thì nhóm còn lại trong số V và W là CH₂.

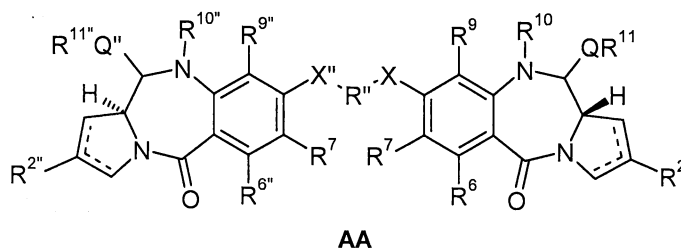
Hợp chất dime

Theo một phương án, thể liên hợp theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, hợp chất C, hợp chất D và hợp chất E là dime.

Thẻ liên hợp

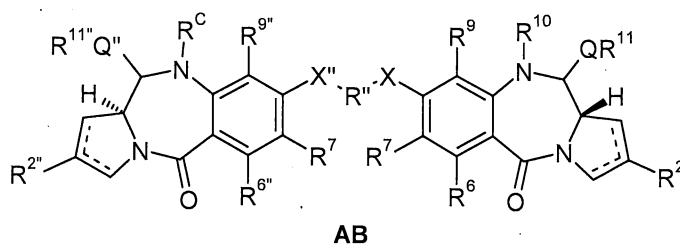
Theo một phương án, thể liên hợp là dime trong đó mỗi monome có công thức (A).

Theo một phương án, hợp chất dime là dime trong đó mỗi monome có công thức (A), và hợp chất này có cấu trúc nêu dưới đây:



trong đó $R^{2''}$, $R^{6''}$, $R^{7''}$, $R^{9''}$, $R^{10''}$, X'' , Q'' và $R^{11''}$ là như được xác định theo R^2 , R^6 , R^7 , R^9 , R^{10} , X và R^{11} một cách tương ứng.

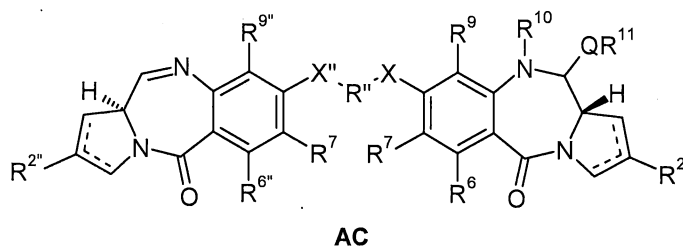
Theo một phương án, thể liên hợp là dime trong đó mỗi monome có công thức (A), và hợp chất này có cấu trúc nêu dưới đây:



trong đó $R^{2''}$, $R^{6''}$, $R^{7''}$, $R^{9''}$, X'' , Q'' và $R^{11''}$ là như được xác định theo R^2 , R^6 , R^7 , R^9 , X và R^{11} một cách tương ứng, và R^C là nhóm chụp mũ. Theo phương án này, mỗi nhóm R^{10} là nhóm liên kết được nối với chất gắn kết tế bào.

Theo một phương án, thể liên hợp là dime trong đó một monome có công thức (A) và monome còn lại có công thức (B).

Theo một phương án, thể liên hợp là dime trong đó một monome có công thức (A) và monome còn lại có công thức (B), và hợp chất này có cấu trúc nêu dưới đây:



trong đó $R^{2''}$, $R^{6''}$, $R^{7''}$, $R^{9''}$, X'' và $R^{11''}$ là như được xác định theo R^2 , R^6 , R^7 , R^9 , X và R^{11} một cách tương ứng,

Theo một phương án, thể liên hợp là dime trong đó mỗi monome có công thức (A), và các nhóm R^2 , R^6 , R^9 , X , R^{11} , và R^7 và R^8 , khi thích hợp, là giống nhau.

Theo một phương án, hợp chất là dime trong đó mỗi monome có công thức (A), các nhóm R^2 , R^6 , R^9 , X , R^{11} , R^{10} , và R^7 và R^8 , khi thích hợp, là giống nhau. Hợp chất này có thể được gọi là dime đối xứng.

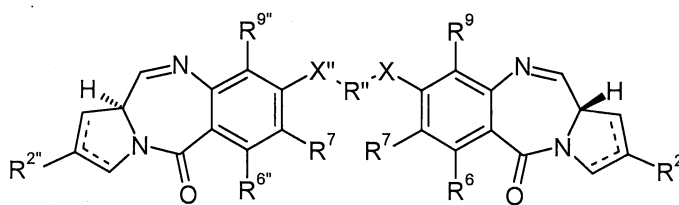
Theo một phương án, thể liên hợp là dime trong đó một monome có công thức (A) và monome còn lại có công thức (B), và các nhóm R^2 , R^6 , R^9 , và R^7 và R^8 , khi thích hợp, của (A) là giống với các nhóm đó của hợp chất (B).

Đối với mỗi hợp chất dime trong số các hợp chất dime nêu trên, monome có công thức (A) hoặc (B) có thể được thay thế bằng monome có công thức (A-I) hoặc (B-I) như được nêu trong bản mô tả này.

Hợp chất C

Theo một phương án, hợp chất C là dime.

Theo một phương án, hợp chất C có cấu trúc nêu dưới đây:



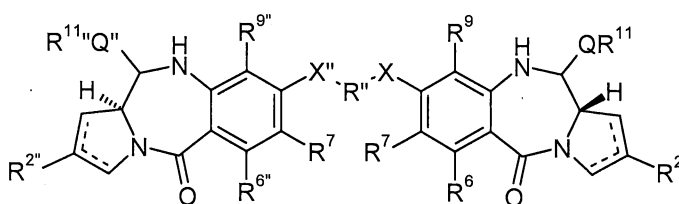
CA

trong đó $R^{2''}$, $R^{6''}$, $R^{7''}$, $R^{9''}$ và X'' là như được xác định theo R^2 , R^6 , R^7 , R^9 và X một cách tương ứng.

Hợp chất D

Theo một phương án, hợp chất D là dime.

Theo một phương án, hợp chất D có cấu trúc nêu dưới đây:



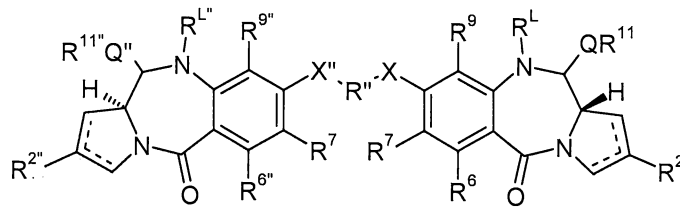
DA

trong đó $R^{2''}$, $R^{6''}$, $R^{7''}$, $R^{9''}$, Q'' , $R^{11''}$ và X'' là như được xác định theo R^2 , R^6 , R^7 , R^9 , Q , R^{11} và X một cách tương ứng.

Hợp chất E

Theo một phương án, hợp chất E là dime.

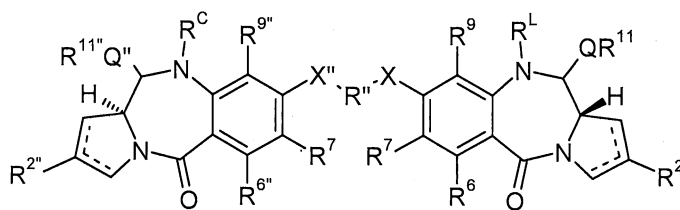
Theo một phương án, hợp chất E có cấu trúc nêu dưới đây:



EA

trong đó $R^{2''}$, $R^{6''}$, $R^{7''}$, $R^{9''}$, $R^{11''}$, R^L , Q'' và X'' là như được xác định theo R^2 , R^6 , R^7 , R^9 , R^{11} , R^L và X một cách tương ứng.

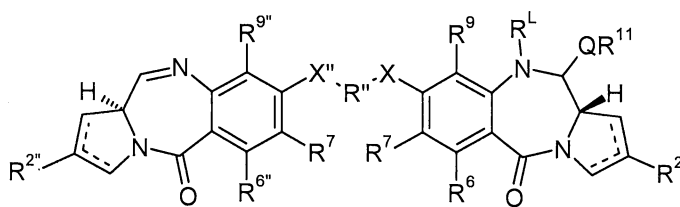
Theo một phương án, hợp chất E có cấu trúc nêu dưới đây:



EB

trong đó $R^{2''}$, $R^{6''}$, $R^{7''}$, $R^{9''}$, $R^{11''}$, Q'' và X'' là như được xác định theo R^2 , R^6 , R^7 , R^9 , R^{11} và X một cách tương ứng. R^C là nhóm chụp mũ.

Theo một phương án, hợp chất E có cấu trúc nêu dưới đây:



EC

trong đó $R^{2''}$, $R^{6''}$, $R^{7''}$, $R^{9''}$ và X'' là như được xác định theo R^2 , R^6 , R^7 , R^9 và X một cách tương ứng.

Hợp chất monome

Theo một phương án, thể liên hợp theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, hợp chất C, hợp chất D và hợp chất E là monome.

Theo một phương án, thể liên hợp hoặc hợp chất có công thức (C), (D) hoặc (E) có thể được thay thế bằng monome có công thức (A-I), (C-I), (D-I) hoặc (E-I) như được nêu trong bản mô tả này.

R^C , nhóm chụp mũ

Thể liên hợp theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế có thể có nhóm chụp mũ R^C tại vị trí N10. Hợp chất E có thể có nhóm chụp mũ R^C .

Theo một phương án, khi thể liên hợp là dime trong đó mỗi monome có công thức (A), nhóm R^{10} trong một trong số các đơn vị monome là nhóm chụp mũ R^C hoặc là nhóm R^{10} .

Theo một phương án, khi thể liên hợp là dime trong đó mỗi monome có công thức (A), nhóm R^{10} trong một trong số các đơn vị monome là nhóm chụp mũ R^C .

Theo một phương án, khi hợp chất E là dime trong đó mỗi monome có công thức (E), nhóm R^L trong một trong số các đơn vị monome là nhóm chụp mũ R^C hoặc là nhóm liên kết để nối với chất gắn kết tế bào.

Theo một phương án, khi hợp chất E là dime trong đó mỗi monome có công thức (E), nhóm R^L trong một trong số các đơn vị monome là nhóm chụp mũ R^C .

Nhóm R^C có thể loại bỏ được ra khỏi vị trí N10 của gốc PBD để lại liên kết N10-C11 imin, carbinolamin, carbinolamin được thế, khi QR^{11} là OSO_3M , sản phẩm cộng bisulfit, thiocarbinolamin, thiocarbinolamin được thế, hoặc carbinalamin được thế.

Theo một phương án, R^C có thể là nhóm bảo vệ mà có thể loại bỏ được để lại liên kết N10-C11 imin, carbinolamin, cabinolamin được thế, hoặc khi QR^{11} là OSO_3M , sản phẩm cộng bisulfit. Theo một phương án, R^C là nhóm bảo vệ mà có thể loại bỏ được để lại liên kết N10-C11 imin.

Nhóm R^C được dự định là có thể loại bỏ được trong điều kiện giống với điều kiện cần để loại bỏ nhóm R^{10} , ví dụ để tạo ra liên kết N10-C11 imin, carbinolamin và dạng tương tự. Nhóm chụp mũ đóng vai trò làm nhóm bảo vệ cho nhóm chức được dự định tại vị trí N10. Nhóm chụp mũ được dự định là không có tính phản ứng với chất gắn kết tế bào. Ví dụ, R^C không giống với R^L .

Hợp chất có nhóm chụp mũ có thể được sử dụng làm sản phẩm trung gian trong quá trình tổng hợp dime có imin monome. Theo cách khác, hợp chất có nhóm chụp mũ có thể được sử dụng làm thể liên hợp, khi nhóm chụp mũ được loại bỏ tại vị trí đích để tạo ra imin,

carbinolamin, cabinolamin được thế và dạng tương tự. Do đó, theo phương án này, nhóm chụp mũ có thể được gọi là nhóm bảo vệ nitơ có thể loại bỏ được để có tác dụng điều trị bệnh, như được định nghĩa trong đơn WO 00/12507 đã nộp trước của các tác giả sáng chế.

Theo một phương án, nhóm R^C là có thể loại bỏ được trong điều kiện phân cắt nhóm liên kết R^L của nhóm R^{10} . Do đó, theo một phương án, nhóm chụp mũ là có thể phân cắt được bởi tác động của enzym.

Theo phương án thay thế, nhóm chụp mũ là có thể loại bỏ được trước khi nối nhóm liên kết R^L với chất gắn kết tế bào. Theo phương án này, nhóm chụp mũ là có thể loại bỏ được trong điều kiện không phân cắt nhóm liên kết R^L .

Khi hợp chất bao gồm nhóm chức G^1 để tạo thành sự kết nối với chất gắn kết tế bào, nhóm chụp mũ là có thể loại bỏ được trước khi bổ sung hoặc làm lộ G^1 .

Nhóm chụp mũ có thể được sử dụng dưới dạng một phần của chiến lược nhóm bảo vệ để đảm bảo rằng chỉ một đơn vị monome trong số các đơn vị monome trong dime được nối với chất gắn kết tế bào.

Nhóm chụp mũ có thể được sử dụng làm nhóm che chắn cho liên kết N10-C11 imin. Nhóm chụp mũ có thể được loại bỏ tại thời điểm như khi cần đến nhóm chức imin trong hợp chất. Nhóm chụp mũ cũng là nhóm che chắn cho carbinolamin, cabinolamin được thế và sản phẩm cộng bisulfit, như được mô tả ở trên.

R^C có thể là nhóm bảo vệ N10, như các nhóm được mô tả trong đơn WO 00/12507 đã nộp trước của các tác giả sáng chế. Theo một phương án, R^C là nhóm bảo vệ nitơ có thể loại bỏ được để có tác dụng điều trị bệnh, như được xác định trong đơn WO 00/12507 đã nộp trước của các tác giả sáng chế.

Theo một phương án, R^C là nhóm bảo vệ carbamat.

Theo một phương án, nhóm bảo vệ carbamat được chọn từ:

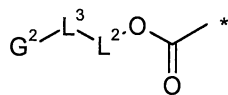
Alloc, Fmoc, Boc, Troc, Teoc, Psec, Cbz và PNZ.

Tùy ý, nhóm bảo vệ carbamat được chọn tiếp từ Moc.

Theo một phương án, R^C là nhóm liên kết R^L thiếu nhóm chức để nối với chất gắn kết tế bào.

Sáng chế đặc biệt đề cập đến các nhóm R^C mà là carbamat.

Theo một phương án, R^C là nhóm:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10, G^2 là nhóm kết thúc, L^3 là liên kết cộng hóa trị hoặc nhóm liên kết có thể phân cắt được L^1 , L^2 là liên kết cộng hóa trị hoặc cùng với $OC(=O)$ tạo thành nhóm liên kết tự phân hủy.

Khi cả L^3 và L^2 đều là liên kết cộng hóa trị, G^2 và $OC(=O)$ cùng nhau tạo thành nhóm bảo vệ carbamat như được xác định ở trên.

L^1 là như được xác định ở trên liên quan đến R^{10} .

L^2 là như được xác định ở trên liên quan đến R^{10} .

Các nhóm kết thúc khác nhau được mô tả dưới đây, bao gồm các nhóm kết thúc dựa trên các nhóm bảo vệ đã biết rõ.

Theo một phương án, L^3 là nhóm liên kết có thể phân cắt được L^1 , và L^2 , cùng với $OC(=O)$, tạo thành nhóm liên kết tự phân hủy. Theo phương án này, G^2 là Ac (acetyl) hoặc Moc, hoặc nhóm bảo vệ carbamat được chọn từ:

Alloc, Fmoc, Boc, Troc, Teoc, Psec, Cbz và PNZ.

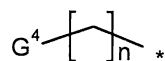
Tùy ý, nhóm bảo vệ carbamat được chọn tiếp từ Moc.

Theo phương án khác, G^2 là nhóm axyl $-C(=O)G^3$, trong đó G^3 được chọn từ alkyl (bao gồm xycloalkyl, alkenyl và alkynyl), heteroalkyl, heteroxyclyl và aryl (bao gồm heteroaryl và carboaryl). Các nhóm này có thể được thể tùy ý. Nhóm axyl này cùng với nhóm amino của L^3 hoặc L^2 , khi thích hợp, có thể tạo thành liên kết amit. Nhóm axyl này cùng với nhóm hydroxy của L^3 hoặc L^2 , khi thích hợp, có thể tạo thành liên kết este.

Theo một phương án, G^3 là heteroalkyl. Nhóm heteroalkyl có thể chứa polyetylen glycol. Nhóm heteroalkyl này có thể có nguyên tử khác loại, như O hoặc N, gần kề nhóm axyl, nhờ đó tạo thành nhóm carbamat hoặc cacbonat, khi thích hợp, với nguyên tử khác loại có mặt trong nhóm L^3 hoặc L^2 , khi thích hợp.

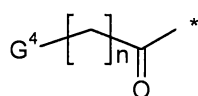
Theo một phương án, G^3 được chọn từ NH_2 , NHR và NRR' . Tốt hơn là, G^3 là NRR' .

Theo một phương án, G^2 là nhóm:



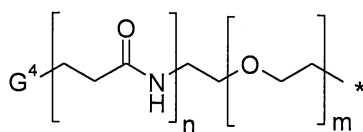
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^3 , n nằm trong khoảng từ 0 đến 6, và G^4 được chọn từ OH, OR, SH, SR, COOR, CONH₂, CONHR, CONRR', NH₂, NHR, NRR', NO₂ và halo. Các nhóm OH, SH, NH₂ và NHR được bảo vệ. Theo một phương án, n nằm trong khoảng từ 1 đến 6, và tốt hơn là n là 5. Theo một phương án, G^4 là OR, SR, COOR, CONH₂, CONHR, CONRR' và NRR'. Theo một phương án, G^4 là OR, SR và NRR'. Tốt hơn là G^4 được chọn từ OR và NRR', tốt nhất là G^4 là OR. Tốt nhất là G^4 là OMe.

Theo một phương án, nhóm G^2 là:



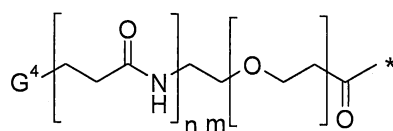
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^3 , và n và G^4 là như được xác định ở trên.

Theo một phương án, nhóm G^2 là:



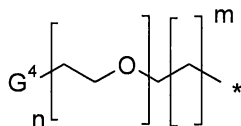
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^3 , n là 0 hoặc 1, m nằm trong khoảng từ 0 đến 50, và G^4 được chọn từ OH, OR, SH, SR, COOR, CONH₂, CONHR, CONRR', NH₂, NHR, NRR', NO₂ và halo. Theo phương án được ưu tiên, n là 1 và m nằm trong khoảng từ 0 đến 10, từ 1 đến 2, tốt hơn là từ 4 đến 8, và tốt nhất là 4 hoặc 8. Theo phương án khác, n là 1 và m nằm trong khoảng từ 10 đến 50, tốt hơn là từ 20 đến 40. Các nhóm OH, SH, NH₂ và NHR được bảo vệ. Theo một phương án, G^4 là OR, SR, COOR, CONH₂, CONHR, CONRR' và NRR'. Theo một phương án, G^4 là OR, SR và NRR'. Tốt hơn là G^4 được chọn từ OR và NRR', tốt nhất là G^4 là OR. Tốt hơn là G^4 là OMe.

Theo một phương án, nhóm G^2 là:



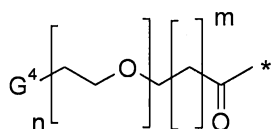
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^3 , và n , m và G^4 là như được xác định ở trên.

Theo một phương án, nhóm G^2 là:



trong đó n nằm trong khoảng từ 1 đến 20, m nằm trong khoảng từ 0 đến 6, và G^4 được chọn từ OH, OR, SH, SR, COOR, CONH₂, CONHR, CONRR', NH₂, NHR, NRR', NO₂ và halo. Theo một phương án, n nằm trong khoảng từ 1 đến 10. Theo phương án khác, n nằm trong khoảng từ 10 đến 50, tốt hơn là từ 20 đến 40. Theo một phương án, n là 1. Theo một phương án, m là 1. Các nhóm OH, SH, NH₂ và NHR được bảo vệ. Theo một phương án, G^4 là OR, SR, COOR, CONH₂, CONHR, CONRR' và NRR'. Theo một phương án, G^4 là OR, SR và NRR'. Tốt hơn là G^4 được chọn từ OR và NRR', tốt nhất là G^4 là OR. Tốt hơn là G^4 là OMe.

Theo một phương án, nhóm G^2 là:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^3 , và n , m và G^4 là như được xác định ở trên.

Theo mỗi phương án trong số các phương án nêu trên, G^4 có thể là OH, SH, NH₂ và NHR. Tốt hơn là, các nhóm này được bảo vệ.

Theo một phương án, OH được bảo vệ bằng Bzl, TBDMS hoặc TBDPS.

Theo một phương án, SH được bảo vệ bằng AcM, Bzl, Bzl-OMe, Bzl-Me hoặc Trt.

Theo một phương án, NH₂ hoặc NHR được bảo vệ bằng Boc, Moc, Z-Cl, Fmoc, Z hoặc Alloc.

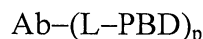
Theo một phương án, nhóm G^2 có mặt ở dạng kết hợp với nhóm L^3 , nhóm này là dipeptit.

Nhóm chụp mũ không được dự định để nối với chất gắn kết tế bào. Do đó, monome còn lại có mặt trong dime đóng vai trò làm điểm nối với chất gắn kết tế bào thông qua nhóm liên kết. Theo đó, tốt hơn là nhóm chức có mặt trong nhóm chụp mũ là không có sẵn để phản ứng với chất gắn kết tế bào. Do đó, tốt hơn là tránh dùng các nhóm chức có tính phản

ứng như OH, SH, NH₂, COOH. Tuy nhiên, nhóm chức này có thể có mặt trong nhóm chụp mũ nếu được bảo vệ, như được mô tả ở trên.

Trong quá trình điều chế các hợp chất theo sáng chế, nhóm chụp mũ có thể được sử dụng để tạo ra nhóm liên kết R^L.

Phương án tiêu biểu của hợp chất liên hợp được chất-kháng thể (ADC) chứa kháng thể (Ab), và gốc được chất PBD (PBD) trong đó kháng thể được gắn bằng gốc liên kết (L) với PBD; hợp phần này có công thức:



trong đó p là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến khoảng 8, và biểu thị tải lượng được chất. Nếu Ab là kháng thể được thiết kế xystein, số lượng gốc được chất mà có thể được liên hợp thông qua gốc liên kết có tính phản ứng với thiol với phân tử kháng thể bị giới hạn bởi số lượng gốc xystein mà được đưa vào bằng các phương pháp được nêu trong bản mô tả này. Do đó, ADC tiêu biểu chứa các kháng thể có 1, 2, 3 hoặc 4 axit amin xystein đã được thiết kế.

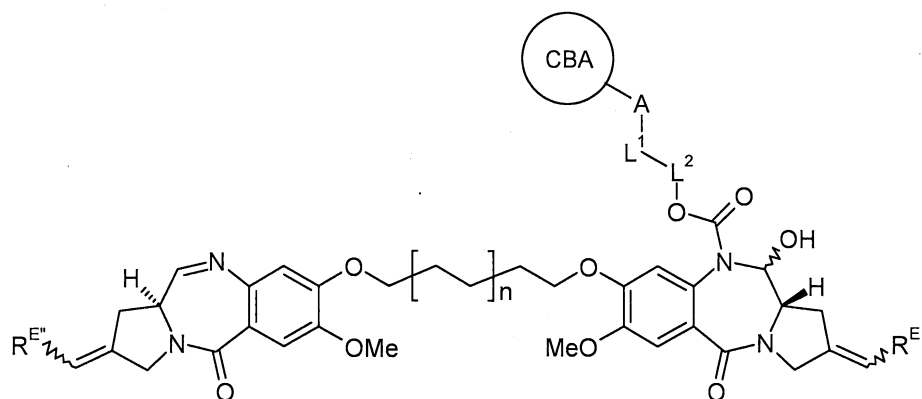
Các hợp chất được ưu tiên

Theo một phương án, thể liên hợp là dime trong đó mỗi monome trong số các monome có nhóm C2 metylen, tức là mỗi R² là =CH₂. Tốt hơn là, chất gắn kết tế bào là kháng thể.

Theo phương án khác, thể liên hợp là dime trong đó mỗi monome trong số các monome có nhóm C2 aryl, tức là mỗi R² là C₅₋₂₀ aryl được thể tùy ý. Tốt hơn là, chất gắn kết tế bào là kháng thể.

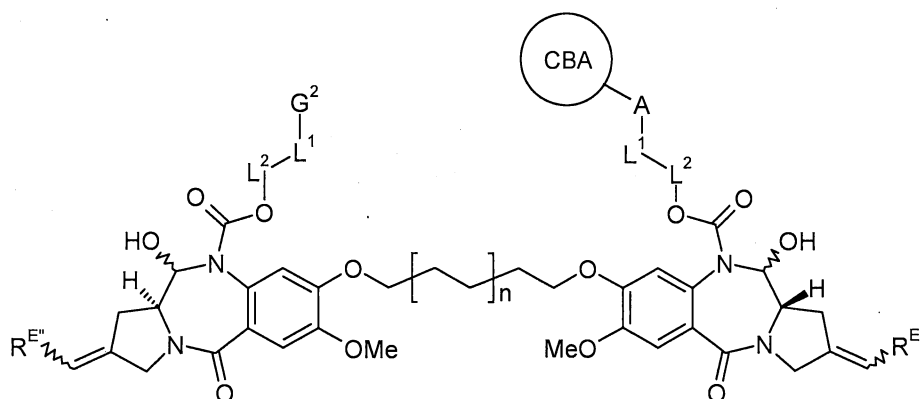
C2 alkylen

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



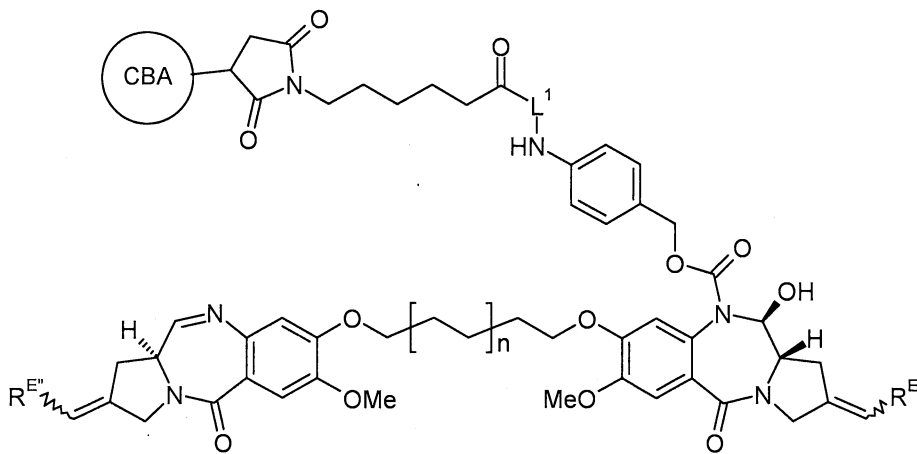
trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, và n là 0 hoặc 1. L^1 và L^2 là như được xác định ở trên, và mỗi R^E và $R^{E''}$ độc lập được chọn từ H hoặc R^D .

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



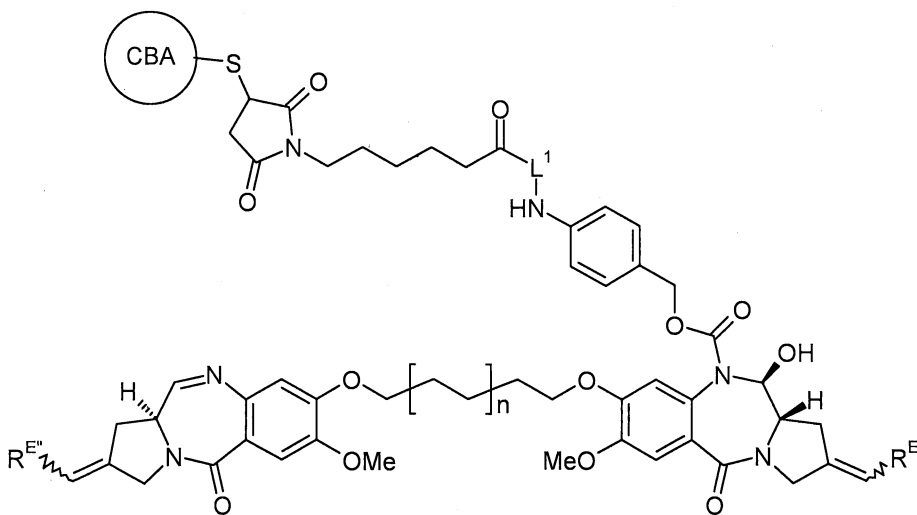
trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, và n là 0 hoặc 1. L^1 , L^2 và G^2 là như được xác định ở trên, và mỗi R^E và $R^{E''}$ độc lập được chọn từ H hoặc R^D .

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



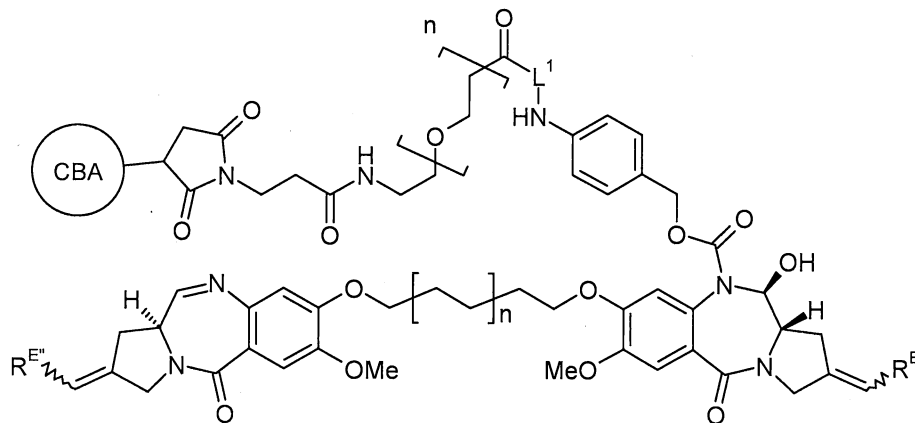
trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, và n là 0 hoặc 1. L^1 là như được xác định ở trên, và mỗi R^E và $R^{E''}$ độc lập được chọn từ H hoặc R^D .

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



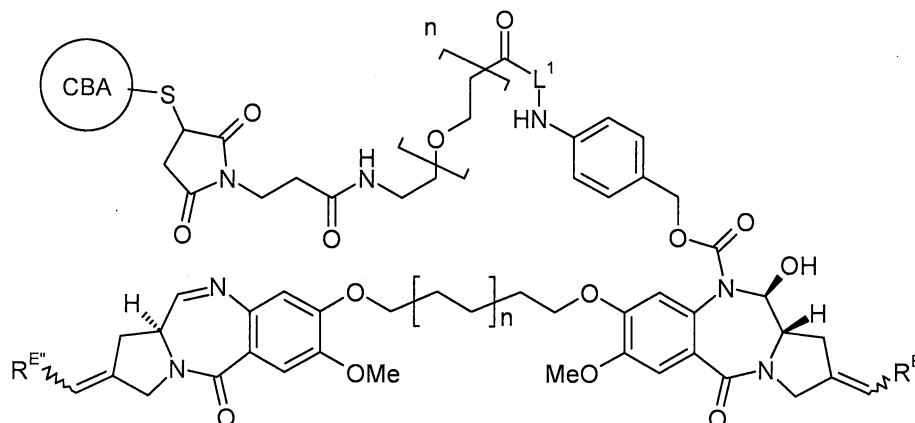
trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, và n là 0 hoặc 1. L^1 là như được xác định ở trên, và mỗi R^E và $R^{E''}$ độc lập được chọn từ H hoặc R^D .

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, và n là 0 hoặc 1. L^1 là như được xác định ở trên, và mỗi R^E và $R^{E''}$ độc lập được chọn từ H hoặc R^D .

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, và n là 0 hoặc 1. L^1 là như được xác định ở trên, và mỗi R^E và $R^{E''}$ độc lập được chọn từ H hoặc R^D .

Đối với mỗi hợp chất trong số các hợp chất nêu trên, các phương án ưu tiên nêu dưới đây có thể được áp dụng, khi thích hợp:

n là 0;

n là 1;

R^E là H;

R^E là R^D , trong đó R^D là alkyl được thể tùy ý;

R^E là R^D , trong đó R^D là methyl;

CBA là kháng thể;

CBA là peptit dạng vòng;

L^1 là hoặc chứa dipeptit;

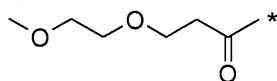
L^1 là $(H_2N)\text{-Val-Ala-(CO)}$ hoặc $(H_2N)\text{-Phe-Lys-(CO)}$, trong đó (H_2N) và (CO) biểu thị các đầu tận cùng N và C tương ứng;

L^2 là *p*-aminobenzylen;

G^2 được chọn từ Alloc, Fmoc, Boc, Troc, Teoc, Psec, Cbz và PNZ.

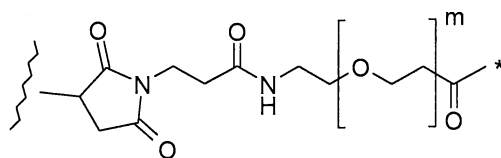
Các phương án ưu tiên nêu dưới đây cũng có thể được áp dụng ngoài các phương án ưu tiên nêu trên:

G^2 là:



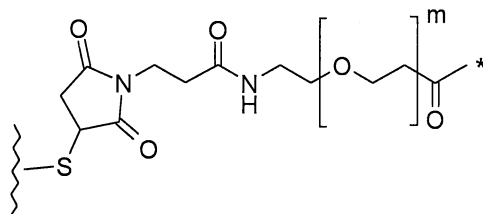
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào đầu tận cùng N của L^1 ;

A là:



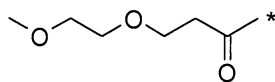
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào đầu tận cùng N của L^1 , đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào chất gắn kết tế bào và m là 4 hoặc 8;

A là:

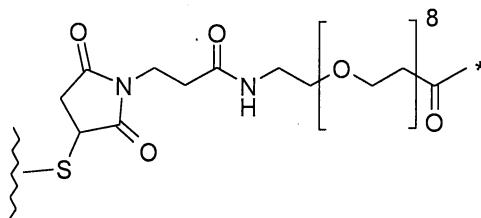


trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào đầu tận cùng N của L^1 , đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào chất gắn kết tế bào, và m là 4 hoặc 8.

Theo phương án được ưu tiên đặc biệt, n là 1; R^E là H; CBA là kháng thể; L^1 là (H_2N) -Val-Ala-(CO) hoặc (H_2N) -Phe-Lys-(CO), trong đó (H_2N) và (CO) biểu thị các đầu tận cùng N và C tương ứng; L^2 là *p*-aminobenzylen; G^2 là:



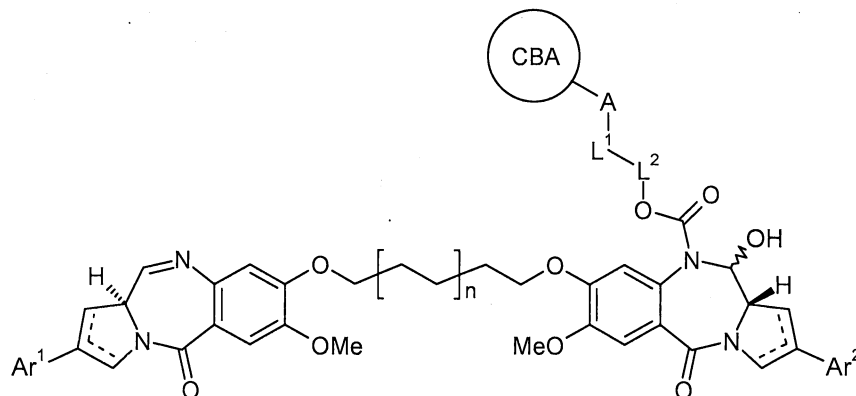
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào đầu tận cùng N của L^1 ; và A là:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào đầu tận cùng N của L^1 , và đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào chất gắn kết tế bào.

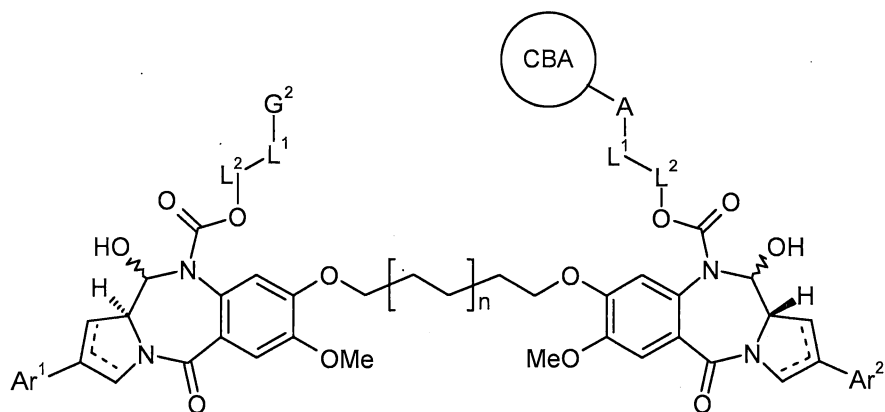
C2 aryl

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



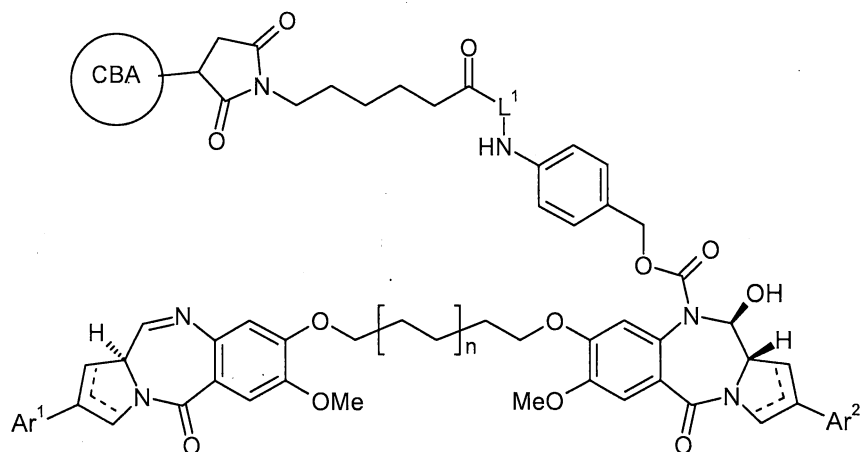
trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, L^1 và L^2 là như được xác định ở trên, mỗi Ar^1 và Ar^2 độc lập là C_{5-20} aryl được thể tùy ý, và n là 0 hoặc 1. Ar^1 và Ar^2 có thể là giống nhau hoặc khác nhau.

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



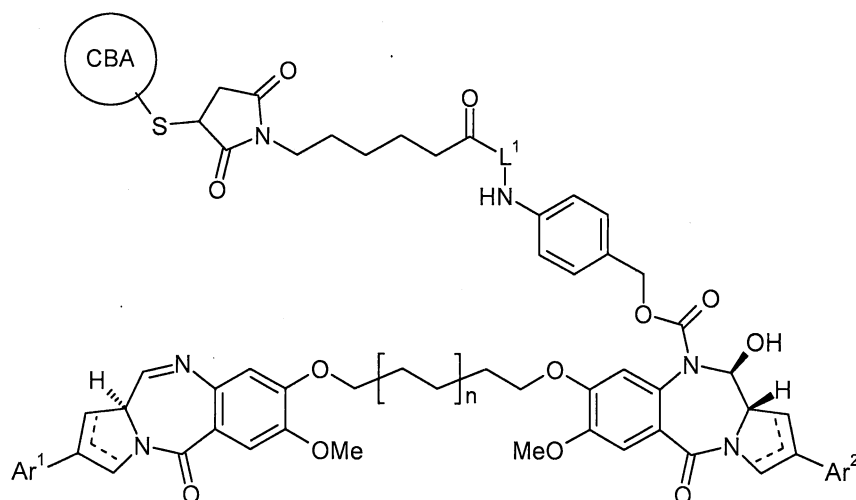
trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, L^1 , L^2 và G^2 là như được xác định ở trên, mỗi Ar^1 và Ar^2 độc lập là C_{5-20} aryl được thế tùy ý, và n là 0 hoặc 1.

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



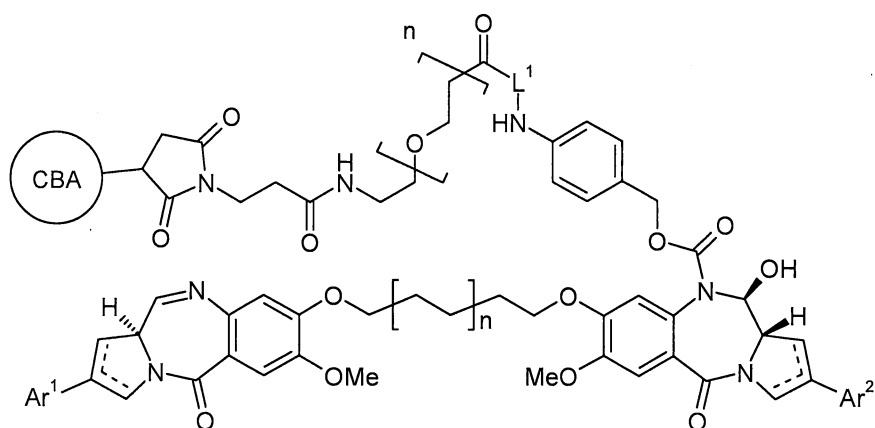
trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, L^1 là như được xác định ở trên, mỗi Ar^1 và Ar^2 độc lập là C_{5-20} aryl được thế tùy ý, và n là 0 hoặc 1.

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



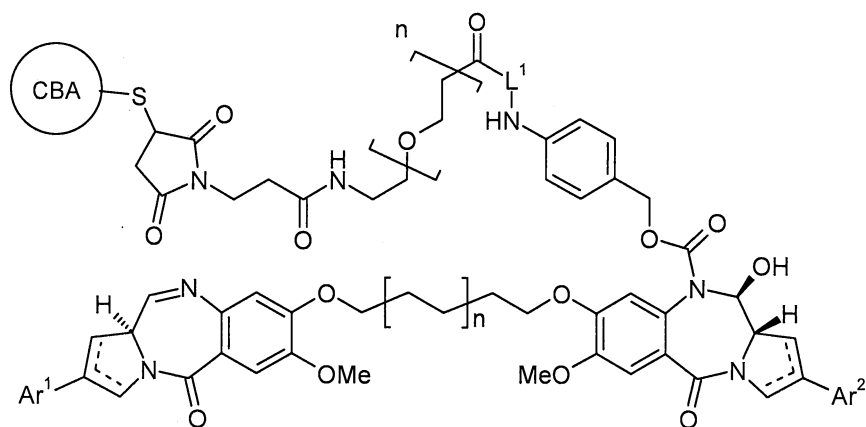
trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, L^1 là như được xác định ở trên, mỗi Ar^1 và Ar^2 độc lập là C_{5-20} aryl được thế tùy ý, và n là 0 hoặc 1.

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, và n là 0 hoặc 1. L^1 là như được xác định ở trên, mỗi Ar^1 và Ar^2 độc lập là C_{5-20} aryl được thế tùy ý, và n là 0 hoặc 1.

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, và n là 0 hoặc 1. L^1 là như được xác định ở trên, mỗi Ar^1 và Ar^2 độc lập là C_{5-20} aryl được thế tùy ý, và n là 0 hoặc 1.

Theo một phương án, mỗi Ar^1 và Ar^2 theo mỗi phương án trong số các phương án nêu trên độc lập được chọn từ phenyl, furanyl, thiophenyl và pyridyl được thế tùy ý.

Theo một phương án, Ar^1 và Ar^2 theo mỗi phương án trong số các phương án nêu trên là phenyl được thế tùy ý.

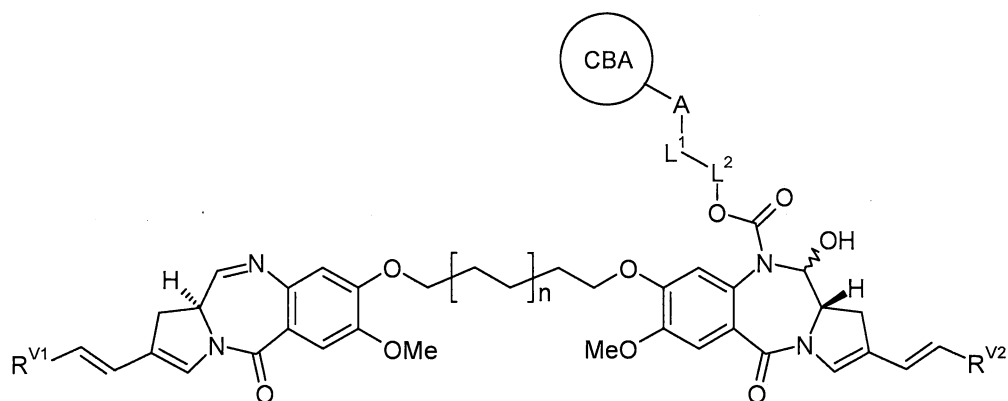
Theo một phương án, Ar^1 và Ar^2 theo mỗi phương án trong số các phương án nêu trên là thiophen-2-yl hoặc thiophen-3-yl được thế tùy ý.

Theo một phương án, Ar^1 và Ar^2 theo mỗi phương án trong số các phương án nêu trên là quinolinyl hoặc isoquinolinyl được thế tùy ý.

Nhóm quinolinyl hoặc isoquinolinyl có thể được gắn kết với lõi PBD thông qua vị trí vòng có sẵn bất kỳ. Ví dụ, quinolinyl có thể là quinolin-2-yl, quinolin-3-yl, quinolin-4yl, quinolin-5-yl, quinolin-6-yl, quinolin-7-yl và quinolin-8-yl. Trong số này, quinolin-3-yl và quinolin-6-yl có thể được ưu tiên. Isoquinolinyl có thể là isoquinolin-1-yl, isoquinolin-3-yl, isoquinolin-4yl, isoquinolin-5-yl, isoquinolin-6-yl, isoquinolin-7-yl và isoquinolin-8-yl. Trong số này, isoquinolin-3-yl và isoquinolin-6-yl có thể được ưu tiên.

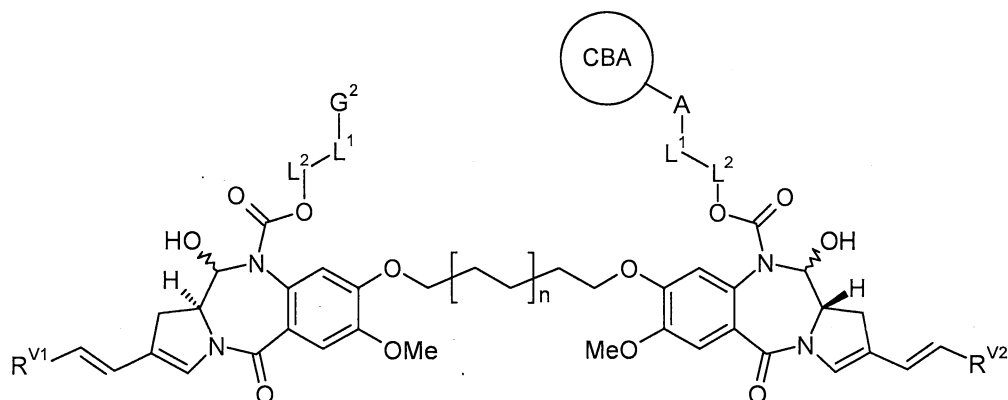
C2 vinyl

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



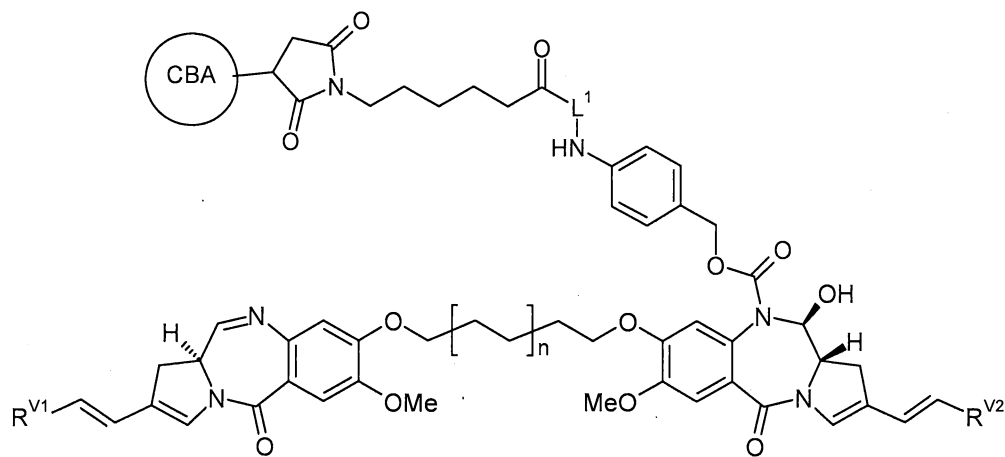
trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, L^1 và L^2 là như được xác định ở trên, R^{V1} và R^{V2} độc lập được chọn từ H, metyl, etyl và phenyl (phenyl này có thể được thế tùy ý bằng flo, đặc biệt là tại vị trí số 4) và C_{5-6} heterocyclyl, và n là 0 hoặc 1. R^{V1} và R^{V2} có thể là giống nhau hoặc khác nhau.

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



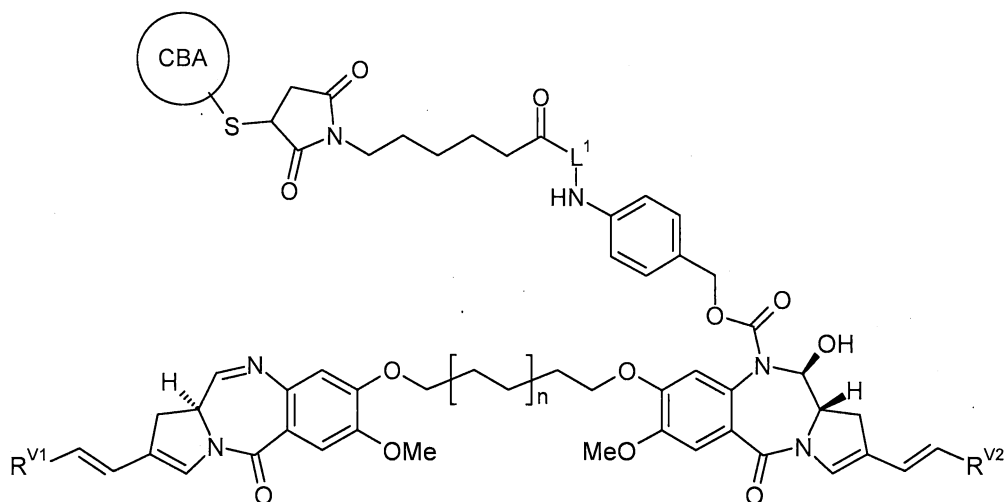
trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, L^1 , L^2 và G^2 là như được xác định ở trên, R^{V1} và R^{V2} độc lập được chọn từ H, metyl, etyl và phenyl (phenyl này có thể được thế tùy ý bằng flo, đặc biệt là tại vị trí số 4) và C_{5-6} heterocyclyl, và n là 0 hoặc 1. R^{V1} và R^{V2} có thể là giống nhau hoặc khác nhau.

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



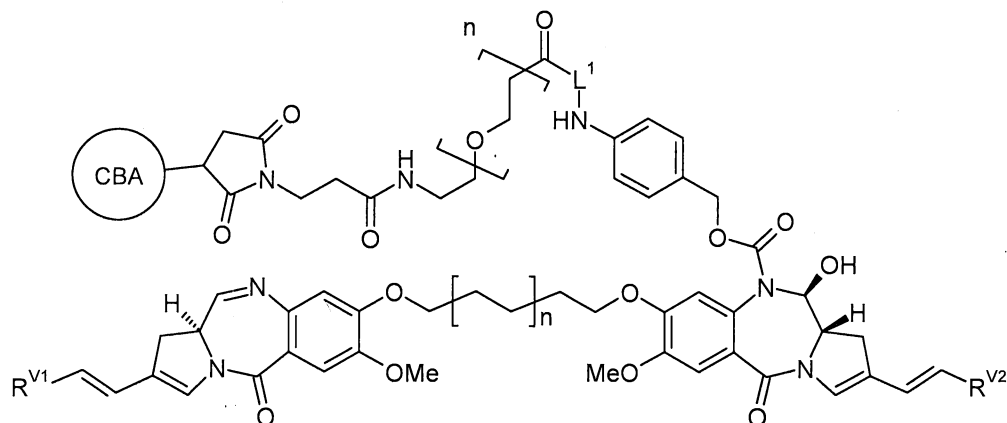
trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, L^1 là như được xác định ở trên, R^{V1} và R^{V2} độc lập được chọn từ H, methyl, ethyl và phenyl (phenyl này có thể được thế tùy ý bằng flo, đặc biệt là tại vị trí số 4) và C_{5-6} heterocyclyl, và n là 0 hoặc 1. R^{V1} và R^{V2} có thể là giống nhau hoặc khác nhau.

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



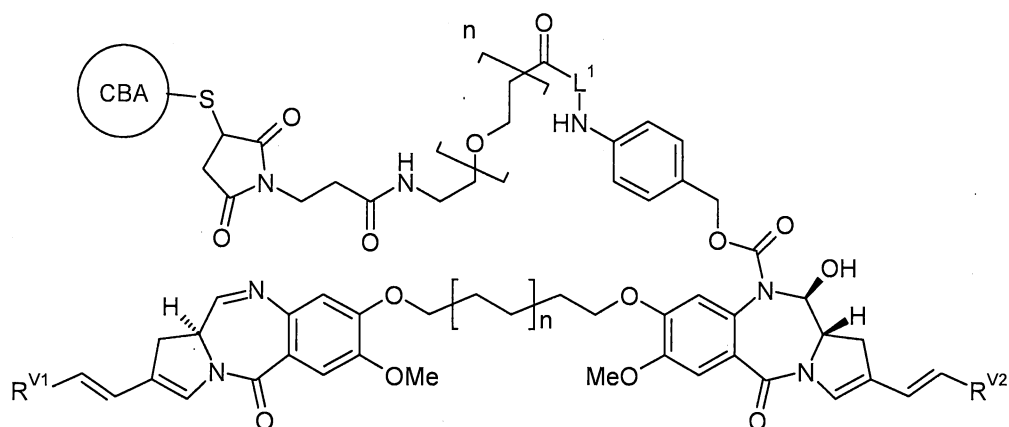
trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, L^1 là như được xác định ở trên, R^{V1} và R^{V2} độc lập được chọn từ H, methyl, ethyl và phenyl (phenyl này có thể được thế tùy ý bằng flo, đặc biệt là tại vị trí số 4) và C_{5-6} heterocyclyl, và n là 0 hoặc 1. R^{V1} và R^{V2} có thể là giống nhau hoặc khác nhau.

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, và n là 0 hoặc 1. L^1 là như được xác định ở trên, R^{V1} và R^{V2} độc lập được chọn từ H, metyl, etyl và phenyl (phenyl này có thể được thế tùy ý bằng flo, đặc biệt là tại vị trí số 4) và C_{5-6} heterocyclyl, và n là 0 hoặc 1. R^{V1} và R^{V2} có thể là giống nhau hoặc khác nhau.

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất:



trong đó CBA là chất gắn kết tế bào như kháng thể hoặc peptit dạng thẳng hoặc dạng vòng, và n là 0 hoặc 1. L^1 là như được xác định ở trên, R^{V1} và R^{V2} độc lập được chọn từ H, metyl, etyl và phenyl (phenyl này có thể được thế tùy ý bằng flo, đặc biệt là tại vị trí số 4) và C_{5-6} heteroxyclyl, và n là 0 hoặc 1. R^{V1} và R^{V2} có thể là giống nhau hoặc khác nhau.

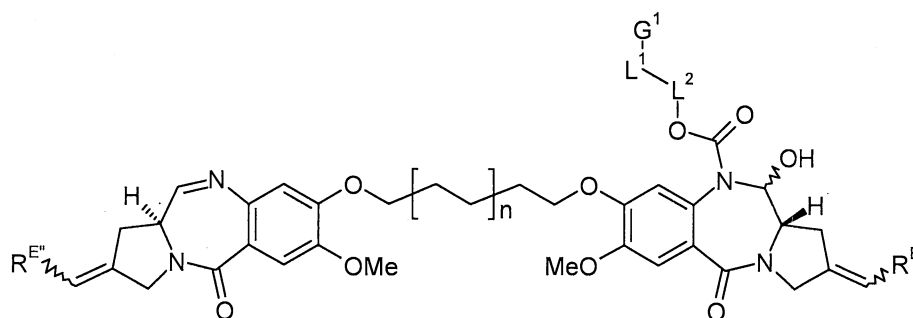
Theo một số phương án trong số các phương án nêu trên, R^{V1} và R^{V2} có thể độc lập được chọn từ H, phenyl và 4-flophenyl.

Các sản phẩm trung gian được ưu tiên

Sáng chế còn đề xuất các sản phẩm trung gian để sử dụng trong quá trình điều chế hợp chất liên hợp được nêu trong bản mô tả này.

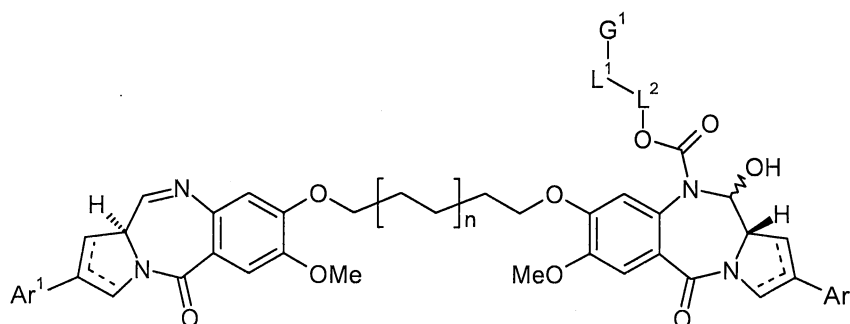
Các sản phẩm trung gian được ưu tiên được mô tả dưới đây, và tương quan mật thiết với các thể liên hợp được ưu tiên được mô tả ở trên.

Theo một phương án, sản phẩm trung gian là hợp chất:



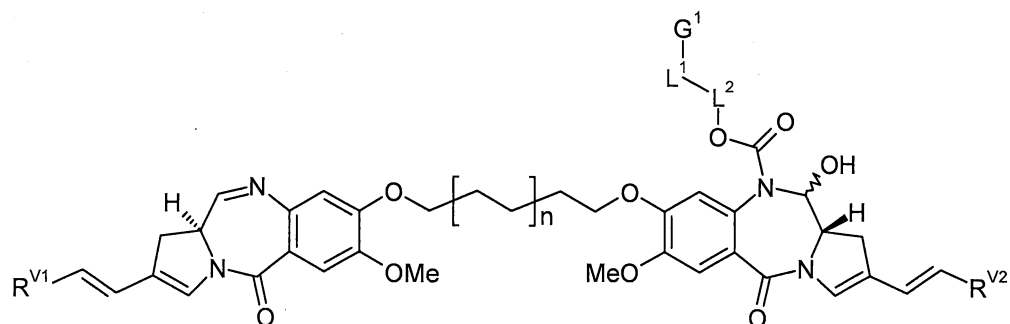
trong đó n là 0 hoặc 1, G^1 , L^1 và L^2 là như được xác định ở trên, và mỗi R^E và $R^{E'}$ độc lập được chọn từ H hoặc R^D .

Theo một phương án, sản phẩm trung gian là hợp chất:



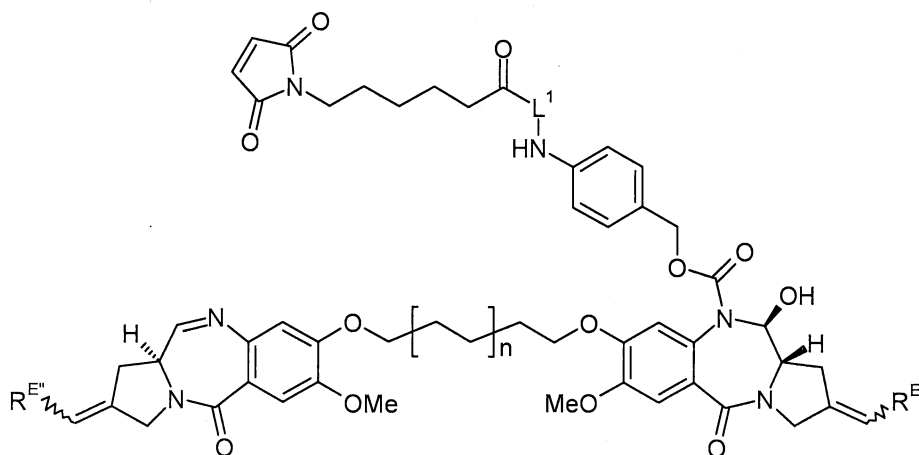
trong đó G^1 , L^1 và L^2 là như được xác định ở trên, mỗi Ar^1 và Ar^2 độc lập là C_{5-20} aryl được thế tùy ý, và n là 0 hoặc 1. Ar^1 và Ar^2 có thể là giống nhau hoặc khác nhau.

