



(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)



1-0033997

(51)<sup>7</sup> A61K 9/19

(13) B

(21) 1-2018-05934

(22) 01/06/2017

(86) PCT/US2017/035461 01/06/2017

(87) WO2018/017190 25/01/2018

(30) 62/344,249 01/06/2016 US; 62/344,256 01/06/2016 US; 62/344,252 01/06/2016 US

(45) 25/11/2022 416

(43) 27/05/2019 374A

(73) SERVIER IP UK LIMITED (GB)

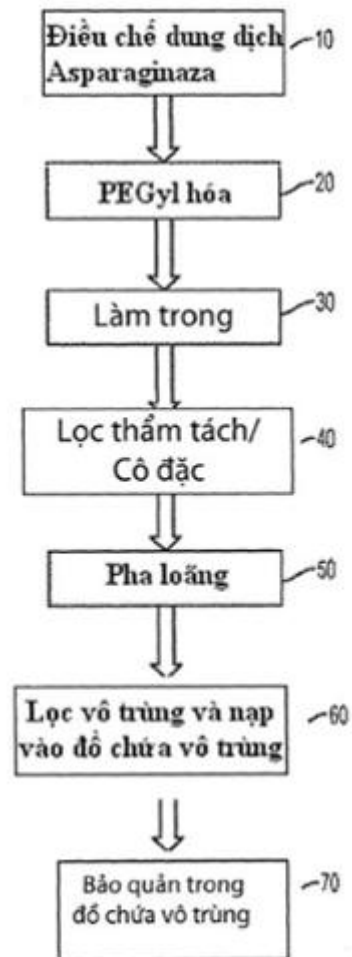
Sefton House Sefton Park, Bells Hill, Stoke Poges, Slough, SL2 4JS, United Kingdom

(72) FORNASINI, Gianfranco (US); SOUKHAREVA, Nadejda (US); PHILLIPS, Christopher (US).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) CHẾ PHẨM CHỨA POLYALKYLEN OXIT-ASPARAGINAZA, PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ VÀ KIT CHỨA CHẾ PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa polyalkylen oxit-asparaginaza. Trong một số trường hợp, chế phẩm này là chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô. Trong một số trường hợp, chế phẩm đông khô chứa một hoặc nhiều dung dịch đệm, muối, và đường. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp điều chế chế phẩm. Chế phẩm này được sử dụng trong nhiều ứng dụng khác nhau, ví dụ, trong điều trị tình trạng bệnh lý ung thư ở đối tượng.



### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa polyalkylen oxit-asparaginaza, phương pháp điều chế và kit chứa chế phẩm này. Chế phẩm này là hữu ích trong nhiều ứng dụng, ví dụ, trong điều trị tình trạng bệnh lý ung thư ở đối tượng.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

L-asparaginaza là enzym thủy phân axit amin L-asparagin nhờ phản ứng khử amin để tạo ra L-aspartat và amoniac. *E. coli* chứa hai isoenzym asparaginaza: L-asparaginaza I và L-asparaginaza II. L-asparaginaza I nằm trong phần bào tan và có ái lực thấp đối với asparagin. Tuy nhiên, L-asparaginaza II nằm trong bào chất và có ái lực cao đối với L-asparagin. L-asparaginaza II *E. coli* là cấu trúc tetrame chứa các cấu trúc dưới đơn vị giống nhau. L-asparaginaza II *E. coli* còn được gọi là L-asparagin amidohydrolaza, dạng EC-2, EC 3.5.1.1.

Đã biết L-asparaginaza có tác dụng điều trị trong việc điều trị bệnh bạch cầu. L-asparaginaza là amidohydrolaza xúc tác L-asparagin thành axit L-aspartic và amoniac. Nó đóng vai trò chính trong quá trình trao đổi chất của L-asparagin ở thực vật, động vật và vi sinh vật. Hiện đã có bằng chứng chắc chắn rằng tác dụng điều trị của enzym này được gây ra bởi sự tiêu/sự loại bỏ L-asparagin tuần hoàn, một chất dinh dưỡng thiết yếu cho quá trình tăng sinh và sống sót của các tế bào khối u (bạch cầu) bị tổn thương về khả năng tổng hợp L-asparagin, chứ không phải là các tế bào bình thường. Việc dùng L-asparaginaza cho bệnh nhân mắc bệnh bạch cầu gây ra sự chết chọn lọc của các tế bào khối u nhờ thủy phân L-asparagin, từ đó điều trị được các khối u ác tính.

Trong một số trường hợp, bản thân L-asparaginaza vẫn có các nhược điểm điển hình của phương pháp điều trị bằng protein, như tốc độ thanh thải cao của protein lạ đối với người bệnh, và tiềm năng gây ra đáp ứng miễn dịch ở người bệnh được điều trị bằng enzym này. Để khắc phục các nhược điểm này, dẫn xuất được liên hợp với polyetylen glycol của L-asparaginaza (PEG- asparaginaza) có thể được sử dụng. PEG-asparaginaza có thể được tạo ra bằng cách sử dụng L-asparaginaza II được chiết xuất

từ *E. coli* và có thể về cơ bản không phải là kháng nguyên và có thể có tốc độ thanh thải ra khỏi hệ tuần hoàn của người bệnh giảm.

Chế phẩm PEG-asparaginaza dạng lỏng dùng để tiêm (Oncaspar®) đã được Cục quản lý Dược phẩm và Thực phẩm Mỹ phê chuẩn trước đây để bán trên thị trường. Oncaspar® đã được phê chuẩn dùng làm thuốc điều trị đầu bảng cho bệnh nhân mắc bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô cấp tính (acute lymphoblastic leukemia - ALL) dưới dạng một thành phần của phác đồ hóa trị liệu đa tác nhân. Ngoài ra, Oncaspar® đã được phê chuẩn để điều trị bệnh nhân mắc ALL và quá mẫn với asparaginaza (ví dụ, dạng nguyên thể của L-asparaginaza).

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm chứa polyalkylen oxit-asparaginaza. Trong một số trường hợp, chế phẩm này chứa một hoặc nhiều dung dịch đệm và muối. Theo các khía cạnh khác, chế phẩm này là chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô. Trong một số trường hợp, chế phẩm đông khô chứa một hoặc nhiều dung dịch đệm, muối, và đường. Các khía cạnh theo sáng chế còn bao gồm phương pháp điều chế chế phẩm này. Chế phẩm này được sử dụng trong nhiều ứng dụng, ví dụ, trong điều trị tình trạng bệnh lý ung thư ở đối tượng.

### **Mô tả vắn tắt các hình vẽ**

Fig. 1 thể hiện sơ đồ khối quy trình của phương pháp điều chế chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô theo các phương án theo sáng chế.

Fig. 2 thể hiện đồ thị về độ tinh khiết (%) và thời gian (tuần) ở 40°C đối với chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô theo các phương án theo sáng chế.

Fig. 3 thể hiện đồ thị về mức hiệu lực (IU/mL) và thời gian (tuần) ở 40°C đối với chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô theo các phương án theo sáng chế.

Fig. 4 thể hiện đồ thị về độ tinh khiết (%) và thời gian (tuần) ở 25°C đối với chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô theo các phương án theo sáng chế.

Fig. 5 thể hiện đồ thị về mức hiệu lực (IU/mL) và thời gian (tuần) ở 25°C đối với chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô theo các phương án theo sáng chế.

Fig. 6 thể hiện sơ đồ khối quy trình của phương pháp điều chế chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô, theo các phương án theo sáng chế. Chế phẩm cuối và bước lọc được thể hiện.

Fig. 7 thể hiện sơ đồ khối quy trình của phương pháp điều chế chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô, theo các phương án theo sáng chế. Bước nạp liệu vô trùng và đông khô được thể hiện.

Fig. 8 thể hiện đồ thị về độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC (%) và thời gian (tháng) đối với chế phẩm đông khô được cất giữ ở 2-8°C (ví dụ, 5°C), theo các phương án theo sáng chế.

Fig. 9 thể hiện đồ thị về mức hiệu lực (hoạt tính) (IU/mL) và thời gian (tháng) đối với chế phẩm đông khô được cất giữ ở 2-8°C (ví dụ, 5°C), theo các phương án theo sáng chế.

Fig. 10 thể hiện đồ thị về tổng mức kết tụ đo được bằng GF-HPLC và thời gian (tháng) đối với chế phẩm đông khô được cất giữ ở 2-8°C (ví dụ, 5°C), theo các phương án theo sáng chế.

Fig. 11 thể hiện đồ thị về độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC (%) và thời gian (tháng) đối với chế phẩm đông khô được cất giữ trong các điều kiện tăng tốc ( $25 \pm 3^\circ\text{C}$ ;  $60\% \pm 5\% \text{ RH}$ ), theo các phương án theo sáng chế.

Fig. 12 thể hiện đồ thị về mức hiệu lực (hoạt tính) (IU/mL) và thời gian (tháng) đối với chế phẩm đông khô được cất giữ trong các điều kiện tăng tốc ( $25 \pm 3^\circ\text{C}$ ;  $60\% \pm 5\% \text{ RH}$ ), theo các phương án theo sáng chế.

Fig. 13 thể hiện đồ thị về tổng mức kết tụ đo được bằng GF-HPLC và thời gian (tháng) đối với chế phẩm đông khô được cất giữ trong các điều kiện tăng tốc ( $25 \pm 3^\circ\text{C}$ ;  $60\% \pm 5\% \text{ RH}$ ), theo các phương án theo sáng chế.

Fig. 14 thể hiện đồ thị về độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC (%) và thời gian (tháng) đối với chế phẩm đông khô được cất giữ trong điều kiện ứng suất nhiệt ( $40 \pm 2^\circ\text{C}$ ;  $75\% \pm 5\% \text{ RH}$ ), theo các phương án theo sáng chế.

Fig. 15 thể hiện đồ thị về mức hiệu lực (hoạt tính) (IU/mL) và thời gian (tháng) đối với chế phẩm đông khô được cất giữ trong điều kiện ứng suất nhiệt ( $40 \pm 2^\circ\text{C}$ ;  $75\% \pm 5\% \text{ RH}$ ), theo các phương án theo sáng chế.

Fig. 16 thể hiện đồ thị về tổng mức kết tụ đo được bằng GF-HPLC và thời gian (tháng) đối với chế phẩm đông khô được cất giữ trong điều kiện ứng suất nhiệt ( $40 \pm$

2°C; 75%  $\pm$  5% RH), theo các phương án theo sáng chế.

### **Mô tả chi tiết sáng chế**

Để mô tả các phương án theo sáng chế, các thuật ngữ sau có thể được dùng, và dự định được xác định như được chỉ ra dưới đây.

Cụm từ “về cơ bản được tinh chế” có nghĩa là quá trình tách chất để chất này chứa phần lớn mẫu mà nó kết lắng. Ví dụ, mẫu về cơ bản được tinh chế chứa 50% hoặc lớn hơn chất đang quan tâm, như 60% hoặc lớn hơn chất đang quan tâm, như 75% hoặc lớn hơn chất đang quan tâm, như 90% hoặc lớn hơn chất đang quan tâm, như 95% hoặc lớn hơn chất đang quan tâm, bao gồm 99% hoặc lớn hơn chất đang quan tâm. Quy trình thông thường bất kỳ có thể được dùng để tinh chế chất đang quan tâm và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, lọc (ví dụ, lọc tuần hoàn có pha loãng, siêu lọc, v.v.), kết tủa chọn lọc, kết tinh, sắc ký trao đổi ion, sắc ký ái lực và lắng cặn theo tỷ trọng.

Cụm từ “tách” dùng để chỉ hợp chất đang quan tâm ở trong môi trường khác với môi trường các hợp chất tự nhiên xuất hiện. “Tách” dùng để chỉ các hợp chất có trong các mẫu mà về cơ bản đã được làm giàu hợp chất đang quan tâm và/hoặc trong đó hợp chất đang quan tâm được tinh chế một phần hoặc về cơ bản.

Các thuật ngữ “người bệnh” và “đối tượng” được sử dụng hoán đổi lẫn nhau và được sử dụng theo nghĩa thông thường của chúng dùng để chỉ cơ thể sống đang mắc hoặc dễ bị mắc tình trạng bệnh lý mà có thể được ngăn ngừa hoặc điều trị bằng cách dùng chế phẩm theo sáng chế, và bao gồm cả người và động vật không phải là người. Ví dụ về đối tượng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, người, tinh tinh và các loài khỉ hình người và khỉ khác; động vật trang trại như gia súc, cừu, lợn, dê và ngựa; động vật có vú nuôi trong nhà như chó và mèo; động vật thí nghiệm bao gồm cả động vật gặm nhấm như chuột nhắt, chuột cống và chuột lang; chim, bao gồm các loài chim nuôi, chim hoang dã và chim cảnh như gà, gà tây và các loài chim khác, vịt, ngỗng, và các loài tương tự. Thuật ngữ này không đề cập độ tuổi cụ thể. Vì vậy, các cá thể trưởng thành, vị thành niên và mới đẻ đều là đối tượng đang quan tâm. “Lượng hữu hiệu được dùng” và “lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị” dùng để chỉ lượng hợp chất hoặc chế phẩm đủ để điều trị rối loạn hoặc bệnh lý cụ thể hoặc một hoặc nhiều triệu chứng của nó và/hoặc ngăn ngừa sự xuất hiện của bệnh lý hoặc rối loạn. Liên quan đến tình trạng bệnh lý ung thư, lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị hoặc lượng hữu hiệu được dùng bao gồm lượng

đủ để, trong số những cái khác, gây ra lượng và/hoặc sự xuất hiện của ung thư ở đối tượng để làm giảm, và/hoặc làm giảm tốc độ phát triển của ung thư.

Thuật ngữ "điều trị" hoặc "việc điều trị" như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là điều trị hoặc việc điều trị bệnh lý hoặc tình trạng bệnh lý ở người bệnh, như động vật có vú (ví dụ, người) bao gồm: (a) ngăn ngừa bệnh lý hoặc tình trạng bệnh lý xảy ra, như điều trị dự phòng đối tượng; (b) làm thuyên giảm bệnh lý hoặc tình trạng bệnh lý như, khử bỏ hoặc làm thoái biến bệnh lý hoặc tình trạng bệnh lý ở người bệnh; (c) ngăn chặn được bệnh lý hoặc tình trạng bệnh lý bằng cách, ví dụ, làm chậm hoặc làm ngừng sự phát triển của bệnh lý hoặc tình trạng bệnh lý ở người bệnh; hoặc (d) làm dịu triệu chứng bệnh lý hoặc tình trạng bệnh lý ở người bệnh.

Thuật ngữ "điều kiện sinh lý học" có nghĩa là bao hàm các điều kiện tương hợp với các tế bào sống, ví dụ, chủ yếu là các điều kiện trong nước của nhiệt độ, độ pH, độ mặn, v.v.. tương hợp với các tế bào sống.

Trước khi các phương án theo sáng chế được mô tả chi tiết hơn, cần phải hiểu rằng các phương án này không chỉ giới hạn ở các phương án cụ thể được mô tả ở đây; vì các phương án như vậy có thể thay đổi. Cũng cần hiểu rằng thuật ngữ được sử dụng ở đây chỉ nhằm mục đích mô tả các phương án cụ thể, và thuật ngữ này không được dự định giới hạn phạm vi của sáng chế. Phạm vi của các phương án theo sáng chế sẽ chỉ bị giới hạn bởi các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo. Trừ khi có quy định khác, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng ở đây đều có nghĩa giống như được hiểu thông thường bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực mà sáng chế có liên quan. Khi một khoảng giá trị được nêu, cần hiểu rằng mỗi giá trị nằm ở giữa, đến phần mười của đơn vị giới hạn dưới, trừ khi có quy định khác, ở giữa giới hạn trên và giới hạn dưới của khoảng đó và giá trị bất kỳ đã nêu hoặc ở giữa khoảng đã nêu đó, đều nằm trong các phương án của sáng chế. Giới hạn trên và giới hạn dưới của các khoảng nhỏ hơn này có thể độc lập chứa các khoảng nhỏ hơn và cũng bao hàm trong các phương án của sáng chế, tùy thuộc vào giới hạn loại trừ cụ thể bất kỳ trong khoảng đã nêu. Khi khoảng đã nêu bao gồm một hoặc cả hai giới hạn, các khoảng không bao gồm cả hai giới hạn đó hoặc cả hai giới hạn đó cũng đều nằm trong phạm vi của sáng chế. Một số khoảng nhất định được nêu ở đây có các giá trị bằng số được đặt trước bởi thuật ngữ "khoảng". Thuật ngữ "khoảng" được sử dụng ở đây để cung cấp sự hỗ trợ theo nghĩa đen cho con số chính xác mà nó đứng trước, cũng như số gần bằng hoặc xấp xỉ số mà thuật ngữ đứng trước.

Khi xác định một số gần hoặc xấp xỉ một số cụ thể, số chưa được nêu gần nhất hoặc xấp xỉ có thể là số mà, trong ngữ cảnh nó được thể hiện, về cơ bản tương đương số được nêu cụ thể.

Tất cả các công bố, patent, và đơn yêu cầu cấp patent được nêu trong bản mô tả này được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn trong cùng phạm vi mà mỗi công bố, patent, và đơn yêu cầu cấp patent này được chỉ ra cụ thể và riêng biệt để được đưa vào bằng cách viện dẫn. Hơn nữa, mỗi công bố, patent, và đơn yêu cầu cấp patent đã trích dẫn được đưa vào bản mô tả bằng cách viện dẫn nhằm bộc lộ và mô tả đối tượng liên quan đến các công bố được trích dẫn. Việc trích dẫn công bố bất kỳ này là nhằm bộc lộ nó trước ngày nộp đơn và không nên hiểu là sự thừa nhận rằng sáng chế được đề cập ở đây không được quyền đề lùi ngày tháng công bố như vậy vì sáng chế trước đó. Hơn nữa, ngày công bố được cung cấp có thể khác với các ngày công bố thực tế, có thể cần phải được xác nhận độc lập.

Cần lưu ý rằng yêu cầu bảo hộ có thể được soạn thảo để loại trừ yếu tố tùy ý bất kỳ. Như vậy, việc mô tả này được dự định để dùng làm cơ sở tiền đề để dùng thuật ngữ riêng biệt như vậy như "duy nhất," "chỉ," và các thuật ngữ tương tự liên quan đến việc mô tả các yếu tố bảo hộ, hoặc việc sử dụng giới hạn "phủ định". Người có hiểu biết trong lĩnh vực này hiển nhiên hiểu rằng khi đọc phần mô tả, mỗi phương án trong số các phương án riêng biệt được mô tả và minh họa ở đây có các thành phần và các dấu hiệu riêng biệt mà có thể được tách khỏi hoặc kết hợp một cách dễ dàng với các dấu hiệu của phương án bất kỳ trong số một vài phương án khác mà không tách rời khỏi phạm vi và tinh thần của các phương án theo sáng chế. Các phương pháp bất kỳ được mô tả có thể được thực hiện theo trình tự của sự kiện đã mô tả hoặc theo trình tự khác bất kỳ có thể hợp lý. Mặc dù các phương pháp và nguyên liệu bất kỳ là tương tự hoặc tương đương với các phương pháp và nguyên liệu được mô tả ở đây cũng có thể được sử dụng trong thực tế hoặc thử nghiệm các phương án theo sáng chế, các phương pháp và nguyên liệu minh họa đại diện sẽ được mô tả.

Các khía cạnh theo sáng chế bao gồm chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza. Trong một số trường hợp, chế phẩm chứa một hoặc nhiều dung dịch đệm và muối. Các khía cạnh theo sáng chế còn bao gồm phương pháp điều chế chế phẩm. Chế phẩm này được sử dụng trong nhiều ứng dụng, ví dụ, trong điều trị tình trạng bệnh lý ung thư ở đối tượng.

Các khía cạnh theo sáng chế bao gồm chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô. Trong một số trường hợp, chế phẩm đông khô chứa một hoặc nhiều dung dịch đệm, muối, và đường. Các khía cạnh theo sáng chế còn bao gồm phương pháp điều chế chế phẩm. Chế phẩm này được sử dụng trong nhiều ứng dụng, ví dụ, trong điều trị tình trạng bệnh lý ung thư (ví dụ, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (AML)) ở đối tượng.

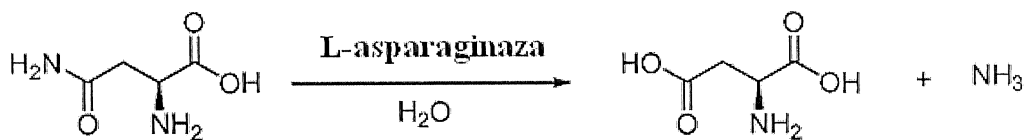
Phần mô tả còn bộc lộ phương pháp điều trị đối tượng mắc AML. Phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng dùng polyalkylen oxit-asparaginaza với liều dùng hữu hiệu để điều trị đối tượng mắc AML. Các khía cạnh theo sáng chế còn bao gồm chế phẩm chứa polyalkylen oxit-asparaginaza và kit có thể được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế.

Để mô tả tiếp về các phương án theo sáng chế, chế phẩm (ví dụ, lỏng và đông khô) được mô tả trước tiên một cách chi tiết hơn. Tiếp theo, phương pháp điều chế, phương pháp sử dụng và kit bao gồm chế phẩm theo sáng chế cũng được mô tả.

### **Chế phẩm**

Các khía cạnh theo sáng chế bao gồm chế phẩm chứa polyalkylen oxit-asparaginaza bao gồm nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị bằng liên kết cầu nối với asparaginaza. Chế phẩm cũng có thể chứa một hoặc nhiều dung dịch đệm và muối. Theo các phương án nhất định, chế phẩm là chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô. Chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô cũng có thể chứa một hoặc nhiều dung dịch đệm, muối và đường.

Như được mô tả ở đây, chế phẩm theo sáng chế có thể chứa polyalkylen oxit-asparaginaza. Polyalkylen oxit-asparaginaza bao gồm asparaginaza được liên kết cộng hóa trị bằng liên kết cầu nối với một hoặc nhiều nhóm polyalkylen oxit. Asparaginaza là enzym có thể bao gồm bốn cấu trúc siêu phân tử giống nhau với một vị trí hoạt tính trên mỗi cấu trúc tứ phân. Ví dụ, enzym asparaginaza có thể là L-asparaginaza (ví dụ, L-asparaginaza II), thủy phân axit amin L-asparagin (còn gọi là axit (S)-2,4-điamino-4-oxobutanoic, hoặc asparaginin, hoặc được viết tắt là Asn hoặc N) để tạo ra L-aspartat (còn gọi là axit (S)-2-aminosuccinic) và amoniac theo phản ứng sau:



Trong một số trường hợp, asparaginaza có thể thủy phân axit amin L-glutamin (còn gọi là axit (S)-2,5-điamino-5-oxopentanoic, hoặc được viết tắt là Gln hoặc Q) để tạo ra L-glutamat (còn gọi là axit (S)-2-aminopentandioic) và amoniac theo phản ứng sau:



Các phản ứng nêu trên được tạo ra bởi L-asparaginaza cũng có thể được gọi là phản ứng khử amin hóa. Trong một số trường hợp, L-asparaginaza trong chế phẩm có nguồn gốc từ nguồn sinh vật chưa có nhân điển hình, như vi khuẩn, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, vi khuẩn *Escherichia coli* (*E. coli*). Như vậy, asparaginaza trong chế phẩm theo sáng chế có thể là asparaginaza *E. coli*. Trong một số trường hợp, asparaginaza được biểu hiện bởi *E. coli*. Asparaginaza có thể được thu hồi và được tinh chế từ môi trường nuôi cấy chứa *E. coli* biểu hiện asparaginaza. Ngoài asparaginaza dạng đại, asparaginaza cũng có thể là asparaginaza không tự nhiên và/hoặc asparaginaza được tạo ra bằng cách tổng hợp và/hoặc mảnh hoạt tính của asparaginaza tự nhiên và/hoặc tổng hợp. Ví dụ về asparaginaza có thể được dùng trong các phương án theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, asparaginaza được mô tả trong: 9,322,008; 9,127,266; 9,051,561; 8,617,868; 7,807,436; 6,991,788; 6,537,547; 6,436,396; 6,368,845; 6,274,367; 6,251,388; 6,165,735; 6,140,101; 6,087,151; 6,042,825; 5,854,051; 5,310,670; 4,729,957 và 4,617,271; nội dung của các tài liệu này được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn.

Như được mô tả trên đây, asparaginaza trong chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza là asparaginaza được liên kết cộng hóa trị với một hoặc nhiều nhóm polyalkylen oxit. Ví dụ, asparaginaza có thể bao gồm một hoặc nhiều nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị với asparaginaza bằng quy trình biến đổi sau dịch mã. Trong polyalkylen oxit-asparaginaza có thể bao gồm một hoặc nhiều nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị với asparaginaza ở một hoặc nhiều vị trí trên asparaginaza.

Ví dụ, nhóm polyalkylen oxit có thể được liên kết cộng hóa trị với gốc axit amin của asparaginaza. Trong một số trường hợp, nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị với nhóm amin của gốc axit amin của asparaginaza.

Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị với mạch bên axit amin của axit amin đầu tận cùng N trong asparaginaza. Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị với nhóm epsilon-amin oflysin (K) trong asparaginaza. Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị với mạch bên axit amin của axit amin đầu tận cùng N và nhóm epsilon-amin của lysin (K) trong asparaginaza.

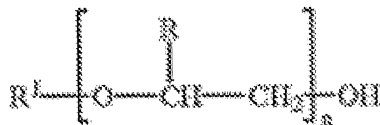
Trong một số trường hợp, polyalkylen oxit-asparaginaza về cơ bản không phải là kháng nguyên. Cụm từ “không phải là kháng nguyên” hoặc “về cơ bản không phải là kháng nguyên” có nghĩa là chế phẩm không tạo ra đáp ứng miễn dịch đáng kể ở đối tượng khi chế phẩm được dùng cho đối tượng. Trong một số trường hợp, polyalkylen oxit-asparaginaza có tốc độ thanh thải ra khỏi hệ tuần hoàn của đối tượng giảm so với asparaginaza chưa được cải biến. Ví dụ, thời gian bán hủy thải của polyalkylen oxit-asparaginaza có thể là 1 ngày hoặc lớn hơn, như 2 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 3 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 4 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 5 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 6 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 7 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 8 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 9 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 10 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 11 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 12 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 13 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 14 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 15 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 16 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 17 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 18 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 19 ngày hoặc lớn hơn, hoặc 20 ngày hoặc lớn hơn. Theo một số phương án thực hiện, thời gian bán hủy thải của polyalkylen oxit-asparaginaza là 3 ngày hoặc lớn hơn. Theo một số phương án thực hiện, thời gian bán hủy thải của polyalkylen oxit-asparaginaza là 5 ngày hoặc lớn hơn.

Nhóm polyalkylen oxit được liên kết với asparaginaza có thể là nhóm polyalkylen oxit tương hợp sinh lý học bất kỳ. Poly(alkylen oxit) (PAO), còn gọi là polyoxyalkylen (POA), được tạo ra bằng cách polyme hoá alkylen oxit (ví dụ, etylen oxit, propylen oxit, butylen oxit). Homopolyme được tạo ra từ chỉ một dạng alkylen oxit trong khi copolyme được tạo ra từ hai hoặc nhiều alkylen oxit khác nhau, được gọi là copolyme alkylen oxit (AOC). Ví dụ về homopolyme là poly(etylen oxit) (PEO), là polyme của etylen oxit (EO), và poly(propylen oxit) (PPO), là polyme của propylen oxit (PO). Poly(etylen oxit)

cũng thường được gọi là polyetylen glycol (PEG) hoặc polyoxyetylen (POE). Khối lượng phân tử của polyme như vậy thường được đặc trưng bởi mức phân bố trung bình của chiều dài (hoặc đơn vị lặp lại). Ngoài các dạng mạch thẳng chuẩn, các dạng mạch nhánh hoặc ngôi sao của poly(alkylen oxit) được tạo ra bằng cách khơi mào phản ứng polyme hoá bằng chất khơi mào đa chức với nhiều nhóm hydroxyl-, amino-, hoặc thiol mà mỗi nhóm này có thể dùng làm điểm khởi đầu cho sự phát triển mạch polyme. Ví dụ, việc sử dụng glyxerol (ba nhóm hydroxyl) làm chất khơi mào dẫn đến việc thu được polyme ba nhánh, trong khi pentaerythritol dẫn đến việc thu được polyme bốn nhánh. Thông thường, polyme của dạng này có 3 đến 10 nhánh được gọi là "mạch nhánh" trong khi các polyme có nhiều hơn 10 nhánh được gọi là polyme "ngôi sao. Copolyme "lược" tương tự với dạng mạch nhánh và ngôi sao, nhưng chất khơi mào cho copolyme lược là polyme đa chức có nhiều nhóm hydroxyl, amino, hoặc thio bố trí cách đều dọc theo khung chính khơi mào, mỗi nhóm này có thể dùng làm điểm khởi đầu cho sự phát triển mạch polyme. Copolyme "ghép" được tạo ra bằng cách bổ sung polyme mạch nhánh dọc theo polyme mạch chính có các liên kết C=C chưa bão hoà hoặc các nhóm chức bên (ví dụ, hydroxyl) mà từ đó mạch bên có thể được bổ sung bằng cách sử dụng mạch polyme đơn chức phản ứng. Tất cả các poly(alkylen oxit) chứa, ngoài nhiều đơn vị lặp lại được dẫn xuất alkylen oxit, một gốc duy nhất tương ứng với phân tử được sử dụng để khơi mào trong polyme tổng hợp. Đối với polyme mạch thẳng, có thể là alkylen glycol tương ứng với alkylen oxit được sử dụng để tổng hợp (ví dụ, lần lượt etylen glycol và etylen oxit) và do đó gốc được dẫn xuất chất khơi mào sẽ khác biệt với các đơn vị lặp lại khác trong mạch polyme. Nhưng các phân tử nhỏ khác ngoài alkylen glycol thường được dùng làm chất khơi mào, ví dụ, bao gồm metanol hoặc N-butanol (đối với polyme mạch thẳng) và trimetylol propan, glyxerol, và pentaerythritol (đối với polyme mạch nhánh) hoặc etylen điamin. Khối lượng của chất khơi mào so với khối lượng của mạch polyme cuối thường rất nhỏ và có thể thường bị bỏ qua. Do vậy, thuật ngữ poly(alkylen oxit) được dùng ở đây ở dạng thông thường của nó, và bao gồm cả poly(alkylen oxit) được bắt đầu với phân tử alkylen glycol lẫn poly(alkylen oxit) được bắt đầu với phân tử nhỏ khác.

Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyalkylen oxit tương hợp về mặt sinh lý học về cơ bản ổn định trong các điều kiện tương hợp với các tế bào sống, ví dụ, chủ yếu là các điều kiện trong nước của nhiệt độ, pH, độ mặn, v.v.. tương hợp với các tế bào

sống. Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyalkylen oxit hòa tan trong nước. Thuật ngữ "polyme hòa tan trong nước" dùng để chỉ nhóm polyalkylen oxit về cơ bản hòa tan trong nước như trong các điều kiện trong nước được tìm thấy trong cơ thể của đối tượng. Nhóm polyalkylen oxit đang quan tâm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, polyalkylen glycol mạch thẳng. Polyalkylen glycol mạch thẳng được sử dụng theo một số phương án thực hiện theo sáng chế có công thức cấu trúc sau:



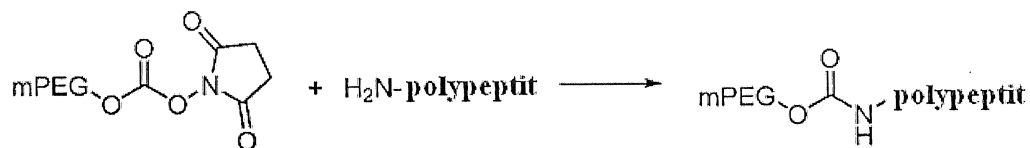
trong đó **R** được chọn từ nhóm bao gồm hydro, alkyl thấp và hỗn hợp của chúng, **R**<sub>1</sub> được chọn từ nhóm bao gồm hydro và alkyl thấp, và *n* là số nguyên lớn hơn không. Cụm từ “alkyl thấp” có nghĩa là nhóm alkyl có từ một đến bốn nguyên tử cacbon, tức là, metyl, etyl, propyl, butyl, và các chất đồng phân của các hợp chất nêu trên. **R** có thể được chọn từ nhóm bao gồm hydro, metyl, và hỗn hợp của chúng, **R**<sub>1</sub> có thể được chọn từ nhóm bao gồm hydro và metyl, và *n* có thể là số nguyên lớn hơn không được chọn để cung cấp cho kích cỡ polyme mong muốn. Trong một số trường hợp, poly(alkylen glycol) được sử dụng trong các phương án theo sáng chế là poly(etylen glycol), poly(propylen glycol), hỗn hợp của chúng, và copolyme của poly(etylen glycol) và poly(propylen glycol), trong đó một trong các nhóm hydroxyl kết thúc của polyme có thể được thế bằng nhóm alkyl thấp hơn.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit là polyetylen glycol (PEG). Theo một số phương án thực hiện, polyetylen glycol (PEG) có khối lượng phân tử nằm trong khoảng từ 1.000 đến 20.000 dalton. Theo một số phương án thực hiện, PEG có khối lượng phân tử nằm trong khoảng từ 1.000 đến 20.000 dalton, hoặc từ 1.000 đến 19.000 dalton, hoặc từ 1.000 đến 18.000 dalton, hoặc từ 1.000 đến 17.000 dalton, hoặc từ 1.000 đến 16.000 dalton, hoặc từ 1.000 đến 15.000 dalton, hoặc từ 1.000 đến 14.000 dalton, hoặc từ 1.000 đến 13.000 dalton, hoặc từ 1.000 đến 12.000 dalton, hoặc từ 1.000 đến 11.000, hoặc từ 1.000 đến 10.000, hoặc từ 1.500 đến 10.000 dalton, hoặc 2.000 đến 10.000 dalton, hoặc 2.000 đến 9.000 dalton, hoặc 2.000 đến 8.000 dalton, hoặc 2.000 đến 7.000 dalton, hoặc 2.000 đến 6.000 dalton, hoặc 3.000 đến 6.000 dalton hoặc 4.000 đến 6.000 dalton, hoặc 4.500 đến 5.500 dalton. Theo một số phương án thực hiện, PEG

có khối lượng phân tử nằm trong khoảng từ 2.000 đến 10.000 dalton. Theo một số phương án thực hiện, PEG có khối lượng phân tử nằm trong khoảng từ 4.000 đến 6.000 dalton. Theo một số phương án thực hiện, PEG có khối lượng phân tử là 5.000 dalton. Trong một số trường hợp, polyetylen glycol là metoxypolyetylen glycol (ví dụ, monometoxypolyetylen glycol, hoặc "mPEG").

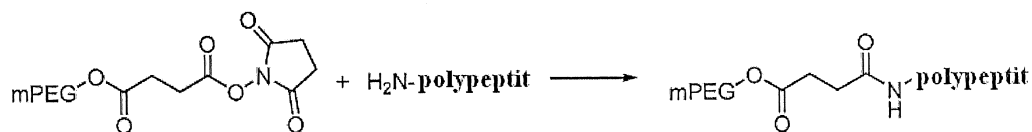
Như được mô tả trên đây, nhóm polyalkylen oxit có thể được gắn cộng hóa trị vào asparagmaza. Trong một số trường hợp, nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị bằng liên kết cầu nối với asparagmaza. Như vậy, nhóm polyalkylen oxit có thể được gắn cộng hóa trị vào asparaginaza qua liên kết cầu nối. Liên kết cầu nối có thể là nhóm chức thông thường bất kỳ cho phép gắn nhóm polyalkylen oxit với asparaginaza. Ví dụ, liên kết cầu nối có thể bao gồm nhóm chức phản ứng cung cấp cho liên kết cộng hoá trị giữa nhóm polyetylen oxit và asparaginaza. Trong một số trường hợp, liên kết cầu nối bao gồm nhóm chức phản ứng cung cấp cho liên kết cộng hoá trị giữa trong nhóm polyetylen oxit và gốc axit amin của asparaginaza. Ví dụ, liên kết cầu nối có thể bao gồm nhóm chức phản ứng cung cấp cho liên kết cộng hoá trị giữa nhóm polyalkylen oxit và nhóm amin của gốc axit amin của asparaginaza. Ví dụ về các nhóm chức phản ứng như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, p-nitrophenoxy, thiazolidinyl thion, N-hydroxysuccinimidyl, hoặc các nhóm chức phản ứng thích hợp khác như, nhưng không chỉ giới hạn ở, N-hydroxybenzotriazolyl, halogen, N-hydroxyphtalimidyl, imidazolyl, O-axyl ure, pentaflorphenol hoặc 2,4,6-triclorphenol, và các nhóm chức tương tự. Trong một số trường hợp, nhóm chức phản ứng của liên kết cầu nối là N-hydroxysuccinimidyl. Do đó, gắn kết cộng hóa trị sau của nhóm polyalkylen oxit với asparaginaza, liên kết cầu nối có thể bao gồm các nhóm chức như, nhưng không chỉ giới hạn ở, liên kết cầu nối uretan (còn gọi là liên kết cầu nối carbamat), liên kết cầu nối succinat, và các liên kết cầu nối tương tự.

Theo một số phương án thực hiện, liên kết cầu nối bao gồm liên kết cầu nối uretan (còn gọi là liên kết cầu nối carbamat). Ví dụ, phản ứng để gắn kết metoxypolyetylen glycol (mPEG) với nhóm amin của axit amin của polypeptit (ví dụ, asparaginaza) qua liên kết cầu nối uretan (carbammat) được thể hiện dưới đây.



Trong phản ứng trên đây, metoxypolyetylen glycol succinimidyl cacbonat (còn được gọi là SC-PEG) được cho phản ứng với nhóm amin của axit amin của polypeptit (ví dụ, asparaginaza) để tạo ra polyetylen glycol-asparaginaza với liên kết cầu nối uretan (carbamat). SC-PEG-asparaginaza cũng được mô tả trong Angiolillo, AL., et al., "Pharmacokinetic (PK) and pharmacodynamics (PD) properties of SC-PEG E. coli 1-asparaginase (EZN-2285) in the treatment of patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL): Results from Children's Oncology Group (COG) study AALL07P4", 2012 American Society of Clinical Oncology (ASCO) Annual Meeting, Poster 9543; and Angiolillo, AL., et al., "Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of Calaspargase Pegol Escherichia coli L-Asparaginase in the Treatment of Patients With Acute Lymphoblastic Leukemia: Results From Children's Oncology Group Study AALL07P4", J Clin. Oncology, 32(34), 2014, 3874-3882.

Theo một số phương án thực hiện, liên kết cầu nối bao gồm liên kết cầu nối succinat (còn được gọi là liên kết cầu nối succinyl). Ví dụ, phản ứng để gắn kết metoxypolyetylen glycol (mPEG) với nhóm amin của axit amin của polypeptit (ví dụ, asparaginaza) qua liên kết cầu nối succinat được thể hiện dưới đây.



Trong phản ứng trên đây, metoxypolyetylen glycol succinimidyl succinat (còn được gọi là SS-PEG) được cho phản ứng với nhóm amin của axit amin của polypeptit (ví dụ, asparaginaza) để tạo ra polyetylen glycol-asparaginaza với liên kết cầu nối succinat. SS-PEG-asparaginaza cũng được mô tả trong các patent Mỹ số 5,122,614; 5,324,844; và 5,612,460, phần bộc lộ của mỗi tài liệu này được đưa vào trong bản mô tả này bằng cách viện dẫn.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm chứa polyalkylen oxit-asparaginaza là chế phẩm khử hydrat hoá. Như được sử dụng trong bản mô tả này, chế phẩm khử

hydrat hoá là chế phẩm chứa nước với lượng nhỏ, như 25% hoặc nhỏ hơn, hoặc 20% hoặc nhỏ hơn, hoặc 15% hoặc nhỏ hơn, hoặc 10% hoặc nhỏ hơn, hoặc 9% hoặc nhỏ hơn, hoặc 8% hoặc nhỏ hơn, hoặc 7% hoặc nhỏ hơn, hoặc 6% hoặc nhỏ hơn, hoặc 5% hoặc nhỏ hơn, hoặc 4% hoặc nhỏ hơn, hoặc 3% hoặc nhỏ hơn, hoặc 2% hoặc nhỏ hơn, hoặc 1% hoặc nhỏ hơn nước khi được đo bằng chuẩn độ Karl Fischer (KF). Trong một số trường hợp, chế phẩm khử hydrat hoá chứa 3% hoặc nhỏ hơn nước khi được đo bằng chuẩn độ Karl Fischer. Trong một số trường hợp, chế phẩm khử hydrat hoá chứa 1% hoặc nhỏ hơn nước khi được đo bằng chuẩn độ Karl Fischer. Trong một số trường hợp, chế phẩm khử hydrat hoá chứa 0,5% hoặc nhỏ hơn nước khi được đo bằng chuẩn độ Karl Fischer. Quy trình thông thường bất kỳ có thể được sử dụng để tạo ra chế phẩm khử hydrat hoá, như làm tăng nhiệt độ của chế phẩm (ví dụ, làm nóng), giảm áp suất, đông khô (còn gọi là làm đông khô), và các quy trình tương tự, và kết hợp của các quy trình này.

Theo một số phương án thực hiện, sự đông khô được sử dụng để tạo ra chế phẩm khử hydrat hoá, và do đó chế phẩm (ví dụ, chế phẩm chứa polyalkylen oxit-asparaginaza) là chế phẩm đông khô. Trong một số trường hợp, chế phẩm đông khô là chế phẩm có nước được loại bỏ khỏi chế phẩm bằng cách thăng hoa, trong đó nước trong chế phẩm được chuyển pha từ dạng rắn sang dạng khí. Ví dụ, chế phẩm đông khô có thể là chế phẩm có nước được loại bỏ khỏi chế phẩm bằng cách kết đông chế phẩm (ví dụ, kết đông nước trong chế phẩm) và sau đó giảm áp suất bao quanh chế phẩm sao cho nước trong chế phẩm trải qua quá trình thăng hoa. Như được mô tả trên đây, chế phẩm đông khô có thể chứa nước với lượng nhỏ, như 25% hoặc nhỏ hơn, hoặc 20% hoặc nhỏ hơn, hoặc 15% hoặc nhỏ hơn, hoặc 10% hoặc nhỏ hơn, hoặc 9% hoặc nhỏ hơn, hoặc 8% hoặc nhỏ hơn, hoặc 7% hoặc nhỏ hơn, hoặc 6% hoặc nhỏ hơn, hoặc 5% hoặc nhỏ hơn, hoặc 4% hoặc nhỏ hơn, hoặc 3% hoặc nhỏ hơn, hoặc 2% hoặc nhỏ hơn, hoặc 1% hoặc nhỏ hơn, hoặc 0,5% hoặc nhỏ hơn, hoặc 0,25% hoặc nhỏ hơn, hoặc 0,1% hoặc nhỏ hơn nước khi được đo bằng chuẩn độ Karl Fischer (KF). Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm đông khô có thể chứa nước với lượng nhỏ, như nằm trong khoảng từ 0,1% đến khoảng 25%, hoặc từ khoảng 0,25% đến khoảng 20%, hoặc từ khoảng 0,5% đến khoảng 15%, hoặc từ khoảng 1% đến khoảng 10%, hoặc từ khoảng 2% đến khoảng 9%, hoặc từ khoảng 3% đến khoảng 8%, hoặc từ khoảng 4% đến khoảng 7%, hoặc từ khoảng 5% đến khoảng 6% khi được đo bằng chuẩn độ Karl Fischer (KF). Theo một số phương

án thực hiện, chế phẩm đông khô có thể chứa nước với lượng nhỏ, như nằm trong khoảng từ 0,1% đến khoảng 5%, hoặc từ khoảng 0,25% đến khoảng 4%, hoặc từ khoảng 0,5% đến khoảng 3%, hoặc từ khoảng 1% đến khoảng 2% khi được đo bằng chuẩn độ Karl Fischer (KF). Trong một số trường hợp, chế phẩm đông khô chứa 3% hoặc nhỏ hơn nước khi được đo bằng chuẩn độ Karl Fischer. Trong một số trường hợp, chế phẩm đông khô chứa 1% hoặc nhỏ hơn nước khi được đo bằng chuẩn độ Karl Fischer. Trong một số trường hợp, chế phẩm đông khô chứa 0,5% hoặc nhỏ hơn nước khi được đo bằng chuẩn độ Karl Fischer.

Do lượng nước của chế phẩm đông khô nhỏ như được mô tả trên đây, chế phẩm đông khô có thể ở dạng rắn. Trong một số trường hợp, chế phẩm đông khô dạng rắn là bột. Trong một số trường hợp, chế phẩm đông khô có thể làm thuận lợi quá trình cất giữ chế phẩm trong khoảng thời gian dài (ví dụ, khi so sánh với chế phẩm dạng lỏng có cùng thành phần). Ví dụ, chế phẩm đông khô có thể là chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ (ví dụ, chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô), trong đó chế phẩm về cơ bản ổn định trong khoảng thời gian dài. Cụm từ "ổn định" hoặc "cất giữ ổn định" hoặc "về cơ bản ổn định" có nghĩa là chế phẩm không bị suy biến và/hoặc mất hoạt tính đáng kể qua khoảng thời gian dài. Ví dụ, chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ có thể không có các tạp chất đáng kể do mức suy biến của chế phẩm qua khoảng thời gian dài, như 10% hoặc nhỏ hơn các tạp chất, hoặc 9% hoặc nhỏ hơn, hoặc 8% hoặc nhỏ hơn, hoặc 7% hoặc nhỏ hơn, hoặc 6% hoặc nhỏ hơn, hoặc 5% hoặc nhỏ hơn, hoặc 4% hoặc nhỏ hơn, hoặc 3% hoặc nhỏ hơn, hoặc 2% hoặc nhỏ hơn, hoặc 1% hoặc nhỏ hơn mức suy biến sản phẩm qua khoảng thời gian dài. Theo các phương án nhất định, chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ có thể có mức suy biến nằm trong khoảng từ 1% đến khoảng 10%, hoặc từ khoảng 2% đến khoảng 9%, hoặc từ khoảng 3% đến khoảng 8%, hoặc từ khoảng 4% đến khoảng 7%, hoặc từ khoảng 6% đến khoảng 5% nhỏ hơn mức suy biến sản phẩm qua khoảng thời gian dài. Trong các trường hợp nhất định, chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ có 5% hoặc nhỏ hơn các tạp chất qua khoảng thời gian dài. Trong một số trường hợp, chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ về cơ bản giữ được hoạt tính của nó qua khoảng thời gian dài, như giữ được 100% hoạt tính của nó, hoặc 99% hoặc lớn hơn, hoặc 98% hoặc lớn hơn, hoặc 97% hoặc lớn hơn, hoặc 96% hoặc lớn hơn, hoặc 95% hoặc lớn hơn, hoặc 94% hoặc lớn hơn, hoặc 93% hoặc lớn hơn, hoặc 92% hoặc lớn hơn, hoặc 91% hoặc lớn hơn, hoặc 90% hoặc lớn hơn, hoặc 85%

hoặc lớn hơn, hoặc 80% hoặc lớn hơn, hoặc 75% hoặc lớn hơn hoạt tính của nó qua khoảng thời gian dài. Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ về cơ bản giữ được hoạt tính của nó qua khoảng thời gian dài, như nằm trong khoảng từ 75% đến khoảng 100%, hoặc từ khoảng 80% đến khoảng 99%, hoặc từ khoảng 85% đến khoảng 98%, hoặc từ khoảng 90% đến khoảng 97%, hoặc từ khoảng 91% đến khoảng 96%, hoặc từ khoảng 92% đến khoảng 95%, hoặc từ khoảng 93% đến khoảng 94% lớn hơn hoạt tính của nó qua khoảng thời gian dài. Ví dụ, chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ có thể giữ được hoặc lớn hơn 90% hoạt tính của nó qua khoảng thời gian dài. Trong một số trường hợp, chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ giữ được hoặc lớn hơn 95% hoạt tính của nó qua khoảng thời gian dài. Khoảng thời gian dài là khoảng thời gian như 1 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 2 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 3 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 1 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 2 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 3 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 4 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 6 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 9 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 1 năm hoặc lớn hơn, hoặc 1,5 năm (ví dụ, 18 tháng) hoặc lớn hơn, hoặc 2 năm hoặc lớn hơn, hoặc 2,5 năm (ví dụ, 30 tháng) hoặc lớn hơn, hoặc 3 năm hoặc lớn hơn, hoặc 3,5 năm (ví dụ, 42 tháng) hoặc lớn hơn, hoặc 4 năm hoặc lớn hơn, hoặc 4,5 năm (ví dụ, 54 tháng) hoặc lớn hơn, hoặc 5 năm hoặc lớn hơn. Ví dụ, khoảng thời gian dài có thể là 6 tháng hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian dài là 9 tháng hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian dài là 1 năm (ví dụ, 12 tháng) hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian dài là 1,5 năm (ví dụ, 18 tháng) hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian dài là 2 năm (ví dụ, 24 tháng) hoặc lớn hơn. Theo một số phương án thực hiện, khoảng thời gian dài có thể nằm trong khoảng từ 1 tuần đến khoảng 3 tuần, hoặc từ khoảng 1 tháng đến khoảng 6 tháng, hoặc từ khoảng 6 tháng đến khoảng 9 tháng, hoặc từ khoảng 1 năm đến khoảng 1,5 năm, hoặc từ khoảng 1 năm đến khoảng 2 năm, hoặc từ khoảng 1 năm đến khoảng 3 năm, hoặc từ khoảng 1 năm đến khoảng 4 năm, hoặc từ khoảng 1 năm đến khoảng 5 năm. Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ về cơ bản ổn định trong khoảng thời gian dài ở nhiệt độ môi trường, như nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 40°C, hoặc từ 25 đến 35°C, hoặc từ 25 đến 30°C. Trong một số trường hợp, chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ về cơ bản ổn định trong khoảng thời gian dài ở nhiệt độ nhỏ hơn nhiệt độ môi trường, như nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 20°C, hoặc từ 0 đến 15°C, hoặc từ 0 đến 10°C, hoặc từ 2 đến 8°C.

Trong một số trường hợp, chế phẩm chứa lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị của polyalkylen oxit-asparaginaza. Hoạt tính enzym của polyalkylen oxit-asparaginaza có thể được đo theo đơn vị quốc tế (IU), tương ứng với lượng enzym cần để tạo ra 1  $\mu$ mol amoniac trong mỗi phút ở độ pH là 7,3 và nhiệt độ là 37°C. Trong một số trường hợp, polyalkylen oxit-asparaginaza có thể có mặt trong chế phẩm với lượng (ví dụ, polyalkylen oxit-asparaginaza có thể có mức hiệu lực (hoạt tính)) nằm trong khoảng từ 100 đến 5.000 IU/g, như từ 500 đến 4.500 IU/g, hoặc từ 500 đến 4.000 IU/g, hoặc từ 500 đến 3.500 IU/g, hoặc từ 500 đến 3.000 IU/g, hoặc từ 500 đến 2.500 IU/g, hoặc từ 500 đến 2.000 IU/g, hoặc từ 500 đến 1.500 IU/g, hoặc từ 500 đến 1.000 IU/g, hoặc từ 600 đến 900 IU/g, hoặc, hoặc từ 700 đến 800 IU/g. Trong các trường hợp nhất định, polyalkylen oxit-asparaginaza có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 500 đến 1.000 IU/g.

Ví dụ, polyalkylen oxit-asparaginaza có thể có mức hiệu lực (hoạt tính) nằm trong khoảng từ 500 đến 1.000 IU/g. Trong các trường hợp nhất định, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 700 đến 800 IU/g. Ví dụ, polyalkylen oxit-asparaginaza có thể có mức hiệu lực (hoạt tính) nằm trong khoảng từ 700 đến 800 IU/g. Trong các trường hợp nhất định, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt trong chế phẩm với lượng là 750 IU/g. Ví dụ, polyalkylen oxit-asparaginaza có thể có mức hiệu lực (hoạt tính) là 750 IU/g.

Trong một số trường hợp, polyalkylen oxit-asparaginaza trong chế phẩm có mặt với lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị, trong đó polyalkylen oxit-asparaginaza có hoạt tính riêng là 50 IU/mg protein hoặc lớn hơn, như 55 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 60 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 65 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 70 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 75 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 80 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 85 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 90 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 95 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 100 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 105 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 110 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 115 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 120 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 125 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 130 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 135 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 140 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 145 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 150 IU/mg protein hoặc lớn hơn. Ví dụ, polyalkylen oxit-asparaginaza trong chế phẩm có thể có hoạt tính riêng là 85 IU/mg protein hoặc lớn hơn. Theo một số phương án thực hiện,

polyalkylen oxit-asparaginaza trong chế phẩm có hoạt tính riêng nằm trong khoảng từ 50 đến 150 IU/mg protein, hoặc từ 55 đến 145 IU/mg protein, hoặc từ 60 đến 140 IU/mg protein, hoặc từ 65 đến 135 IU/mg protein, hoặc từ 70 đến 130 IU/mg protein, hoặc từ 75 đến 125 IU/mg protein, hoặc từ 80 đến 120 IU/mg protein, hoặc từ 85 đến 115 IU/mg protein, hoặc từ 90 đến 110 IU/mg protein, hoặc từ 95 đến 105 IU/mg protein. Trong một số trường hợp, polyalkylen oxit-asparaginaza trong chế phẩm có hoạt tính riêng nằm trong khoảng từ 50 đến 150 IU/mg protein, như từ 65 đến 140 IU/mg protein, hoặc từ 70 đến 135 IU/mg protein, hoặc từ 75 đến 130 IU/mg protein, hoặc từ 75 đến 125 IU/mg protein. Ví dụ, polyalkylen oxit-asparaginaza trong chế phẩm có thể có hoạt tính riêng nằm trong khoảng từ 75 đến 125 IU/mg protein.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit-asparaginaza trong chế phẩm có mặt với lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị, trong đó polyalkylen oxit-asparaginaza trong chế phẩm có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 1 mg/mL đến 15 mg/mL, như từ 1,5 mg/mL đến 14,5 mg/mL, hoặc từ 2 mg/mL đến 14 mg/mL, hoặc từ 2,5 mg/mL đến 13,5 mg/mL, hoặc từ 3 mg/mL đến 13 mg/mL, hoặc từ 3,5 mg/mL đến 12,5 mg/mL, hoặc từ 4 mg/mL đến 12 mg/mL, hoặc từ 4,5 mg/mL đến 11,5 mg/mL, hoặc từ 4,5 mg/mL đến 11 mg/mL, hoặc từ 4,5 mg/mL đến 10,5 mg/mL, hoặc từ 4,5 mg/mL đến 10 mg/mL, hoặc từ 4,5 mg/mL đến 9,5 mg/mL, hoặc từ 4,5 mg/mL đến 9 mg/mL, hoặc từ 4,5 mg/mL đến 8,5 mg/mL, hoặc từ 5 mg/mL đến 8 mg/mL. Trong một số trường hợp, polyalkylen oxit-asparaginaza trong chế phẩm có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 4,5 mg/mL đến 8,5 mg/mL.

Khi được dùng cho đối tượng, chế phẩm có thể chứa polyalkylen oxit-asparaginaza đủ để phân phối cho đối tượng với lượng nằm trong khoảng từ 100 đến 5.000 IU/m<sup>2</sup> polyalkylen oxit-asparaginaza, như nằm trong khoảng từ 500 đến 5.000 IU/m<sup>2</sup> hoặc từ 500 đến 4.500 IU/m<sup>2</sup>, hoặc từ 500 đến 4.000 IU/m<sup>2</sup>, hoặc từ 500 đến 3.500 IU/m<sup>2</sup> hoặc từ 500 đến 3.000 IU/m<sup>2</sup>, hoặc từ 1.000 đến 3.000 IU/m<sup>2</sup>, hoặc từ 1.500 đến 3.000 IU/m<sup>2</sup>, hoặc từ 1.750 đến 3.000 IU/m<sup>2</sup>, hoặc từ 2.000 đến 3.000 IU/m<sup>2</sup>, hoặc từ 2.000 đến 2.750 IU/m<sup>2</sup> hoặc 2.250 đến 2.750 IU/m<sup>2</sup> polyalkylen oxit-asparaginaza cho đối tượng. Ví dụ, chế phẩm có thể chứa polyalkylen oxit-asparaginaza đủ để phân phối cho đối tượng với lượng nằm trong khoảng từ 1.500 đến 3.000 IU/m<sup>2</sup> polyalkylen oxit-asparaginaza. Trong các trường hợp nhất định, chế phẩm chứa polyalkylen oxit-asparaginaza đủ để phân phối cho đối tượng với lượng nằm trong khoảng từ 2.000 đến

2.750 IU/m<sup>2</sup> polyalkylen oxit-asparaginaza. Trong các trường hợp nhất định, chế phẩm chứa polyalkylen oxit-asparaginaza đủ để phân phối cho đối tượng với lượng nằm trong khoảng từ 2.250 đến 2.750 IU/m<sup>2</sup> polyalkylen oxit-asparaginaza. Ví dụ, chế phẩm có thể chứa lượng polyalkylen oxit-asparaginaza đủ để phân phối cho đối tượng với lượng là 2.500 IU/m<sup>2</sup> polyalkylen oxit-asparaginaza.

Theo một số phương án thực hiện, liều dùng cho đối tượng là liều lượng lỏng, ví dụ, liều dạng nước. Theo một số phương án thực hiện, ngoài polyalkylen oxit-asparaginaza, liều dùng còn chứa dung dịch đệm và muối.

Chế phẩm theo sáng chế, ngoài polyalkylen oxit-asparaginaza, có thể còn chứa các thành phần bổ sung. Ví dụ, chế phẩm có thể bao gồm dung dịch đệm. Dung dịch đệm thích hợp để dùng trong chế phẩm theo sáng chế bao gồm dung dịch đệm tương hợp với polyalkylen oxit-asparaginaza và thích hợp để dùng cho đối tượng, ví dụ, bằng cách dùng bằng cách tiêm hoặc dùng qua tĩnh mạch. Ví dụ về dung dịch đệm thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dung dịch đệm phosphat (ví dụ, nước muối đệm phosphat (PBS)), nước muối đệm phosphat Dulbecco (DPBS), dung dịch muối cân bằng Hank (HBSS), dung dịch muối cân bằng Earle (EBSS), dung dịch đệm Tris, dung dịch đệm lactat Ringer, và các dung dịch đệm tương tự, và hỗn hợp của chúng. Dung dịch đệm chứa trong chế phẩm có thể là dung dịch đệm duy trì độ pH của chế phẩm ở độ pH tương hợp về mặt sinh lý học, như độ pH nằm trong khoảng từ 6 đến 8, hoặc độ pH là khoảng 7, ví dụ, 7,2, 7,3 hoặc 7,4. Trong một số trường hợp, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat. Dung dịch đệm phosphat có thể bao gồm natri phosphat hai bazơ (còn gọi là đinatri phosphat hoặc natri hydro phosphat; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) và/hoặc natri phosphat đơn chức (còn gọi là mononatri phosphat; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>).

Trong một số trường hợp, lượng natri phosphat hai bazơ trong chế phẩm nằm trong khoảng từ 0,05 đến 5% khối lượng, như từ 0,1 đến 4,5% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 4% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 3,5% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 3% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 2,5% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 2% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,9% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,8% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,7% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,6% khối lượng, hoặc từ 0,2 đến 0,6% khối lượng, hoặc từ 0,3 đến 0,6% khối lượng, hoặc từ 0,4 đến 0,6% khối lượng, hoặc từ 0,5 đến 0,6% khối lượng. Ví dụ, natri phosphat hai bazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1,0% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định,

natri phosphat hai bazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,2 đến 0,8% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat hai bazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,3 đến 0,6% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat hai bazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 0,6% khối lượng. Ví dụ, natri phosphat hai bazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng là 0,6% khối lượng, như 0,56% khối lượng (hoặc 0,558% khối lượng). Theo một số phương án thực hiện, lượng natri phosphat đơn chức trong chế phẩm nằm trong khoảng từ 0,005 đến 2% khối lượng, như từ 0,01 đến 1,8% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 1,6% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 1,4% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 1,2% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 1,0% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,8% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,6% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,4% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,2% khối lượng, hoặc từ 0,02 đến 0,18% khối lượng, hoặc từ 0,03 đến 0,16% khối lượng, hoặc từ 0,04 đến 0,16% khối lượng, hoặc từ 0,045 đến 0,15% khối lượng, hoặc từ 0,04 đến 0,14% khối lượng, hoặc từ 0,05 đến 0,14% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,2% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,15% khối lượng. Ví dụ, natri phosphat đơn chức có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,2% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat đơn chức có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,2% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat đơn chức có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,09 đến 0,15% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat đơn chức có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,2% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat đơn chức có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,15% khối lượng. Ví dụ, natri phosphat đơn chức có thể có mặt trong chế phẩm với lượng là 0,12% khối lượng (hoặc 0,129% khối lượng).

Thành phần bổ sung khác có thể chứa trong chế phẩm theo sáng chế là muối. Các muối thích hợp để dùng trong chế phẩm theo sáng chế bao gồm các muối tương hợp với polyalkylen oxit-asparaginaza và thích hợp để dùng cho đối tượng, ví dụ, bằng cách tiêm hoặc dùng qua tĩnh mạch. Ví dụ về các muối thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, natri clorua, kali clorua, canxi clorua, magie clorua, và các muối tương tự, và hỗn hợp của chúng. Trong các trường hợp nhất định, muối là natri clorua.

Trong một số trường hợp, lượng muối (ví dụ, natri clorua) trong chế phẩm nằm

trong khoảng từ 0,05 đến 5% khối lượng, như từ 0,05 đến 4% khối lượng, hoặc từ 0,05 đến 3% khối lượng, hoặc từ 0,05 đến 2% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 5% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 4% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 3% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 2% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 1,5% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,2 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,3 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,4 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,5 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,6 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,7 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,8 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,8 đến 0,9% khối lượng. Ví dụ, muối (ví dụ, natri clorua) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1% khối lượng. Ví dụ, muối (ví dụ, natri clorua) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,2 đến 2% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, muối (ví dụ, natri clorua) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,7 đến 1% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, muối (ví dụ, natri clorua) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,8 đến 0,9% khối lượng. Ví dụ, muối (ví dụ, natri clorua) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng là 0,85% khối lượng.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen chế phẩm chứa oxit-asparaginaza là chế phẩm đông khô. Chế phẩm đông khô theo sáng chế, ngoài polyalkylen oxit-asparaginaza, cũng có thể chứa dung dịch đệm, muối, và đường. Ví dụ, các khía cạnh theo sáng chế bao gồm chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô chứa polyalkylen oxit-asparaginaza bao gồm nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị bằng liên kết cầu nối với asparaginaza, dung dịch đệm, muối, và đường.

Dung dịch đệm thích hợp để dùng trong chế phẩm đông khô theo sáng chế bao gồm dung dịch đệm tương hợp với polyalkylen oxit-asparaginaza và thích hợp để dùng cho đối tượng, ví dụ, bằng cách tiêm hoặc dùng qua tĩnh mạch. Ví dụ về dung dịch đệm thích hợp bao gồm các dung dịch được mô tả trên đây. Trong một số trường hợp, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat. Theo một số phương án thực hiện, dung dịch đệm phosphat có thể bao gồm natri phosphat hai bazơ và natri phosphat đơn chức. Trong một số trường hợp, lượng natri phosphat hai bazơ trong chế phẩm nằm trong khoảng từ 0,05 đến 1% khối lượng, như từ 0,1 đến 0,9% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,8% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,7% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,6% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,5% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,4% khối lượng, hoặc từ 0,2 đến 0,4% khối lượng, hoặc từ 0,2 đến 0,3% khối lượng, hoặc 0,25 đến 0,3% khối lượng. Ví dụ, natri phosphat hai bazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,5%

khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat hai bazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,2 đến 0,4% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat hai bazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,25 đến 0,3% khối lượng. Ví dụ, natri phosphat hai bazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng là 0,3% khối lượng, như 0,28% khối lượng (hoặc 0,279% khối lượng). Theo các phương án nhất định, lượng natri phosphat đơn chức trong chế phẩm nằm trong khoảng từ 0,005 đến 1% khối lượng, như từ 0,01 đến 0,9% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,8% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,7% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,6% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,5% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,4% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,3% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,2% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,1% khối lượng, hoặc từ 0,02 đến 0,09% khối lượng, hoặc từ 0,03 đến 0,08% khối lượng, hoặc từ 0,04 đến 0,08% khối lượng, hoặc từ 0,045 đến 0,075% khối lượng, hoặc từ 0,04 đến 0,07% khối lượng, hoặc từ 0,05 đến 0,07% khối lượng. Ví dụ, natri phosphat đơn chức có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,1% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat đơn chức có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,07% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat đơn chức có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,045 đến 0,075% khối lượng. Ví dụ, natri phosphat đơn chức có thể có mặt trong chế phẩm với lượng là 0,06% khối lượng.

Theo các khía cạnh nhất định, chế phẩm đông khô theo sáng chế chứa muối. Các muối thích hợp để dùng trong chế phẩm theo sáng chế bao gồm các muối tương hợp với polyalkylen oxit-asparaginaza và thích hợp để dùng cho đối tượng, ví dụ, bằng cách tiêm hoặc dùng qua tĩnh mạch. Ví dụ về các muối thích hợp bao gồm các muối được mô tả trên đây. Trong các trường hợp nhất định, muối là natri clorua.

Trong một số trường hợp, lượng muối (ví dụ, natri clorua) trong chế phẩm nằm trong khoảng từ 0,05 đến 1% khối lượng, như từ 0,1 đến 0,9% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,8% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,7% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,6% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,5% khối lượng, hoặc từ 0,2 đến 0,5% khối lượng, hoặc từ 0,3 đến 0,5% khối lượng, hoặc từ 0,4 đến 0,5% khối lượng, hoặc từ 0,4 đến 0,45% khối lượng. Ví dụ, muối (ví dụ, natri clorua) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, muối (ví dụ, natri clorua) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,3 đến 0,5% khối

lượng. Trong các trường hợp nhất định, muối (ví dụ, natri clorua) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,4 đến 0,45% khối lượng. Ví dụ, muối (ví dụ, natri clorua) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng là 0,4% khối lượng, như 0,425% khối lượng. Thành phần khác có thể chứa trong chế phẩm theo sáng chế là đường. Đường thích hợp để dùng trong chế phẩm theo sáng chế bao gồm đường tương hợp với polyalkylen oxit-asparaginaza và thích hợp để dùng cho đối tượng, ví dụ, bằng cách tiêm hoặc dùng qua tĩnh mạch. Ví dụ về đường thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, sucroza, manitol, maltoza, trehaloza, 2-hydroxypropyl-beta-xyclodextrin (-HPCD), lactoza, glucoza, fructoza, galactoza, glucosamin, và các đường tương tự, và hỗn hợp của chúng. Trong các trường hợp nhất định, đường là disaccarit. Ví dụ, disaccarit có thể là sucroza.

Trong một số trường hợp, lượng đường (ví dụ, sucroza) trong chế phẩm nằm trong khoảng từ 0,1 đến 25% khối lượng, như từ 0,5 đến 20% khối lượng, hoặc từ 1 đến 15% khối lượng, hoặc từ 1 đến 10% khối lượng, hoặc từ 1 đến 9% khối lượng, hoặc từ 1 đến 8% khối lượng, hoặc từ 2 đến 7% khối lượng, hoặc từ 2 đến 6% khối lượng, hoặc từ 3 đến 5% khối lượng, hoặc từ 4 đến 5% khối lượng. Ví dụ, đường (ví dụ, sucroza) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, đường (ví dụ, sucroza) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 3 đến 5% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, đường (ví dụ, sucroza) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 4 đến 5% khối lượng. Ví dụ, đường (ví dụ, sucroza) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng là 4,5% khối lượng.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm bao gồm, về cơ bản chứa, hoặc chứa polyalkylen oxit-asparaginaza có mức hiệu lực (hoạt tính) nằm trong khoảng từ 500 đến 1.000 IU/g, natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1,0% khối lượng, natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,2% khối lượng, muối (ví dụ, natri clorua) với lượng nằm trong khoảng từ 0,2 đến 2% khối lượng, và nước.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm bao gồm, về cơ bản chứa, hoặc chứa polyalkylen oxit-asparaginaza có mức hiệu lực (hoạt tính) nằm trong khoảng từ 700 đến 800 IU/g, natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 0,2 đến 0,8% khối lượng, natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,14% khối lượng.

lượng, muối (ví dụ, natri clorua) với lượng nằm trong khoảng từ 0,6 đến 1,0% khối lượng, và nước.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm bao gồm, về cơ bản chứa, hoặc chứa polyalkylen oxit-asparaginaza có mức hiệu lực (hoạt tính) nằm trong khoảng từ 700 đến 800 IU/g, natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 0,6% khối lượng, natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,09 đến 0,15% khối lượng, muối (ví dụ, natri clorua) với lượng nằm trong khoảng từ 0,8 đến 0,9% khối lượng, và nước.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm bao gồm, về cơ bản chứa, hoặc chứa polyalkylen oxit-asparaginaza có mức hiệu lực (hoạt tính) là 750 IU/g, natri phosphat hai bazơ với lượng là 0,6% khối lượng, natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% khối lượng, muối (ví dụ, natri clorua) với lượng là 0,9% khối lượng, và nước.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm bao gồm, về cơ bản chứa, hoặc chứa polyalkylen oxit-asparaginaza có mức hiệu lực (hoạt tính) là 750 IU/g, natri phosphat hai bazơ với lượng là 0,56% khối lượng (hoặc 0,558% khối lượng), natri phosphat đơn chức với lượng là 0,13% khối lượng (hoặc 0,129% khối lượng), muối (ví dụ, natri clorua) với lượng là 0,85% khối lượng, và nước.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm bao gồm, về cơ bản chứa, hoặc chứa polyalkylen oxit-asparaginaza, natri phosphat hai bazơ, natri phosphat đơn chức, muối (ví dụ, natri clorua), và nước. Theo các phương án khác, chế phẩm bao gồm, về cơ bản chứa, hoặc chứa polyalkylen oxit-asparaginaza, natri phosphat hai bazơ, natri phosphat đơn chức, muối (ví dụ, natri clorua), đường (ví dụ, sucroza), và nước.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm bao gồm, về cơ bản chứa, hoặc chứa polyalkylen oxit-asparaginaza có mức hiệu lực (hoạt tính) nằm trong khoảng từ 500 đến 1.000 IU/g, natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,5% khối lượng, natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,1% khối lượng, muối (ví dụ, natri clorua) với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1% khối lượng, đường (ví dụ, sucroza) với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10% khối lượng, và nước.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm bao gồm, về cơ bản chứa, hoặc chứa polyalkylen oxit-asparaginaza có mức hiệu lực (hoạt tính) nằm trong khoảng từ 700 đến 800 IU/g, natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 0,2 đến 0,4% khối

lượng, natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,07% khối lượng, muối (ví dụ, natri clorua) với lượng nằm trong khoảng từ 0,3 đến 0,5% khối lượng, đường (ví dụ, sucroza) với lượng nằm trong khoảng từ 3 đến 5% khối lượng, và nước.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm bao gồm, về cơ bản chứa, hoặc chứa polyalkylen oxit-asparaginaza có mức hiệu lực (hoạt tính) nằm trong khoảng từ 700 đến 800 IU/g, natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 0,25 đến 0,3% khối lượng, natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,045 đến 0,075% khối lượng, muối (ví dụ, natri clorua) với lượng nằm trong khoảng từ 0,4 đến 0,45% khối lượng, đường (ví dụ, sucroza) với lượng nằm trong khoảng từ 4 đến 5% khối lượng, và nước.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm bao gồm, về cơ bản chứa, hoặc chứa polyalkylen oxit-asparaginaza có mức hiệu lực (hoạt tính) là 750 IU/g, natri phosphat hai bazơ với lượng là 0,3% khối lượng, natri phosphat đơn chức với lượng là 0,06% khối lượng, muối (ví dụ, natri clorua) với lượng là 0,4% khối lượng, đường (ví dụ, sucroza) với lượng là 4,5% khối lượng, và nước.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm bao gồm, về cơ bản chứa, hoặc chứa polyalkylen oxit-asparaginaza có mức hiệu lực (hoạt tính) là 750 IU/g, natri phosphat hai bazơ với lượng là 0,28% khối lượng (hoặc 0,279% khối lượng), natri phosphat đơn chức với lượng là 0,06% khối lượng, muối (ví dụ, natri clorua) với lượng là 0,43% khối lượng (hoặc 0,425% khối lượng), đường (ví dụ, sucroza) với lượng là 4,5% khối lượng, và nước.

Trong các trường hợp nhất định, chế phẩm (ví dụ, lỏng hoặc chế phẩm đông khô) là chế phẩm vô trùng. Cụm từ “vô trùng” có nghĩa là về cơ bản không có các thành phần sinh miễn dịch trong chế phẩm như, ví dụ, về cơ bản không có vi sinh vật (ví dụ, nấm, vi khuẩn, virus, dạng bào tử, v.v.). Trong một số trường hợp, chế phẩm có mặt trong đồ chứa. Việc tạo ra chế phẩm trong đồ chứa có thể làm thuận lợi việc duy trì chế phẩm dưới dạng chế phẩm vô trùng. Ví dụ, đồ chứa có thể được thiết kế để duy trì chế phẩm kèm trong đồ chứa trong môi trường vô trùng. Như vậy, đồ chứa có thể là đồ chứa kín, ví dụ, đồ chứa có thể bao gồm phần bít kín, như bít kín nước và/hoặc bít kín khí. Phần bít kín có thể lấy dễ dàng ra khỏi đồ chứa để người sử dụng tiếp cận được với thành phần bên trong đồ chứa. Trong một số trường hợp, phần bít kín có thể là phần bít kín dễ

vỡ, hoặc trong các trường hợp khác, phần bít kín có thể được thiết kế để cho phép cài kim tiêm, ống thông hoặc bơm tiêm vào phía trong của đồ chứa mà không cần lấy phần bít kín ra khỏi đồ chứa. Trong một số trường hợp, phần bít kín được thiết kế để cho phép tiếp cận với phía trong của đồ chứa mà không cần lấy phần bít kín ra khỏi đồ chứa có thể làm thuận lợi việc duy trì thành phần bên trong đồ chứa (ví dụ, chế phẩm trong đồ chứa) trong môi trường vô trùng trước khi dùng chế phẩm cho đối tượng. Nguyên liệu thích hợp dùng cho phần bít kín bao gồm, ví dụ, cao su hoặc polyme như, nhưng không chỉ giới hạn ở, cao su silicon, cao su tự nhiên, cao su styren butadien, copolyme etylen-propylen, polyclopren, polyacrylat, polybutadien, polyuretan, styren butadien, và các nguyên liệu thích hợp, và hỗn hợp của chúng. Ví dụ, theo một số phương án thực hiện, phần bít kín là vách mà kim tiêm, bơm tiêm, hoặc ống thông xuyên qua được. Phần bít kín cũng có thể làm cho việc tiếp cận thuận lợi với mẫu trong đồ chứa, cũng như hàng rào cản bảo vệ nằm chồng lên chỗ mở đồ chứa. Trong một số trường hợp, phần bít kín là phần bít kín dễ di chuyển, như nắp bằng ren hoặc có chốt lò xo hoặc yếu tố đệm thích hợp khác có thể được đưa vào chỗ mở của đồ chứa. Ví dụ, nắp bằng ren có thể được vặn lên chỗ mở trước khi hoặc sau khi mẫu đã được cho vào đồ chứa.

Trong một số trường hợp, đồ chứa là đồ chứa liều đơn vị. Đồ chứa liều đơn vị dùng để chỉ đồ chứa chứa một hoặc nhiều liều đơn vị để dùng cho đối tượng. Theo một số phương án thực hiện, đồ chứa liều đơn vị bao gồm lượng định trước của chế phẩm theo sáng chế được tính toán với lượng đủ để tạo ra hiệu quả mong muốn ở đối tượng. Các phương án nhất định của chế phẩm có thể được đề xuất trong đồ chứa liều đơn vị thích hợp cho mỗi lần dùng riêng biệt liều dùng chính xác. Lượng chế phẩm hoạt tính được dùng cho đối tượng có thể phụ thuộc vào đối tượng được xử lý, mức nghiêm trọng của cơn đau, và cách dùng. Ví dụ, đồ chứa liều đơn vị có thể chứa lượng chế phẩm được dùng như được mô tả ở đây với lượng hữu hiệu để đạt được hiệu quả mong muốn ở đối tượng được xử lý. Trong các trường hợp nhất định, đồ chứa liều đơn vị bao gồm chế phẩm có polyalkylen oxit-asparagin với lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị. Lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị của polyalkylen oxit-asparagin được mô tả trên đây. Theo một số phương án thực hiện, đồ chứa liều đơn vị là lọ. Trong một số trường hợp, lọ là lọ kín (ví dụ, như được mô tả trên đây về đồ chứa kín).

Đồ chứa có thể bao gồm nguyên liệu thuận tiện bất kỳ tương hợp với polyalkylen oxit-asparaginaza và các thành phần khác của chế phẩm. Ví dụ, đồ chứa có thể là đồ

chứa tương hợp chất rắn được thiết kế để chứa chất rắn (ví dụ, chế phẩm đông khô). Trong một số trường hợp, đồ chứa là đồ chứa tương hợp chất rắn được thiết kế để chứa chất lỏng. Đồ chứa cũng có thể là đồ chứa tương hợp chất rắn và chất lỏng, trong đó đồ chứa được thiết kế để chứa chất rắn và chất lỏng. Trong một số trường hợp, chất lỏng trong đồ chứa có thể là dung dịch chất lỏng, và trong các trường hợp này, đồ chứa có thể tương hợp với chế phẩm nước. Cụm từ “tương hợp” có nghĩa là đồ chứa về cơ bản là trơ (ví dụ, không phản ứng đáng kể) với chất lỏng và/hoặc chế phẩm hoặc các thành phần khác khi tiếp xúc với đồ chứa.

Ví dụ về nguyên liệu đồ chứa thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, thủy tinh và chất dẻo. Ví dụ, đồ chứa có thể làm bằng thủy tinh như, nhưng không chỉ giới hạn ở, thủy tinh silicat, bosilicat thủy tinh, natri bosilicat thủy tinh (ví dụ, PYREX<sup>TM</sup>), thủy tinh thạch anh ngưng tụ, thủy tinh silic đioxit ngưng tụ, và các nguyên liệu tương tự. Ví dụ khác về nguyên liệu đồ chứa thích hợp cho đồ chứa bao gồm chất dẻo như, nhưng không chỉ giới hạn ở, polypropylen, polymethylpenten, polytetrafloetylen (PTFE), perfloete (PFE), etylen propylen đã được flo hóa (FEP), perfloalkoxy alkan (PFA), polyetylen terephtalat (PET), polyetylen (PE), polyeteeteketon (PEEK), polystyren, và các nguyên liệu tương tự. Trong các trường hợp nhất định, như được mô tả trên đây, đồ chứa là lọ, và như vậy có thể là lọ thủy tinh. Như được mô tả trên đây, đồ chứa có thể là đồ chứa kín, và như vậy có thể là lọ thủy tinh kín.

Như được mô tả chi tiết hơn dưới đây, chế phẩm lỏng hoặc hoàn nguyên theo sáng chế có thể được dùng cho đối tượng, ví dụ, bằng cách tiêm hoặc dùng trong tĩnh mạch. Theo một số phương án thực hiện, trước khi dùng chế phẩm hoàn nguyên cho đối tượng, chế phẩm rắn, ví dụ, như được mô tả trên đây, có thể được kết hợp với chất lỏng để thu được chế phẩm lỏng thích hợp để dùng, ví dụ, bằng cách tiêm hoặc dùng trong tĩnh mạch. Trong một số trường hợp, trước khi dùng chế phẩm cho đối tượng, chế phẩm rắn có thể được kết hợp với nước (ví dụ, nước dùng để tiêm, WFI) để thu được chế phẩm nước thích hợp để dùng, ví dụ, bằng cách tiêm hoặc dùng trong tĩnh mạch. Ví dụ, chế phẩm đông khô có thể được hoàn nguyên bằng nước (ví dụ, nước dùng để tiêm, WFI) để tạo ra đơn vị liều lượng hoàn nguyên thích hợp để dùng cho đối tượng, ví dụ, bằng cách tiêm hoặc dùng trong tĩnh mạch.

Như đã nêu trong bản mô tả này, các khía cạnh theo sáng chế bao gồm chế phẩm bao gồm: polyalkylen oxit-asparaginaza bao gồm nhóm polyalkylen oxit được liên kết

cộng hóa trị bằng liên kết cầu nối với asparaginaza; dung dịch đậm và muối. Theo một số phương án thực hiện, như được mô tả trên đây, polyalkylen oxit là polyetylen glycol. Theo một số phương án thực hiện, như được mô tả trên đây, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối uretan (carbamat). Theo một số phương án thực hiện, như được mô tả trên đây, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*. Theo một số phương án thực hiện, như được mô tả trên đây, dung dịch đậm là dung dịch đậm phosphat. Theo một số phương án thực hiện, như được mô tả trên đây, muối là natri clorua. Do đó, các phương án nhất định của chế phẩm bao gồm polyetylen glycol-asparaginaza bao gồm nhóm polyetylen glycol được liên kết cộng hóa trị bằng liên kết cầu nối uretan với asparaginaza *E. coli*; dung dịch đậm phosphat và muối. Mỗi thành phần của các chế phẩm này (ví dụ, khối lượng phân tử của polyetylen glycol, lượng polyetylen glycol-asparaginaza, lượng và dạng dung dịch đậm phosphat, lượng và dạng muối) như được mô tả chi tiết trên đây.

Như đã nêu trong bản mô tả này, các khía cạnh theo sáng chế bao gồm chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô bao gồm: polyalkylen oxit-asparaginaza bao gồm nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị bằng liên kết cầu nối với asparaginaza; dung dịch đậm, muối và đường. Theo một số phương án thực hiện, như được mô tả trên đây, polyalkylen oxit là polyetylen glycol. Theo một số phương án thực hiện, như được mô tả trên đây, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối uretan (carbamat). Theo một số phương án thực hiện, như được mô tả trên đây, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*. Theo một số phương án thực hiện, như được mô tả trên đây, dung dịch đậm là dung dịch đậm phosphat. Theo một số phương án thực hiện, như được mô tả trên đây, muối là natri clorua. Theo một số phương án thực hiện, như được mô tả trên đây, đường là disaccarit (ví dụ, sucroza). Do đó, các phương án nhất định của chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô bao gồm polyetylen glycol-asparaginaza bao gồm nhóm polyetylen glycol được liên kết cộng hóa trị bằng liên kết cầu nối uretan với asparaginaza *E. coli*; dung dịch đậm phosphat, muối và disaccarit. Mỗi thành phần của các chế phẩm này (ví dụ, khối lượng phân tử của polyetylen glycol, lượng polyetylen glycol-asparaginaza, lượng và dạng dung dịch đậm phosphat, lượng và dạng muối, lượng và dạng disaccarit, v.v..) là như được mô tả chi tiết trên đây.

Chế phẩm theo sáng chế cũng có thể chứa các thành phần khác như tá dược được dụng bổ sung hoặc chất dẫn thuốc phân phối liều là một phần của chế phẩm. Tá dược có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, hydratcacbon, các muối vô cơ, các muối

hữu cơ, chất diệt khuẩn, chất chống oxy hoá, chất hoạt động bề mặt, nước (ví dụ, nước dùng để tiêm (WFI)), rượu, rượu polyhydric, glycerin, dầu thực vật, phospholipit, dung dịch đệm, axit, bazơ, và hỗn hợp bất kỳ của chúng. Hydratcacbon như đường, dẫn xuất đường như alditol, axit aldonic, đường este hóa, và/hoặc đường polyme cũng có thể được sử dụng. Một số tá dược hydratcacbon đang quan tâm bao gồm, ví dụ, monosaccarit, như fructoza, maltoza, galactoza, glucoza, D-mannoza, sorboza, và các tá dược tương tự; disaccarit, như lactoza, sucroza, trehaloza, xenlobioza, và các tá dược tương tự; polysaccarits, như rafinoza, meleziatoza, maltodextrin, đextran, tinh bột, và các tá dược tương tự; và alditol, như manitol, xylitol, maltitol, lactitol, xylitol, sorbitol (glucitol), pyranosyl sorbitol, myoinositol, và các tá dược tương tự. Các muối vô cơ và hữu cơ có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit xitric, natri clorua, kali clorua, natri sulfat, kali nitrat, natri phosphat đơn chức, natri phosphat hai bazơ, và hỗn hợp bất kỳ của chúng.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm theo sáng chế cũng có thể chứa chất diệt khuẩn để ngăn ngừa hoặc cản trở sự sinh trưởng của vi sinh vật như, ví dụ, benzalkoni clorua, benzetoni clorua, rượu benzylic, xetylpyridinium clorua, clobutanol, phenol, rượu phenyletylic, phenyl thủy ngân nitrat, thimersol, và hỗn hợp bất kỳ của chúng.

Một hoặc nhiều chất chống oxy hoá cũng có thể chứa trong chế phẩm. Chất chống oxy hoá, có thể làm giảm hoặc ngăn ngừa sự oxy hoá và do đó làm hỏng chế phẩm, có thể bao gồm, ví dụ, ascorbyl palmitat, butyl hóa hydroxyanisol, butyl hóa hydroxytoluen, axit hypophosphorous, monothioglycerol, propyl galat, natri bisulfit, natri formalđehyt sulfoxylat, natri metabisulfit, và hỗn hợp bất kỳ của chúng.

Một hoặc nhiều chất hoạt động bề mặt cũng có thể chứa trong chế phẩm theo sáng chế.

Ví dụ, chất hoạt động bề mặt thích hợp có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở polysorbat, như "Tween 20" và "Tween 80," và các Poloxame như F68 và F88 (BASF, Mount Olive, New Jersey); sorbitan este; lipid, như phospholipit như lexitin và các phosphatidylcholin, phosphatidyletanolamin, axit béo và este béo khác; steroid, như cholesterol; chất càn hóa, như EDTA; và kẽm và các cation khác.

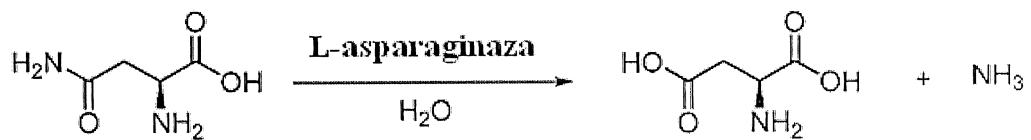
Các axit hoặc bazơ cũng có thể có mặt trong chế phẩm theo sáng chế. Ví dụ, các axit có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit clohydric, axit axetic, axit

phosphoric, axit xitric, axit malic, axit lactic, axit formic, axit tricloaxetic, axit nitric, axit pecloric, axit phosphoric, axit sulfuric, axit fumaric, và hỗn hợp bất kỳ của chúng. Ví dụ về các bazơ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, natri hydroxit, natri axetat, amoni hydroxit, kali hydroxit, amoni axetat, kali axetat, natri phosphat, kali phosphat, natri xitrat, natri format, natri sulfat, kali sulfat, kali fumerat, và hỗn hợp bất kỳ của chúng.

Lượng tá dược riêng rẽ bất kỳ trong chế phẩm có thể thay đổi tùy thuộc vào bản chất và chức năng của tá dược, chất dẫn thuốc phân phối liều và nhu cầu cụ thể về chế phẩm. Trong một số trường hợp, lượng tối ưu của tá dược riêng rẽ bất kỳ được xác định qua thử nghiệm thông thường, tức là, bằng cách tạo ra chế phẩm chứa lượng tá dược khác nhau (nằm trong khoảng từ thấp đến cao), kiểm tra độ ổn định và các thông số khác, và sau đó xác định khoảng thu được tính năng tối ưu mà không gây ra tác dụng bất lợi bất kỳ. Nói chung, tuy nhiên, tá dược sẽ có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 1% đến 99% khối lượng, như nằm trong khoảng từ 5% đến 98% khối lượng, như nằm trong khoảng từ 15% đến 95% khối lượng tá dược, bao gồm 30% khối lượng hoặc nhỏ hơn, hoặc 20% khối lượng hoặc nhỏ hơn, hoặc 10% khối lượng hoặc nhỏ hơn. Các tá dược được dùng cùng với các tá dược khác có thể được dùng trong chế phẩm được mô tả trong "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 22nd ed., Williams & Williams, (2012), the "Physician's Desk Reference", 70th ed., PDR Network, Montvale, NJ (2015), và Rowe, RC., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 7th ed., Pharmaceutical Press, New York, NY, (2012), phần bộc lộ của mỗi tài liệu này được đưa vào bản mô tả bằng cách viện dẫn.

### **Phương pháp sử dụng**

Phần mô tả còn bộc lộ phương pháp sử dụng chế phẩm (ví dụ, lỏng và đông khô) được mô tả ở đây. Theo một số phương án thực hiện, phương pháp sử dụng là phương pháp khử amin hóa asparagin ở đối tượng. Như được mô tả trên đây, asparaginaza enzym có thể tạo ra phản ứng khử amin hóa mà trong đó axit amin asparagin được thủy phân để tạo ra aspartat và amoniac, ví dụ, theo phản ứng sau:



Trong một số trường hợp, hoạt tính của asparaginaza làm giảm nồng độ asparagin ở đối tượng, như làm giảm nồng độ huyết tương của asparagin ở đối tượng. Sự tiêu asparagin ở đối tượng có thể tác động bất lợi đến các tế bào ở đối tượng phụ thuộc vào sự có mặt của asparagin cho quá trình tổng hợp protein. Ví dụ, protein tổng hợp trong các tế bào thiếu khả năng tổng hợp chính asparagin (ví dụ, các tế bào thiếu enzym asparagin synthetaza) có thể chịu tác động bất lợi bởi sự thiếu asparagin ngoại sinh, có thể dẫn đến sự chết theo chương trình của các tế bào. Trong một số trường hợp, các tế bào ở đối tượng phụ thuộc vào sự có mặt của asparagin để tổng hợp protein có thể liên quan đến tình trạng bệnh lý ung thư, như ung thư. Do đó, phương pháp được bộc lộ trong phần mô tả bao gồm phương pháp điều trị đối tượng mắc tình trạng bệnh lý ung thư, như phương pháp điều trị đối tượng mắc ung thư. Do đó, chế phẩm theo sáng chế chứa polyalkylen oxit-asparaginaza có thể có tác dụng hữu hiệu để điều trị tình trạng bệnh lý ung thư, như ung thư. Theo một số phương án thực hiện, các tế bào không ung thư ở đối tượng không bị tác động đáng kể bởi chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza theo sáng chế. Ví dụ, các tế bào không ung thư ở đối tượng có thể có enzym asparagin synthetaza, và do đó giữ được khả năng tổng hợp asparagin.