Theo một phương án, sản phẩm trung gian là hợp chất:



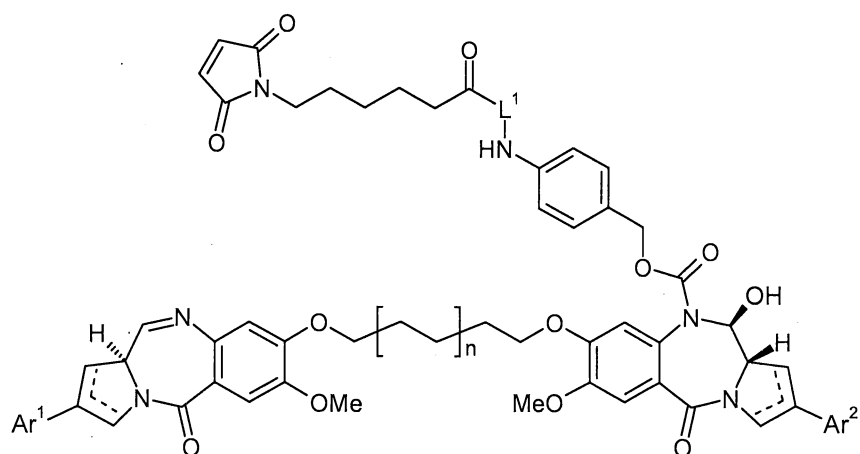
trong đó G^1 , L^1 và L^2 là như được xác định ở trên, R^{V1} và R^{V2} độc lập được chọn từ H, methyl, ethyl và phenyl (phenyl này có thể được thế tùy ý bằng flo, đặc biệt là tại vị trí số 4) và C_{5-6} heteroxyclyl, và n là 0 hoặc 1. R^{V1} và R^{V2} có thể là giống nhau hoặc khác nhau.

Theo một phương án, sản phẩm trung gian là hợp chất:



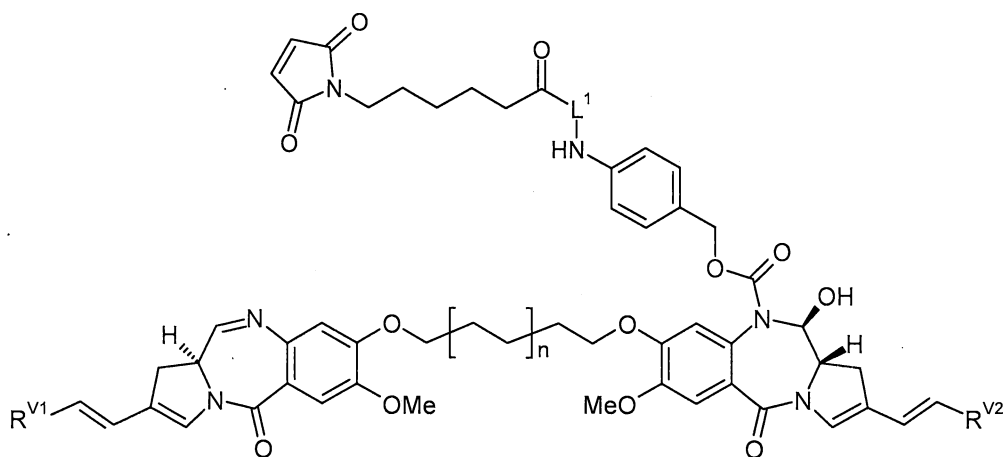
trong đó n là 0 hoặc 1, L^1 là như được xác định ở trên, và mỗi R^E và $R^{E'}$ độc lập được chọn từ H hoặc R^D .

Theo một phương án, sản phẩm trung gian là hợp chất:



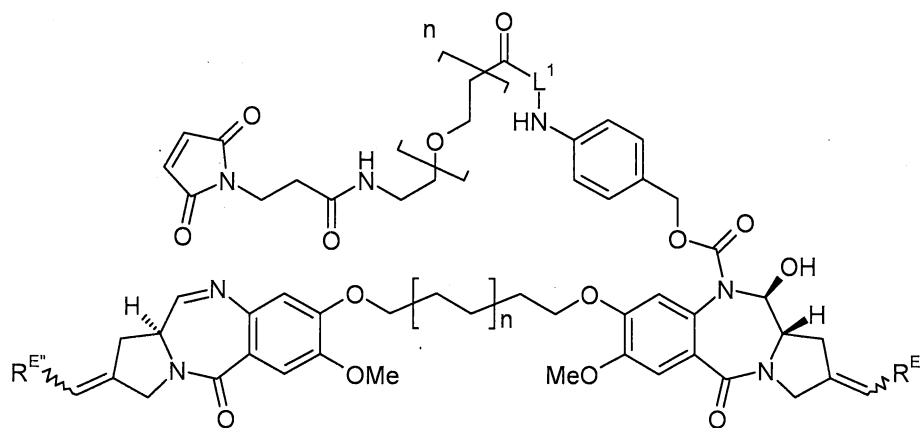
trong đó L^1 là như được xác định ở trên, mỗi Ar^1 và Ar^2 độc lập là C_{5-20} aryl được thế tùy ý, và n là 0 hoặc 1.

Theo một phương án, sản phẩm trung gian là hợp chất:



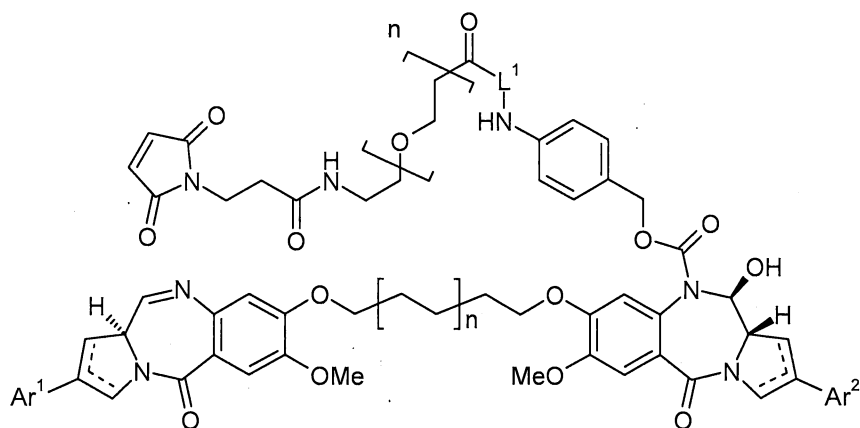
trong đó L^1 là như được xác định ở trên, và R^{V1} và R^{V2} độc lập được chọn từ H, methyl, ethyl và phenyl (phenyl này có thể được thế tùy ý bằng flo, đặc biệt là tại vị trí số 4) và C_{5-6} heterocyclyl, và n là 0 hoặc 1. R^{V1} và R^{V2} có thể là giống nhau hoặc khác nhau.

Theo một phương án, sản phẩm trung gian là hợp chất:



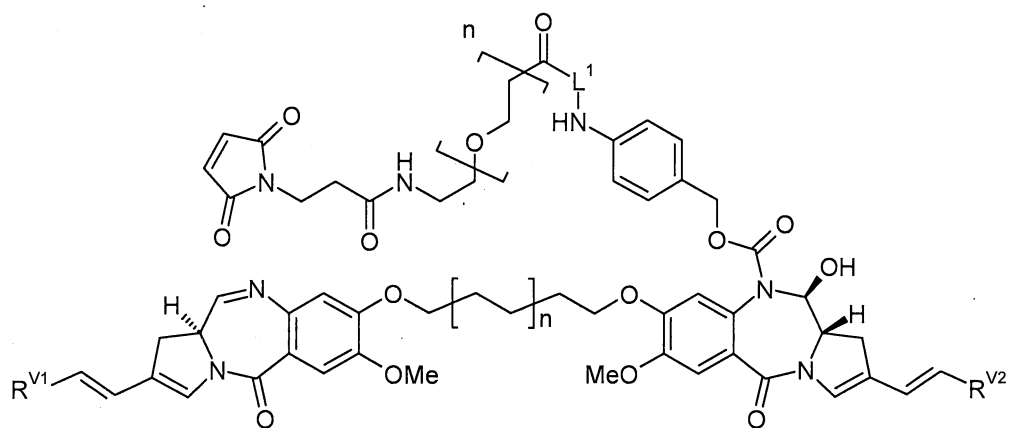
trong đó n là 0 hoặc 1, L^1 là như được xác định ở trên, và mỗi R^E và $R^{E'}$ độc lập được chọn từ H hoặc R^D .

Theo một phương án, sản phẩm trung gian là hợp chất:



trong đó n là 0 hoặc 1, L^1 là như được xác định ở trên, mỗi Ar^1 và Ar^2 độc lập là C_{5-20} aryl được thế tùy ý, và n là 0 hoặc 1.

Theo một phương án, sản phẩm trung gian là hợp chất:



trong đó L^1 là như được xác định ở trên, R^{V1} và R^{V2} độc lập được chọn từ H, metyl, etyl và phenyl (phenyl này có thể được thế tùy ý bằng flo, đặc biệt là tại vị trí số 4) và C_{5-6} heteroxyclyl, và n là 0 hoặc 1. R^{V1} và R^{V2} có thể là giống nhau hoặc khác nhau.

Phần tử thế

Cụm từ “được thế tùy ý” trong bản mô tả này chỉ nhóm gốc mà có thể không được thế hoặc có thể được thế.

Trừ khi có quy định khác, thuật ngữ “được thế” trong bản mô tả này chỉ nhóm gốc mang một hoặc nhiều phần tử thế. Thuật ngữ “phần tử thế” được sử dụng trong bản mô tả này theo nghĩa thông dụng và chỉ gốc hóa học được gắn theo cách cộng hóa trị với, hoặc nếu thích hợp, được ngưng tụ với, nhóm gốc. Các phần tử thế khác nhau đã được biết rõ, và các phương pháp tạo ra chúng và đưa chúng vào trong các nhóm gốc khác nhau cũng đã được biết rõ.

Theo phương án được ưu tiên, các phần tử thế được nêu trong bản mô tả này (bao gồm các phần tử thế tùy ý) bị giới hạn ở các nhóm mà không có tính phản ứng với chất gắn kết tế bào. Liên kết với chất gắn kết tế bào trong trường hợp này được tạo thành từ vị trí N10 của hợp chất PBD thông qua nhóm liên kết (bao gồm, ví dụ, L^1 , L^2 và A) với chất gắn kết tế bào. Các nhóm chức có tính phản ứng nằm ở các phần khác của cấu trúc PBD có thể là có khả năng tạo thành các liên kết bổ sung với chất gắn kết tế bào (quá trình này có thể được gọi là liên kết ngang). Các liên kết bổ sung này có thể làm thay đổi các hoạt tính vận chuyển và hoạt tính sinh học của thể liên hợp. Vì vậy, theo một số phương án, các phần tử thế bổ sung bị giới hạn ở các phần tử thế không có nhóm chức có tính phản ứng.

Theo một phương án, các phần tử thế được chọn từ nhóm bao gồm R, OR, SR, NRR', NO_2 , halo, CO_2R , COR, $CONH_2$, $CONHR$ và $CONRR'$.

Theo một phương án, các phần tử thể được chọn từ nhóm bao gồm R, OR, SR, NRR', NO₂, CO₂R, COR, CONH₂, CONHR và CONRR'.

Theo một phương án, các phần tử thể được chọn từ nhóm bao gồm R, OR, SR, NRR', NO₂ và halo.

Theo một phương án, các phần tử thể được chọn từ nhóm bao gồm R, OR, SR, NRR' và NO₂.

Phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên có thể được sử dụng cho phần tử thể bất kỳ trong số các phần tử thể được nêu trong bản mô tả này. Theo cách khác, các phần tử thể có thể được chọn từ một hoặc nhiều nhóm trong số các nhóm được liệt kê dưới đây.

Ví dụ về phần tử thể được mô tả chi tiết hơn dưới đây.

C₁₋₁₂ alkyl: Thuật ngữ "C₁₋₁₂ alkyl" trong bản mô tả này chỉ gốc hóa trị một thu được bằng cách loại bỏ nguyên tử hydro ra khỏi nguyên tử cacbon của hợp chất hydrocacbon có từ 1 đến 12 nguyên tử cacbon, mà có thể là béo hoặc vòng béo, và có thể là no hoặc không no (ví dụ không no một phần, không no hoàn toàn). Do đó, thuật ngữ "alkyl" bao gồm các phân lớp alkenyl, alkynyl, xycloalkyl, v.v., được nêu dưới đây.

Ví dụ về nhóm alkyl no bao gồm, nhưng không giới hạn ở, metyl (C₁), etyl (C₂), propyl (C₃), butyl (C₄), pentyl (C₅), hexyl (C₆) và heptyl (C₇).

Ví dụ về nhóm alkyl no mạch thẳng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, metyl (C₁), etyl (C₂), n-propyl (C₃), n-butyl (C₄), n-pentyl (amyl) (C₅), n-hexyl (C₆) và n-heptyl (C₇).

Ví dụ về nhóm alkyl no mạch nhánh bao gồm iso-propyl (C₃), iso-butyl (C₄), sec-butyl (C₄), tert-butyl (C₄), iso-pentyl (C₅) và neo-pentyl (C₅).

Nhóm alkyl có thể bị làm gián đoạn tùy ý bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại được chọn từ O, N(H) và S. Các nhóm như vậy có thể được gọi là "heteroalkyl".

C₂₋₂₀ heteroalkyl: Thuật ngữ "C₂₋₁₂ heteroalkyl" trong bản mô tả này chỉ gốc hóa trị một thu được bằng cách loại bỏ nguyên tử hydro ra khỏi nguyên tử cacbon của hợp chất hydrocacbon có từ 2 đến 12 nguyên tử cacbon, và một hoặc nhiều nguyên tử khác loại được chọn từ O, N(H) và S, tốt hơn là O và S.

Ví dụ về nhóm heteroalkyl bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các nhóm chứa một hoặc nhiều đơn vị etylen glycol thuộc loại -(OCH₂CH₂)-. Đầu tận cùng của nhóm

heteroalkyl có thể là dạng bậc một của nguyên tử khác loại, ví dụ -OH, -SH hoặc -NH₂. Theo phương án được ưu tiên, đầu tận cùng này là -CH₃.

C₂₋₁₂ alkenyl: Thuật ngữ “C₂₋₁₂ alkenyl” trong bản mô tả này chỉ nhóm alkyl có một hoặc nhiều liên kết đôi cacbon-cacbon.

Ví dụ về nhóm alkenyl không no bao gồm, nhưng không giới hạn ở, etenyl (vinyl, -CH=CH₂), 1-propenyl (-CH=CH-CH₃), 2-propenyl (allyl, -CH=CH-CH₂), isopropenyl (1-metylvinyl, -C(CH₃)=CH₂), butenyl (C₄), pentenyl (C₅) và hexenyl (C₆).

C₂₋₁₂ alkynyl: Thuật ngữ “C₂₋₁₂ alkynyl” trong bản mô tả này chỉ nhóm alkyl có một hoặc nhiều liên kết ba cacbon-cacbon.

Ví dụ về nhóm alkynyl không no bao gồm, nhưng không giới hạn ở, etynyl (-C≡CH) và 2-propynyl (propargyl, -CH₂-C≡CH).

C₃₋₁₂ xycloalkyl: Thuật ngữ “C₃₋₁₂ xycloalkyl” trong bản mô tả này chỉ nhóm alkyl mà cũng là nhóm xyclyl; tức là, gốc hóa trị một thu được bằng cách loại bỏ nguyên tử hydro ra khỏi nguyên tử vòng dạng vòng béo của hợp chất hydrocacbon vòng (vòng cacbon), gốc này có từ 3 đến 7 nguyên tử cacbon, bao gồm từ 3 đến 7 nguyên tử vòng.

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

các hợp chất hydrocacbon no dạng vòng đơn:

xyclopropan (C₃), xyclobutan (C₄), xyclopentan (C₅), xyclohexan (C₆), xycloheptan (C₇), metylxyclopropan (C₄), dimetylxyclopropan (C₅), metylxyclobutan (C₅), dimetylxyclobutan (C₆), metylxyclopentan (C₆), dimetylxyclopentan (C₇) và metylxyclohexan (C₇);

các hợp chất hydrocacbon không no dạng vòng đơn:

xyclopropen (C₃), xyclobuten (C₄), xyclopenten (C₅), xyclohexen (C₆), metylxyclopropen (C₄), dimetylxyclopropen (C₅), metylxyclobuten (C₅), dimetylxyclobuten (C₆), metylxyclopenten (C₆), dimetylxyclopenten (C₇) và metylxyclohexen (C₇); và

các hợp chất hydrocacbon no dạng đa vòng:

norcaran (C₇), norpinan (C₇), norbornan (C₇).

C_{3-20} heteroxyclyl: Thuật ngữ “ C_{3-20} heteroxyclyl” trong bản mô tả này chỉ gốc hóa trị một thu được bằng cách loại bỏ nguyên tử hydro ra khỏi nguyên tử vòng của hợp chất dạng dị vòng, gốc này có từ 3 đến 20 nguyên tử vòng, trong số đó từ 1 đến 10 là các nguyên tử vòng khác loại. Tốt hơn là, mỗi vòng có từ 3 đến 7 nguyên tử vòng, trong số đó từ 1 đến 4 là các nguyên tử vòng khác loại.

Trong bản mô tả này, các tiền tố (ví dụ C_{3-20} , C_{3-7} , C_{5-6} , v.v.) chỉ số lượng nguyên tử vòng hoặc khoảng giá trị số lượng nguyên tử vòng, cho dù là các nguyên tử cacbon hay các nguyên tử khác loại. Ví dụ, thuật ngữ “ C_{5-6} heteroxyclyl” trong bản mô tả này chỉ nhóm heteroxyclyl có 5 hoặc 6 nguyên tử vòng.

Ví dụ về nhóm heteroxyclyl dạng vòng đơn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các nhóm có nguồn gốc từ:

N_1 : aziridin (C_3), azetidin (C_4), pyrrolidin (tetrahydropyrol) (C_5), pyrolin (ví dụ, 3-pyrolin, 2,5-dihydropyrol) (C_5), 2H-pyrol hoặc 3H-pyrol (isopyrol, isoazol) (C_5), piperidin (C_6), dihydropyridin (C_6), tetrahydropyridin (C_6), azepin (C_7);

O_1 : oxiran (C_3), oxetan (C_4), oxolan (tetrahydrofuran) (C_5), oxol (dihydrofuran) (C_5), oxan (tetrahydropyran) (C_6), dihydropyran (C_6), pyran (C_6), oxepin (C_7);

S_1 : thiiran (C_3), thietan (C_4), thiolan (tetrahydrothiophen) (C_5), thian (tetrahydrothiopyran) (C_6), thiepan (C_7);

O_2 : dioxolan (C_5), dioxan (C_6), và dioxepan (C_7);

O_3 : trioxan (C_6);

N_2 : imidazolidin (C_5), pyrazolidin (diazolidin) (C_5), imidazolin (C_5), pyrazolin (dihydropyrazol) (C_5), piperazin (C_6);

N_1O_1 : tetrahydrooxazol (C_5), dihydrooxazol (C_5), tetrahydroisoxazol (C_5), dihydroisoxazol (C_5), morpholin (C_6), tetrahydrooxazin (C_6), dihydrooxazin (C_6), oxazin (C_6);

N_1S_1 : thiazolin (C_5), thiazolidin (C_5), thiomorpholin (C_6);

N_2O_1 : oxadiazin (C_6);

O_1S_1 : oxathiol (C_5) và oxathian (thioxan) (C_6); và,

$N_1O_1S_1$: oxathiazin (C_6).

Ví dụ về nhóm heteroxyclyl dạng vòng đơn được thể bao gồm các nhóm có nguồn gốc từ sacarit, ở dạng vòng, ví dụ, furanoza (C_5), như arabinofuranoza, lyxofuranoza, ribofuranoza và xylofuranza, và pyranoza (C_6), như allopyranoza, altropyranoza, glucopyranoza, mannopyranoza, gulopyranoza, idopyranoza, galactopyranoza và talopyranoza.

C_{5-20} aryl: Thuật ngữ " C_{5-20} aryl" trong bản mô tả này chỉ gốc hóa trị một thu được bằng cách loại bỏ nguyên tử hydro ra khỏi nguyên tử vòng thơm của hợp chất thơm, gốc này có từ 3 đến 20 nguyên tử vòng. Tốt hơn là, mỗi vòng có từ 5 đến 7 nguyên tử vòng.

Trong bản mô tả này, các tiền tố (ví dụ C_{3-20} , C_{5-7} , C_{5-6} , v.v.) chỉ số lượng nguyên tử vòng hoặc khoảng giá trị số lượng nguyên tử vòng, cho dù là các nguyên tử cacbon hay các nguyên tử khác loại. Ví dụ, thuật ngữ " C_{5-6} aryl" trong bản mô tả này chỉ nhóm aryl có 5 hoặc 6 nguyên tử vòng.

Các nguyên tử vòng có thể là tất cả các nguyên tử cacbon, như trong "nhóm carboaryl".

Ví dụ về nhóm carboaryl bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các nhóm có nguồn gốc từ benzen (tức là phenyl) (C_6), naphtalen (C_{10}), azulen (C_{10}), anthraxen (C_{14}), phenanthren (C_{14}), naphtaxen (C_{18}) và pyren (C_{16}).

Ví dụ về nhóm aryl chứa các vòng ngưng tụ, ít nhất một trong số chúng là vòng thơm, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các nhóm có nguồn gốc từ indan (ví dụ 2,3-dihydro-1H-inden) (C_9), inden (C_9), isoinden (C_9), tetralin (1,2,3,4-tetrahydronaphtalen (C_{10}), axenaphten (C_{12}), floren (C_{13}), phenalen (C_{13}), axephenanthren (C_{15}) và axeanthren (C_{16}).

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

N_1 : pyrol (azol) (C_5), pyridin (azin) (C_6);

O_1 : furan (oxol) (C_5);

S_1 : thiophen (thiol) (C_5);

N_1O_1 : oxazol (C_5), isoxazol (C_5), isoxazin (C_6);

N_2O_1 : oxadiazol (furazan) (C_5);

N_3O_1 : oxatriazol (C_5);

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

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

N_3 : triazol (C_5), triazin (C_6); và

N_4 : tetrazol (C_5).

Ví dụ về heteroaryl chứa các vòng ngưng tụ, bao gồm, nhưng không giới hạn ở:

C_9 (với 2 vòng ngưng tụ) có nguồn gốc từ benzofuran (O_1), isobenzofuran (O_1), indol (N_1), isoindol (N_1), indolizin (N_1), indolin (N_1), isoindolin (N_1), purin (N_4) (ví dụ, adenin, guanin), benzimidazol (N_2), indazol (N_2), benzoxazol (N_1O_1), benzisoxazol (N_1O_1), benzodioxol (O_2), benzofurazan (N_2O_1), benzotriazol (N_3), benzothiofuran (S_1), benzothiazol (N_1S_1), benzothiadiazol (N_2S);

C_{10} (với 2 vòng ngưng tụ) có nguồn gốc từ chromen (O_1), isochromen (O_1), chroman (O_1), isochroman (O_1), benzodioxan (O_2), quinolin (N_1), isoquinolin (N_1), quinolizin (N_1), benzoxazin (N_1O_1), benzodiazin (N_2), pyridopyridin (N_2), quinoxalin (N_2), quinazolin (N_2), xinnolin (N_2), phtalazin (N_2), naphtyridin (N_2), pteridin (N_4);

C_{11} (với 2 vòng ngưng tụ) có nguồn gốc từ benzodiazepin (N_2);

C_{13} (với 3 vòng ngưng tụ) có nguồn gốc từ carbazol (N_1), dibenzofuran (O_1), dibenzothiophen (S_1), carbolin (N_2), perimidin (N_2), pyridoindol (N_2); và,

C_{14} (với 3 vòng ngưng tụ) có nguồn gốc từ acridin (N_1), xanthen (O_1), thioxanthen (S_1), oxanthren (O_2), phenoxathiin (O_1S_1), phenazin (N_2), phenoxazin (N_1O_1), phenothiazin (N_1S_1), thianthren (S_2), phenanthridin (N_1), phenanthrolin (N_2), phenazin (N_2).

Các nhóm nêu trên, cho dù ở dạng đơn lẻ hay là một phần của phân tử thể khác, có thể chính chúng tùy ý được thể bằng một hoặc nhiều nhóm được chọn từ trong số chúng và các phân tử thể bổ sung được liệt kê dưới đây.

Halo: -F, -Cl, -Br và -I.

Hydroxy: -OH.

Ete: -OR, trong đó R là phân tử thể ete, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl (còn được gọi là nhóm C_{1-7} alkoxy, được nêu dưới đây), nhóm C_{3-20} heteroxyclyl (còn được gọi là nhóm C_{3-20}

heteroxycyloxy), hoặc nhóm C₅₋₂₀ aryl (còn được gọi là nhóm C₅₋₂₀ aryloxy), tốt hơn là nhóm C₁₋₇ alkyl.

Alkoxy: -OR, trong đó R là nhóm alkyl, ví dụ, nhóm C₁₋₇ alkyl. Ví dụ về nhóm C₁₋₇ alkoxy bao gồm, nhưng không giới hạn ở, -OMe (metoxy), -OEt (etoxy), -O(nPr) (n-propoxy), -O(iPr) (isopropoxy), -O(nBu) (n-butoxy), -O(sBu) (sec-butoxy), -O(iBu) (isobutoxy) và -O(tBu) (tert-butoxy).

Axetal: -CH(OR¹)(OR²), trong đó R¹ và R² độc lập là các phần tử thể axetal, ví dụ, nhóm C₁₋₇ alkyl, nhóm C₃₋₂₀ heteroxycyl hoặc nhóm C₅₋₂₀ aryl, tốt hơn là nhóm C₁₋₇ alkyl, hoặc, trong trường hợp nhóm axetal “vòng”, R¹ và R², cùng với hai nguyên tử oxy mà chúng được gắn vào, và các nguyên tử cacbon mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng dạng dị vòng có từ 4 đến 8 nguyên tử vòng. Ví dụ về nhóm axetal bao gồm, nhưng không giới hạn ở, -CH(OMe)₂, -CH(OEt)₂ và -CH(OMe)(OEt).

Hemiacetal: -CH(OH)(OR¹), trong đó R¹ là phần tử thể hemiacetal, ví dụ, nhóm C₁₋₇ alkyl, nhóm C₃₋₂₀ heteroxycyl hoặc nhóm C₅₋₂₀ aryl, tốt hơn là nhóm C₁₋₇ alkyl. Ví dụ về nhóm hemiacetal bao gồm, nhưng không giới hạn ở, -CH(OH)(OMe) và -CH(OH)(OEt).

Ketal: -CR(OR¹)(OR²), trong đó R¹ và R² là như được xác định cho các axetal, và R là phần tử thể ketal không phải là hydro, ví dụ, nhóm C₁₋₇ alkyl, nhóm C₃₋₂₀ heteroxycyl hoặc nhóm C₅₋₂₀ aryl, tốt hơn là nhóm C₁₋₇ alkyl. Ví dụ về nhóm ketal bao gồm, nhưng không giới hạn ở, -C(Me)(OMe)₂, -C(Me)(OEt)₂, -C(Me)(OMe)(OEt), -C(Et)(OMe)₂, -C(Et)(OEt)₂ và -C(Et)(OMe)(OEt).

Hemiketal: -CR(OH)(OR¹), trong đó R¹ là như được xác định cho các hemiacetal, và R là phần tử thể hemiketal không phải là hydro, ví dụ, nhóm C₁₋₇ alkyl, nhóm C₃₋₂₀ heteroxycyl hoặc nhóm C₅₋₂₀ aryl, tốt hơn là nhóm C₁₋₇ alkyl. Ví dụ về nhóm hemiacetal bao gồm, nhưng không giới hạn ở, -C(Me)(OH)(OMe), -C(Et)(OH)(OMe), -C(Me)(OH)(OEt) và -C(Et)(OH)(OEt).

Oxo (keto, -on): =O.

Thion (thioketon): =S.

Imino (imin): =NR, trong đó R là phần tử thể imino, ví dụ, hydro, nhóm C₁₋₇ alkyl, nhóm C₃₋₂₀ heteroxycyl hoặc nhóm C₅₋₂₀ aryl, tốt hơn là hydro hoặc nhóm C₁₋₇ alkyl. Ví dụ về nhóm este bao gồm, nhưng không giới hạn ở, =NH, =NMe, =NEt và =NPh.

Formyl (carbaldehyt, carboxaldehyt): -C(=O)H .

Axyl (keto): -C(=O)R , trong đó R là phần tử thể axyl, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl (còn được gọi là C_{1-7} alkylaxyl hoặc C_{1-7} alkanoyl), nhóm C_{3-20} heteroxyclyl (còn được gọi là C_{3-20} heteroxyclylaxyl) hoặc nhóm C_{5-20} aryl (còn được gọi là C_{5-20} arylaxyl), tốt hơn là nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm axyl bao gồm, nhưng không giới hạn ở, -C(=O)CH_3 (axetyl), $\text{-C(=O)CH}_2\text{CH}_3$ (propionyl), $\text{-C(=O)C(CH}_3)_3$ (t-butyryl) và -C(=O)Ph (benzoyl, phenon).

Carboxy (axit carboxylic): -C(=O)OH .

Thiocarboxy (axit thiocarboxylic): -C(=S)SH .

Thiolocarboxy (axit thiolocarboxylic): -C(=O)SH .

Thionocarboxy (axit thionocarboxylic): -C(=S)OH .

Axit imidic: -C(=NH)OH .

Axit hydroxamic: -C(=NOH)OH .

Este (carboxylat, este của axit carboxylic, oxycacbonyl): -C(=O)OR , trong đó R là phần tử thể este, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heteroxyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm este bao gồm, nhưng không giới hạn ở, -C(=O)OCH_3 , $\text{-C(=O)OCH}_2\text{CH}_3$, $\text{-C(=O)OC(CH}_3)_3$ và -C(=O)OPh .

Axyloxy (este nghịch đảo): -OC(=O)R , trong đó R là phần tử thể axyloxy, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heteroxyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm axyloxy bao gồm, nhưng không giới hạn ở, -OC(=O)CH_3 (axetoxyl), $\text{-OC(=O)CH}_2\text{CH}_3$, $\text{-OC(=O)C(CH}_3)_3$, -OC(=O)Ph và $\text{-OC(=O)CH}_2\text{Ph}$.

Oxycarboxyloxy: -OC(=O)OR , trong đó R là phần tử thể este, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heteroxyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm este bao gồm, nhưng không giới hạn ở, -OC(=O)OCH_3 , $\text{-OC(=O)OCH}_2\text{CH}_3$, $\text{-OC(=O)OC(CH}_3)_3$ và -OC(=O)OPh .

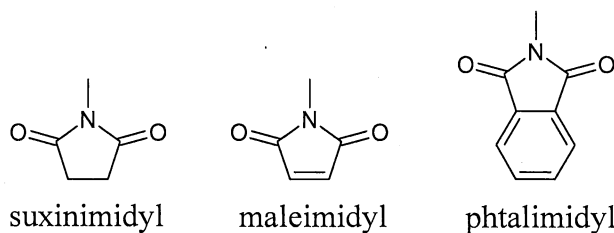
Amino: $\text{-NR}^1\text{R}^2$; trong đó R^1 và R^2 độc lập là các phần tử thể amino, ví dụ, hydro, nhóm C_{1-7} alkyl (còn được gọi là C_{1-7} alkylamino hoặc di- C_{1-7} alkylamino), nhóm C_{3-20} heteroxyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là H hoặc nhóm C_{1-7} alkyl, hoặc, trong trường hợp nhóm amino “vòng”, R^1 và R^2 , cùng với nguyên tử nitơ mà chúng được gắn vào, tạo thành vòng dạng dị vòng có từ 4 đến 8 nguyên tử vòng. Các nhóm amino có thể là (-NH_2)

bậc một, $(-\text{NHR}^1)$ bậc hai hoặc $(-\text{NHR}^1\text{R}^2)$ bậc ba, và ở dạng cation, có thể là $(-\text{N}^+\text{R}^1\text{R}^2\text{R}^3)$ bậc bốn. Ví dụ về nhóm amino bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHCH}_3$, $-\text{NHC}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ và $-\text{NHPh}$. Ví dụ về nhóm amino vòng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, aziridino, azetidino, pyrrolidino, piperidino, piperazino, morpholino và thiomorpholino.

Amido (carbamoyl, carbamyl, aminocarbonyl, carboxamit): $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$, trong đó R^1 và R^2 độc lập là các phần tử thế amino, như được xác định cho các nhóm amino. Ví dụ về nhóm amido bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NHCH}_3$, $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NHCH}_2\text{CH}_3$ và $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, cũng như các nhóm amido trong đó R^1 và R^2 , cùng với nguyên tử nitơ mà chúng được gắn vào, tạo thành cấu trúc dị vòng như trong, ví dụ, piperidinocarbonyl, morpholinocarbonyl, thiomorpholinocarbonyl và piperazinocarbonyl.

Thioamido (thiocarbamyl): $-\text{C}(=\text{S})\text{NR}^1\text{R}^2$, trong đó R^1 và R^2 độc lập là các phần tử thế amino, như được xác định cho các nhóm amino. Ví dụ về nhóm amido bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{C}(=\text{S})\text{NH}_2$, $-\text{C}(=\text{S})\text{NHCH}_3$, $-\text{C}(=\text{S})\text{N}(\text{CH}_3)_2$ và $-\text{C}(=\text{S})\text{NHCH}_2\text{CH}_3$.

Axylamido (axylamino): $-\text{NR}^1\text{C}(=\text{O})\text{R}^2$, trong đó R^1 là phần tử thế amit, ví dụ, hydro, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heteroxyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là hydro hoặc nhóm C_{1-7} alkyl, và R^2 là phần tử thế axyl, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heteroxyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là hydro hoặc nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm axylamit bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{NHC}(=\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{NHC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$ và $-\text{NHC}(=\text{O})\text{Ph}$. R^1 và R^2 có thể cùng nhau tạo thành cấu trúc vòng, như trong, ví dụ, suxinimidyl, maleimidyl và phtalimidyl:

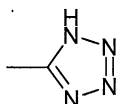


Aminocarbonyloxy: $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$, trong đó R^1 và R^2 độc lập là các phần tử thế amino, như được xác định cho các nhóm amino. Ví dụ về nhóm aminocarbonyloxy bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{OC}(=\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{NHMe}$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{NMe}_2$ và $-\text{OC}(=\text{O})\text{NEt}_2$.

Ureido: $-N(R^1)CONR^2R^3$ trong đó R^2 và R^3 độc lập là các phần tử thế amino, như được xác định cho các nhóm amino, và R^1 là phần tử thế ureido, ví dụ, hydro, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heteroxyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là hydro hoặc nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm ureido bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-NHCONH_2$, $-NHCONHMe$, $-NHCONHEt$, $-NHCONMe_2$, $-NHCONEt_2$, $-NMeCONH_2$, $-NMeCONHMe$, $-NMeCONHEt$, $-NMeCONMe_2$ và $-NMeCONEt_2$.

Guanidino: $-NH-C(=NH)NH_2$.

Tetrazolyl: vòng thơm có năm cạnh có bốn nguyên tử nitơ và một nguyên tử cacbon,



Imino: $=NR$, trong đó R là phần tử thế imino, ví dụ, ví dụ, hydro, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heteroxyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là H hoặc nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm imino bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $=NH$, $=NMe$ và $=NEt$.

Amidin (amidino): $-C(=NR)NR_2$, trong đó mỗi R là phần tử thế amidin, ví dụ, hydro, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heteroxyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là H hoặc nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm amidin bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-C(=NH)NH_2$, $-C(=NH)NMe_2$ và $-C(=NMe)NMe_2$.

Nitro: $-NO_2$.

Nitroso: $-NO$.

Azido: $-N_3$.

Xyano (nitril, carbonitril): $-CN$.

Isoxyano: $-NC$.

Xyanato: $-OCN$.

Isoxyanato: $-NCO$.

Thioxyano (thioxyanato): $-SCN$.

Isothioxyano (isothioxyanato): $-NCS$.

Sulfhydryl (thiol, mercapto): $-SH$.

Thioete (sulfua): $-SR$, trong đó R là phần tử thể thioete, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl (còn được gọi là nhóm C_{1-7} alkylthio), nhóm C_{3-20} heteroxyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm C_{1-7} alkylthio bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-SCH_3$ và $-SCH_2CH_3$.

Disulfua: $-SS-R$, trong đó R là phần tử thể disulfua, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heteroxyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là nhóm C_{1-7} alkyl (trong bản mô tả này còn được gọi là C_{1-7} alkyl disulfua). Ví dụ về nhóm C_{1-7} alkyl disulfua bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-SSCH_3$ và $-SSCH_2CH_3$.

Sulfin (sulfinyl, sulfoxit): $-S(=O)R$, trong đó R là phần tử thể sulfin, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heteroxyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm sulfin bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-S(=O)CH_3$ và $-S(=O)CH_2CH_3$.

Sulfon (sulfonyl): $-S(=O)_2R$, trong đó R là phần tử thể sulfon, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heteroxyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là nhóm C_{1-7} alkyl, bao gồm, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl đã được flo hóa hoặc đã được flo hóa hết mức. Ví dụ về nhóm sulfon bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-S(=O)_2CH_3$ (metansulfonyl, mesyl), $-S(=O)_2CF_3$ (triflyl), $-S(=O)_2CH_2CH_3$ (esyl), $-S(=O)_2C_4F_9$ (nonaflyl), $-S(=O)_2CH_2CF_3$ (tresyl), $-S(=O)_2CH_2CH_2NH_2$ (tauryl), $-S(=O)_2Ph$ (phenylsulfonyl, besyl), 4-metylphenylsulfonyl (tosyl), 4-clophenylsulfonyl (closyl), 4-bromphenylsulfonyl (brosyl), 4-nitrophenyl (nosyl), 2-naphtalensulfonat (napsyl) và 5-dimetyl-amino-naphtalen-1-ylsulfonat (dansyl).

Axit sulfinic (sulfin): $-S(=O)OH$, $-SO_2H$.

Axit sulfonic (sulfo): $-S(=O)_2OH$, $-SO_3H$.

Sulfinat (este của axit sulfinic): $-S(=O)OR$; trong đó R là phần tử thể sulfinat, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heteroxyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm sulfinat bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-S(=O)OCH_3$ (metoxysulfinyl; methyl sulfinat) và $-S(=O)OCH_2CH_3$ (etoxysulfinyl; ethyl sulfinat).

Sulfonat (este của axit sulfonic): $-S(=O)_2OR$, trong đó R là phần tử thể sulfonat, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heteroxyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm sulfonat bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-S(=O)_2OCH_3$ (metoxysulfonyl; methyl sulfonat) và $-S(=O)_2OCH_2CH_3$ (etoxysulfonyl; ethyl sulfonat).

Sulfinyloxy: $-\text{OS}(=\text{O})\text{R}$, trong đó R là phần tử thể sulfinyloxy, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heterocyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm sulfinyloxy bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{OS}(=\text{O})\text{CH}_3$ và $-\text{OS}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$.

Sulfonyloxy: $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{R}$, trong đó R là phần tử thể sulfonyloxy, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heterocyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm sulfonyloxy bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{CH}_3$ (mesylat) và $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ (esylat).

Sulfat: $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{OR}$; trong đó R là phần tử thể sulfat, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heterocyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm sulfat bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{OCH}_3$ và $-\text{SO}(=\text{O})_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$.

Sulfamyl (sulfamoyl; amit của axit sulfinic; sulfinamit): $-\text{S}(=\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$, trong đó R^1 và R^2 độc lập là các phần tử thể amino, như được xác định cho các nhóm amino. Ví dụ về nhóm sulfamyl bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{S}(=\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{S}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_3)$, $-\text{S}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{S}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$, $-\text{S}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ và $-\text{S}(=\text{O})\text{NHPh}$.

Sulfonamido (sulfinamoyl; amit của axit sulfonic; sulfonamit): $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^1\text{R}^2$, trong đó R^1 và R^2 độc lập là các phần tử thể amino, như được xác định cho các nhóm amino. Ví dụ về nhóm sulfonamido bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}_2$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}(\text{CH}_3)$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ và $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NHPh}$.

Sulfamino: $-\text{NR}^1\text{S}(=\text{O})_2\text{OH}$, trong đó R^1 là phần tử thể amino, như được xác định cho các nhóm amino. Ví dụ về nhóm sulfamino bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{NHS}(=\text{O})_2\text{OH}$ và $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{S}(=\text{O})_2\text{OH}$.

Sulfonamino: $-\text{NR}^1\text{S}(=\text{O})_2\text{R}$, trong đó R^1 là phần tử thể amino, như được xác định cho các nhóm amino, và R là phần tử thể sulfonamino, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heterocyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm sulfonamino bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{NHS}(=\text{O})_2\text{CH}_3$ và $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{S}(=\text{O})_2\text{C}_6\text{H}_5$.

Sulfinamino: $-\text{NR}^1\text{S}(=\text{O})\text{R}$, trong đó R^1 là phần tử thể amino, như được xác định cho các nhóm amino, và R là phần tử thể sulfinamino, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heterocyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là nhóm C_{1-7} alkyl. Ví dụ về nhóm sulfinamino bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{NHS}(=\text{O})\text{CH}_3$ và $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{S}(=\text{O})\text{C}_6\text{H}_5$.

Phosphino (phosphin): $-\text{PR}_2$, trong đó R là phần tử thể phosphino, ví dụ, -H, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heterocyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là -H, nhóm C_{1-7} alkyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl. Ví dụ về nhóm phosphino bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{PH}_2$, $-\text{P}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{P}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, $-\text{P}(\text{t-Bu})_2$ và $-\text{P}(\text{Ph})_2$.

Phospho: $-\text{P}(=\text{O})_2$.

Phosphinyl (phosphin oxit): $-\text{P}(=\text{O})\text{R}_2$, trong đó R là phần tử thể phosphinyl, ví dụ, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heterocyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là nhóm C_{1-7} alkyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl. Ví dụ về nhóm phosphinyl bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{P}(=\text{O})(\text{CH}_3)_2$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{t-Bu})_2$ và $-\text{P}(=\text{O})(\text{Ph})_2$.

Axit phosphonic (phosphono): $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})_2$.

Phosphonat (phosphono este): $-\text{P}(=\text{O})(\text{OR})_2$, trong đó R là phần tử thể phosphonat, ví dụ, -H, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heterocyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là -H, nhóm C_{1-7} alkyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl. Ví dụ về nhóm phosphonat bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OCH}_3)_2$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{O-t-Bu})_2$ và $-\text{P}(=\text{O})(\text{OPh})_2$.

Axit phosphoric (phosphonooxy): $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OH})_2$.

Phosphat (phosphonooxy este): $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OR})_2$, trong đó R là phần tử thể phosphat, ví dụ, -H, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heterocyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là -H, nhóm C_{1-7} alkyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl. Ví dụ về nhóm phosphat bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_3)_2$, $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$, $-\text{OP}(=\text{O})(\text{O-t-Bu})_2$ và $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OPh})_2$.

Axit phosphoro: $-\text{OP}(\text{OH})_2$.

Phosphit: $-\text{OP}(\text{OR})_2$, trong đó R là phần tử thể phosphit, ví dụ, -H, nhóm C_{1-7} alkyl, nhóm C_{3-20} heterocyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là -H, nhóm C_{1-7} alkyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl. Ví dụ về nhóm phosphit bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{OP}(\text{OCH}_3)_2$, $-\text{OP}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$, $-\text{OP}(\text{O-t-Bu})_2$ và $-\text{OP}(\text{OPh})_2$.

Phosphoramidit: $-\text{OP}(\text{OR}^1)-\text{NR}^2_2$, trong đó R^1 và R^2 là các phần tử thể phosphoramidit, ví dụ, -H, nhóm C_{1-7} alkyl (được thể tùy ý), nhóm C_{3-20} heterocyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là -H, nhóm C_{1-7} alkyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl. Ví dụ về nhóm phosphoramidit bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{OP}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{OP}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)-\text{N}(\text{i-Pr})_2$ và $-\text{OP}(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN})-\text{N}(\text{i-Pr})_2$.

Phosphoramidat: $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OR}^1)-\text{NR}^2_2$, trong đó R^1 và R^2 là các phần tử thể phosphoramidat, ví dụ, $-\text{H}$, nhóm C_{1-7} alkyl (được thể tùy ý), nhóm C_{3-20} heteroxyclyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl, tốt hơn là $-\text{H}$, nhóm C_{1-7} alkyl hoặc nhóm C_{5-20} aryl. Ví dụ về nhóm phosphoramidat bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)-\text{N}(\text{i-Pr})_2$ và $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN})-\text{N}(\text{i-Pr})_2$.

Alkylen

C_{3-12} alkylen: Thuật ngữ “ C_{3-12} alkylen” trong bản mô tả này chỉ nhóm hai rằng thu được bằng cách loại bỏ hai nguyên tử hydro, cả hai đều từ cùng một nguyên tử cacbon hoặc mỗi nguyên tử từ mỗi trong số hai nguyên tử cacbon khác nhau của hợp chất hydrocacbon có từ 3 đến 12 nguyên tử cacbon (trừ khi có quy định khác), mà có thể là béo hoặc vòng béo, và có thể là no, không no một phần hoặc không no hoàn toàn. Do đó, thuật ngữ “alkylen” bao gồm các phân lớp alkenylen, alkynylen, xycloalkylen, v.v., được nêu dưới đây.

Ví dụ về nhóm C_{3-12} alkylen no mạch thẳng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-(\text{CH}_2)_n-$ trong đó n là số nguyên nằm trong khoảng từ 3 đến 12, ví dụ, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (propylen), $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (butylen), $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (pentylen) và $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (heptylen).

Ví dụ về nhóm C_{3-12} alkylen no mạch nhánh bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ và $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$.

Ví dụ về nhóm C_{3-12} alkylen không no một phần mạch thẳng (C_{3-12} alkenylen và các nhóm alkynylen) bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ và $-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_2-$.

Ví dụ về nhóm C_{3-12} alkylen không no một phần mạch nhánh (C_{3-12} alkenylen và các nhóm alkynylen) bao gồm, nhưng không giới hạn ở, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-$, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ và $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}(\text{CH}_3)-$.

Ví dụ về nhóm C_{3-12} alkylen no dạng vòng béo (C_{3-12} xycloalkylen) bao gồm, nhưng không giới hạn ở, xyclopentylen (ví dụ xyclopent-1,3-ylen), và xyclohexylen (ví dụ xyclohex-1,4-ylen).

Ví dụ về nhóm C_{3-12} alkylen không no một phần dạng vòng béo (C_{3-12} xycloalkylen) bao gồm, nhưng không giới hạn ở, xyclopentenylen (ví dụ 4-xyclopenten-1,3-ylen), xyclohexenylen (ví dụ 2-xyclohexen-1,4-ylen; 3-xyclohexen-1,2-ylen; 2,5-xyclohexadien-1,4-ylen).

Bao gồm các dạng khác

Trừ khi có quy định khác, các thuật ngữ nêu trên cũng bao gồm các dạng ion, muối, solvat và dạng được bảo vệ đã biết rõ của các phân tử thể này. Ví dụ, tham chiếu đến axit carboxylic ($-COOH$) cũng bao gồm dạng anion (carboxylat) ($-COO^-$), muối hoặc solvat của chúng, cũng như các dạng được bảo vệ thông dụng. Tương tự, tham chiếu đến nhóm amino bao gồm dạng đã được proton hóa ($-N^+HR^1R^2$), muối hoặc solvat của nhóm amino, ví dụ, muối hydroclorua, cũng như các dạng được bảo vệ thông dụng của nhóm amino. Tương tự, tham chiếu đến nhóm hydroxyl cũng bao gồm dạng anion ($-O^-$), muối hoặc solvat của chúng, cũng như các dạng được bảo vệ thông dụng.

Muối

Có thể thuận tiện hoặc mong muốn điều chế, tinh chế và/hoặc vận dụng muối tương ứng của hoạt chất, ví dụ, muối được dụng. Ví dụ về muối được dụng được mô tả trong ấn phẩm Berge, et al., J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977).

Ví dụ, nếu hợp chất có dạng anion, hoặc có nhóm chức mà có thể có dạng anion (ví dụ $-COOH$ có thể là $-COO^-$), thì muối có thể được tạo thành với cation thích hợp. Ví dụ về cation vô cơ thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ion kim loại kiềm như Na^+ và K^+ , cation kim loại kiềm thổ như Ca^{2+} và Mg^{2+} , và các cation khác như Al^{+3} . Ví dụ về cation hữu cơ thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ion amoni (tức là NH_4^+) và ion amoni được thế (ví dụ NH_3R^+ , $NH_2R_2^+$, NHR_3^+ , NR_4^+). Ví dụ về một số ion amoni được thế thích hợp là các ion amoni có nguồn gốc từ: etylamin, dietylamin, dixyclohexylamin, trietylamin, butylamin, etylendiamin, etanolamin, dietanolamin, piperazin, benzylamin, phenylbenzylamin, cholin, meglumin và trometamin, cũng như axit amin, như lysin và arginin. Ví dụ về ion amoni bậc bốn phổ biến là $N(CH_3)_4^+$.

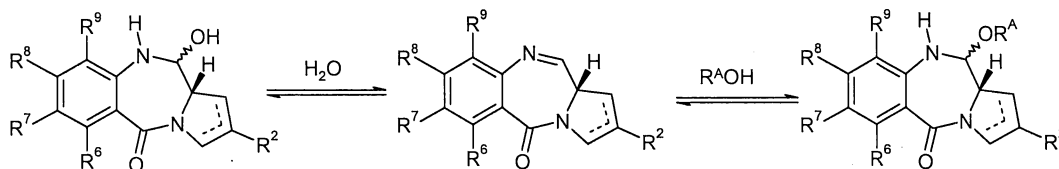
Nếu hợp chất có dạng cation, hoặc có nhóm chức mà có thể có dạng cation (ví dụ $-\text{NH}_2$ có thể là $-\text{NH}_3^+$), thì muối có thể được tạo thành với anion thích hợp. Ví dụ về anion vô cơ thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các anion có nguồn gốc từ các axit vô cơ sau: clohydric, bromhydric, hydroiodic, sulfuric, sulfuro, nitric, nitro, phosphoric và phosphorơ.

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

Solvat

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

Sáng chế bao gồm các hợp chất trong đó dung môi bổ sung ngang qua liên kết imin của gốc PBD, được minh họa dưới đây trong đó dung môi là nước hoặc rượu (R^AOH , trong đó R^A là C_{1-4} alkyl):



Các dạng này có thể được gọi là các dạng carbinolamin và carbinolamin ete của PBD (như được mô tả trong phần mô tả liên quan đến R^{10} ở trên). Phần còn lại của các cân bằng này phụ thuộc vào điều kiện trong đó các hợp chất được tìm thấy, cũng như bản chất của chính gốc này.

Các hợp chất cụ thể này có thể được phân lập ở dạng chất rắn, ví dụ, bằng cách làm đông khô.

Chất đồng phân

Các hợp chất nhất định theo sáng chế có thể tồn tại dưới một hoặc nhiều dạng hình học, quang học, đồng phân đối ảnh, đồng phân không đối quang, epime, atrop, đồng phân lập thể, tautome, cấu hình không gian hoặc anome cụ thể, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, dạng cis- và trans-; dạng E- và Z-; dạng c-, t- và r-; dạng endo- và exo-; dạng R-, S- và meso; dạng D- và L-; dạng d- và l-; dạng (+) và (-); dạng keto-, enol- và enolat-; dạng syn- và anti-; dạng nếp lồi và nếp lõm; dạng α - và β -; dạng trực và xích đạo; dạng thuyền, ghế, xoắn, bao và ghế nửa; và các tổ hợp của chúng, sau đây được gọi chung là “chất đồng phân” (hoặc “dạng đồng phân”).

Thuật ngữ “không đối xứng” chỉ các phân tử có tính chất là không thể đặt chồng khít lên ảnh gương, trong khi thuật ngữ “đối xứng” chỉ các phân tử mà có thể đặt chồng khít lên ảnh gương của chúng.

Thuật ngữ “chất đồng phân lập thể” chỉ các hợp chất có cấu tạo hóa học giống nhau, nhưng khác về cách sắp xếp các nguyên tử hoặc các nhóm trong không gian.

“Chất đồng phân không đối quang” chỉ chất đồng phân lập thể có hai hoặc nhiều tâm không đối xứng và các phân tử của nó không phải là các ảnh gương của nhau. Chất đồng phân không đối quang có các tính chất vật lý khác nhau, ví dụ điểm nóng chảy, điểm sôi, tính chất phổ và tính phản ứng. Hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang có thể tách riêng trong các quy trình phân tích có độ phân giải cao như điện di và sắc ký.

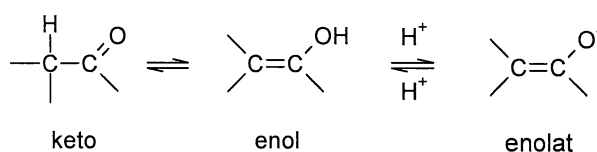
“Chất đồng phân đối ảnh” chỉ hai chất đồng phân lập thể của hợp chất mà là các ảnh gương không thể đặt chồng khít lên nhau.

Các định nghĩa và quy ước về hóa học lập thể được sử dụng trong bản mô tả này thường là theo ấn phẩm S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; và Eliel, E. and Wilen, S., “Stereochemistry of Organic Compounds”, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994. Hợp chất theo sáng chế có thể chứa các tâm bất đối xứng hoặc không đối xứng, và vì vậy tồn tại ở các dạng đồng phân lập thể khác nhau. Được dự định là tất cả các dạng đồng phân lập thể của hợp chất theo sáng chế, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất đồng phân không đối

quang, chất đồng phân đối ảnh và chất đồng phân atrop, cũng như hỗn hợp của chúng như hỗn hợp raxemic, tạo thành một phần của sáng chế. Nhiều hợp chất hữu cơ tồn tại ở dạng có hoạt tính quang học, tức là, chúng có khả năng quay mặt phẳng ánh sáng phân cực phẳng. Để mô tả hợp chất có hoạt tính quang học, các tiền tố D và L, hoặc R và S, được sử dụng để chỉ cấu hình tuyệt đối của phân tử về (các) tâm không đối xứng của nó. Các tiền tố d và l hoặc (+) và (-) được sử dụng để chỉ định ký hiệu quay của ánh sáng phân cực phẳng bởi hợp chất, với (-) hoặc l có nghĩa là hợp chất quay trái. Hợp chất có tiền tố (+) hoặc d là quay phải. Đối với cấu trúc hóa học đã cho, các chất đồng phân lập thể này là giống nhau ngoại trừ việc chúng là các ảnh gương của nhau. Chất đồng phân lập thể cụ thể cũng có thể được gọi là chất đồng phân đối ảnh, và hỗn hợp của các chất đồng phân này thường được gọi là hỗn hợp đồng phân đối ảnh. Hỗn hợp 50:50 của các chất đồng phân đối ảnh được gọi là hỗn hợp raxemic hoặc raxemat, có thể xuất hiện khi không có tính lập thể chọn lọc hoặc tính lập thể đặc thù trong quy trình hoặc phản ứng hóa học. Các thuật ngữ “hỗn hợp raxemic” và “raxemat” chỉ hỗn hợp đẳng mol của hai loại đồng phân đối ảnh, không có hoạt tính quang học.

Lưu ý rằng, ngoại trừ các dạng tautome như được nêu dưới đây, thuật ngữ “chất đồng phân” trong bản mô tả này loại trừ một cách cụ thể các chất đồng phân cấu trúc (hoặc cấu tạo) (tức là các chất đồng phân mà khác nhau bởi các kết nối giữa các nguyên tử chứ không đơn thuần chỉ bởi vị trí của các nguyên tử trong không gian). Ví dụ, tham chiếu đến nhóm metoxy, -OCH₃, không được hiểu là tham chiếu đến chất đồng phân cấu trúc của nó, nhóm hydroxymetyl, -CH₂OH. Tương tự, tham chiếu đến ortho-clophenyl không được hiểu là tham chiếu đến chất đồng phân cấu trúc của nó, meta-clophenyl. Tuy nhiên, tham chiếu đến lớp cấu trúc có thể bao gồm các dạng đồng phân cấu trúc nằm trong lớp đó (ví dụ C₁₋₇ alkyl bao gồm n-propyl và iso-propyl; butyl bao gồm n-, iso-, sec- và tert-butyl; metoxyphenyl bao gồm ortho-, meta- và para-metoxyphenyl).

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



Thuật ngữ “tautome” hoặc “dạng tautome” chỉ các chất đồng phân cấu trúc có các năng lượng khác nhau mà có thể chuyển hóa qua lại thông qua rào cản năng lượng thấp. Ví dụ, tautome proton (còn được gọi là tautome di biến proton) bao gồm sự chuyển hóa qua lại thông qua sự di chuyển của proton, như sự đồng phân hóa keto-enol và imin-enamin. Tautome hóa trị bao gồm sự chuyển hóa qua lại bằng cách tổ chức lại một số electron trong số các electron liên kết.

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

Ví dụ về chất đồng vị mà có thể được kết hợp vào trong hợp chất theo sáng chế bao gồm chất đồng vị của hydro, cacbon, nitơ, oxy, phosphoro, flo và clo, như, nhưng không giới hạn ở, ^2H (đơteri, D), ^3H (triti), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl và ^{125}I . Nhiều hợp chất được đánh dấu bằng chất đồng vị theo sáng chế, ví dụ các hợp chất mà các chất đồng vị phóng xạ như ^3H , ^{13}C và ^{14}C được kết hợp vào trong đó. Các hợp chất được đánh dấu bằng chất đồng vị này có thể là hữu dụng trong các nghiên cứu về chuyển hóa, các nghiên cứu về động học phản ứng, các kỹ thuật chụp ảnh hoặc phát hiện, như kỹ thuật chụp cắt lớp bằng phát xạ positron (PET) hoặc kỹ thuật chụp cắt lớp vi tính bằng phát xạ đơn photon (SPECT) bao gồm các thử nghiệm về phân phối mô của dược chất hoặc cơ chất, hoặc trong quá trình xạ trị cho bệnh nhân. Hợp chất trị liệu được thể hoặc được đánh dấu bằng đơteri theo sáng chế có thể có các tính chất DMPK (cơ chế chuyển hóa dược chất và các thông số dược động học) được cải thiện về sự phân phối, chuyển hóa và bài tiết (ADME). Việc thể bằng các chất đồng vị nặng hơn như đơteri có thể tạo ra các ưu điểm trị liệu nhất định nhờ độ ổn định chuyển hóa cao hơn, ví dụ thời gian bán hủy in vivo tăng hoặc yêu cầu về liều lượng giảm. Hợp chất được đánh dấu bằng ^{18}F có thể là hữu dụng cho các nghiên cứu PET hoặc SPECT. Hợp chất được đánh dấu bằng chất đồng vị theo sáng chế và tiền dược chất của chúng thường có thể được điều chế bằng cách tiến hành các quy trình được bộc lộ trong các sơ đồ hoặc trong các ví dụ và quy trình điều chế được mô tả dưới đây bằng cách thay thế chất phản ứng được đánh dấu bằng chất đồng vị đã có sẵn cho chất phản ứng không được đánh dấu bằng chất đồng vị. Ngoài ra, việc thể bằng các chất đồng vị nặng, cụ thể là đơteri (tức là, ^2H hoặc D) có thể tạo ra các ưu điểm trị liệu nhất định nhờ độ ổn định chuyển hóa cao hơn, ví dụ thời gian bán hủy in vivo tăng hoặc yêu cầu về liều lượng

giảm hoặc sự cải thiện về chỉ số trị liệu. Cần phải hiểu rằng đơteri trong bản mô tả này được xem là phần tử thể. Nồng độ của chất đồng vị nặng hơn này, cụ thể là đơteri, có thể được xác định bằng hệ số giàu đồng vị. Trong hợp chất theo sáng chế, nguyên tử bất kỳ mà không được chỉ rõ một cách cụ thể là chất đồng vị cụ thể có nghĩa là thể hiện chất đồng vị ổn định bất kỳ của nguyên tử đó.

Trừ khi có quy định khác, tham chiếu đến hợp chất cụ thể bao gồm tất cả các dạng chất đồng phân như vậy, bao gồm hỗn hợp raxemic (hoàn toàn hoặc một phần) và các hỗn hợp khác của chúng. Các phương pháp điều chế (ví dụ tổng hợp bất đối xứng) và tách (ví dụ bằng kỹ thuật sắc ký và kết tinh phân đoạn) các dạng đồng phân này đã được biết rõ trong tình trạng kỹ thuật hoặc dễ dàng thu được bằng cách làm theo các phương pháp được bộc lộ trong bản mô tả này, hoặc các phương pháp đã biết, theo cách đã biết.