Theo một số phương án thực hiện, tình trạng bệnh lý ung thư cần được điều trị ở đối tượng bao gồm tình trạng bệnh lý ung thư có thể chấp nhận việc điều trị bằng cách dùng polyalkylen oxit-asparaginaza cho đối tượng, ví dụ, tình trạng bệnh lý ung thư phụ thuộc vào asparagin ngoại sinh. Ví dụ, tình trạng bệnh lý ung thư có thể được điều trị bằng cách cho đối tượng dùng polyalkylen oxit-asparaginaza bao gồm ung thư, như các khối u rắn hoặc các khối u lỏng.

Trong các trường hợp nhất định, tình trạng bệnh lý ung thư được đặc trưng bởi sự có mặt của khối u rắn. Do đó, theo một số phương án thực hiện, phương pháp được bộc lộ trong phần mô tả là phương pháp điều trị đối tượng mắc khối u rắn bằng cách sử dụng polyalkylen oxit-asparaginaza (ví dụ, chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza lỏng hoặc đông khô hoàn nguyên theo sáng chế). Phương pháp điều trị đối tượng mắc tình trạng bệnh lý ung thư là hữu ích để điều trị nhiều dạng khối u rắn khác nhau, bao

gồm caxinom và sacôm. Các dạng khối u rắn có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ung thư tụy, u melanin, ung thư tế bào vảy, ung thư phổi không phải tế bào vảy (NSCLC), ung thư ruột kết, ung thư vú, ung thư buồng trứng, ung thư cổ, ung thư tuyến tiền liệt, và các dạng ung thư tương tự. Ví dụ, caxinom có thể được điều trị bằng cách sử dụng phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, caxinom thực quản, caxinom tế bào gan, caxinom tế bào nền (một dạng ung thư da), caxinom tế bào vảy (các mô khác nhau), caxinom bàng quang, bao gồm caxinom tế bào chuyển tiếp (khối u ác tính bàng quang), caxinom phế quản, caxinom ruột kết, caxinom đại trực tràng, caxinom dạ dày, caxinom phổi, bao gồm caxinom tế bào nhỏ và caxinom tế bào không nhỏ của phổi, caxinom vỏ tuyến thượng thận, caxinom tuyến giáp, caxinom tụy, caxinom vú, caxinom buồng trứng, caxinom tuyến tiền liệt, ung thư tuyến, caxinom tuyến mồ hôi, caxinom tuyến chất nhờn, caxinom thể nhú, ung thư tuyến thể nhú, u nang tuyến, caxinom tủy xương, caxinom tế bào thận, ung thư biểu mô ống mật tại chỗ hoặc caxinom ống dẫn mật, caxinom biểu mô rau, u ác tính tinh hoàn, caxinom phôi thai, khối u Wilm, caxinom cổ, caxinom tử cung, caxinom tinh hoàn, caxinom xương, caxinom biểu mô, và caxinom vòm họng, v.v..

Sacôm có thể được điều trị bằng cách sử dụng phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, sacôm tế bào sợi, sacôm nhầy, sacôm mô mỡ, sacôm sụn, u nguyên sống, sacôm mô liên kết tạo cốt bào, sacôm xương, u mạch máu, sacôm tủy nội bào, sacôm mạch bạch huyết, sacôm tủy nội bào mạch bạch, ung thư bao hoạt dịch, u trung biểu mô, sacôm Ewing, sacôm cơ trơn, sacôm cơ vân, và các sacôm mô mềm khác.

Các khối u rắn khác có thể được điều trị bằng cách sử dụng phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, u thần kinh đệm, u tế bào hình sao, u nguyên bào tủy, u sọ hầu, u màng não thất, ung thư tuyến tụy, u nguyên bào mạch máu, u dây thần kinh, u thần kinh đệm ít nhánh, u màng não, u melanin, u nguyên bào thần kinh, và u nguyên bào lưới.

Trong các trường hợp nhất định, tình trạng bệnh lý ung thư được đặc trưng bởi là sự có mặt của khối u lỏng. Ví dụ, khối u lỏng có thể bao gồm tế bào ung thư di căn (ví dụ, khối u tế bào tuần hoàn (CTC)), ung thư máu, và các tế bào ung thư tương tự, và dạng kết hợp của chúng. Ví dụ về ung thư máu bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh bạch cầu, u bạch huyết và u tủy. Trong một số trường hợp, ung thư là bệnh bạch

cầu. Do đó, theo một số phương án thực hiện, phương pháp được bộc lộ là phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh bạch cầu bằng cách sử dụng polyalkylen oxit-asparaginaza (ví dụ, chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza lỏng hoặc đông khô hoàn nguyên theo sáng chế).

Các dạng bệnh bạch cầu khác nhau có thể chấp nhận việc điều trị bằng cách sử dụng phương pháp theo sáng chế. Ví dụ, bệnh bạch cầu có thể là bệnh bạch cầu cấp tính. Bệnh bạch cầu cấp tính có thể được đặc trưng bởi sự tăng nhanh về số lượng tế bào máu chưa trưởng thành. Sự tăng nhanh về tế bào máu chưa trưởng thành có thể dẫn đến sự chèn ép, từ đó có thể làm cho tủy xương tạo ra các tế bào máu kém khỏe mạnh đáng kể. Do vậy, phương pháp được bộc lộ trong phần mô tả bao gồm phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh bạch cầu cấp tính, ví dụ, bằng cách cho đối tượng dùng polyalkylen oxit-asparaginaza (ví dụ, chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza lỏng hoặc đông khô hoàn nguyên theo sáng chế) với lượng hữu hiệu để điều trị đối tượng mắc bệnh bạch cầu cấp tính.

Trong các trường hợp khác, bệnh bạch cầu là bệnh bạch cầu mạn tính. Trong một số trường hợp, bệnh bạch cầu mạn tính có thể được đặc trưng bởi sự tăng về số lượng các tế bào máu tương đối trưởng thành, nhưng là các tế bào máu trắng, không bình thường. Bệnh bạch cầu mạn tính có thể cần khoảng thời gian dài để phát triển (ví dụ, tháng hoặc năm), trong đó các tế bào máu trắng, không bình thường được tạo ra với tỷ lệ cao hơn đáng kể so với bình thường. Do vậy, phương pháp được bộc lộ trong phần mô tả bao gồm phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh bạch cầu mạn tính, ví dụ, bằng cách cho đối tượng dùng polyalkylen oxit-asparaginaza (ví dụ, chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza lỏng hoặc đông khô hoàn nguyên theo sáng chế) với lượng hữu hiệu để điều trị đối tượng mắc bệnh bạch cầu mạn tính.

Theo một số phương án thực hiện, bệnh bạch cầu là bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô (còn được gọi là bệnh bạch cầu lymphô). Bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô có thể được đặc trưng bởi dạng tế bào máu bị ảnh hưởng bởi bệnh bạch cầu. Trong bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô, sự thay đổi không bình thường ở các tế bào máu xảy ra trong các tế bào tủy xương thường phát triển thành tế bào lympho. Ví dụ, bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô có thể là bệnh bạch cầu tế bào B. Do vậy, phương pháp được bộc lộ trong phần mô tả bao gồm phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô (bệnh bạch cầu lymphô), ví dụ, bằng cách cho đối tượng dùng polyalkylen

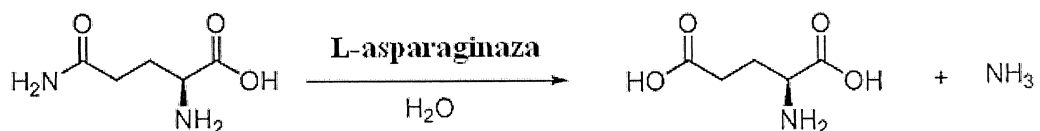
oxit-asparaginaza (ví dụ, chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza lỏng hoặc đông khô hoàn nguyên theo sáng chế) với lượng hữu hiệu để điều trị đối tượng mắc bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô (bệnh bạch cầu lymphô). Ví dụ, dạng bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô cụ thể có thể được điều trị bằng cách sử dụng phương pháp theo sáng chế bao gồm bệnh bạch cầu cấp tính nguyên bào lymphô (ALL). Theo các phương án này, phương pháp được bộc lộ trong phần mô tả bao gồm phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh bạch cầu cấp tính nguyên bào lymphô (ALL), ví dụ, bằng cách cho đối tượng dùng polyalkylen oxit-asparaginaza (ví dụ, chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza lỏng hoặc đông khô hoàn nguyên theo sáng chế) với lượng hữu hiệu để điều trị đối tượng mắc ALL. Các dạng bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô khác có thể được điều trị bằng cách sử dụng phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh bạch cầu mạn tính lymphô (CLL). Theo các phương án này, phương pháp được bộc lộ trong phần mô tả bao gồm phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh bạch cầu mạn tính lymphô (CLL), ví dụ, bằng cách cho đối tượng dùng polyalkylen oxit-asparaginaza (ví dụ, chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza lỏng hoặc đông khô hoàn nguyên theo sáng chế) với lượng hữu hiệu để điều trị đối tượng mắc CLL.

Theo các phương án khác, bệnh bạch cầu là bệnh bạch cầu tủy bào (còn được gọi là bệnh bạch cầu tủy bào). Bệnh bạch cầu tủy bào có thể được đặc trưng bởi dạng tế bào máu bị ảnh hưởng bởi bệnh bạch cầu. Trong bệnh bạch cầu tủy bào, sự thay đổi không bình thường trong các tế bào máu xảy ra trong các tế bào tủy xương thường phát triển thành các tế bào hồng cầu và/hoặc các tiểu cầu. Do vậy, phương pháp được bộc lộ trong phần mô tả bao gồm phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh bạch cầu tủy bào (bệnh bạch cầu tủy bào), ví dụ, bằng cách cho đối tượng dùng polyalkylen oxit-asparaginaza (ví dụ, chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza lỏng hoặc đông khô hoàn nguyên theo sáng chế) với lượng hữu hiệu để điều trị đối tượng mắc bệnh bạch cầu tủy bào (bệnh bạch cầu tủy bào). Ví dụ, dạng bệnh bạch cầu tủy bào cụ thể có thể được điều trị bằng cách sử dụng phương pháp theo sáng chế bao gồm bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (AML). Theo các phương án này, phương pháp được bộc lộ trong phần mô tả bao gồm phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (AML), ví dụ, bằng cách cho đối tượng dùng polyalkylen oxit-asparaginaza (ví dụ, chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza lỏng hoặc đông khô hoàn nguyên theo sáng chế) với lượng hữu hiệu để điều trị đối tượng mắc AML.

Ví dụ về AML bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, AML có chuyển vị trí di truyền tế bào tái diễn theo định kỳ, AML có loạn sản đa dòng, và các AML khác. Ví dụ, AML có chuyển vị trí di truyền tế bào tái diễn theo định kỳ bao gồm, trong số những cái khác, AML có t(8;21)(q22;q22), AMLI(CBF-alpha)/ETO, bệnh bạch cầu tủy bào tiền cấp tính (AML có t(15; 17)(q22;q11-12) và các biến thể, PML/RAR-alpha), AML có các tế bào tủy xương ưa eosin không bình thường (inv(16)(p13q22) hoặc t(16;16)(p13;q11), CBFb/MYH1 IX), và AML với các bất thường của 1 lq23 (MLL). Ví dụ về AML kèm loạn sản đa dòng có thể bao gồm các AML liên quan đến hoặc không có trước hội chứng rối loạn sinh tủy. Các dạng bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính khác bao gồm, ví dụ, AML biệt hóa tối thiểu, AML chưa trưởng thành, AML trưởng thành, bệnh bạch cầu đơn nhân cấp tính do tủy xương, bệnh bạch cầu đơn nhân cấp tính, bệnh bạch cầu tăng lympho bào cấp tính, bệnh bạch cầu tiểu cầu mẹ cấp tính, bệnh bạch cầu ưa kiềm cấp tính, và chúng tăng sinh cấp toàn bộ tủy kèm xơ tủy.

Các dạng bệnh bạch cầu tủy bào khác có thể được điều trị bằng cách sử dụng phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh bạch cầu tủy bào mạn tính (CML). Theo các phương án này, phương pháp được bộc lộ trong phần mô tả bao gồm phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh bạch cầu tủy bào mạn tính (CML), ví dụ, bằng cách cho đối tượng dùng polyalkylen oxit-asparaginaza (ví dụ, chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza lỏng hoặc đông khô hoàn nguyên theo sáng chế) với lượng hữu hiệu để điều trị đối tượng mắc CML.

Trong các trường hợp nhất định, asparaginaza có thể gây khử amin hóa glutamin, trong đó axit amin glutamin được thủy phân để tạo ra glutamat và amoniac, ví dụ, theo phản ứng sau:



Trong một số trường hợp, hoạt tính của asparaginaza làm giảm nồng độ glutamin ở đối tượng, như làm giảm nồng độ huyết tương glutamin ở đối tượng. Tương tự với phần mô tả trên đây, sự tiêu glutamin ở đối tượng có thể tác động bất lợi đến các tế bào ở đối tượng phụ thuộc vào sự có mặt của glutamin cho quá trình tổng hợp protein. Ví dụ, protein tổng hợp trong các tế bào thiếu khả năng tổng hợp chính glutamin của chúng (ví dụ, các tế bào thiếu enzym glutamin synthetaza) có thể chịu tác động bất lợi bởi sự

thiếu glutamin ngoại sinh, mà có thể dẫn đến sự chết theo chương trình các tế bào. Trong một số trường hợp, các tế bào ở đối tượng phụ thuộc vào sự có mặt của glutamin cho quá trình tổng hợp protein có thể liên quan đến tình trạng bệnh lý ung thư, như ung thư. Do đó, phương pháp được bộc lộ trong phần mô tả bao gồm phương pháp điều trị đối tượng mắc tình trạng bệnh lý ung thư, như phương pháp điều trị đối tượng mắc ung thư, trong đó tình trạng bệnh lý ung thư có thể phụ thuộc vào glutamin ngoại sinh. Ví dụ, các phương án của phương pháp được bộc lộ trong phần mô tả bao gồm phương pháp khử amin hóa glutamin ở đối tượng. Theo một số phương án thực hiện, các tế bào không ung thư ở đối tượng không bị ảnh hưởng đáng kể bởi polyalkylen oxit-asparaginaza được dùng cho đối tượng. Ví dụ, các tế bào không ung thư ở đối tượng có thể có enzym glutamin synthetaza, và do đó giữ được khả năng tổng hợp glutamin.

Như được mô tả trên đây, chế phẩm theo sáng chế bao gồm chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô. Trước khi dùng chế phẩm cho đối tượng, chế phẩm đông khô có thể được kết hợp với chất lỏng để thu được chế phẩm lỏng thích hợp để dùng, ví dụ, bằng cách tiêm hoặc dùng trong tĩnh mạch. Trong một số trường hợp, trước khi dùng chế phẩm cho đối tượng, chế phẩm đông khô được kết hợp với nước (ví dụ, nước dùng để tiêm, WFI) để thu được chế phẩm nước thích hợp để dùng, ví dụ, bằng cách tiêm hoặc dùng trong tĩnh mạch. Ví dụ, phương pháp theo sáng chế có thể bao gồm việc hoàn nguyên chế phẩm đông khô (ví dụ, chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô) theo sáng chế. Việc hoàn nguyên chế phẩm đông khô có thể tạo ra đơn vị liều lượng hoàn nguyên. Trong một số trường hợp, đơn vị liều lượng hoàn nguyên thích hợp để dùng cho đối tượng, ví dụ, bằng cách tiêm hoặc dùng trong tĩnh mạch. Theo một số phương án thực hiện, việc hoàn nguyên chế phẩm đông khô bao gồm việc kết hợp chế phẩm đông khô (ví dụ, chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô) với nước (ví dụ, nước dùng để tiêm, WFI).

Chất lỏng hoặc đơn vị liều lượng hoàn nguyên có thể bao gồm lượng định trước của chế phẩm theo sáng chế được tính toán với lượng đủ để tạo ra tác dụng điều trị mong muốn ở đối tượng. Lượng chế phẩm ở dạng đơn vị liều lượng (ví dụ, dạng lỏng hoặc hoàn nguyên) được dùng cho đối tượng có thể phụ thuộc vào đối tượng được xử lý, mức nghiêm trọng của cơn đau, và cách dùng. Ví dụ, đơn vị liều lượng có thể bao gồm lượng chế phẩm được dùng như được đề cập trong bản mô tả này với lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị.

Các phương án nhất định của đơn vị liều lượng có thể bao gồm lượng polyalkylen oxit-asparaginaza nằm trong khoảng từ 100 đến 5.000 IU/mL, như từ 500 đến 4.500 IU/mL, hoặc từ 500 đến 4.000 IU/mL, hoặc từ 500 đến 3.500 IU/mL, hoặc từ 500 đến 3.000 IU/mL, hoặc từ 500 đến 2.500 IU/mL, hoặc từ 500 đến 2.000 IU/mL, hoặc từ 500 đến 1.500 IU/mL, hoặc từ 500 đến 1.000 IU/mL, hoặc từ 600 đến 900 IU/mL, hoặc, hoặc từ 700 đến 800 IU/mL. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng chứa polyalkylen oxit-asparaginaza với lượng nằm trong khoảng từ 500 đến 1.000 IU/mL. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng chứa polyalkylen oxit-asparaginaza với lượng nằm trong khoảng từ 700 đến 800 IU/mL. Ví dụ, đơn vị liều lượng có thể bao gồm 750 IU/mL polyalkylen oxit-asparaginaza.

Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị (ví dụ, hoạt tính riêng) của polyalkylen oxit-asparaginaza, như 50 IU/mg protein hoặc lớn hơn, như 55 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 60 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 65 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 70 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 75 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 80 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 85 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 90 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 95 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 100 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 105 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 110 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 115 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 120 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 125 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 130 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 135 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 140 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 145 IU/mg protein hoặc lớn hơn, hoặc 150 IU/mg protein hoặc lớn hơn. Ví dụ, đơn vị liều lượng có thể có hoạt tính riêng là 85 IU/mg protein hoặc lớn hơn. Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng có hoạt tính riêng nằm trong khoảng từ 50 đến 150 IU/mg protein, hoặc từ 55 đến 145 IU/mg protein, hoặc từ 60 đến 140 IU/mg protein, hoặc từ 65 đến 135 IU/mg protein, hoặc từ 70 đến 130 IU/mg protein, hoặc từ 75 đến 125 IU/mg protein, hoặc từ 80 đến 120 IU/mg protein, hoặc từ 85 đến 115 IU/mg protein, hoặc từ 90 đến 110 IU/mg protein, hoặc từ 95 đến 105 IU/mg protein. Trong một số trường hợp, đơn vị liều lượng có hoạt tính riêng nằm trong khoảng từ 50 đến 150 IU/mg protein, như từ 65 đến 140 IU/mg protein, hoặc từ 70 đến 135 IU/mg protein, hoặc từ 75 đến 130 IU/mg protein, hoặc từ 75 đến 125 IU/mg protein. Ví dụ, đơn vị liều lượng có thể có hoạt tính riêng nằm trong khoảng từ 75 đến 125 IU/mg protein.

Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị (ví dụ, nồng độ protein) của polyalkylen oxit-asparaginaza với lượng nằm trong khoảng từ 1 mg/mL đến 15 mg/mL, như từ 1,5 mg/mL đến 14,5 mg/mL, hoặc từ 2 mg/mL đến 14 mg/mL, hoặc từ 2,5mg/mL đến 13,5 mg/mL, hoặc từ 3 mg/mL đến 13 mg/mL, hoặc từ 3,5 mg/mL đến 12,5 mg/mL, hoặc từ 4 mg/mL đến 12 mg/mL, hoặc từ 4,5 mg/mL đến 11,5 mg/mL, hoặc từ 4,5 mg/mL đến 11 mg/mL, hoặc từ 4,5 mg/mL đến 10,5 mg/mL, hoặc từ 4,5 mg/mL đến 10 mg/mL, hoặc từ 4,5 mg/mL đến 9,5 mg/mL, hoặc từ 4,5 mg/mL đến 9 mg/mL, hoặc từ 4,5 mg/mL đến 8,5 mg/mL, hoặc từ 5 mg/mL đến 8 mg/mL. Trong một số trường hợp, đơn vị liều lượng chứa trong khoảng từ trong polyalkylen oxit-asparaginaza với lượng nằm trong khoảng từ 4,5 mg/mL đến 8,5 mg/mL.

Khi được dùng cho đối tượng, đơn vị liều lượng có thể bao gồm lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị của polyalkylen oxit-asparaginaza sao cho đơn vị liều lượng phân phối trong khoảng từ 100 đến 5.000 IU/m<sup>2</sup> polyalkylen oxit-asparaginaza cho đối tượng, như từ 500 đến 5.000 IU/m<sup>2</sup>, hoặc từ 500 đến 4.500 IU/m<sup>2</sup>, hoặc từ 500 đến 4.000 IU/m<sup>2</sup> hoặc từ 500 đến 3.500 IU/m<sup>2</sup>, hoặc từ 500 đến 3.000 IU/m<sup>2</sup>, hoặc từ 1.000 đến 3.000 IU/m<sup>2</sup>, hoặc từ 1.500 đến 3.000 IU/m<sup>2</sup>, hoặc từ 1.750 đến 3.000 IU/m<sup>2</sup>, hoặc từ 2.000 đến 3.000 IU/m<sup>2</sup> hoặc từ 2.000 đến 2.750 IU/m<sup>2</sup>, hoặc từ 2.250 đến 2.750 IU/m<sup>2</sup> polyalkylen oxit-asparaginaza cho đối tượng. Ví dụ, đơn vị liều lượng có thể phân phối trong khoảng từ 1.500 đến 3.000 IU/m<sup>2</sup> polyalkylen oxit-asparaginaza cho đối tượng. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng dùng cho đối tượng nằm trong khoảng từ 2.000 đến 2.750 IU/m<sup>2</sup> polyalkylen oxit-asparaginaza. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng phân phối trong khoảng từ 2.250 đến 2.750 IU/m<sup>2</sup> polyalkylen oxit-asparaginaza cho đối tượng. Ví dụ, đơn vị liều lượng có thể phân phối 2.500 IU/m<sup>2</sup> polyalkylen oxit-asparaginaza cho đối tượng.

Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa dung dịch đệm, như dung dịch đệm được mô tả chi tiết trên đây. Ví dụ, đơn vị liều lượng có thể bao gồm dung dịch đệm phosphat, và như vậy có thể bao gồm natri phosphat hai bazơ và natri phosphat đơn chức.

Trong một số trường hợp, đơn vị liều lượng chứa dung dịch đệm phosphat, và như vậy có thể bao gồm natri phosphat hai bazơ và natri phosphat đơn chức. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng chứa natri phosphat hai bazơ với lượng nằm

trong khoảng từ 0,5 đến 10 mg/g, như từ 1 đến 9 mg/g, hoặc từ 1 đến 8 mg/g, hoặc từ 1 đến 7 mg/g, hoặc từ 2 đến 7 mg/g, hoặc từ 3 đến 6 mg/g, hoặc từ 4 đến 6 mg/g, hoặc từ 5 đến 6 mg/g. Ví dụ, đơn vị liều lượng có thể bao gồm natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 4 đến 6 mg/g. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng chứa natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 6 mg/g. Ví dụ, đơn vị liều lượng có thể bao gồm natri phosphat hai bazơ với lượng khoảng 5,5 mg/g, như 5,6 mg/g (hoặc 5,58 mg/g). Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 5 mg/g, như từ 0,1 đến 4,5 mg/g, hoặc từ 0,1 đến 4 mg/g, hoặc từ 0,1 đến 3,5 mg/g, hoặc từ 0,1 đến 3 mg/g, hoặc từ 0,1 đến 2,5 mg/g, hoặc từ 0,1 đến 2 mg/g, hoặc từ 0,5 đến 2 mg/g, hoặc từ 1 đến 2 mg/g, hoặc từ 1 đến 1,5 mg/g. Ví dụ, đơn vị liều lượng có thể bao gồm natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 2 mg/g. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng chứa natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 1,5 mg/g. Ví dụ, đơn vị liều lượng có thể bao gồm natri phosphat đơn chức với lượng là 1,2 mg/g (hoặc 1,29 mg/g).

Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa muối. Các muối thích hợp để dùng trong đơn vị liều lượng chứa các muối tương hợp với polyalkylen oxit-asparaginaza và thích hợp để dùng cho đối tượng, ví dụ, bằng cách tiêm hoặc dùng qua tĩnh mạch. Ví dụ về các muối thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, natri clorua, kali clorua, canxi clorua, magie clorua, và các muối tương tự, và hỗn hợp của chúng.

Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng chứa muối, như natri clorua. Trong một số trường hợp, đơn vị liều lượng chứa muối (ví dụ, natri clorua) với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 20 mg/g, như từ 1 đến 19 mg/g, hoặc từ 1 đến 18 mg/g, hoặc từ 1 đến 17 mg/g, hoặc từ 1 đến 16 mg/g, hoặc từ 1 đến 15 mg/g, hoặc từ 2 đến 15 mg/g, hoặc từ 3 đến 15 mg/g, hoặc từ 4 đến 15 mg/g, hoặc từ 5 đến 14 mg/g, hoặc từ 5 đến 13 mg/g, hoặc từ 5 đến 12 mg/g, hoặc từ 5 đến 11 mg/g, hoặc từ 5 đến 10 mg/g, hoặc từ 5 đến 9 mg/g, hoặc từ 6 đến 9 mg/g, hoặc từ 7 đến 9 mg/g, hoặc từ 8 đến 9 mg/g.

Ví dụ, đơn vị liều lượng có thể bao gồm muối (ví dụ, natri clorua) với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10 mg/g. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng chứa muối (ví dụ, natri clorua) với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 10 mg/g. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng chứa muối (ví dụ, natri clorua) với lượng nằm

trong khoảng từ 6 đến 9 mg/g. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng chứa muối (ví dụ, natri clorua) với lượng nằm trong khoảng từ 8 đến 9 mg/g. Ví dụ, đơn vị liều lượng có thể bao gồm muối (ví dụ, natri clorua) với lượng là 8,5 mg/g.

Trong một số trường hợp, chế phẩm được dùng cho đối tượng là chế phẩm PEG-asparaginaza tiêm dạng lỏng đã biết trên thị trường là Oncaspar® đã được Cục quản lý Dược phẩm và Thực phẩm Mỹ phê chuẩn để bán trên thị trường. Oncaspar® (pegaspargaza) là L-asparaginaza (L-asparagin amidohydrolyaza) được liên hợp cộng hóa trị với monometyxopolietylen glycol (mPEG), có mặt ở dạng dung dịch vô trùng, đẳng trương, không có chất bảo quản, trong suốt, không màu trong dung dịch nước muối đệm phosphat, độ pH 7,3. Mỗi mililít chứa  $750 \pm 150$  đơn vị quốc tế pegaspargaza, natri phosphat hai bazơ, USP (5,58 mg), natri phosphat đơn chức, USP (1,20 mg) và natri clorua, USP (9,5 mg) trong dung dịch nước tiêm, USP.

Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng được dùng cho đối tượng là đơn vị liều lượng được điều chế từ chế phẩm đông khô, ví dụ, chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô như được mô tả ở đây. Đơn vị liều lượng được điều chế từ chế phẩm đông khô có thể là liều lượng lỏng. Ngoài polyalkylen oxit-asparaginaza, phương án của đơn vị liều lượng (ví dụ, liều được hoàn nguyên từ chế phẩm đông khô) có thể bao gồm dung dịch đệm, muối và đường.

Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng hoàn nguyên bao gồm dung dịch đệm, như dung dịch đệm được mô tả chi tiết trên đây. Trong một số trường hợp, đơn vị liều lượng hoàn nguyên bao gồm natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10 mg/g, như từ 1 đến 9 mg/g, hoặc từ 1 đến 8 mg/g, hoặc từ 1 đến 7 mg/g, hoặc từ 1 đến 6 mg/g, hoặc từ 1 đến 5 mg/g, hoặc từ 1 đến 4 mg/g, hoặc từ 2 đến 4 mg/g, hoặc từ 2 đến 3 mg/g, hoặc từ 2,5 đến 3 mg/g. Ví dụ, đơn vị liều lượng hoàn nguyên có thể bao gồm natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 5 mg/g. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng hoàn nguyên có thể bao gồm natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 2 đến 4 mg/g. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng hoàn nguyên có thể bao gồm natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 2,5 đến 3 mg/g. Ví dụ, đơn vị liều lượng hoàn nguyên có thể bao gồm natri phosphat hai bazơ với lượng là khoảng 3 mg/g, như 2,8 mg/g (hoặc 2,79 mg/g). Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng được tính hoàn nguyên bao gồm natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 1 mg/g, như

từ 0,1 đến 0,9 mg/g, hoặc từ 0,1 đến 0,8 mg/g, hoặc từ 0,2 đến 0,8 mg/g, hoặc từ 0,3 đến 0,8 mg/g, hoặc từ 0,4 đến 0,8 mg/g, hoặc từ 0,45 đến 0,75 mg/g, hoặc từ 0,5 đến 0,7 mg/g. Ví dụ, đơn vị liều lượng hoàn nguyên có thể bao gồm natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,45 đến 0,75 mg/g. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng hoàn nguyên bao gồm natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 0,7 mg/g. Ví dụ, đơn vị liều lượng hoàn nguyên có thể bao gồm natri phosphat đơn chức với lượng là 0,6 mg/g.

Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng hoàn nguyên bao gồm muối, như muối được mô tả chi tiết trên đây. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng hoàn nguyên bao gồm muối, như natri clorua. Trong một số trường hợp, đơn vị liều lượng hoàn nguyên bao gồm muối (ví dụ, natri clorua) với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10 mg/g, như từ 1 đến 9 mg/g, hoặc từ 1 đến 8 mg/g, hoặc từ 1 đến 7 mg/g, hoặc từ 1 đến 6 mg/g, hoặc từ 1 đến 5 mg/g, hoặc từ 2 đến 5 mg/g, hoặc từ 3 đến 5 mg/g, hoặc từ 4 đến 5 mg/g, hoặc từ 4 đến 4,5 mg/g. Ví dụ, đơn vị liều lượng hoàn nguyên có thể bao gồm muối (ví dụ, natri clorua) với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10 mg/g. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng hoàn nguyên bao gồm muối (ví dụ, natri clorua) với lượng nằm trong khoảng từ 3 đến 5 mg/g. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng hoàn nguyên bao gồm muối (ví dụ, natri clorua) với lượng nằm trong khoảng từ 4 đến 4,55 mg/g. Ví dụ, đơn vị liều lượng hoàn nguyên có thể bao gồm muối (ví dụ, natri clorua) với lượng là 4 mg/g, như 4,25 mg/g.

Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng hoàn nguyên bao gồm đường, như đường được mô tả chi tiết trên đây. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng hoàn nguyên bao gồm đường, như disaccarit. Trong một số trường hợp, đơn vị liều lượng hoàn nguyên bao gồm đường, như sucroza. Trong một số trường hợp, đơn vị liều lượng hoàn nguyên bao gồm lượng đường (ví dụ, sucroza) nằm trong khoảng từ 1 đến 250 mg/g, như từ 5 đến 200 mg/g, hoặc từ 10 đến 150 mg/g, hoặc từ 10 đến 100 mg/g, hoặc từ 10 đến 90 mg/g, hoặc từ 10 đến 80 mg/g, hoặc từ 20 đến 70 mg/g, hoặc từ 20 đến 60 mg/g, hoặc từ 30 đến 50 mg/g, hoặc từ 40 đến 50 mg/g. Ví dụ, đơn vị liều lượng hoàn nguyên có thể bao gồm đường (ví dụ, sucroza) với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 100 mg/g. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng hoàn nguyên có thể bao gồm đường (ví dụ, sucroza) với lượng nằm trong khoảng từ 30 đến 50 mg/g. Trong các trường hợp nhất định, đơn vị liều lượng hoàn nguyên có thể bao gồm đường

(ví dụ, sucroza) với lượng nằm trong khoảng từ 40 đến 50 mg/g. Ví dụ, đơn vị liều lượng hoàn nguyên có thể bao gồm đường (ví dụ, sucroza) với lượng là 45 mg/g.

Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng (ví dụ, lỏng hoặc được hoàn nguyên) có độ pH tương hợp với các điều kiện sinh lý học. Trong một số trường hợp, độ pH của đơn vị liều lượng nằm trong khoảng từ 6 đến 8. Trong một số trường hợp, độ pH của đơn vị liều lượng nằm trong khoảng từ 7 đến 8. Ví dụ, độ pH của đơn vị liều lượng có thể nằm trong khoảng từ 7 đến 7,5. Trong một số trường hợp, độ pH của đơn vị liều lượng là 7,2. Trong một số trường hợp, độ pH của đơn vị liều lượng là 7,3. Trong một số trường hợp, độ pH của đơn vị liều lượng là 7,4.

Theo một số phương án thực hiện, phương pháp có thể bao gồm việc cho đối tượng dùng đơn vị liều lượng theo sáng chế để khử amin hóa asparagin ở đối tượng. Đường dùng thuốc có thể được chọn theo nhiều các yếu tố bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tình trạng bệnh lý cần được điều trị, dạng chế phẩm và/hoặc dụng cụ được sử dụng, người bệnh cần được điều trị, và các yếu tố tương tự. Các đường dùng hữu ích trong phương pháp theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dùng qua đường miệng và dùng ngoài đường tiêu hóa, như tĩnh mạch (iv), trong màng bụng (IP) (ip), trong cơ (im), trực tràng, khu trú, qua mắt, mũi, và da. Ví dụ, chế phẩm thích hợp để tiêm có thể được dùng qua tĩnh mạch, trong cơ, trong da, dưới da, dưới lưỡi, trong xương, hoặc các đường dùng thuốc khác.

Trong một số trường hợp, việc dùng đơn vị liều lượng cho đối tượng bao gồm việc dùng đơn vị liều lượng trong tĩnh mạch cho đối tượng. Trong một số trường hợp, việc dùng đơn vị liều lượng cho đối tượng bao gồm việc dùng đơn vị liều lượng trong cơ cho đối tượng.

Trong một số trường hợp, việc dùng đơn vị liều lượng hoàn nguyên cho đối tượng bao gồm việc dùng trong tĩnh mạch đơn vị liều lượng hoàn nguyên cho đối tượng. Trong một số trường hợp, việc dùng đơn vị liều lượng hoàn nguyên cho đối tượng bao gồm việc dùng trong cơ đơn vị liều lượng hoàn nguyên cho đối tượng.

Theo một số phương án thực hiện, phương pháp này bao gồm việc dùng đơn vị liều lượng cho đối tượng theo phác đồ điều trị. Ví dụ, trong một số trường hợp, đối tượng cần được điều trị có thể đã được kê phác đồ điều trị bởi người cung cấp dịch vụ y tế. Trong một số trường hợp, phác đồ điều trị bao gồm, nhưng không nhất thiết giới hạn ở, dùng năm lần mỗi ngày, bốn lần mỗi ngày, ba lần mỗi ngày, hai lần mỗi ngày, một lần

mỗi ngày, ba lần mỗi tuần, hai lần mỗi tuần, một lần mỗi tuần, cứ hai tuần một lần, cứ ba tuần một lần, mỗi tháng một lần, cứ sau 5 tuần một lần, cứ sau 6 tuần, cứ 7 tuần một lần, mỗi tháng một lần, hoặc kết hợp bất kỳ của chúng.

Theo một số phương án thực hiện, phác đồ điều trị bao gồm việc dùng một hoặc nhiều liều lượng qua khoảng thời gian dài. Trong các trường hợp nhất định, một liều dùng duy nhất (ví dụ, một đơn vị liều lượng duy nhất) được dùng cho đối tượng, và liều dùng ban đầu có thể tiếp theo là một hoặc nhiều liều dùng được dùng cho đối tượng vào lần sau. Trong một số trường hợp, nhiều hơn một dose (ví dụ, nhiều hơn một đơn vị liều lượng) được dùng cho đối tượng, và các liều dùng ban đầu có thể tiếp theo là một hoặc nhiều liều dùng được dùng cho đối tượng vào lần sau. Ví dụ, một liều dùng duy nhất (ví dụ, một đơn vị liều lượng duy nhất) có thể được dùng cho đối tượng, và một liều dùng duy nhất có thể tiếp theo là một liều dùng duy nhất được dùng cho đối tượng vào lần sau. Các liều dùng duy nhất bổ sung có thể được dùng tại các thời điểm tiếp theo. Trong các trường hợp khác, một liều dùng duy nhất (ví dụ, một đơn vị liều lượng duy nhất) có thể được dùng cho đối tượng, và một liều dùng duy nhất có thể tiếp theo là hai liều dùng được dùng cho đối tượng vào lần sau. Một liều dùng duy nhất hoặc nhiều liều dùng bổ sung có thể được dùng tại các thời điểm tiếp theo.

Trong các trường hợp nhất định, phác đồ điều trị bao gồm nhiều pha. Phác đồ điều trị có thể bao gồm nhiều pha trong đó lịch trình liều là khác nhau trong mỗi pha của phác đồ điều trị. Trong một số trường hợp, đối tượng được kê phác đồ điều trị với hai pha; pha cảm ứng và pha củng cố. Trong các trường hợp nhất định, đối tượng được kê phác đồ điều trị với hai pha trong đó lịch trình liều của pha thứ nhất là khác so với lịch trình liều trong pha thứ hai. Ví dụ, đối tượng có thể được kê phác đồ điều trị với hai pha bao gồm pha cảm ứng và pha củng cố, trong đó lịch trình liều của pha cảm ứng là khác so với lịch trình liều của pha củng cố. Theo các phương án khác, đối tượng có thể được kê phác đồ điều trị với ba pha; pha cảm ứng, pha củng cố, và pha duy trì. Trong một số trường hợp, đối tượng được kê phác đồ điều trị với ba pha bao gồm pha cảm ứng, pha củng cố, và pha duy trì, trong đó lịch trình liều của mỗi pha là khác với pha kia. Ví dụ, đối tượng có thể được kê phác đồ điều trị với ba pha bao gồm pha cảm ứng, pha củng cố, và pha duy trì, trong đó lịch trình liều của từng pha cảm ứng, pha củng cố, và pha duy trì là khác nhau.

Theo một số phương án thực hiện, độ dài của thời gian điều trị trong quá trình

mỗi pha của phác đồ điều trị là giống nhau, hoặc trong các trường hợp khác có thể là khác nhau. Ví dụ, khoảng thời gian trong pha cảm ứng có thể là 1 tuần hoặc lớn hơn, như 2 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 3 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 4 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 5 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 6 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 7 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 8 tuần hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian trong pha cảm ứng là 4 tuần. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian trong pha cảm ứng là 5 tuần.

Theo một số phương án thực hiện, khoảng thời gian trong pha củng cố là 1 tuần hoặc lớn hơn, như 2 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 3 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 4 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 5 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 6 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 7 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 8 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 9 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 10 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 11 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 12 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 13 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 14 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 15 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 16 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 17 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 18 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 19 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 20 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 21 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 22 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 23 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 24 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 25 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 26 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 27 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 28 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 29 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 30 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 31 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 32 tuần hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian trong pha củng cố là 8 tuần. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian trong pha củng cố là 27 tuần. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian trong pha củng cố là 30 tuần.

Theo một số phương án thực hiện, khoảng thời gian trong pha duy trì là 1 tuần hoặc lớn hơn, như 2 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 3 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 4 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 5 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 6 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 7 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 8 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 9 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 10 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 12 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 16 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 20 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 24 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 28 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 32 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 36 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 40 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 44 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 48 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 52 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 56 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 60 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 64 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 68 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 72 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 76 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 80 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 84 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 88 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 92 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 96 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 100 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 104 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 108 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 112

tuần hoặc lớn hơn, hoặc 116 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 120 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 124 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 128 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 132 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 136 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 140 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 144 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 148 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 152 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 156 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 160 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 164 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 168 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 172 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 176 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 180 tuần hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian trong pha duy trì là 8 tuần. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian trong pha duy trì là 88 tuần. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian trong pha duy trì là 104 tuần. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian trong pha củng cố là 140 tuần. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian trong pha duy trì là 156 tuần. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian trong pha duy trì nằm trong khoảng từ 88 đến 104 tuần. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian trong pha duy trì nằm trong khoảng từ 88 đến 140 tuần. Trong một số trường hợp, khoảng thời gian trong pha duy trì nằm trong khoảng từ 88 đến 156 tuần.

Ví dụ về phác đồ điều trị có thể được dùng cho đối tượng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các phác đồ điều trị được mô tả ở đây. Theo một số phương án thực hiện, phác đồ điều trị bao gồm việc cho đối tượng dùng một đơn vị liều lượng duy nhất trong pha cảm ứng và nhiều đơn vị liều lượng trong pha duy trì. Theo một số phương án thực hiện, phác đồ điều trị bao gồm việc cho đối tượng dùng một đơn vị liều lượng duy nhất trong pha cảm ứng và nhiều đơn vị liều lượng trong pha củng cố. Ví dụ, nhiều đơn vị liều lượng có thể được dùng cho đối tượng bằng cách cho đối tượng dùng đơn vị liều lượng mỗi 3 tuần (ví dụ, trong pha củng cố). Trong một số trường hợp, một đơn vị liều lượng duy nhất được dùng cho đối tượng 3 tuần 1 lần. Như được mô tả trên đây, pha củng cố có thể là 30 tuần, và do đó tổng 10 đơn vị liều lượng có thể được dùng cho đối tượng (ví dụ, một đơn vị liều lượng duy nhất có thể được dùng cho đối tượng 3 tuần 1 lần trong 30 tuần). Đơn vị liều lượng bổ sung (hoặc nhỏ hơn) có thể được dùng cho đối tượng vào giữa pha cảm ứng và pha củng cố, hoặc sau pha củng cố, nếu muốn hoặc được kê đơn bởi người cung cấp dịch vụ y tế.

Theo ví dụ khác, phác đồ điều trị có thể bao gồm việc cho đối tượng dùng một đơn vị liều lượng duy nhất trong pha cảm ứng và nhiều đơn vị liều lượng trong pha củng cố, trong đó

nhiều đơn vị liều lượng có thể được dùng cho đối tượng bằng cách cho đối tượng

dùng đơn vị liều lượng mỗi 2 tuần. Trong một số trường hợp, một đơn vị liều lượng duy nhất được dùng cho đối tượng 2 tuần 1 lần. Như được mô tả trên đây, pha củng cố có thể là 30 tuần, và do đó tổng 15 đơn vị liều lượng có thể được dùng cho đối tượng (ví dụ, một đơn vị liều lượng duy nhất có thể được dùng cho đối tượng 2 tuần 1 lần trong 30 tuần). Đơn vị liều lượng bổ sung (hoặc nhỏ hơn) có thể được dùng cho đối tượng vào giữa pha cảm ứng và pha củng cố, hoặc sau pha củng cố, nếu muốn hoặc được kê đơn bởi người cung cấp dịch vụ y tế.

Theo các phương án khác, phác đồ điều trị bao gồm việc cho đối tượng dùng một đơn vị liều lượng duy nhất trong pha cảm ứng, nhiều đơn vị liều lượng trong pha củng cố, và nhiều đơn vị liều lượng trong pha duy trì. Ví dụ, nhiều đơn vị liều lượng trong pha củng cố có thể được dùng cho đối tượng vào ngày nhất định sau khi bắt đầu pha củng cố. Trong một số trường hợp, nhiều đơn vị liều lượng trong pha củng cố có thể được dùng cho đối tượng bằng cách cho đối tượng dùng nhiều hơn một đơn vị liều lượng đồng thời. Ví dụ, nhiều đơn vị liều lượng trong pha củng cố có thể được dùng cho đối tượng bằng cách cho đối tượng dùng nhiều hơn một đơn vị liều lượng vào ngày cụ thể sau khi bắt đầu pha củng cố và nhiều hơn một đơn vị liều lượng cho đối tượng vào ngày tiếp theo trong pha củng cố. Một ví dụ về dạng phác đồ điều trị này có thể bao gồm việc cho đối tượng dùng 2 đơn vị liều lượng vào ngày 15 sau khi bắt đầu pha củng cố và 2 đơn vị liều lượng vào ngày 43 sau khi bắt đầu pha củng cố. Đơn vị liều lượng bổ sung (hoặc nhỏ hơn) có thể được dùng cho đối tượng vào giữa pha cảm ứng và pha củng cố, hoặc sau pha củng cố nhưng trước pha duy trì, nếu muốn hoặc được kê đơn bởi người cung cấp dịch vụ y tế.

Theo một số phương án thực hiện, nhiều đơn vị liều lượng trong pha duy trì có thể được dùng cho đối tượng vào ngày nhất định sau khi bắt đầu pha duy trì. Trong một số trường hợp, nhiều đơn vị liều lượng trong pha duy trì có thể được dùng cho đối tượng bằng cách cho đối tượng dùng nhiều hơn một đơn vị liều lượng đồng thời. Ví dụ, nhiều đơn vị trong pha duy trì có thể được dùng cho đối tượng bằng cách cho đối tượng dùng nhiều hơn một đơn vị liều lượng vào ngày cụ thể sau khi bắt đầu pha duy trì và nhiều hơn một đơn vị liều lượng cho đối tượng vào ngày tiếp theo trong pha duy trì. Một ví dụ về dạng phác đồ điều trị này có thể bao gồm việc cho đối tượng dùng 2 đơn vị liều lượng vào ngày 2 sau khi bắt đầu pha duy trì và 2 đơn vị liều lượng vào ngày 22 sau khi bắt đầu pha duy trì. Một ví dụ khác nữa về phác đồ điều trị trong pha duy trì có thể bao gồm

việc cho đối tượng dùng 2 đơn vị liều lượng vào ngày 4 sau khi bắt đầu pha duy trì và 2 đơn vị liều lượng vào ngày 43 sau khi bắt đầu pha duy trì. Trong một số trường hợp, phác đồ điều trị có thể bao gồm nhiều các pha duy trì. Trong các trường hợp nhất định, lịch trình liều trong mỗi pha duy trì có thể là giống nhau, hoặc trong các trường hợp khác lịch trình liều trong mỗi pha duy trì có thể là khác nhau. Đơn vị liều lượng bổ sung (hoặc nhỏ hơn) có thể được dùng cho đối tượng trong giữa pha củng cố và pha duy trì, hoặc sau pha duy trì, hoặc trong giữa các pha duy trì khác nhau, nếu muốn hoặc được kê đơn bởi người cung cấp dịch vụ y tế.

Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng theo sáng chế có thể được dùng trước khi, đồng thời, hoặc tiếp theo các hoạt chất khác để điều trị các tình trạng bệnh lý liên quan hoặc không liên quan, ví dụ, trong trị liệu kết hợp. Ví dụ về các phương pháp điều trị bổ sung như vậy bao gồm phương pháp xạ trị, phương pháp điều trị phẫu thuật và phương pháp hóa trị. Nếu được cấp đồng thời dưới dạng các hoạt chất khác, đơn vị liều lượng theo sáng chế có thể được đề xuất trong cùng một chế phẩm hoặc trong chế phẩm khác nhau. Ví dụ, việc trị liệu đồng thời có thể đạt được bằng cách cho sử dụng đơn vị liều lượng và dược phẩm có ít nhất một hoạt chất khác, như tác nhân hóa trị liệu, mà khi kết hợp tạo ra liệu hữu hiệu có tác dụng điều trị, theo phác đồ điều trị cụ thể. Việc dùng dược phẩm riêng rẽ có thể được thực hiện đồng thời hoặc ở các thời gian khác nhau (ví dụ, lần lượt, theo thứ tự, vào cùng một ngày, hoặc vào các ngày khác nhau), chừng nào tạo ra được hiệu quả hữu hiệu có tác dụng điều trị của dạng kết hợp của các chất này ở đối tượng tham gia trị liệu.

Do đó, phần mô tả còn bộc lộ các phương pháp điều trị kết hợp. Theo một số phương án thực hiện, phương pháp được bộc lộ trong phần mô tả bao gồm việc dùng liều lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị một hoặc nhiều hoạt chất bổ sung. Trị liệu kết hợp có nghĩa là polyalkylen oxit asparaginaza (ví dụ, như được mô tả ở đây) có thể được sử dụng kết hợp với tác nhân trị liệu khác để điều trị một bệnh lý hoặc tình trạng bệnh lý duy nhất. Theo một số phương án thực hiện, hợp chất theo sáng chế được dùng đồng thời với việc dùng tác nhân trị liệu khác, có thể được dùng dưới dạng thành phần của chế phẩm bao gồm hợp chất theo sáng chế hoặc dưới dạng thành phần của chế phẩm khác nhau. Theo các phương án nhất định, chế phẩm bao gồm hợp chất theo sáng chế được dùng trước khi hoặc sau khi dùng tác nhân trị liệu khác.

Hợp chất theo sáng chế có thể được dùng cùng với tác nhân bất kỳ hữu ích trong

điều trị tình trạng bệnh lý ung thư, như chất chống ung thư và chất kháng khối u. Một nhóm chất chống ung thư đang quan tâm bao gồm tác nhân hóa trị liệu. "Hóa trị liệu" có nghĩa là việc dùng một hoặc nhiều thuốc hóa trị liệu và/hoặc chất khác cho người bệnh mắc ung thư bằng các phương pháp khác nhau, bao gồm dùng trong tĩnh mạch, qua đường miệng, trong cơ, trong màng bụng (IP), trong bàng quang, dưới da, qua da, qua khoang miệng, hoặc ngửi. Các tác nhân đang quan tâm có thể được sử dụng cùng với hợp chất theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tác nhân hóa trị liệu ung thư, chất tác động làm giảm quá trình tăng sinh tế bào, chất chống chuyển hóa, chất tác động vi ống, chất điều hòa hormon và steroid, sản phẩm tự nhiên và chất cải biến đáp ứng sinh học, ví dụ, như được mô tả chi tiết hơn dưới đây.

Tác nhân hóa trị liệu ung thư bao gồm hợp chất không peptit (tức là, không protein) làm giảm quá trình tăng sinh của tế bào ung thư, và bao gồm chất gây độc tế bào và chất kìm tế bào. Ví dụ không giới hạn phạm vi của sáng chế về các tác nhân hóa trị liệu bao gồm chất alkyl hoá, các nitrosoure, chất chống chuyển hóa, chất kháng sinh kháng khối u, alkaloid thực vật (dừa cạn), và hormon steroid. Hợp chất peptit cũng có thể được sử dụng. Tác nhân hóa trị liệu ung thư thích hợp bao gồm dolastatin và hoạt chất tương tự và dẫn xuất của chúng; và auristatin và hoạt chất tương tự và dẫn xuất của chúng (ví dụ, monomethyl auristatin D (MMAD), monomethyl auristatin E (MMAE), monomethyl auristatin F (MMAF), và các chất tương tự). Xem, ví dụ, WO 96/33212, WO 96/14856, và U.S. 6,323,315. Ví dụ, dolastatin 10 hoặc auristatin PE có thể chứa trong thể liên hợp kháng thể-thuốc theo sáng chế. Tác nhân hóa trị liệu ung thư thích hợp cũng bao gồm maytansinoid và hoạt chất tương tự và dẫn xuất của chúng (Xem, ví dụ, EP 1391213; và Liu et al (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623); duocarmycin và hoạt chất tương tự và dẫn xuất của chúng (ví dụ, bao gồm các chất tương tự tổng hợp, KW-2189 và CB 1-TMI); và benzodiazepin và hoạt chất tương tự và dẫn xuất của chúng (ví dụ, pyrolobenzodiazepin (PBD)).

Chất tác động để làm giảm quá trình tăng sinh tế bào là đã biết trong lĩnh vực này và được sử dụng rộng rãi. Các chất như vậy bao gồm chất alkyl hoá, như mù tạc nitơ, nitrosoure, dẫn xuất etylenimin, alkyl sulfonat, và triazen, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, mecloetamin, xyclophosphamid (Cytosan<sup>TM</sup>), melphalan (L-sarcolysin), carmustine (BCNU), lomustine (CCNU), semustine (metyl-CCNU), streptozocin, clozotocin, mù tạc uraxil, chlormethine, ifosfamid, clorambuxil, pipobroman,

trietylenmelamin, trietylenlenthiofosforamin, busulfan, dacarbazin, và temozolomide.

Chất chống chuyển hóa bao gồm các chất tương tự axit folic, các chất tương tự pyrimidin, các chất tương tự purin, và chất ức chế adenosin deaminaza, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, xytarabin (CYTOSAR-U), xytosin arabinosit, flurouracil (5-FU), floxuridin (FudR), 6-thioguanin, 6-mercaptopurin (6-MP), pentostatin, 5-flurouracil (5-FU), metotrexat, 10-propargyl-5,8-diđiazafolat (PDDF, CB3717), 5,8-axit diđiazatetrahydrofolic (DDATHF), leucovorin, fludarabine phosphat, pentostatine, và gemcitabine.

Sản phẩm tự nhiên thích hợp và dẫn xuất của chúng, (ví dụ, alkaloid dừa nước, chất kháng sinh kháng khối u, enzym, lymphokin, và epipodophylotoxin), bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, Ara-C, paclitaxel (Taxol®), doxetaxel (Taxotere®), deoxycoformyxin, mitomycin-C, azathioprine; brequinar; alkaloid, ví dụ, vincristine, vinblastine, vinorelbine, vindesine, v.v.; podophylotoxin, ví dụ, etoposide, teniposide, v.v.; chất kháng sinh, ví dụ, antraxyclin, daunorubicin hydroclorua (daunomycin, rubidomycin, cerubidine), idarubicin, doxorubicin, epirubicin và dẫn xuất morpholino, v.v.; phenoxizon bisxyclopeptit, ví dụ, dactinomycin; glycopeptit bazơ, ví dụ, bleomycin; anthraquinone glycosit, ví dụ, plicamycin (mithramycin); antraxendon, ví dụ, mitoxantrone; azirinopyrolo indolion, ví dụ, mitomycin; chất ức chế miễn dịch vòng lớn, ví dụ, xyclosporin, FK-506 (tacrolimus, prograf), rapamycin, v.v.; và các sản phẩm tương tự.

Chất gây độc tế bào chống tăng sinh khác là navelbene, CPT-11, anastrozol, letrozol, capecitabine, reloxafine, xyclophosphamid, ifosamid, và droloxafine. Chất tác động vì ồng có hoạt tính chống tăng sinh cũng thích hợp để dùng và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, allocolchicine (NSC 406042), Halichondrin B (NSC 609395), colchicine (NSC 757), dẫn xuất colchicine (ví dụ, NSC 33410), dolstatin 10 (NSC 376128), maytansine (NSC 153858), rhizoxin (NSC 332598), paclitaxel (Taxol®), dẫn xuất Taxol®, doxetaxel (Taxotere®), thiocolchicine (NSC 361792), trityl cysterin, vinblastine sulfat, vincristine sulfat, epothilone tự nhiên và tổng hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, epothilone A, epothilone B, discodermolide; estramustine, nocodazol, và các chất tương tự.

Chất điều hòa hormon và steroid (bao gồm các chất tương tự tổng hợp) thích hợp để dùng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, adrenocorticosteroid, ví dụ,

prednisone, dexametason, v.v.; estrogen và pregestin, ví dụ, hydroxyprogesterone caproat, medroxyprogesteron axetat, megestrol axetat, estradiol, clomiphene, tamoxifen; v.v.; và chất ức chế vỏ tuyến thượng thận, ví dụ, aminoglutethimit; 17 $\alpha$ -ethinylestradiol; diethylstilbestrol, testosterone, fluoxymesterone, dromostanolone propionat, testolacton, methylprednisolone, methyl-testosterone, prednisolone, triamcinolone, clotrianisene, hydroxyprogesterone, aminoglutethimit, estramustine, medroxyprogesterone axetat, leuprolide, Flutamit (Drogenil), Toremifene (Fareston), và Zoladex®. Estrogen kích thích quá trình tăng sinh và quá trình biệt hóa; vì vậy hợp chất này gắn kết với thụ thể estrogen được sử dụng để phong bế hoạt tính này. Corticosteroid có thể ức chế quá trình tăng sinh tế bào T.

Các tác nhân hóa trị liệu thích hợp khác bao gồm phức hợp kim loại, ví dụ, xisplatin (cis-DDP), carboplatin, v.v.; ure, ví dụ, hydroxyure; và hydrazin, ví dụ, N-methylhydrazin; epidophyllotoxin; chất ức chế topoisomeraza; procarbazin; mitoxantrone; leucovorin; tegafur; v.v.. Các chất chống tăng sinh khác đang quan tâm bao gồm chất ức chế miễn dịch, ví dụ, mycoaxit phenolic, thalidomide, desoxyspergualin, azasporine, leflunomide, mizoribine, azaspirane (SKF 105685); Iressa® (ZD 1839, 4-(3-clo-4-flophenylamino)-7-metoxi-6-(3-(4-morpholiny)propoxy)quinazolin); v.v..

Taxan là thích hợp để dùng. "Taxan" bao gồm paclitaxel, cũng như dẫn xuất taxan hoạt tính hoặc tiền dược chất bất kỳ. "Paclitaxel" (trong bản mô tả này cần được hiểu là bao gồm các chất tương tự, chế phẩm, và dẫn xuất như, ví dụ, docetaxel, TAXOL™, TAXOTERE™ (chế phẩm của docetaxel), các chất tương tự 10-desaxetyl của paclitaxel và các chất tương tự 3'-N-desbenzoyl-3'-N-t-butoxycarbonyl của paclitaxel) có thể được điều chế dễ dàng bằng cách sử dụng kỹ thuật đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này (cũng xem WO 94/07882, WO 94/07881, WO 94/07880, WO 94/07876, WO 93/23555, WO 93/10076; các patent Mỹ số 5,294,637; 5,283,253; 5,279,949; 5,274,137; 5,202,448; 5,200,534; 5,229,529; và EP 590,267), hoặc thu được từ nhiều nguồn thương mại, bao gồm, ví dụ, Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo. (T7402 từ *Taxusbrevifolia*; hoặc T-1912 từ *Taxus yunnanensis*). Paclitaxel cần được hiểu là để chỉ không những dạng hóa chất phổ biến sẵn có của paclitaxel, mà cả các chất tương tự và dẫn xuất (ví dụ, Taxotere™ docetaxel, như nêu trên) và thể liên hợp paclitaxel (ví dụ, paclitaxel-PEG, paclitaxel-

dextran, hoặc paclitaxel-xyloza). Thuật ngữ "taxan" cũng bao gồm các dẫn xuất đã biết, bao gồm cả dẫn xuất ưa nước lẫn dẫn xuất kỵ nước. Dẫn xuất taxan bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dẫn xuất galactoza và mannoza được mô tả trong WO 99/18113; piperazino và các dẫn xuất khác được mô tả trong WO 99/14209; dẫn xuất taxan được mô tả trong WO 99/09021, WO 98/22451, và patent Mỹ số 5,869,680; dẫn xuất 6-thio được mô tả trong WO 98/28288; dẫn xuất sulfonamid được mô tả trong patent Mỹ số 5,821,263; và dẫn xuất taxol được mô tả trong patent Mỹ số 5,415,869. Nó còn bao gồm tiền dược chất của paclitaxel bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất được mô tả trong WO98/58927; WO 98/13059; và patent Mỹ số 5,824,701.

Chất cải biến đáp ứng sinh học thích hợp để dùng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, (1) chất ức chế hoạt tính tyrosin kinaza (RTK); (2) chất ức chế hoạt tính serin/threonin kinaza; (3) chất đối kháng kháng nguyên liên quan khối u, như các kháng thể gắn kết đặc hiệu với kháng nguyên khối u; (4) các chất chủ vận thụ thể gây chết theo chương trình; (5) interleukin-2; (6) IFN-a; (7) IFN-y; (8) yếu tố kích thích khuẩn lạc; và (9) chất ức chế tạo mạch.

Đối tượng có thể được điều trị bằng cách sử dụng phương pháp và chế phẩm theo sáng chế bao gồm đối tượng ở lứa tuổi bất kỳ. Trong một số trường hợp, đối tượng có thể là đối tượng trưởng thành. Ví dụ, đối tượng người trưởng thành có thể là 18 tuổi hoặc cao hơn. Đối tượng có thể được điều trị bằng cách sử dụng phương pháp và chế phẩm theo sáng chế cũng bao gồm đối tượng vị thành niên. Ví dụ, đối tượng người vị thành niên có thể nhỏ hơn 18 tuổi. Trong một số trường hợp, đối tượng nằm trong khoảng độ tuổi từ 1 tháng đến 18 tuổi, như 1 tuổi đến 18 tuổi, bao gồm 2 tuổi đến 18 tuổi, ví dụ, 5 tuổi đến 16 tuổi.

Trong một số trường hợp, phương pháp bao gồm việc chẩn đoán đối tượng mắc AML. Đối tượng có thể được chẩn đoán mắc AML bằng cách sử dụng quy trình thông thường bất kỳ. Trong một số trường hợp, hệ phân loại Pháp, Mỹ, và Anh (FAB) được sử dụng để chẩn đoán và phân loại bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính. Việc chẩn đoán bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính cần nguyên tủy bào cấu thành 30% (hoặc 20% dựa trên cơ sở hệ phân loại của Tổ chức Y tế thế giới (World Health Organization - WHO) gần đây) hoặc lớn hơn các tế bào tủy xương hoặc các tế bào máu trắng đang tuần hoàn. Đặc tính huyết học của bệnh lý, xác định các phân nhóm khác nhau được mô tả dưới đây. Danh pháp FAB (M1 đến M7) phân loại sự phân nhóm của bệnh bạch cầu tủy bào

cấp tính theo các yếu tố tủy bình thường mà tế bào non ác tính gần giống nhất. Trong một số trường hợp, phương pháp này bao gồm việc xác định tính thích hợp của đối tượng được chẩn đoán mắc AML để điều trị bằng cách sử dụng chế phẩm polyalkylen oxit asparaginaza, ví dụ, như được mô tả ở đây. Trong một số trường hợp, phương pháp này bao gồm việc theo dõi hiệu lực của việc điều trị. Hiệu lực của việc điều trị có thể được kiểm tra bằng cách sử dụng quy trình thông thường bất kỳ.

### **Phương pháp điều chế**

Các khía cạnh theo sáng chế bao gồm phương pháp điều chế chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza được mô tả ở đây. Trong các trường hợp nhất định, phương pháp này là phương pháp điều chế chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza lỏng như được mô tả ở đây. Phương pháp này có thể bao gồm việc tạo ra chế phẩm nước chứa polyalkylen oxit-asparaginaza có nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị bằng cầu liên kết với asparaginaza, dung dịch đệm, và muối.

Phương án của phương pháp điều chế chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza có thể bao gồm việc tạo ra chế phẩm cô đặc chứa nước. Ví dụ, phương pháp điều chế chế phẩm cô đặc chứa nước có thể bao gồm một hoặc nhiều bước: tạo ra dung dịch chứa asparaginaza (ví dụ, L-asparaginaza); gắn polyalkylen oxit (ví dụ, polyetylen glycol) vào asparaginaza; làm trong polyalkylen oxit-asparaginaza; lọc và cô dung dịch chứa polyalkylen oxit-asparaginaza; pha loãng dung dịch chứa polyalkylen oxit-asparaginaza; lọc dung dịch chứa polyalkylen oxit-asparaginaza và nạp dung dịch chứa polyalkylen oxit-asparaginaza vào đồ chứa vô trùng; và bảo quản dung dịch chứa polyalkylen oxit-asparaginaza này.

Theo phương pháp điều chế chế phẩm cô đặc chứa nước, dung dịch chứa asparaginaza (ví dụ, L-asparaginaza) có thể được điều chế. Asparaginaza có thể được trộn với dung dịch, như dung dịch nước (ví dụ, dung dịch nước được tạo đệm). Ví dụ về dung dịch đệm thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dung dịch đệm phosphat, nước muối đệm phosphat (PBS), nước muối đệm phosphat Dulbecco (DPBS), dung dịch muối cân bằng Hank (HBSS), dung dịch muối cân bằng Earle (EBSS), dung dịch đệm Tris, dung dịch đệm lactat Ringer, dung dịch đệm borat, và các dung dịch đệm tương tự, và hỗn hợp của chúng. Trong một số trường hợp, asparaginaza được trộn với dung dịch đệm phosphat.

Dung dịch đệm phosphat có thể bao gồm natri phosphat dibazơ và natri

phosphat monobazơ. Trong một số trường hợp, lượng natri phosphat đibazơ trong chế phẩm cô đặc chứa nước nằm trong khoảng từ 0,05 đến 5% khối lượng, như từ 0,1 đến 4,5% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 4% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 3,5% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 3% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 2,5% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 2% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,9% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,8% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,7% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,6% khối lượng, hoặc từ 0,2 đến 0,6% khối lượng, hoặc từ 0,3 đến 0,6% khối lượng, hoặc từ 0,4 đến 0,6% khối lượng, hoặc từ 0,5 đến 0,6% khối lượng. Ví dụ, natri phosphat đibazơ có thể có mặt trong chế phẩm cô đặc chứa nước với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat đibazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,2 đến 0,8% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat đibazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,3 đến 0,6% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat đibazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 0,6% khối lượng. Ví dụ, natri phosphat đibazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng là khoảng 0,6% khối lượng, như 0,56% khối lượng (hoặc 0,558% khối lượng). Theo một số phương án thực hiện, lượng natri phosphat monobazơ trong chế phẩm cô đặc chứa nước nằm trong khoảng từ 0,005 đến 2% khối lượng, như từ 0,01 đến 1,8% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 1,6% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 1,4% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 1,2% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 1,0% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,8% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,6% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,4% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,2% khối lượng, hoặc từ 0,02 đến 0,18% khối lượng, hoặc từ 0,03 đến 0,16% khối lượng, hoặc từ 0,04 đến 0,16% khối lượng, hoặc từ 0,045 đến 0,15% khối lượng, hoặc từ 0,04 đến 0,14% khối lượng, hoặc từ 0,05 đến 0,14% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,2% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,15% khối lượng. Ví dụ, natri phosphat monobazơ có thể có mặt trong chế phẩm cô đặc chứa nước với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,2% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat monobazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,2% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat monobazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,09 đến 0,15% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat monobazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,2% khối lượng.

Trong các trường hợp nhất định, natri phosphat monobazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,15% khối lượng. Ví dụ, natri phosphat monobazơ có thể có mặt trong chế phẩm với lượng là 0,12% khối lượng (hoặc 0,129% khối lượng).

Các thành phần bổ sung có thể chứa trong chế phẩm cô đặc chứa nước chứa muối. Ví dụ về các muối thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, natri clorua, kali clorua, canxi clorua, magie clorua, và các muối tương tự, và hỗn hợp của chúng. Trong các trường hợp nhất định, muối là natri clorua.

Trong một số trường hợp, lượng muối (ví dụ, natri clorua) trong chế phẩm cô đặc chứa nước nằm trong khoảng từ 0,05 đến 5% khối lượng, như từ 0,05 đến 4% khối lượng, hoặc từ 0,05 đến 3% khối lượng, hoặc từ 0,05 đến 2% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 5% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 4% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 3% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 2% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 1,5% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,2 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,3 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,4 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,5 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,6 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,7 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,8 đến 1% khối lượng, hoặc từ 0,8 đến 0,9% khối lượng. Ví dụ, muối (ví dụ, natri clorua) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1% khối lượng. Ví dụ, muối (ví dụ, natri clorua) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,2 đến 2% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, muối (ví dụ, natri clorua) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,7 đến 1% khối lượng. Trong các trường hợp nhất định, muối (ví dụ, natri clorua) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ 0,8 đến 0,9% khối lượng. Ví dụ, muối (ví dụ, natri clorua) có thể có mặt trong chế phẩm với lượng 0,85% khối lượng.

Các khía cạnh khác theo sáng chế bao gồm phương pháp điều chế chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô được mô tả ở đây. Trong các trường hợp nhất định, phương pháp này là phương pháp điều chế chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza đông khô như được mô tả ở đây. Phương pháp này có thể bao gồm việc đông khô chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza chứa nước có nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị bằng cầu liên kết với asparaginaza, dung dịch đệm, muối, và đường theo cách đủ để tạo ra chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô.

Theo một số phương án thực hiện, sự đông khô được sử dụng để khử nước chế phẩm cô đặc chứa nước. Trong một số trường hợp, sự đông khô bao gồm loại bỏ nước ra khỏi chế phẩm cô đặc chứa nước. Nước có thể được loại bỏ bằng cách làm thăng hoa nước trong chế phẩm. Ví dụ, nước trong chế phẩm có thể được chuyển pha từ trạng thái rắn sang trạng thái khí. Trong các trường hợp nhất định, sự đông khô bao gồm việc kết đông chế phẩm (ví dụ, kết đông nước trong chế phẩm) và sau đó giảm áp suất bao quanh chế phẩm sao cho nước trong chế phẩm trải qua quá trình thăng hoa. Trong quá trình đông khô, nhiệt độ của chế phẩm có thể được giảm, ví dụ, đến nhiệt độ thấp hơn điểm đông đặc của nước trong chế phẩm. Ví dụ, nhiệt độ của chế phẩm có thể được giảm đến  $0^{\circ}\text{C}$  hoặc nhỏ hơn, hoặc  $-5^{\circ}\text{C}$  hoặc nhỏ hơn, hoặc  $-10^{\circ}\text{C}$  hoặc nhỏ hơn, hoặc  $-15^{\circ}\text{C}$  hoặc nhỏ hơn, hoặc  $-20^{\circ}\text{C}$  hoặc nhỏ hơn, hoặc  $-25^{\circ}\text{C}$  hoặc nhỏ hơn, hoặc  $-30^{\circ}\text{C}$  hoặc nhỏ hơn, hoặc  $-35^{\circ}\text{C}$  hoặc nhỏ hơn, hoặc  $-40^{\circ}\text{C}$  hoặc nhỏ hơn, hoặc  $-45^{\circ}\text{C}$  hoặc nhỏ hơn, hoặc  $-50^{\circ}\text{C}$  hoặc nhỏ hơn, hoặc  $-55^{\circ}\text{C}$  hoặc nhỏ hơn, hoặc  $-60^{\circ}\text{C}$  hoặc nhỏ hơn, hoặc  $-65^{\circ}\text{C}$  hoặc nhỏ hơn, hoặc  $-75^{\circ}\text{C}$  hoặc nhỏ hơn. Trong một số trường hợp, nhiệt độ của chế phẩm được giảm đến  $-45^{\circ}\text{C}$ . Trong một số trường hợp, nhiệt độ của chế phẩm được giảm đến  $-30^{\circ}\text{C}$ .

Theo một số phương án thực hiện, áp suất bao quanh chế phẩm được giảm đến thấp hơn áp suất khí quyển chuẩn. Ví dụ, áp suất bao quanh chế phẩm có thể được giảm đến 500 T hoặc nhỏ hơn, như 250 T hoặc nhỏ hơn, hoặc 100 T hoặc nhỏ hơn, hoặc 50 T hoặc nhỏ hơn, hoặc 10 T hoặc nhỏ hơn, hoặc 1 T hoặc nhỏ hơn, hoặc 500 mT hoặc nhỏ hơn, hoặc 400 mT hoặc nhỏ hơn, hoặc 300 mT hoặc nhỏ hơn, hoặc 200 mT hoặc nhỏ hơn, hoặc 100 mT hoặc nhỏ hơn, hoặc 90 mT hoặc nhỏ hơn, hoặc 80 mT hoặc nhỏ hơn, hoặc 70 mT hoặc nhỏ hơn, hoặc 60 mT hoặc nhỏ hơn, hoặc 50 mT hoặc nhỏ hơn, hoặc 40 mT hoặc nhỏ hơn, hoặc 30 mT hoặc nhỏ hơn, hoặc 20 mT hoặc nhỏ hơn, hoặc 10 mT hoặc nhỏ hơn. Trong một số trường hợp, áp suất bao quanh chế phẩm được giảm đến 60 mT hoặc nhỏ hơn, như 50 mT.

Theo một số phương án thực hiện, sự đông khô cũng có thể bao gồm việc làm tăng nhiệt độ của chế phẩm trong khi áp suất bao quanh chế phẩm được giảm. Ví dụ, nhiệt độ của chế phẩm có thể được tăng lên từ nhiệt độ tối thiểu như được mô tả trên đây đến nhiệt độ lớn hơn nhiệt độ tối thiểu. Trong một số trường hợp, nhiệt độ được tăng lên để tạo điều kiện thuận lợi cho sự thăng hoa của nước trong chế phẩm ở áp suất bao quanh giảm.

Phương án của phương pháp điều chế chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza đông khô cũng có thể bao gồm việc tạo ra chế phẩm cô đặc chứa nước, sau đó được đông khô. Sơ đồ dòng quy trình của phương pháp điều chế chế phẩm cô đặc chứa nước được thể hiện trên Fig. 1. Như được thể hiện trên Fig. 1, phương pháp điều chế chế phẩm cô đặc chứa nước có thể bao gồm một hoặc nhiều bước: tạo ra dung dịch chứa asparaginaza (ví dụ, L-asparaginaza) (10); gắn polyalkylen oxit (ví dụ, polyetylenglycol) với asparaginaza (20); làm trong polyalkylen oxit-asparaginaza (30); lọc và cô dung dịch chứa polyalkylen oxit-asparaginaza (40); pha loãng dung dịch chứa polyalkylen oxit-asparaginaza (50); lọc dung dịch chứa polyalkylen oxit-asparaginaza và nạp dung dịch chứa polyalkylen oxit-asparaginaza vào đồ chứa vô trùng (60); và bảo quản dung dịch chứa polyalkylen oxit-asparaginaza (70).

Theo phương pháp điều chế chế phẩm cô đặc chứa nước, dung dịch chứa asparaginaza (ví dụ, L-asparaginaza) có thể được điều chế. Asparaginaza có thể được trộn với dung dịch, như dung dịch nước (ví dụ, dung dịch nước được tạo đệm). Ví dụ về dung dịch đệm thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dung dịch đệm phosphat, nước muối đệm phosphat (PBS), nước muối đệm phosphat Dulbecco (DPBS), dung dịch muối cân bằng Hank (HBSS), dung dịch muối cân bằng Earle (EBSS), dung dịch đệm Tris, dung dịch đệm lactat Ringer, dung dịch đệm borat, và các dung dịch tương tự, và hỗn hợp của chúng. Trong một số trường hợp, asparaginaza được trộn với dung dịch đệm phosphat.

Theo một số phương án thực hiện, dung dịch đệm phosphat có thể bao gồm natri phosphat đibazơ và natri phosphat monobazơ. Trong một số trường hợp, lượng natri phosphat đibazơ trong chế phẩm cô đặc chứa nước nằm trong khoảng từ 0,05 đến 1% khối lượng, như từ 0,1 đến 0,9% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,8% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,7% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,6% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,5% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,4% khối lượng, hoặc từ 0,2 đến 0,4% khối lượng, hoặc từ 0,2 đến 0,3% khối lượng, hoặc từ 0,25 đến 0,3% khối lượng. Ví dụ, natri phosphat đibazơ có thể có mặt trong chế phẩm cô đặc chứa nước với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,5% khối lượng. Theo một số phương án thực hiện, lượng natri phosphat monobazơ trong chế phẩm cô đặc chứa nước nằm trong khoảng từ 0,005 đến 1% khối lượng, như từ 0,01 đến 0,9% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,8% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,7% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,6% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến

0,5% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,4% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,3% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,2% khối lượng, hoặc từ 0,01 đến 0,1% khối lượng, hoặc từ 0,02 đến 0,09% khối lượng, hoặc từ 0,03 đến 0,08% khối lượng, hoặc từ 0,04 đến 0,08% khối lượng, hoặc từ 0,045 đến 0,075% khối lượng, hoặc từ 0,04 đến 0,07% khối lượng, hoặc từ 0,05 đến 0,07% khối lượng. Ví dụ, natri phosphat monobazơ có thể có mặt trong chế phẩm cô đặc chứa nước với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,1% khối lượng.

Các thành phần bổ sung có thể có trong chế phẩm cô đặc chứa nước bao gồm muối. Ví dụ về các muối thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, natri clorua, kali clorua, canxi clorua, magie clorua, và các muối tương tự, và hỗn hợp của chúng. Trong các trường hợp nhất định, muối là natri clorua.

Trong một số trường hợp, lượng muối (ví dụ, natri clorua) trong chế phẩm cô đặc chứa nước nằm trong khoảng từ 0,05 đến 1% khối lượng, như từ 0,1 đến 0,9% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,8% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,7% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,6% khối lượng, hoặc từ 0,1 đến 0,5% khối lượng, hoặc từ 0,2 đến 0,5% khối lượng, hoặc từ 0,3 đến 0,5% khối lượng, hoặc từ 0,4 đến 0,5% khối lượng, hoặc từ 0,4 đến 0,45% khối lượng. Ví dụ, muối (ví dụ, natri clorua) có thể có mặt trong chế phẩm cô đặc chứa nước với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1% khối lượng.

Thành phần khác có thể chứa trong chế phẩm cô đặc chứa nước là đường. Ví dụ về đường thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, sucroza, manitol, maltoza, trehaloza, 2-hydroxypropyl-beta-xyclodextrin ( $\beta$ -HPCD), lactoza, glucoza, fructoza, galactoza, glucosamin, và các đường tương tự, và hỗn hợp của chúng. Trong các trường hợp nhất định, đường là đisacarit. Ví dụ, đisacarit có thể là sucroza.

Trong một số trường hợp, lượng đường (ví dụ, sucroza) trong chế phẩm cô đặc chứa nước nằm trong khoảng từ 0,1 đến 25% khối lượng, như từ 0,5 đến 20% khối lượng, hoặc từ 1 đến 15% khối lượng, hoặc từ 1 đến 10% khối lượng, hoặc từ 1 đến 9% khối lượng, hoặc từ 1 đến 8% khối lượng, hoặc từ 2 đến 7% khối lượng, hoặc từ 2 đến 6% khối lượng, hoặc 3 đến 5% khối lượng, hoặc từ 4 đến 5% khối lượng. Ví dụ, đường (ví dụ, sucroza) có thể có mặt trong chế phẩm cô đặc chứa nước với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10% khối lượng.

Sau khi điều chế dung dịch asparaginaza, asparaginaza có thể được gắn vào polyalkylen oxit (ví dụ, polyetylen glycol), sao cho polyalkylen oxit được liên kết

cộng hóa trị với asparaginaza để tạo ra thể liên hợp polyalkylen oxit-asparaginaza. Sau khi điều chế polyalkylen oxit-asparaginaza, dung dịch có thể được làm trong. Trong một số trường hợp, việc làm trong bao gồm việc lọc dung dịch qua thiết bị lọc để loại bỏ chất dạng hạt ra khỏi dung dịch. Bước lọc có thể tạo ra polyalkylen oxit-asparaginaza về cơ bản tinh khiết.

Trong một số trường hợp, dung dịch polyalkylen oxit-asparaginaza đã lọc sau đó được đưa vào bước lọc thẩm tách và cô. Dung dịch polyalkylen oxit-asparaginaza có thể được lọc thẩm tách bằng cách sử dụng màng siêu lọc và chất cô đặc thu được chứa polyalkylen oxit-asparaginaza có thể thu được. Phần cô đặc từ bước lọc thẩm tách sau đó có thể được pha loãng sao cho dung dịch chứa nồng độ mong muốn của polyalkylen oxit-asparaginaza. Dung dịch đậm thích hợp hữu ích cho bước pha loãng bao gồm các dung dịch đậm được mô tả trên đây. Trong một số trường hợp, dung dịch đậm phosphat được sử dụng để pha loãng dung dịch polyalkylen oxit-asparaginaza, do đó tạo ra chế phẩm cô đặc chứa nước mong muốn. Ví dụ, phần cô đặc từ bước lọc thẩm tách có thể được pha loãng sao cho chế phẩm cô đặc chứa nước thu được bao gồm lượng polyalkylen oxit-asparaginaza có mức hiệu lực (hoạt tính)) nằm trong khoảng từ 100 đến 5.000 IU/mL, như từ 500 đến 4.500 IU/mL, hoặc từ 500 đến 4.000 IU/mL, hoặc từ 500 đến 3.500 IU/mL, hoặc từ 500 đến 3.000 IU/mL, hoặc từ 1.000 đến 3.000 IU/mL, hoặc từ 1.500 đến 3.000 IU/mL. Trong các trường hợp nhất định, chế phẩm cô đặc chứa nước chứa polyalkylen oxit-asparaginaza với lượng nằm trong khoảng từ 1.500 đến 3.000 IU/mL. Trong một số trường hợp, lượng polyalkylen oxit-asparaginaza trong chế phẩm cô đặc chứa nước lớn hơn lượng polyalkylen oxit-asparaginaza trong chế phẩm đông khô hoàn nguyên được mô tả ở đây.

Trong một số trường hợp, việc lọc thẩm tách tạo ra polyalkylen oxit-asparaginaza về cơ bản tinh khiết.

Chế phẩm cô đặc chứa nước sau đó có thể được lọc và được nạp vào đồ chứa vô trùng. Ví dụ về nguyên liệu đồ chứa thích hợp dùng cho đồ chứa bao gồm polyme, như, nhưng không chỉ giới hạn ở, polypropylen, polymethylpenten, polytetrafluetylen (PTFE), perfluete (PFE), etylen propylen đã được flo hóa (FEP), perflualkoxy alkan (PFA), polyetylen terephthalat (PET), polyetylen (PE), polyeteeteketone (PEEK), polystyren, và các nguyên liệu tương tự. Ví dụ, đồ chứa có thể là túi polyme vô trùng. Chế phẩm cô đặc chứa nước có thể được bảo quản trong đồ chứa trong một khoảng

thời gian, và có thể được xử lý thành chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô theo sáng chế.

Phương án của phương pháp có thể còn bao gồm việc vận chuyển chế phẩm cô đặc chứa nước đến vị trí ở xa. "Vị trí ở xa," là vị trí không phải là vị trí mà chế phẩm cô đặc chứa nước được tạo ra. Ví dụ, vị trí ở xa có thể là một vị trí khác (ví dụ, văn phòng, phòng thí nghiệm, v.v..) trong cùng thành phố, vị trí khác ở các thành phố khác nhau, vị trí khác ở trạng thái khác nhau, vị trí khác ở quốc gia khác nhau, v.v.. Như vậy, khi một mục được chỉ định là ở "xa" so với mục kia, điều đó có nghĩa là hai mục có thể ở cùng trong một phòng nhưng được tách biệt, hoặc ít nhất là trong các phòng khác nhau hoặc trong các tòa nhà khác nhau, và có thể cách xa ít nhất một dặm, mười dặm, hoặc một trăm dặm hoặc lớn hơn.

Theo một số phương án thực hiện, như được mô tả trên đây, phương pháp bao gồm việc đông khô chế phẩm cô đặc chứa nước theo cách đủ để tạo ra chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô. Trong một số trường hợp, sự đông khô có thể được thực hiện trong đồ chứa liều đơn vị. Sự đông khô chế phẩm cô đặc chứa nước để tạo ra sự ổn định trong điều kiện bảo quản chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza đông khô trong đồ chứa liều đơn vị có thể làm thuận lợi việc tạo ra chế phẩm đông khô trong đồ chứa liều đơn vị, ví dụ, nhờ loại bỏ được bước làm đông khô chế phẩm cô đặc chứa nước trong đồ chứa riêng biệt và sau đó chuyển chế phẩm đông khô từ đồ chứa riêng biệt vào đồ chứa liều đơn vị. Như vậy, theo một số phương án thực hiện, phương pháp này bao gồm việc đưa chế phẩm cô đặc chứa nước vào đồ chứa liều đơn vị và đông khô chế phẩm cô đặc chứa nước trong đồ chứa liều đơn vị. Như được mô tả trên đây, đồ chứa liều đơn vị có thể là lọ, như lọ thủy tinh.

Sau khi đông khô, phương pháp có thể còn bao gồm việc bít kín chế phẩm đông khô trong đồ chứa liều đơn vị. Ví dụ, phần bít kín hoặc nắp có thể được đưa vào chỗ mở đồ chứa liều đơn vị, từ đó bít kín đồ chứa liều đơn vị. Đồ chứa kín có thể được bảo quản trong khoảng thời gian dài, như 1 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 2 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 3 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 1 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 2 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 3 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 4 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 6 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 9 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 1 năm hoặc lớn hơn, hoặc 1,5 năm (ví dụ, 18 tháng) hoặc lớn hơn, hoặc 2 năm hoặc lớn hơn, hoặc 2,5 năm (ví dụ, 30 tháng) hoặc lớn hơn, hoặc 3

năm hoặc lớn hơn, hoặc 3,5 năm (ví dụ, 42 tháng) hoặc lớn hơn, hoặc 4 năm hoặc lớn hơn, hoặc 4,5 năm (ví dụ, 54 tháng) hoặc lớn hơn, hoặc 5 năm hoặc lớn hơn. Ví dụ, khoảng thời gian dài có thể là 6 tháng hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, đồ chứa kín có thể được bảo quản trong 9 tháng hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, đồ chứa kín có thể được bảo quản trong 1 năm (ví dụ, 12 tháng) hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, đồ chứa kín có thể được bảo quản trong 1,5 năm (ví dụ, 18 tháng) hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, đồ chứa kín có thể được bảo quản trong 2 năm (ví dụ, 24 tháng) hoặc lớn hơn.

### **Kit**

Sáng chế cũng đề xuất kit để dùng trong ứng dụng thực tế phương pháp theo sáng chế, trong đó kit có thể bao gồm một hoặc nhiều chế phẩm lỏng và/hoặc đông khô nêu trên. Ví dụ, kit có thể bao gồm đồ chứa liều đơn vị chứa chế phẩm lỏng như được mô tả ở đây. Hoặc, ví dụ, kit có thể bao gồm đồ chứa liều đơn vị chứa chế phẩm đông khô như được mô tả ở đây. Trong một số trường hợp, kit bao gồm hai hoặc nhiều đồ chứa liều đơn vị mà mỗi đồ chứa này chứa chế phẩm lỏng như được mô tả ở đây. Trong một số trường hợp, kit bao gồm hai hoặc nhiều đồ chứa liều đơn vị mà mỗi đồ chứa này chứa chế phẩm đông khô như được mô tả ở đây. Trong một số trường hợp, kit bao gồm hai hoặc nhiều đồ chứa liều đơn vị, trong đó một hoặc nhiều đồ chứa liều đơn vị chứa chế phẩm lỏng như được mô tả ở đây và một hoặc nhiều đồ chứa liều đơn vị chứa chế phẩm đông khô như được mô tả ở đây. Theo một số phương án thực hiện, kit bao gồm bao gói được thiết kế để chứa đồ chứa liều đơn vị.

Bao gói có thể là bao gói bít kín, như bao gói bít kín vô trùng. Bao gói vô trùng có thể được thiết kế để được bít kín với môi trường bên ngoài, sao cho về cơ bản không có vi trùng (như nấm, vi khuẩn, virus, bào tử, v.v..) bên trong bao gói. Trong một số trường hợp, bao gói được bít kín, như bao gói chống hơi nước, tùy ý trong điều kiện bít kín khí và/hoặc bít kín chân không.

Theo một số phương án thực hiện, kit bao gồm dung dịch đậm. Ví dụ, kit có thể bao gồm chất lỏng pha loãng, ví dụ, dung dịch đậm pha loãng, có thể thích hợp để dùng cho đối tượng, và các chất tương tự. Kit có thể còn bao gồm các thành phần khác, ví dụ, dụng cụ uống, nguồn chất lỏng, v.v., mà có thể đạt được mục đích trong ứng dụng thực tế phương pháp theo sáng chế. Các thành phần khác nhau trong kit có

thể được đóng gói nếu muốn, ví dụ, cùng với nhau hoặc riêng biệt. Các thành phần của kit theo sáng chế có thể có mặt trong đồ chứa riêng biệt, hoặc nhiều thành phần có thể có mặt trong một đồ chứa duy nhất, trong đó đồ chứa và/hoặc bao gói (hoặc một phần của nó) của kit có thể là vô trùng, nếu muốn.

Ngoài các thành phần nêu trên, kit theo sáng chế có thể còn bao gồm hướng dẫn sử dụng các thành phần của kit để ứng dụng thực tế phương pháp theo sáng chế. Hướng dẫn sử dụng để ứng dụng thực tế phương pháp theo sáng chế thường được ghi lại trên môi trường ghi thích hợp. Ví dụ, hướng dẫn sử dụng có thể được in, như trên giấy hoặc chất dẻo, v.v.. Như vậy, hướng dẫn sử dụng có thể có mặt trong kit dưới dạng tờ rơi gài trong bao gói, trong nhãn dán của đồ chứa của kit hoặc các thành phần của chúng (tức là, liên quan đến bao gói hoặc bao gói phụ) v.v.. Theo các phương án khác, hướng dẫn sử dụng có mặt dưới dạng tệp tài liệu bảo quản điện tử có trong phương tiện lưu trữ đọc được trên máy tính thích hợp, ví dụ, ổ đĩa flash cầm tay, CD-ROM, DVD-ROM, Blu-ray, v.v.. Theo các phương án thực hiện khác, hướng dẫn sử dụng thực tế không có mặt trong kit, nhưng đề xuất các hướng để thu được hướng dẫn sử dụng từ nguồn xa, ví dụ, qua Internet. Một ví dụ về phương án này là kit bao gồm địa chỉ web trong đó hướng dẫn sử dụng có thể được xem và/hoặc hướng dẫn sử dụng có thể được tải xuống từ đó. Đối với hướng dẫn sử dụng, phương án này để thu được hướng dẫn sử dụng được ghi lại trên nền thích hợp.