Hoạt tính sinh học

Thử nghiệm về sự tăng sinh tế bào *in vitro*

Nói chung, hoạt tính gây độc tế bào hoặc kìm tế bào của thể liên hợp được chất-kháng thể (ADC) được đo bằng cách: cho các tế bào động vật có vú có các protein thụ thể, ví dụ HER2, tiếp xúc với kháng thể của ADC trong môi trường nuôi cấy tế bào; nuôi cấy các tế bào này trong khoảng thời gian từ khoảng 6 giờ đến khoảng 5 ngày; và đo độ sống sót của tế bào. Các thử nghiệm *in vitro* dựa vào tế bào được sử dụng để đo độ sống sót (sự tăng sinh), tính gây độc tế bào, và sự gây chết tế bào theo chương trình (hoạt hóa caspaza) của ADC theo sáng chế.

Hiệu lực *in vitro* của thể liên hợp được chất-kháng thể có thể được đo bằng thử nghiệm về sự tăng sinh tế bào. Thử nghiệm đo độ sống sót tế bào phát quang CellTiter-Glo® (CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay) là phương pháp thử nghiệm đồng nhất dựa vào sự biểu hiện tái tổ hợp của luxiferaza của *Coleoptera* (các patent Mỹ số 5583024; 5674713 và 5700670) có trên thị trường (Promega Corp., Madison, WI). Thử nghiệm về sự tăng sinh tế bào này xác định số lượng tế bào sống sót trong giống cấy dựa vào việc định lượng ATP có mặt, là chất chỉ thị của các tế bào có hoạt tính chuyển hóa (Crouch et al (1993) J. Immunol. Meth. 160:81-88; US 6602677). Thử nghiệm CellTiter-Glo® được tiến hành trong khuôn loại 96 lỗ, giúp cho nó dễ sàng lọc thông lượng cao (HTS: high-throughput screening) tự động hóa (Cree et al (1995) AntiCancer Drugs 6:398-404). Quy trình thử nghiệm đồng nhất bao gồm việc bổ sung chất phản ứng đơn lẻ (chất phản ứng

CellTiter-Glo[®]) trực tiếp vào tế bào được nuôi cấy trong môi trường được bổ sung huyết thanh. Các bước rửa tế bào, loại bỏ môi trường và hút pipet nhiều lần là không cần thiết. Hệ này phát hiện được số lượng tế bào nhỏ tới 15 tế bào/lỗ trong khuôn loại 384 lỗ trong 10 phút sau khi bổ sung chất phản ứng và trộn. Các tế bào này có thể được xử lý tiếp bằng ADC, hoặc chúng có thể được xử lý và được tách ra khỏi ADC. Nhìn chung, các tế bào được xử lý trong khoảng thời gian ngắn, tức là 3 giờ, thể hiện tác dụng hiệu lực giống với các tế bào được xử lý tiếp.

Hình thức thử nghiệm “bổ sung-trộn-đo” đồng nhất gây ra sự tan bào và tạo ra tín hiệu phát quang tỷ lệ với lượng ATP có mặt. Lượng ATP tỷ lệ trực tiếp với số lượng tế bào có mặt trong giếng cấy. Thử nghiệm CellTiter-Glo[®] tạo ra tín hiệu phát quang “kiểu sáng rực”, được tạo ra bởi phản ứng của luxiferaza, có thời gian bán hủy thường là lớn hơn năm giờ, tùy thuộc vào loại tế bào và môi trường được sử dụng. Các tế bào sống sót được thể hiện bằng đơn vị phát quang tương đối (RLU). Cơ chất, luxiferin bọ cánh cứng, được loại bỏ nhóm carboxyl theo cách oxy hóa bằng luxiferaza đom đóm tái tổ hợp với sự đồng thời chuyển hóa ATP thành AMP và tạo ra các photon.

Hiệu quả *in vivo*

Hiệu quả *in vivo* của thể liên hợp được chất-kháng thể (ADC) theo sáng chế có thể được đo bằng các thử nghiệm về khối u ghép khác loại ở chuột nhắt. Ví dụ, hiệu quả *in vivo* của ADC kháng HER2 theo sáng chế có thể được đo bằng mô hình chuột nhắt có mô cấy chuyển gen HER2 biểu hiện cao. Mảnh dị ghép được nhân lên từ chuột nhắt chuyển gen Fo5 mmtv mà không đáp ứng đối với, hoặc đáp ứng kém đối với, liệu pháp trị liệu HERCEPTIN[®]. Đối tượng được điều trị một lần bằng ADC với mức liều nhất định (mg/kg) và bằng sự tiếp xúc với dược chất PBD ($\mu\text{g}/\text{m}^2$); và đối chứng đệm giả dược (môi trường dẫn thuốc) và được theo dõi trong hai tuần hoặc hơn để đo lường thời gian để nhân đôi khối u, tiêu diệt tế bào theo số log và co khối u.

Sử dụng

Các thể liên hợp theo sáng chế có thể được sử dụng để cung cấp hợp chất PBD tại vị trí đích.

Tốt hơn là, vị trí đích là quần thể tế bào tăng sinh. Kháng thể là kháng thể đối với kháng nguyên có mặt trong quần thể tế bào tăng sinh.

Theo một phương án, kháng nguyên vắng mặt hoặc có mặt với lượng giảm ở quần thể tế bào không tăng sinh so với lượng kháng nguyên có mặt trong quần thể tế bào tăng sinh, ví dụ quần thể tế bào khối u.

Tại vị trí đích, nhóm liên kết có thể bị phân cắt sao cho giải phóng hợp chất có công thức (D). Do đó, thể liên hợp có thể được sử dụng để cung cấp một cách chọn lọc hợp chất có công thức (D) đến vị trí đích.

Nhóm liên kết có thể bị phân cắt bởi enzym có mặt tại vị trí đích.

Vị trí đích có thể là *in vitro*, *in vivo* hoặc *ex vivo*.

Hợp chất liên hợp được chất-kháng thể (ADC) theo sáng chế bao gồm các hợp chất liên hợp được chất-kháng thể có tính hữu dụng đối với hoạt tính chống ung thư. Cụ thể là, các hợp chất này bao gồm kháng thể được liên hợp, tức là được gắn theo cách cộng hóa trị bằng nhóm liên kết, vào gốc được chất PBD, tức là độc tố. Khi được chất không được liên hợp với kháng thể, được chất PBD này có tác dụng gây độc tế bào. Do đó, hoạt tính sinh học của gốc được chất PBD được điều biến bằng cách liên hợp với kháng thể. Thể liên hợp được chất-kháng thể (ADC) theo sáng chế đưa liều có tác dụng của chất gây độc tế bào một cách chọn lọc đến mô khối u, nhờ đó có thể đạt được độ chọn lọc cao hơn, tức là liều cần để có hiệu quả thấp hơn.

Do đó, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất liên hợp như được nêu trong bản mô tả này để sử dụng trong liệu pháp trị liệu.

Theo khía cạnh khác, sáng chế còn đề xuất hợp chất liên hợp như được nêu trong bản mô tả này để sử dụng trong điều trị bệnh tăng sinh. Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất hợp chất liên hợp để sử dụng trong sản xuất thuốc dùng để điều trị bệnh tăng sinh.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể dễ dàng xác định xem liệu thể liên hợp đang được đề xuất có điều trị tình trạng bệnh lý tăng sinh cho loại tế bào cụ thể bất kỳ hay không. Ví dụ, các thử nghiệm mà có thể được sử dụng một cách thông dụng để đánh giá hoạt tính được tạo ra bởi hợp chất cụ thể được mô tả trong các ví dụ nêu dưới đây.

Thuật ngữ “bệnh tăng sinh” chỉ sự tăng sinh tế bào không kiểm soát được hoặc không mong muốn của các tế bào bất thường hoặc dư thừa mà không được mong muốn, như, sự sinh trưởng ung thư hoặc tăng sản, cho dù là *in vitro* hay *in vivo*.

Ví dụ về tình trạng bệnh lý tăng sinh bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bệnh tăng sinh tế bào lành tính, tiền ác tính và ác tính, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, khối u tân tạo và khối u (ví dụ u mô bào, u thần kinh đệm, u tế bào hình sao, u xương), bệnh ung thư (ví dụ bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, bệnh ung thư đường dạ dày-ruột, bệnh ung thư ruột, bệnh ung thư ruột kết, caxinom vú, caxinom buồng trứng, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư tuyến tụy, bệnh ung thư não, sacom, sacom xương, sacom Kaposi, u hắc sắc tố), bệnh bạch cầu, bệnh vảy nến, bệnh về xương, rối loạn tăng sinh xơ (ví dụ, ở các mô liên kết) và chứng vữa xơ động mạch. Các bệnh ung thư được quan tâm đặc biệt bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bệnh bạch cầu và bệnh ung thư buồng trứng.

Loại tế bào bất kỳ có thể được điều trị, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, phổi, đường dạ dày-ruột (bao gồm, ví dụ ruột, ruột kết), vú (thuộc vú), buồng trứng, tuyến tiền liệt, gan (thuộc gan), thận (thuộc thận), bàng quang, tuyến tụy, não và da.

Theo một phương án, việc điều trị là điều trị bệnh ung thư tuyến tụy.

Theo một phương án, việc điều trị là điều trị khối u có integrin $\alpha_v\beta_6$ trên bề mặt của tế bào.

Thế liên hợp dược chất-kháng thể (ADC) theo sáng chế được đề xuất là có thể được sử dụng để điều trị các bệnh hoặc rối loạn khác nhau, ví dụ đặc trưng bởi sự biểu hiện quá mức của kháng nguyên khối u. Các tình trạng bệnh lý hoặc các rối loạn tăng sinh quá mức tiêu biểu bao gồm khối u lành tính hoặc ác tính; bệnh bạch cầu, bệnh về máu và các khối u ác tính dạng bạch huyết. Các tình trạng bệnh lý hoặc các rối loạn tăng sinh quá mức khác bao gồm rối loạn thần kinh, rối loạn thần kinh đệm, rối loạn tế bào hình sao, rối loạn dưới đồi, rối loạn tuyến, rối loạn đại thực bào, rối loạn biểu mô, rối loạn mô đỡ, rối loạn khoang phổi, rối loạn viêm, rối loạn tạo mạch và rối loạn miễn dịch, bao gồm rối loạn tự miễn.

Nói chung, bệnh hoặc rối loạn cần điều trị là bệnh tăng sinh quá mức như bệnh ung thư. Ví dụ về bệnh ung thư cần điều trị trong bản mô tả này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, caxinom, bệnh u lympho, bệnh u nguyên bào, sacom và bệnh bạch cầu hoặc các khối u ác tính dạng bạch huyết. Ví dụ cụ thể hơn về các bệnh ung thư này bao gồm bệnh ung thư tế bào hình vảy (ví dụ bệnh ung thư biểu mô tế bào hình vảy), bệnh ung thư phổi bao gồm bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ, bệnh ung thư tuyến phổi và caxinom phổi hình vảy, bệnh ung thư màng bụng, bệnh ung thư tế bào gan, bệnh ung thư

dạ dày hoặc bao tử bao gồm bệnh ung thư đường dạ dày-ruột, bệnh ung thư tuyến tụy, bệnh u nguyên bào xốp, bệnh ung thư cổ, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư bàng quang, bệnh u gan, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư trực tràng, bệnh ung thư ruột kết-trực tràng, caxinom màng trong dạ con hoặc tử cung, caxinom tuyến nước bọt, bệnh ung thư thận hoặc cắt, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư âm hộ, bệnh ung thư tuyến giáp, caxinom gan, caxinom hậu môn, caxinom dương vật, cũng như bệnh ung thư đầu và cổ.

Các bệnh tự miễn mà hợp chất ADC có thể được sử dụng trong điều trị chúng bao gồm các rối loạn thấp khớp (như, ví dụ, bệnh viêm khớp dạng thấp, hội chứng Sjögren, bệnh cứng bì, luput như SLE và luput viêm thận, bệnh viêm đa cơ/bệnh viêm da-cơ, bệnh cryoglobulin-huyết, hội chứng kháng thể kháng phospholipit và bệnh viêm khớp vảy nến), bệnh viêm xương-khớp, rối loạn gan và đường dạ dày-ruột tự miễn (như, ví dụ, bệnh viêm ruột (ví dụ bệnh viêm ruột kết mạn loét và bệnh Crohn), bệnh viêm dạ dày tự miễn và bệnh thiếu máu ác tính, bệnh viêm gan tự miễn, bệnh xơ gan mật nguyên phát, bệnh viêm đường mật xơ hóa nguyên phát và bệnh về bụng), bệnh viêm mạch (như, ví dụ, bệnh viêm mạch liên quan đến ANCA, bao gồm bệnh viêm mạch Churg-Strauss, bệnh u hạt Wegener và bệnh viêm đa động mạch), rối loạn thần kinh tự miễn (như, ví dụ, bệnh xơ cứng rải rác, hội chứng giật rung cơ - giật rung mắt, bệnh nhược cơ năng, bệnh viêm tủy-thị thần kinh, bệnh Parkinson, bệnh Alzheimer và bệnh đa dây thần kinh tự miễn), rối loạn thận (như, ví dụ, bệnh viêm thận tiểu cầu, hội chứng Goodpasture và bệnh Berger), rối loạn da tự miễn (như, ví dụ, bệnh vảy nến, chứng mày đay, chứng phát ban, pemphigut thông thường, chứng bóng nước dạng pemphigut và luput ban đỏ trên da), rối loạn máu (như, ví dụ, chứng ban xuất huyết giảm tiểu cầu, chứng ban xuất huyết giảm tiểu cầu huyết khối, chứng ban xuất huyết sau truyền dịch và bệnh thiếu máu tan huyết tự miễn), chứng vữa xơ động mạch, bệnh viêm màng mạch nhỏ, bệnh về khả năng nghe tự miễn (như, ví dụ, bệnh tai trong và mất khả năng nghe), bệnh Behcet, hội chứng Raynaud, rối loạn cấy ghép cơ quan và các rối loạn nội tiết tự miễn (như, ví dụ, các bệnh tự miễn liên quan đến đái tháo đường như bệnh đái tháo đường phụ thuộc insulin (IDDM), bệnh Addison và bệnh tuyến giáp tự miễn (ví dụ bệnh Graves và bệnh viêm tuyến giáp)). Tốt hơn nữa là, các bệnh này bao gồm, ví dụ, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh viêm ruột kết mạn loét, bệnh viêm mạch liên quan đến ANCA, luput, bệnh xơ cứng rải rác, hội chứng Sjögren, bệnh Graves, IDDM, bệnh thiếu máu ác tính, bệnh viêm tuyến giáp và bệnh viêm thận tiểu cầu.

Phương pháp điều trị

Thế liên hợp theo sáng chế có thể được sử dụng trong phương pháp trị liệu. Phương pháp điều trị bao gồm bước sử dụng cho đối tượng cần điều trị lượng có tác dụng điều trị bệnh của hợp chất liên hợp theo sáng chế. Thuật ngữ “lượng có tác dụng điều trị bệnh” là lượng đủ để thể hiện lợi ích đối với bệnh nhân. Lợi ích này có thể ít nhất là làm thuyên giảm ít nhất một triệu chứng. Lượng thực sự được sử dụng, và tốc độ và khoảng thời gian sử dụng, sẽ phụ thuộc vào bản chất và mức độ trầm trọng của bệnh được điều trị. Đơn thuốc điều trị, ví dụ các quyết định về liều lượng, thuộc trách nhiệm của bác sĩ đa khoa và các bác sĩ y tế khác.

Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng ở dạng riêng lẻ hoặc ở dạng kết hợp với các liệu pháp điều trị khác, hoặc là đồng thời hoặc là lần lượt phụ thuộc vào tình trạng bệnh lý cần điều trị. Ví dụ về các liệu pháp điều trị và trị liệu bao gồm, nhưng không giới hạn ở, hóa trị liệu (việc sử dụng các hoạt chất, bao gồm, ví dụ dược chất, như chất hóa trị liệu); phẫu thuật; và liệu pháp chiếu xạ.

“Chất hóa trị liệu” là hợp chất hóa học hữu dụng trong điều trị bệnh ung thư, bất kể cơ chế tác động là gì. Các lớp chất hóa trị liệu bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất alkyl hóa, chất chống chuyển hóa, alkaloid thực vật gây độc dạng thoi, chất kháng sinh gây độc tế bào/chống khối u, chất ức chế topoisomeraza, kháng thể, chất cảm quang và chất ức chế kinaza. Chất hóa trị liệu bao gồm các hợp chất được sử dụng trong “liệu pháp trị liệu nhắm đích” và hóa trị liệu thông dụng.

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

Ví dụ khác về chất hóa trị liệu bao gồm: oxaliplatin (ELOXATIN®, Sanofi), bortezomib (VELCADE®, Millennium Pharm.), sunitinib (SUNITINIB®, SU11248, Pfizer), letrozol (FEMARA®, Novartis), imatinib mesylat (GLEEVEC®, Novartis), XL-518 (chất ức chế Mek, Exelixis, WO 2007/044515),ARRY-886 (chất ức chế Mek, AZD6244, Array BioPharma, AstraZeneca), SF-1126 (chất ức chế PI3K, Semafore Pharmaceuticals), BEZ-235 (chất ức chế PI3K, Novartis), XL-147 (chất ức chế PI3K, Exelixis), PTK787/ZK 222584 (Novartis), fulvestrant (FASLODEX®, AstraZeneca), leucovorin (axit folinic), rapamycin (sirolimus, RAPAMUNE®, Wyeth), lapatinib (TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline), lonafarnib (SARASAR™, SCH 66336, Schering Plough), sorafenib (NEXAVAR®, BAY43-9006, Bayer Labs), gefitinib (IRESSA®, AstraZeneca), irinotecan (CAMPTOSAR®, CPT-11, Pfizer), tipifarnib (ZARNESTRA™, Johnson & Johnson), ABRAXANE™ (không chứa Cremophor), sản phẩm bào chế dạng hạt nano được thiết kế albumin của paclitaxel (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, IL), vandetanib (rINN, ZD6474, ZACTIMA®, AstraZeneca), clorambucil, AG1478, AG1571 (SU 5271; Sugen), temsirolimus (TORISEL®, Wyeth), pazopanib (GlaxoSmithKline), canfosfamid (TELCYTA®, Telik), thiotepa và cyclophosphamid (CYTOXAN®, NEOSAR®); alkyl sulfonat như busulfan, improsulfan và piposulfan; aziridin như benzodopa, carboquon, meturedopa và uredopa; etylenimin và metylamelamin bao gồm altretamin, trietylenmelamin, trietylenphosphoramid, trietylenphosphoramid và trimetylmelamin; axetogenin (đặc biệt là bullataxin và bullataxinon); camptothecin (bao gồm chất tương tự topotecan tổng hợp); bryostatin; calystatin; CC-1065 (bao gồm các chất tương tự adozelesin, carzelesin và bizelesin tổng hợp của nó); cryptophycin (cụ thể là cryptophycin 1 và cryptophycin 8); dolastatin; duocarmycin (bao gồm các chất tương tự KW-2189 và CB1-TM1 tổng hợp); eleutherobin; pancratiostatine; sarcodictyin; spongistatin; mù tạc nitơ như clorambucil, chlornaphazin, clorophosphamid, estramustin, ifosfamid, mechloroethamin, mechloroethamin oxit hydroclorua, melphalan, novembichin, phenesterin, prednimustin, trofosfamid, mù tạc uraxil; nitrosoure như carmustin, clorozotoxin, fotemustin, lomustin, nimustin và ranimustin; chất kháng sinh như chất kháng sinh enediyin (ví dụ calicheamixin, calicheamixin gammaII, calicheamixin omegaII (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186); dynemixin, dynemixin A; bisphosphonat, như clodronat; esperamixin; cũng như nhóm mang màu neocarzinostatin và các nhóm mang màu kháng sinh chromoprotein enediyin liên quan), aclaxinomycin, actinomycin, anthramycin, azaserin, bleomycin,

cactinomycin, carabixin, carminomycin, carzinophilin, chromomycinis, dactinomycin, daunorubixin, detorubixin, 6-diazo-5-oxo-L-norleuxin, morpholino-doxorubixin, xyanomorpholino-doxorubixin, 2-pyrolino-doxorubixin và deoxydoxorubixin), epirubixin, esorubixin, idarubixin, nemorubixin, marxelomycin, mitomycin như mitomycin C, axit mycophenolic, nogalamycin, olivomycin, peplomycin, porfiromycin, puromycin, quelamycin, rodorubixin, streptonigrin, streptozoxin, tuberxidin, ubenimex, zinostatin, zorubixin; chất chống chuyển hóa như metotrexat và 5-flouraxil (5-FU); chất tương tự axit folic như denopterin, metotrexat, pteropterin, trimetrexat; chất tương tự purin như fludarabin, 6-mercaptopurin, thiamiprin, thioguanin; chất tương tự pyrimidin như anxitabin, azaxitidin, 6-azauridin, carmofur, xytarabin, dideoxyuridin, doxifluridin, enoxitabin, floxuridin; androgen như calusteron, dromostanolon propionat, epitiostanol, mepitiostan, testolacton; chất kháng adrenal như aminoglutethimit, mitotan, trilostan; chất độn axit folic như axit frolic; axeglaton; aldophosphamit glycosit; axit aminolevulinic; eniluraxil; amsacrin; bestrabuxil; bisantren; edatraxat; defofamin; demecolxin; diaziqun; elfornithin; elliptini axetat; epothilon; etoglurit; gali nitrat; hydroxyure; lentinan; lonidainin; maytansinoit như maytansin và ansamitoxin; mitoguazon; mitoxantron; mopidanmol; nitraerin; pentostatin; phenamet; pirarubixin; losoxantron; axit podophyllinic; 2-etylhydrazit; procarbazin; phức hợp PSK® polysacarit (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxan; rhizoxin; sizofiran; spirogermani; axit tenuazonic; triaziqun; 2,2',2''-trichlotrietylamin; trichothexen (đặc biệt là độc tố T-2, verracurin A, roridin A và anguidin); uretan; vindesin; dacarbazin; mannomustin; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gaxytosin; arabinosit ("Ara-C"); xyclophosphamit; thiotepa; 6-thioguanin; mercaptopurin; metotrexat; chất tương tự platin như cisplatin và carboplatin; vinblastin; etoposit (VP-16); ifosfamid; mitoxantron; vincristin; vinorelbin (NAVELBINE®); novantron; teniposit; edatrexat; daunomycin; aminopterin; capexitabin (XELODA®, Roche); ibandronat; CPT-11; chất ức chế topoisomeraza RFS 2000; diflometylornithin (DMFO); retinoit như axit retinoic; và muối, axit và dẫn xuất được dùng của chất hóa trị liệu bất kỳ trong số các chất hóa trị liệu nêu trên.

Cũng được bao hàm trong định nghĩa về "chất hóa trị liệu" là: (i) chất kháng hormon đóng vai trò điều tiết hoặc ức chế hoạt động của hormon trên khối u như chất kháng estrogen và chất điều biến thụ thể estrogen chọn lọc (SERM), bao gồm, ví dụ, tamoxifen (bao gồm NOLVADEX®; tamoxifen xitrat), raloxifen, droloxifen, 4-hydroxytamoxifen,

trioxifen, keoxifen, LY117018, onapriston và FARESTON® (toremifin xitrat); (ii) chất ức chế aromataza mà ức chế enzym aromataza, mà điều tiết sự sản xuất estrogen trong tuyến thượng thận, như, ví dụ, 4(5)-imidazol, aminoglutethimit, MEGASE® (megestrol axetat), AROMASIN® (exemestan; Pfizer), formestanie, fadrozol, RIVISOR® (vorozol), FEMARA® (letrozol; Novartis) và ARIMIDEX® (anastrozol; AstraZeneca); (iii) chất kháng androgen như flutamit, nilutamit, bicalutamit, leuprolit và goserelin; cũng như troxaxitabin (chất tương tự xytosin nucleosit 1,3-dioxolan); (iv) chất ức chế protein kinaza như chất ức chế MEK (WO 2007/044515); (v) chất ức chế lipit kinaza; (vi) oligonucleotit đối nghĩa, đặc biệt là oligonucleotit đối nghĩa ức chế sự biểu hiện của các gen trong các con đường phát tín hiệu liên quan đến quá trình tăng sinh tế bào khác thường, ví dụ, PKC-alpha, Raf và H-Ras, như oblimersen (GENASENSE®, Genta Inc.); (vii) ribozym như chất ức chế sự biểu hiện VEGF (ví dụ, ANGIOZYME®) và chất ức chế sự biểu hiện HER2; (viii) vacxin như vacxin dùng trong liệu pháp gen, ví dụ, ALLOVECTIN®, LEUVECTIN® và VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; chất ức chế topoisomeraza 1 như LURTOTECAN®; ABARELIX® rmRH; (ix) chất chống tạo mạch như bevacizumab (AVASTIN®, Genentech); và muối, axit và dẫn xuất được dụng của chất hóa trị liệu trong số các chất hóa trị liệu nêu trên.

Cũng được bao hàm trong định nghĩa về “chất hóa trị liệu” là các kháng thể dùng để trị liệu như alemtuzumab (Campath), bevacizumab (AVASTIN®, Genentech); xetuximab (ERBITUX®, Imclone); panitumumab (VECTIBIX®, Amgen), rituximab (RITUXAN®, Genentech/Biogen Idec), pertuzumab (OMNITARG™, 2C4, Genentech), trastuzumab (HERCEPTIN®, Genentech), tositumomab (Bexxar, Corixia), và thể liên hợp được chất-kháng thể, gemtuzumab ozogamixin (MYLOTARG®, Wyeth).

Các kháng thể đơn dòng được làm giống như của người có tiềm năng trị liệu dùng làm chất hóa trị liệu ở dạng kết hợp với các thể liên hợp theo sáng chế bao gồm: alemtuzumab, apolizumab, aselizumab, atlizumab, bapineuzumab, bevacizumab, bivatumab mertansin, cantuzumab mertansin, xedelizumab, xertolizumab pegol, xidfusituzumab, xidtuzumab, daclizumab, eculizumab, efalizumab, epratuzumab, erlizumab, felvizumab, fontolizumab, gemtuzumab ozogamixin, inotuzumab ozogamixin, ipilimumab, labetuzumab, lintuzumab, matuzumab, mepolizumab, motavizumab, motovizumab, natalizumab, nimotuzumab, nolovizumab, numavizumab, ocrelizumab, omalizumab, palivizumab, pascolizumab, pecfusituzumab, pectuzumab, pertuzumab, pexelizumab, ralivizumab, ranibizumab,

reslivizumab, reslizumab, resyvizumab, rovelizumab, ruplizumab, sibrotuzumab, siplizumab, sontuzumab, tacatuzumab tetraxetan, tadocizumab, talizumab, tefibazumab, tocilizumab, toralizumab, trastuzumab, tucotuzumab xelmoleukin, tucosituzumab, umavizumab, urtoxazumab và visilizumab.

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

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

Để tiêm trong tĩnh mạch, qua da hoặc dưới da, hoặc tiêm tại vị trí đau, thành phần hoạt tính sẽ ở dạng dung dịch nước có thể chấp nhận ngoài đường tiêu hóa, không chứa chất gây sốt (pyrogen) và có độ pH, tính đẳng trương và độ ổn định thích hợp. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể dễ dàng điều chế dung dịch thích hợp bằng cách sử dụng, ví dụ, các môi trường dẫn thuốc đẳng trương như chế phẩm tiêm natri clorua, chế phẩm tiêm Ringer, chế phẩm tiêm Ringer đã được lactat hóa. Chất bảo quản, chất làm ổn định, chất đệm, chất chống oxy hóa và/hoặc các chất phụ gia khác có thể được bao gồm, khi cần.

Chế phẩm

Mặc dù có thể sử dụng (ví dụ, dùng) hợp chất liên hợp ở dạng riêng lẻ, nhưng thường tốt hơn là nó được sử dụng dưới dạng hợp phần hoặc chế phẩm.

Theo một phương án, chế phẩm là dược phẩm (ví dụ, sản phẩm bào chế, chế phẩm, thuốc) chứa hợp chất liên hợp nêu trong bản mô tả này và chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược được dụng.

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

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

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

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế dược phẩm bao gồm bước trộn ít nhất một thể liên hợp hoặc hợp chất giống thể liên hợp được đánh dấu phóng xạ [^{11}C], như được xác định trong bản mô tả này, cùng với một hoặc nhiều thành phần dược dụng khác đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, chất mang, chất pha loãng, tá dược, v.v.. Nếu được bào chế dưới dạng các đơn vị riêng biệt (ví dụ, viên nén, v.v.), thì mỗi đơn vị sẽ chứa lượng (liều lượng) xác định của hoạt chất.

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

Chế phẩm có thể được bào chế bằng các phương pháp bất kỳ đã biết rõ trong lĩnh vực y dược. Các phương pháp này bao gồm bước cho hoạt chất kết hợp với chất mang mà cấu thành một hoặc nhiều thành phần phụ trợ. Thông thường, chế phẩm được bào chế bằng cách cho hoạt chất kết hợp đồng nhất và mật thiết với chất mang (ví dụ, chất mang lỏng, chất mang rắn đã được nghiền mịn, v.v.), và sau đó tạo hình cho sản phẩm, nếu cần.

Chế phẩm có thể được bào chế để tạo ra sự giải phóng nhanh hoặc chậm; giải phóng tức thì, trì hoãn, theo thời gian hoặc duy trì liên tục; hoặc dạng kết hợp của chúng.

Chế phẩm thích hợp để sử dụng ngoài đường tiêu hóa (ví dụ, bằng cách tiêm), bao gồm chất lỏng dạng nước hoặc không phải dạng nước, đẳng trương, không chứa chất gây sốt (pyrogen), vô trùng (ví dụ, dung dịch, hỗn dịch), trong đó thành phần hoạt tính được hòa tan, được tạo huyền phù, hoặc được cung cấp theo cách khác (ví dụ, trong liposom hoặc vi hạt khác). Các chất lỏng này có thể chứa thêm các thành phần được dùng khác, như chất chống oxy hóa, chất đệm, chất bảo quản, chất làm ổn định, chất kìm hãm vi khuẩn, chất tạo huyền phù, chất làm đặc và chất tan, tạo ra cho chế phẩm tính đẳng trương với máu (hoặc dịch cơ thể liên quan khác) của người nhận dự định. Ví dụ về tá dược bao gồm, ví dụ, nước, rượu, polyol, glyxerol, dầu thực vật, và dạng tương tự. Ví dụ về chất mang đẳng trương thích hợp để sử dụng trong các chế phẩm này bao gồm chế phẩm tiêm natri clorua, dung dịch Ringer, hoặc chế phẩm tiêm Ringer đã được lactat hóa. Thông thường, nồng độ của thành phần hoạt tính trong chất lỏng nằm trong khoảng từ 1ng/mL đến 10 μ g/mL, ví dụ khoảng từ 10ng/mL đến 1 μ g/mL. Chế phẩm có thể được trình bày trong các vật chứa đóng kín chứa liều đơn vị hoặc liều dùng nhiều lần, ví dụ, ống thuốc tiêm và lọ nhỏ, và có thể được bảo quản trong điều kiện được làm khô lạnh (đông khô) chỉ cần phải bổ sung chất mang lỏng vô trùng, ví dụ nước để tiêm, ngay trước khi sử dụng. Hỗn dịch và dung dịch tiêm tức thì có thể được bào chế từ bột, viên cốm và viên nén vô trùng.

Liều lượng

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng liều lượng thích hợp của hợp chất liên hợp, và chế phẩm chứa hợp chất liên hợp, có thể thay đổi từ bệnh nhân này sang bệnh nhân khác. Việc xác định liều lượng tối ưu sẽ thường bao gồm việc làm cân bằng mức lợi ích trị liệu với rủi ro hoặc tác dụng phụ có hại bất kỳ. Mức liều lượng được chọn sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố bao gồm, nhưng không giới hạn ở, hoạt tính của hợp chất cụ thể, đường sử dụng, thời gian sử dụng, tốc độ bài tiết hợp chất, khoảng thời gian điều trị, các dược chất, hợp chất và/hoặc nguyên liệu khác được sử dụng kết hợp, mức độ trầm trọng của tình trạng bệnh lý, và loài, giới tính, độ tuổi, cân nặng, tình trạng, sức khỏe chung và tiền sử y tế trước đó của bệnh nhân. Lượng hợp chất và đường sử dụng cuối cùng sẽ theo sự suy xét thận trọng của bác sĩ điều trị, bác sĩ thú y hoặc bác sĩ lâm sàng, mặc dù thông thường liều lượng này sẽ được chọn để đạt được nồng độ cục bộ tại vị trí tác động sao

cho đạt được tác dụng mong muốn mà không gây ra tác dụng phụ có hại hoặc bất lợi đáng kể.

Việc sử dụng có thể được thực hiện dưới dạng một liều, liên tục hoặc gián đoạn (ví dụ, dưới dạng các liều được chia nhỏ vào các khoảng cách thời gian thích hợp) trong suốt khoảng thời gian điều trị. Các phương pháp xác định cách thức và liều lượng sử dụng có hiệu quả nhất đã được biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và sẽ thay đổi theo chế phẩm được sử dụng để trị liệu, mục đích trị liệu, (các) tế bào đích cần điều trị và đối tượng cần điều trị. Có thể thực hiện việc sử dụng một lần hoặc nhiều lần với mức liều và cách thức được chọn bởi bác sĩ điều trị, bác sĩ thú y hoặc bác sĩ lâm sàng.

Thông thường, liều thích hợp của hoạt chất nằm trong khoảng từ 100ng đến 25mg (thông thường hơn là nằm trong khoảng từ 1µg đến 10mg) trên mỗi kilogam thể trọng của đối tượng mỗi ngày. Khi hoạt chất là muối, este, amit, tiền dược chất, hoặc dạng tương tự, thì lượng được sử dụng được tính dựa vào hợp chất gốc và vì vậy trọng lượng thực sự được làm tăng lên theo tỷ lệ.

Theo một phương án, hoạt chất được sử dụng cho người bệnh theo chế độ liều lượng sau: khoảng 100mg, 3 lần mỗi ngày.

Theo một phương án, hoạt chất được sử dụng cho người bệnh theo chế độ liều lượng sau: khoảng 150mg, 2 lần mỗi ngày.

Theo một phương án, hoạt chất được sử dụng cho người bệnh theo chế độ liều lượng sau: khoảng 200mg, 2 lần mỗi ngày.

Tuy nhiên, theo một phương án, hợp chất liên hợp được sử dụng cho người bệnh theo chế độ liều lượng sau: khoảng 50 hoặc khoảng 75mg, 3 hoặc 4 lần mỗi ngày.

Theo một phương án, hợp chất liên hợp được sử dụng cho người bệnh theo chế độ liều lượng sau: khoảng 100 hoặc khoảng 125mg, 2 lần mỗi ngày.

Lượng liều được mô tả ở trên có thể được ứng dụng cho thể liên hợp (bao gồm gốc PBD và nhóm liên kết với kháng thể) hoặc cho lượng có tác dụng của hợp chất PBD được cung cấp, ví dụ lượng hợp chất mà có thể giải phóng được sau khi phân cắt nhóm liên kết.

Để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh, liều lượng thích hợp của ADC theo sáng chế sẽ phụ thuộc vào loại bệnh cần điều trị, như được xác định ở trên, mức độ trầm trọng và khoảng

thời gian bị bệnh, cho dù là phân tử này được sử dụng cho mục đích ngăn ngừa hay trị liệu, liệu pháp trị liệu trước đó, tiền sử y tế và đáp ứng của bệnh nhân đối với kháng thể, và sự suy xét thận trọng của bác sĩ điều trị chăm sóc. Phân tử này được sử dụng một cách thích hợp cho bệnh nhân tại một thời điểm hoặc trong cả đợt điều trị. Tùy thuộc vào loại và mức độ trầm trọng của bệnh, khoảng $1\mu\text{g/kg}$ đến 15mg/kg (ví dụ, từ 0,1 đến 20mg/kg) phân tử là liều lượng được đề xuất ban đầu để sử dụng cho bệnh nhân, dù là, ví dụ, bằng một hoặc nhiều lần sử dụng riêng biệt, hay bằng cách truyền liên tục. Liều lượng hằng ngày điển hình có thể nằm trong khoảng từ khoảng $1\mu\text{g/kg}$ đến 100mg/kg hoặc hơn, tùy thuộc vào các yếu tố nêu trên. Liều lượng điển hình của ADC được sử dụng cho bệnh nhân nằm trong khoảng từ 0,1 đến 10mg/kg thể trọng của bệnh nhân. Đối với việc sử dụng lặp lại trong một vài ngày hoặc dài hơn, tùy thuộc vào tình trạng bệnh lý, việc điều trị được duy trì liên tục cho đến khi xuất hiện sự ức chế các triệu chứng bệnh mong muốn. Chế độ dùng liều điển hình bao gồm khoảng thời gian sử dụng liều tải lượng ban đầu là khoảng 4mg/kg , sau đó là các liều bổ sung hằng tuần, hai tuần hoặc ba tuần của ADC. Các chế độ liều lượng khác có thể là hữu dụng. Sự tiến triển của liệu pháp trị liệu này được theo dõi dễ dàng bằng các thử nghiệm và kỹ thuật thông dụng.

Điều trị

Thuật ngữ “điều trị”, như được sử dụng trong bản mô tả này liên quan đến việc điều trị tình trạng bệnh lý, thường chỉ việc điều trị và trị liệu cho người hoặc động vật (ví dụ, trong các ứng dụng thú y), trong đó đạt được tác dụng điều trị bệnh mong muốn nào đó, ví dụ, ức chế sự tiến triển của tình trạng bệnh lý, và bao gồm làm giảm tốc độ tiến triển, tạm thời làm dừng tốc độ tiến triển, đẩy lùi tình trạng bệnh lý, làm thuyên giảm tình trạng bệnh lý và chữa trị tình trạng bệnh lý. Việc điều trị dưới dạng biện pháp phòng bệnh (tức là, phòng ngừa, ngăn ngừa) cũng được bao hàm.

Thuật ngữ “lượng có tác dụng điều trị bệnh” trong bản mô tả này chỉ lượng hoạt chất, hoặc nguyên liệu, chế phẩm hoặc dạng liều lượng chứa hoạt chất, mà có hiệu quả trong việc tạo ra tác dụng điều trị bệnh mong muốn nào đó, tương xứng với tỷ lệ lợi ích/rủi ro hợp lý, khi được sử dụng theo chế độ điều trị mong muốn.

Tương tự, thuật ngữ “lượng có tác dụng phòng bệnh” trong bản mô tả này chỉ lượng hoạt chất, hoặc nguyên liệu, chế phẩm hoặc dạng liều lượng chứa hoạt chất, mà có hiệu quả

trong việc tạo ra tác dụng phòng bệnh mong muốn nào đó, tương xứng với tỷ lệ lợi ích/rủi ro hợp lý, khi được sử dụng theo chế độ điều trị mong muốn.

Điều chế thể liên hợp được chất-kháng thể

Thể liên hợp được chất-kháng thể có thể được điều chế bằng một số cách, sử dụng các phản ứng, điều kiện và chất phản ứng hóa hữu cơ đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm: (1) phản ứng của nhóm ái nhân hoặc nhóm ái điện tử của kháng thể với chất phản ứng liên kết hóa trị hai, để tạo thành sản phẩm trung gian kháng thể-nhóm liên kết Ab-L, thông qua liên kết cộng hóa trị, sau đó là phản ứng với chất phản ứng gốc được chất đã được hoạt hóa; và (2) phản ứng của chất phản ứng gốc được chất với chất phản ứng liên kết, để tạo thành chất phản ứng được chất-nhóm liên kết D-L, thông qua liên kết cộng hóa trị, sau đó là phản ứng với nhóm ái nhân hoặc nhóm ái điện tử của kháng thể. Các phương pháp cộng hợp (1) và (2) có thể được sử dụng cho nhiều kháng thể và nhóm liên kết để điều chế thể liên hợp được chất-kháng thể theo sáng chế.

Các nhóm ái nhân trên kháng thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, (i) nhóm amin đầu tận cùng N, (ii) nhóm amin chuỗi bên, ví dụ lysin, (iii) nhóm thiol chuỗi bên, ví dụ cystein, và (iv) nhóm hydroxyl đường hoặc nhóm amino khi kháng thể được glycosyl hóa. Các nhóm amin, thiol và hydroxyl là ái nhân và có khả năng phản ứng để tạo thành các liên kết cộng hóa trị với các nhóm ái điện tử trên các gốc liên kết và chất phản ứng liên kết bao gồm: (i) este hoạt tính như NHS este, HOBt este, haloformat và halogenua axit; (ii) halogenua alkyl và benzyl như haloaxetamid; (iii) nhóm aldehyt, keton, carboxyl và maleimide. Các kháng thể nhất định có các disulfua liên chuỗi có thể khử được, tức là các cầu nối cystein. Các kháng thể có thể được làm cho có tính phản ứng để liên hợp với chất phản ứng liên kết bằng cách xử lý bằng chất khử như DTT (chất phản ứng Cleland, dithiothreitol) hoặc TCEP (tris(2-carboxyethyl)phosphin hydroclorua; Getz et al (1999) Anal. Biochem. Vol 273:73-80; Soltec Ventures, Beverly, MA). Do đó, theo lý thuyết, mỗi cầu nối cystein disulfua sẽ tạo ra hai nhóm ái nhân thiol có tính phản ứng. Các nhóm ái nhân bổ sung có thể được đưa vào trong các kháng thể thông qua phản ứng của các lysin với 2-iminothiolan (chất phản ứng Traut), gây ra sự chuyển hóa amin thành thiol.

Thể liên hợp được chất-kháng thể cũng có thể được tạo ra bằng cách làm biến đổi kháng thể để đưa các gốc ái điện tử vào, các gốc này có thể phản ứng với các phần tử thể ái nhân trên chất phản ứng liên kết. Các đường của kháng thể đã được glycosyl hóa có thể

được oxy hóa, ví dụ bằng chất phản ứng oxy hóa periodat, để tạo thành các nhóm aldehyt hoặc keton mà có thể phản ứng với nhóm amin của các chất phản ứng liên kết hoặc gốc được chất. Các nhóm bazơ Schiff imin tạo thành có thể tạo thành liên kết ổn định, hoặc có thể được khử, ví dụ bằng chất phản ứng borohydrua để tạo thành các liên kết amin ổn định. Theo một phương án, phản ứng của phần hydrat cacbon của kháng thể đã được glycosyl hóa với galactosa oxidaza hoặc natri meta-periodat có thể tạo ra các nhóm cacbonyl (aldehyt và keton) trong protein mà có thể phản ứng với các nhóm thích hợp trên được chất (Hermanson, G.T. (1996) *Bioconjugate Techniques*; Academic Press: New York, p 234-242). Theo phương án khác, các protein chứa các gốc serin hoặc threonin đầu tận cùng N có thể phản ứng với natri meta-periodat, dẫn đến sự tạo thành aldehyt thay cho axit amin đầu tiên (Geoghegan & Stroh, (1992) *Bioconjugate Chem.* 3:138-146; US 5362852). Aldehyt này có thể được cho phản ứng với nhóm ái nhân của gốc được chất hoặc nhóm liên kết.

Tương tự, các nhóm ái nhân trên gốc được chất bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các nhóm amin, thiol, hydroxyl, hydrazit, oxim, hydrazin, thiosemicarbazon, hydrazin carboxylat và arylhydrazit có khả năng phản ứng để tạo thành các liên kết cộng hóa trị với các nhóm ái điện tử trên các gốc liên kết và chất phản ứng liên kết bao gồm: (i) este hoạt tính như NHS este, HOBt este, haloformat và halogenua axit; (ii) nhóm halogenua alkyl và benzyl như haloaxetamit; (iii) aldehyt, keton, carboxyl và maleimit. Các nhóm ái nhân có tính phản ứng có thể được đưa vào các hợp chất dẫn xuất anthraxyclin bằng các phản ứng chuyển hóa nhóm chức qua lại tiêu chuẩn. Ví dụ, các nhóm hydroxyl có thể được chuyển hóa thành các nhóm thiol bằng các phản ứng kiểu Mitsunobu, để tạo thành được chất được biến đổi thiol.

Đối tượng/bệnh nhân

Đối tượng/bệnh nhân có thể là động vật, động vật có vú, động vật có vú có nhau thai, động vật có túi (ví dụ, kanguru, gấu túi), động vật đơn huyết (ví dụ, thú mỏ vịt), động vật gặm nhấm (ví dụ, chuột lang, chuột đồng, chuột Rattus, chuột nhắt), họ chuột (ví dụ, chuột nhắt), động vật gặm nhấm lớn (lagomorph) (ví dụ, thỏ), gia cầm (ví dụ, chim), họ chó (ví dụ, chó), họ mèo (ví dụ, mèo), họ ngựa (ví dụ, ngựa), họ lợn (ví dụ, lợn), họ cừu (ví dụ, cừu), họ bò (ví dụ, bò), động vật linh trưởng, họ khỉ (ví dụ, khỉ hoặc vượn), khỉ (ví dụ, khỉ sóc, khỉ mõm chó), vượn (ví dụ, vượn gorin, hắc tinh tinh, đười ươi, vượn Gibbon), hoặc người.

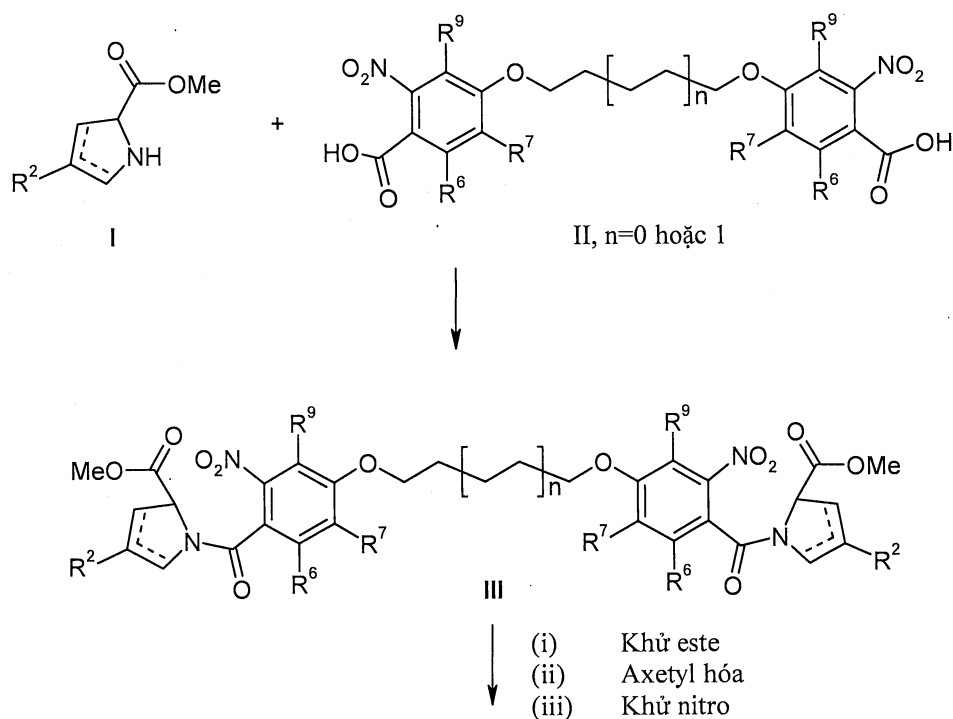
Ngoài ra, đối tượng/bệnh nhân có thể ở dạng phát triển bất kỳ của nó, ví dụ, bào thai. Theo một phương án được ưu tiên, đối tượng/bệnh nhân là người.

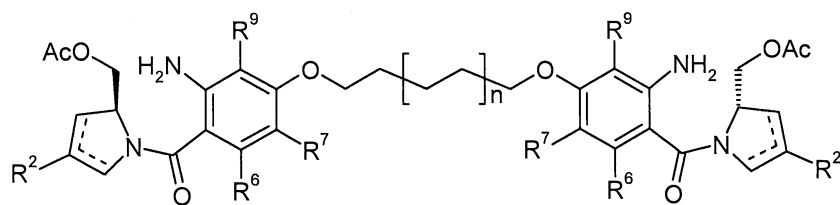
Theo một phương án, bệnh nhân là nhóm trong đó mỗi bệnh nhân có khối u có integrin $\alpha_v\beta_6$ trên bề mặt của tế bào.

Tổng hợp

Theo một phương án, thể liên hợp dime có công thức VIII có thể được điều chế từ các hợp chất I và II như được thể hiện trong sơ đồ 1.

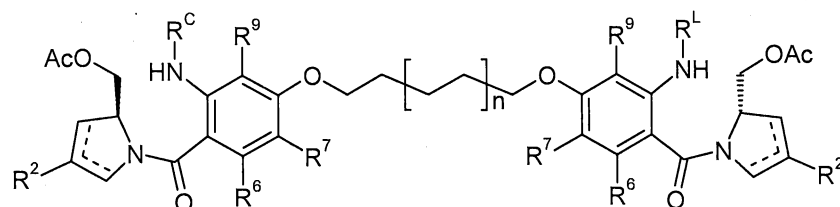
Sơ đồ 1.





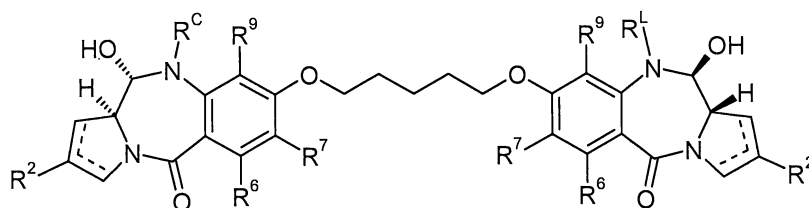
IV

- (i) Chụp mũ
(ii) Bổ sung nhóm liên kết qua trung gian isoxyanat



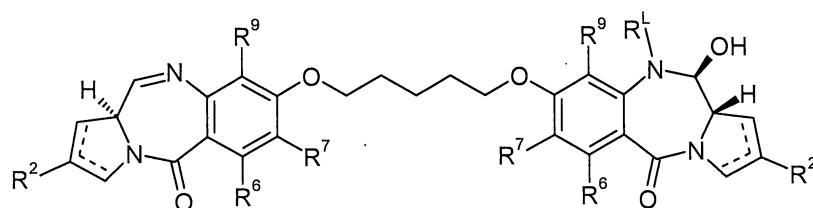
VI

- (i) Khử bảo vệ axetat
(ii) Tạo vòng

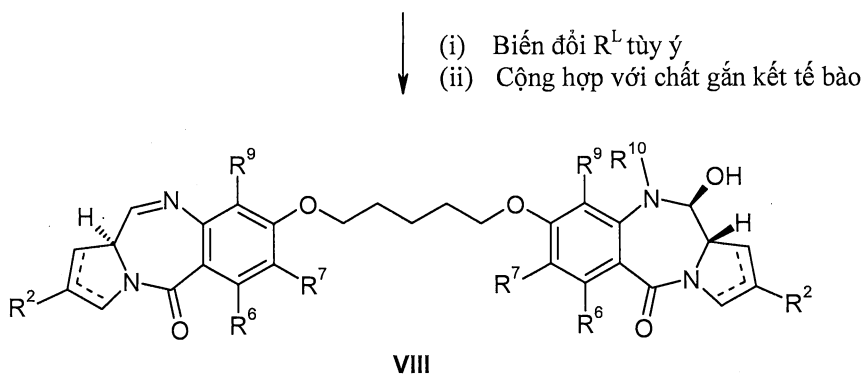


VII

- (i) Loại bỏ nhóm chụp mũ



V



Thông thường, các dime không đối xứng có thể được điều chế bằng cách xử lý các hợp chất bis-amino có công thức IV bằng một đương lượng của chất phản ứng clorofomat có sẵn trên thị trường (hoặc được điều chế một cách dễ dàng) để phá vỡ tính đối xứng của các phân tử này. Amin tự do còn lại sau đó có thể được tạo chức một cách độc lập để đưa nhóm tạo dẫn xuất (progroup) (R^L) cần thiết không bền về mặt điều trị bệnh vào. Quá trình thao tác thêm trên nhóm chức để đóng vòng PBD B, loại bỏ nhóm bảo vệ và nhóm chụp mũ và đưa nhóm chức liên kết kháng thể, ví dụ G^1 , vào tạo ra phân tử đích.

Các hợp chất có công thức IV thường được điều chế bằng cách cộng hợp mảnh vòng C được tạo chức một cách thích hợp (I) với vòng A chứa lõi dime có công thức II. Các mảnh vòng C có thể được điều chế từ các khối xây dựng metyl 4-oxoprolinat được bảo vệ bằng carbamat đã biết. Bước olefin hóa trong các điều kiện Wittig hoặc Horner-Emmons có thể được sử dụng để tạo ra các alken không no dạng *endo* hoặc *exo*. Theo cách khác, phản ứng triflat hóa và cộng hợp Suzuki nối tiếp có thể được sử dụng để thu được các mảnh vòng C không no tại vị trí 3,4 hoặc 4,5 được thế 4-aryl. Các mảnh vòng C và vòng A có thể được cộng hợp trong các điều kiện chuẩn với sự có mặt của triethylamin, bằng cách sử dụng các dẫn xuất clorua axit của các mảnh vòng A để tạo ra các phân tử có công thức III. Các hợp chất thuộc loại III có thể được khử, mà không ảnh hưởng đến sự không no của vòng C dạng *endo* hoặc *exo*, bằng kẽm trong axit axetic để tạo ra các phân tử có công thức IV.

Các carbamat không đối xứng thuộc loại VI có thể được điều chế bằng cách xử lý các bis-amin thuộc loại IV bằng một đương lượng clorofomat có sẵn trên thị trường (hoặc được điều chế một cách dễ dàng) với sự có mặt của pyridin hoặc triethylamin. Các clorofomat có thể được lựa chọn sao cho tạo ra các đơn vị chụp mũ carbamat (R^C) trực giao hoặc giống hệt với các đơn vị chụp mũ được sử dụng trong nhóm tạo dẫn xuất (R^L). Các carbamat giống hệt cho phép loại bỏ đồng thời cả hai nhóm bảo vệ, giúp tiết kiệm các công đoạn tổng hợp.

Tuy nhiên, việc loại bỏ các carbamat chụp mũ (R^C) đòi hỏi việc bổ sung nhóm chức liên kết kháng thể phải xảy ra với sự có mặt của gốc N10-C11 imin hoặc carbinolamin nhạy cảm. Nếu cần, có thể tránh tình huống này bằng cách sử dụng các nhóm bảo vệ carbamat trực giao mà cho phép bổ sung các gốc liên kết kháng thể trong khi vẫn giữ gốc N10-C11 carbinolamin được bảo vệ. Trong chiến lược này, gốc N10-C11 cần phải được làm lộ ra với sự có mặt của gốc liên kết kháng thể và các chất phản ứng được sử dụng cần phải tương hợp với gốc này. Ví dụ, nếu N10-C11 imin được làm lộ ra với sự có mặt của nhóm maleimit, thì Troc và Teoc sẽ là các nhóm R^C thích hợp vì tác nhân loại nhóm bảo vệ, chất cộng hợp Cd/Pb và TBAF, không được gây ảnh hưởng đến nhóm maleimit. Mặt khác, nhóm Alloc cần phải được tránh vì chất tẩy tạp π -allyl như pyrrolidin có thể bổ sung theo kiểu 1,4 vào nhóm maleimit. Carbamat R^L có thể được đưa vào bằng cách chuyển hóa nhóm amino còn lại thành isoxyanat và làm dừng nó bằng rượu R^L . Theo cách khác, rượu R^L có thể được chuyển hóa thành clorofomat hoặc dạng tương đương chức năng (florofomat, *p*-nitrocacbonat, pentaflorocacbonat hoặc hydroxybenzotriazol cacbonat). Cuối cùng, nhóm amino còn lại có thể được chuyển hóa thành *p*-nitrocarbamat, pentaflorcarbamat hoặc hydroxybenzotriazol carbamat có tính phản ứng mà có thể được thay thế bằng rượu R^L để tạo ra các phân tử có công thức VI.

Các phân tử có công thức VII có thể được điều chế từ các phân tử có công thức VI bằng cách loại bỏ nhóm bảo vệ axetat, với kali cacbonat trong dung dịch nước metanol, hoặc với sự có mặt của nhóm Fmoc trong R^L với lithi trietylborohydrua. Bước oxy hóa bằng periodinan Dess-Martin (hoặc theo cách khác là TPAP/NMO, PDC hoặc trong các điều kiện Swern) tạo ra sản phẩm đóng vòng.

Các thể liên hợp có công thức V có thể được điều chế từ các phân tử có công thức VII bằng cách loại bỏ nhóm chụp mũ R^C , thao tác nhóm R^L để bao gồm gốc liên kết kháng thể (ví dụ nhóm maleimidocaproyl) mà có thể được liên hợp với chất gắn kết tế bào, như kháng thể, trong các điều kiện chuẩn (xem ấn phẩm Dubowchik et al. Bioconjugate Chemistry, 2002, 13,855-869). Bước thao tác nhóm R^L có thể bao gồm bước mở rộng nhóm này để bao gồm thành phần nhóm đệm, như nhóm G^1 , mà sau đó có thể được sử dụng để nối với chất gắn kết tế bào (nhờ đó tạo thành nhóm A).

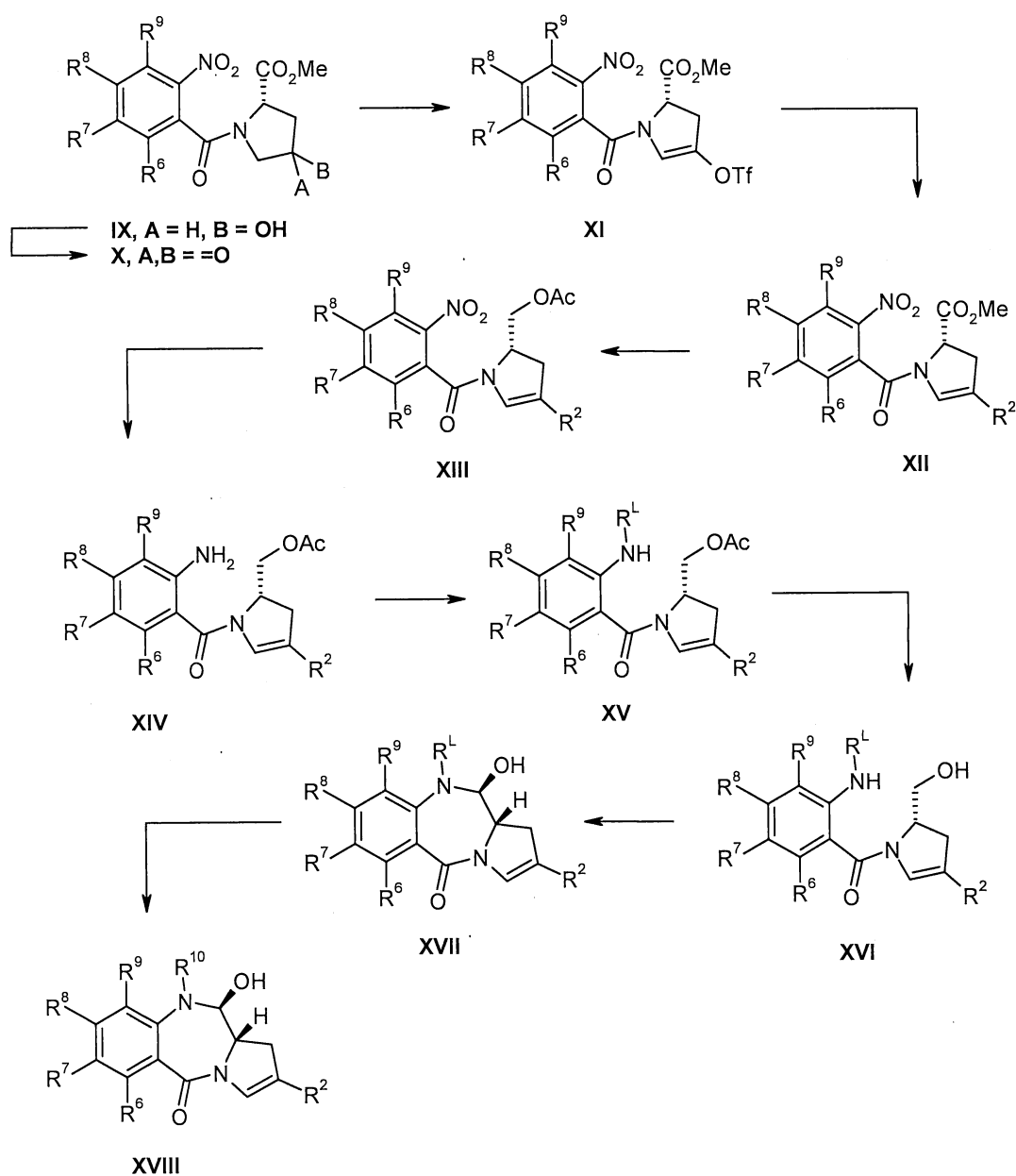
Các hợp chất monome và các dime đối xứng có thể được điều chế theo cách tương tự với dime không đối xứng như được mô tả ở trên.

Theo phương án khác, thể liên hợp có công thức XVIII có thể được điều chế từ hợp chất IX như được thể hiện trong sơ đồ 2.

Hợp chất II

Quy trình tổng hợp các hợp chất có công thức (II) được mô tả trong đơn WO 2006/111759 đã nộp trước của chủ đơn, và cũng được mô tả bởi Gregson và cộng sự (J. Med. Chem. 2001, 44, 1161-1174). Quy trình điều chế hợp chất (II) như được mô tả trong các tài liệu đó được kết hợp một cách cụ thể vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn. Hợp chất (IIa) có nhóm liên kết ba cacbon. Hợp chất (IIb) có nhóm liên kết năm cacbon.

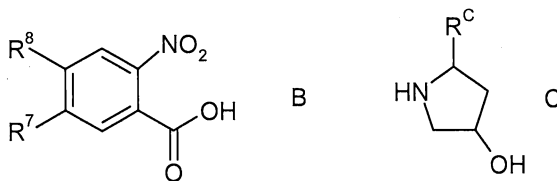
Sơ đồ 2.



Trong sơ đồ này, nhóm R^2 là nhóm C_{5-20} aryl. Các hợp chất có công thức IX được mô tả trong WO 2004/043963.

Các hợp chất có công thức X có thể được tổng hợp từ các hợp chất có công thức IX bằng cách oxy hóa, ví dụ bằng cách sử dụng: TCCA và TEMPO; BAIB và TEMPO; TPAP; các điều kiện Dess-Martin; hoặc các điều kiện Swern.

Các hợp chất có công thức IX có thể được tổng hợp bằng cách cộng hợp các hợp chất thích hợp có công thức B và C, hoặc các dẫn xuất được hoạt hóa của chúng:



Các hợp chất có công thức B và C thường là có sẵn trên thị trường hoặc có thể tổng hợp được một cách dễ dàng. Nếu hợp chất B là dime, thì hợp chất này có thể được tổng hợp như được mô tả trong WO 00/12508.

Các hợp chất có công thức XI có thể được điều chế từ hợp chất có công thức X trong phương pháp bao gồm bước xử lý X bằng anhydrit thích hợp và 2,6-lutidin khan hoặc 2,6-*t*Bu-pyridin khan ở nhiệt độ -35°C hoặc thấp hơn trong dung môi hữu cơ khô trong môi trường khí trơ. XI về cơ bản không chứa hợp chất có liên kết đôi C1-C2.

Lưu ý rằng, việc điều chế các hợp chất có liên kết đôi C1-C2 được mô tả trong ấn phẩm Kang et al., Chem. Commun., 2003, 1680-1689.

Các hợp chất có công thức XI có thể được chuyển hóa thành các hợp chất có công thức XII. Sự chuyển hóa (phản ứng cộng hợp Suzuki) được thực hiện bằng phản ứng cộng hợp chéo XI với dẫn xuất aryl bo thích hợp với sự có mặt của chất xúc tác paladi. Chất xúc tác paladi có thể là chất xúc tác thích hợp bất kỳ, ví dụ $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, $\text{Pd}(\text{OCOCH}_3)_2$, PdCl_2 , $\text{Pd}(\text{dba})_3$.

Các hợp chất có công thức XII có thể được chuyển hóa thành các hợp chất có công thức XIV thông qua hợp chất XIII. Sự chuyển hóa đạt được bằng việc khử este trước tiên và tái bảo vệ dưới dạng axetat (hoặc silyl ete theo phương pháp thích hợp). Sự khử có thể đạt được theo các phương pháp chuẩn, ví dụ bằng LiAlH_4 hoặc NaBH_4 . Sự tái bảo vệ dưới dạng axetat có thể đạt được, ví dụ, bằng phản ứng với axetyl clorua (sự tái bảo vệ dưới dạng silyl

ete có thể đạt được, ví dụ, bằng phản ứng với silyl clorua thích hợp). Sự khử nhóm nitro sau đó được thực hiện bằng cách sử dụng, ví dụ, kẽm trong axit axetic.

Các hợp chất có công thức XIV có thể được chuyển hóa thành các hợp chất có công thức XV. Sự chuyển hóa này thường đạt được bằng phản ứng của XIV với triphosgen để thu được isoxyanat, sau đó là phản ứng với R^L-OH . Phương pháp này được mô tả trong WO 2005/023814. Theo cách khác, các nhóm bảo vệ nitơ đơn giản cũng có thể được đưa vào dưới dạng clorofomat, florofomat hoặc azidofomat. Các nhóm bảo vệ nitơ phức tạp hơn, cũng như các nhóm bảo vệ nitơ đơn giản, có thể được đưa vào dưới dạng O-suxinamit cacbonat, O-pentafluorophenyl cacbonat và O-nitrophenyl cacbonat.

Sự chuyển hóa XV thành XVII có thể đạt được bằng cách ban đầu loại bỏ nhóm bảo vệ axetat, với kali cacbonat trong dung dịch nước metanol, hoặc với lithi triethylborohydrua. Bước oxy hóa bằng periodinan Dess-Martin (hoặc theo cách khác là TPAP/NMO, TFAA/DMSO, SO_3 .phức Pyridin/DMSO, PDC, PCC, BAIB/TEMPO hoặc trong các điều kiện Swern) tạo ra sản phẩm đóng vòng. Nếu sử dụng silyl ete thay cho axetat, thì sự chuyển hóa XV thành XVII có thể đạt được bằng cách ban đầu loại bỏ nhóm bảo vệ silyl ete, ví dụ bằng cách sử dụng TBAF trong THF, axit axetic trong dung dịch nước THF, CsF trong DMF hoặc HF trong pyridin, sau đó oxy hóa như được mô tả ở trên.

Sau đó, hợp chất XVIII được gắn với chất gắn kết tế bào. Trình tự bước hoặc các bước từ XVII đến XVIII phụ thuộc vào bản chất của R^L . Nhóm này có thể được biến đổi, và sau đó được gắn với chất gắn kết tế bào để tạo thành thể liên hợp theo sáng chế. Ví dụ, nhóm chụp mũ bảo vệ có thể được loại bỏ để tạo ra nhóm chức thích hợp để phản ứng với chất gắn kết tế bào. Trong các bước khác, nhóm chức giống như vậy có thể được sử dụng để nối với thành phần nhóm đệm khác, như nhóm G^1 , và sau đó, thành phần nhóm đệm đó có thể được nối với chất gắn kết tế bào (nhờ đó tạo thành nhóm A).

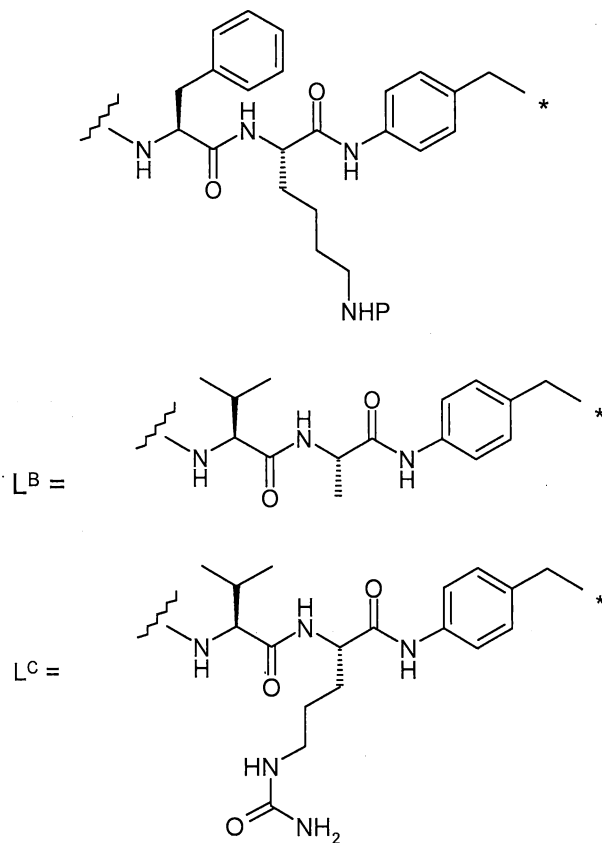
Theo một số phương án, sáng chế đề xuất các hợp chất có công thức A-I, bao gồm các hợp chất có công thức A-A và A-B. Các hợp chất thuộc loại này có thể được điều chế bằng cách sử dụng các phương pháp tương tự với các phương pháp được mô tả trong WO 2010/091150. Các hợp chất trung gian được mô tả trong WO 2010/091150 cũng có thể được sử dụng trong các phương pháp được mô tả ở trên.

Ví dụ, hợp chất dime (15) được thể hiện trong đoạn [164] có thể được sử dụng làm hợp chất (III) trong sơ đồ I ở trên. Các hợp chất monome thuộc loại này được thể hiện là các

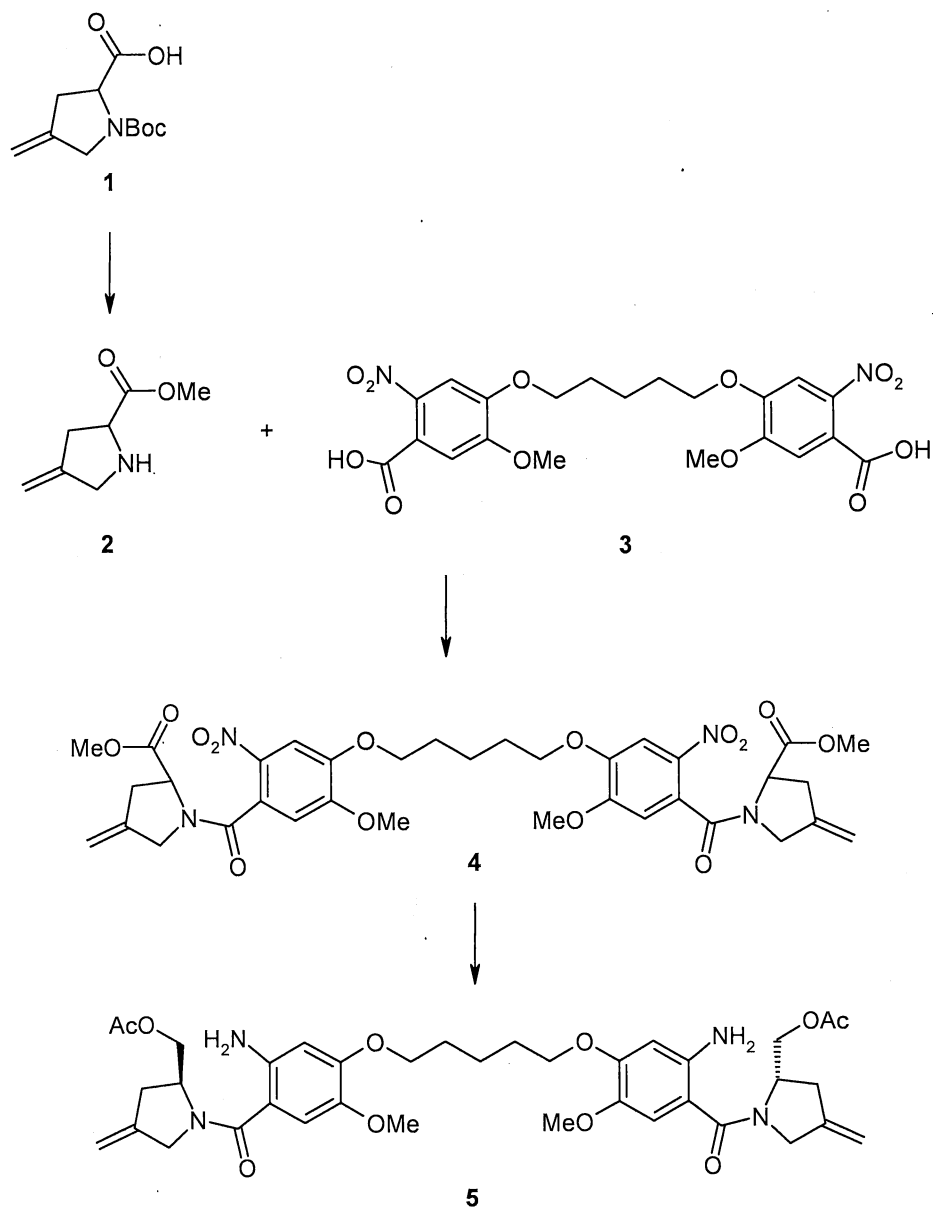
hợp chất (3), (6) và (9). Hợp chất này, và các hợp chất thay thế khác, được biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

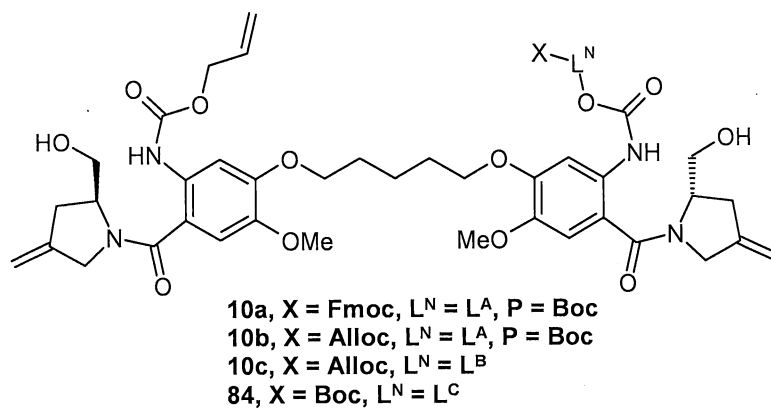
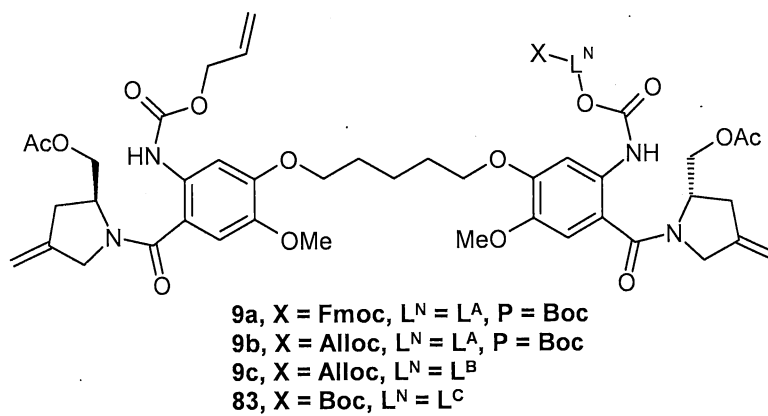
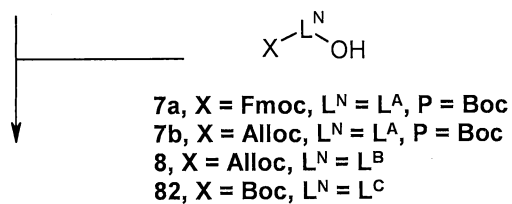
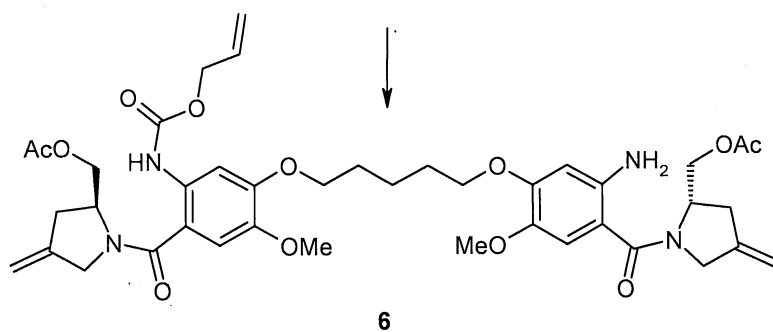
Các quy trình tổng hợp ưu tiên

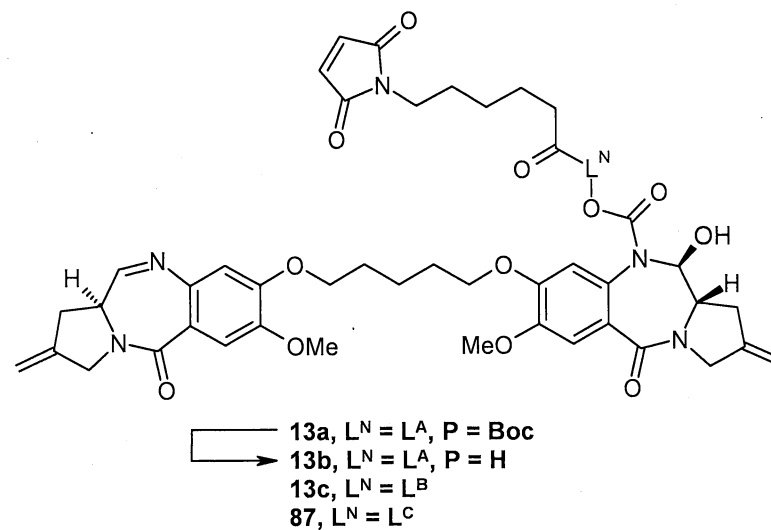
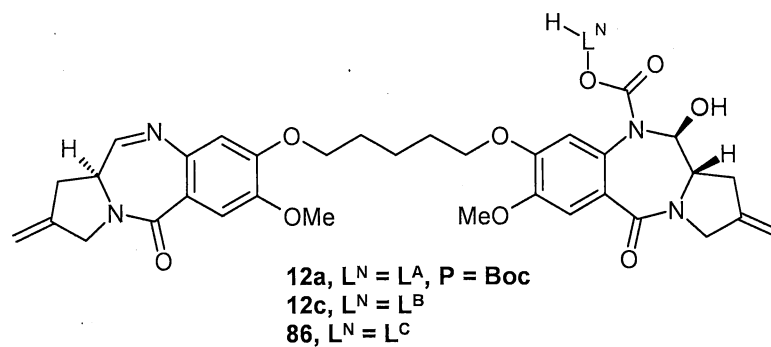
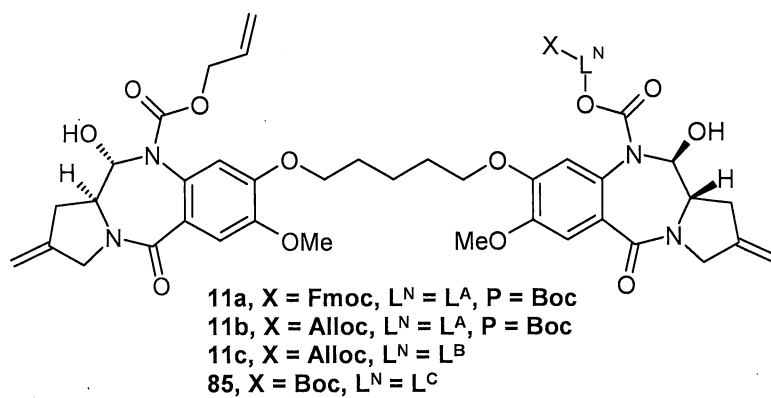
Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất 14, và được điều chế như được thể hiện trong sơ đồ 3. Các dipeptit 7a,b và 8 được điều chế như được mô tả trong phần ví dụ thực hiện sáng chế nêu dưới đây. Trong sơ đồ này, các phần nhóm liên kết L^1 và L^2 có cấu trúc nêu dưới đây:



Sơ đồ 3.







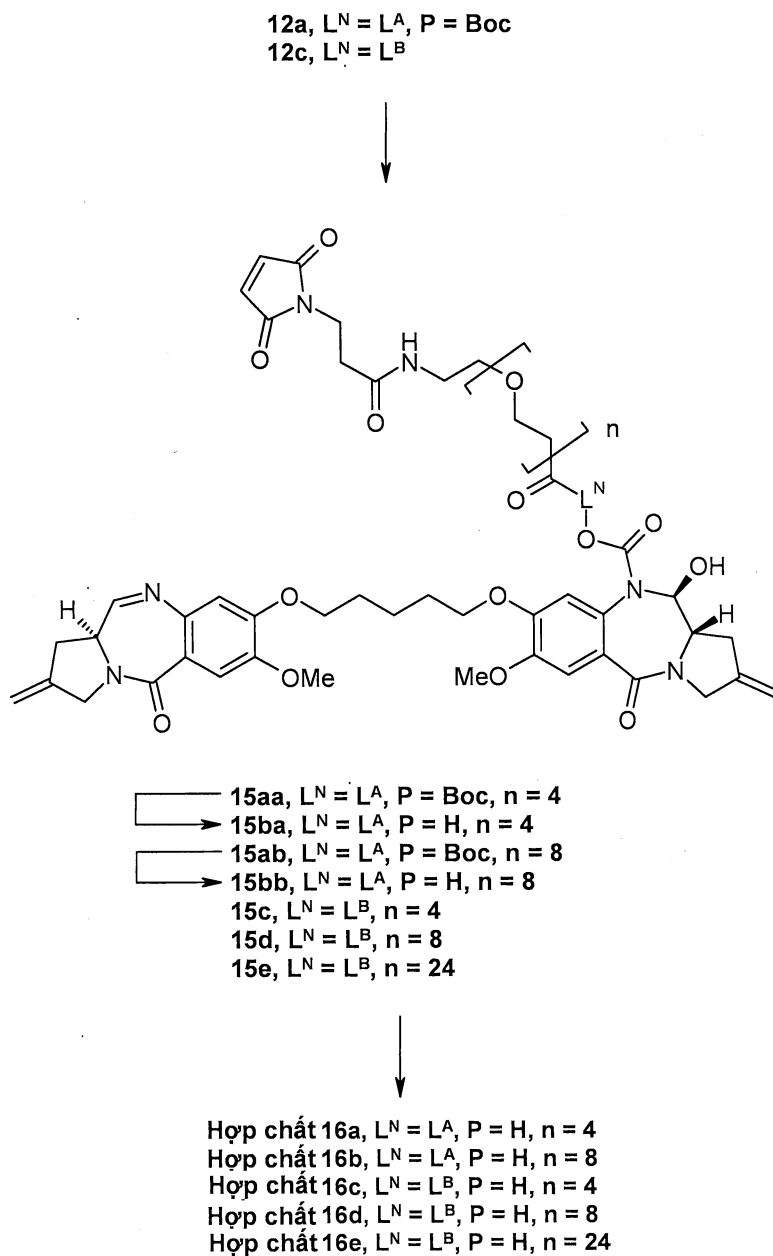
chất gắn kết tế bào

Hợp chất 14a, $L^N = L^A$, P = H
 Hợp chất 14c, $L^N = L^B$
 Hợp chất 88, $L^N = L^C$

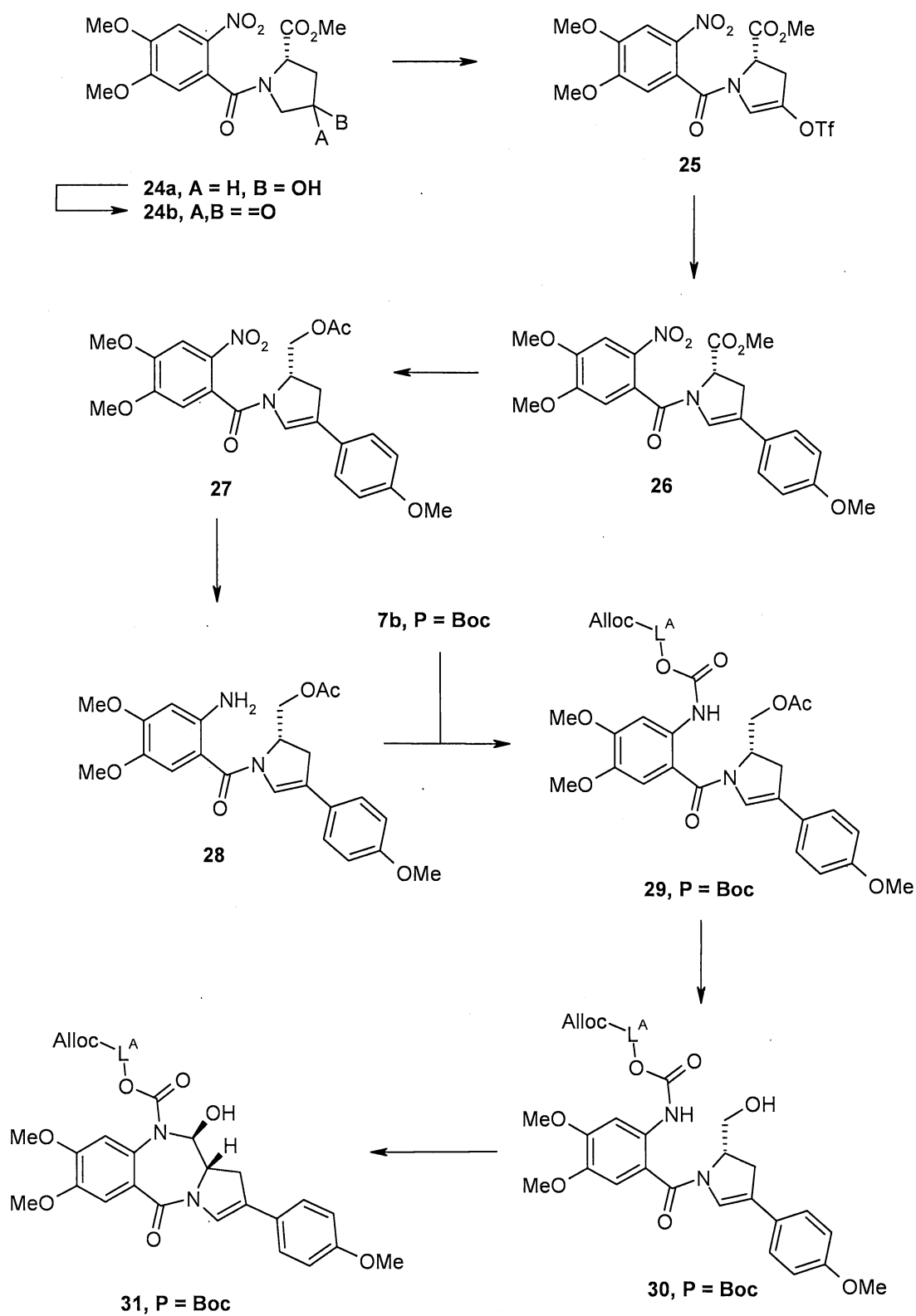
Hợp chất 13c, trong đó dipeptit tương ứng với L^2 , có thể được điều chế từ 12c bằng phương pháp tương tự.

Theo một phương án, thể liên hợp là hợp chất 16a hoặc 16b, và hợp chất này được điều chế như được thể hiện trong sơ đồ 4 nêu dưới đây, trong đó hợp chất 12a có thể được điều chế như được mô tả ở trên:

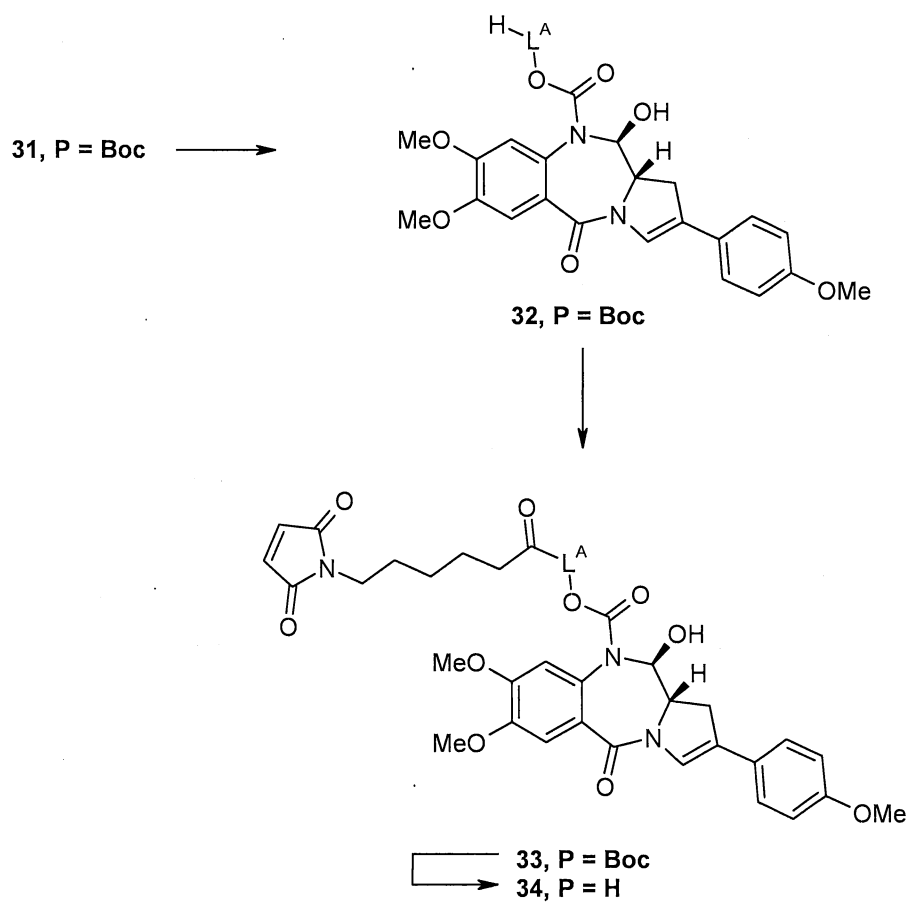
Sơ đồ 4.



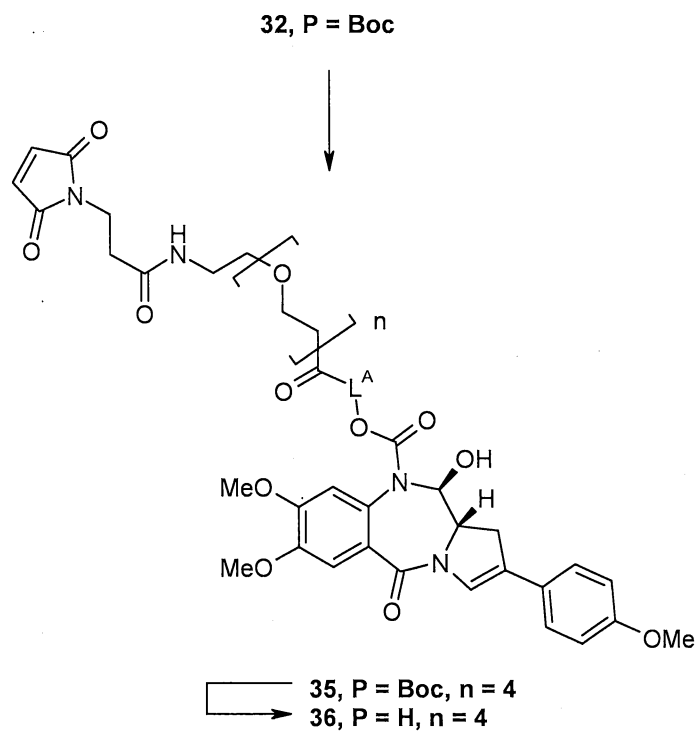
Sơ đồ 5.



Sơ đồ 6.

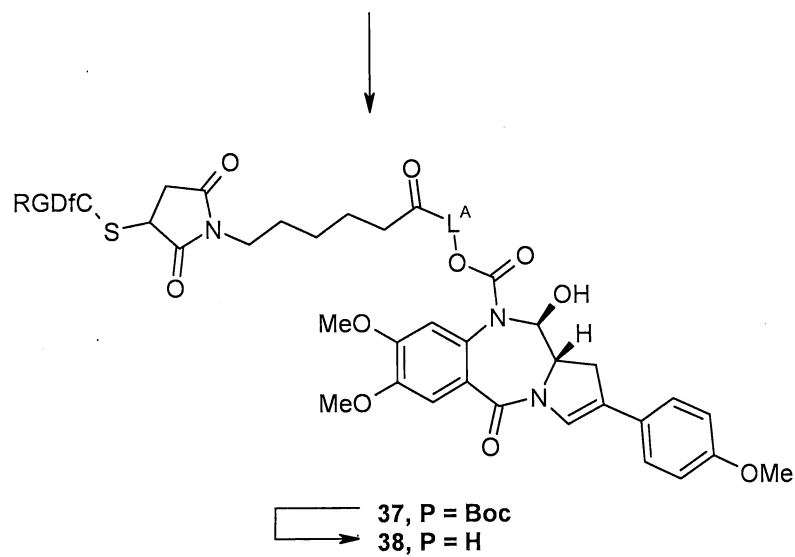


Sơ đồ 7.

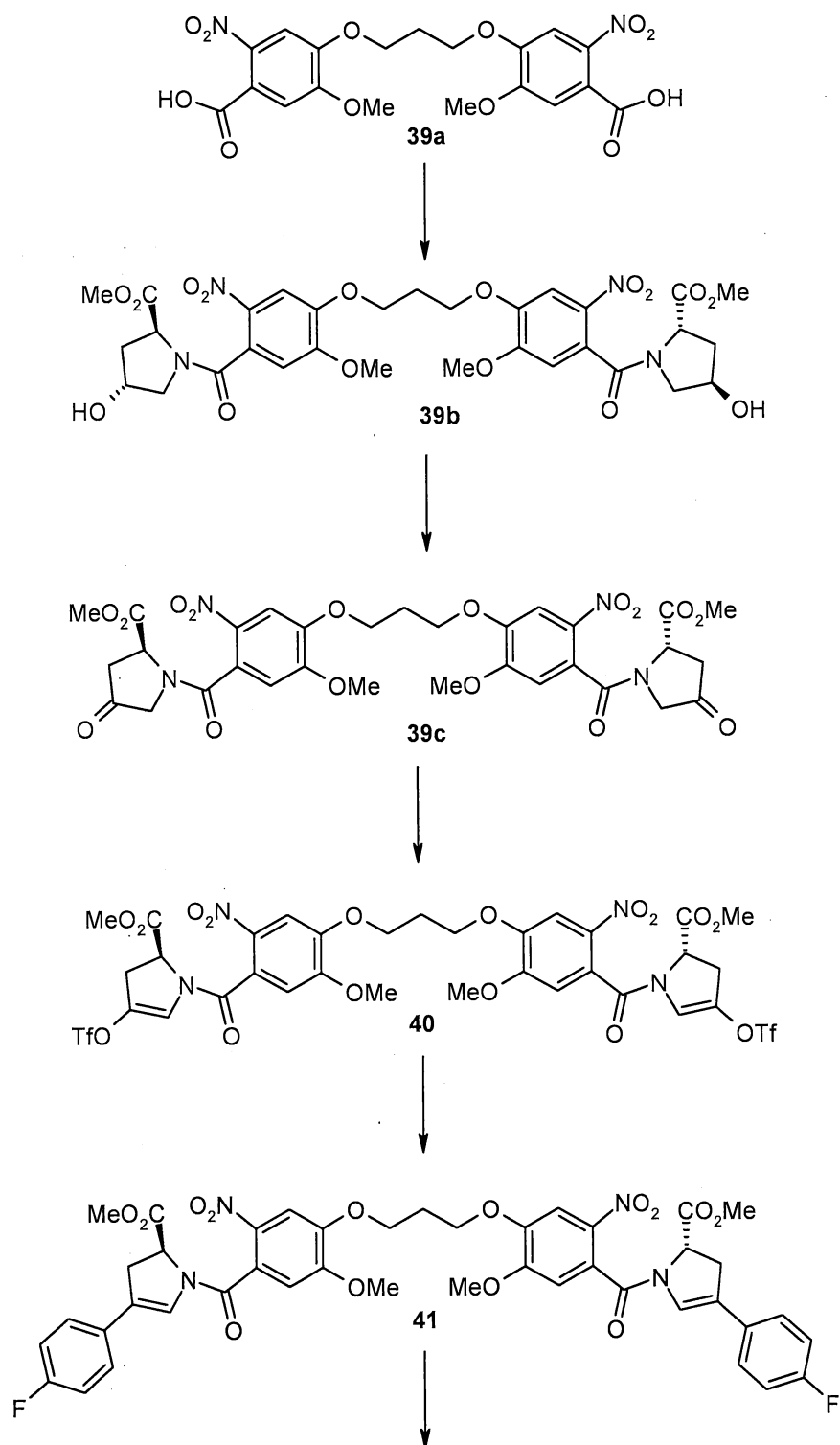


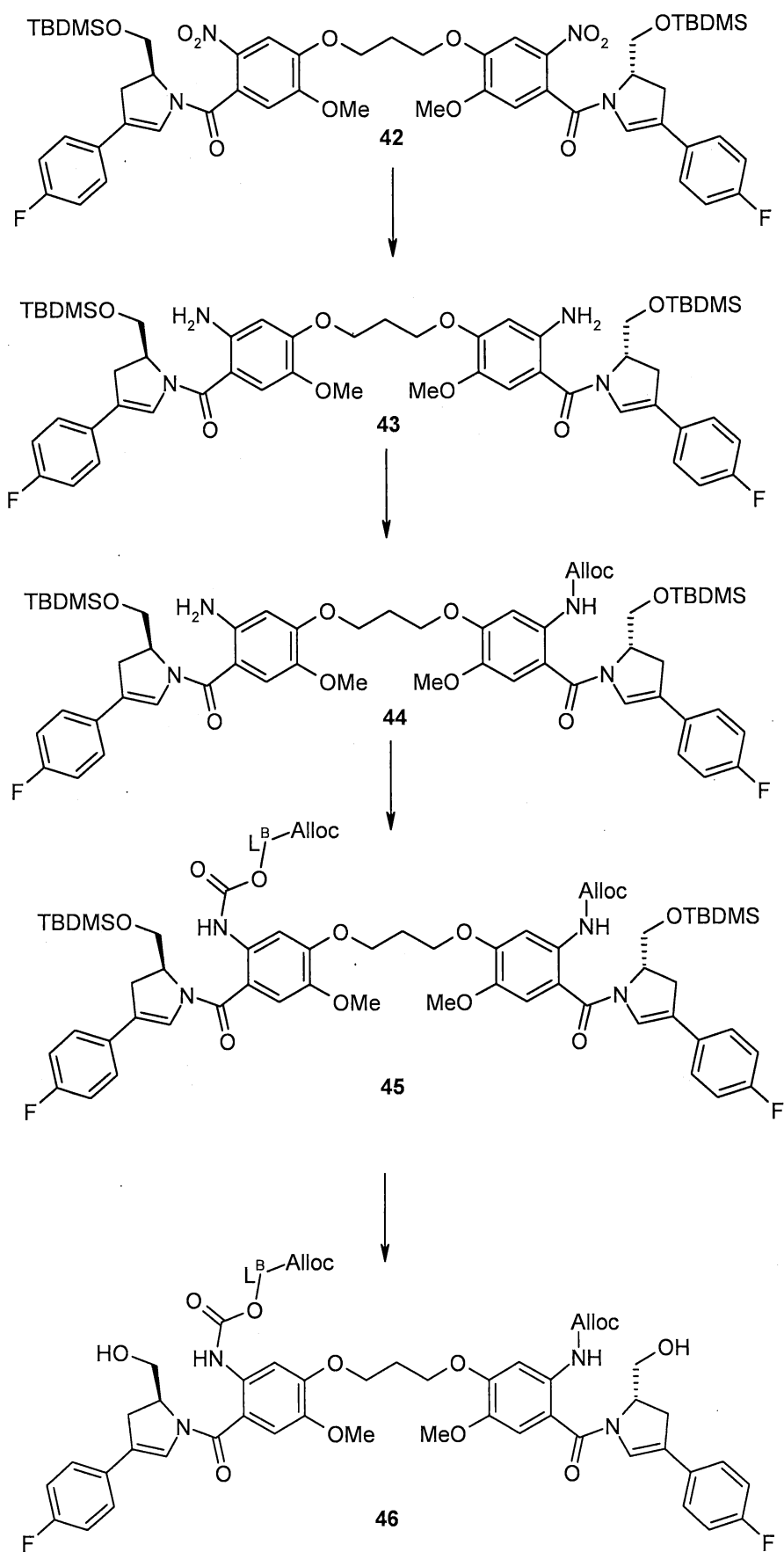
Sơ đồ 8.

33, P = Boc

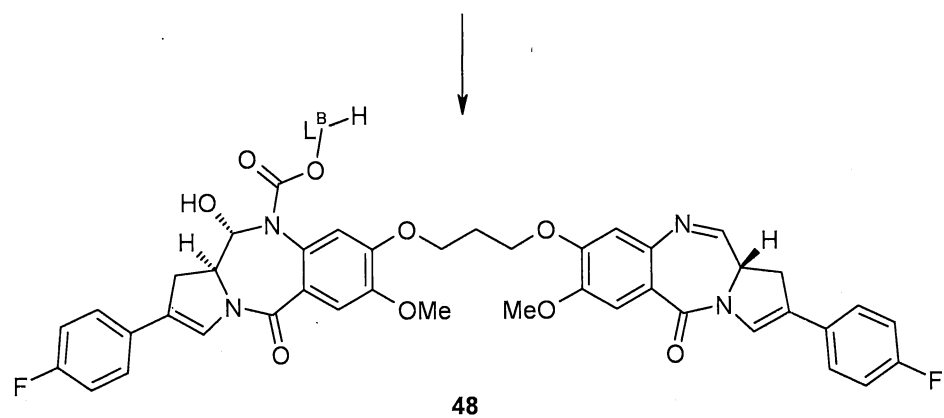
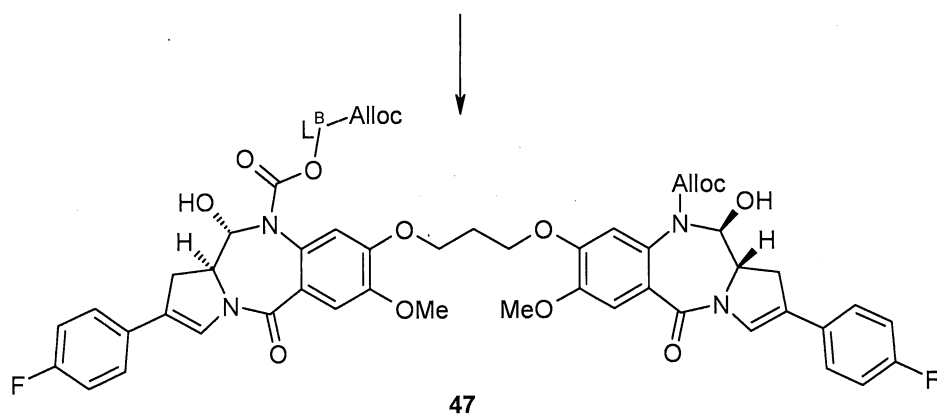


Sơ đồ 9.

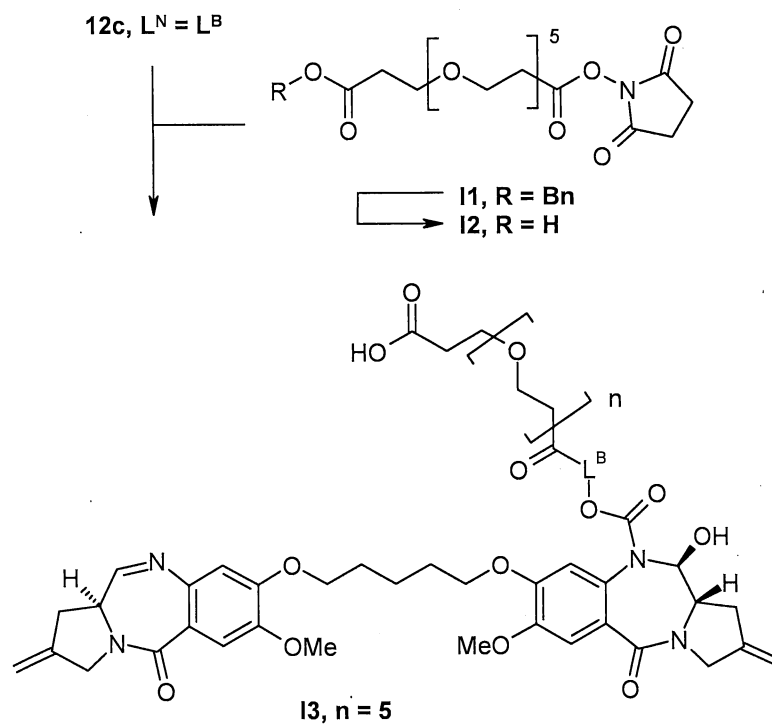




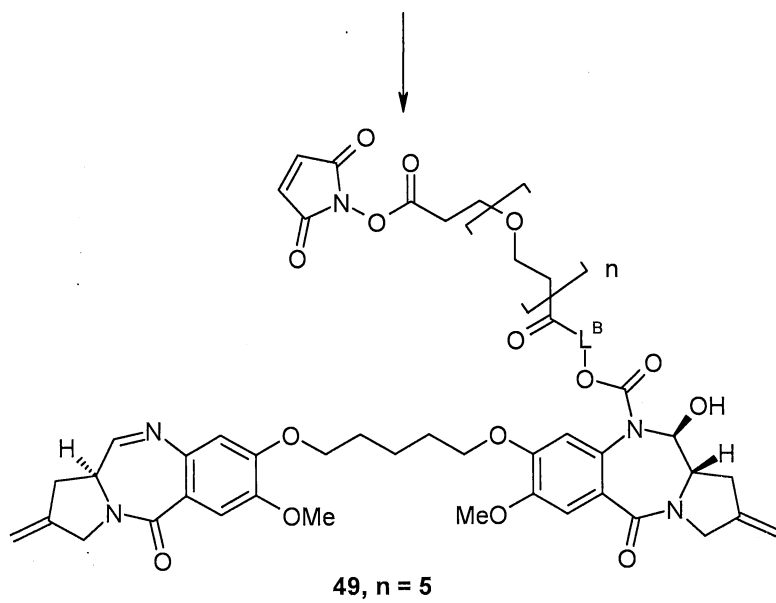
19798



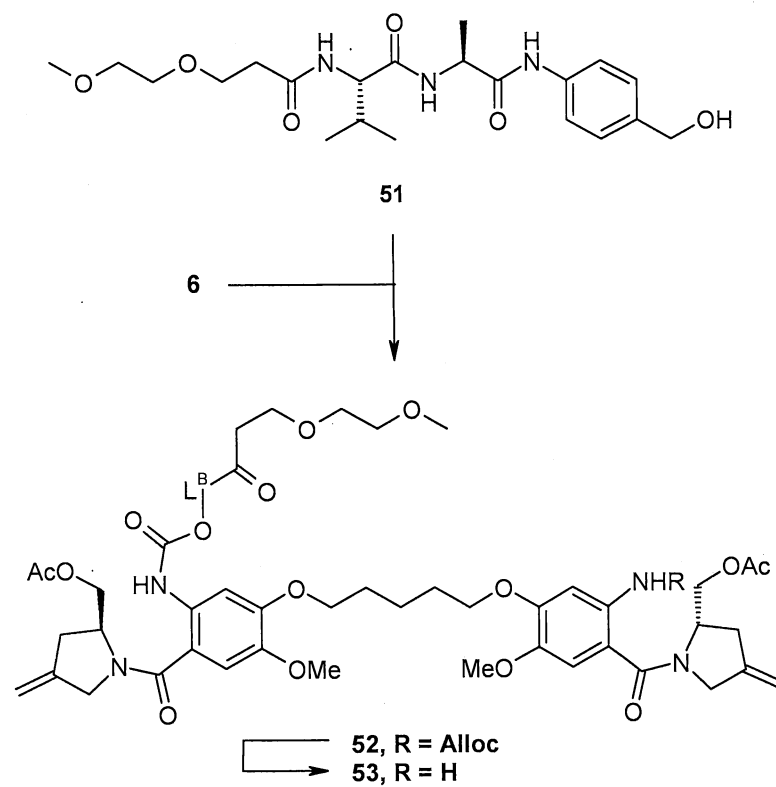
Sơ đồ 10.



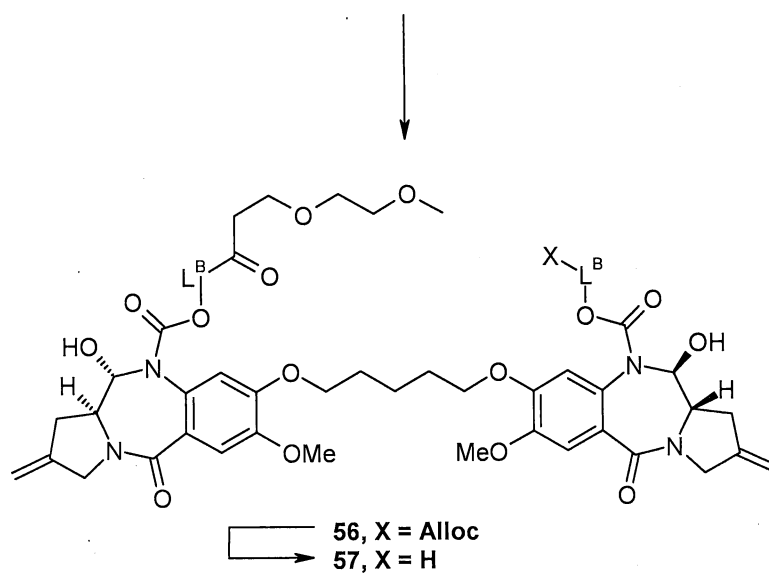
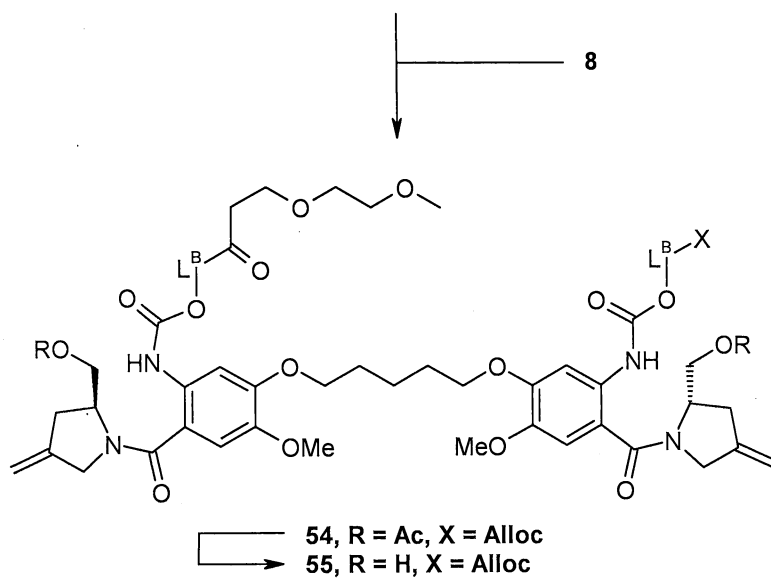
19798

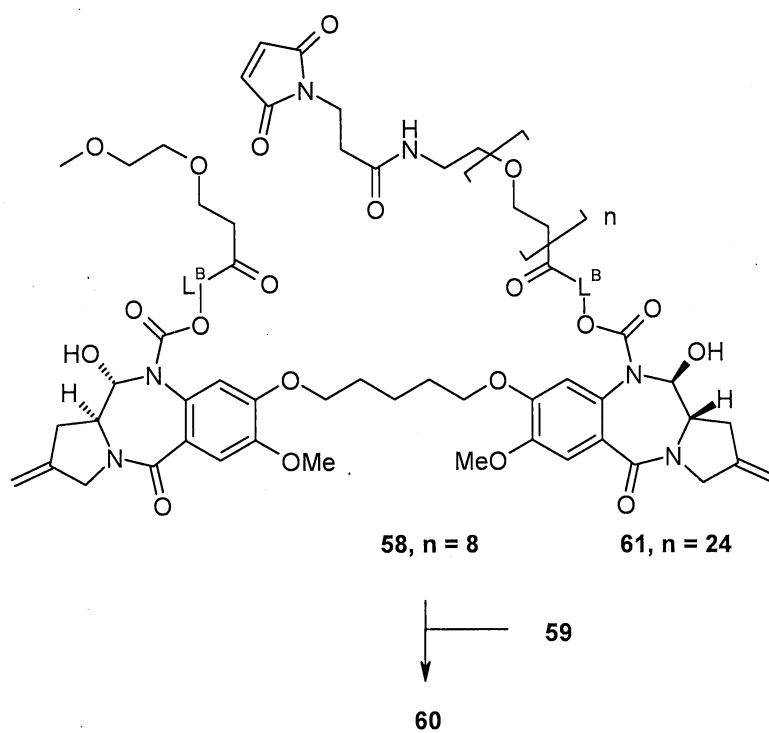


Sơ đồ 11.

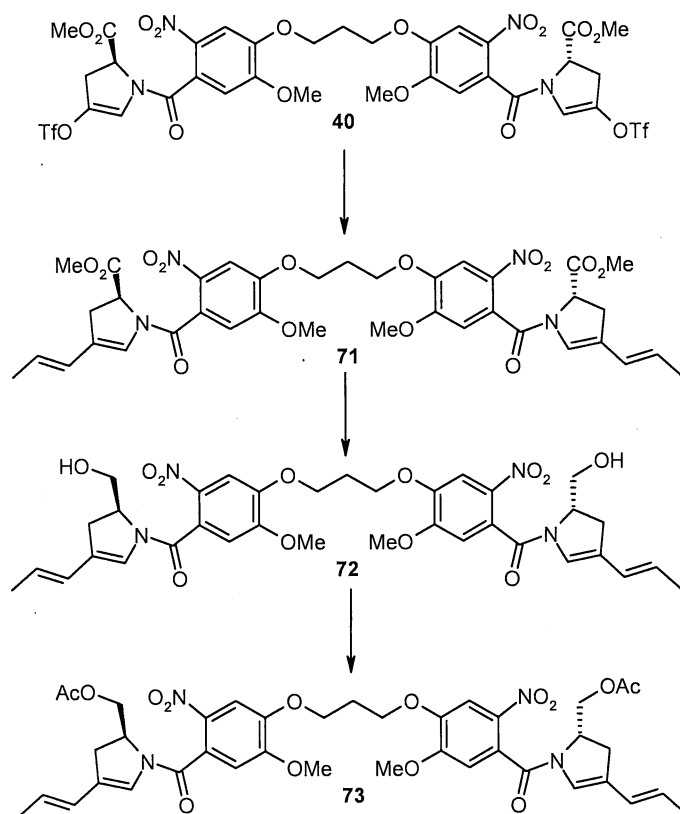


19798

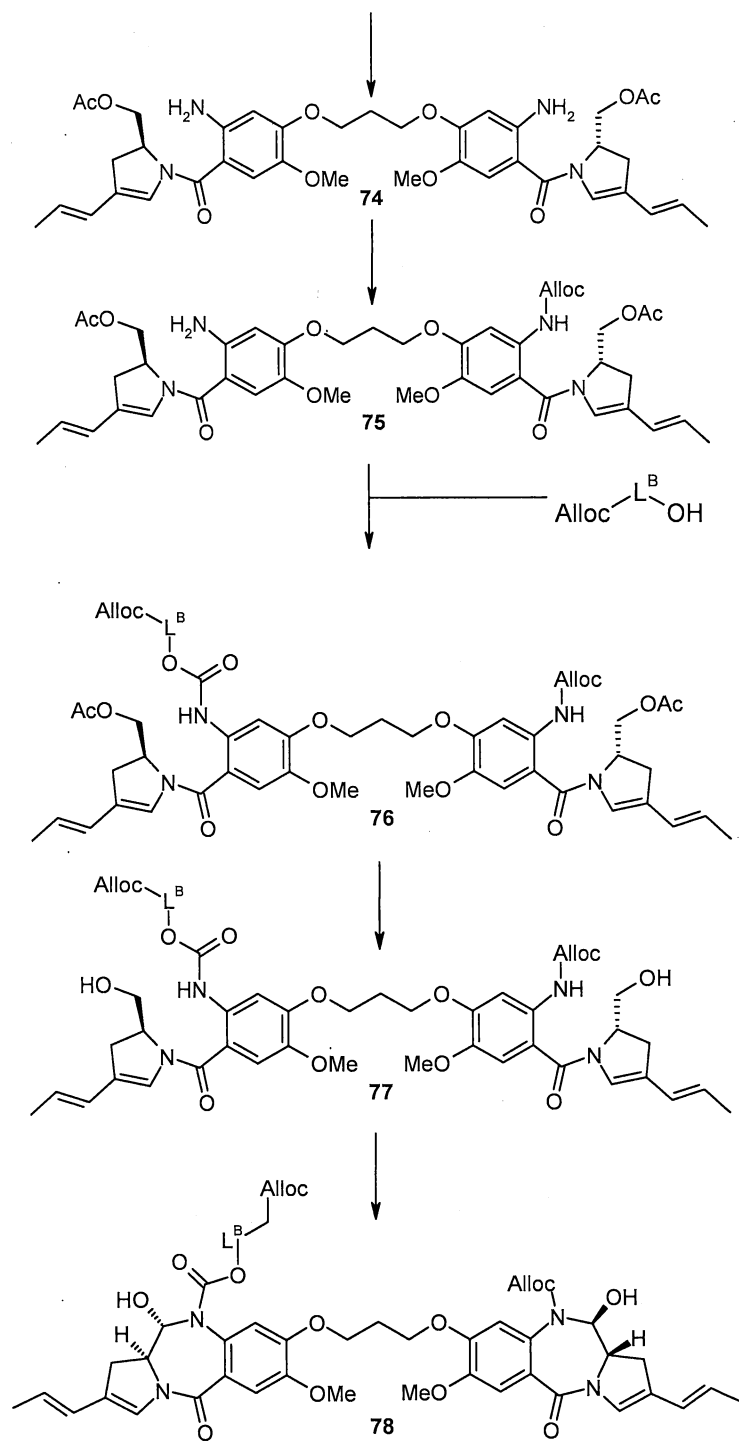


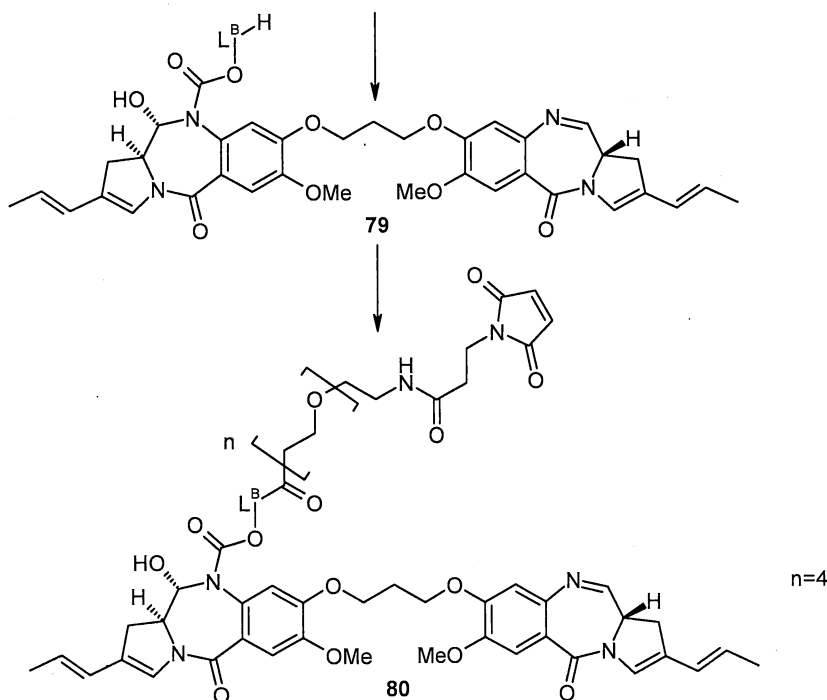


Sơ đồ 15



19798





Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả tiếp bằng cách tham chiếu đến các ví dụ không nhằm làm giới hạn sáng chế nêu dưới đây. Các phương án khác của sáng chế sẽ là hiển nhiên đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này trên cơ sở các ví dụ này.

Nội dung bộc lộ trong tất cả các tài liệu tham khảo được trích dẫn trong bản mô tả này, đến mức độ mà nó có thể được sử dụng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này để thực hiện sáng chế, được kết hợp vào bản mô tả này một cách cụ thể bằng cách viện dẫn chéo.

Thông tin chung

Tiến trình của phản ứng được theo dõi bằng kỹ thuật sắc ký lớp mỏng (TLC) bằng cách sử dụng silicagel Merck Kieselgel 60 F254, với chất chỉ thị huỳnh quang trên các đĩa nhôm. Sự hiển thị TLC đạt được bằng ánh sáng UV hoặc hơi iot, trừ khi có quy định khác. Kỹ thuật sắc ký cột nhanh được thực hiện bằng cách sử dụng silicagel Merck Kieselgel 60 F254. Các dung môi chiết và sắc ký được mua và được sử dụng mà không cần tinh chế thêm từ Fisher Scientific, U.K. Tất cả các hóa chất đều được mua từ Aldrich, Lancaster hoặc BDH.