### **Sử dụng**

Chế phẩm theo sáng chế (ví dụ, chế phẩm lỏng hoặc ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô) và các phương pháp này đáp ứng được mục đích trong các ứng dụng trong đó mong muốn điều trị đối tượng mắc bệnh lý hoặc tình trạng bệnh lý chấp nhận việc điều trị bằng cách dùng polyalkylen oxit-asparaginaza. Ví dụ, chế phẩm theo sáng chế (ví dụ, chế phẩm lỏng hoặc ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô) và các phương pháp này đáp ứng được mục đích trong điều trị tình trạng bệnh lý ung thư ở đối tượng. Trong một số trường hợp, chế phẩm theo sáng chế (ví dụ, chế phẩm lỏng hoặc ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô) và các phương pháp này đáp ứng được mục đích trong điều trị ung thư ở đối tượng. Ví dụ về các dạng ung thư chấp nhận việc điều trị bằng cách sử dụng chế phẩm theo sáng chế (ví dụ, chế phẩm lỏng hoặc ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô) và phương pháp này bao gồm, nhưng

không chỉ giới hạn ở, bệnh bạch cầu, như bệnh bạch cầu cấp tính nguyên bào lymphô (ALL), bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (AML), và các bệnh tương tự. Do đó, chế phẩm theo sáng chế ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô và các phương pháp này đáp ứng được mục đích trong việc tạo ra việc điều trị có tác dụng hữu hiệu đối với tình trạng bệnh lý ung thư, như bệnh ung thư, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh bạch cầu, như bệnh bạch cầu cấp tính nguyên bào lymphô (ALL), bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (AML), và các bệnh tương tự.

Chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô và phương pháp theo sáng chế đáp ứng được mục đích điều trị đối tượng ở lứa tuổi bất kỳ. Trong một số trường hợp, chế phẩm theo sáng chế (ví dụ, chế phẩm lỏng hoặc ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô) và các phương pháp này đáp ứng được mục đích điều trị đối tượng trưởng thành. Ví dụ, đối tượng người trưởng thành có thể là 18 tuổi hoặc lớn hơn. Trong các trường hợp khác, chế phẩm (ví dụ, chế phẩm lỏng hoặc ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô) và các phương pháp này đáp ứng được mục đích điều trị đối tượng vị thành niên. Ví dụ, đối tượng người vị thành niên có thể là nhỏ hơn 18 tuổi.

Chế phẩm và phương pháp theo sáng chế đáp ứng được mục đích trong các ứng dụng mong muốn chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản. Ví dụ, chế phẩm và phương pháp theo sáng chế đáp ứng được mục đích tạo ra chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản ổn định (ví dụ, không thoái biến đáng kể và/hoặc giữ được về cơ bản tất cả các hoạt tính của nó) trong khoảng thời gian dài. Ví dụ, chế phẩm và phương pháp theo sáng chế đáp ứng được mục đích tạo ra chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản ổn định trong khoảng thời gian dài, như 1 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 2 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 3 tuần hoặc lớn hơn, hoặc 1 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 2 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 3 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 4 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 6 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 9 tháng hoặc lớn hơn, hoặc 1 năm hoặc lớn hơn, hoặc 1,5 năm (ví dụ, 18 tháng) hoặc lớn hơn, hoặc 2 năm hoặc lớn hơn, hoặc 2,5 năm (ví dụ, 30 tháng) hoặc lớn hơn, hoặc 3 năm hoặc lớn hơn, hoặc 3,5 năm (ví dụ, 42 tháng) hoặc lớn hơn, hoặc 4 năm hoặc lớn hơn, hoặc 4,5 năm (ví dụ, 54 tháng) hoặc lớn hơn, hoặc 5 năm hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, chế phẩm và phương pháp theo sáng chế đáp ứng được mục đích tạo ra chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản ổn định trong 9 tháng hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, chế phẩm và phương pháp theo sáng

chế đáp ứng được mục đích tạo ra chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản ổn định trong 1 năm (ví dụ, 12 tháng) hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, chế phẩm và phương pháp theo sáng chế đáp ứng được mục đích tạo ra chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản ổn định trong 1,5 năm (ví dụ, 18 tháng) hoặc lớn hơn. Trong một số trường hợp, chế phẩm và phương pháp theo sáng chế đáp ứng được mục đích tạo ra chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản ổn định trong 2 năm (ví dụ, 24 tháng) hoặc lớn hơn. Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm và phương pháp theo sáng chế đáp ứng được mục đích tạo ra chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản mà làm tăng thời hạn sử dụng của chế phẩm lên đến 1 tuần, hoặc 2 tuần, hoặc 3 tuần, hoặc 1 tháng, hoặc 2 tháng, hoặc 3 tháng, hoặc 4 tháng, hoặc 6 tháng, hoặc 9 tháng, hoặc 1 năm, hoặc 1,5 năm (ví dụ, 18 tháng), hoặc 2 năm, hoặc 2,5 năm (ví dụ, 30 tháng), hoặc 3 năm, hoặc 3,5 năm (ví dụ, 42 tháng), hoặc 4 năm hoặc lớn hơn, hoặc 4,5 năm (ví dụ, 54 tháng), hoặc 5 năm. Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm và phương pháp theo sáng chế đáp ứng được mục đích tạo ra chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản mà làm tăng thời hạn sử dụng của chế phẩm từ 1 tháng đến 5 năm, hoặc từ 6 tháng đến 4 năm, hoặc từ 9 tháng đến 3 năm, hoặc từ 1 năm đến 2 năm.

Theo một số phương án thực hiện, liều theo sáng chế có thể được dùng trước khi, đồng thời, hoặc tiếp theo một hoặc nhiều phương pháp điều trị tình trạng bệnh lý ung thư khác để điều trị các tình trạng bệnh lý liên quan hoặc không liên quan. Nếu được dùng đồng thời dưới dạng các phương pháp điều trị tình trạng bệnh lý ung thư khác, liều theo sáng chế có thể được đề xuất trong cùng một chế phẩm hoặc trong chế phẩm khác nhau. Ví dụ, việc trị liệu đồng thời có thể đạt được bằng cách cho sử dụng liều và được phẩm có ít nhất một hoạt chất khác, như tác nhân hóa trị liệu, mà khi kết hợp tạo ra liều hữu hiệu có tác dụng điều trị, theo phác đồ điều trị cụ thể. Việc dùng được phẩm hoặc việc điều trị riêng biệt có thể được thực hiện đồng thời hoặc ở các thời gian khác nhau (ví dụ, lần lượt, theo thứ tự, vào cùng một ngày, hoặc vào các ngày khác nhau), chừng nào mà thu được hiệu quả hữu hiệu có tác dụng điều trị của dạng kết hợp của các chất này ở đối tượng tham gia trị liệu. Do đó, phương pháp và chế phẩm theo sáng chế đáp ứng được mục đích điều trị đối tượng bằng cách sử dụng phương pháp trị liệu kết hợp bao gồm việc cho dùng polyalkylen oxit-asparaginaza theo sáng chế kết hợp với một hoặc nhiều hoạt chất bổ sung và/hoặc các phương pháp điều trị (ví dụ, chiếu xạ, hóa trị liệu, trị liệu miễn dịch, v.v..).

Từ phần mô tả trên đây có thể thấy rõ rằng, các phương án theo sáng chế có rất nhiều ứng dụng khác nhau. Do đó, các ví dụ được đưa ra ở đây nhằm mục đích minh họa và không được hiểu là giới hạn ở các phương án theo sáng chế theo cách bất kỳ. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ dễ dàng hiểu được nhiều thông số không quan trọng có thể được thay đổi hoặc được cải biến để tạo ra các kết quả tương tự về cơ bản. Do vậy, các ví dụ sau được đưa ra nhằm cung cấp cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này phần bộc lộ và mô tả hoàn chỉnh về phương thức tạo ra và sử dụng các phương án theo sáng chế, và không nhằm giới hạn phạm vi của những gì các tác giả sáng chế đề cập đến vì sáng chế này không dự định rằng các thử nghiệm đại diện dưới đây là tất cả hoặc chỉ là các thử nghiệm được thực hiện. Các nỗ lực đã được thực hiện nhằm đảm bảo độ chính xác về các con số được sử dụng (ví dụ, lượng, nhiệt độ, v.v..) nhưng một số sai số và độ lệch thử nghiệm cần được tính đến. Trừ khi có quy định khác, các phần là các phần khối lượng, khối lượng phân tử là khối lượng phân tử trung bình khối, nhiệt độ là độ C, và áp suất là ở áp suất khí quyển hoặc gần áp suất khí quyển.

Các ví dụ sau được đưa ra chỉ nhằm mục đích minh họa, và không được dự định giới hạn phạm vi của các phương án theo sáng chế theo cách bất kỳ. Các nỗ lực đã được thực hiện nhằm đảm bảo độ chính xác về các con số được sử dụng (ví dụ, lượng, nhiệt độ, v.v..), nhưng tất nhiên một số sai số và độ lệch thử nghiệm cần được cho phép.

## **Ví dụ thực hiện sáng chế**

### **Ví dụ 1**

Chế phẩm rời cô đặc chứa polyetylen glycol-asparaginaza có cầu liên kết SS-PEG được tạo ra theo quy trình sau. Sau khi tạo ra chế phẩm rời cô đặc, chế phẩm đông khô được tạo ra từ chế phẩm rời cô đặc theo quy trình được mô tả dưới đây. Fig. 1 thể hiện sơ đồ khối quy trình đối với phương pháp điều chế chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô theo các phương án theo sáng chế.

#### *Điều chế dung dịch L-Asparaginaza*

Lượng L-asparaginaza cần để xử lý được tính toán, được cân vào cốc bằng thép không gỉ dung tích 6 L, và được trộn trong 5 đến 10 phút. Lượng dung dịch đệm phosphat cần để pha loãng L-asparaginaza đến nồng độ đích 5 mg/mL được tính toán

và được cân. L-asparaginaza sau đó được bổ sung vào dung dịch đệm phosphat và được trộn trong bình cao áp bằng thép không gỉ dung tích 7 ga-lông trong 10 đến 15 phút. Mẫu được lấy ra và được đưa vào thử nghiệm protein và hoạt tính riêng.

#### *PEGyl hóa*

Lượng SS-PEG cần cho bước này được tính toán và được cân. Bình cao áp bằng thép không gỉ dung tích 7 ga-lông chứa dung dịch L-asparaginaza pha loãng được làm nóng đến 29 đến 31°C trong điều kiện lắc nhẹ. Khi dung dịch L-asparaginaza đạt đến khoảng nhiệt độ thích hợp, tốc độ của thiết bị khuấy được tăng lên, và bơm chuẩn độ được khởi động. Khi độ pH được điều chỉnh đến 7,7-7,9 bằng NaOH 0,5 N, SS-PEG được bổ sung vào bình cao áp bằng thép không gỉ dung tích 7 ga-lông. Sau 30 phút, bơm chuẩn độ được dừng lại và vỏ áo nhiệt độ được ngắt điện.

#### *Làm trong*

Nguyên liệu xử lý sau đó được lọc qua thiết bị lọc 0,45  $\mu\text{m}$  (Millipore, Billerica, Massachusetts) vào một bình cao áp bằng thép không gỉ dung tích 7 ga-lông khác bằng cách sử dụng bơm lọc thẩm tách nhu động. Sau khi làm trong, dung dịch đệm phosphat được bổ sung vào bình cao áp bằng thép không gỉ dung tích 7 ga-lông ban đầu và được bơm qua thiết bị lọc 0,45  $\mu\text{m}$  vào bình cao áp bằng thép không gỉ dung tích 7 ga-lông dưới dạng chất xả rửa.

#### *Lọc thẩm tách/Cô đặc*

Lượng PBS cần để lọc thẩm tách 15 lần được tính toán và hệ lọc thẩm tách được tạo ra. Bình cao áp bằng thép không gỉ dung tích 7 ga-lông được đặt trên thang đo. Hệ lọc thẩm tách Millipore Pellicon®-2 được thiết lập với màng có giới hạn khối lượng phân tử không đáng kể 100.000 Da, được điều hòa sơ bộ bằng cách sử dụng bơm nhu động lọc thẩm tách và 5 L PBS. Hệ kiểm soát mức, bao gồm dung dịch đệm bơm nhu động, sau đó được thiết lập và bình cao áp bằng thép không gỉ dung tích 7 ga-lông được đặt lên trên thang đo. Hệ Pellicon®-2 được nạp đầy polyetylen glycol-asparaginaza để điều hòa và tái tuần hoàn trong 5 phút.

Sau khi điều hòa, dòng chất thải thẩm qua được mở ra và lọc thẩm tách được khởi động. Sau 15 và 30 phút, mẫu thu được từ dòng chất thải thẩm qua vào lọ và đưa vào thử nghiệm hoạt tính và protein. Nguyên liệu được dự định để lọc đông khô tuần hoàn có pha loãng sau đó được cô đến 18,0 mg/mL hoặc lớn hơn và mức hiệu lực là 1,850 IU/mL hoặc lớn hơn. Khi lọc thẩm tách hoàn thành, thể tích của nguyên liệu

đang xử lý trong bình cao áp bằng thép không gỉ dung tích 7 ga-lông được điều chỉnh đạt đến nồng độ đích (18,0 mg/mL hoặc lớn hơn để xử lý chế phẩm đông khô) bằng cách loại bỏ lượng chất thẩm qua thích hợp. Sau đó, PBS được bơm qua hệ vào bình cao áp bằng thép không gỉ dung tích 7 ga-lông dưới dạng chất xả rửa.

Thử nghiệm kiểm soát chất lượng của sản phẩm sau lọc thẩm tách được thực hiện, bao gồm xác định profin tạp chất của sản phẩm. Hoạt tính enzym của enzym thẩm qua (EEA) được đo sau 15 phút và 30 phút để đảm bảo rằng sản phẩm được giữ lại bằng màng lọc thẩm tách. PEG và N-Hydroxysuccinimit (NHS) là các thành phần của quy trình liên quan đến profin tạp chất được đo trong thành phẩm. Các đối chứng đang xử lý về hình thức đối với việc vận hành thiết bị lọc thẩm tách được thể hiện trong Bảng 1 dưới đây.

Dữ liệu về NHS và PEG tự do thu được từ ba chế phẩm chứa dược chất (ví dụ, chế phẩm chứa dược chất rời cô đặc) được dự định để làm đông khô được thể hiện trong Bảng 2 dưới đây. Dữ liệu thu được đã chứng minh được rằng các thay đổi nhỏ đối với quy trình lọc thẩm tách/cô đặc không làm ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm.

**Bảng 1: Thông số kỹ thuật của chế phẩm chứa dược chất rời được dự định để làm đông khô**

| Thử nghiệm                                            | Tiêu chuẩn chấp nhận đối với chế phẩm chứa dược chất để làm đông khô |
|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| N-Hydroxysuccinimit (NHS)                             | $\leq 6,0$ ppm                                                       |
| Cải biến bởi axit 2,4,6-trinitrobenzensulfonic (TNBS) | 69-82 mol PEG/mol protein                                            |
| Nội độc tố                                            | $\leq 35$ EU/mL                                                      |
| Vì sinh vật tạp nhiễm                                 | $\leq 2$ CFU/20 mL                                                   |
| Độ vô trùng (được thực hiện sau khi lọc vô trùng)     | Phù hợp                                                              |

**Bảng 2: Phân tích theo mẻ chế phẩm chứa dược chất rời được cô đặc**

| Thử nghiệm                                            | Tiêu chuẩn chấp nhận                        | Lô 1                  | Lô 2                  | Lô 3          |
|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|---------------|
| Nồng độ protein                                       | 19,0 đến 21,0 mg/mL                         | 20,94                 | 19,65*                | 18,37         |
| Hiệu lực (hoạt tính)                                  | $\geq 1850$ IU/mL                           | 2305                  | 2360*                 | 2091          |
| Vẻ bề ngoài                                           | Dung dịch không màu                         | Phù hợp               | Phù hợp               | Phù hợp       |
| Độ trong                                              | Trong, không nhìn thấy được các hạt         | Phù hợp               | Phù hợp               | Phù hợp       |
| Độ pH                                                 | 7,2 đến 7,4                                 | 7,2                   | 7,2                   | 7,2           |
| Hoạt tính riêng                                       | $\geq 85$ IU/mg protein                     | 110                   | 116                   | 114           |
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC                    | $\geq 95\%$ hoạt chất;<br>$\leq 8\%$ kết tụ | 98,30<br>5,07         | 98,26<br>5,23         | 97,80<br>0,70 |
| Tổng PEG tự do đo được bằng RP-HPLC                   | $\leq 6,0$ mg/mL                            | < 0,07                | < 0,07                | 0,74          |
| 10K PEG tự do đo được bằng RP-HPLC                    | $\leq 0,6$ mg/mL                            | < 0,07                | < 0,07                | < 0,07        |
| N-Hydroxysuccinimide (NHS)                            | $\leq 6,0$ ppm                              | Không được thử nghiệm | 1,87                  | 0,65          |
| Cải biến bởi axit 2,4,6-Trinitrobenzensulfonic (TNBS) | 69-82 mol PEG/mol protein                   | Không được thử nghiệm | 76                    | 73            |
| Nội độc tố                                            | $\leq 35$ EU/mL                             | <5                    | <5                    | <5            |
| Vi sinh vật tạp nhiễm                                 | $\leq 2$ CFU/20mL                           | 0                     | 0                     | 0             |
| Độ vô trùng (được thực hiện sau khi lọc vô trùng)     | Vượt qua USP                                | Không được thử nghiệm | Không được thử nghiệm | Phù hợp       |

\* các giá trị được lấy từ mẫu thử nghiệm sau khi lọc thẩm tách/pha loãng sơ bộ

#### Pha loãng

Nguyên liệu đang xử lý được trộn trong bình cao áp bằng thép không gỉ dung tích 7 ga-lông trước khi mẫu được đưa vào thử nghiệm hoạt tính và protein. Thử nghiệm

của nguyên liệu đang xử lý sau đó được pha loãng bằng PBS để đưa nồng độ protein đến thể tích đích là  $\geq 18,0$  mg/mL (đích 20,0 mg/mL), ( $\geq 1850$  IU/mL hoạt tính) đối với dược chất được dự định cho chế phẩm đông khô. Nguyên liệu đang xử lý đã được pha loãng sau đó được trộn trước khi mẫu được loại ra cho thử nghiệm kiểm tra đảm bảo chất lượng (xem Bảng 1).

#### *Lọc vô trùng*

Dung dịch cô đặc để đông khô được lọc ở 0,2  $\mu$ m vào túi vô trùng dùng một lần dung tích 20 L để bảo quản cho đến khi thực hiện đông khô. Mẫu được thu gom và đưa vào thử nghiệm độ vô trùng. Chế phẩm chứa dược chất rời bao gồm polyetylen glycol-asparaginaza để đông khô có thể được giữ trong túi dung tích 20 L ở 2-8°C trong thời gian lên đến 2 tháng trước khi đông khô.

#### *Đóng kín đồ chứa*

Chế phẩm chứa dược chất rời bao gồm polyetylen glycol-asparaginaza để đông khô được xử lý thành chế phẩm đông khô sau bước lọc 0,2  $\mu$ m và phân phối vào túi xử lý sinh học dung tích 20 L đã khử trùng sơ bộ dùng một lần. Nguyên liệu cấu thành túi gồm các lớp polyetylen có tỷ trọng thấp (LDPE), polyetylen có tỷ trọng thấp mạch thẳng (LLDPE), nylon, và rượu etylen vinylic (EVOH). Bề mặt tiếp xúc sản phẩm trực tiếp (lớp bên trong) là LDPE. Mỗi túi có hai chỗ mở có ống được gắn vào được cố định với túi và được đóng kín lại bằng kẹp cho đến khi tiếp nhận chế phẩm chứa dược chất rời bao gồm polyetylen glycol-asparaginaza để đông khô. Túi được chiếu xạ và được giải phóng trên cơ sở mức chiếu 25-40 kGy, và trải qua thử nghiệm nội độc tố bằng dịch phân giải của tế bào máu từ cua móng ngựa Đại Tây Dương, *Limulus polyphemus* (*Limulus Amebocyte Lysate* - LAL), thử nghiệm độ bất kín nhìn thấy được 100% và sự rò rỉ không khí, cũng như sự đánh giá bằng mắt 100% sau khi lắp vào. Các kết quả về thử nghiệm định lượng đã cho thấy rằng lớp bên trong của túi đạt các thử nghiệm phản ứng sinh học, bao gồm thử nghiệm chất dẻo Nhóm IV USP <88>, thử nghiệm độc tố tế bào USP <87>, và thử nghiệm các thuộc tính hóa lý USP <661>. Ngoài ra, túi tuân thủ theo tiêu chuẩn USP <788> đối với chất dạng hạt trong chế phẩm tiêm và tất cả các thử nghiệm chiết phù hợp với yêu cầu của nhà sản xuất.

#### *Thời gian giữ độ ổn định của dược chất*

Nguyên liệu dược chất rời đã cô đặc được theo dõi vào các tuần 0, 2, 4, 6, 8, và 12 ở nhiệt độ 2-8°C. Các mẫu ổn định được duy trì trong túi mẫu dung tích 250mL với

bề mặt tiếp xúc sản phẩm bằng polyetylen. Dữ liệu từ sơ đồ thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 3 đối với Lô 1, Bảng 4 đối với Lô 2, và Bảng 5 đối với Lô 3.

Dữ liệu độ ổn định đối với dược chất rời đã cô đặc được dự định để chế phẩm đông khô đáp ứng được tiêu chuẩn chấp nhận được qua sơ đồ thử nghiệm 12 tuần và đã cho thấy rằng thời gian bảo quản 2 tháng giữa quá trình bào chế dược chất rời cô đặc và quá trình tạo ra chế phẩm đông khô là chấp nhận được.

**Bảng 3: Dữ liệu độ ổn định đối với Lô 1 được bảo quản ở 2-8°C**

| Thử nghiệm                         | Tiêu chuẩn chấp nhận                              | Thời gian (Tuần) |                |                |                |                |                |
|------------------------------------|---------------------------------------------------|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                                    |                                                   | Bắt đầu          | 2              | 4              | 6              | 8              | 12             |
| Nồng độ protein                    | $\geq 18,0$<br>mg/mL                              | 20,94            | 21,31          | 21,31          | 21,18          | 21,15          | 21,34          |
| Hiệu lực (hoạt tính)               | $\geq 1850$<br>IU/mL                              | 2305             | 2413           | 2448           | 2432           | 2498           | 2538           |
| Vẻ bề ngoài                        | Dung dịch không màu                               | Phù hợp          | Phù hợp        | Phù hợp        | Phù hợp        | Phù hợp        | Phù hợp        |
| Độ trong                           | Hạt trong, không nhìn thấy được                   | Phù hợp          | Phù hợp        | Phù hợp        | Phù hợp        | Phù hợp        | Phù hợp        |
| Độ pH                              | 7,2 đến 7,4                                       | 7,2              | 7,2            | 7,2            | 7,2            | 7,2            | 7,3            |
| Hoạt tính riêng                    | $\geq 85$ IU/mg protein                           | 110              | 113            | 115            | 115            | 118            | 119            |
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC | $\geq 95\%$<br>Hoạt chất;<br>$\leq 8\%$<br>Kết tụ | 98,30,<br>5,07   | 97,83,<br>4,48 | 98,99,<br>4,38 | 99,24,<br>4,39 | 98,14,<br>4,43 | 97,34,<br>3,36 |
| 10K PEG tự do đo được bằng RP-HPLC | $\leq 0,6$<br>mg/mL                               | < 0,07           | < 0,07         | < 0,07         | 0,24           | 0,24           | 0,33           |
| Tổng PEG tự do đo                  | $\leq 6,0$                                        | 0,07             | 3,03           | 2,41           | 3,07           | 3,11           | 4,19           |

|                           |                                    |                       |      |      |      |      |      |
|---------------------------|------------------------------------|-----------------------|------|------|------|------|------|
| được bằng RP-HPLC         | mg/mL                              |                       |      |      |      |      |      |
| N-hydroxysuccinimit (NHS) | $\leq 6,0$<br>mg/mL                | Không được thử nghiệm | 2,23 | 2,31 | 2,31 | 2,32 | 2,34 |
| Cải biến bởi TNBS         | 69-82<br>mol<br>PEG/mol<br>protein | Không được thử nghiệm | 76   | 75   | 76   | 74   | 73   |

**Bảng 4: Dữ liệu độ ổn định đối với Lô 2 được bảo quản ở 2-8°C**

| Thử nghiệm                         | Tiêu chuẩn chấp nhận                           | Thời gian (Tuần) |                |                |                |                |                |
|------------------------------------|------------------------------------------------|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                                    |                                                | Bắt đầu          | 2              | 4              | 6              | 8              | 12             |
| Nồng độ protein                    | $\geq 18,0$<br>mg/mL                           | 19,65*           | 20,28          | 20,11          | 19,82          | 20,25          | 20,09          |
| Hiệu lực (hoạt tính)               | $\geq 1850$<br>IU/mL                           | 2279*            | 2248           | 2263           | 2344           | 2360           | 2426           |
| Vẻ bề ngoài                        | Dung dịch không màu                            | Phù hợp          | Phù hợp        | Phù hợp        | Phù hợp        | Phù hợp        | Phù hợp        |
| Độ trong                           | Hạt trong, không nhìn thấy được                | Phù hợp          | Phù hợp        | Phù hợp        | Phù hợp        | Phù hợp        | Phù hợp        |
| Độ pH                              | 7,2 đến 7,4                                    | 7,2              | 7,2            | 7,2            | 7,3            | 7,2            | 7,2            |
| Hoạt tính riêng                    | $\geq 85$ IU/mg protein                        | 116              | 111            | 113            | 118            | 117            | 128            |
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC | $\geq 95\%$<br>Hoạt chất;<br>$\leq 8\%$ kết tụ | 98,26,<br>5,23   | 98,17,<br>5,19 | 98,16,<br>4,71 | 98,27,<br>4,79 | 97,19,<br>4,21 | 98,24,<br>4,30 |

|                                     |                                    |        |      |      |      |      |      |
|-------------------------------------|------------------------------------|--------|------|------|------|------|------|
| 10K PEG tự do đo được bằng RP-HPLC  | $\leq 0,6$<br>mg/mL                | < 0,07 | 0,27 | 0,33 | 0,37 | 0,44 | 0,47 |
| Tổng PEG tự do đo được bằng RP-HPLC | $\leq 6,0$<br>mg/mL                | < 0,07 | 1,25 | 2,05 | 2,75 | 4,15 | 4,50 |
| N-Hydroxysuccinimit (NHS)           | $\leq 6,0$<br>mg/mL                | 1,87   | 2,55 | 2,76 | 2,79 | 2,82 | 2,83 |
| Cải biến bởi TNBS                   | 69-82<br>mol<br>PEG/mol<br>protein | 76     | 74   | 78   | 75   | 75   | 76   |

\* các giá trị được lấy từ mẫu sau khi lọc thẩm tách/pha loãng sơ bộ

**Bảng 5: Dữ liệu độ ổn định đối với Lô 3 được bảo quản ở 2-8°C**

| Thử nghiệm           | Tiêu chuẩn chấp nhận            | Thời gian (Tuần) |         |         |         |         |         |
|----------------------|---------------------------------|------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
|                      |                                 | Ban đầu          | 2       | 4       | 6       | 8       | 12      |
| Nồng độ protein      | $\geq 18,0$<br>Mg/mL            | 18,39            | 17,79   | 18,22   | 18,20   | 18,56   | 18,49   |
| Hiệu lực (hoạt tính) | $\geq 1850$<br>IU/mL            | 2091             | 2212    | 2256    | 2202    | 2199    | 2290    |
| Về bề ngoài          | Dung dịch không màu             | Phù hợp          | Phù hợp | Phù hợp | Phù hợp | Phù hợp | Phù hợp |
| Độ trong             | Hạt trong, không nhìn thấy được | Phù hợp          | Phù hợp | Phù hợp | Phù hợp | Phù hợp | Phù hợp |
| Độ pH                | 7,2 đến 7,4                     | 7,2              | 7,3     | 7,2     | 7,3     | 7,3     | 7,3     |
| Hoạt tính riêng      | $\geq 85$ IU/mg<br>protein      | 114              | 124     | 124     | 121     | 118     | 124     |

|                                     |                                                   |               |                                |             |             |                |             |
|-------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------|--------------------------------|-------------|-------------|----------------|-------------|
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC  | $\geq 95\%$<br>Hoạt chất;<br>$\leq 8\%$<br>kết tụ | 97,80,<br>0,7 | 98,00,<br>0,65                 | 97,61,<br>0 | 97,76,<br>0 | 97,24,<br>0,55 | 97,94,<br>0 |
| 10K PEG tự do đo được bằng RP-HPLC  | $\leq 0,6$<br>mg/mL                               | < 0,07        | < 0,07                         | < 0,07      | < 0,07      | 0,07           | < 0,07      |
| Tổng PEG tự do đo được bằng RP-HPLC | $\leq 6,0$<br>mg/mL                               | < 0,07        | 2,23                           | 2,00        | 3,00        | 3,98           | 5,00        |
| N-Hydroxysuccinimit (NHS)           | $\leq 6,0$<br>mg/mL                               | 0,65          | 0,70                           | 0,70        | 0,70        | 0,68           | 0,64        |
| Cải biến bởi TNBS                   | 69-82<br>mol<br>PEG/mol<br>protein                | 73            | Không<br>được<br>thử<br>nghiệm | 70          | 70          | 74             | 76          |

#### *Chế phẩm đông khô*

Bột chế phẩm đông khô dùng để tiêm được tạo ra trong lọ sử dụng một lần duy nhất chứa 3,750 IU L-asparaginaza hoạt tính được PEGyl hóa (750 IU/mL sau khi hoàn nguyên bằng 5,2mL WFI). Các thành phần của chế phẩm đông khô chứa 4,5% sucroza, natri phosphat đibazơ, natri phosphat monobazơ, và natri clorua sau khi hoàn nguyên. Thành phần của chế phẩm đông khô được nêu trong Bảng 6. Ngoài ra, chế phẩm đông khô được đề xuất chứa trong đồ chứa là các lọ thủy tinh nhỏ đã xử lý (Nipro Loại 1) có phần bít kín bịt lên bằng nhôm 20 mm.

**Bảng 6: Thành phần của chế phẩm polyetylen glycol-asparaginaza**

| Thành phần                     | Tiêu chuẩn | Lượng trong mỗi g* |
|--------------------------------|------------|--------------------|
| Polyetylen glycol-asparaginaza | không có   | 750 IU             |

|                         |                        |                          |
|-------------------------|------------------------|--------------------------|
| Natri phosphat đibazơ   | USP                    | 2,79 mg                  |
| Natri phosphat monobazơ | USP                    | 0,60 mg                  |
| Natri clorua            | USP                    | 4,25 mg                  |
| Sucroza                 | Dược thư quốc gia (NF) | 45 mg                    |
| Nước dùng để tiêm (WFI) | USP                    | Bổ sung vừa đủ đến 1,0 g |

\* các giá trị là thời điểm sau khi được hoàn nguyên bằng WFI

*Phát triển chế phẩm chứa polyetylen glycol-asparaginaza đông khô*

Mục đích phát triển chế phẩm polyetylen glycol-asparaginaza đông khô là giữ được chế phẩm đông khô ổn định thích hợp trong điều kiện bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C hoặc 25°C trong ít nhất 18 tháng.