Các điều kiện LC/MS là như sau: HPLC (Waters Alliance 2695) được chạy bằng cách sử dụng pha động là nước (A) (axit formic 0,1%) và axetonitril (B) (axit formic 0,1%).

Gradient: hợp phần ban đầu 5% B trong 1,0 phút, sau đó là 5% B đến 95% B trong vòng 3 phút. Hợp phần này được duy trì trong 0,5 phút ở 95% B, và sau đó quay trở lại 5% B trong 0,3 phút. Tổng thời gian chạy gradient bằng 5 phút. Lưu lượng là 3,0mL/phút, 400µL được chia thành từng phần thông qua chi tiết hình T có thể tích chết bằng 0 và đi vào thiết bị khối phổ. Khoảng giá trị phát hiện bước sóng: từ 220 đến 400nm. Kiểu chức năng: mảng diot (535 lần quét). Cột: Phenomenex® Onyx Monolithic C18 50 x 4,60mm.

Phương pháp HPLC bán điều chế nêu dưới đây được sử dụng: Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) pha đảo được tiến hành trên các cột Zorbax Eclipse XDB C-18 có kích thước như sau: 150 x 4,6mm cho công việc phân tích, và 250 x 9,4mm cho công việc điều chế. Tất cả các thí nghiệm HPLC đều được thực hiện với điều kiện gradient sau: hợp phần cố định ban đầu 5% B đến 50% B trong 20 phút, được duy trì trong 5 phút ở 50% B, sau đó là 50% B đến 100% B trong vòng 2 phút, được duy trì trong 3 phút ở 100% B, được quay trở lại 5% B trong 2 phút và được duy trì trong 3 phút. Tổng thời gian chạy gradient là 35 phút. Các dịch rửa giải được sử dụng là dung môi A (H₂O với 0,02% TFA) và dung môi B (CH₃CN với 0,02% TFA). Lưu lượng được sử dụng là 1,20mL/phút đối với kỹ thuật HPLC phân tích, và 5,00mL/phút đối với kỹ thuật HPLC điều chế.

Hợp chất 2 - (S)-2-(metoxycacbonyl)-4-metylenpyrrolidini clorua

Hợp chất 2 cũng được mô tả trong WO 2007/085930 để sử dụng trong việc điều chế các hợp chất PBD.

Hợp chất 2 có thể được điều chế từ *trans*-4-hydroxy-prolin như được mô tả trong WO 2007/085930. Cụ thể, ví dụ 13, mô tả việc điều chế muối TFA của hợp chất 2, là đặc biệt có liên quan.

Theo cách khác, hợp chất 2 có thể được điều chế từ hợp chất 1 như được mô tả dưới đây.

(S)-1-*tert*-butyl-2-metyl 4-metylenpyrrolidin-1,2-dicarboxylat

Bổ sung kali cacbonat (19,92g, 14mmol, 3 đương lượng) vào dung dịch đã khuấy chứa hợp chất 1 (10,92g, 48mmol, 1 đương lượng) trong DMF (270mL). Khuấy huyền phù màu trắng tạo thành ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 30 phút, vào thời điểm này bổ sung iodometan (21,48g/9,5mL, 151mmol, 3,15 đương lượng). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 3 ngày. Loại bỏ DMF bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới

áp suất giảm để tạo ra phần cặn màu vàng, phần cặn này được phân tách giữa etylaxetat và nước. Tách lớp hữu cơ và chiết pha nước bằng etylaxetat. Rửa các lớp hữu cơ gộp lại bằng nước, nước muối và làm khô trên magie sulphat. Loại bỏ etylaxetat bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô dưới dạng chất dầu màu vàng. Tinh chế sản phẩm thô bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [85% n-hexan/15% etylaxetat] để tạo ra sản phẩm dưới dạng chất dầu không màu (xem thêm ấn phẩm F Manfré et al., J. Org. Chem. 1992, 57, 2060-2065).

(S)-2-(metoxycarbonyl)-4-metylenpyrolidini clorua

Bổ sung dung dịch chứa axit clohydric trong dioxan (4M, 63mL, 254,4mmol, 4,5 đương lượng) vào (S)-1-*tert*-butyl 2-metyl 4-metylenpyrolidin-1,2-dicarboxylat (13,67g, 56,6mmol, 1 đương lượng) ở nhiệt độ trong phòng. Quan sát thấy sự sủi bọt, thể hiện sự giải phóng CO₂ và loại bỏ nhóm Boc. Sản phẩm kết tủa dưới dạng chất rắn màu trắng và bổ sung thêm dioxan để tạo điều kiện thuận lợi cho việc khuấy, và khuấy hỗn hợp phản ứng trong thời gian một giờ và tiếp đó pha loãng bằng ete. Thu sản phẩm kết tủa bằng cách lọc chân không và rửa bằng ete bổ sung. Làm khô trong không khí tạo ra sản phẩm mong muốn 2 dưới dạng chất bột màu trắng (9,42g, 94%) (xem thêm ấn phẩm P Herdwijn et al., Canadian Journal of Chemistry. 1982, 60, 2903-7).

Hợp chất 3

Hợp chất 3 có thể được điều chế như được mô tả trong WO 2006/111759 và ấn phẩm của Gregson và cộng sự.

Hợp chất 4

Hợp chất 4 có thể được điều chế từ hợp chất 3 và hợp chất 2.

Bổ sung lượng có tác dụng xúc tác của DMF khan (0,5mL) vào huyền phù đã khuấy chứa oxalyl clorua (9,1g, 6,25mL, 71,7mmol, 3 đương lượng) và hợp chất 3 (11,82g, 23,9mmol, 1 đương lượng) trong DCM khan (180mL) ở nhiệt độ trong phòng. Quan sát thấy sự sủi bọt mạnh sau khi bổ sung DMF và khuấy hỗn hợp phản ứng trong thời gian 18 giờ trong bình đáy tròn được gắn khớp với ống làm khô canxi clorua. Làm bay hơi dung dịch trong suốt tạo thành dưới áp suất giảm và nghiền chất rắn với ete. Thu sản phẩm rắn bằng cách lọc chân không, rửa bằng ete bổ sung và làm khô trong chân không ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 1,5 giờ. Tiếp đó, bổ sung từng phần chất rắn này vào huyền phù chứa

hợp chất 2 (9,35g, 52,6mmol, 2,2 đương lượng) trong TEA (12,08g, 119,6mmol, 5 đương lượng) và DCM khô (110mL), duy trì nhiệt độ nằm trong khoảng từ -40 đến -50°C với sự trợ giúp của bể nước đá khô/axetonitril. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ -40°C trong thời gian 1 giờ và tiếp đó để cho ấm đến nhiệt độ trong phòng, vào thời điểm này LCMS cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu ban đầu. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM bổ sung và rửa lần lượt bằng dung dịch nước axit clohydric (1M, 2 x 200mL), dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (2 x 250mL), nước (250mL), nước muối (250mL), làm khô trên magie sulphat. Loại bỏ DCM bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm dưới dạng chất bột màu vàng (13,94g, 79%). Dữ liệu phân tích: RT 3,95 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 741 ($[M + 1]^+$, 100).

Hợp chất 5

Hợp chất 5 có thể được điều chế từ hợp chất 4 trong ba bước thông qua rượu bis và bis-axetat.

Rượu *bis*

Bổ sung một phần lithi borohydrua rắn (0,093g, 4,3mmol, 3 đương lượng) vào dung dịch chứa este 4 (1,05g, 142mmol, 1 đương lượng) trong THF khô (10mL) trong môi trường khí nitơ ở nhiệt độ 0°C (bể nước đá). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 30 phút và tiếp đó để cho ấm đến nhiệt độ trong phòng, vào thời điểm này quan sát thấy sự kết tủa của chất gồm màu da cam. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ nữa và sau đó làm lạnh trong bể nước đá và xử lý bằng nước (20mL) để tạo ra huyền phù màu vàng. Bổ sung cẩn thận axit clohydric (1M) (sủi bọt mạnh!) cho đến khi ngừng sủi bọt. Chiết hỗn hợp phản ứng bằng etylaxetat (4 x 50mL) và rửa các lớp hữu cơ gộp lại bằng nước (100mL), nước muối (100mL) và làm khô trên magie sulphat. Loại bỏ etylaxetat bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm rượu *bis* dưới dạng chất bột màu vàng (0,96g, 99%). Lặp lại phản ứng này trên quy mô 12,4g để thu được 11,06g sản phẩm (96%). Dữ liệu phân tích: RT 3,37 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 685 ($[M + 1]^+$, 100).

bis-axetat

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa axetyl clorua (3,4g/3,1mL, 43,5mmol, 2,6 đương lượng) trong DCM khô (100mL) vào dung dịch đã khuấy chứa rượu *bis* (11,46g, 16,73mmol, 1 đương lượng) và trietylamin (5,07g, 6,98mL, 50,2mmol, 3 đương lượng)

trong DCM khô (200mL) ở nhiệt độ 0°C trong môi trường khí nitơ. Để cho hỗn hợp phản ứng ấm đến nhiệt độ trong phòng và tiếp tục khuấy trong thời gian một giờ. TLC và LCMS cho thấy rằng phản ứng đã hoàn thành. Rửa hỗn hợp phản ứng bằng nước muối (200mL) và làm khô trên magie sulphat. Loại bỏ DCM bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm tạo ra sản phẩm thô. Sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải 20% n-hexan/80% etylaxetat đến 10% n-hexan/90% etylaxetat] tạo ra *bis*-axetat tinh khiết dưới dạng chất bột màu vàng (10,8g, 84%). Dữ liệu phân tích: RT 3,35 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 769 ($[M + 1]^+$, 100).

Hợp chất 5

Bổ sung bột kẽm (14,2g, 2,17mmol, 30 đương lượng) vào dung dịch chứa *bis*-axetat (5,56g, 7,24mmol, 1 đương lượng) trong etanol (250mL) và axit axetic (65mL). Đun hồi lưu hỗn hợp phản ứng đã khuấy, và dung dịch màu vàng trở thành không màu (cũng quan sát thấy sự kết tụ kẽm làm cho khó khuấy phản ứng). Để cho phản ứng này tiếp tục trong thời gian một giờ, vào thời điểm này LCMS cho thấy rằng phản ứng đã hoàn thành. Để cho hỗn hợp phản ứng nguội, lọc qua xelit và rửa miếng lọc bằng DCM. Rửa phần lọc bằng nước (3 x 500mL), dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (2 x 250mL), nước muối (500mL) và làm khô trên magie sulphat. Làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm tạo ra sản phẩm 5 dưới dạng chất bột màu trắng nhạt (4,71g, 92%). Dữ liệu phân tích: RT 3,33 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 709 ($[M + 1]^+$, 100).

Hợp chất 6

Hợp chất 6 có thể được điều chế từ hợp chất 5 trong ba bước.

Sản phẩm Mono-Alloc

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa allyl clorofomat (0,634g/0,56mL, 5,6mmol, 0,9 đương lượng) trong DCM khô (150mL) vào dung dịch chứa hợp chất 5 (4,145g, 5,8mmol, 1 đương lượng) và pyridin (0,106g/0,11mL, 11,1mmol, 1,9 đương lượng) trong DCM khô (500mL) ở nhiệt độ -78°C (bể nước đá khô/axeton). Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ -78°C trong thời gian 1 giờ và tiếp đó để cho đạt đến nhiệt độ trong phòng. Rửa hỗn hợp phản ứng bằng dung dịch nước đồng sulphat bão hòa (2 x 300mL), nước (400mL), nước muối (400mL) và làm khô trên magie sulphat. Làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm tạo ra sản phẩm thô dưới dạng chất bột màu sẫm. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [40%

n-hexan/60% etyl axetat đến 5% metanol/95% etyl axetat] tạo ra sản phẩm *bis*-alloc (0,84g), sản phẩm mono-alloc mong muốn (1,94g, 44%) và *bis*-anilin được thu hồi (0,81g).

Dữ liệu phân tích: RT 3,32 phút; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 793 ($[M + 1]^+$, 100); MS (ES^-) m/z (cường độ tương đối) 791 ($[M - 1]^-$, 100).

Isoxyanat

Bổ sung triethylamin (0,018g/25 μ L, 0,18mmol, 1,35 đương lượng) vào dung dịch đã khuấy chứa sản phẩm mono-alloc (0,106g, 0,134mmol, 1 đương lượng) và triphosgen (0,015g, $4,8 \times 10^{-2}$ mmol, 0,36 đương lượng) trong toluen khô (5mL) trong môi trường khí nitơ ở nhiệt độ -10°C. Sau thời gian 1 giờ, kỹ thuật đo phổ IR thể hiện chuỗi isoxyanat ở 2268cm^{-1} và để cho hỗn hợp phản ứng đạt đến nhiệt độ trong phòng.

Hợp chất 6

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa rượu 6a (0,106g, 0,15mmol, 1,1 đương lượng) và triethylamin (0,018g, 25 μ L, 0,18mmol, 1,35 đương lượng) trong THF khô (5mL) vào isoxyanat mới được điều chế. Đun hồi lưu hỗn hợp phản ứng trong thời gian 4 giờ, vào thời điểm này TLC cho thấy sự tạo ra sản phẩm mới. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô và phân tách giữa DCM và nước. Tách lớp nước và rửa pha hữu cơ bằng nước muối (100mL) và làm khô trên magie sulphat. Làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm tạo ra sản phẩm thô dưới dạng chất dầu màu vàng, chất này được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải 40% n-hexan/60% etylaxetat đến 20% n-hexan/80% etylaxetat, với gia số 5% trong etylaxetat] để tạo ra sản phẩm mong muốn dưới dạng chất bột màu trắng (0,092g, hiệu suất 45%).

Dữ liệu phân tích: RT 4,05 phút; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1540 ($[M + 2]^+$, 30); 1557 ($[M + 18]^+$, 50); MS (ES^-) m/z (cường độ tương đối) 1585 ($[M - +2Na]^-$, 50).

Hợp chất 7

Hợp chất 7 có thể được điều chế từ hợp chất 6 trong hai bước.

Sản phẩm *bis* đã được tách nhóm axetyl

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa superhydride™ trong THF (1M, 0,35mL, 0,35mmol, 4 đương lượng) thông qua bơm tiêm vào dung dịch đã khuấy chứa axetat 6 (0,135g, $8,8 \times 10^{-2}$ mmol, 1 đương lượng) trong THF khô (7mL) ở nhiệt độ -78°C (nước đá khô/axeton). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ -78°C trong thời gian một giờ, vào thời

điểm này LCMS cho thấy sự không có mặt của nguyên liệu ban đầu và sự tạo ra hai hợp chất mới tương ứng với sản phẩm mono và *bis* đã được tách nhóm axetyl. Bổ sung lượng nhỏ khác của superhydride™ (1M, 0,35mL, 0,35mmol, 4 đương lượng) vào hỗn hợp phản ứng và tiếp tục khuấy trong một giờ nữa. Vào thời điểm này, LCMS cho thấy sự chuyển hóa hoàn toàn thành sản phẩm *bis* đã được tách nhóm axetyl. Bổ sung axit xitric (1M, 1mL) vào hỗn hợp phản ứng (sủi bọt mạnh!), sau đó để cho đạt đến nhiệt độ trong phòng, vào thời điểm này bổ sung lượng nhỏ khác của axit xitric (1M, 1mL). Loại bỏ dung môi bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm và phân tách phần cặn tạo thành giữa etylaxetat (25mL) và nước (25mL). Tách pha nước và rửa lớp etylaxetat bằng nước (25mL), nước muối (25mL) và làm khô trên magie sulphat. Loại bỏ dung môi bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm tạo ra sản phẩm thô dưới dạng chất dầu màu vàng, chất này được đưa vào kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải etylaxetat→1% metanol/99% etylaxetat đến 2% metanol/98% etylaxetat] để tạo ra sản phẩm tinh khiết dưới dạng chất thủy tinh không màu (0,056g, 44%). Dữ liệu phân tích: RT 3,78 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 1456 ([*M* + 1]⁺, 75).

Hợp chất 7

Bổ sung một phần periodinan Dess-Martin (0,026g, $6,1 \times 10^{-5}$ mol, 2,1 đương lượng) vào dung dịch chứa sản phẩm *bis* đã được tách nhóm axetyl (0,042g, $2,9 \times 10^{-5}$ mol, 1 đương lượng) trong DCM khô (5mL) trong môi trường khí nitơ. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 4 giờ, vào thời điểm này LCMS cho thấy rằng phản ứng đã hoàn thành. Lọc huyền phù đục, rửa bằng DCM (20mL). Rửa phần lọc bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (25mL), nước (25mL), nước muối (25mL) và làm khô trên magie sulphat. Loại bỏ dung môi bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm 7 dưới dạng chất bột màu trắng nhạt (0,035g, 84%). Dữ liệu phân tích: RT 3,70 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 1451 ([*M* + 1]⁺, 30).

Hợp chất 14

Hợp chất 14a hoặc 14b có thể được điều chế từ hợp chất 7 thông qua hợp chất 8. Có thể loại bỏ nhóm bảo vệ Alloc trong hợp chất 7 trong điều kiện thích hợp, ví dụ tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0) trong điều kiện có mặt của pyrrolidin. Trong điều kiện này, nhóm bảo vệ Fmoc cũng được loại bỏ. Theo cách khác, có thể loại bỏ nhóm Fmoc trong bước riêng biệt, trước hoặc sau khi loại bỏ nhóm Alloc, bằng cách sử dụng piperidin

trong DMF. Sản phẩm của bước loại nhóm bảo vệ là sản phẩm imin-carbinolamin có nhóm chức imin tại vị trí N10-C11 của một monome của PBD, và nhóm chức carbinolamin tại vị trí N10-C11 của monome còn lại, trong đó carbinolamin có nhóm liên kết $-C(=O)-L^1-NH_2$ tại vị trí N10.

Có thể cho imin-carbinolamin phản ứng với MC-OSu trong điều kiện có mặt của bazơ để tạo ra hợp chất 8. Xem, ví dụ, ấn phẩm Dubowchik et al., *Bioconjugate Chem.* 2002, 13, 855-869.

Tiếp đó, có thể loại bỏ nhóm bảo vệ chuỗi bên axit amin ra khỏi hợp chất 8, ví dụ trong điều kiện axit. Tiếp đó, sản phẩm tạo thành có thể được liên hợp với kháng thể mang nhóm chức thiol thích hợp để tạo ra hợp chất 9.

Trong một ví dụ, có thể xử lý kháng thể bằng DTT để khử các liên kết disulfua liên chuỗi. Tiếp đó, kháng thể mang các nhóm thiol tự do thu được có thể được cho phản ứng với hợp chất chứa maleimide có nguồn gốc từ hợp chất 8 để tạo ra hợp chất 9. Hợp chất 9 có thể được tinh chế, ví dụ bằng cách thẩm lọc. Xem, ví dụ, ấn phẩm Dubowchik et al., *Bioconjugate Chem.* 2002, 13, 855-869.

Hợp chất 18

Bổ sung dicyclohexylcarbodiimide (2,46g, 11,92mmol, 1,05 đương lượng) vào huyền phù chứa N-hydroxysuccinimide (1,44g, 12,5mmol, 1,1 đương lượng) và N-alloc phenylalanine (17) (2,83g, 11,35mmol, 1 đương lượng) trong DCM khô (120mL) ở nhiệt độ 0°C. Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 30 phút, tiếp đó ở nhiệt độ phòng trong thời gian 16 giờ. Lọc hỗn hợp phản ứng và làm bay hơi phần lọc dưới áp suất giảm. Hòa tan lại phần cặn trong DCM (50mL), để yên trong thời gian 1 giờ và lọc để loại bỏ dicyclohexylurea kết tủa. Làm bay hơi dưới áp suất giảm tạo ra sản phẩm dưới dạng chất rắn màu trắng (3,91g, 99%). Dữ liệu phân tích: RT 2,93 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 369 ($[M + Na]^+$, 50).

Hợp chất 20

Bổ sung dung dịch chứa succinimide (18) (3,91g, 11,29mmol, 1 đương lượng) trong THF (50mL) vào dung dịch chứa H-Lys(Boc)-OH (19) (2,92g, 11,85mmol, 1,05 đương lượng) và NaHCO₃ (1,04g, 12,42mmol, 1,1 đương lượng) trong THF (50mL) và H₂O (100mL). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ phòng trong thời gian 72 giờ và làm bay hơi THF dưới áp suất

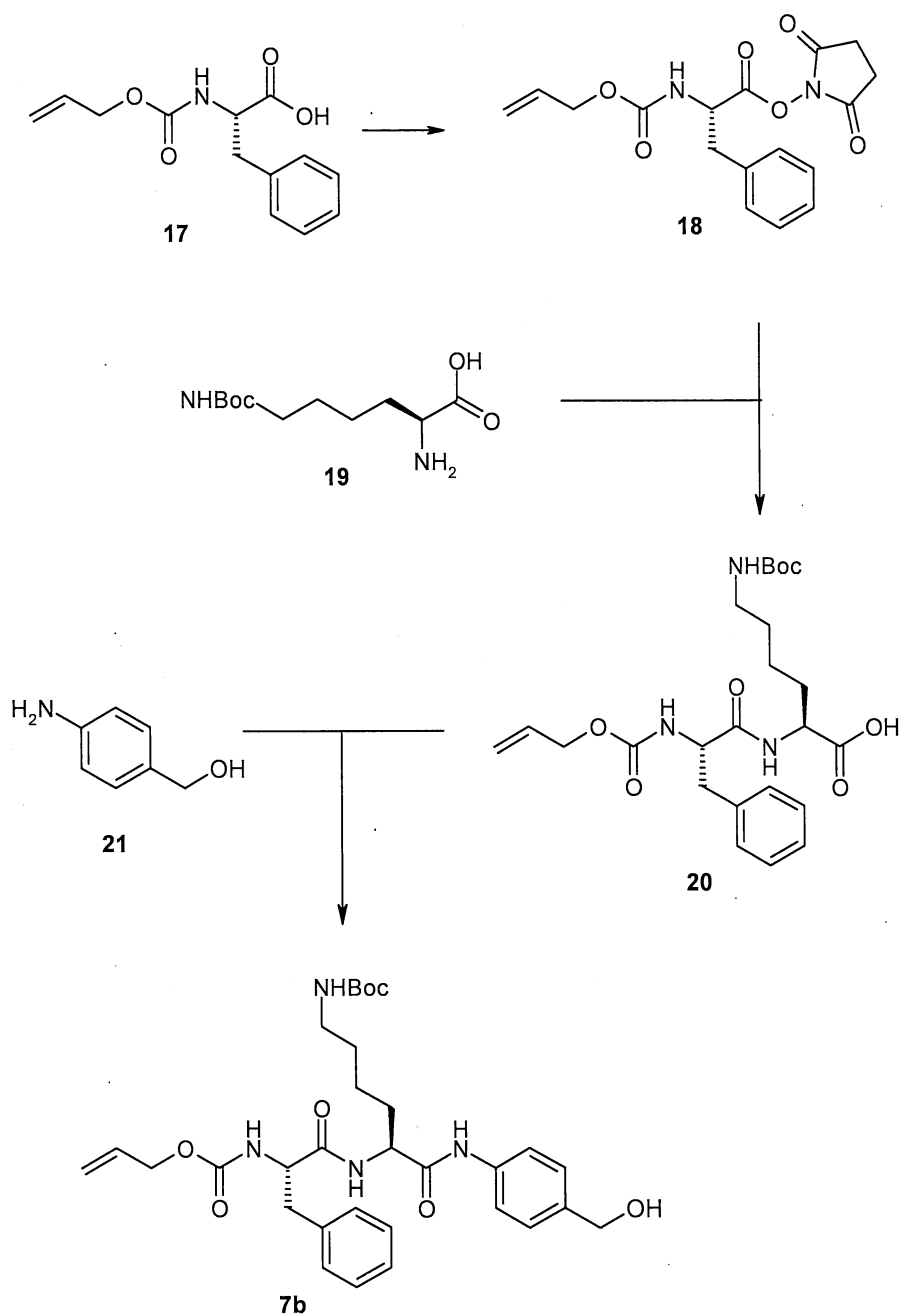
giảm. Điều chỉnh độ pH đến pH=3-4 bằng axit xitric để làm kết tủa chất gồm màu trắng. Chiết chất này bằng etylaxetat (2 x 250mL) và rửa các phân chiết gộp lại bằng H₂O (200mL), nước muối (200mL), làm khô (MgSO₄) và làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm dưới dạng chất bột màu trắng (4,89g, 91%). Dữ liệu phân tích: RT 3,03 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 478 ([M + 1]⁺, 80).

Hợp chất 7b

Bổ sung EEDQ (2,66g, 10,75mmol, 1,05 đương lượng) vào dung dịch chứa rượu p-aminobenzyllic (21) (1,32g, 10,75mmol, 1,05 đương lượng) và Alloc-Phe-Lys(Boc)-OH (4,89g, 10,24mmol, 1,0 đương lượng) trong THF khô (75mL). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 18 giờ. Làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm để tạo ra chất rắn màu nâu nhạt. Nghiền chất rắn này với diethyl ete và lọc, rửa bằng lượng diethyl ete dư. Việc này tạo ra sản phẩm dưới dạng chất rắn màu trắng (4,54g, 76%). Dữ liệu phân tích: RT 3,08 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 583,8 ([M + 1]⁺, 100).

Quy trình tổng hợp 7b được mô tả dưới đây trong sơ đồ 12.

Sơ đồ 12.



Hợp chất 9b

Bổ sung triethylamin (0,18g, 0,25mL, 1,79mmol, 2,3 đương lượng) vào dung dịch đã khuấy chứa *bis*-anilin được bảo vệ bằng mono-alloc (6) (0,608g, 0,77mmol, 1,06 đương lượng) và triphosgen (0,088g, 0,3mmol, 0,39 đương lượng) trong THF khô (5mL) trong môi trường khí nitơ ở nhiệt độ -10°C . Để cho hỗn hợp phản ứng đạt đến nhiệt độ trong phòng, xử lý mẫu bằng metanol, và phân tích bằng LCMS như methyl carbamat.

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa rượu benzylic (7b) (0,422g, 0,72mmol, 1,0 đương lượng) và triethylamin (0,18g, 0,25mL, 1,79mmol, 2,3 đương lượng) trong THF khô (20mL) vào isoxyanat mới được điều chế. Đun nóng hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 60-65°C trong thời gian 4 giờ, sau đó khuấy trong thời gian 18 giờ ở nhiệt độ trong phòng, vào thời điểm này LCMS cho thấy sự tạo ra sản phẩm mới. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô để tạo ra sản phẩm thô dưới dạng chất dầu màu vàng, chất này được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải 50% *n*-hexan/50% etylaxetat đến 10% *n*-hexan/90% etylaxetat với gia số 10%] để tạo ra sản phẩm mong muốn dưới dạng chất bột màu trắng (0,385g, 38%). Dữ liệu phân tích: RT 3,78 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 1402,8 ([*M* + H]⁺, 15).

Hợp chất 10b

Bổ sung dung dịch chứa K₂CO₃ (0,158g, 1,15mmol, 5 đương lượng) trong H₂O (1mL) vào dung dịch chứa axetat (9b) (0,32g, 0,23mmol, 1 đương lượng) trong metanol (6mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 30 phút. Làm bay hơi metanol dưới áp suất giảm, pha loãng phần cặn bằng H₂O (50mL) và chiết bằng etylaxetat (3 x 75mL). Rửa các phần chiết etylaxetat gộp lại bằng H₂O (100mL), nước muối (100mL), làm khô (MgSO₄) và làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm dưới dạng chất bột màu trắng (0,292g, 97%). Dữ liệu phân tích: RT 3,52 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 1318,6 ([*M* + 1]⁺, 15).

Hợp chất 11b

Bổ sung một phần periodinan Dess-Martin (0,197g, 0,465mmol, 2,1 đương lượng) vào dung dịch chứa sản phẩm *bis* đã được tách nhóm axetyl (10b) (0,292g, 0,22mmol, 1 đương lượng) trong DCM khô (15mL) trong môi trường khí nitơ. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 3,5 giờ, vào thời điểm này LCMS cho thấy rằng phản ứng đã hoàn thành. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM (50mL) và rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (3 x 100mL), nước (100mL), nước muối (100mL) và làm khô trên magie sulphat. Loại bỏ dung môi bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải 80% etylaxetat/20% *n*-hexan đến 100% etylaxetat với gia số 5%] tạo ra sản phẩm 11b dưới dạng chất bột màu vàng (0,235g, 81%). Dữ liệu phân tích: RT 3,42 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 1314,8 ([*M* + 1]⁺, 8).

Hợp chất 12a

Bổ sung $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (4mg, $3,5 \times 10^{-6}$ mol, 0,02 đương lượng) vào dung dịch chứa hợp chất *bis*-alloc (11b) (0,230g, 0,175mmol, 1 đương lượng) và pyrrolidin (31mg, 36 μ L, 0,44mmol, 2,5 đương lượng) trong DCM khô (10mL) trong môi trường khí nitơ. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ, vào thời điểm này LCMS cho thấy rằng vẫn còn lại (11b) không phản ứng. Bổ sung các lượng đương lượng khác của pyrrolidin (31mg, 36 μ L, 0,44mmol, 2,5 đương lượng) và $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (4mg, $3,5 \times 10^{-6}$ mol, 0,02 đương lượng) và khuấy phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 18 giờ nữa. LCMS cho thấy rằng phản ứng đã hoàn thành. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM (40mL) và rửa bằng dung dịch nước amoni clorua bão hòa (100mL), nước (100mL), nước muối (100mL), làm khô (MgSO_4) và làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra chất bột màu vàng. Nghiền chất này với diethyl ete để tạo ra sản phẩm (0,187g, 95%), được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. Dữ liệu phân tích: RT 2,80 phút; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1128,5 ($[M + 1]^+$, 20).

Hợp chất 23

Bổ sung dung dịch chứa Alloc-Val-OSu (22) (RT 2,67 phút; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 321,4 ($[M + \text{Na}]^+$, 57) được điều chế theo phương pháp điều chế hợp chất (16)) (11,67g, 39,0mmol, 1 đương lượng) trong THF (50mL) vào dung dịch chứa H-Ala-OH (3,66g, 41,08mmol, 1,05 đương lượng) và NaHCO_3 (3,61g, 43,03mmol, 1,1 đương lượng) trong THF (100mL) và H_2O (100mL). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 72 giờ và làm bay hơi THF dưới áp suất giảm. Điều chỉnh độ pH đến pH=3-4 bằng axit xitric để làm kết tủa chất gồm màu trắng. Chiết chất này bằng etylaxetat (6 x 150mL) và rửa các phần chiết gộp lại bằng H_2O (200mL), nước muối (200mL), làm khô (MgSO_4) và làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra chất rắn màu trắng. Nghiền với diethyl ete (dư) tạo ra sản phẩm tinh khiết 23 dưới dạng chất bột màu trắng (7,93g, 74%).

Dữ liệu phân tích: RT 2,17 phút; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 295 ($[M + \text{Na}]^+$, 63), 273 ($[M + 1]^+$, 60).

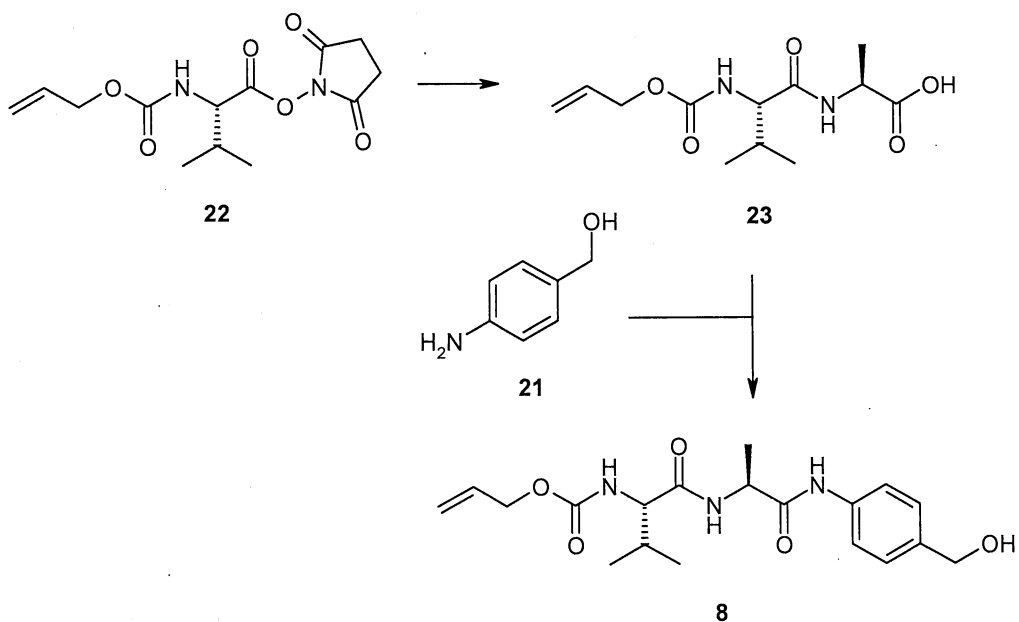
Hợp chất 8

Bổ sung EEDQ (4,79g, 19,3mmol, 1,05 đương lượng) vào dung dịch chứa rượu *p*-aminobenzylic (21) (2,38g, 19,3mmol, 1,05 đương lượng) và Alloc-Val-Ala-OH (5,02g, 18,4mmol, 1,0eq) trong THF khô (100mL). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng

trong thời gian 72 giờ. Làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm để tạo ra chất rắn màu nâu nhạt. Nghiền chất rắn này với diethyl ete và lọc, rửa bằng lượng diethyl ete dư. Việc này tạo ra sản phẩm dưới dạng chất rắn màu trắng (6,2g, 89%). Dữ liệu phân tích: RT 2,50 phút; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 400,6 ($[M + Na]^+$, 50), 378,6 ($[M + 1]^+$, 60).

Quy trình tổng hợp 8 được nêu dưới đây trong sơ đồ 13.

Sơ đồ 13.



Hợp chất 9c

Bổ sung triethylamin (0,16g, 0,22mL, 1,59mmol, 2,2 đương lượng) vào dung dịch đã khuấy chứa *bis*-anilin được bảo vệ bằng mono-alloc (6) (0,572g, 0,72mmol, 1 đương lượng) và triphosgen (0,077g, 0,26mmol, 0,36 đương lượng) trong THF khô (20mL) trong môi trường khí nitơ ở nhiệt độ trong phòng. Đun nóng hỗn hợp phản ứng đến 40°C, xử lý mẫu bằng metanol và phân tích bằng LCMS như methyl carbamat.

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa rượu benzylic (8) (0,4g, 1,06mmol, 1,5 đương lượng) và triethylamin (0,109g, 0,15mL, 1,08mmol, 1,5 đương lượng) trong THF khô (20mL) vào isoxyanat mới được điều chế. Theo dõi hỗn hợp phản ứng này bằng LCMS với khoảng cách thời gian là 30 phút. Sau thời gian 3 giờ, LCMS cho thấy sự chuyển hóa thành sản phẩm, sự có mặt của methyl carbamat và *bis*-anilin được bảo vệ bằng mono-alloc (6). Bổ sung phần khác của triphosgen (0,038g, 0,128mmol, 0,18 đương lượng) và phản ứng tiếp tục ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 18 giờ nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô để

tạo ra sản phẩm thô dưới dạng chất dầu màu vàng, chất này được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải 100% clorofom đến 97% clorofom/3% metanol với gia số 0,5%] để tạo ra sản phẩm mong muốn dưới dạng chất bột màu trắng (0,59g, 69%). Dữ liệu phân tích: RT 3,58 phút; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1197 ($[M + 1]^+$, 60).

Hợp chất 10c

Bổ sung dung dịch chứa K_2CO_3 (0,195g, 1,41mmol, 5 đương lượng) trong H_2O (1,4mL) vào dung dịch chứa axetat (9c) (0,338g, 0,282mmol, 1 đương lượng) trong metanol (8,5mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 30 phút. Làm bay hơi metanol dưới áp suất giảm, pha loãng phần cặn bằng H_2O (50mL) và chiết bằng etylaxetat (3 x 75mL). Rửa các phần chiết etylaxetat gộp lại bằng H_2O (100mL), nước muối (100mL), làm khô ($MgSO_4$) và làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm dưới dạng chất bột màu trắng (0,298g, 95%). Dữ liệu phân tích: RT 3,28 phút; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1113 ($[M + 1]^+$, 40).

Hợp chất 11c

Bổ sung một phần periodinan Dess-Martin (0,312g, 0,74mmol, 2,1 đương lượng) vào dung dịch chứa sản phẩm *bis* đã được tách nhóm axetyl (10c) (0,39g, 0,35mmol, 1 đương lượng) trong DCM khô (20mL) trong môi trường khí nitơ. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 3,5 giờ, vào thời điểm này LCMS cho thấy rằng phản ứng đã hoàn thành. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM (50mL) và rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (3 x 100mL), nước (100mL), nước muối (100mL) và làm khô ($MgSO_4$). Loại bỏ dung môi bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải 100% clorofom đến 97% clorofom/3% metanol với gia số 1%] tạo ra sản phẩm dưới dạng chất rắn màu trắng (0,201g, 52%). Dữ liệu phân tích: RT 3,15 phút; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1109 ($[M + 1]^+$, 30), MS (ES^-) m/z (cường độ tương đối) 1107 ($[M - 1]^-$, 100).

Hợp chất 12c

Bổ sung $Pd(PPh_3)_4$ (8mg, 7×10^{-6} mol, 0,04 đương lượng) vào dung dịch chứa hợp chất *bis*-alloc (11c) (0,190g, 0,17mmol, 1,0 đương lượng) và pyrrolidin (61mg, 71 μ L, 0,86mmol, 5,0 đương lượng) trong DCM khô (5mL) trong môi trường khí nitơ. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 3 giờ để tạo ra huyền phù đục. Làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm và nghiền phần cặn với etylaxetat để tạo ra chất rắn màu trắng

nhặt mà được thu bằng cách lọc để tạo ra sản phẩm (0,13g, 82%), được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. Dữ liệu phân tích: RT 2,55 phút; MS (ES⁺) m/z (cường độ tương đối) 922 ($[M + 1]^+$, 52).

Hợp chất 13a

Bổ sung EEDQ (18,4mg, $7,45 \times 10^{-5}$ mol, 2,2 đương lượng) vào dung dịch chứa amin dipeptit (12a) (40mg $3,5 \times 10^{-5}$ mol, 1,0 đương lượng) và axit maleimit caproic (8,2mg, $3,9 \times 10^{-5}$ mol, 1,1 đương lượng) trong DCM (2mL) và metanol (1mL). Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 72 giờ. Làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm. Hòa tan phần cặn trong DCM (50mL) và rửa bằng dung dịch nước NaHCO₃ bão hòa (2 x 50mL), H₂O (50mL), nước muối (50mL), làm khô (MgSO₄) và làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra chất bột màu trắng. Nghiền chất này với diethyl ete và lọc, rửa bằng lượng diethyl ete dư để tạo ra sản phẩm dưới dạng chất rắn màu trắng (36mg, 78%). Dữ liệu phân tích: RT 3,27 phút; MS (ES⁺) m/z (cường độ tương đối) 1320 ($[M + 1]^+$, 75).

Hợp chất 13b

Bổ sung axit trifloaxetic lạnh (13mL) vào dẫn xuất maleimit (13a) (65mg, $4,9 \times 10^{-5}$ mol) ở nhiệt độ 0°C. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ này trong thời gian 30 phút và làm bay hơi axit trifloaxetic dưới áp suất giảm. Hòa tan lại phần cặn trong DCM khan (5mL). Làm bay hơi dung môi và nghiền phần cặn với diethyl ete và thu chất rắn màu vàng tạo thành bằng cách lọc và làm khô trong chân không (64mg, 97%). Dữ liệu phân tích: RT 2,83 phút; MS (ES⁺) m/z (cường độ tương đối) 1222 ($[M + 2]^+$, 5).

Cộng hợp chất phản ứng maleimit-PEG-suxinimit với hợp chất 12a hoặc 12b tạo ra được chất PBD-nhóm liên kết 15. Fig.1a thể hiện các cấu trúc của được chất PBD-nhóm liên kết MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD 15ba, MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD 15bb và MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD 15d, trong đó PEG là etylenoxy, và PAB là *para*-aminobenzyloxycarbonyl.

Hợp chất 15aa

Hòa tan amin dipeptit (12a) (83mg, $7,4 \times 10^{-5}$ mol, 1 đương lượng) trong hỗn hợp chứa 10% DMF/DCM khô (2mL) và bổ sung maleimit-4Peg-suxinimit (353μL dung dịch 250mmol trong DCM khô), sau đó là N,N-diisopropyletylamin (8,2mg, 11μL, $8,1 \times 10^{-5}$ mol, 1,1 đương lượng). Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ phòng trong thời gian 72 giờ trong

môi trường khí nitơ. Làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải 100% clorofom đến 92% clorofom/8% metanol với gia số 1%] tạo ra sản phẩm dưới dạng chất bột màu vàng (85mg, 76%). Dữ liệu phân tích: RT 3,13 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 1526 ($[M + 1]^+$, 5).

Hợp chất 15ab

Hòa tan amin dipeptit (12a) (70mg, $76,2 \times 10^{-5}$ mol, 1 đương lượng) trong hỗn hợp chứa 10% DMF/DCM khô (2mL) và bổ sung maleimit-8Peg-suxinimit (263μL dung dịch 250mmol trong DCM khô), sau đó là NN-diisopropyletylamin (6,9mg, 9,5μL, $6,6 \times 10^{-5}$ mol, 1,06 đương lượng). Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 72 giờ trong môi trường khí nitơ. Làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải 100% clorofom đến 92% clorofom/8% metanol với gia số 1%] tạo ra sản phẩm dưới dạng chất bột màu nâu (44mg, 41,5%). Dữ liệu phân tích: RT 3,20 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 1703 ($[M + 2]^+$, 5).

Hợp chất 15ba (MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD; (11S,11aS)-4-((2S,5S)-2-(4-aminobutyl)-5-benzyl-25-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)-4,7,23-trioxo-10,13,16,19-tetraoxa-3,6,22-triazapentacosanamido)benzyl 11-hydroxy-7-metoxo-8-(5-((S)-7-metoxo-2-metylen-5-oxo-2,3,5,11a-tetrahydro-pyrol-2,1-c)[1,4]benzodiazepin-8-yloxy)pentyl-2-metylen-5-oxo-2,3,11,11a-tetrahydro-pyrol-2,1-c)[1,4]benzodiazepin-10(5H)-carboxylat)

Bổ sung axit trifloaxetic lạnh (17mL) vào dẫn xuất maleimit (15aa) (85mg, $5,6 \times 10^{-5}$ mol) ở nhiệt độ 0°C. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ này trong thời gian 30 phút và làm bay hơi axit trifloaxetic dưới áp suất giảm. Hòa tan lại phần cặn trong DCM khan (5mL). Làm bay hơi dung môi và nghiền phần cặn với dietyl ete và thu chất rắn màu vàng tạo thành bằng cách lọc và làm khô trong chân không (70mg, 81%). Dữ liệu phân tích: RT 2,78 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 1444 ($[M + 2]^+$, 1).

Hợp chất 15bb (MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD; (11S,11aS)-4-((2S,5S)-2-(5-aminobutyl)-5-benzyl-37-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)-4,7,35-trioxo-10,13,16,19,22,25,28,31-octaoxa-3,6,34-triazaheptatriacontanamido)benzyl 11-hydroxy-7-metoxo-8-(5-((S)-7-metoxo-2-metylen-5-oxo-2,3,5,11a-tetrahydro-pyrol[2,1-c][1,4]benzodiazepin-8-yloxy)pentyloxy)-2-metylen-5-oxo-2,3,11,11a-tetrahydro-pyrol[2,1-c][1,4]benzodiazepin-10(5H)-carboxylat)

Bổ sung axit trifloaxetic lạnh (9mL) vào dẫn xuất maleimit (15ab) (44mg, $2,6 \times 10^{-5}$ mol) ở nhiệt độ 0°C. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ này trong thời gian 30 phút và làm bay hơi axit trifloaxetic dưới áp suất giảm. Hòa tan lại phần cặn trong DCM khan (5mL). Làm bay hơi dung môi và nghiền phần cặn với dietyl ete và thu chất rắn màu vàng tạo thành bằng cách lọc và làm khô trong chân không (40mg, 91%).

Dữ liệu phân tích: RT 2,80 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 1603 ([*M* + 2]⁺, 1).

Hợp chất 15d (MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD; (11S,11aS)-4-((2S,5S)-37-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)-5-isopropyl-2-metyl-4,7,35-trioxo-10,13,16,19,22,25,28,31-octaoxa-3,6,34-triazaheptatriacontanamido)benzyl 11-hydroxy-7-metoxo-8-(5-((S)-7-metoxo-2-metylen-5-oxo-2,3,5,11a-tetrahydro-pyrol[2,1-c][1,4]benzodiazepin-8-yloxy)pentyloxy)-2-metylen-5-oxo-2,3,11,11a-tetrahydro-pyrol[2,1-c][1,4]benzodiazepin-10(5H)-carboxylat)

Bổ sung EEDQ (12mg, $4,8 \times 10^{-5}$ mol, 1,1 đương lượng) vào huyền phù chứa amin dipeptit (12c) (40,3mg $4,4 \times 10^{-5}$ mol, 1,0 đương lượng) và maleimit-8 Peg-axit (28mg, $4,8 \times 10^{-5}$ mol, 1,1 đương lượng) trong DCM khô (5mL). Bổ sung dimetylxetamit khô (0,05mL) để tạo ra dung dịch màu vàng nhạt mà được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 18 giờ. Làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm và nghiền phần cặn với dietyl ete. Tinh chế sản phẩm rắn tạo thành bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh. Dữ liệu phân tích: RT 2,90 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 1496 ([*M* + H]⁺, 40).

Hợp chất 15e

Bổ sung *N,N*-Diisopropyldietylamin (10,8μL, 8mg, $7,6 \times 10^{-5}$ mol, 2,2 đương lượng) vào dung dịch chứa amin dipeptit (12c) (32mg, $3,5 \times 10^{-5}$ mol, 1,0 đương lượng) và maleimit-dPeg@24-NHS este (58mg, $4,16 \times 10^{-5}$ mol, 1,2 đương lượng) trong DCM khô (5mL). Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 96 giờ. Pha loãng hỗn

hợp phản ứng bằng DCM (15mL) và rửa bằng NaHCO_3 bão hòa (25mL), nước muối (25mL), làm khô (MgSO_4) và làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra chất thủy tinh màu vàng nhạt. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải 100% clorofom đến 91% clorofom/9% metanol với gia số 1%] tạo ra sản phẩm dưới dạng chất gồm nhót màu vàng (17mg, 22%).

Hợp chất 16d

Peptit biotin-A20FMDV-Cys (59) có tính phản ứng cao đối với integrin $\alpha_v\beta_6$, mà được điều tiết tăng đáng kể bởi nhiều bệnh ung thư, được chọn để liên hợp các dẫn xuất PBD-nhóm liên kết.

Bổ sung dung dịch chứa peptit (59) (11,3mg, 4,35 μmol , 0,98 đương lượng) trong axetonitril/nước 1/1 (2mL) vào dung dịch chứa (15d) (6,91mg, 4,62 μmol , 1,0 đương lượng) trong axetonitril/nước 1/1 (3mL). Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 96 giờ. Làm bay hơi axetonitril dưới áp suất giảm và loại bỏ nước bằng cách làm đông khô để tạo ra chất bột màu trắng. Tinh chế bằng kỹ thuật HPLC bán điều chế, sau đó làm đông khô, tạo ra sản phẩm dưới dạng chất bột màu trắng (3,8mg, 21%). Dữ liệu phân tích: MS (MaldiTOF) m/z (cường độ tương đối) 3991,1 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 100).

Hợp chất 24a

Hợp chất 24a được bộc lộ là hợp chất 3 trong WO 2004/043963.

Hợp chất 24b

Bổ sung từng phần TCCA rắn (18g, 77,4mmol, 1,1 đương lượng) vào dung dịch chứa TEMPO (730mg, 4,67mmol, 0,07 đương lượng) và rượu 24a (25g, 70,5mmol, 1 đương lượng), trong DCM (500mL) ở nhiệt độ 0°C. Quan sát thấy sự tỏa nhiệt nhẹ. Phản ứng được cho là hoàn thành theo kỹ thuật TLC (etyl axetat) và LC /MS (2,38 phút (ES+) m/z (cường độ tương đối) 353,34 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 100)) sau thời gian 30 phút. Lọc huyền phù qua xelit và rửa bằng DCM. Rửa phần lọc bằng dung dịch nước natri bisulfit, sau đó là NaHCO_3 bão hòa (chú ý, sủi bọt mạnh), nước muối (100mL) và làm khô (MgSO_4). Lọc và làm bay hơi dung môi trong chân không tạo ra sản phẩm thô mà được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh (rửa giải: 20:80 *n*-hexan/EtOAc theo thể tích) để tạo ra keton 24b dưới dạng chất rắn màu trắng (20g, 80%). Dữ liệu phân tích: $[\alpha]_D^{26} = 15^\circ$ ($c = 0,2$, CHCl_3); MS (ES⁺) m/z (cường độ

tương đối) 353,34 ($[M + H]^+$, 100); IR (ATR, CHCl_3) 1748, 1642, 1518, 1425, 1335, 1222, 1176, 1063, 1032, 986, 857, 785, 756cm^{-1} .

Hợp chất 25

Tiêm một phần 2,6-lutidin khan (0,395mL, 365mg, 3,40mmol) vào dung dịch đã khuấy mạnh chứa keton 24b (200mg, 0,57mmol) trong DCM khô (10mL) ở nhiệt độ -45°C (bể nước đá khô/axetonitril làm lạnh) trong môi trường khí nitơ. Tiêm nhanh từng giọt triflic anhydrit khan, lấy từ ống tiêm mới mở ($477\mu\text{L}$, 800mg, 2,83mmol), trong khi vẫn duy trì nhiệt độ ở nhiệt độ -40°C hoặc thấp hơn. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ -45°C trong thời gian 1 giờ, vào thời điểm này TLC (50/50 *n*-hexan/EtOAc theo thể tích) cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu ban đầu. Lập tức pha loãng hỗn hợp phản ứng lạnh bằng DCM (20mL) và, cùng với việc lắc mạnh, rửa bằng nước (1 x 50mL), dung dịch axit xitric 5% (1 x 50mL), NaHCO_3 bão hòa (50mL), nước muối (30mL) và làm khô (MgSO_4). Lọc và làm bay hơi dung môi trong chân không tạo ra sản phẩm thô mà được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh (gradient rửa giải: 60:40 *n*-hexan/EtOAc theo thể tích đến 50:50 *n*-hexan/EtOAc theo thể tích) để tạo ra triflat 25 dưới dạng chất bột màu vàng (151mg, 55%).

Không thể thấy được hợp chất không no ở vị trí 1, 2 tương ứng nào bằng NMR. Dữ liệu phân tích: $[\alpha]_D^{28} = -55^\circ$ ($c = 0,2$, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,75 (s, 1H), 6,92 (s, 1H), 6,25 (t, 1H, $J = 1,84$ Hz), 5,19 (dd, 1H, $J = 5,05, 11,93$ Hz), 4,03 (s, 6H), 3,90 (s, 3H), 3,50 (ddd, 1H, $J = 2,29, 11,96, 16,59$ Hz), 3,02 (ddd, 1H, $J = 1,60, 5,05, 16,58$ Hz); IR (ATR, CHCl_3) 1748, 1653, 1577, 1522, 1415, 1335, 1276, 1205, 1130, 1061, 1024, 933, 908, 820, 783, 757, 663cm^{-1} ; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 485,45 ($[M + H]^+$, 100).

Hợp chất 26

Bổ sung $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (860mg, $744\mu\text{mol}$, 0,04 đương lượng) vào hỗn hợp đã khuấy chứa enol triflat 25 (9,029g, 18,6mmol, 1 đương lượng), axit 4-metoxyphenylboronic (3,67g, 24,1mmol, 1,3 đương lượng), Na_2CO_3 (5,13g, 48,3mmol, 2,6 đương lượng), EtOH (45mL), toluen (90mL) và nước (45mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong môi trường khí nitơ qua đêm, sau thời điểm này quan sát thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu ban đầu bằng kỹ thuật TLC (60/40 EtOAc/hexan) và LC/MS (3,10 phút (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 443,38 ($[M + H]^+$, 100)). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc (400mL) và rửa bằng H_2O (2 x 300mL), nước muối (200mL), làm khô (MgSO_4), lọc và làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh (gradient rửa giải:

60:40 hexan/EtOAc theo thể tích đến 40:60 hexan/EtOAc theo thể tích) tạo ra hợp chất C2-aryl 26 dưới dạng chất rắn màu da cam (7,0g, 85%). Dữ liệu phân tích: $[\alpha]_D^{25} = -122^\circ$ ($c = 0,2$, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,78 (s, 1H), 7,30 (d, 2H, $J = 8,81$ Hz), 6,95 (s, 1H), 6,87 (s, 1H), 6,83 (d, 2H, $J = 8,88$ Hz), 5,03 (dd, 1H, $J = 11,71, 5,28$ Hz), 3,95 (s, 3H), 3,93 (s, 3H), 3,76 (s, 3H), 3,73 (s, 3H), 3,48-3,43 (m, 1H), 2,99-2,93 (m, 1H), ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 170,7, 162,5, 158,4, 153,9, 149,1, 137,9, 126,3, 125,6, 125,3, 122,9, 122,3, 113,8, 110,03, 107,6, 59,7, 57,9, 56,5, 56,2, 55,1, 54,9, 52,2, 33,9, 20,7, 14,0; IR (ATR, CHCl_3) 1736, 1624, 1575, 1516, 1424, 1326, 1253, 1178, 1069, 1031, 863, 820, 803, 786, 757, 653, 617cm^{-1} ; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 443,38 ($[M + \text{H}]^+$, 100).

Hợp chất 27

Bổ sung từng phần LiBH_4 (464mg, 21,3mmol, 1,5 đương lượng) vào dung dịch đã khuấy chứa este 26 (6,28g, 14,2mmol, 1 đương lượng) trong THF khan (100mL) và EtOH (120mL). Quan sát thấy sự tỏa nhiệt đi kèm với sự tạo bọt mạnh và duy trì nhiệt độ nằm trong khoảng từ 15°C đến 25°C với sự trợ giúp của bể làm lạnh (nước đá/nước). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong thời gian 1 giờ, sau thời điểm này quan sát thấy sự chuyển hóa hoàn toàn nguyên liệu ban đầu bằng kỹ thuật TLC (etyl axetat). Pha loãng cẩn thận hỗn hợp phản ứng này bằng etyl axetat (500mL) và phá hủy borohydrua dư bằng dung dịch nước axit xitric lạnh. Rửa lớp hữu cơ bằng dung dịch nước HCl 1N (100mL), sau đó bằng dung dịch nước NaHCO_3 bão hòa (100mL), nước muối (100mL), làm khô trên MgSO_4 , lọc và làm bay hơi dưới áp suất giảm ở nhiệt độ 35°C để tạo ra sản phẩm rượu trung gian (4,50g, 10,8mmol, hiệu suất sản phẩm trung gian 76%) mà ngay lập tức được hòa tan lại trong DCM khan (200mL). Làm lạnh dung dịch này đến nhiệt độ 0°C và bổ sung TEA (2,26mL, 0,162mmol, 1,5 đương lượng), sau đó là dung dịch chứa axetyl clorua (1mL, 14,0mmol, 1,3 đương lượng) trong DCM khan (30mL). Để cho hỗn hợp phản ứng ấm lên đến nhiệt độ trong phòng và phản ứng trong thời gian 1 giờ. Quan sát thấy phản ứng hoàn toàn bằng kỹ thuật TLC (EtOAc). Rửa dung dịch này bằng dung dịch nước axit xitric 2N (50mL), dung dịch nước NaHCO_3 bão hòa (50mL), nước muối (50mL), làm khô trên MgSO_4 , lọc và làm bay hơi dưới áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh (gradien từ 50/50 lên tới 60/40 EtOAc/hexan) để thu được 2,65g (41% qua hai bước) sản phẩm tinh khiết dưới dạng chất rắn màu da cam. Dữ liệu phân tích: $[\alpha]_D^{24} = -130^\circ$ ($c = 0,28$, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,74 (s, 1H), 7,12 (d, 2H, $J = 8,84$ Hz), 6,91 (br s, 1H), 6,80

(d, 2H, $J = 8,88$ Hz), 6,15 (s, 1H), 5,04-5,00 (m, 1H), 4,61-4,42 (m, 2H), 4,01 (s, 6H), 3,78 (s, 3H), 3,35-3,25 (m, 1H), 2,85-2,79 (m, 1H), 2,06 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 171,1, 159,1, 149,5, 126,1, 126,0, 114,1, 107,2, 56,8, 56,6, 55,3, 33,5, 20,9; IR (ATR, CHCl_3) 1731, 1643, 1623, 1577, 1517, 1421, 1333, 1278, 1248, 1222, 1183, 1076, 1059, 1032, 864, 821, 802, 787, 756, 644, 619cm^{-1} ; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 456,81 ($[M + \text{H}]^+$, 100).

Hợp chất 28

Bổ sung bột kẽm mịn (365mg, 5,58mmol, 15 đương lượng) vào dung dịch chứa hợp chất 27 (170mg, 0,372mmol, 1 đương lượng) trong ethanol (7,6mL) và axit axetic (1,97mL). Khuấy mạnh hỗn hợp và đun hồi lưu. Theo dõi bằng TLC (etyl axetat) và LC/MS (2,97 phút (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 427,57 ($[M + \text{H}]^+$, 100)) cho thấy rằng phản ứng đã hoàn thành sau thời gian 5 phút. Để cho phản ứng nguội, lọc qua xelit và rửa bằng DCM (50mL). Rửa phần lọc bằng nước (3 x 30mL), NaHCO_3 bão hòa (2 x 30mL), nước muối (30mL), làm khô trên MgSO_4 , lọc và làm bay hơi dưới áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh (gradien từ 60/40 lên đến 80/20 EtOAc/Hexan) để thu được 140mg (88%) sản phẩm tinh khiết dưới dạng chất bột màu trắng. Dữ liệu phân tích: $[\alpha]^{24}_{\text{D}} = -108^\circ$ ($c = 0,20$, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,22 (d, 2H, $J = 8,80$ Hz), 6,89 (br s, 1H), 6,86 (d, 2H, $J = 8,82$ Hz), 6,80 (s, 1H), 6,29 (s, 1H), 5,02-4,96 (m, 1H), 4,50-4,40 (m, 4H), 3,89 (s, 3H), 3,82 (s, 3H), 3,81 (s, 1H), 3,30-3,25 (m, 1H), 2,85-2,79 (m, 1H), 2,06 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 194,6, 171,1, 171,0, 170,4, 164,0, 160,8, 155,1, 149,5, 146,2, 143,6, 130,5, 129,2, 125,8, 115,5, 114,1, 107,6, 105,4, 100,9, 63,5, 60,4, 56,9, 56,3, 37,4, 21,0, 20,6, 14,2; IR (ATR, CHCl_3) 1733, 1589, 1512, 1396, 1209, 1176, 1113, 1031, 823, 791, 762cm^{-1} ; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 427,57 ($[M + \text{H}]^+$, 100).

Hợp chất 29

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa amin 28 (400mg, 0,93mmol, 1 đương lượng) và TEA (350 μL , 2,5mmol, 2,6 đương lượng) trong THF khô vào dung dịch mới được điều chế chứa triphosgen (125mg, 0,42mmol, 0,45 đương lượng) trong THF khô (4mL) ở nhiệt độ 0°C . Khuấy huyền phù màu trắng ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 10 phút. Bổ sung nhanh dung dịch chứa rượu 7b (Alloc-Phe-Lys(Boc)-PABOH, 546mg, 0,93mmol, 1 đương lượng) và TEA (350 μL , 2,5mmol, 2,6 đương lượng) trong THF khô (40mL). Khuấy huyền phù màu trắng ở nhiệt độ phòng trong thời gian 15 phút, sau đó đun nóng ở nhiệt độ 65°C

trong thời gian 2 giờ, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Loại bỏ muối TEA màu trắng bằng cách lọc qua len bông. Cô phần lọc và tinh chế bằng sắc ký cột nhanh (gradien, 1% MeOH trong clorofom lên đến 3% MeOH trong clorofom) để thu được 700mg carbamat mong muốn (72%). Dữ liệu phân tích: $[\alpha]^{24}_D = -30,2^\circ$ ($c = 0,18$, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,54 (s, 1H), 8,43 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,45 (d, 2H, $J = 8,43$ Hz), 7,23 (d, 2H, $J = 8,52$ Hz), 7,16-7,06 (m, 7H), 6,78-6,72 (m, 4H), 6,46 (d, 1H, $J = 7,84$ Hz), 5,82-5,73 (m, 1H), 5,30 (s, 1H), 5,19-5,06 (m, 2H), 5,03 (d, 1H, $J = 1,29$ Hz), 4,93-4,87 (m, 1H), 4,63 (m, 1H), 4,47-4,28 (m, 6H), 3,87 (s, 3H), 3,76 (s, 3H), 3,72 (s, 1H), 3,16-3,09 (m, 1H), 3,07-2,95 (m, 4H), 2,72-2,67 (m, 1H), 1,95-1,83 (m, 1H), 1,60-1,51 (m, 1H), 1,43-1,39 (m, 2H), 1,35 (s, 9H), 1,28-1,19 (m, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 171,5, 171,1, 169,2, 165,8, 159,1, 156,2, 153,8, 151,6, 144,1, 137,8, 135,8, 132,2, 131,9, 129,1, 129,0, 128,9, 127,3, 126,2, 125,9, 123,5, 123,4, 119,9, 118,2, 114,2, 111,3, 66,5, 66,2, 64,0, 56,5, 56,1, 55,3, 53,8, 33,1, 30,9, 29,4, 28,4, 22,6, 20,8; IR (ATR, CHCl_3) 1697, 1652, 1604, 1516, 1456, 1418, 1245, 1225, 1177, 1115, 1033, 824, 750cm^{-1} ; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1036,25 ($[M + \text{H}]^+$, 100).

Hợp chất 30

Bổ sung dung dịch nước (3,3mL) chứa kali cacbonat (600mg, 4,34mmol, 5 đương lượng) vào dung dịch chứa axetat este 29 (920mg, 0,89mmol, 1 đương lượng) trong metanol (20mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 50 phút, vào thời điểm này TLC (clorofom/metanol, 90/10) cho thấy phản ứng đã hoàn thành. Phân tách hỗn hợp này giữa nước (150mL) và diclometan (200mL). Rửa pha hữu cơ bằng axit xitric 1N (50mL), sau đó bằng nước muối (50mL), làm khô trên MgSO_4 , lọc và làm bay hơi dưới áp suất giảm để thu được rượu mong muốn 30 (700mg, 79%). Dữ liệu phân tích: $[\alpha]^{24}_D = -61^\circ$ ($c = 0,18$, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,60 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,42 (d, 2H, $J = 8,38$ Hz), 7,24-7,18 (m, 2H), 7,1-7,05 (m, 7H), 6,83-6,66 (m, 5H), 5,81-5,71 (m, 1H), 5,43 (s, 1H), 5,18-5,08 (m, 2H), 4,99 (s, 2H), 4,75-4,69 (m, 2H), 4,48-4,25 (m, 5H), 3,86 (s, 3H), 3,82-3,76 (m, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,72 (s, 3H), 3,19-3,12 (m, 1H), 3,05-2,92 (m, 4H), 2,62-2,57 (m, 1H), 1,85-1,75 (m, 2H), 1,59-1,51 (m, 1H), 1,38-1,34 (m, 11H), 1,28-1,18 (m, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 171,7, 169,5, 167,0, 159,2, 156,3, 153,9, 151,6, 144,4, 137,8, 135,9, 132,3, 131,9, 129,2, 128,8, 127,2, 126,0, 124,5, 123,3,

120,1, 118,1, 114,2, 111,3, 66,6, 66,1, 61,6, 56,5, 56,1, 55,3, 53,8, 39,9, 33,6, 31,1, 29,4, 28,4, 22,6; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 994,7 ($[M + H]^+$, 100).

Hợp chất 31

Hòa tan rượu 30 (500mg, 0,503mmol, 1 đương lượng) trong DCM khan (50mL) ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung periodinan.Dess-Martin rắn (300mg, 0,707mmol, 1,4 đương lượng) vào hỗn hợp này, sau đó là 75mg nữa tại thời điểm 1 giờ, sau đó là 57mg nữa tại thời điểm 2 giờ, và 31mg tại thời điểm 5 giờ, tạo ra tổng lượng periodinan Dess-Martin là 463mg (1,09mmol, 2,17 đương lượng). Liên tục theo dõi phản ứng bằng kỹ thuật TLC (clorofom/metanol, 95/5, hai lần rửa giải). Sau thời gian 6,5 giờ, xử lý phản ứng bằng cách phân tách hỗn hợp phản ứng giữa DCM và dung dịch nước NaHSO₃ bão hòa. Tiếp đó, rửa lớp hữu cơ bằng dung dịch nước NaHCO₃ bão hòa, sau đó bằng nước muối, làm khô trên MgSO₄, lọc và làm bay hơi dưới áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh (gradien từ 0/100 lên đến 2/98 metanol/clorofom) để thu được 259mg (52%) sản phẩm tinh khiết 31. Dữ liệu phân tích: $[\alpha]_D^{24} = +106^\circ$ (*c* = 0,16, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,68 (s, 1H), 7,54-7,46 (m, 2H), 7,36 (s, 1H), 7,31-7,16 (m, 8H), 6,89 (d, 2H, *J* = 8,70 Hz), 6,75 (bs, 1H), 6,61 (s, 1H), 5,89-5,84 (m, 2H), 5,45 (d, 1H, *J* = 4,80 Hz), 5,28-5,08 (m, 3H), 4,84-4,76 (m, 2H), 4,58-4,47 (m, 4H), 4,28 (bs, 1H), 4,02-3,95 (m, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,83 (s, 3H), 3,74 (s, 2H), 3,41-3,32 (m, 1H), 3,16-3,02 (m, 5H), 2,03-1,83 (m, 1H), 1,68-1,61 (m, 1H), 1,55-1,39 (m, 11H), 1,36-1,28 (m, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 171,7, 169,5, 163,2, 159,1, 156,3, 151,1, 148,6, 138,0, 135,9, 132,3, 129,2, 128,8, 127,2, 126,3, 126,2, 121,7, 120,0, 118,2, 114,2, 112,7, 110,7, 86,2, 79,3, 67,6, 66,2, 59,5, 56,4, 56,15, 56,1, 55,3, 53,8, 39,9, 38,1, 35,1, 31,0, 29,4, 28,4, 22,7 ; IR (ATR, CHCl₃) 3313, 2935, 2356, 1691, 1603, 1512, 1431, 1253, 1177, 1119, 1033, 824, 750, 698cm⁻¹; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 992,41 ($[M + H]^+$, 100).

Hợp chất 32

Bổ sung Pd(PPh₃)₄ rắn (8mg, 6,9μmol, 0,02 đương lượng) vào dung dịch mới được điều chế chứa nguyên liệu ban đầu 31 (346mg, 0,349mmol, 1 đương lượng) và pyrrolidin (43,3μL, 0,523mmol, 1,5 đương lượng) trong DCM khô (10mL) trong môi trường khí trơ ở nhiệt độ trong phòng. Phản ứng đã hoàn thành sau thời gian 45 phút như kỹ thuật TLC cho thấy (90/10 clorofom/metanol theo thể tích) và LC/MS (2,93 phút (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 908,09 ($[M + H]^+$, 100)). Loại bỏ các chất dễ bay hơi bằng cách làm bay hơi

dưới áp suất giảm. Tinh chế phân cận bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh (gradient từ 2/98 lên đến 5/95 metanol/clorofom) để thu được 298mg (94%) sản phẩm tinh khiết 32. Dữ liệu phân tích: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,87 (s, 1H), 7,86 (d, 1H, $J = 8,06$ Hz), 7,51 (d, 2H, $J = 8,42$ Hz), 7,36-7,11 (m, 9H), 6,89 (d, 2H, $J = 8,73$ Hz), 6,58 (bs, 1H), 5,85 (d, 1H, $J = 9,47$ Hz), 5,32 (m, 1H), 4,83 (d, 1H, $J = 11,68$ Hz), 4,65 (m, 1H), 4,47 (q, 1H, $J = 6,14$ Hz), 4,03-3,97 (m, 1H), 3,94 (s, 3H), 3,84 (s, 3H), 3,74-3,69 (m, 4H), 3,39-3,33 (m, 1H), 3,26 (dd, 1H, $J = 13,73$ Hz, $J = 4,00$ Hz), 3,16-3,03 (m, 3H), 3,26 (dd, 1H, $J = 8,91$ Hz, $J = 13,74$ Hz), 2,05-1,96 (m, 1H), 1,78-1,49 (m, 3H), 1,48-1,42 (m, 9H), 1,42-1,24 (m, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 175,45, 163,2, 159,1, 156,2, 148,6, 137,3, 129,3, 128,8, 127,0, 126,2, 126,2, 121,7, 119,8, 114,2, 112,6, 56,2, 55,3, 40,7, 35,1, 30,5, 28,4, 22,8; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 908,09 ($[M + \text{H}]^+$, 100).

Hợp chất 33

Bổ sung EEDQ rắn (108mg, 0,436mmol, 2 đương lượng) vào dung dịch chứa amin 32 (199mg, 0,219mmol, 1 đương lượng) và axit maleimido hexanoic (57mg, 0,269, 1,23 đương lượng) trong hỗn hợp chứa DCM (6mL) và metanol (3mL). Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 24 giờ. Phát hiện thấy phản ứng đã hoàn thành bằng kỹ thuật LC/MS (3,45 phút (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1101,78 ($[M + \text{H}]^+$, 100)). Loại bỏ các chất dễ bay hơi bằng cách làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phân tách phân cận giữa DCM và dung dịch nước NaHCO_3 bão hòa, rửa bằng nước muối, làm khô trên MgSO_4 , lọc và làm bay hơi dưới áp suất giảm. Tinh chế phân cận bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh (gradient từ 1/99 lên đến 2,5/97,5 metanol/clorofom) để thu được 165mg (68%) sản phẩm tinh khiết 33. Dữ liệu phân tích: $[\alpha]_D^{24} = +94^\circ$ ($c = 0,09$, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,62 (s, 1H), 7,46-7,39 (m, 2H), 7,27 (s, 1H), 7,22-7,06 (m, 9H), 6,79 (d, 2H, $J = 8,65$ Hz), 6,75 (bs, 1H), 6,57 (s, 2H), 6,52 (s, 1H), 6,28 (s, 1H), 5,77 (bs, 1H), 5,21 (s, 1H), 4,75-4,60 (m, 2H), 4,40 (q, 1H, $J = 5,54$ Hz), 3,93-3,86 (m, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,73 (s, 3H), 3,65 (s, 2H), 3,36 (t, 2H, $J = 7,16$ Hz), 3,30-3,23 (m, 1H), 3,08-2,90 (m, 5H), 2,09 (t, 2H, $J = 7,14$ Hz), 1,93-1,75 (m, 1H), 1,62-1,31 (m, 17H), 1,30-1,04 (m, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 173,5, 170,9, 170,3, 169,6, 163,2, 159,1, 156,3, 151,1, 148,6, 136,1, 134,0, 129,1, 128,7, 127,2, 126,3, 126,2, 124,9, 123,3, 121,7, 120,0, 114,2, 112,7, 110,7, 86,1, 79,3, 67,6, 59,5, 56,2, 56,1, 55,3, 54,6, 53,9, 53,4, 37,8, 37,5, 36,7, 35,2, 31,0, 29,4, 28,5, 28,2, 26,2, 24,8, 22,7; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1101,78 ($[M + \text{H}]^+$, 100).

Hợp chất 34

Bổ sung dung dịch đã làm lạnh chứa 10% TFA trong DCM (12mL) vào mẫu đã làm lạnh (-20°C) chứa hợp chất 33 (75mg, 0,068mmol, 1 đương lượng). Theo dõi phản ứng bằng kỹ thuật LC/MS (2,87 phút (ES+) m/z (cường độ tương đối) 1001,13 ($[M + H]^+$, 100)). Nhiệt độ đặt lên cao là -10°C mà không có các phản ứng phụ. Phản ứng hoàn thành sau thời gian 4 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước đã khử ion (50mL) và làm khô lạnh qua đêm (bể nitơ lỏng, để bay hơi mà không làm đầy lại) để thu được muối TFA tinh khiết 34 (75mg, 99%). Dữ liệu phân tích: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9,05 (s, 1H), 7,87-7,62 (m, 4H), 7,35 (m, 2H), 7,24 (s, 1H), 7,16-7,11 (m, 2H), 7,10-6,96 (m, 8H), 6,92 (s, 1H), 6,82-6,66 (m, 3H), 6,63-6,42 (m, 3H), 5,75 (d, 1H, $J = 9,54$ Hz), 5,15-5,03 (m, 1H), 4,77-4,74 (m, 1H), 4,68-4,56 (m, 1H), 4,39 (s, 1H), 3,97-3,84 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,72 (s, 3H), 3,65 (s, 2H), 3,33-3,21 (m, 3H), 3,04-2,69 (m, 5H), 2,04 (m, 2H), 1,979-1,64 (m, 1H), 1,63-1,45 (m, 3H), 1,44-1,12 (m, 6H), 1,07-0,95 (m, 2H). MS (ES $^+$) m/z (cường độ tương đối) 1001,13 ($[M + H]^+$, 100).

Hợp chất 35

Bổ sung amin 32 (99mg, 0,109mmol, 1 đương lượng) vào dung dịch chứa NHS-PEG $_4$ -maleimide (Thermo Scientific, 61,6mg, 0,120mmol, 1,1 đương lượng) và TEA (18,2 μL , 0,130mmol, 1,2 đương lượng) trong hỗn hợp chứa DCM khan (5mL) và DMF (1mL). Khuấy phản ứng ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, vào thời điểm này phát hiện thấy phản ứng gần như hoàn thành bằng kỹ thuật LC/MS (3,27 phút (ES+) m/z (cường độ tương đối) 1307,55 ($[M + H]^+$, 100)). Loại bỏ các chất dễ bay hơi bằng cách làm bay hơi dưới áp suất giảm. Tinh chế phân cặn bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh (gradient từ 3/97 lên đến 5/95 metanol/clorofom) để thu được 71mg (50%) sản phẩm tinh khiết 35. Dữ liệu phân tích: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,58 (s, 1H), 7,50 (d, 2H, $J = 8,47$ Hz), 7,28 (s, 1H), 7,25-7,20 (m, 2H), 7,18-7,01 (m, 9H), 6,89 (d, 1H, $J = 7,58$ Hz), 6,79 (d, 2H, $J = 8,68$ Hz), 6,59 (s, 2H), 6,51 (s, 1H), 5,77 (d, 1H, $J = 6,42$ Hz), 5,25 (d, 1H, $J = 11,43$ Hz), 4,83-4,64 (m, 2H), 4,63-4,49 (m, 1H), 4,43-4,38 (m, 1H), 4,18 (s, 1H), 3,96-3,85 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,76-3,56 (m, 9H), 3,57-3,34 (m, 15H), 3,34-3,20 (m, 3H), 3,15 (dd, 1H, $J = 14,22$ Hz, $J = 5,60$ Hz), 3,07-2,89 (m, 4H), 2,48-2,29 (m, 4H), 1,97-1,90 (m, 1H), 1,61-1,39 (m, 3H), 1,35 (s, 9H), 1,29-1,12 (m, 4H). MS (ES $^+$) m/z (cường độ tương đối) 1307,55 ($[M + H]^+$, 100).

Hợp chất 36

Bổ sung dung dịch đã làm lạnh chứa 10% TFA trong DCM (10mL) vào mẫu đã làm lạnh (-20°C) chứa hợp chất 35 (70mg, 0,054mmol, 1 đương lượng). Theo dõi phản ứng bằng kỹ thuật LC/MS (2,77 phút (ES+) m/z (cường độ tương đối) 1206,94 ($[M + H]^+$, 100)). Phản ứng hoàn thành sau thời gian 18 giờ ở nhiệt độ -25°C. Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước đã khử ion (50mL) và làm khô lạnh qua đêm (bể nitơ lỏng, để bay hơi mà không làm đầy lại) để thu được muối TFA tinh khiết 36 (75mg, 99%).

Hợp chất 37

Bổ sung dung dịch chứa hợp chất 33 (9,5mg, 8,6 μ mol, 1 đương lượng) trong metanol (1,5mL) vào dung dịch chứa thiopeptit vòng c(RGDfC) (5mg, 8,6 μ mol, 1 đương lượng, từ pepnet.com) trong hỗn hợp chứa metanol (2mL) và nước (1mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong thời gian 1 giờ. Thu kết tủa tạo thành bằng cách lọc và rửa nhẹ bằng hỗn hợp chứa metanol và nước (0,6mL / 0,4mL) và làm khô bằng cách hút chân không để tạo ra 8mg (55%) sản phẩm tinh khiết như được cho thấy bởi LC/MS (3,03 phút (ES+) m/z (cường độ tương đối) 1681,19 ($[M + H]^+$, 10), 790,85 (100)).

Hợp chất 38

Xử lý hợp chất 37 (7mg) bằng TFA 10% trong DCM (1mL) ở nhiệt độ 0°C (bể nước đá) trong thời gian 2 giờ. Phát hiện thấy phản ứng hoàn thành như được cho thấy bởi LC/MS (2,70 phút (ES+) m/z (cường độ tương đối) 791,44 ($[(M + 2H)/2]^+$, 100)). Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước đã khử ion (10mL) và làm khô lạnh qua đêm (bể nitơ lỏng, để bay hơi mà không làm đầy lại) để thu được muối TFA tinh khiết 38 (7mg, hiệu suất định lượng).

Hợp chất 39a

Hợp chất 39a và việc tổng hợp nó được bộc lộ trong WO 00/012508 và WO 2006/111759.

Hợp chất 39b

Phương pháp I: Bổ sung lượng có tác dụng xúc tác của DMF (2 giọt) (sủi bọt!) vào dung dịch đã khuấy chứa nitro-axit 39a (1,0g, 2,15mmol) và oxalyl clorua (0,95mL, 1,36g, 10,7mmol) trong THF khô (20mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong thời gian 16 giờ ở nhiệt độ trong phòng và loại bỏ dung môi bằng cách làm bay hơi trong chân không. Hòa tan lại

phần cặn tạo thành trong THF khô (20mL) và bổ sung từng giọt dung dịch clorua axit vào hỗn hợp đã khuấy chứa (2*S*,4*R*)-metyl-4-hydroxypyrolidin-2-carboxylat hydroclorua (859mg, 4,73mmol) và TEA (6,6mL, 4,79g, 47,3mmol) trong THF (10mL) ở nhiệt độ -30°C (nước đá khô/etylen glycol) trong môi trường khí nitơ. Để cho hỗn hợp phản ứng ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong thời gian 3 giờ nữa, sau thời điểm này TLC (95:5 CHCl₃/MeOH theo thể tích) và LC/MS (2,45 phút (ES+) *m/z* (cường độ tương đối) 721 ([*M* + H]⁺, 20)) cho thấy sự tạo thành sản phẩm. Loại bỏ THF dư bằng cách làm bay hơi kiểu quay và hòa tan phần cặn tạo thành trong DCM (50mL). Rửa lớp hữu cơ bằng HCl 1N (2 x 15mL), NaHCO₃ bão hòa (2 x 15mL), H₂O (20mL), nước muối (30mL) và làm khô (MgSO₄). Lọc và làm bay hơi dung môi tạo ra sản phẩm thô dưới dạng chất dầu có màu sẫm. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh (gradient rửa giải: 100% CHCl₃ đến 96:4 CHCl₃/MeOH theo thể tích) tách được amit tinh khiết 39b dưới dạng chất thủy tinh màu da cam (840mg, 54%).

Phương pháp II: Bổ sung oxalyl clorua (9,75mL, 14,2g, 111mmol) vào huyền phù đã khuấy chứa nitro-axit 39a (17,3g, 37,1mmol) và DMF (2mL) trong DCM khan (200mL). Sau khi sủi bọt lúc đầu, huyền phù phản ứng trở thành dung dịch và khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 16 giờ. Sự chuyển hóa thành clorua axit được xác nhận bằng cách xử lý mẫu chứa hỗn hợp phản ứng bằng MeOH và quan sát bis-metyl este tạo thành bằng kỹ thuật LC/MS. Loại bỏ phần lớn dung môi bằng cách làm bay hơi trong chân không, hòa tan lại dung dịch đặc tạo thành trong một lượng tối thiểu của DCM khô và nghiền với dietyl ete. Thu kết tủa màu vàng tạo thành bằng cách lọc, rửa bằng dietyl ete lạnh và làm khô trong thời gian 1 giờ trong lò chân không ở nhiệt độ 40°C. Bổ sung từng phần clorua axit rắn trong khoảng thời gian 25 phút vào huyền phù đã khuấy chứa (2*S*,4*R*)-metyl-4-hydroxypyrolidin-2-carboxylat hydroclorua (15,2g, 84,0mmol) và TEA (25,7mL, 18,7g, 185mmol) trong DCM (150mL) ở nhiệt độ -40°C (nước đá khô/CH₃CN). Ngay lập tức, phản ứng hoàn thành theo đánh giá bằng kỹ thuật LC/MS (2,47 phút (ES+) *m/z* (cường độ tương đối) 721 ([*M* + H]⁺, 100)). Pha loãng hỗn hợp này bằng DCM (150mL) và rửa bằng HCl 1N(300mL), NaHCO₃ bão hòa (300mL), nước muối (300mL), lọc (thông qua thiết bị tách pha) và làm bay hơi dung môi trong chân không để tạo ra sản phẩm tinh khiết 39b dưới dạng chất rắn màu da cam (21,8g, 82%). Dữ liệu phân tích: [α]²²_D = -46,1° (*c* = 0,47, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) (rotame) δ 7,63 (s, 2H), 6,82 (s, 2H), 4,79-4,72 (m, 2H), 4,49-4,28 (m, 6H), 3,96 (s, 6H), 3,79 (s, 6H), 3,46-3,38 (m, 2H), 3,02 (d, 2H, *J* = 11,1

Hz), 2,48-2,30 (m, 4H), 2,29-2,04 (m, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) (rotame) δ 172,4, 166,7, 154,6, 148,4, 137,2, 127,0, 109,7, 108,2, 69,7, 65,1, 57,4, 57,0, 56,7, 52,4, 37,8, 29,0; IR (ATR, CHCl_3) 3410 (br), 3010, 2953, 1741, 1622, 1577, 1519, 1455, 1429, 1334, 1274, 1211, 1177, 1072, 1050, 1008, 871cm^{-1} ; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 721 ($[M + \text{H}]^+$, 47), 388 (80); HRMS $[M + \text{H}]^+$ theo lý thuyết: $\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_{16}$ m/z 721,2199, phát hiện được: (ES^+) m/z 721,2227.

Hợp chất 39c

Bổ sung từng phần TCCA rắn (32g, 137mmol, 2,2 đương lượng) vào dung dịch chứa TEMPO (1g, 6,4mmol, 0,1 đương lượng) và rượu bis 18 (45g, 62,5mmol, 1 đương lượng), trong DCM thường (500mL) ở nhiệt độ 0°C . Quan sát thấy sự tỏa nhiệt nhẹ. Phản ứng được cho là hoàn thành theo kỹ thuật TLC (etyl axetat) và LC /MS (2,95 phút (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 718,10 ($[M + \text{H}]^+$, 100)) sau thời gian 30 phút. Lọc huyền phù qua xelit và rửa bằng DCM. Rửa phần lọc bằng natri bisulfit trong nước, sau đó là NaHCO_3 bão hòa (chú ý, sủi bọt mạnh), nước muối (200mL) và làm khô (MgSO_4). Lọc và làm bay hơi dung môi trong chân không tạo ra sản phẩm thô mà được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh (rửa giải: 20:80 *n*-hexan/ EtOAc theo thể tích) để tạo ra keton 39c dưới dạng chất rắn màu trắng (28,23g, 63%). Dữ liệu phân tích: $[\alpha]_D^{21} = +18^\circ$ ($c = 0,2$, CHCl_3); MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 718,10 ($[M + \text{H}]^+$, 100); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) hỗn hợp của các rotame δ 7,70 (m, 2H), 6,79 (m, 2H), 5,27 (m, 1H), 4,44 (m, 1H), 4,30 (m, 4H), 3,93 (m, 6H), 3,81 (s, 3H), 3,75 (m, 1H), 3,63 (s, 2H), 3,58 (m, 1H), 3,09-2,89 (m, 2H), 2,74-2,53 (m, 2H), 2,40 (p, 2H, $J = 5,73\text{ Hz}$); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) hỗn hợp của các rotame δ 206,5, 206,4, 206,0, 205,9, 171,2, 171,1, 170,6, 167,0, 166,7, 155,0, 154,5, 148,8, 137,7, 137,3, 126,4, 125,4, 109,8, 109,1, 108,6, 108,4, 108,4, 65,7, 65,6, 65,5, 60,4, 57,9, 56,7, 56,7, 55,1, 53,6, 52,9, 52,9, 51,6, 41,2, 40,1, 28,7, 28,6, 21,0, 14,1; IR (ATR, CHCl_3) 1764, 1650, 1578, 1518, 1415, 1333, 1274, 1217, 1060, 870, 824 759cm^{-1} .

Hợp chất 40

Tiêm một phần 2,6-lutidin khan (4,26mL, 3,92g, 36,6mmol) vào dung dịch đã khuấy mạnh chứa bis-keton 39c (4,23g, 5,90mmol) trong DCM khô (100mL) ở nhiệt độ -45°C (bể nước đá khô/axetonitril làm lạnh) trong môi trường khí nitơ. Tiêm nhanh từng giọt triflic anhydrit khan, lấy từ ống tiêm mới mở (5,96mL, 10g, 35,4mmol), trong khi vẫn duy trì nhiệt độ ở nhiệt độ -40°C hoặc thấp hơn. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ -45°C trong

thời gian 1 giờ, vào thời điểm này TLC (50/50 *n*-hexan/EtOAc theo thể tích) cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu ban đầu. Lập tức pha loãng hỗn hợp phản ứng lạnh bằng DCM (200mL) và, cùng với việc lắc mạnh, rửa bằng nước (1 x 300mL), dung dịch axit xitric 5% (1 x 200mL), NaHCO₃ bão hòa (200mL), nước muối (150mL) và làm khô (MgSO₄). Lọc và làm bay hơi dung môi trong chân không tạo ra sản phẩm thô mà được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh (gradient rửa giải: 70:30 *n*-hexan/EtOAc theo thể tích đến 40:60 *n*-hexan/EtOAc theo thể tích) để tạo ra bis-triflat 40 dưới dạng chất bột màu vàng (1,32g, 23%). Dữ liệu phân tích: $[\alpha]^{25}_D = -68^\circ$ ($c = 0,2$, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,73 (s, 2H), 6,85 (s, 2H), 6,20 (t, 2H, $J = 1,81$ Hz), 5,13 (dd, 2H, $J = 5,05, 11,93$ Hz), 4,33 (t, 4H, $J = 5,91$ Hz), 3,95 (s, 6H), 3,84 (s, 6H), 3,43 (ddd, 2H, $J = 2,28, 11,92, 16,59$ Hz), 2,96 (ddd, 2H, $J = 1,60, 5,05, 16,58$ Hz), 2,44 (p, 2H, $J = 5,79$ Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 169,4, 164,1, 154,7, 149,2, 138,0, 135,2, 124,4, 121,1, 120,0, 116,8, 110,0, 108,4, 65,7, 65,6, 57,0, 56,8, 53,1, 33,3, 28,6; IR (ATR, CHCl₃) 1749, 1654, 1576, 1522, 1418, 1337, 1277, 1207, 1131, 1061, 1023, 910, 821, 757cm⁻¹; MS (ES⁺) m/z (cường độ tương đối) 981,86 ($[M + H]^+$, 100).

Hợp chất 41

Bổ sung Pd(PPh₃)₄ (660mg, 571μmol, 0,08 đương lượng) vào hỗn hợp đã khuấy chứa bis enol triflat 40 (7g, 7,13mmol, 1 đương lượng), axit 4-flophenylboronic (2,6g, 18,5mmol, 2,6 đương lượng), Na₂CO₃ (3,93g, 37,0mmol, 5,2 đương lượng), EtOH (25mL), toluen (50mL) và nước (25mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong môi trường khí nitơ qua đêm, sau thời điểm này quan sát thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu ban đầu bằng kỹ thuật TLC (60/40 EtOAc/Hexan) và LC/MS (3,68 phút (ES⁺) m/z (cường độ tương đối) 873,90 ($[M + H]^+$, 100)). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc (300mL) và rửa bằng H₂O (2 x 200mL), nước muối (100mL), làm khô (MgSO₄), lọc và làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh (gradient rửa giải: 50:50 Hexan/EtOAc theo thể tích đến 80:20 Hexan/EtOAc theo thể tích) tạo ra hợp chất bis C2-aryl 41 dưới dạng chất rắn màu da cam (5,46g, 88%). Dữ liệu phân tích: $[\alpha]^{22}_D = -107^\circ$ ($c = 0,2$, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,76 (s, 2H), 7,14-7,04 (m, 4H), 6,97-6,87 (m, 6H), 6,31 (s, 2H), 5,18 (dd, 2H, $J = 11,68, 5,03$ Hz), 4,36 (t, 4H, $J = 5,87$ Hz), 3,97 (s, 6H), 3,84 (s, 6H), 3,53-3,39 (m, 2H), 3,00 (ddd, 2H, $J = 1,22, 5,01, 16,28$ Hz), 2,46 (p, 2H, $J = 5,98$ Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 171,0, 163,3, 148,9, 138,0, 128,1, 126,3, 126,2,

125,8, 123,1, 122,6, 115,7, 115,5, 110,3, 108,5, 65,7, 58,3, 56,8, 34,7, 28,7; IR (ATR, CHCl_3) 1738, 1650, 1578, 1512, 1416, 1333, 1275, 1212, 1064, 1023, 869, 808, 758, 654, 613cm^{-1} ; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 873,90 ($[M + \text{H}]^+$, 100)).

Hợp chất 42

Bổ sung một phần LiBH_4 (132mg, 21,3mmol, 3 đương lượng) vào dung dịch đã khuấy chứa este 41 (5,30g, 6,07mmol, 1 đương lượng) trong THF khan (100mL) ở nhiệt độ 0°C . Để cho hỗn hợp phản ứng ấm lên đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong thời gian 1 giờ, sau thời điểm này quan sát trực tiếp sự chuyển hóa hoàn toàn nguyên liệu ban đầu bằng kỹ thuật LC/MS (3,42 phút (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 818,35 ($[M + \text{H}]^+$, 100)). Pha loãng cẩn thận hỗn hợp phản ứng này bằng etyl axetat (500mL) và phá hủy borohydrua dư bằng dung dịch nước axit xitric lạnh. Rửa lớp hữu cơ bằng dung dịch nước HCl 1N (100mL), sau đó bằng dung dịch nước NaHCO_3 bão hòa (100mL), nước muối (100mL), làm khô trên MgSO_4 , lọc và làm bay hơi dưới áp suất giảm ở nhiệt độ 35°C để tạo ra sản phẩm rượu trung gian mà ngay lập tức được hòa tan lại trong DCM khan (200mL). Làm lạnh dung dịch này đến nhiệt độ 0°C và bổ sung imidazol (3,97g, 58,0mmol, 9,6 đương lượng), sau đó là TBDMS-Cl (4,390g, 29,1mmol, 4,8 đương lượng). Để cho hỗn hợp phản ứng ấm lên đến nhiệt độ trong phòng và phản ứng trong thời gian 2 giờ. Quan sát thấy phản ứng hoàn toàn bằng kỹ thuật TLC (EtOAc /hexan, 50/50) và LC/MS (4,23 phút (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1045,99 ($[M + \text{H}]^+$, 100)). Rửa dung dịch này bằng dung dịch nước axit xitric 2N (50mL), dung dịch nước NaHCO_3 bão hòa (50mL), nước muối (50mL), làm khô trên MgSO_4 , lọc và làm bay hơi dưới áp suất giảm. Tinh chế phân cặn bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh (gradient từ 80/20 lên đến 60/40 hexan/ EtOAc) để thu được 2,45g (38,6% qua hai bước) sản phẩm tinh khiết dưới dạng chất rắn màu da cam. Dữ liệu phân tích: $[\alpha]_D^{22} = -123^\circ$ ($c = 0,18$, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,76 (s, 2H), 7,17-7,06 (m, 4H), 6,96-6,87 (m, 4H), 6,81 (s, 2H), 6,17 (s, 2H), 4,84-4,72 (m, 2H), 4,35 (t, 4H, $J = 5,87$ Hz), 3,93 (s, 6H), 3,25-3,07 (m, 2H), 3,03-2,91 (m, 2H) 2,45 (p, 2H, $J = 5,92$ Hz), 0,84 (s, 18H), 0,07 (s, 12H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 163,2, 160,7, 154,5, 148,6, 137,9, 130,1, 130,0, 126,7, 126,3, 126,2, 124,3, 123,0, 115,6, 115,4, 110,0, 108,5, 65,7, 60,4, 59,2, 56,7, 33,2, 28,7, 25,8, 25,7, 21,0, 18,2, 14,2, -5,3; IR (ATR, CHCl_3) 2953, 1742, 1650, 1576, 1512, 1417, 1334, 1274, 1214, 1063, 1023, 869, 808, 759, 654, 612cm^{-1} ; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1045,99 ($[M + \text{H}]^+$, 100).

Hợp chất 43

Bổ sung dung dịch chứa axit formic trong etanol (5% thể tích, 100mL) vào huyền phù chứa hợp chất bis-nitro 42 (2,35g, 2,25mmol, 1 đương lượng) và bột kẽm mịn (8,82g, 0,135mmol, 60 đương lượng) trong etanol (35mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 25 phút, vào thời điểm này TLC (metanol/clorofom, 2/98) và LC/MS (4,23 phút (ES+) m/z (cường độ tương đối) 986,3 ($[M + H]^+$, 10), 493,9 ($[(M + 2H)/2]^+$, 100)) cho thấy là phản ứng đã hoàn thành. Lọc huyền phù và phân tách phân lọc giữa etyl axetat (400mL) và dung dịch nước NaHCO_3 bão hòa (200mL). Rửa các lớp hữu cơ bằng nước muối (100mL), làm khô trên MgSO_4 , lọc và làm bay hơi dưới áp suất giảm để thu được bis-amin tinh khiết (2,20g, 98%) mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo.

Hợp chất 44

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa allyl clorofomat (0,209mL, 1,97mmol, 0,9 đương lượng) trong DCM khô (50mL) vào dung dịch chứa hợp chất bis-anilino 43 (2,15g, 2,18mmol, 1 đương lượng) và pyridin (0,335mL, 4,14mmol, 1,9 đương lượng) trong DCM khô (250mL) ở nhiệt độ -78°C . Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ -78°C trong thời gian 2 giờ, và để cho ấm lên đến nhiệt độ trong phòng. Rửa dung dịch này bằng dung dịch nước đồng sulphat bão hòa (2 x 50mL), nước (250mL), bằng nước muối (100mL), làm khô trên MgSO_4 , lọc và làm bay hơi dưới áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh (gradient từ 70/30 lên đến 30/70 hexan/EtOAc) để thu được 668mg (26,5%) hợp chất được bảo vệ bằng bis-Alloc như được cho thấy bởi kỹ thuật LC/MS (4,45 phút (ES+) m/z (cường độ tương đối) 1154,32 ($[M + H]^+$, 100)) và 800mg hợp chất được bảo vệ bằng mono-alloc mong muốn bị nhiễm tạp ở mức độ nhẹ (4,32 phút (ES+) m/z (cường độ tương đối) 1070,58 ($[M + H]^+$, 100)). Tinh chế tiếp hợp chất này bằng sắc ký cột nhanh (gradient từ 40/60 lên đến 20/80 hexan/diethyl ete) để tạo ra 700mg (30%) hợp chất mono-alloc tinh khiết mong muốn. Dữ liệu phân tích: $[\alpha]_D^{22} = -41^\circ$ ($c = 0,16$, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,72 (bs, 1H), 7,88 (s, 2H), 7,25-7,18 (m, 4H), 7,02-6,93 (m, 4H), 6,93-6,83 (m, 3H), 6,80 (s, 1H), 6,36 (s, 1H), 6,00-5,84 (m, 1H), 5,32 (dd, 1H, $J = 1,37$, $J = 17,21$ Hz), 5,21 (dd, 1H, $J = 0,90$, $J = 10,40$ Hz), 4,85-4,71 (m, 2H), 4,60 (dd, 2H, $J = 1,02$, $J = 5,62$ Hz), 4,46 (s, 2H), 4,31 (t, 2H, $J = 5,96$ Hz), 4,25 (t, 2H, $J = 6,31$ Hz), 3,98 (m, 2H), 3,86 (m, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,76 (s, 3H), 3,19-3,05 (m, 2H), 3,05-2,93 (m, 2H), 2,41 (p, 2H, $J = 6,16$ Hz), 0,84 (m, 18H), 0,05 (m, 12H); IR (ATR, CHCl_3) 2952, 2359, 1732, 1652, 1601, 1507,

1472, 1406, 1225, 1119, 836, 777, 668 cm^{-1} ; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1070,58 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 100).

Hợp chất 45

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa amin 44 (650mg, 0,607mmol, 1 đương lượng) và TEA (220 μL , 1,58mmol, 2,6 đương lượng) trong THF khô vào dung dịch mới được điều chế chứa triphosgen (81mg, 0,273mmol, 0,45 đương lượng) trong THF khô (4mL) ở nhiệt độ 0°C. Khuấy huyền phù màu trắng ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 10 phút. Bổ sung nhanh dung dịch chứa rượu (Alloc-Val-Ala-PABOH, 229mg, 0,607mmol, 1 đương lượng) và TEA (220 μL , 1,58mmol, 2,6 đương lượng) trong THF khô (30mL). Khuấy huyền phù màu trắng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 15 phút, sau đó đun nóng ở nhiệt độ 65°C trong thời gian 2 giờ và sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Loại bỏ muối TEA màu trắng bằng cách lọc qua len bông. Cô phần lọc và tinh chế bằng sắc ký cột nhanh (gradien, 0% MeOH trong clorofom lên đến 3% MeOH trong clorofom) để thu được 220mg caramat mong muốn (25%). Dữ liệu phân tích: $[\alpha]_D^{24} = -46,1^\circ$ ($c = 0,13$, CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,70 (bs, 2H), 8,46 (s, 1H), 7,83 (s, 2H), 7,50 (m, 2H), 7,31 (d, 2H, $J = 8,50$ Hz) 7,25-7,15 (m, 4H), 7,03-6,93 (m, 4H), 6,92-6,77 (m, 4H), 6,51 (d, 1H, $J = 7,48$ Hz), 5,99-5,81 (m, 1H), 5,38-5,15 (m, 5H), 5,13-5,03 (m, 2H), 4,77 (bs, 2H), 4,66-4,53 (m, 5H), 4,38-4,22 (m, 4H), 4,08-3,94 (m, 3H), 3,93-3,81 (m, 2H), 3,79 (s, 6H), 3,20-3,05 (m, 2H), 3,05-2,94 (m, 2H), 2,41 (p, 2H, $J = 5,95$ Hz), 2,22-2,08 (m, 1H), 1,45 (d, 3H, $J = 7,03$ Hz), 0,94 (dd, 6H, $J = 6,81, 14,78$ Hz), 0,84 (m, 18H), 0,14-0,02 (m, 12H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 171,7, 169,8, 165,9, 163,1, 153,6, 151,0, 144,3, 137,8, 132,4, 132,3, 132,0, 130,2, 129,2, 126,2, 126,1, 125,3, 123,3, 123,2, 119,8, 118,2, 118,0, 115,7, 115,5, 112,0, 106,0, 66,5, 66,2, 65,8, 65,4, 62,5, 60,4, 59,5, 56,6, 49,6, 30,8, 28,9, 25,7, 19,2, 18,2, 18,1, 17,7, 17,3, 14,2, -5,4; IR (ATR, CHCl_3) 2950, 2356, 1725, 1691, 1602, 1512, 1408, 1201, 1109, 1023, 832, 774, 668 cm^{-1} ; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1473,43 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 100).

Hợp chất I2

Hydro hóa 1-benzyl 19-(2,5-dioxopyrolidin-1-yl) 4,7,10,13,16-pentaoxanonadecan-1,19-dioat (I1) (100mg, 0,19mmol, 1 đương lượng) trong etyl axetat khô (15mL) ở áp suất 30 psi (206,9 Kpa) qua 10% paladi trên cacbon (10mg, 10% trọng lượng) trong thời gian 45 phút. Lọc hỗn hợp phản ứng qua xelit, rửa bằng etyl axetat khô. Làm bay hơi dưới áp suất giảm tạo ra sản phẩm I2 dưới dạng chất dầu không màu (74mg, 89%). Dữ liệu phân tích: R_T

(không thấy được bằng LC) MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 458 ($[M + Na]^+$, 55), 436 ($[M + H]^+$, 12).

Hợp chất I3

Bổ sung *N,N*-diisopropyldietylamin (8,4 μ L, 6mg, $5,97 \times 10^{-5}$ mol, 1,1 đương lượng) vào dung dịch chứa amin dipeptit (12c) (50mg, $5,42 \times 10^{-5}$ mol, 1,0 đương lượng) và este axit-dPeg®5-NHS (I2) (28mg, $6,5 \times 10^{-5}$ mol, 1,2 đương lượng) trong DCM khô (5mL). Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 24 giờ. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm để tạo ra chất dầu màu vàng nhạt. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải 96% clorofom/4% metanol đến 92% clorofom/8% metanol với gia số 0,5%] tạo ra sản phẩm I3 dưới dạng chất thủy tinh màu vàng (42mg, 64%). Dữ liệu phân tích: R_T 2,78 phút; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1242 ($[M + H]^+$, 40).

Hợp chất 49

Bổ sung 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)carbodiimide (9,1mg, $4,76 \times 10^{-5}$ mol, 1,6 đương lượng) vào dung dịch chứa *N*-hydroxysuxinimide (5,8mg, $5,06 \times 10^{-5}$ mol, 1,7 đương lượng) và axit (I3) trong DCM khô (6mL) trong môi trường khí nitơ. Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 48 giờ. Lọc dung dịch, rửa bằng DCM (10mL). Rửa dung dịch DCM rửa bằng nước (20mL), nước muối (20mL), làm khô ($MgSO_4$) và làm bay hơi dưới áp suất giảm. Sản phẩm 49 (32mg, 80%) được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. Dữ liệu phân tích: R_T 2,88 phút; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1339 ($[M + H]^+$, 100).

Hợp chất 50

Bổ sung $Pd(PPh_3)_4$ (61mg, 0,053mmol, 0,01 đương lượng) vào dung dịch chứa hợp chất alloc (8) (2,0g, 5,3mmol, 1,0 đương lượng) và pyrrolidin (0,47g, 0,55mL, 6,63mmol, 1,25 đương lượng) trong DCM khô trong môi trường khí nitơ. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 16 giờ. LCMS cho thấy sự có mặt của hợp chất alloc không phản ứng. Bổ sung các phần khác của pyrrolidin (0,38g, 0,44mL, 5,3mmol, 1,0 đương lượng) và $Pd(PPh_3)_4$ (61mg, 0,053mmol, 0,01 đương lượng) và phản ứng tiếp tục trong thời gian 30 phút nữa. Làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải 100% clorofom, sau đó 98% clorofom/2% metanol đến 90% clorofom/10% metanol với gia số 1%] tạo ra sản phẩm 50 dưới dạng chất bột màu trắng

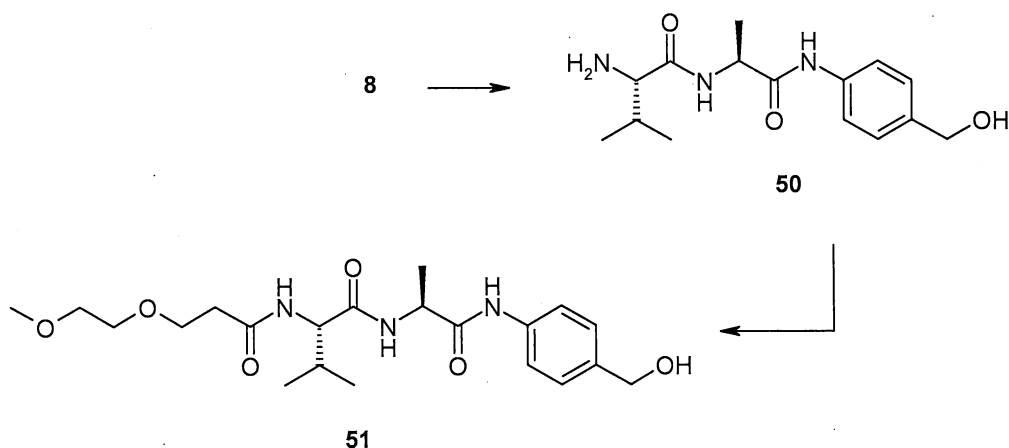
(1,37g, 88%). Dữ liệu phân tích: R_T 0,33 phút; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 294 ($[M + H]^+$, 60), MS (ES^-) m/z (cường độ tương đối) 292 ($[M - H]^-$, 100).

Hợp chất 51

Bổ sung EEDQ (1,22g, 4,93mmol, 1,05 đương lượng) vào dung dịch chứa amin dipeptit (50) (1,37g, 4,69mmol, 1 đương lượng) và axit m-dPeg®2 (0,73g, 4,93mmol, 1,05 đương lượng) trong THF khô (60mL). Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày. Làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm. Tinh chế phân cận bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [100% clorofom đến 95% clorofom/5% metanol với gia số 1%] để tạo ra sản phẩm 51 dưới dạng chất rắn màu trắng (1,46g, 74%). Dữ liệu phân tích: R_T 2,22 phút; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 446 ($[M + Na]^+$, 80), 424 ($[M + H]^+$, 70), MS (ES^-) m/z (cường độ tương đối) 422 ($[M - H]^-$, 100).

Quy trình tổng hợp 51 được nêu dưới đây trong sơ đồ 14.

Sơ đồ 14.



Hợp chất 52

Bổ sung triethylamin (0,47g, 0,65mL, 4,66mmol, 2,2 đương lượng) vào dung dịch đã khuấy chứa *bis*-anilin được bảo vệ bằng mono-alloc (6) (1,68g, 2,12mmol, 1 đương lượng) và triphosgen (0,226g, 0,76mmol, 0,36 đương lượng) trong THF khô (40mL) trong môi trường khí nitơ ở nhiệt độ trong phòng. Đun nóng hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 40°C, xử lý mẫu bằng metanol và phân tích bằng LCMS như methyl carbamat.

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa rượu dPeg®2-benzylic (51) (1,35g, 3,18mmol, 1,5 đương lượng) và triethylamin (0,32g, 0,44mL, 3,18mmol, 1,5 đương lượng) trong THF khô (60mL) vào isoxyanat mới được điều chế. Theo dõi hỗn hợp phản ứng này bằng LCMS với

khoảng cách thời gian là 30 phút. Sau thời gian 3 giờ, LC-MS cho thấy sự chuyển hóa thành sản phẩm, sự có mặt của methyl carbamat và *bis*-anilin được bảo vệ bằng mono-alloc (9). Bổ sung phần khác của triphosgen (0,056g, 0,19mmol, 0,09 đương lượng) và phản ứng tiếp tục ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 3 giờ nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô để tạo ra sản phẩm thô dưới dạng chất dầu màu vàng mà được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải 100% clorofom đến 95% clorofom/5% metanol với gia số 1%] để tạo ra sản phẩm mong muốn 52 dưới dạng chất bột màu vàng (1,91g, 73%). Dữ liệu phân tích: R_T phút 3,42 phút MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1243 ($[M + H]^+$, 50), MS (ES^-) m/z (cường độ tương đối) 1241 ($[M - H]^-$, 100).

Hợp chất 53

Bổ sung $Pd(PPh_3)_4$ (35mg, $3,0 \times 10^{-5}$ mol, 0,02 đương lượng) vào dung dịch chứa hợp chất alloc (52) (1,87g, 1,5mmol, 1,0 đương lượng) và pyrrolidin (0,27mg, 310 μ L, 3,8mmol, 2,5 đương lượng) trong DCM khô (30mL) trong môi trường khí nitơ. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 4 giờ. Làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm và tinh chế sản phẩm bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải 100% clorofom đến 95% clorofom/5% metanol với gia số 1%] để tạo ra sản phẩm 53 dưới dạng chất bột màu vàng (1,57g, 90%). Dữ liệu phân tích: R_T phút 3,17 phút MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1159 ($[M + H]^+$, 65).

Hợp chất 54

Bổ sung triethylamin (0,26g, 0,36mL, 2,6mmol, 2,2 đương lượng) vào dung dịch đã khuấy chứa *bis*-anilin được bảo vệ bằng một nhóm (53) (1,37g, 1,18mmol, 1 đương lượng) và triphosgen (0,126g, 0,43mmol, 0,36 đương lượng) trong THF khô (40mL) trong môi trường khí nitơ ở nhiệt độ trong phòng. Đun nóng hỗn hợp phản ứng đến 40°C, xử lý mẫu bằng metanol và phân tích bằng LC-MS như methyl carbamat, cho thấy sự tạo thành isoxynat hoàn toàn.

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa rượu benzylic (8) (0,67g, 1,8mmol, 1,5 đương lượng) và triethylamin (0,18g, 0,25mL, 1,8mmol, 1,5 đương lượng) trong THF khô (50mL) vào isoxynat mới được điều chế. Theo dõi hỗn hợp phản ứng này bằng LCMS và phản ứng hoàn thành sau 18 giờ ở nhiệt độ 40°C. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô để tạo ra chất dầu màu vàng mà được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải 95% etylaxetat/5% metanol đến 93% etylaxetat/7% metanol với gia số 1%] để tạo ra sản phẩm

mong muốn 54 dưới dạng chất bột màu trắng (1,21g, 66%). Dữ liệu phân tích: R_T phút 3,42 phút MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1562 ($[M + H]^+$, 15).

Hợp chất 55

Bổ sung dung dịch chứa K_2CO_3 (0,522g, 3,78mmol, 5 đương lượng) trong H_2O (5,0mL) vào dung dịch chứa axetat (54) (1,18g, 0,756mmol, 1 đương lượng) trong metanol (29mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ. Làm bay hơi metanol dưới áp suất giảm, pha loãng phần cặn bằng H_2O (50mL) và chiết bằng etyl axetat (3 x 100mL). Rửa các phần chiết etyl axetat gộp lại bằng H_2O (200mL), nước muối (200mL), làm khô ($MgSO_4$) và làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm 55 dưới dạng chất bột màu trắng (1,052g, 94%). Dữ liệu phân tích: R_T phút 3,15 phút MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1478 ($[M + H]^+$, 5), MS (ES^-) m/z (cường độ tương đối) 1477 ($[M - H]^-$, 100).

Hợp chất 56

Bổ sung một phần periodinan Dess-Martin (0,152g, 0,36mmol, 2,1 đương lượng) vào dung dịch chứa sản phẩm *bis* đã được tách nhóm axetyl (55) (0,252g, 0,17mmol, 1 đương lượng) trong DCM khô (5mL) trong môi trường khí nitơ. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ, vào thời điểm này LCMS cho thấy rằng phản ứng đã hoàn thành. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM (50mL) và rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (3 x 100mL), nước (100mL), nước muối (100mL) và làm khô ($MgSO_4$). Loại bỏ dung môi bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradien rửa giải 100% clorofom đến 92% clorofom/8% metanol với gia số 1%] tạo ra sản phẩm 56 dưới dạng chất bột màu trắng (0,17g, 68%). Dữ liệu phân tích: R_T phút 6,17 phút MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1474 ($[M + H]^+$, 5), MS (ES^-) m/z (cường độ tương đối) 1472 ($[M - H]^-$, 100).

Hợp chất 57

Bổ sung $Pd(PPh_3)_4$ (8mg, 6,9 μ mol, 6,0 đương lượng) vào dung dịch chứa hợp chất alloc (56) (160mg, 0,108mmol, 1,0 đương lượng) và dung dịch pyrrolidin 0,5 M trong DCM (0,27mL, 0,135mmol, 1,25 đương lượng) trong DCM khô (18mL) trong môi trường khí nitơ. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 30 phút. Làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradien rửa giải 100% clorofom đến 91% clorofom/9% metanol với gia số 1%] tạo ra sản phẩm 57 dưới

dạng chất bột màu trắng (0,114g, 74%). Dữ liệu phân tích: R_T phút 2,60 phút MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1390 ($[M + H]^+$, 5).

Cộng hợp chất phản ứng maleimit-PEG-suxinimit với hợp chất 57 tạo ra được chất PBD-nhóm liên kết 58. Fig.1b thể hiện các cấu trúc của được chất PBD-nhóm liên kết MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD 58 trong đó MP là maleimidopropanamit, PEG là etylenoxy và PAB là para-aminobenzyloxycarbonyl, và imp là nhóm bảo vệ *N*-10 imin: 3-(2-metoxyetoxy)propanoat-Val-Ala-PAB.

Hợp chất 58 (MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD; (11S,11aS)-4-((2S,5S)-37-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)-5-isopropyl-2-metyl-4,7,35-trioxo-10,13,16,19,22,25,28,31-octaoxa-3,6,34-triazaheptatriacontanamido)benzyl 11-hydroxy-8-(5-((11S,11aS)-11-hydroxy-10-((4-((10S,13S)-10-isopropyl-13-metyl-8,11-dioxo-2,5-dioxa-9,12-diazatetradecanamido)benzyloxy)carbonyl)-7-metoxi-2-metylen-5-oxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-pyrolobenzo[2,1-c][1,4]diazepin-8-yloxy)pentyl-7-metoxi-2-metylen-5-oxo-2,3,11,11a-tetrahydro-pyrolobenzo[2,1-c][1,4]diazepin-10(5H)-carboxylat)

Bổ sung dung dịch 0,5M chứa *N,N*-diisopropyldietylamin trong DCM khô (176 μ L, 8,8 x 10⁻⁵mol, 2,2 đương lượng) vào dung dịch chứa amin dipeptit (57) (55mg, 3,96 x 10⁻⁵mol, 1,0 đương lượng) và maleimit-dPeg@8-NHS este (33mg, 4,75 x 10⁻⁵mol, 1,2 đương lượng) trong DCM khô (6mL). Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 24 giờ. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm và hòa tan lại phần cặn trong DCM (50mL). Chiết dung dịch DCM bằng natri hydrocacbonat bão hòa (2 x 100mL), nước (100mL), nước muối (100mL), làm khô ($MgSO_4$) và làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra chất gồm màu vàng. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradien clorofom rửa giải đến 91% clorofom/9% metanol với gia số 1%] tạo ra sản phẩm 58 dưới dạng chất bột màu trắng (41mg, 52%). Dữ liệu phân tích: R_T phút 5,8 phút. MS (MaldiTOF) m/z (cường độ tương đối) 1987,9 ($[M + Na]^+$, 100).

Thử liên hợp 60

Peptit biotin-A20FMDV-Cys (59) có tính phản ứng cao đối với integrin $\alpha_v\beta_6$, mà được điều tiết tăng đáng kể bởi nhiều bệnh ung thư, được chọn để liên hợp các dẫn xuất PBD-nhóm liên kết. Bổ sung dung dịch chứa peptit (59) (7,7mg, 3,08 μ mol, 1,2 đương lượng) trong axetonitril/nước 1/1 (1mL) vào dung dịch chứa (58) (5,05mg, 2,57 μ mol, 1,0 đương lượng) trong axetonitril/nước 1/1 (2mL). Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong

thời gian 24 giờ. Làm bay hơi axetonitril dưới áp suất giảm và loại bỏ nước bằng cách làm đông khô để tạo ra sản phẩm 60 chất bột màu trắng. Tinh chế bằng kỹ thuật HPLC bán điều chế, sau đó làm đông khô, tạo ra sản phẩm dưới dạng chất bột màu trắng (3,4mg, 29%). Dữ liệu phân tích: MS (MaldiTOF) m/z (cường độ tương đối) 4458,3 ($[M + H]^+$, 100).

Hợp chất 61 (MP-PEG24-Val-Ala-PAB-(imp)PBD; (11S,11aS)-4-((2S,5S)-16-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)-5-isopropyl-2-metyl-4,7,14-trioxo-10-oxa-3,6,13-triazahexadecanamido)benzyl 11-hydroxy-8-((5-(((11S,11aS)-11-hydroxy-10-(((4-((10S,13S)-10-isopropyl-13-metyl-8,11-dioxo-2,5-dioxa-9,12-diazatetradecanamido)benzyl)oxy)cacbonyl)-7-metoxi-2-metylen-5-oxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-pyrol[2,1-c][1,4]benzodiazepin-8-yl)oxy)pentyl)oxy)-7-metoxi-2-metylen-5-oxo-2,3,11,11a-tetrahydro-1H-pyrol[2,1-c][1,4]benzodiazepin-10(5H)-carboxylat)

Bổ sung NN-diisopropyldietylamin (6 μ L, $4,3 \times 10^{-5}$ mol, 2,2 đương lượng) vào dung dịch chứa amin dipeptit (57) (27mg, $1,94 \times 10^{-5}$ mol, 1 đương lượng) và maleimide-dPeg®24-NHS este (30mg, $2,13 \times 10^{-5}$ mol, 1,1 đương lượng) trong DCM khô (5mL). Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 24 giờ. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm và hòa tan lại phần cặn trong DCM (25mL). Chiết dung dịch DCM bằng natri hydrocacbonat bão hòa (2 x 50mL), nước (50mL), nước muối (50mL), làm khô ($MgSO_4$) và làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra chất gồm màu vàng. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient clorofom rửa giải đến 91% clorofom/9% metanol với gia số 1%] tạo ra sản phẩm dưới dạng chất gồm không màu (22mg, 42%). Dữ liệu phân tích: MS (MaldiTOF) m/z (cường độ tương đối) 2691,8 ($[M + H]^+$, 100).

(2S,2'S,E)-dimetyl 1,1'-(4,4'-(propan-1,3-diylbis(oxy))bis(5-metoxi-2-nitrobenzoyl))bis(4-((E)-prop-1-en-1-yl)-2,3-dihydro-1H-pyrol-2-carboxylat)(71)

Bổ sung tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0) (21,6mg) vào triflate 40 (230mg), axit *trans*-propenylboronic(52,3mg) và natri cacbonat (129mg) trong hỗn hợp chứa toluen (5mL), etanol (2,5mL) và nước (2,5mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 3 giờ trong môi trường khí argon ở nhiệt độ 32°C. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng etyl axetat và rửa bằng nước, nước muối và làm khô trên magie sulphat. Sau khi lọc, loại bỏ etyl axetat dư bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm. Tinh chế sản phẩm cộng hợp thô bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh (silicagel; gradient 50%/50% etyl axetat/hexan đến 80%/20% etyl axetat/hexan). Gộp các phân đoạn tinh khiết và loại bỏ dịch rửa giải dư tạo ra sản phẩm tinh

khiết 71 dưới dạng chất rắn màu da cam (110mg, hiệu suất 61,4%, LC/MS 3,52 phút, m/z ES^+ 764,92). Lặp lại phản ứng này trên quy mô lớn hơn để tạo ra 7,21g sản phẩm cộng hợp Suzuki. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD). δ 7,78 (s, 2H) 6,92 (s, 2H), 5,98 (d, 2H), 5,89 (s, 2H), 5,46-5,55 (m, 2H), 5,10 (dd, 2H), 4,37 (t, 4H), 3,93-4,00 (m, 6H), 3,86 (s, 6H), 3,19-3,26 (m, 2H), 2,80 (dd, 2H), 2,45-2,51 (m, 2H), 1,77 (d, 6H OCH_3).

(S,E)-((propan-1,3-diylbis(oxy))bis(5-metoxo-2-nitro-4,1-phenylen))bis(((S)-2-(hydroxymetyl)-4-((E)-prop-1-en-1-yl)-2,3-dihydro-1H-pyrol-1-yl)metanon) (72)

Bổ sung một phần *bis*-este 71 (7,21g) dưới dạng chất rắn vào dung dịch chứa lithi borohydrua (622mg) trong tetrahydrofuran khô (300mL), ở nhiệt độ 0°C (bể nước đá). Bỏ bể nước đá và để cho hỗn hợp phản ứng đạt tới nhiệt độ trong phòng. Sau thời gian 1 giờ, TLC (sau khi xử lý giảm thiểu bằng etyl axetat nước) cho thấy rằng phản ứng không hoàn thành và vì vậy bổ sung thêm lithi borohydrua (0,75 đương lượng). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong thời gian 2,5 giờ nữa, vào thời điểm này TLC (sau khi xử lý giảm thiểu) cho thấy rằng phản ứng đã hoàn thành. Tới lithi borohydrua còn lại bằng lượng dư lớn của etyl axetat (bể nước đá) và khuấy hỗn hợp phản ứng trong thời gian 50 phút. Rửa pha hữu cơ bằng nước, nước muối và làm khô trên magie sulphat. Loại bỏ magie sulphat bằng cách lọc chân không và loại bỏ etyl axetat bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm để tạo ra diol 72 (5,46g, hiệu suất 82%), được sử dụng trong phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm (LC/MS 3,17 phút, m/z ES^+ 708,84). ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD). δ 7,78 (s, 2H) 6,85 (s, 2H), 5,97 (d, 2H), 5,77 (s, 2H), 5,61-5,53 (m, 2H), 4,75-4,82 (m, 2H), 4,38 (t, 4H), 3,89-4,00 (m, 12H), 3,01-3,08 (m, 2H) 2,46-2,51 (m, 4H), 1,77 (d, 6H OCH_3).

((2S,2'S,E)-1,1'-(4,4'-(propan-1,3-diylbis(oxy))bis(5-metoxo-2-nitrobenzoyl))bis(4-((E)-prop-1-en-1-yl)-2,3-dihydro-1H-pyrol-2,1-diyl))bis(metylen) diaxetat (73)

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa axetyl clorua (1,64mL) trong diclometan khô (40mL) vào dung dịch chứa rượu *bis* 72 (6,2g) trong diclometan (200mL) trong điều kiện có mặt của trietylamin (3,68mL) ở nhiệt độ 0°C. Để cho hỗn hợp phản ứng ấm đến nhiệt độ trong phòng và theo dõi phản ứng bằng TLC và LC/MS. Khi phản ứng đã hoàn thành, rửa pha hữu cơ lần lượt bằng nước, axit xitric (0,5N), natri bicacbonat bão hòa và nước muối. Làm khô lớp hữu cơ trên magie sulphat, lọc và loại bỏ diclometan dư bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm. Đưa phần cặn vào cột sắc ký (silicagel; gradien, 60% etyl axetat/ 40% hexan đến 70% etyl axetat/30% hexan). Gộp các phân đoạn tinh khiết và loại

bỏ dịch rửa giải dư tạo ra *bis*-axetat 73 (2,50g, hiệu suất 36%, LC/MS 3,60 phút, m/z ES⁺ 792,63). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,77 (d, J = 3,4 Hz, 2H), 6,89 (s, 2H), 5,99 (d, J = 15,2 Hz, 2H), 5,78 (s, 2H), 5,65 – 5,45 (m, J = 15,4, 6,8 Hz, 2H), 5,02 – 4,86 (m, J = 9,7, 5,5 Hz, 2H), 4,57 (s, 2H), 4,37 (t, J = 5,9 Hz, 4H), 4,00 (s, 6H), 3,10 – 2,92 (m, J = 10,7 Hz, 2H), 2,60 (dd, J = 16,3, 3,1 Hz, 2H), 2,52 – 2,43 (m, 2H), 2,10 (s, 6H), 1,78 (d, J = 6,7 Hz, 4H).

((2S,2'S,E)-1,1'-(4,4'-(propan-1,3-diylbis(oxy))bis(2-amino-5-metoxybenzoyl))bis(4-((E)-prop-1-en-1-yl)-2,3-dihydro-1H-pyrol-2,1-diyl))bis(metylen) diaxetat (74)

Bổ sung bột kẽm (10g) vào dung dịch chứa hợp chất *bis*-nitro 73 (2,5g) trong etanol (20mL) và etyl axetat (20mL), sau đó là dung dịch chứa axit formic trong etanol (5% thể tích; 100mL). Phản ứng tỏa nhiệt với nhiệt độ tăng lên đến 33°C, làm giảm nhiệt độ xuống 15°C bằng bể nước đá và khuấy hỗn hợp phản ứng trong khi theo dõi kỹ bằng kỹ thuật TLC và LC/MS. Sau thời gian 30 phút, phản ứng được cho là hoàn thành khi không phát hiện thấy lượng vết nào của nguyên liệu ban đầu hoặc sản phẩm trung gian. Lắng gạn hỗn hợp này và lọc qua len bông. Phân tách phần lọc giữa etyl axetat (300mL) và dung dịch nước NaHCO₃ bão hòa (300mL). Rửa tiếp lớp hữu cơ bằng nước muối (200mL) và làm khô trên magie sulphat. Loại bỏ dung môi dư bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm 74 (2,09g; hiệu suất 90%, LC/MS 3,35 phút, m/z ES⁺ 732,06). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6,76 (s, 2H), 6,45 (s, 2H), 6,33 (s, 2H), 6,12 (d, J = 15,3 Hz, 2H), 5,54 (dq, J = 13,2, 6,6 Hz, 2H), 4,90 (td, J = 9,6, 4,5 Hz, 2H), 4,48 (s, 4H), 4,42 – 4,33 (m, 4H), 4,23 (t, J = 6,1 Hz, 4H), 3,79 (s, 6H), 2,95 (dd, J = 16,0, 10,4 Hz, 2H), 2,55 (dd, J = 16,2, 3,5 Hz, 2H), 2,42 – 2,32 (m, 2H), 2,07 (s, 6H), 1,81 (d, J = 6,6 Hz, 6H).

((S)-1-(4-(3-(4-((S)-2-(axetoxymetyl)-4-((E)-prop-1-en-1-yl)-2,3-dihydro-1H-pyrol-1-cacbonyl)-5-(((alyloxy)cacbonyl)amino)-2-metoxyphenoxy)propoxy)-2-amino-5-metoxybenzoyl)-4-((E)-prop-1-en-1-yl)-2,3-dihydro-1H-pyrol-2-yl)metyl (75)

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa allyl clorofomat trong diclometan khô vào dung dịch chứa *bis*-anilin 74 và pyridin trong diclometan khô ở nhiệt độ -78°C. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ -78°C trong thời gian 2 giờ và tiếp đó để cho quay trở lại nhiệt độ trong phòng. Rửa hỗn hợp phản ứng liên tục bằng dung dịch nước đồng II sulphat, nước, natri bicacbonat bão hòa và nước muối. Làm khô lớp hữu cơ trên magie sulphat, lọc trong chân không và loại bỏ diclometan dư bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm. TLC

và LC/MS cho thấy sự có mặt của cả sản phẩm mono Alloc mong muốn 75 và sản phẩm *bis*-Alloc. Đưa hỗn hợp sản phẩm vào cột sắc ký (silicagel; gradien 40% etyl axetat/60% hexan đến 70% etyl axetat/ 40% hexan). Thu các phân đoạn tinh khiết chứa sản phẩm mono Alloc mong muốn 75 và gộp lại, loại bỏ dịch rửa giải dư bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm (580mL, hiệu suất 25%). LC/MS 3,58 phút, ES⁺ 817,02 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,60 (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 6,80 (s, 1H), 6,72 (s, 1H), 6,42 (s, 1H), 6,37 (s, 1H), 6,33 (s, 1H), 6,08 (dd, *J* = 15,4, 6,1 Hz, 2H), 6,00 – 5,87 (m, 1H), 5,62 – 5,44 (m, 2H), 5,34 (dd, *J* = 17,2, 1,4 Hz, 1H), 5,23 (dd, *J* = 10,4, 1,2 Hz, 1H), 4,88 (qd, *J* = 9,5, 4,5 Hz, 2H), 4,67 – 4,57 (m, 2H), 4,50 – 4,25 (m, 8H), 4,22 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,76 (s, 3H), 3,00 – 2,85 (m, 2H), 2,58 – 2,47 (m, 2H), 2,37 (p, *J* = 6,1 Hz, 2H), 2,06 (s, 6H), 1,81 – 1,73 (m, 6H).

((2S)-1-(4-(3-(4-((S)-2-(axetoxymetyl)-4-((E)-prop-1-en-1-yl)-2,3-dihydro-1H-pyrol-1-cacbonyl)-5-((((4-(2-(2-(((alyloxy)cacbonyl)amino)-3-metylbutanamido)propanamido)benzyl)oxy)cacbonyl)amino)-2-metoxypheoxy)propoxy)-2-(((alyloxy)cacbonyl)amino)-5-metoxycarbonyl)-4-((E)-prop-1-en-1-yl)-2,3-dihydro-1H-pyrol-2-yl)metyl axetat (76)

Bổ sung triethylamin khô (0,206mL) vào dung dịch đã khuấy chứa *bis*-anilin được bảo vệ bằng mono-alloc 75 (560mg) và triphosgen (72mg) trong tetrahydrofuran khô (20mL) trong môi trường khí trơ. Đun nóng hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 40°C và lấy mẫu ra và xử lý bằng metanol. LC/MS cho thấy sự chuyển hóa hoàn toàn thành metyl carbamat, thể hiện rằng nhóm amin tự do đã được chuyển hóa thành công thành sản phẩm isoxyanat trung gian có tính phản ứng. Tiêm nhanh dung dịch chứa alloc-val-ala-PABOH (381mg) và triethylamin (0,14mL) trong tetrahydrofuran khô (20mL) vào trong bình phản ứng ở nhiệt độ 40°C. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, sau thời điểm này lấy mẫu ra và xử lý bằng metanol. LC/MS cho thấy rằng không có lượng vết nào của metyl carbamat, thể hiện rằng tất cả isoxyanat đều đã được tiêu thụ. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô để tạo ra sản phẩm thô mà được tinh chế bằng cột sắc ký (silicagel; gradien clorofom đến 2% metanol/98% clorofom). Thu các phân đoạn tinh khiết và gộp lại và loại bỏ dịch rửa giải dư bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm tinh khiết 76 (691mg, hiệu suất 84%). LC/MS 3,73 phút, ES⁺ 1220,21.

Alyl 4-(2-(2-(((alyloxy)cacbonyl)amino)-3-metylbutanamido)propanamido)benzyl ((S,E)-(propan-1,3-diylbis(oxy))bis(2-((S)-2-(hydroxymetyl)-4-((E)-prop-1-en-1-yl)-2,3-dihydro-1H-pyrol-1-cacbonyl)-4-metoxi-5,1-phenylen))dicarbamat (77)

Bổ sung dung dịch nước chứa kali cacbonat (770mg trong 4,8mL nước) vào dung dịch chứa *bis*-axetat 76 (680mg) trong metanol (29mL) ở nhiệt độ trong phòng. Sự tách nhóm axetyl hoàn thành trong vòng 30 phút như được theo dõi bằng kỹ thuật LC/MS. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng diclometan (200mL) và rửa pha hữu cơ lần lượt bằng axit xitric (0,5N, 100mL), nước (200mL) và nước muối (100mL). Làm khô pha hữu cơ này trên magie sulphat, lọc huyền phù (lọc chân không) và loại bỏ dung môi dư bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm. Đưa phần cặn vào cột sắc ký (silicagel; gradien 1,5% metanol/98,5% clorofom đến 3,5% metanol/96,5% clorofom). Gộp các phân đoạn tinh khiết và loại bỏ dịch rửa giải dư bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm tạo ra diol 77 (530mg, hiệu suất 84%). LC/MS 3,40 phút, ES⁺ 1136,49.

(11S,11aS)-allyl 8-(3-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-(((allyloxy)carbonyl)amino)-3-methylbutanamido)propanamido)benzyl)oxy)carbonyl)-11-hydroxy-7-methoxy-5-oxo-2-((E)-prop-1-en-1-yl)-5,10,11,11a-tetrahydro-pyrido[2,1-c][1,4]benzodiazepin-8-yl)oxy)propoxy)-11-hydroxy-7-methoxy-5-oxo-2-((E)-prop-1-en-1-yl)-11,11a-dihydro-pyrido[2,1-c][1,4]benzodiazepin-10(5H)-carboxylat (78)

Bổ sung một phần periodinan Dess-Martin (373mg, 4 đương lượng) vào dung dịch chứa 77 (250mg) và pyridin (0,36mL, 20 đương lượng) trong diclometan khô (10mL) ở nhiệt độ trong phòng. Theo dõi kỹ bằng kỹ thuật TLC (5% metanol/ clorofom) cho thấy sự biến mất của nguyên liệu ban đầu sau thời gian 30 phút. Xử lý phản ứng bằng dung dịch chứa natri metabisulphit và natri hydrocacbonat, sau đó bằng nước muối. Làm khô lớp diclometan trên magie sulphat và lọc chân không. Tiếp đó, xử lý dung dịch diclometan bằng lượng có tác dụng xúc tác của DMAP (c. 10mg), làm cho đám sản phẩm chính kết tụ thành một khối như được quan sát thấy bằng kỹ thuật TLC/LC/MS. Lọc dung dịch này và loại bỏ diclometan bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm. Đưa phần cặn tạo thành vào cột sắc ký (silicagel; gradien 1,5% metanol/98,5% clorofom đến 3% metanol/97% clorofom). Thu các phân đoạn tinh khiết và loại bỏ dịch rửa giải bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm đóng vòng mong muốn 78 (62mg, hiệu suất 25%). LC/MS 3,35 phút, ES⁺ 1132,19, ES⁻ 1130,25.

(11S,11aS)-4-((S)-2-((S)-2-amino-3-methylbutanamido)propanamido)benzyl 11-hydroxy-7-methoxy-8-(3-(((S)-7-methoxy-5-oxo-2-((E)-prop-1-en-1-yl)-5,11a-dihydro-pyrido[2,1-c][1,4]d benzoiazepin-8-yl)oxy)propoxy)-5-oxo-2-((E)-prop-1-en-1-yl)-11,11a-dihydro-pyrido[2,1-c][1,4]benzodiazepin-10(5H)-carboxylat (79)

Bổ sung $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (1,9mg) vào dung dịch chứa hợp chất alloc (78) (62mg) và pyrrolidin (22,6 μL) trong DCM khô (3mL) trong môi trường khí argon. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1,5 giờ. Làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải 3% metanol/97% clorofom đến 90% clorofom/10% metanol] tạo ra sản phẩm dưới dạng chất bột màu trắng (26mg, 50%). LC/MS: RT 2,70 phút MS (ES^+) 946,17.

(11S,11aS)-4-((2S,5S)-25-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)-5-isopropyl-2-methyl-4,7,23-trioxo-10,13,16,19-tetraoxa-3,6,22-triazapentacosanamido)benzyl 11-hydroxy-7-metoxi-8-(3-(((S)-7-metoxi-5-oxo-2-((E)-prop-1-en-1-yl)-5,11a-dihydro-pyrol[2,1-c][1,4]benzodiazepin-8-yl)oxy)propoxy)-5-oxo-2-((E)-prop-1-en-1-yl)-11,11a-dihydro-pyrolbenzo[2,1-c][1,4]diazepin-10(5H)-carboxylat (80)

Bổ sung dung dịch chứa *N,N*-diisopropyldietylamin i(2,6 μL) vào dung dịch chứa amin dipeptit 79 (13mg) và maleimit-dPeg®4-NHS este (8,5mg) trong DCM khô (4mL). Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 24 giờ. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm và đưa phần cặn vào kỹ thuật TLC bán điều chế (10% metanol/90% clorofom) để thu được mẫu tinh khiết của maleimit mong muốn 14. Thời gian lưu LC-MS 2,87 phút ES^+ 1344,29.

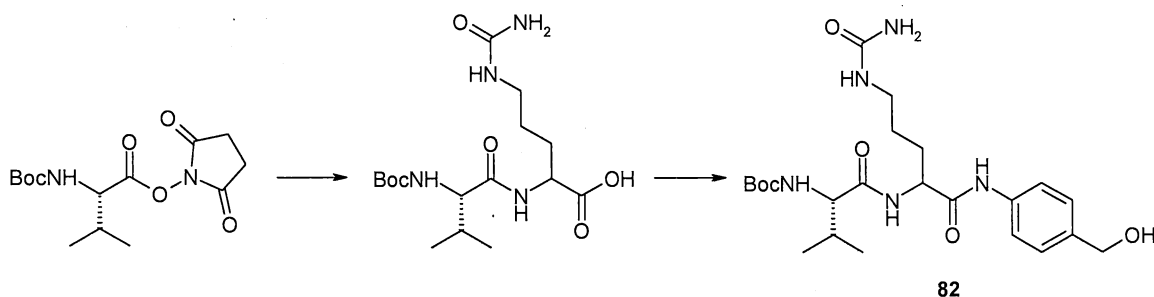
Boc-Val-Cit-PABOH (82)

Bổ sung dung dịch chứa Boc-Val-OSu (10,0g, 31,8mmol, 1 đương lượng) trong THF (50mL) vào dung dịch chứa H-Cit-OH (5,85g, 33,4mmol, 1,05 đương lượng) và NaHCO_3 (2,94g, 34,9mmol, 1,1 đương lượng) trong THF (50mL) và H_2O (100mL). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 72 giờ và làm bay hơi THF dưới áp suất giảm. Điều chỉnh độ pH đến pH=3 bằng axit xitric để làm kết tủa chất gồm màu trắng. Chiết chất này bằng 10% IPA/etylaxetat (8 x 150mL), rửa các phần chiết gộp lại bằng nước muối (300mL) và làm khô (MgSO_4). Làm bay hơi dưới áp suất giảm tạo ra chất bột màu trắng, chất này được làm khô dưới áp suất giảm trong thời gian 18 giờ. Tạo huyền phù chất bột này trong ete cùng với việc khuấy siêu âm, sau đó lọc để tạo ra sản phẩm dưới dạng chất bột màu trắng mịn (10,6g, 89%). Khuấy một phần của nguyên liệu này (7,2g, 19,2mmol, 1 đương lượng), rượu *p*-aminobenzylic (2,6g, 21,15mmol, 1,1 đương lượng) và EEDQ (9,5g, 38,5mmol, 2,0 đương lượng) trong DCM/MeOH (100mL/50mL) ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 24 giờ. Làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm và nghiền chất cặn gồm với

ete cùng với việc khuấy siêu âm, thu sản phẩm tạo thành bằng cách lọc và làm khô dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm 82 dưới dạng chất rắn màu trắng (6,6g, 71%). Dữ liệu phân tích: RT 2,42 phút; MS (ES⁺) m/z (cường độ tương đối) 479,8 ($[M + 1]^+$, 60), MS (ES⁻) m/z (cường độ tương đối) 477,6 ($[M - H]^-$, 90).

Quy trình tổng hợp hợp chất 82 được thể hiện trong sơ đồ 16 nêu dưới đây.

Sơ đồ 16



((S)-1-(4-(((5-(4-((S)-2-(axetoxymetyl)-4-metylenpyrolidin-1-cacbonyl)-5-(((4-((S)-2-((S)-2-((tert-butoxycacbonyl)amino)-3-metylbutanamido)-5-ureidopentanamido)benzyl)oxy)cacbonyl)amino)-2-metoxypheoxy)pentyl)oxy)-2-(((alyoxy)cacbonyl)amino)-5-metoxibenzoyl)-4-metylenpyrolidin-2-yl)metyl axetat (83)

Bổ sung trietylamin (0,14g, 0,19mL, 1,4mmol, 2,2 đương lượng) vào dung dịch đã khuấy chứa *bis*-anilin được bảo vệ bằng mono-alloc (6) (0,505g, 0,64mmol, 1 đương lượng) và triphosgen (0,068g, 0,23mmol, 0,36 đương lượng) trong THF khô (10mL) trong môi trường khí argon ở nhiệt độ trong phòng. Đun nóng hỗn hợp phản ứng đến 40°C, xử lý mẫu bằng metanol và phân tích bằng LCMS như methyl carbamat.

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa rượu benzylic (82) (0,46g, 0,96mmol, 1,5 đương lượng) và trietylamin (0,096g, 0,13mL, 0,96mmol, 1,5 đương lượng) trong THF khô/DMF (20mL/1mL) vào isoxyanat mới được điều chế. Theo dõi hỗn hợp phản ứng này bằng LC-MS và phản ứng hoàn thành sau thời gian 2 giờ ở nhiệt độ 40°C. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô và phân tách phần cặn giữa 10% IPA/DCM và nước. Tách phần hữu cơ và rửa bằng nước (100mL), nước muối (100mL), làm khô (MgSO₄) và làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra chất bột màu nâu. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradien clorofom rửa giải đến 93% clorofom/7% metanol với gia số 1%] tạo ra sản phẩm dưới dạng chất rắn màu trắng (0,5g, 60%). Dữ liệu phân tích: RT 3,42 phút; MS (ES⁺) m/z (cường độ tương đối) 1298 ($[M + H]^+$, 100).

Alyl 4-((S)-2-((S)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-methylbutanamido)-5-ureidopentanamido)benzyl ((S)-(pentan-1,5-diylbis(oxy))bis(2-((S)-2-(hydroxymethyl)-4-metylenpyrolidin-1-cacbonyl)-4-metoxo-5,1-phenylen))dicarbamat (84)

Bổ sung dung dịch chứa K_2CO_3 (0,28g, 2,0mmol, 5,4 đương lượng) trong H_2O (2mL) vào dung dịch chứa axetat (83) (0,49g, 0,4mmol, 1 đương lượng) trong metanol (10mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ phòng trong thời gian 2 giờ. Làm bay hơi metanol dưới áp suất giảm, pha loãng phần cặn bằng H_2O (10mL) và axit hóa đến độ pH=3 bằng axit xitric 1M. Chiết hỗn hợp này bằng DCM (4 x 50mL) và rửa các phần chiết gộp lại bằng nước muối (100mL), làm khô ($MgSO_4$) và làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm dưới dạng chất bột màu trắng (0,43g, 94%). Dữ liệu phân tích: RT 3,12 phút; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1214 ($[M + H]^+$, 100), MS (ES^-) m/z (cường độ tương đối) 1212 ($[M - H]^-$, 100).

(11S,11aS)-allyl 8-((5-(((11S,11aS)-10-(3-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-methylbutanamido)-5-ureidopentanamido)phenyl)propanoyl)-11-hydroxy-7-metoxo-2-metylen-5-oxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-pyrol[2,1-c][1,4]benzodiazepin-8-yl)oxy)pentyl)oxy)-11-hydroxy-7-metoxo-2-metylen-5-oxo-2,3,11,11a-tetrahydro-1H-pyrol[2,1-c][1,4]benzodiazepin-10(5H)-carboxylat (85)

Bổ sung một phần axit 2-iodoxybenzoic 45% khối lượng đã được làm ổn định (IBX) (0,18g, 0,29mmol, 2,4 đương lượng) vào dung dịch chứa sản phẩm *bis* đã được tách nhóm axetyl (55) (0,147g, 0,12mmol, 1 đương lượng) trong DMSO khô (4mL) trong môi trường khí nitơ. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ phòng trong thời gian 26 giờ. Bổ sung phần khác của IBX (15mg, $2,4 \times 10^{-5}$, 0,2 đương lượng) và phản ứng tiếp tục trong 18 giờ nữa. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng H_2O (10mL), chiết bằng 10% MeOH/DCM (4 x 25mL) và rửa các phần chiết gộp lại bằng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (2 x 100mL), nước (100mL), nước muối (100mL) và làm khô ($MgSO_4$). Loại bỏ dung môi bằng cách làm bay hơi kiểu quay dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradien rửa giải 100% diclometan đến 94% diclometan/6% metanol với gia số 1%] tạo ra sản phẩm 85 dưới dạng chất rắn màu trắng (77mg, 53%). Dữ liệu phân tích: RT 2,98 phút; MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1210 ($[M + H]^+$, 100), MS (ES^-) m/z (cường độ tương đối) 1208 ($[M - H]^-$, 100).

(11S,11aS)-allyl 8-(((5-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-amino-3-methylbutanamido)-5-ureidopentanamido)benzyl)oxy)carbonyl)-11-hydroxy-7-methoxy-2-metylen-5-oxo-2,3,5,10,11,11a-hexahydro-1H-pyrido[2,1-c][1,4]benzodiazepin-8-yl)oxy)pentyl)oxy)-11-hydroxy-7-methoxy-2-metylen-5-oxo-2,3,11,11a-tetrahydro-1H-pyrido[2,1-c][1,4]benzodiazepin-10(5H)-carboxylat (86)

Bổ sung axit trifloaxetic lạnh (3mL) vào hợp chất được bảo vệ bằng Boc (85) (72mg, $6,0 \times 10^{-5}$ mol) ở nhiệt độ 0°C. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ này trong thời gian 15 phút. Rót hỗn hợp phản ứng lên trên nước đá và điều chỉnh độ pH đến pH=8 bằng dung dịch NaHCO₃ bão hòa. Chiết dung dịch này bằng DCM (4 x 25mL) và rửa các phần chiết gộp lại bằng nước muối bão hòa (100mL), làm khô (MgSO₄) và làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm dưới dạng chất rắn màu trắng (55mg, 83%). Dữ liệu phân tích: RT 2,53 phút; MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 1110 ($[M + H]^+$, 100), MS (ES⁻) *m/z* (cường độ tương đối) 1108 ($[M - H]^-$, 100).

(11S,11aS)-4-((S)-2-((S)-2-amino-3-methylbutanamido)-5-ureidopentanamido)benzyl 11-hydroxy-7-methoxy-8-(((5-(((S)-7-methoxy-2-metylen-5-oxo-2,3,5,11a-tetrahydro-1H-pyrido[2,1-c][1,4]benzodiazepin-8-yl)oxy)pentyl)oxy)-2-metylen-5-oxo-2,3,11,11a-tetrahydro-1H-pyrido[2,1-c][1,4]benzodiazepin-10(5H)-carboxylat (86)

Bổ sung Pd(PPh₃)₄ (2,7mg, 2,3μmol, 0,03 đương lượng) vào dung dịch chứa hợp chất alloc (85) (80mg, 72μmol, 1,0 đương lượng) và pyrrolidin (30μL, 26mg, 0,36mmol, 5 đương lượng) trong DCM khô (3mL) trong môi trường khí nitơ. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ. Làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm. Tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient rửa giải 90% clorofom/10% metanol đến 76% clorofom/24% metanol] tạo ra sản phẩm dưới dạng chất bột màu trắng (62,5g, 86%). Dữ liệu phân tích: RT 2,45 phút MS (ES⁺) *m/z* (cường độ tương đối) 1008 ($[M + H]^+$, 80).

(11S,11aS)-4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrol-1-yl)hexanamido)-3-methylbutanamido)-5-ureidopentanamido)benzyl 11-hydroxy-7-methoxy-8-(((5-(((S)-7-methoxy-2-metylen-5-oxo-2,3,5,11a-tetrahydro-1H-pyrido[2,1-c][1,4]benzodiazepin-8-yl)oxy)pentyl)oxy)-2-metylen-5-oxo-2,3,11,11a-tetrahydro-1H-pyrido[2,1-c][1,4]benzodiazepin-10(5H)-carboxylat (87)

Bổ sung *N,N*-diisopropyldietylamin (12μL, $7,1 \times 10^{-5}$ mol, 5,0 đương lượng) vào dung dịch chứa amin dipeptit (86) (14,2mg, $1,4 \times 10^{-5}$ mol, 1 đương lượng) và 6-maleimit-

hexanoic axit-NHS este (4,8mg, $1,55 \times 10^{-5}$ mol, 1,1 đương lượng) trong DCM khô/DMA (2mL/0,2mL) trong môi trường khí argon. Khuấy dung dịch này ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 72 giờ. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm và tinh chế phần cặn bằng kỹ thuật sắc ký cột nhanh [gradient clorofom rửa giải đến 93% clorofom/7% metanol với gia số 1%] để tạo ra sản phẩm dưới dạng chất bột màu trắng nhạt (5mg, 29%). Dữ liệu phân tích: RT 2,83 phút MS (ES^+) m/z (cường độ tương đối) 1201 ($[M + H]^+$, 100).

Khử/oxy hóa ThioMabs để liên hợp

Các kháng thể đơn dòng được thiết kế xystein có chiều dài đầy đủ (ThioMabs) được biểu hiện ở các tế bào CHO được khử bằng lượng dư gấp khoảng 20-40 lần của TCEP (tris(2-carboxyethyl)phosphin hydroclorua hoặc DTT (dithiothreitol) trong Tris 50mM pH=7,5 với EDTA 2mM trong 3 giờ ở nhiệt độ 37°C hoặc qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. (Getz et al (1999) Anal. Biochem. Vol 273:73-80; Soltec Ventures, Beverly, MA). ThioMab đã được khử được pha loãng và được nạp lên trên cột HiTrap S trong natri axetat 10mM, pH=5, và được rửa giải bằng PBS chứa natri clorua 0,3M. Theo cách khác, kháng thể này được axit hóa bằng cách bổ sung 1/20 thể tích của axit axetic 10%, được pha loãng bằng suxinat 10mM pH=5, được nạp lên trên cột và sau đó được rửa bằng chất đệm suxinat với thể tích là 10 lần thể tích cột. Cột này được rửa giải bằng Tris 50mM pH=7,5, EDTA 2mM.

ThioMab đã được khử và rửa giải được xử lý bằng dung dịch nước đồng sulfat ($CuSO_4$) 200nM hoặc lượng mol dư gấp 15 lần của DHAA (axit dehydroascorbic). Sự oxy hóa các liên kết disulfua liên chuỗi kết thúc trong khoảng ba giờ hoặc lâu hơn. Sự oxy hóa bằng không khí môi trường xung quanh cũng có hiệu quả. Kháng thể đã được oxy hóa lại được thẩm tách vào trong natri suxinat 20mM pH=5, NaCl 150mM, EDTA 2mM và được bảo quản đông lạnh ở nhiệt độ -20°C.

Liên hợp ThioMabs với các hợp chất được chất-nhóm liên kết để điều chế thể liên hợp được chất-kháng thể

ThioMabs đã được oxy hóa lại như được mô tả ở trên được kết hợp với lượng dư gấp 2,5 đến 10 lần của sản phẩm trung gian được chất-nhóm liên kết (15ba, 15bb, 15d, 58) đã được trộn, và được để yên trong thời gian khoảng một giờ ở nhiệt độ trong phòng để thực hiện sự liên hợp và tạo thành thể liên hợp được chất-kháng thể ThioMab 101-115 trong bảng 1. Hỗn hợp liên hợp được tinh chế bằng cách lọc gel, sắc ký trao đổi cation hoặc thẩm tách để loại bỏ sản phẩm trung gian được chất-nhóm liên kết dư và các tạp chất khác.

Bảng 1

ADC	ADC (Ab-dược chất/nhóm liên kết)	Hợp chất dược chất- nhóm liên kết	DAR (tỷ lệ giữa dược chất và kháng thể)	Fig.
101	Tr-MP-PEG8- Phe-Lys-PAB- PBD	15bb	1,3	2, 3, 4
102	kháng CD22- MP-PEG8-Phe- Lys-PAB-PBD	15bb	1,2	2, 3
103	Tr-MP-PEG4- Phe-Lys-PAB- PBD	15ba	1,37	2, 3, 4
104	kháng CD22- MP-PEG4-Phe- Lys-PAB-PBD	15ba	1,2	2, 3
105	trastuzumab- MP-PEG8-Phe- Lys-PAB-PBD	15bb	1	6
106	trastuzumab- MP-PEG4-Phe- Lys-PAB-PBD	15ba	1,1	6
107	kháng Steap1- MP-PEG8-Phe- Lys-PAB-PBD	15bb	0,5	4, 6
108	kháng Steap1- MP-PEG4-Phe- Lys-PAB-PBD	15ba	1,5	4, 6
109	kháng Steap1- MP-PEG8-Val- Ala-PAB- (imp)PBD	58	1,75	5
110	kháng CD22- MP-PEG8-Val- Ala-PAB- (imp)PBD	58	1,8	5
111	kháng Steap1- MP-PEG8-Val- Ala-PAB-PBD	15d	1,8	
112	gD5B60-MP- PEG8-Val-Ala- PAB-PBD	15d	1,85	
113	gD5B60-MP- PEG8-Val-Ala- PAB-(imp)PBD	58	1,9	
114	trastuzumab-	15d	1,7	

	MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD			
115	trastuzumab-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD	58	1,8	

Tr = thio trastuzumab, kháng HER2, 4D5 HC A118C (đánh số liên tiếp), A114C (đánh số Kabat)

imp = *N*-10 imin được bảo vệ: 3-(2-metoxymetoxi)propanoat-Val-Ala-PAB-

Cụ thể, sản phẩm trung gian được chất-nhóm liên kết 15d (MW 1496,65) được hòa tan trong DMA (dimethylacetamid) đến nồng độ là 20mM. Kháng thể trastuzumab (Tr) H118C đã được thiết kế xystein và oxy hóa lại được rồi đông và bổ sung lượng mol dư gấp 3 lần của hợp chất 15d. Thực hiện phản ứng ở độ pH=5 sau khi các thử nghiệm cho thấy sự kết tụ kháng thể tăng lên ở độ pH cao hơn. Mức độ liên hợp được chất được theo dõi bằng kỹ thuật phân tích LC-MS. Bổ sung thêm 1 đương lượng của 15d sau 3 giờ và để cho phản ứng diễn ra qua đêm ở nhiệt độ 4°C để tạo ra ADC 114 thô.

Thế liên hợp được chất-kháng thể, trastuzumab-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD 114, sau đó được cấp lên cột trao đổi cation sau khi pha loãng bằng suxinat, được rửa bằng suxinat với thể tích ít nhất là 10 lần thể tích cột và được rửa giải bằng PBS. Thế liên hợp được chất-kháng thể 114 được bào chế trong His/axetat 20mM pH=5, sucroza 240mM bằng cách sử dụng các cột lọc gel. Thế liên hợp được chất-kháng thể 114 được mô tả đặc điểm bằng kỹ thuật đo phổ UV để xác định nồng độ protein, SEC (sắc ký loại theo kích cỡ) phân tích để phân tích khối kết tụ và LC-MS trước và sau khi khử để xác định tải lượng được chất.

Kỹ thuật sắc ký loại theo kích cỡ được thực hiện bằng cách sử dụng cột Shodex KW802.5 trong kali phosphat 0,2M, pH=6,2 với kali clorua 0,25mM và 15% IPA với lưu lượng là 0,75mL/phút. Trạng thái kết tụ của thế liên hợp được xác định bằng cách lấy tích phân độ hấp thụ diện tích đỉnh được rửa giải ở 280nm. Phân tích SEC cho thấy 4,1% diện tích được lấy tích phân của ADC kết tụ ở 8,08 phút và 95,9% ADC dạng monome 114 ở 8,99 phút.

Phân tích LC-MS được thực hiện bằng cách sử dụng thiết bị Agilent QTOF 6520 ESI. Để làm ví dụ, trastuzumab-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD 114 được khử bằng DTT (dithiothreitol) và được nạp lên trên cột 1000Å, 8µm PLRP-S (Varian) đã được làm nóng đến 80°C và được rửa giải với gradient là từ 30% B đến 40% B trong 5 phút. Pha động A là H₂O với 0,05% TFA, pha động B là axetonitril với 0,04% TFA. Lưu lượng là 0,5mL/phút. Việc rửa giải protein được theo dõi bằng cách phát hiện độ hấp phụ UV ở A 280nm trước khi phân tích ion hóa phun điện tử và TOF. Đạt được sự phân giải sắc ký đường cơ sở của chuỗi nhẹ trần, chuỗi nặng trần còn lại và chuỗi nặng được tạo được chất. Phổ m/z thu được được giải chấp bằng cách sử dụng phần mềm Agilent Mass Hunter(TM) để tính khối lượng của các mảnh kháng thể đã được khử.

Phân tử lượng (MW) của MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD 58 (Fig.1) = 1964 dalton

Các khối lượng được giải chấp quan sát thấy:

23440 dalton tương ứng với MW của LC trần

50627 dalton tương ứng với MW của HC trần

52591 dalton tương ứng với MW của HC được tạo được chất

Do đó, đỉnh quan sát thấy ở 52591 dalton tương ứng với mảnh chuỗi nặng (HC) được dự đoán (50627 dalton) mang một gốc được chất, sản phẩm trung gian được chất-nhóm liên kết 58 (1964 dalton).

Khi kháng thể dùng để liên hợp với sản phẩm trung gian của được chất PBD-nhóm liên kết không phải là kháng thể đã được thiết kế xystein, các liên kết disulfua liên chuỗi sẽ được khử một phần bằng cách bổ sung khoảng 2,2 mol dư của TCEP trong phosphat pH=7,5 trong 2 giờ ở nhiệt độ 37°C. Mỗi đương lượng của TCEP theo lý thuyết tạo ra 2 xystein có tính phản ứng. Thông thường, để có được tỷ lệ được chất/kháng thể (DAR) đích là khoảng 3,5, thì 1,8-2 mol dư của TCEP sẽ được bổ sung. Thông thường, không cần đến bước tinh chế sau bước khử. Lượng dư nhỏ (1,2-1,5 lần) của sản phẩm trung gian được chất-nhóm liên kết đối với các xystein có tính phản ứng, khoảng 8 đương lượng mol của sản phẩm trung gian được chất-nhóm liên kết đối với kháng thể, được bổ sung vào và phản ứng được thực hiện trong khoảng 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Bước tinh chế có thể được thực hiện bằng cách thẩm lọc, trao đổi ion hoặc lọc gel. DAR có thể được xác định bằng kỹ thuật

sắc ký tương tác kỵ nước (HIC), hoặc LC-MS đối với thể liên hợp đã được khử, bằng cách lấy tích phân diện tích UV A280.

Thử nghiệm về sự tăng sinh tế bào in vitro

Hiệu quả của ADC được xác định bằng thử nghiệm về sự tăng sinh tế bào sử dụng quy trình sau (CellTiter Glo Luminescent Cell Viability Assay, Promega Corp. Technical Bulletin TB288; Mendoza et al (2002) Cancer Res. 62:5485-5488):

1. Để lắng thể tích là 100 μ L giống cấy tế bào chứa khoảng 10^4 tế bào (ví dụ, KPL-4, dòng tế bào ung thư vú của người, Kurebayashi et al (1999) Brit. Jour. Cancer 79(5-6):707-717), SKBR-3, BT474, MCF7 hoặc MDA-MB-468) trong môi trường trong mỗi lỗ của đĩa loại 96 lỗ có thành đục.
2. Chuẩn bị các lỗ đối chứng chứa môi trường và không chứa tế bào.
3. Bổ sung ADC vào các lỗ thử nghiệm và ủ trong 3-5 ngày.
4. Làm cân bằng các đĩa đến nhiệt độ trong phòng trong khoảng 30 phút.
5. Bổ sung thể tích chất phản ứng CellTiter-Glo bằng với thể tích môi trường nuôi cấy tế bào có trong mỗi lỗ.
6. Trộn các thành phần nêu trên trong 2 phút trên máy lắc quỹ đạo để làm tan bào.
7. Ủ đĩa ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 10 phút để làm ổn định tín hiệu phát quang.
8. Ghi lại sự phát quang và thể hiện ở dạng đồ thị dưới dạng RLU = đơn vị phát quang tương đối.

Các tế bào nhất định được gieo ở mật độ 1000-2000/lỗ hoặc 2000-3000/lỗ trong đĩa loại 96 lỗ, 50 μ L/lỗ. Sau một hoặc hai ngày, ADC được bổ sung trong các thể tích 50 μ L đến nồng độ cuối cùng bằng 9000, 3000, 1000, 333, 111, 37, 12,4, 4,1 hoặc 1,4 ng/mL, trong đó các lỗ đối chứng "không có ADC" chỉ nhận môi trường. Các điều kiện được lặp lại hai lần hoặc ba lần. Sau 3-5 ngày, Cell TiterGlo II 100 μ L/lỗ được bổ sung vào (thử nghiệm dựa trên luxiferaza; sự tăng sinh được xác định bởi mức ATP) và số lượng tế bào được xác định bằng cách sử dụng máy đo độ phát quang. Dữ liệu được vẽ đồ thị dưới dạng giá trị trung bình của độ phát quang đối với mỗi nhóm lặp lại, cùng với thanh sai số độ lệch chuẩn. Quy

trình này là quy trình cải biên của thử nghiệm đo độ sống sót tế bào phát quang CellTiter Glo (Promega):

1. Dàn mỏng 1000 tế bào/lỗ trong 50 μ L môi trường FBS/glutamin/lỗ. Để các tế bào gắn kết qua đêm.
2. Pha loãng ADC theo dãy 1:3 trong môi trường, bắt đầu ở nồng độ làm việc là 18 μ g/mL (điều này tạo ra nồng độ cuối cùng bằng 9 μ g/mL). Bổ sung 50 μ L ADC đã được pha loãng vào 50 μ L tế bào và môi trường đã có sẵn trong lỗ.
3. Ủ trong 72-96 giờ (chuẩn là 72 giờ, nhưng quan sát nồng độ 0 μ g/mL để kết thúc thử nghiệm khi các tế bào bao phủ 85-95% bề mặt đĩa).
4. Bổ sung 100 μ L chất phản ứng Promega Cell Titer Glo/lỗ, lắc 3 phút và đọc trên máy đo độ phát quang

Các kết quả

Fig.2 thể hiện đồ thị về độ sống sót của tế bào SK-BR-3 in vitro tại thời điểm 5 ngày dựa theo các nồng độ của: Tr-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD 101 (●), kháng CD22-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD 102 (▲), Tr-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD 103 (◆), và kháng CD22-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD 104, trong đó Tr là kháng HER2 thio trastuzumab 4D5 HC A118C, các thể đột biến kháng thể đã được thiết kế xystein chuỗi nặng được đánh số theo hệ thống đánh số liên tiếp.

Sự tăng sinh của các tế bào SK-BR-3 biểu hiện HER2 bị ức chế một cách chọn lọc bởi các thể liên hợp được chất-kháng thể kháng HER2 101 và 103, nhưng không bị ức chế bởi các thể liên hợp được chất-kháng thể kháng CD22 102 và 104. Các kết quả này khẳng định tác dụng tiêu diệt chọn lọc, phụ thuộc đích in vitro của các thể liên hợp được chất-kháng thể PBD.

Fig.3 thể hiện đồ thị về độ sống sót của tế bào KPL-4 in vitro tại thời điểm 5 ngày dựa theo các nồng độ của: Tr-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD 101 (●), kháng CD22-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD 102 (▲), Tr-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD 103 (◆), và kháng CD22-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD 104 (▼), trong đó Tr là kháng HER2 thio trastuzumab 4D5 HC A118C, các thể đột biến kháng thể đã được thiết kế xystein chuỗi nặng được đánh số theo hệ thống đánh số liên tiếp.

Các thể liên hợp được chất-kháng thể, trastuzumab-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD 114 và trastuzumab-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD 115 được thử nghiệm chống lại các tế bào SK-BR-3, KPL-4 và MCF-7 (Levenson et al (1997) Cancer Res. 57(15):3071-3078) để xác định độ sống sót của tế bào *in vitro* trong nghiên cứu kéo dài 5 ngày. Giá trị C_{50} ($\mu\text{g/mL}$) đối với thể liên hợp 114 chống lại SK-BR-3 là 17,2 và chống lại KPL-4 là 68,1. Giá trị IC_{50} đối với thể liên hợp 115 chống lại SK-BR-3 là 12,3 và chống lại KPL-4 là 50,7. Cả thể liên hợp 114 và thể liên hợp 115 đều không hoạt động một cách hữu hiệu chống lại MCF-7, là dòng tế bào ung thư tuyến vú của người không biểu hiện HER2. Do đó, các thể liên hợp 114 và 115 chứng tỏ hiệu lực tiêu diệt tế bào được nhắm đích tới.

Hiệu quả ức chế sự sinh trưởng khối u *in vivo* ở chuột nhắt cấy ghép chuyển gen HER2 biểu hiện cao

Động vật thích hợp cho thử nghiệm chuyển gen có thể được nhận từ các nguồn chuẩn có trên thị trường như Taconic (Germantown, N.Y.). Nhiều chủng thích hợp, nhưng chuột nhắt cái FVB được ưu tiên do tính miễn cảm cao hơn của chúng đối với sự hình thành khối u. Chuột nhắt đực FVB được sử dụng để giao phối và lứa gây giống CD.1 đã được thất ống dẫn tinh được sử dụng để kích thích sự thụ thai giả. Chuột nhắt đã được thất ống dẫn tinh có thể được nhận từ nguồn cung cấp bất kỳ có trên thị trường. Các con chuột “nền móng” được nhân giống với chuột nhắt FVB hoặc với chuột nhắt 129/BL6 x FVB p53 dị hợp tử. Chuột nhắt có tính dị hợp ở alen p53 được sử dụng để làm tăng một cách tiềm năng sự hình thành khối u. Tuy nhiên, điều này đã được chứng minh là không cần thiết. Vì vậy, một số khối u F1 là của chủng hỗn hợp. Khối u “nền móng” chỉ là FVB. Sáu con chuột “nền móng” được thu nhận với một số khối u phát triển mà không có các lứa.

Con chuột có khối u (mảnh dị ghép được nhân giống từ chuột nhắt chuyển gen Fo5 mmtv) được điều trị bằng việc tiêm ADC trong tĩnh mạch một liều hoặc nhiều liều. Thể tích khối u được đánh giá tại các thời điểm khác nhau sau khi tiêm.

Khối u xuất hiện dễ dàng ở chuột nhắt chuyển gen biểu hiện ở dạng được hoạt hóa theo cách đột biến của neu, thể tương đồng của HER2 ở chuột *Rattus*, nhưng HER2 mà được biểu hiện quá mức trong bệnh ung thư vú ở người không bị đột biến và sự hình thành khối u ít mạnh hơn nhiều ở chuột nhắt chuyển gen mà biểu hiện quá mức HER2 không bị đột biến (Webster et al (1994) Semin. Cancer Biol. 5:69-76).

Để cải thiện sự hình thành khối u với HER2 không bị đột biến, chuột nhắt chuyển gen được tạo ra bằng cách sử dụng plasmid cADN HER2 trong đó ATG phía trên được làm khuyết để ngăn chặn sự khởi đầu dịch mã ở các codon ATG phía trên này, mà theo cách khác sẽ làm giảm tần suất khởi đầu dịch mã từ codon khởi đầu đích thực phía dưới của HER2 (ví dụ, xem ấn phẩm Child et al (1999) *J. Biol. Chem.* 274: 24335-24341). Ngoài ra, intron dạng khảm được bổ sung vào đầu 5', intron này cũng sẽ tăng cường mức biểu hiện như được báo cáo trước đây (Neuberger and Williams (1988) *Nucleic Acids Res.* 16:6713; Buchman and Berg (1988) *Mol. Cell. Biol.* 8:4395; Brinster et al (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:836). Intron dạng khảm này có nguồn gốc từ vector Promega, vector biểu hiện Pci-neo ở động vật có vú (bp 890-1022). Đầu 3' của cADN được kẹp bên bởi các exon 4 và 5 của hormon sinh trưởng của người và các trình tự polyadenyl hóa. Hơn nữa, chuột nhắt FVB được sử dụng vì chúng này miễn cảm hơn với sự phát triển khối u. Trình tự khởi đầu từ MMTV-LTR được sử dụng để đảm bảo sự biểu hiện HER2 đặc hiệu mô ở tuyến vú. Các con chuột được cho ăn thức ăn AIN 76A để làm tăng tính miễn cảm với sự hình thành khối u (Rao et al (1997) *Breast Cancer Res. and Treatment* 45:149-158).

Mô hình khối u vú ở chuột Fo5

Mô hình Fo5 là mô hình chuột nhắt chuyển gen trong đó gen HER2 của người, dưới sự điều hòa phiên mã của trình tự khởi đầu virus khối u vú ở chuột (MMTV-HER2), được biểu hiện quá mức trong biểu mô vú. Sự biểu hiện quá mức này gây ra sự phát triển tự phát của khối u vú mà biểu hiện quá mức thụ thể HER2 của người. Khối u vú của một trong số các con chuột “nền móng” (chuột “nền móng” #5 [Fo5]) được nhân giống trong các thế hệ tiếp theo của chuột nhắt FVB bằng việc cấy ghép nối tiếp các mảnh khối u. Trước khi được sử dụng cho nghiên cứu hiệu quả in vivo, khối u vú chuyển gen MMTV-HER2 Fo5 được cấy bằng cách phẫu thuật vào đệm mỡ vú No. 2/3 của chuột nhắt nu/nu (từ phòng thí nghiệm Charles River) thành các mảnh có kích thước khoảng 2x2 mm. Khi các khối u đạt đến thể tích mong muốn, các con chuột nhắt mang khối u được sắp xếp ngẫu nhiên và được cho dùng liều đơn ADC bằng cách tiêm trong tĩnh mạch.

Các kết quả

Fig.4 thể hiện đồ thị về sự thay đổi thể tích khối u trung bình in vivo theo thời gian trong các khối u vú dị ghép MMTV-HER2 Fo5 của mô hình ung thư vú được cấy vào chuột nhắt nu/nu CRL sau khi dùng liều đơn trong tĩnh mạch vào ngày 0 với: (1) môi trường dẫn

thuốc Histidin axetat 20mM, pH=5,5, sucroza 240mM, (2) kháng Steap1-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD 107 với lượng là 10mg/kg, (3) kháng Steap1-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD 108 với lượng là 10mg/kg, (4) Tr-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD 101 với lượng là 10mg/kg, và (5) Tr-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD 103 với lượng là 10mg/kg. Các đường trong hình vẽ này được biểu thị với các ký hiệu sau:

- ×— Môi trường dẫn thuốc
- +— 107
- ⊕— 108
- 101
- 103

Các thể liên hợp kháng HER2 101 và 103 cho thấy sự ức chế sự sinh trưởng khối u đặc hiệu đích. Từ 10 con chuột được xử lý bằng thể liên hợp 101, hai con chuột cho thấy đáp ứng một phần. Từ 10 con chuột được xử lý bằng thể liên hợp 103, ba con chuột cho thấy đáp ứng một phần. ADC đối chứng không nhắm đích 107 và 108 không có tác động đến sự sinh trưởng khối u.

Trong thử nghiệm tiêu biểu khác, sự thay đổi thể tích khối u trung bình in vivo theo thời gian ở các khối u vú dị ghép MMTV-HER2 Fo5 của mô hình ung thư vú được cấy vào chuột nhắt nu/nu CRL được xác định sau khi dùng liều đơn trong tĩnh mạch vào ngày 0 với: (1) môi trường dẫn thuốc Histidin axetat 20mM, pH=5,5, sucroza 240mM; (2) gD5B60-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD 112 với lượng là 5mg/kg (liều ADC), 300 μ g/m² (tiếp xúc với được chất PBD); (3) gD5B60-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD 112 với lượng là 10mg/kg, 600 μ g/m²; (4) trastuzumab-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD 114 với lượng là 5mg/kg, 284 μ g/m²; (5) trastuzumab-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD 114 với lượng là 10mg/kg, 569 μ g/m²; (6) gD5B60-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD 113 với lượng là 10mg/kg, 807 μ g/m²; và (7) trastuzumab-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD 115 với lượng là 10mg/kg, 790 μ g/m². Kích thước khối u được xác định tại thời điểm 0, 3, 7 và 10 ngày. Sau 10 ngày, các con chuột được cho dùng liều với: (1) môi trường dẫn thuốc cho thấy sự tăng kích thước khối u và không có sự ức chế khối u trong nhóm 10 con chuột; (2) thể liên hợp 112 cho thấy không có đáp ứng một phần hoặc hoàn toàn trong nhóm 10 con chuột; (3) thể liên hợp 112 cho thấy không có đáp ứng một phần hoặc hoàn toàn trong nhóm 10 con chuột; (4) thể liên hợp 114 cho thấy chín đáp ứng một phần trong nhóm 10 con chuột; (5) thể liên hợp 114 cho thấy mười đáp ứng một phần trong nhóm 10 con chuột; (6) thể liên hợp 113

cho thấy không có đáp ứng một phần hoặc hoàn toàn trong nhóm 10 con chuột; và (7) thể liên hợp 115 cho thấy mười đáp ứng một phần trong nhóm 10 con chuột. Do đó, ADC nhắm đích tới kháng HER2 114 và 115 cho thấy sự ức chế khối u được nhắm đích trong khi đối chứng âm là môi trường dẫn thuốc và ADC không nhắm đích 112 và 113 không cho thấy sự ức chế như vậy.

Mô hình khối u tuyến tiền liệt ở người LuCap35V.

LuCap35V, nhận được từ Trường đại học Washington (Seattle, WA), là biến thể không phụ thuộc androgen của mô hình khối u cấy ghép tuyến tiền liệt ở người LuCap35 (Corey E, Quinn JE, Buhler KR, et al. LuCap35: a new model of prostate cancer progression to androgen independence. *The Prostate* 2003;55:239–46). Mô được sử dụng để thiết lập LuCap35 được phân tách từ sinh thiết của các hạch bạch huyết ben chứa ung thư tuyến tiền liệt di căn và sau đó được cấy ghép vào bên sườn của chuột nhắt (Corey et al. 2003). Mô hình cấy ghép mô LuCap35V được duy trì bằng các lần cấy ghép nối tiếp ở các con chuột nhắt đực C.B-17 Fox Chase SCID đã bị thiếu trong 38 lần cấy chuyển ở Trường đại học Washington và sau đó ở các con chuột nhắt đực C.B-17 SCID-beige đã bị thiếu từ Phòng thí nghiệm Charles River trong các lần cấy chuyển tiếp tục ở Genentech. Trước khi được sử dụng cho nghiên cứu hiệu quả in vivo, các mẫu khối u LuCap35V (khoảng 20–30 mm³) được cấy ghép dưới da vào sườn bên phải của các con chuột nhắt đực C.B-17 SCID-beige đã bị thiếu. Các con chuột bị thiếu 2 tuần trước khi cấy ghép khối u để cho mức testosterone còn lại có đủ thời gian đạt đến không. Khi các khối u đạt đến thể tích mong muốn, các con chuột nhắt mang khối u được sắp xếp ngẫu nhiên và được cho dùng liều đơn ADC bằng cách tiêm trong tĩnh mạch.

Các kết quả

Fig.5 thể hiện đồ thị về sự thay đổi thể tích khối u trung bình in vivo theo thời gian trong các khối u dị ghép LuCap35V của mô hình ung thư tuyến tiền liệt ở chuột nhắt đực SCID beige đã bị thiếu sau khi dùng liều đơn trong tĩnh mạch vào ngày 0 với: (1) môi trường dẫn thuốc Histidin axetat 20mM, pH=5,5, sucroza 240mM (▲), (2) kháng CD22-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD 110 với lượng là 5mg/kg (●), và (3) kháng Steap1-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD 109 với lượng là 5mg/kg (■).

Fig.6 thể hiện đồ thị về sự thay đổi thể tích khối u trung bình in vivo theo thời gian trong các khối u dị ghép LuCap35V của mô hình ung thư tuyến tiền liệt ở chuột nhắt đực

SCID beige đã bị thiến sau khi dùng liều đơn trong tĩnh mạch vào ngày 0 với: (1) môi trường dẫn thuốc Histidin axetat 20mM, pH=5,5, sucroza 240mM (▲) (2) thể liên hợp 107 kháng Steap1-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD, 9,8mg/kg, 60 μ g/m² (■), (3) thể liên hợp 107 kháng Steap1-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD, 19,5mg/kg, 120 μ g/m² (●), (4) thể liên hợp 108 kháng Steap1-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD, 3,3mg/kg, 60 μ g/m² (□), (5) thể liên hợp 108 kháng Steap1-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD, 6,5mg/kg, 120 μ g/m² (○), (6) thể liên hợp 105 trastuzumab-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD 9,4mg/kg, 120 μ g/m² (◆) và (7) thể liên hợp 106 trastuzumab-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD, 8,6mg/kg (liều ADC), 120 μ g/m² (tiếp xúc với dược chất PBD) (X).

Trong thử nghiệm tiêu biểu khác, sự thay đổi thể tích khối u trung bình in vivo theo thời gian trong khối u dị ghép LuCap35V của mô hình ung thư tuyến tiền liệt ở chuột nhắt đực SCID beige đã bị thiến được xác định sau khi dùng liều đơn trong tĩnh mạch vào ngày 0 với: (1) môi trường dẫn thuốc Histidin axetat 20mM, pH=5,5, sucroza 240mM, (2) thể liên hợp 112 gD5B60-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD, 3mg/kg (liều ADC), 68,3 μ g/m² (tiếp xúc với dược chất PBD), (3) thể liên hợp 111 kháng Steap1-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD, 1mg/kg, 22,15 μ g/m², (4) thể liên hợp 111 kháng Steap1-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD, 3mg/kg, 66,4 μ g/m², (5) thể liên hợp 113 gD5B60-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD, 3mg/kg, 70,1 μ g/m², và (6) thể liên hợp 109 kháng Steap1-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD 3mg/kg, 64,6 μ g/m². Kích thước khối u được xác định 4 ngày một lần. Sau 27 ngày, các con chuột được cho dùng liều với: (1) môi trường dẫn thuốc cho thấy sự tăng kích thước khối u và không có sự ức chế khối u trong nhóm 8 con chuột; (2) thể liên hợp 112 cho thấy một đáp ứng một phần trong nhóm 8 con chuột; (3) thể liên hợp 111 cho thấy bốn đáp ứng một phần và bốn đáp ứng hoàn toàn trong nhóm 6 con chuột; (4) thể liên hợp 111 cho thấy năm đáp ứng một phần và ba đáp ứng hoàn toàn trong nhóm 5 con chuột; (5) thể liên hợp 113 cho thấy không có đáp ứng một phần hoặc hoàn toàn trong nhóm 8 con chuột; và (6) thể liên hợp 109 cho thấy bảy đáp ứng một phần và một đáp ứng hoàn toàn trong nhóm 7 con chuột. ADC nhắm đích tới kháng Steap1 109 và 111 cho thấy sự ức chế khối u được nhắm đích trong khi đối chứng âm là môi trường dẫn thuốc và ADC không nhắm đích 112 và 113 không cho thấy sự ức chế như vậy.

Các chữ viết tắt

Ac axetyl

Acm	axetamidometyl
Alloc	alyloxyacbonyl
Boc	di- <i>tert</i> -butyl dicacbonat
t-Bu	tert-butyl
Bzl	benzyl, trong đó Bzl-OMe là metoxybenzyl và Bzl-Me là metylbenzen
Cbz hoặc Z	benzyloxy-cacbonyl, trong đó Z-Cl và Z-Br là clo- và brombenzyloxy cacbonyl, một cách tương ứng
DMF	<i>N,N</i> -dimetylformamit
Dnp	dinitrophenyl
DTT	dithiothreitol
Fmoc	9 <i>H</i> -florein-9-ylmetoxyacbonyl
imp	nhóm bảo vệ <i>N</i> -10 imin: 3-(2-metoxyetoxy)propanoat-Val-Ala-PAB
MC-OSu	maleimidocaproyl-O- <i>N</i> -suxinimit
Moc	metoxyacbonyl
MP	maleimidopropanamit
Mtr	4-metoxy-2,3,6-trimethylbenzensulfonyl
PAB	para-aminobenzyloxyacbonyl
PEG	etylenoxy
PNZ	<i>p</i> -nitrobenzyl carbamat
Psec	2-(phenylsulfonyl)etoxycacbonyl
TBDMS	tert-butyldimetylsilyl
TBDPS	tert-butyldiphenylsilyl
Teoc	2-(trimetylsilyl)etoxycacbonyl
Tos	tosyl
Troc	2,2,2-tricloretoxyacbonyl clorua
Trt	trityl

Xan xantyl

Tài liệu tham khảo

Các tài liệu tham khảo nêu dưới đây được kết hợp vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung của chúng:

EP 0522868
EP 0875569
EP 1295944
EP 1347046
EP 1394274
EP 1394274
EP 1439393
JP 05003790
JP 2004113151
JP 58180487
US 2001/055751
US 2002/034749
US 2002/042366
US 2002/150573
US 2002/193567
US 2003/0228319
US 2003/060612
US 2003/064397
US 2003/065143
US 2003/091580
US 2003/096961
US 2003/105292
US 2003/109676
US 2003/118592
US 2003/119121
US 2003/119122
US 2003/119125
US 2003/119126
US 2003/119128
US 2003/119129
US 2003/119130
US 2003/119131
US 2003/124140
US 2003/124579
US 2003/129192
US 2003/134790-A1
US 2003/143557
US 2003/157089
US 2003/165504
US 2003/185830
US 2003/186372

US 2003/186373
US 2003/194704
US 2003/206918
US 2003/219806
US 2003/224411
US 2003/224454
US 2003/232056
US 2003/232350
US 20030096743
US 20030130189
US 2003096743
US 2003130189
US 2004/0001827
US 2004/005320
US 2004/005538
US 2004/005563
US 2004/005598
US 2004/0101899
US 2004/018553
US 2004/022727
US 2004/044179
US 2004/044180
US 2004/101874
US 2004/197325
US 2004/249130
US 20040018194
US 20040052793
US 20040052793
US 20040121940
US 2005/271615
US 2006/116422
US 4816567
US 5362852
US 5440021
US 5583024
US 5621002
US 5644033
US 5674713
US 5700670
US 5773223
US 5792616
US 5854399
US 5869445
US 5976551
US 6011146
US 6153408
US 6214345
US 6218519

US 6268488
US 6518404
US 6534482
US 6555339
US 6602677
US 6677435
US 6759509
US 6835807
US 7223837
US 7375078
US 7521541
US 7723485
WO 00/012508
WO 00/12507
WO 00/12508
WO 01/16318
WO 01/45746
WO 02/088172
WO 03/026577
WO 03/043583
WO 04/032828
WO 2000/12130
WO 2000/14228
WO 2000/20579
WO 2000/22129
WO 2000/32752
WO 2000/36107
WO 2000/40614
WO 2000/44899
WO 2000/55351
WO 2000/75655
WO 200053216
WO 2001/00244
WO 2001/38490
WO 2001/40269
WO 2001/40309
WO 2001/41787
WO 2001/46232
WO 2001/46261
WO 2001/48204
WO 2001/53463
WO 2001/57188
WO 2001/62794
WO 2001/66689
WO 2001/72830
WO 2001/72962
WO 2001/75177
WO 2001/77172

WO 2001/88133
WO 2001/90304
WO 2001/94641
WO 2001/98351
WO 2002/02587
WO 2002/02624
WO 2002/06317
WO 2002/06339
WO 2002/101075
WO 2002/10187
WO 2002/102235
WO 2002/10382
WO 2002/12341
WO 2002/13847
WO 2002/14503
WO 2002/16413
WO 2002/16429
WO 2002/22153
WO 2002/22636
WO 2002/22660
WO 2002/22808
WO 2002/24909
WO 2002/26822
WO 2002/30268
WO 2002/38766
WO 2002/54940
WO 2002/59377
WO 2002/60317
WO 2002/61087;
WO 2002/64798
WO 2002/71928
WO 2002/72596
WO 2002/78524
WO 2002/81646
WO 2002/83866
WO 2002/86443
WO 2002/88170
WO 2002/89747
WO 2002/92836
WO 2002/94852
WO 2002/98358
WO 2002/99074
WO 2002/99122
WO 2003/000842
WO 2003/002717
WO 2003/003906
WO 2003/003984
WO 2003/004989

WO 2003/008537
WO 2003/009814
WO 2003/014294
WO 2003/016475
WO 2003/016494
WO 2003/018621
WO 2003/022995
WO 2003/023013
WO 2003/024392
WO 2003/025138
WO 2003/025148
WO 2003/025228
WO 2003/026493
WO 2003/029262
WO 2003/029277
WO 2003/029421
WO 2003/034984
WO 2003/035846
WO 2003/042661
WO 2003/045422
WO 2003/048202
WO 2003/054152
WO 2003/055439
WO 2003/055443
WO 2003/062401
WO 2003/062401
WO 2003/072035
WO 2003/072036
WO 2003/077836
WO 2003/081210
WO 2003/083041
WO 2003/083047
WO 2003/083074
WO 2003/087306
WO 2003/087768
WO 2003/088808
WO 2003/089624
WO 2003/089904
WO 2003/093444
WO 2003/097803
WO 2003/101283
WO 2003/101400
WO 2003/104270
WO 2003/104275
WO 2003/105758
WO 2003004529
WO 2003042661
WO 2003104399

WO 2004/000997
WO 2004/001004
WO 2004/009622
WO 2004/011611
WO 2004/015426
WO 2004/016225
WO 2004/020595
WO 2004/022709
WO 2004/022778
WO 2004/027049
WO 2004/031238
WO 2004/032828
WO 2004/032842
WO 2004/040000
WO 2004/043361
WO 2004/043963
WO 2004/044178
WO 2004/045516
WO 2004/045520
WO 2004/045553
WO 2004/046342
WO 2004/047749
WO 2004/048938
WO 2004/053079
WO 2004/063355
WO 2004/063362
WO 2004/063709
WO 2004/065577
WO 2004/074320
WO 2004000221
WO 2004020583
WO 2004042346
WO 2004065576
WO 2005/023814
WO 2005/082023
WO 2005/085251
WO 2006/111759
WO 2007/044515
WO 2007/085930
WO 2009/052249
WO 2010/091150
WO 91/02536
WO 92/07574
WO 92/17497
WO 94/10312
WO 94/28931
WO 9630514
WO 97/07198

- WO 97/44452
 WO 98/13059
 WO 98/37193
 WO 98/40403
 WO 98/51805
 WO 98/51824
 WO 99/28468
 WO 99/46284
 WO 99/58658
 Am. J. Hum. Genet. 49 (3):555-565 (1991)
 Amiel J., et al Hum. Mol. Genet. 5, 355-357, 1996
 Amir et al (2003) Angew. Chem. Int. Ed. 42:4494-4499
 Amsberry, et al (1990) J. Org. Chem. 55:5867
 Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186
 Annu. Rev. Neurosci. 21:309-345 (1998)
 Arai H., et al J. Biol. Chem. 268, 3463-3470, 1993
 Arai H., et al Jpn. Circ. J. 56, 1303-1307, 1992
 Arima, et al., J. Antibiotics, 25, 437-444 (1972)
 Attie T., et al, Hum. Mol. Genet. 4, 2407-2409, 1995
 Auricchio A., et al Hum. Mol. Genet. 5:351-354, 1996
 Barel M., et al Mol. Immunol. 35, 1025-1031, 1998
 Barella et al (1995) Biochem. J. 309:773-779
 Barnett T., et al Genomics 3, 59-66, 1988
 Beck et al (1992) J. Mol. Biol. 228:433-441
 Beck et al (1996) J. Mol. Biol. 255:1-13
 Berge, et al., J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977)
 Biochem. Biophys. Res. Commun. (2000) 275(3):783-788
 Biochem. Biophys. Res. Commun. 255 (2), 283-288 (1999)
 Blood (2002) 100 (9):3068-3076
 Blood 99 (8):2662-2669 (2002)
 Blumberg H., et al Cell 104, 9-19, 2001
 Bose, et al., Tetrahedron, 48, 751-758 (1992)
 Bourgeois C., et al J. Clin. Endocrinol. Metab. 82, 3116-3123, 1997
 Brinster et al (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:836
 Buchman and Berg (1988) Mol. Cell. Biol. 8:4395
 Cancer Res. 61 (15), 5857-5860 (2001)
 Carl et al (1981) J. Med. Chem. 24:479-480
 Carlsson et al (1978) Biochem. J. 173:723-737
 Carter, P. (2006) Nature Reviews Immunology 6:343-357
 Cell 109 (3):397-407 (2002)
 CellTiter Glo Luminescent Cell Viability Assay, Promega Corp. Technical Bulletin TB288
 Chakravarty et al (1983) J. Med. Chem. 26:638-644
 Chan, J. and Watt, V.M., Oncogene 6 (6), 1057-1061 (1991)
 Child et al (1999) J. Biol. Chem. 274: 24335-24341
 Cho H.-S., et al Nature 421, 756-760, 2003
 Ciccociola, A., et al EMBO J. 8(7):1987-1991 (1989)
 Clackson et al (1991) Nature, 352:624-628

- Clark H.F., et al *Genome Res.* 13, 2265-2270, 2003
- Corey E, Quinn JE, Buhler KR, et al. LuCap35: a new model of prostate cancer progression to androgen independence. *The Prostate* 2003;55:239-46.
- Coussens L., et al *Science* (1985) 230(4730):1132-1139
- Cree et al (1995) *AntiCancer Drugs* 6:398-404
- Crouch et al (1993) *J. Immunol. Meth.* 160:81-88
- Davis et al (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 98(17):9772-9777
- de Groot et al (2001) *J. Org. Chem.* 66:8815-8830
- de Groot et al (2003) *Angew. Chem. Int. Ed.* 42:4490-4494
- Dennis et al. (2002) "Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins" *J Biol Chem.* 277:35035-35043
- Dobner et al (1992) *Eur. J. Immunol.* 22:2795-2799
- Dornan et al (2009) *Blood* 114(13):2721-2729
- Doronina et al (2006) *Bioconj. Chem.* 17:114-124
- Dubowchik et al. *Bioconjugate Chemistry*, 2002, 13,855-869
- Dubowchik, et al. (1997) *Tetrahedron Letters*, 38:5257-60
- Dumoutier L., et al *J. Immunol.* 167, 3545-3549, 2001
- E. Schröder and K. Lübke, *The Peptides*, volume 1, pp 76-136 (1965) Academic Press
- Ehsani A., et al (1993) *Genomics* 15, 426-429
- Eliel, E. and Wilen, S., "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994
- Elshourbagy N.A., et al *J. Biol. Chem.* 268, 3873-3879, 1993
- Erickson et al (2006) *Cancer Res.* 66(8):1-8
- Feild, J.A., et al (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 258 (3):578-582
- Fields, G. and Noble, R. (1990) "Solid phase peptide synthesis utilizing 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino acids", *Int. J. Peptide Protein Res.* 35:161-214
- Fuchs S., et al *Mol. Med.* 7, 115-124, 2001
- Fujisaku et al (1989) *J. Biol. Chem.* 264 (4):2118-2125)
- Gary S.C., et al *Gene* 256, 139-147, 2000
- Gaugitsch, H.W., et al (1992) *J. Biol. Chem.* 267 (16):11267-11273)
- Geiser et al "Automation of solid-phase peptide synthesis" in *Macromolecular Sequencing and Synthesis*, Alan R. Liss, Inc., 1988, pp. 199-218
- Genome Res.* 13 (10):2265-2270 (2003)
- Genomics* 62 (2):281-284 (1999)
- Geoghegan & Stroh, (1992) *Bioconjugate Chem.* 3:138-146
- Getz et al (1999) *Anal. Biochem.* Vol 273:73-80
- Glynne-Jones et al (2001) *Int J Cancer.* Oct 15; 94(2):178-84
- Gregson et al., *Chem. Commun.* 1999, 797-798
- Gregson et al., *J. Med. Chem.* 2001, 44, 1161-1174
- Gu Z., et al *Oncogene* 19, 1288-1296, 2000
- Ha et al (1992) *J. Immunol.* 148(5):1526-1531
- Haendler B., et al *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 20, s1-S4, 1992
- Hamann P. (2005) *Expert Opin. Ther. Patents* 15(9):1087-1103
- Hamblett et al (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:7063-7070

- Handbook of Pharmaceutical Additives, 2nd Edition (eds. M. Ash and I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA)
- Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd edition, 1994
- Hara, et al., *J. Antibiotics*, 41, 702-704 (1988)
- Hashimoto et al (1994) *Immunogenetics* 40(4):287-295
- Hay et al. (1999) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9:2237
- Herdwijn, P. et al., *Canadian Journal of Chemistry*. 1982, 60, 2903-7
- Hermanson, G.T. (1996) *Bioconjugate Techniques*; Academic Press: New York, p 234-242
- Hochlowski, et al., *J. Antibiotics*, 40, 145-148 (1987)
- Hofstra R.M.W., et al *Eur. J. Hum. Genet.* 5, 180-185, 1997
- Hofstra R.M.W., et al *Nat. Genet.* 12, 445-447, 1996
- Horie et al (2000) *Genomics* 67:146-152
- Hubert, R.S., et al (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96 (25):14523-14528)
- Hurley and Needham-VanDevanter, *Acc. Chem. Res.*, 19, 230-237 (1986)
- Immunogenetics* 54 (2):87-95 (2002)
- Int. Rev. Cytol.* 196:177-244 (2000)
- Itoh, et al., *J. Antibiotics*, 41, 1281-1284 (1988)
- J. Biol. Chem.* 270 (37):21984-21990 (1995)
- J. Biol. Chem.* 276 (29):27371-27375 (2001)
- J. Biol. Chem.* 277 (22):19665-19672 (2002)
- J. Biol. Chem.* 278 (33):30813-30820 (2003)
- Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York
- Jeffrey et al (2005) *J. Med. Chem.* 48:1344-1358
- Jonsson et al (1989) *Immunogenetics* 29(6):411-413
- Junutula, et al., 2008b *Nature Biotech.*, 26(8):925-932
- Kang, G-D., et al., *Chem. Commun.*, 2003, 1680-1689
- Kasahara et al (1989) *Immunogenetics* 30(1):66-68
- King et al (2002) *Tetrahedron Letters* 43:1987-1990
- Kingsbury et al (1984) *J. Med. Chem.* 27:1447
- Kohler et al (1975) *Nature* 256:495
- Kohn, in *Antibiotics III*. Springer-Verlag, New York, pp. 3-11 (1975).
- Konishi, et al., *J. Antibiotics*, 37, 200-206 (1984)
- Kovtun et al (2006) *Cancer Res.* 66(6):3214-3121
- Kuhns J.J., et al *J. Biol. Chem.* 274, 36422-36427, 1999
- Kuminoto, et al., *J. Antibiotics*, 33, 665-667 (1980)
- Kurebayashi et al (1999) *Brit. Jour. Cancer* 79(5-6):707-717
- Lab. Invest.* 82 (11):1573-1582 (2002)
- Lambert J. (2005) *Current Opin. in Pharmacol.* 5:543-549
- Langley and Thurston, *J. Org. Chem.*, 52, 91-97 (1987)
- Larhammar et al (1985) *J. Biol. Chem.* 260(26):14111-14119
- Law et al (2006) *Cancer Res.* 66(4):2328-2337
- Le et al (1997) *FEBS Lett.* 418(1-2):195-199
- Leber, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 2992-2993 (1988)
- Leimgruber, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 5791-5793 (1965)

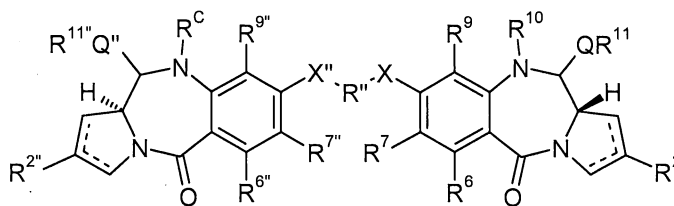
- Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5793-5795 (1965)
- Levenson et al (1997) Cancer Res. 57(15):3071-3078
- Liang et al (2000) Cancer Res. 60:4907-12
- Manfré, F. et al., J. Org. Chem. 1992, 57, 2060-2065
- Marks et al (1991) J. Mol. Biol., 222:581-597
- McDonagh (2006) Protein Eng. Design & Sel., 19(7): 299-307
- Mendoza et al (2002) Cancer Res. 62:5485-5488
- Miller et al (2003) Jour. of Immunology 170:4854-4861
- Miura et al (1996) Genomics 38(3):299-304
- Miura et al (1998) Blood 92:2815-2822
- Moore M., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84, 9194-9198, 1987
- Morrison et al (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855
- Muller et al (1992) Eur. J. Immunol. 22 (6):1621-1625
- Mungall A.J., et al Nature 425, 805-811, 2003
- Nagase T., et al (2000) DNA Res. 7 (2):143-150)
- Nakamuta M., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 177, 34-39, 1991
- Nakayama et al (2000) Biochem. Biophys. Res. Commun. 277(1):124-127
- Naruse et al (2002) Tissue Antigens 59:512-519
- Nature 395 (6699):288-291 (1998)
- Neuberger and Williams (1988) Nucleic Acids Res. 16:6713
- Novabiochem Catalog 2006/2007
- Ogawa Y., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 178, 248-255, 1991
- Okamoto Y., et al Biol. Chem. 272, 21589-21596, 1997
- Oncogene 10 (5):897-905 (1995)
- Oncogene 14(11):1377-1382 (1997))
- Parrish-Novak J., et al J. Biol. Chem. 277, 47517-47523, 2002
- Payne, G. (2003) Cancer Cell 3:207-212
- Pingault V., et al (2002) Hum. Genet. 111, 198-206
- Pletnev S., et al (2003) Biochemistry 42:12617-12624
- Preud'homme et al (1992) Clin. Exp. Immunol. 90(1):141-146
- Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (2003) 100 (7):4126-4131
- Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93 (1):136-140 (1996)
- Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (17):9772-9777 (2001)
- Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99 (26):16899-16903 (2002)
- Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96 (20):11531-11536 (1999)
- Protective Groups in Organic Synthesis, Greene and Wuts, 3rd Edition, 1999, John Wiley & Sons Inc.
- Puffenberger E.G., et al Cell 79, 1257-1266, 1994
- Rao et al (1997) Breast Cancer Res. and Treatment 45:149-158
- Reiter R.E., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95, 1735-1740, 1998
- Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th edition, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000
- Rodrigues et al (1995) Chemistry Biology 2:223
- Ross et al (2002) Cancer Res. 62:2546-2553
- S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984)
- McGraw-Hill Book Company, New York
- Sakaguchi et al (1988) EMBO J. 7(11):3457-3464
- Sakamoto A., Yanagisawa M., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 178,

656-663, 1991

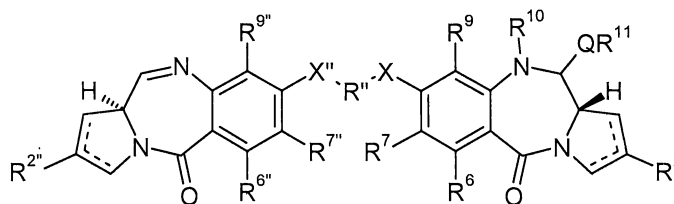
- Sanderson et al (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852
- Semba K., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82, 6497-6501, 1985
- Servenius et al (1987) J. Biol. Chem. 262:8759-8766
- Shamis et al (2004) J. Am. Chem. Soc. 126:1726-1731
- Sheikh F., et al (2004) J. Immunol. 172, 2006-2010
- Shimizu, et al, J. Antibiotics, 29, 2492-2503 (1982)
- Sinha S.K., et al (1993) J. Immunol. 150, 5311-5320
- Storm et al (1972) J. Amer. Chem. Soc. 94:5815
- Strausberg et al (2002) Proc. Natl. Acad. Sci USA 99:16899-16903
- Sun et al (2002) Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 12:2213-2215
- Sun et al (2003) Bioorganic & Medicinal Chemistry 11:1761-1768
- Svensson P.J., et al Hum. Genet. 103, 145-148, 1998
- Swiercz J.M., et al J. Cell Biol. 165, 869-880, 2004
- Syrgios and Epenetos (1999) AntiCancer Research 19:605-614
- Takeuchi, et al., J. Antibiotics, 29, 93-96 (1976)
- Tawaragi Y., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 150, 89-96, 1988
- ten Dijke, P., et al Science 264 (5155):101-104 (1994)
- Thompson, J.S., et al Science 293 (5537), 2108-2111 (2001) WO 2004/058309
- Thurston, et al., Chem. Brit., 26, 767-772 (1990)
- Thurston, et al., Chem. Rev. 1994, 433-465 (1994)
- Toki et al (2002) J. Org. Chem. 67:1866-1872
- Tonnelle et al (1985) EMBO J. 4(11):2839-2847
- Touchman et al (2000) Genome Res. 10:165-173
- Trail et al (2003) Cancer Immunol. Immunother. 52:328-337
- Tsunakawa, et al., J. Antibiotics, 41, 1366-1373 (1988)
- Tsutsumi M., et al Gene 228, 43-49, 1999
- Uchida et al (1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 266:593-602
- Verheij J.B., et al Am. J. Med. Genet. 108, 223-225, 2002
- Von Hoegen et al (1990) J. Immunol. 144(12):4870-4877
- Webster et al (1994) Semin. Cancer Biol. 5:69-76
- Weis J.J., et al J. Exp. Med. 167, 1047-1066, 1988
- Weis J.J., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 83, 5639-5643, 1986
- Wilson et al (1991) J. Exp. Med. 173:137-146
- Wu et al (2005) Nature Biotech. 23(9):1137-1145
- Xie et al (2006) Expert. Opin. Biol. Ther. 6(3):281-291
- Xu, M.J., et al (2001) Biochem. Biophys. Res. Commun. 280 (3):768-775
WO 2004/016225
- Xu, X.Z., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (19):10692-10697 (2001)
- Yamaguchi, N., et al Biol. Chem. 269 (2), 805-808 (1994)
- Yamamoto T., et al Nature 319, 230-234, 1986
- Yu et al (1992) J. Immunol. 148(2) 633-637

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Thể liên hợp có công thức (AB) hoặc (AC):



AB



AC

và muối và solvat của chúng, trong đó:

các đường chấm biểu thị sự có mặt tùy ý của liên kết đôi giữa C1 và C2 hoặc C2 và C3;

R^2 độc lập được chọn từ H, OH, =O, =CH₂, CN, R, OR, =CH-R^D, =C(R^D)₂, O-SO₂-R, CO₂R và COR, và tùy ý được chọn tiếp từ halo hoặc dihalo;

trong đó R^D độc lập được chọn từ R, CO₂R, COR, CHO, CO₂H và halo;

R^6 và R^9 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn và halo;

R^7 độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn và halo;

R^{10} là nhóm liên kết được nối với chất gắn kết tế bào được chọn từ kháng thể, mảnh kháng thể mà chứa ít nhất một vị trí gắn kết và polypeptit vòng;

Q độc lập được chọn từ O, S và NH;

R^{11} là H hoặc R hoặc, khi Q là O, SO₃M, trong đó M là cation kim loại;

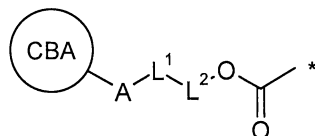
mỗi nhóm R và R' độc lập được chọn từ các nhóm C₁₋₁₂ alkyl, C₃₋₂₀ heterocyclyl và C₅₋₂₀ aryl được thế tùy ý, và tùy ý liên quan đến nhóm NRR', R và R' cùng với nguyên tử nitơ mà chúng được gắn vào tạo thành vòng dạng dị vòng có 4, 5, 6 hoặc 7 cạnh được thế tùy ý;

R'' là nhóm C_{3-12} alkylen, chuỗi này có thể bị làm gián đoạn bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, ví dụ O, S, N(H), NMe và/hoặc các vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin, các vòng này được thể tùy ý bởi NH_2 ;

mỗi X là O, S hoặc N(H); và

trong đó $R^{2''}$, $R^{6''}$, $R^{7''}$, $R^{9''}$, X'' , Q'' và $R^{11''}$ là như được xác định theo R^2 , R^6 , R^7 , R^9 , X, Q và R^{11} một cách tương ứng, và R^C là nhóm chụp mũ.

2. Thể liên hợp theo điểm 1, trong đó R^{10} là nhóm:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10, CBA là chất gắn kết tế bào, L^1 là nhóm liên kết có thể phân cắt được, A là nhóm nối mà nối L^1 với chất gắn kết tế bào, L^2 là liên kết cộng hóa trị hoặc cùng với $-OC(=O)-$ tạo thành nhóm liên kết tự phân hủy.

3. Thể liên hợp theo điểm 2, trong đó L^1 có thể phân cắt được bằng enzym.

4. Thể liên hợp theo điểm 3, trong đó L^1 chứa dipeptit và nhóm $-X_1-X_2-$ trong dipeptit này, $-NH-X_1-X_2-CO-$, được chọn từ:

-Phe-Lys-,

-Val-Ala-,

-Val-Lys-,

-Ala-Lys-,

-Val-Cit-,

-Phe-Cit-,

-Leu-Cit-,

-Ile-Cit-,

-Phe-Arg-,

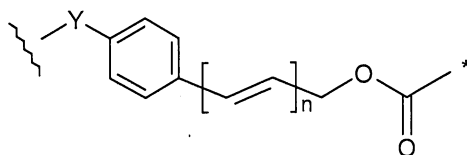
-Trp-Cit-.

5. Thể liên hợp theo điểm 4, trong đó nhóm $-X_1-X_2-$ trong dipeptit, $-NH-X_1-X_2-CO-$, là -Phe-Lys-, -Val-Ala- hoặc -Val-Cit-.

6. Thẻ liên hợp theo điểm 4 hoặc điểm 5, trong đó nhóm X_2-CO- được nối với L^2 , và nhóm $NH-X_1-$ được nối với A.

7. Thẻ liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 4 đến 6, trong đó L^2 cùng với $OC(=O)$ tạo thành nhóm liên kết tự phân hủy.

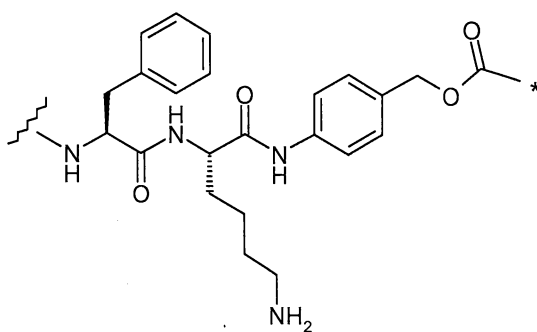
8. Thẻ liên hợp theo điểm 7, trong đó $C(=O)O$ và L^2 cùng nhau tạo thành nhóm:



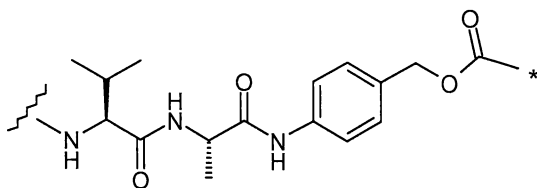
trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10, đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào nhóm liên kết L^1 , Y là NH, O, $C(=O)NH$ hoặc $C(=O)O$, và n nằm trong khoảng từ 0 đến 3.

9. Thẻ liên hợp theo điểm 8, trong đó Y là NH, và n là 0.

10. Thẻ liên hợp theo điểm 2', trong đó L^1 và L^2 cùng với $-OC(=O)-$ chứa nhóm được chọn từ:



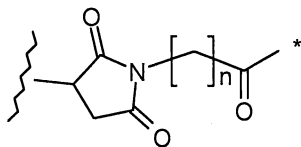
hoặc



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10, và đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào A.

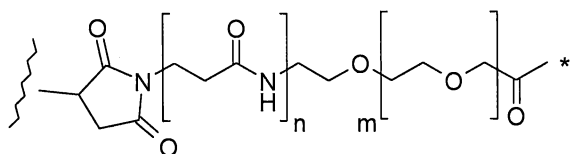
11. Thẻ liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 10, trong đó A là:

(i)



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^1 , đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào chất gắn kết tế bào, và n nằm trong khoảng từ 0 đến 6; hoặc

(ii)



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào L^1 , đường gợn sóng biểu thị điểm gắn vào chất gắn kết tế bào, n là 0 hoặc 1, và m nằm trong khoảng từ 0 đến 30.

12. Thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 11, trong đó chất gắn kết tế bào được nối với A thông qua liên kết thioete được tạo thành từ gốc xystein thiol của chất gắn kết tế bào và nhóm malemit của A.

13. Thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó chất gắn kết tế bào của R^{10} là kháng thể hoặc mảnh có hoạt tính của chúng.

14. Thể liên hợp theo điểm 13, trong đó kháng thể hoặc mảnh kháng thể là kháng thể hoặc mảnh kháng thể đối với kháng nguyên liên quan đến khối u.

15. Thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R^9 độc lập là H và R^6 độc lập là H.

16. Thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R^7 độc lập là OMe.

17. Thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó X là O.

18. Thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R^{11} là H.

19. Thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó các đường chấm biểu thị sự có mặt tùy ý của liên kết đôi giữa C2 và C3.

20. Thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R^2 độc lập được chọn từ H, =O, =CH₂, R, =CH-R^D và =C(R^D)₂.

21. Thể liên hợp theo điểm 20, trong đó R^2 độc lập là $=CH_2$.
22. Thể liên hợp theo điểm 20, trong đó R^2 độc lập là C_{5-20} aryl được thể tùy ý.
23. Thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 22, trong đó R'' là nhóm C_3 alkylen hoặc nhóm C_5 alkylen.
24. Thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 23, trong đó R^C có thể loại bỏ được ra khỏi vị trí N10 để lại liên kết N10-C11 imin.
25. Thể liên hợp theo điểm 24, trong đó R^C là nhóm bảo vệ carbamat được chọn từ:

Alloc

Fmoc

Boc

Troc

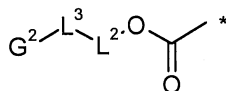
Teoc

Psec

Cbz

PNZ.

26. Thể liên hợp theo điểm 24, trong đó R^C là nhóm:



trong đó dấu hoa thị biểu thị điểm gắn vào vị trí N10, G^2 là nhóm kết thúc, L^3 là liên kết cộng hóa trị hoặc nhóm liên kết có thể phân cắt được L^1 , L^2 là liên kết cộng hóa trị hoặc cùng với $OC(=O)$ tạo thành nhóm liên kết tự phân hủy.

27. Thể liên hợp theo điểm 26, trong đó L^3 là nhóm liên kết có thể phân cắt được L^1 , và được xác định trong điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 6.
28. Thể liên hợp theo điểm 26 hoặc điểm 27, trong đó L^2 cùng với $OC(=O)$ tạo thành nhóm liên kết tự phân hủy, và nhóm liên kết tự phân hủy này là như được xác định trong điểm 8 hoặc 9.

29. Thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 26 đến 28, trong đó G^2 là Ac hoặc Moc, hoặc là nhóm bảo vệ carbamat được chọn từ:

Alloc

Fmoc

Boc

Troc

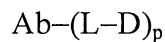
Teoc

Psec

Cbz

PNZ.

30. Thể liên hợp có công thức:



trong đó Ab là kháng thể được gắn bằng gốc liên kết (L) vào gốc dược chất PBD (D) có công thức (AB) hoặc (AC), và p là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến khoảng 8, trong đó gốc liên kết (L) và gốc dược chất PBD (D) có công thức (AB) hoặc (AC) là như được xác định trong điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 29.

31. Thể liên hợp theo điểm 30, trong đó Ab là kháng thể gắn kết với một hoặc nhiều kháng nguyên liên quan đến khối u hoặc thụ thể bề mặt tế bào được chọn từ (1)-(36):

(1) BMPR1B (thụ thể protein tạo hình thái xương-typ IB);

(2) E16 (LAT1, SLC7A5);

(3) STEAP1 (kháng nguyên biểu mô 6 miền xuyên màng của tuyến tiền liệt);

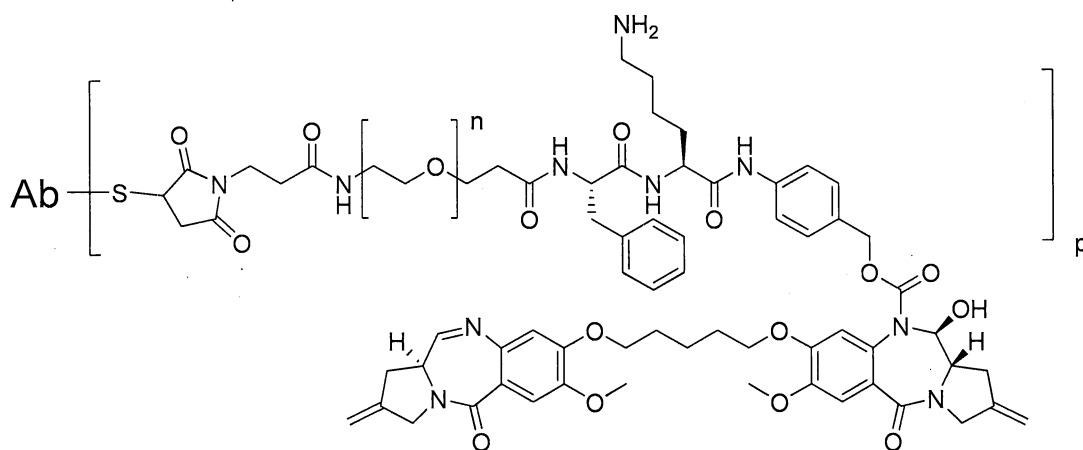
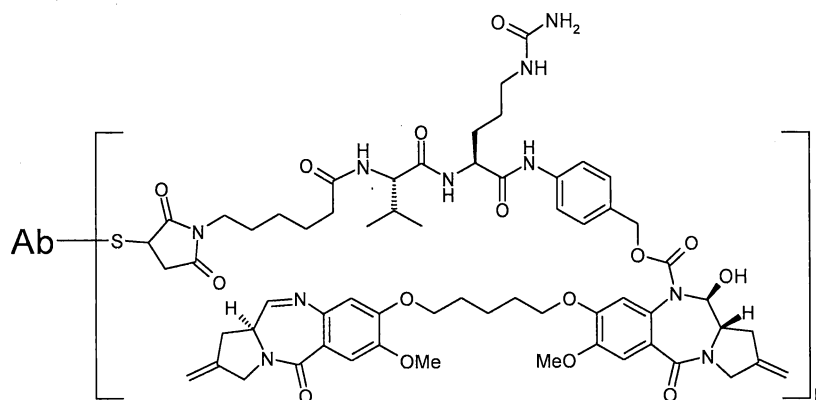
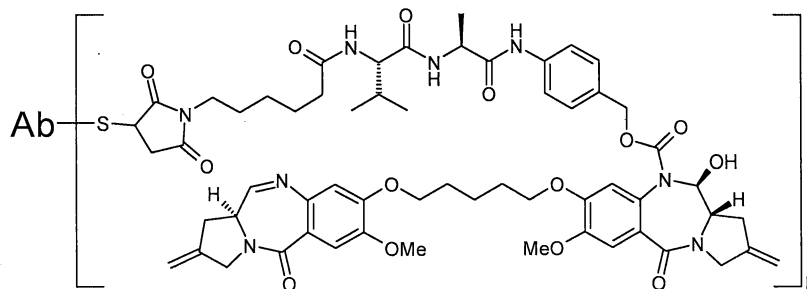
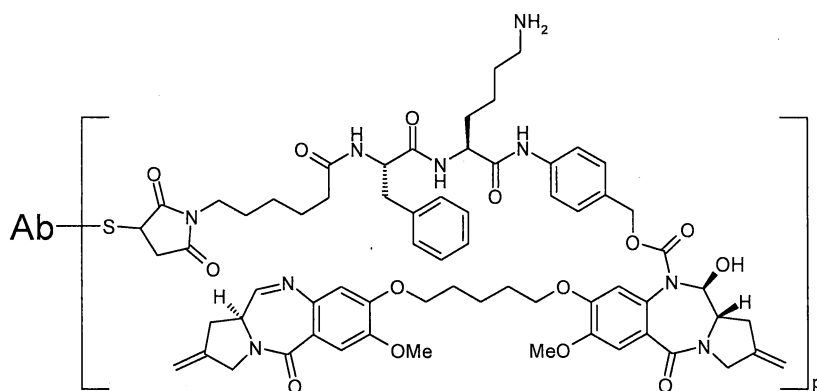
(4) 0772P (CA125, MUC16);

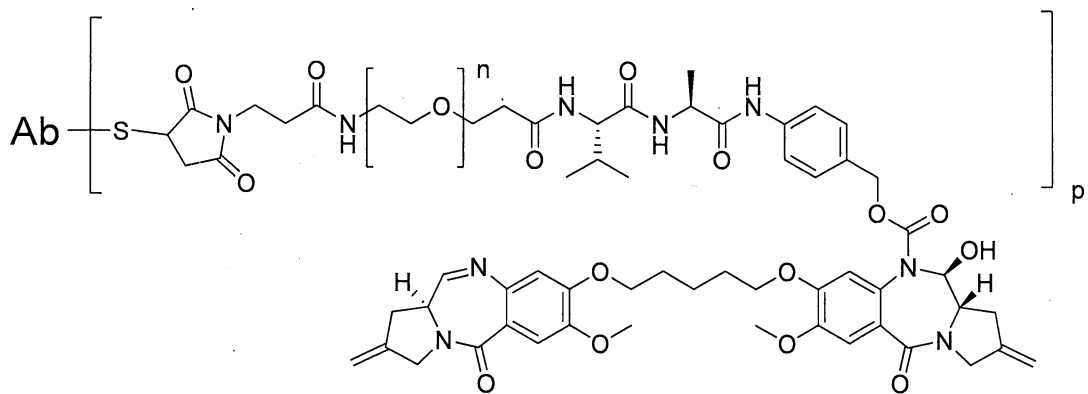
(5) MPF (MPF, MSLN, SMR, yếu tố tăng cường hiệu lực tế bào nhân khổng lồ, mesothelin);

(6) Napi3b (NAPI-3B, NPTIb, SLC34A2, họ yếu tố mang chất tan 34 (natri phosphat), thành viên 2, yếu tố vận chuyển phosphat phụ thuộc natri typ II 3b);

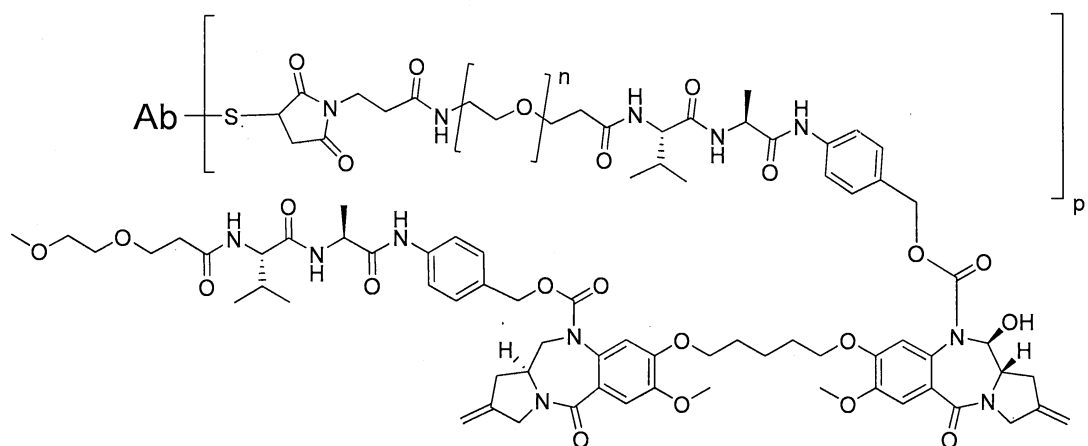
- (7) Sema 5b (FLJ10372, KIAA1445, Mm.42015, SEMA5B, SEMAG, Semaphorin 5b Hlog, miền sema, bảy đoạn lặp thrombospondin (typ 1 và giống typ 1), miền xuyên màng (TM) và miền tế bào chất ngắn, (semaphorin) 5B);
- (8) PSCA hlg (gen 2700050C12Rik, C530008O16Rik, RIKEN cDNA 2700050C12, RIKEN cDNA 2700050C12);
- (9) ETBR (thụ thể endothelin typ B);
- (10) MSG783 (RNF124, protein giả thuyết FLJ20315);
- (11) STEAP2 (HGNC_8639, IPCA-1, PCANAP1, STAMP1, STEAP2, STMP, gen liên quan đến bệnh ung thư tuyến tiền liệt 1, protein liên quan đến bệnh ung thư tuyến tiền liệt 1, kháng nguyên biểu mô 6 miền xuyên màng của tuyến tiền liệt 2, protein 6 miền xuyên màng của tuyến tiền liệt);
- (12) TrpM4 (BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, kênh cation điện thế thụ thể tạm thời, phân họ M, thành viên 4);
- (13) CRIPTO (CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc từ caxinom quái);
- (14) CD21 (CR2 (thụ thể bổ thể 2) hoặc C3DR (C3d/thụ thể virus Epstein Barr) hoặc Hs 73792);
- (15) CD79b (CD79B, CD79 β , Igb (chuỗi beta liên kết globulin miễn dịch), B29);
- (16) FcRH2 (IFGP4, IRTA4, SPAP1A (protein móc neo phosphatase chứa miền SH2 1a), SPAP1B, SPAP1C);
- (17) HER2;
- (18) NCA;
- (19) MDP;
- (20) IL20R α ;
- (21) Brevican;
- (22) EphB2R;
- (23) ASLG659;
- (24) PSCA;

- (25) GEDA;
 - (26) BAFF-R (thụ thể yếu tố hoạt hóa tế bào B, thụ thể BLyS 3, BR3);
 - (27) CD22 (dạng isoform CD22-B thụ thể tế bào B);
 - (28) CD79a (CD79A, CD79 α , chuỗi alpha liên kết globulin miễn dịch);
 - (29) CXCR5 (thụ thể u lympho Burkitt 1);
 - (30) HLA-DOB (cấu trúc siêu phân tử beta của phân tử MHC lớp II (kháng nguyên Ia));
 - (31) P2X5 (kênh ion đóng mở nhờ phối tử P2X thụ thể gây tiết purin 5);
 - (32) CD72 (kháng nguyên biệt hóa tế bào B CD72, Lyb-2);
 - (33) LY64 (kháng nguyên lympho bào 64 (RP105), protein màng typ I của họ đoạn lặp giàu leuxin (LRR));
 - (34) FcRH1 (protein giống thụ thể Fc 1);
 - (35) IRTA2 (yếu tố liên quan đến sự hoán vị thụ thể siêu họ globulin miễn dịch 2); và
 - (36) TENB2 (proteoglycan xuyên màng giả định).
32. Thụ thể liên hợp theo điểm 30, trong đó Ab là kháng thể được thiết kế xystein.
33. Thụ thể liên hợp theo điểm 30 hoặc điểm 31, trong đó Ab là kháng thể gắn kết với thụ thể ErbB.
34. Thụ thể liên hợp theo điểm 33, trong đó Ab là trastuzumab.
35. Thụ thể liên hợp theo điểm 30 hoặc điểm 31, trong đó Ab là kháng thể kháng HER2, kháng thể kháng Steap1 hoặc kháng thể kháng CD22.
36. Thụ thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 30 đến 35, trong đó p là 1, 2, 3 hoặc 4.
37. Thụ thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 30 đến 36, trong đó thụ thể liên hợp này có công thức được chọn từ:





và



trong đó n là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 24.

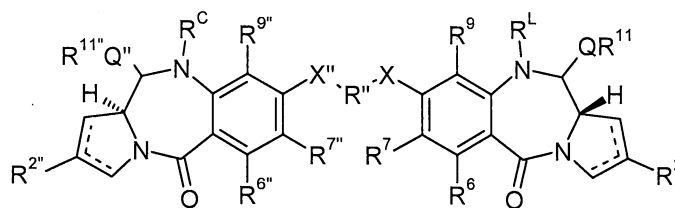
38. Thể liên hợp theo điểm 37, trong đó n là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 12.

39. Thể liên hợp theo điểm 38, trong đó n là 4 hoặc 8.

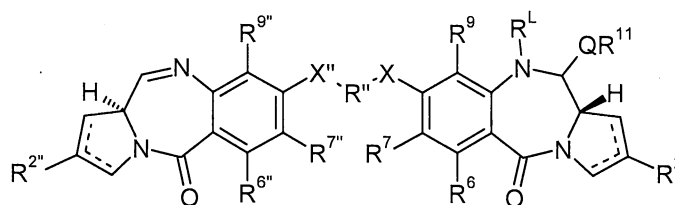
40. Dược phẩm chứa thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 29 hoặc các điểm từ 30 đến 39, chất pha loãng, chất mang hoặc tá dược được dùng.

41. Dược phẩm theo điểm 40, trong đó dược phẩm này còn chứa lượng có tác dụng điều trị bệnh của chất hóa trị liệu.

42. Hợp chất có công thức (EB) hoặc (EC):



EB



EC

và muối và solvat của chúng, trong đó

các đường chấm biểu thị sự có mặt tùy ý của liên kết đôi giữa C1 và C2 hoặc C2 và C3;

R^2 độc lập được chọn từ H, OH, =O, =CH₂, CN, R, OR, =CH-R^D, =C(R^D)₂, O-SO₂-R, CO₂R và COR, và tùy ý được chọn tiếp từ halo hoặc dihalo;

trong đó R^D độc lập được chọn từ R, CO₂R, COR, CHO, CO₂H và halo;

R⁶ và R⁹ độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn và halo;

R⁷ độc lập được chọn từ H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', NO₂, Me₃Sn và halo;

R^L là nhóm liên kết để nối với chất gắn kết tế bào được chọn từ kháng thể, mảnh kháng thể mà chứa ít nhất một vị trí gắn kết và polypeptit vòng;

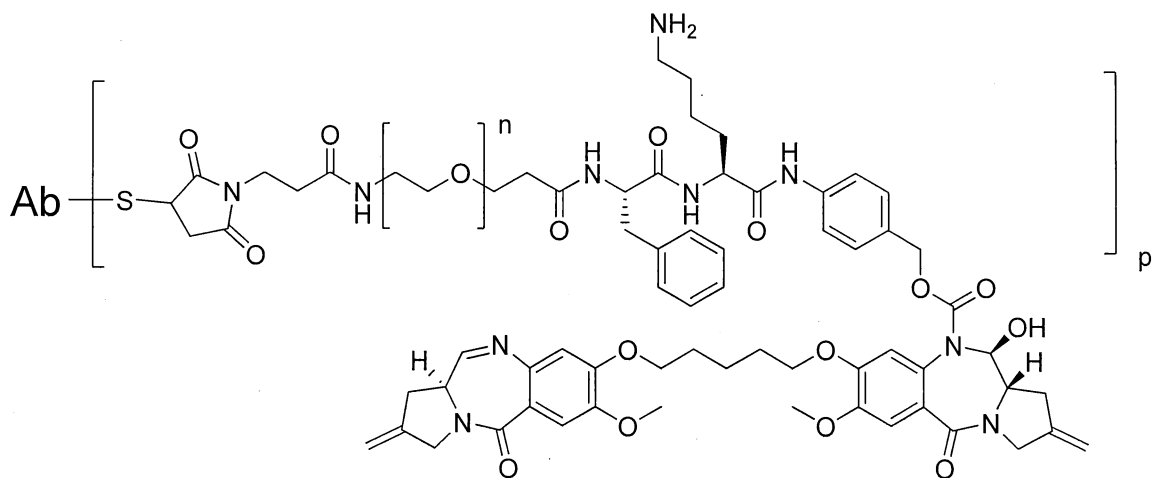
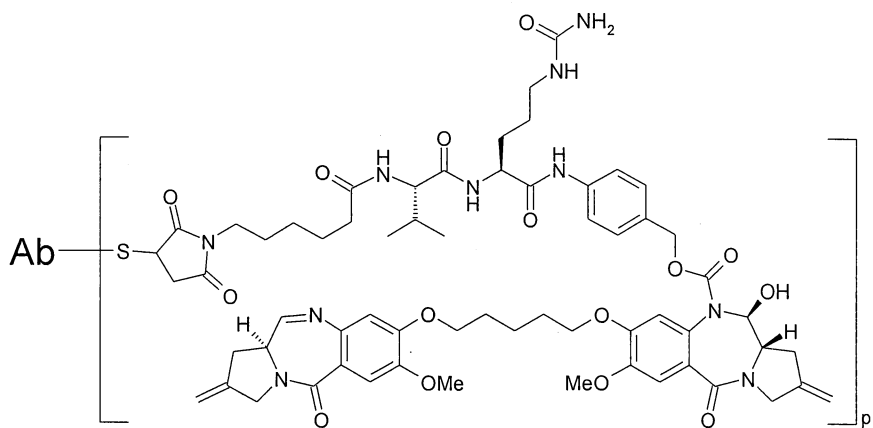
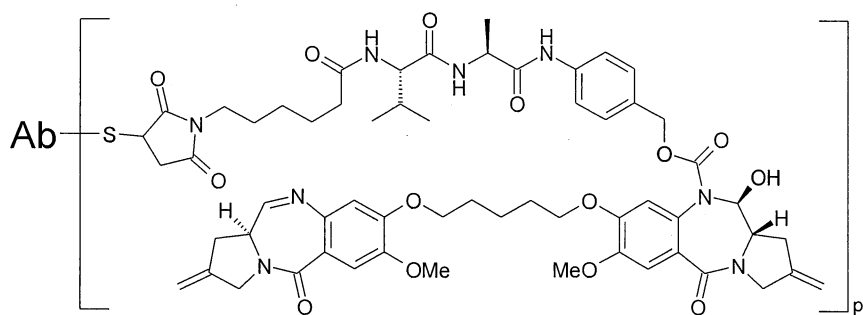
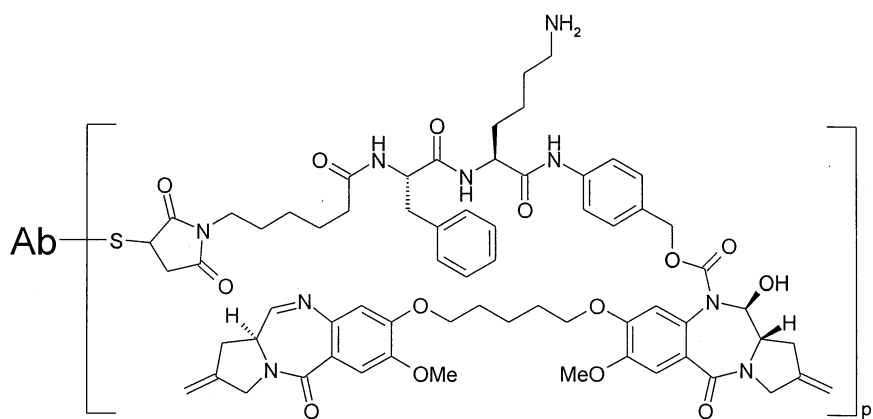
Q độc lập được chọn từ O, S và NH;

R¹¹ là H hoặc R hoặc, khi Q là O, R¹¹ là SO₃M, trong đó M là cation kim loại;

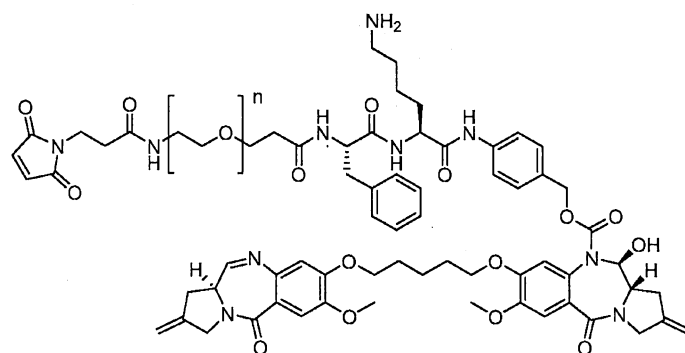
mỗi nhóm R và R' độc lập được chọn từ các nhóm C₁₋₁₂ alkyl, C₃₋₂₀ heterocyclyl và C₅₋₂₀ aryl được thế tùy ý, và tùy ý liên quan đến nhóm NRR', R và R' cùng với nguyên tử nitơ mà chúng được gắn vào tạo thành vòng dạng dị vòng có 4, 5, 6 hoặc 7 cạnh được thế tùy ý;

R'' là nhóm C₃₋₁₂ alkylen, chuỗi này có thể bị làm gián đoạn bởi một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, ví dụ O, S, N(H), NMe và/hoặc các vòng thơm, ví dụ benzen hoặc pyridin, các vòng này được thế tùy ý bởi NH₂;

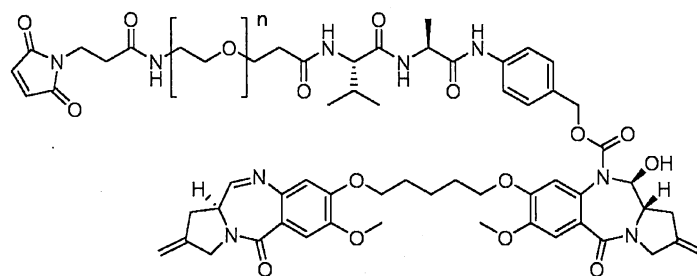
- (23) ASLG659;
 - (24) PSCA;
 - (25) GEDA;
 - (26) BAFF-R (thụ thể yếu tố hoạt hóa tế bào B, thụ thể BLyS 3, BR3);
 - (27) CD22 (thể đồng dạng CD22-B thụ thể tế bào B);
 - (28) CD79a (CD79A, CD79 α , alpha liên quan đến globulin miễn dịch);
 - (29) CXCR5 (thụ thể u lympho Burkitt 1);
 - (30) HLA-DOB (cấu trúc siêu phân tử beta của phân tử MHC lớp II (kháng nguyên Ia));
 - (31) P2X5 (kênh ion bị chặn bởi phối tử P2X thụ thể gây tiết purin 5);
 - (32) CD72 (kháng nguyên biệt hóa tế bào B CD72, Lyb-2);
 - (33) LY64 (kháng nguyên lympho bào 64 (RP105), protein màng typ I của họ đoạn lặp giàu leuxin (LRR));
 - (34) FcRH1 (protein giống thụ thể Fc 1);
 - (35) IRTA2 (thụ thể liên quan đến sự chuyển đoạn thụ thể siêu họ globulin miễn dịch 2);
- và
- (36) TENB2 (proteoglycan xuyên màng giả định).
32. Thụ thể liên hợp theo điểm 30, trong đó Ab là kháng thể được thiết kế xystein.
 33. Thụ thể liên hợp theo điểm 30 hoặc điểm 31, trong đó Ab là kháng thể gắn kết với thụ thể ErbB.
 34. Thụ thể liên hợp theo điểm 33, trong đó Ab là trastuzumab.
 35. Thụ thể liên hợp theo điểm 30 hoặc điểm 31, trong đó Ab là kháng thể kháng HER2, kháng thể kháng Steap1, hoặc kháng thể kháng CD22.
 36. Thụ thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 30 đến 35, trong đó p là 1, 2, 3, hoặc 4.
 37. Thụ thể liên hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 30 đến 36, có công thức được chọn từ:



1/4

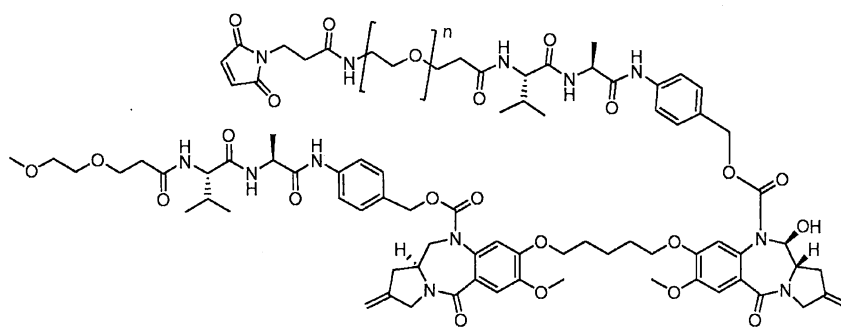


15ba, $n = 4$
15bb, $n = 8$



15d, $n = 8$

Fig.1a



58, $n = 8$

Fig.1b

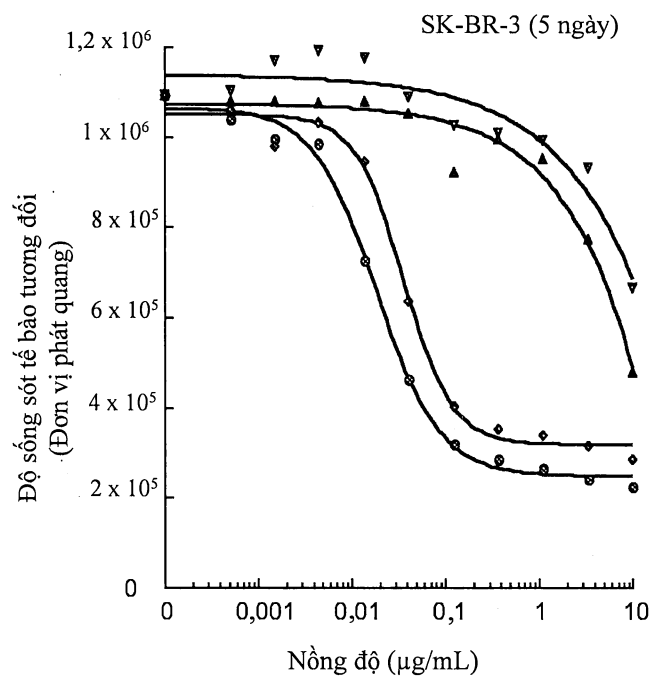


Fig.2

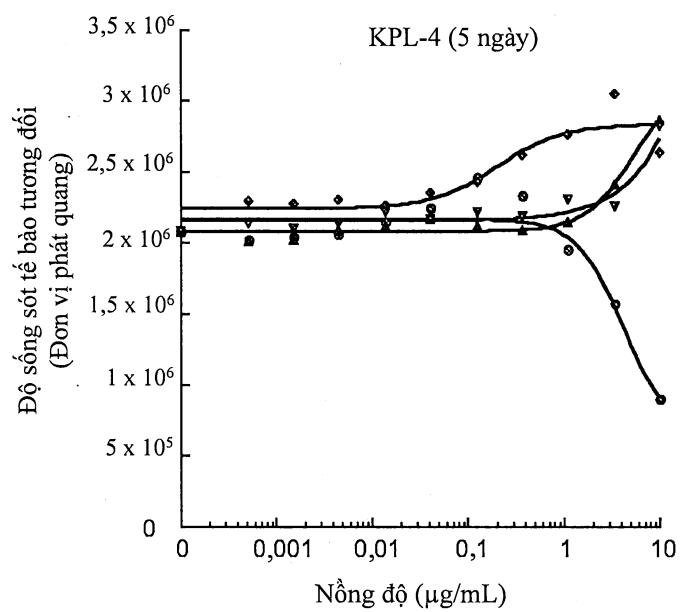


Fig.3

3/4

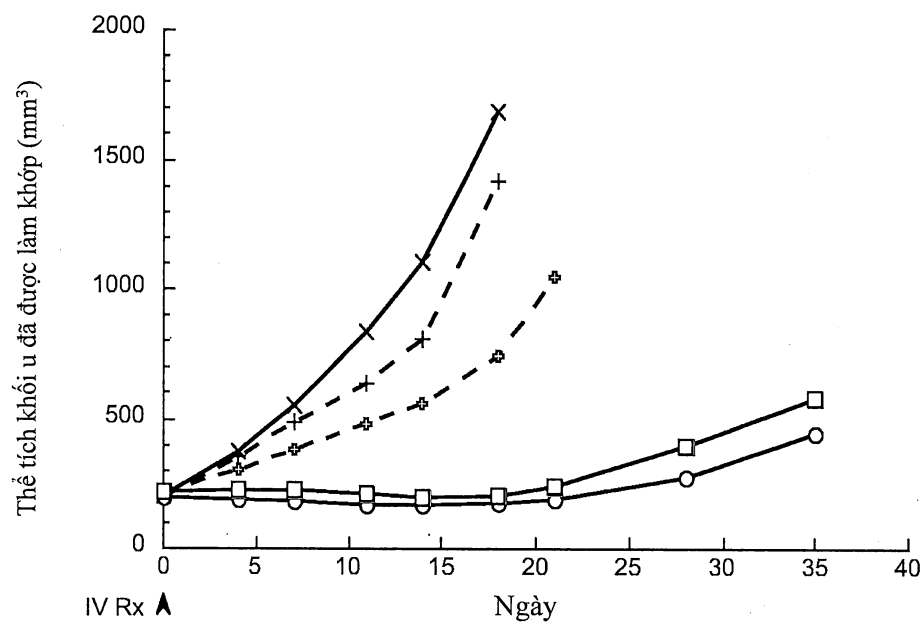


Fig.4

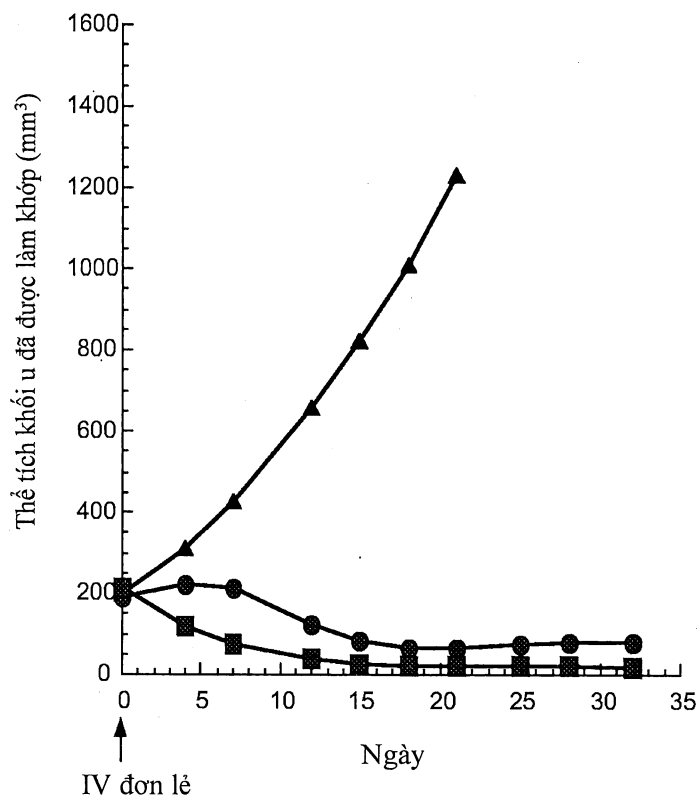


Fig.5

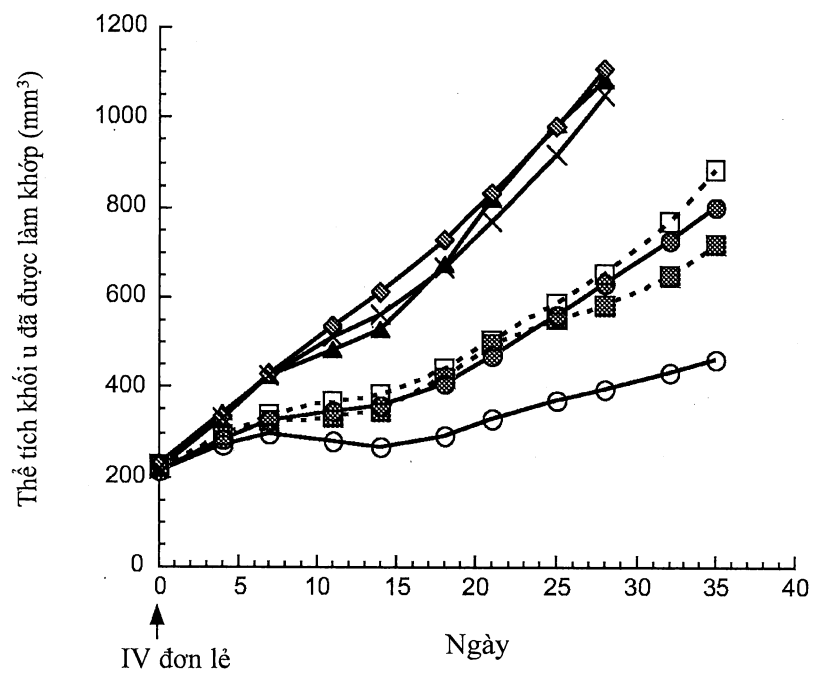


Fig.6