Các thử nghiệm ban đầu để đánh giá tính khả thi của chế phẩm đông khô chứa polyetylen glycol-asparaginaza được thực hiện. 5 mức thay đổi của chế phẩm đông khô được nghiên cứu. Mỗi chế phẩm chứa 5 mg/mL polyetylen glycol-asparaginaza trong 50 mM dung dịch đệm phosphat, độ pH 6,5 và 5% khối lượng/thể tích của một trong số năm chất bảo vệ cryo khác nhau (manitol, maltoza, sucroza, trehaloza, và/hoặc  $\beta$ -HPCD). Ngoài ra, polyetylen glycol-asparaginaza không có chất bảo vệ cryo cũng được làm đông khô. Sáu chế phẩm đông khô này được so sánh với nhiều polyetylen glycol-asparaginaza trong chế phẩm lỏng (Oncaspar®) được sử dụng để điều chế các chế phẩm khác nhau này. Phương pháp tinh chế SEC (GF-HPLC) được sử dụng để đánh giá chất lượng của chế phẩm polyetylen glycol-asparaginaza. Các kết quả của nghiên cứu này được thể hiện trong Bảng 7. Như quan sát được từ Bảng 7, đã thấy rằng sucroza hữu hiệu nhất ở độ tinh khiết bảo quản của polyetylen glycol-asparaginaza trong quá trình đông khô. Độ tinh khiết (83,0%) của chế phẩm đông khô với 5% sucroza có thể so sánh được với độ tinh khiết (83,8%) của chế phẩm polyetylen glycol-asparaginaza dạng lỏng được sử dụng để điều chế sáu chế phẩm đông khô sau đó.

**Bảng 7: Kết quả về nghiên cứu tính khả thi đối với polyetylen glycol-asparaginaza đông khô**

| Chế phẩm <sup>1</sup>              | % Độ tinh khiết (SEC-HPLC; nhiệt độ trong phòng-phút) |      |      |                   |      |
|------------------------------------|-------------------------------------------------------|------|------|-------------------|------|
|                                    | 10,0                                                  | 10,2 | 10,5 | 11,2 <sup>2</sup> | 12,0 |
| Oncaspar (Chế phẩm lỏng đối chứng) | -                                                     | -    | 3,0  | 83,8              | 13,2 |
| 5% Manitol                         | -                                                     | 0,9  | 1,4  | 74,7              | 23,1 |
| 5% Maltoza                         | -                                                     | 0,9  | 2,3  | 78,8              | 17,9 |
| 5% Sucroza                         | -                                                     | -    | 3,1  | 83,0              | 14,0 |
| 5% Trehaloza                       | -                                                     | -    | 3,2  | 79,5              | 17,3 |
| 5% $\beta$ -HPCD                   | -                                                     | -    | 2,9  | 78,9              | 18,3 |
| đông khô, không chất bảo quản      | 0,4                                                   | 0,8  | 9,4  | 65,7              | 23,7 |

<sup>1</sup> Tất cả các chế phẩm đều chứa ~5mL Oncaspar trong 5 mM dung dịch đệm phosphat, độ pH 6,5

<sup>2</sup> thời gian lưu mong muốn của Oncaspar

Một vài tá dược khác nhau (ví dụ, sucroza, trehaloza, manitol, polysorbat 80) được đánh giá là chất làm ổn định tiềm năng để chứa trong chế phẩm đông khô. Bốn thử nghiệm, mỗi thử nghiệm bao gồm bốn chế phẩm khác nhau, được thực hiện. Mẻ polyetylen glycol-asparaginaza đông khô dùng cho mức thử nghiệm nhỏ được điều chế bằng các tá dược khác nhau và được đánh giá về độ ổn định. Nhóm chế phẩm được thử nghiệm được thể hiện trên Bảng 8.

**Bảng 8: Chế phẩm polyetylen glycol-asparaginaza được thử nghiệm**

| Lô | Chế phẩm                                                                                            |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1A | 5% Sucroza, 12,5mg/mL PEG-asparaginaza, dung dịch đệm phosphat                                      |
| 1B | 2,5% Sucroza, 2,5% Manitol, 12,5mg/mL PEG-asparaginaza, dung dịch đệm phosphat                      |
| 1C | 2,5% Sucroza, 2,5% Manitol, 0,01% Polysorbat-80, 12,5mg/mL PEG-asparaginaza, dung dịch đệm phosphat |
| 1D | 5% Sucroza, 0,01% Polysorbat-80, 12,5 mg/mL PEG-asparaginaza, dung                                  |

|    | dịch đệm phosphat                                                                                     |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2A | 5% Trehaloza, 12,5mg/mL PEG-asparaginaza, dung dịch đệm phosphat                                      |
| 2B | 2,5% Trehaloza, 2,5% Manitol, 12,5mg/mL PEG-asparaginaza, dung dịch đệm phosphat                      |
| 2C | 2,5% Trehaloza, 2,5% Manitol, 0,01% Polysorbat-80, 12,5mg/mL PEG-asparaginaza, dung dịch đệm phosphat |
| 2D | 5% Trehaloza, 0,01% Polysorbat-80, 12,5 mg/mL -asparaginaza, dung dịch đệm phosphat                   |
| 3A | 5% Sucroza, 6,5mg/mL PEG-asparaginaza, dung dịch đệm phosphat                                         |
| 3B | 2,5% Sucroza, 2,5% Manitol, 6,5mg/mL L-Asparaginaza, dung dịch đệm phosphat                           |
| 3C | 2,5% Sucroza, 2,5% Manitol, 0,01% Polysorbat-80, 6,5mg/mL L-Asparaginaza, dung dịch đệm phosphat      |
| 3D | 5% Sucroza, 0,01% Polysorbat-80, 6,5 mg/mL L-Asparaginaza, dung dịch đệm phosphat                     |
| 4A | 5% Trehaloza, 6,5mg/mL L-asparaginaza, dung dịch đệm phosphat                                         |
| 4B | 2,5% Trehaloza, 2,5% Manitol, 6,5mg/mL L-Asparaginaza, dung dịch đệm phosphat                         |
| 4C | 2,5% Trehaloza, 2,5% Manitol, 0,01% Polysorbat-80, 6,5mg/mL L-Asparaginaza, dung dịch đệm phosphat    |
| 4D | 5% Trehaloza, 0,01% Polysorbat-80, 6,5 mg/mL L-Asparaginaza, dung dịch đệm phosphat                   |

Tất cả các lô thử nghiệm được nêu trong Bảng 8 được đánh giá trong các thử nghiệm độ về ổn định ở 5°C, 25°C và 40°C, và được đánh giá với nhóm các thử nghiệm (hoạt tính, hoạt tính riêng, protein, pH, độ tinh khiết (GF-HPLC), mức kết tụ (GF-HPLC), và hạt), đánh giá các thuộc tính chất lượng chính của polyetylen glycol-asparaginaza khi giải phóng và khi ổn định. Trên cơ sở các phân tích này về dữ liệu độ ổn định được thu gom từ 16 chế phẩm khác nhau được thể hiện trong Bảng 8, sucroza được xác định là chất bảo vệ cryo thích hợp (ví dụ, chất làm ổn định).

Các nồng độ sucroza khác nhau được thử nghiệm để đánh giá nồng độ thích

hợp đối với sản phẩm tốt hơn (tức là quy trình đông khô bị ít tác động hơn) và ổn định hơn. Mẻ thử nghiệm nhỏ khác nữa được tạo ra chứa sucroza với các nồng độ khác nhau, như được tóm tắt trong bảng 9. Các nồng độ sucroza và PEG-asparaginaza được thể hiện trong Bảng 9 cho thấy lượng có mặt trong được chất rời đã cô đặc. Trong quy trình đông khô, các lọ được nạp 2,5mL trước khi bắt đầu đông khô. Các lọ đã được đông khô được hoàn nguyên bằng 5,0mL, thu được sucroza và PEG-asparaginaza cuối với nồng độ gần bằng xấp xỉ một nửa các nồng độ này được thể hiện trong bảng. Nghiên cứu này đã chứng minh được rằng sự tăng lượng đường cho phép nhiệt độ đông khô cao hơn, giúp làm giảm ứng suất đối với sản phẩm đông khô, và cũng làm giảm toàn bộ thời gian của chu trình đông khô và dẫn đến thu được sản phẩm đông khô khô hơn (ổn định hơn).

**Bảng 9: Chế phẩm sucroza thử nghiệm**

| Lô | Dung dịch đệm<br>phosphat<br>(M) | NaCl(%) | Sucroza<br>(mg/mL) <sup>1</sup> | PEG-<br>Asparaginaza<br>(mg/mL) <sup>1</sup> |
|----|----------------------------------|---------|---------------------------------|----------------------------------------------|
| 5A | 0,1                              | 0,85    | 10 (1%)                         | 12,5                                         |
| 5B | 0,1                              | 0,85    | 25 (2,5%)                       | 12,5                                         |
| 5C | 0,1                              | 0,85    | 50 (5%)                         | 12,5                                         |
| 5D | 0,1                              | 0,85    | 75 (7,5%)                       | 12,5                                         |
| 5E | 0,1                              | 0,85    | 100 (10%)                       | 12,5                                         |

<sup>1</sup> Nồng độ trong quá trình đông khô là 2,5mL/lọ. Nồng độ giảm một nửa sau khi hoàn nguyên thành phẩm bằng WFI 5mL/lọ.

Năm lô được thể hiện trong Bảng 9 cũng được đánh giá trong thử nghiệm độ ổn định ở nhiệt độ 5°C, 25°C và 40°C. Các thuộc tính chất lượng như hoạt tính, hoạt tính riêng, protein, độ pH, độ tinh khiết (GF-HPLC), sự kết tụ (GF-HPLC), và hạt được đánh giá trong quá trình nghiên cứu độ ổn định này. Độ tinh khiết và mức hiệu lực tạo ra từ nghiên cứu về độ ổn định tăng tốc (25°C) và ứng suất (40°C) cho các lô này được thể hiện trên các hình vẽ Fig. 2-5. Các dữ liệu độ ổn định này đã cho thấy rằng chế phẩm chứa 10% sucroza (5% sucroza sau khi hoàn nguyên thành phẩm bằng WFI

5mL/lọ) tạo ra sản phẩm có độ ổn định tốt nhất về độ tinh khiết và mức hiệu lực. Các thuộc tính chất lượng khác ít bị ảnh hưởng bởi chế phẩm khác nhau, và cũng ổn định trong lô có 10% sucroza. Fig. 2 thể hiện đồ thị về độ tinh khiết (%) so với thời gian (tuần) ở 40°C đối với chế phẩm PEG-asparaginaza đông khô của các lô 5A, 5B, 5C, 5D, 5E và 1A. Fig. 3 thể hiện đồ thị về mức hiệu lực (IU/mL) so với thời gian (tuần) ở 40°C đối với chế phẩm PEG-asparaginaza đông khô của các lô 5C, 5D, 5E và 1A. Fig. 4 thể hiện đồ thị về độ tinh khiết (%) so với thời gian (tuần) ở 25°C đối với chế phẩm PEG-asparaginaza đông khô của các lô 5A, 5B, 5C, 5D, 5E và 1A. Fig. 5 thể hiện đồ thị về mức hiệu lực (IU/mL) so với thời gian (tuần) ở 25°C đối với chế phẩm PEG-asparaginaza đông khô của các lô 5C, 5D, 5E và 1A.

#### *Sự đông khô*

Dung dịch đệm được điều chế chứa nước dùng để tiêm (WFI), natri phosphat đibazơ, natri phosphat monobazơ, natri clorua, và sucroza. Dung dịch đệm được sử dụng để pha loãng được chất rời đã cô đặc.

WFI được bổ sung vào cốc ở 90% khối lượng đích cần để tạo ra dung dịch đệm. Natri phosphat monobazơ, natri phosphat đibazơ, và natri clorua sau đó được cân riêng biệt và được bổ sung vào WFI và được trộn cho đến khi được hòa tan. Lượng sucroza theo yêu cầu được cân và được bổ sung vào dung dịch đệm phối trộn và được trộn cho đến khi hòa tan. Độ pH của dung dịch sau đó được đo và được điều chỉnh đến  $7,3 \pm 0,1$  kết hợp bổ sung chậm NaOH. WFI được bổ sung vào dung dịch đệm khi cần, và tỷ trọng của dung dịch rời cô đặc được sử dụng để cân thể tích theo yêu cầu của dung dịch rời cô đặc cần cho kích cỡ mẻ. Mẫu dung dịch đệm được thu gom cho thử nghiệm sucroza. Dung dịch rời cô đặc được bổ sung vào dung dịch đệm và dung dịch cuối được trộn để không nhỏ hơn (NLT) 10 phút. Khi hoàn thành phối trộn, các giá trị đo độ pH đã xác nhận ( $7,3 \pm 0,1$ ) thu được từ phần bên trên, phần giữa, và phần đáy của bình, và mẫu được thu gom để thử nghiệm giới hạn vi khuẩn đang xử lý protein, tỷ trọng, sucroza, và lọc sơ bộ.

Sau khi dung dịch chế phẩm cuối được lọc vô trùng. Bộ ống lọc đã được khử trùng trước đó được đặt trong bình rời đã điều chế và phần rời sau đó được lọc qua hai bộ lọc 0,22  $\mu\text{m}$  được đặt trên bộ ống lọc vào túi xử lý sinh học dung tích đã được khử trùng sơ bộ để chuẩn bị nạp liệu. Khi toàn bộ sản phẩm được chuyển vào túi xử lý sinh học dung tích 10 L, bộ ống lọc được ngắt điện khỏi túi xử lý sinh học và các bộ lọc

được thử nghiệm về tính nguyên vẹn. Một mẫu đông khô sơ bộ dung tích 20mL được thu gom từ thiết bị lọc ngược dòng (không được lọc) và được thử nghiệm cho mỗi thông số của sản phẩm thuốc thành phẩm.

Sơ đồ khối minh họa chế phẩm cuối và bước xử lý lọc vô trùng được thể hiện trên Fig. 6.

#### *Nạp liệu vô trùng và đông khô*

Sau khi hoàn thành lọc vô trùng, túi sinh học dung tích 10 L chứa dung dịch rời API được nối với bộ ống nạp liệu và các lọ sản phẩm sau đó được nạp ở khối lượng nạp đích là 2,5 g/lọ và được đẩy nắp một phần bằng cách sử dụng chất độn Flexicon FMB210. Khối lượng nạp liệu được kiểm tra bằng cách thực hiện tối thiểu một lần kiểm tra khối lượng (1 lọ) cho mỗi khay được nạp (giới hạn tác động: 2,43-2,57 g, giới hạn báo động: 2,38-2,62 g) trong quá trình vận hành nạp liệu. Khi vận hành nạp liệu hoàn thành, 20 lọ đông khô sơ bộ được thử nghiệm và tất cả các lọ đã nạp liệu còn lại được chuyển vào khay đông khô bằng thép không gỉ và sau đó được đưa vào hệ đông khô làm lạnh sơ bộ (5°C) 270 ft<sup>2</sup> Hull để làm đông khô. Quy trình đông khô bao gồm các pha được thể hiện trong Bảng 10.

**Bảng 10: Chu trình đông khô - thông số quy trình**

| Pha xử lý nhiệt                |               |                           |                       |                      |
|--------------------------------|---------------|---------------------------|-----------------------|----------------------|
| Bước                           | Nhiệt độ (°C) | Thời gian gia tăng (phút) | Thời gian ngâm (phút) |                      |
| 1                              | 5             | 0                         | 30                    |                      |
| 2                              | -45           | 100                       | 120                   |                      |
| Pha ngưng đông lạnh và bay hơi |               |                           |                       |                      |
| S.P. ngưng                     |               | -45°C                     |                       |                      |
| S.P. bay hơi                   |               | 60 mT                     |                       |                      |
| Pha làm khô sơ cấp             |               |                           |                       |                      |
| Bước                           | Nhiệt độ (°C) | Thời gian gia tăng (phút) | Thời gian ngâm (phút) | Vac. Cont. S.P. (mT) |
| 1                              | -45           | 0                         | 30                    | 50                   |
| 2                              | -28           | 60                        | 3860                  | 50                   |

| Pha làm khô thứ cấp |               |                           |                       |                      |
|---------------------|---------------|---------------------------|-----------------------|----------------------|
| Bước                | Nhiệt độ (°C) | Thời gian gia tăng (phút) | Thời gian ngâm (phút) | Vac. Cont. S.P. (mT) |
| 1                   | 35            | 630                       | 1920                  | 50                   |

Sau khi chu trình làm đông khô hoàn thành, buồng bay hơi được nạp lại khí nitơ và các lọ được đẩy nắp hoàn toàn. Sơ đồ khối minh họa bước xử lý nạp liệu vô trùng và đông khô được thể hiện trên Fig. 7. Các lọ đã đẩy nắp hoàn toàn được đóng gói vào các hộp các tông (90 lọ/hộp các tông) và sau đó được bảo quản và/hoặc vận chuyển.

*Thông số kỹ thuật của chế phẩm đông khô*

Thông số kỹ thuật sản phẩm đối với chế phẩm đông khô được thể hiện trong Bảng 11.

**Bảng 11: Thông số kỹ thuật của chế phẩm đông khô**

| Thử nghiệm                         | Tiêu chuẩn chấp nhận  |                                                                                                    |
|------------------------------------|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                    | Phương pháp           | Chế phẩm đông khô <sup>1</sup>                                                                     |
| Vẻ bề ngoài                        | ACM-1504              | Dạng bánh màu trắng đến màu trắng nhò (hoàn nguyên sơ bộ); dung dịch không màu sau khi hoàn nguyên |
| Độ trong                           |                       | Hạt trong, không nhìn thấy sau khi hoàn nguyên                                                     |
| Thể tích nạp                       |                       | Để phân phối 5,0mL (USP)                                                                           |
| Độ pH                              |                       | 7,2-7,4                                                                                            |
| Hiệu lực (hoạt tính)               | RDM-10004             | 600-900 IU/mL                                                                                      |
| Hoạt tính riêng                    | ACM-1510              | ≥ 85 IU/mg protein                                                                                 |
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC | ACM-1517<br>RDM-10006 | ≥ 95% hoạt chất<br>≤ 8% kết tụ                                                                     |
| Tổng PEG tự do đo                  |                       | ≤ 2,0 mg/mL                                                                                        |

|                                    |                              |                                                                                                                                                     |
|------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| được bằng RP-HPLC                  | ACM-1509<br>RDM-10007        |                                                                                                                                                     |
| 10K PEG tự do đo được bằng RP-HPLC |                              | $\leq 0,2 \text{ mg/mL}$                                                                                                                            |
| N-Hydroxysuccinimit (NHS)          | ACM-1505                     | $\leq 2,0 \text{ ppm}$                                                                                                                              |
| Cải biến bởi TNBS                  | ACM-1507<br>RDM-10015        | 69-82 mol PEG/mol protein                                                                                                                           |
| Nồng độ protein                    | ACM-1506<br>RDM-10005        | 4,5-8,5 mg/mL                                                                                                                                       |
| Độ vô trùng                        | USP <71>                     | Đạt thử nghiệm độ vô trùng USP                                                                                                                      |
| Độ an toàn chung                   | USP <88><br>21 CFR 610.11    | Đạt thử nghiệm USP ở chuột lang<br>Đạt thử nghiệm USP ở chuột nhắt                                                                                  |
| Nội độc tố đo được bằng LAL        | ACM-1511                     | $\leq 35 \text{ EU/mL}$                                                                                                                             |
| Chất dạng hạt                      | ACM-0070                     | $\geq 2 \mu\text{m}$ NMT 27.000 hạt/đồ chứa <sup>1</sup><br>$\geq 10 \mu\text{m}$ NMT 6000 hạt/đồ chứa<br>$\geq 25 \mu\text{m}$ NMT 600 hạt/đồ chứa |
| Thử nghiệm nhận dạng               | ACM-1805                     | Khử amin asparagin                                                                                                                                  |
| Độ đồng đều về lượng               | RDM-10004                    | Phù hợp với USP                                                                                                                                     |
| Thời gian hoàn nguyên              | LSNE SOP CQC032 <sup>1</sup> | NMT 3 phút                                                                                                                                          |
| Nước (KF)                          | LSNE SOP CQC0320             | NMT 3,0%                                                                                                                                            |

<sup>1</sup> Ngoại trừ thử nghiệm về bề ngoài trước hoàn nguyên, tất cả các thử nghiệm được thực hiện sau khi hoàn nguyên bằng WFI;

*Phân tích lô thử nghiệm*

Các phân tích lô thử nghiệm đối với các lô sản phẩm chế phẩm đông khô được cung cấp trong Bảng 12 dưới đây. Kết quả đối với tất cả ba lô là đều nằm trong phạm vi thông số kỹ thuật.

**Bảng 12: Phân tích lô thử nghiệm đối với chế phẩm đông khô**

| <b>Thử nghiệm</b>                   | <b>Tiêu chuẩn chấp nhận</b>                    | <b>Lô 1</b> | <b>Lô 2</b> | <b>Lô 3</b> |
|-------------------------------------|------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| Vẻ bề ngoài                         | Bánh màu trắng đến màu trắng nhờ               | Phù hợp     | Phù hợp     | Phù hợp     |
| Vẻ bề ngoài sau khi hoàn nguyên     | Dung dịch không màu                            | Phù hợp     | Phù hợp     | Phù hợp     |
| Độ trong sau khi hoàn nguyên        | Hạt trong, không nhìn thấy sau khi hoàn nguyên | Phù hợp     | Phù hợp     | Phù hợp     |
| Thể tích nạp                        | Đề phân phối 5,0mL (USP)                       | 5,5         | 5,4         | 5,2         |
| Độ pH                               | 7,2-7,4                                        | 7,4         | 7,4         | 7,4         |
| Hiệu lực (hoạt tính)                | 600-900 IU/mL                                  | 805         | 718         | 741         |
| Hoạt tính riêng                     | $\geq 85$ IU/mg protein                        | 114         | 111         | 113         |
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC  | $\geq 95\%$ hoạt chất<br>$\leq 8\%$ kết tụ     | 97<br>5     | 97<br>4     | 97<br>1     |
| Tổng PEG tự do đo được bằng RP-HPLC | $\leq 2,0$ mg/mL                               | 0,9         | 1,3         | 0,5         |
| 10K PEG tự do đo được bằng RP-HPLC  | $\leq 0,2$ mg/mL                               | 0,1         | 0,2         | 0,1         |

|                             |                                                                    |           |           |           |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| N-Hydroxysuccinimit (NHS)   | $\leq 2,0\text{ppm}$                                               | 0,1       | 0,9       | 0,2       |
| Cải biến bởi TNBS           | 69-82 mol PEG/mol protein                                          | 77        | 77        | 75        |
| Nồng độ protein             | 4,5-8,5 mg/mL                                                      | 7,1       | 6,5       | 6,6       |
| Độ vô trùng                 | Đạt thử nghiệm độ vô trùng USP                                     | không có  | Phù hợp   | Phù hợp   |
| Mức an toàn chung           | Đạt thử nghiệm USP ở chuột lang<br>Đạt thử nghiệm USP ở chuột nhắt | Thích hợp | Thích hợp | Thích hợp |
| Nội độc tố đo được bằng LAL | $\leq 35\text{ EU/mL}$                                             | <4        | <4        | <4        |
| Chất dạng hạt               | $\geq 2\mu\text{mNMT}$<br>27.000<br>hạt/đồ chứa                    | 1835      | 530       | 5834      |
|                             | $\geq 10\mu\text{m NMT}$<br>6000<br>hạt/đồ chứa                    | 116       | 12        | 96        |
|                             | $\geq 25\mu\text{m NMT 600}$<br>hạt/đồ chứa                        | 1         | 1         | 2         |
| Thử nghiệm nhận dạng        | Khử amin Asparagin                                                 | không có  | không có  | không có  |
| Độ đồng đều về lượng        | Phù hợp với USP                                                    | Phù hợp   | Phù hợp   | Phù hợp   |
| Thời gian hoàn nguyên       | NMT 3 phút                                                         | < 1       | < 1       | < 1       |
| Nước (KF)                   | NMT 3,0%                                                           | 0,1       | 0,2       | 0,1       |

*Nghiên cứu về độ ổn định*

Các lô sản phẩm thuốc đông khô 1, 2, và 3 được đưa vào thử nghiệm độ ổn định lâu dài ( $2-8^{\circ}\text{C}$ ) và tăng tốc ( $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ;  $60\% \pm 5\% \text{ RH}$ ). Các lô này cũng được đưa vào thử nghiệm độ ổn định ứng suất nhiệt ( $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ;  $75\% \pm 5\% \text{ RH}$ ) để đánh giá profin thoái biến do nhiệt của sản phẩm gây ra.

*Độ ổn định lâu dài ( $2-8^{\circ}\text{C}$ )*

Dữ liệu độ ổn định thu được đối với các lô sản phẩm thuốc đông khô được bảo quản trong điều kiện thời gian kéo dài ( $2-8^{\circ}\text{C}$ ) được cung cấp trong các Bảng 13-16. Dữ liệu độ ổn định thời gian kéo dài đã cho thấy rằng sản phẩm thuốc đông khô được bảo quản ở  $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$  vẫn tốt theo tiêu chuẩn chấp nhận đối với tất cả các thời điểm ổn định. Dữ liệu lượng nước (KF) nằm trong khoảng 0,96%-1,35% (thông số kỹ thuật = NMT 3,0%) ở điều kiện bảo quản  $2-8^{\circ}\text{C}$  qua 12 tuần. Không giống như sản phẩm thuốc dạng lỏng thương phẩm, đã được chứng minh có hoạt tính tăng và độ tinh khiết giảm theo thời gian, xu hướng này đã không quan sát được đối với chế phẩm đông khô. Đồ thị độ ổn định về độ tinh khiết (Fig. 8) và mức hiệu lực (Fig. 9), cũng như kết tủa (Fig. 10), ở  $2-8^{\circ}\text{C}$  được thể hiện trong các hình vẽ kèm theo.

**Bảng 13: Dữ liệu độ ổn định trong điều kiện bảo quản lâu dài của Lô 1**

| Thử nghiệm           | Tiêu chuẩn chấp nhận                                                         | Thời gian (tháng) |           |           |   |
|----------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-----------|-----------|---|
|                      |                                                                              | Ban đầu           | 3         | 6         | 9 |
| Vẻ bề ngoài          | Bánh màu trắng đến màu trắng nhò;<br>Dung dịch không màu sau khi hoàn nguyên | Thích hợp         | Thích hợp | Thích hợp | - |
| Độ trong             | Hạt trong, không nhìn thấy sau khi hoàn nguyên                               | Thích hợp         | Thích hợp | Thích hợp | - |
| Độ pH                | 7,2-7,4                                                                      | 7,4               | 7,4       | 7,4       | - |
| Hiệu lực (hoạt tính) | 600-900 IU/mL                                                                | 805               | 750       | 801       | - |
| Hoạt tính riêng      | $\geq 85 \text{ IU/mg}$                                                      | 114               | 107       | 111       | - |

|                                     | protein                                       |               |               |               |                  |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|------------------|
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC  | $\geq 85\%$ hoạt chất;<br>$\leq 8\%$ kết tụ   | 97,07<br>4,73 | 96,53<br>3,82 | 97,68<br>5,05 | -                |
| Tổng PEG tự do đo được bằng RP-HPLC | $\leq 6,0$ mg/mL                              | 0,86          | 0,86          | 1,13          | -                |
| Tổng 10K PEG đo được bằng RP-HPLC   | $\leq 0,6$ mg/mL                              | 0,13          | 0,13          | 0,14          | -                |
| Nồng độ protein                     | 4,5-8,5 mg/mL                                 | 7,06          | 7,01          | 7,20          | -                |
| Chất dạng hạt                       | $\geq 2\mu\text{m}$ NMT<br>27.000 hạt/đồ chứa | 1835          | -             | -             | 204 <sup>1</sup> |
|                                     | $\geq 10\mu\text{m}$ NMT<br>6000 hạt/đồ chứa  | 116           | 21            | 126           | -                |
|                                     | $\geq 25\mu\text{m}$ NMT 600<br>hạt/đồ chứa   | 1             | 0             | 2             | -                |
| Thời gian hoàn nguyên               | NMT 3 phút                                    | 0,99          | 0,99          | 0,99          | -                |
| Nước (KF)                           | NMT3,0%                                       | -             | -             | -             | -                |

<sup>1</sup> Thử nghiệm được thực hiện trong 9 tháng bằng cách sử dụng nước MilliQ để hoàn nguyên sản phẩm thuốc.

**Bảng 14: Dữ liệu độ ổn định trong điều kiện bảo quản lâu dài của Lô 2**

| Thử nghiệm  | Tiêu chuẩn chấp nhận                                                  | Thời gian (tháng) |           |           |   |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------|-------------------|-----------|-----------|---|
|             |                                                                       | Ban đầu           | 3         | 6         | 9 |
| Vẻ bề ngoài | Bánh màu trắng đến màu trắng nhờ;<br>Dung dịch không màu sau khi hoàn | Thích hợp         | Thích hợp | Thích hợp | - |

|                                     |                                                |               |               |               |                  |
|-------------------------------------|------------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|------------------|
|                                     | nguyên                                         |               |               |               |                  |
| Độ trong                            | Hạt trong, không nhìn thấy sau khi hoàn nguyên | Thích hợp     | Thích hợp     | Thích hợp     | -                |
| Độ pH                               | 7,2-7,4                                        | 7,4           | 7,4           | 7,4           | -                |
| Hiệu lực (hoạt tính)                | 600-900 IU/mL                                  | 718           | 738           | 741           | -                |
| Hoạt tính riêng                     | $\geq 85$ IU/mg protein                        | 111           | 115           | 115           | -                |
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC  | $\geq 85\%$ hoạt chất;<br>$\leq 8\%$ kết tụ    | 97,16<br>4,35 | 96,94<br>3,85 | 96,99<br>0,79 | -                |
| Tổng PEG tự do đo được bằng RP-HPLC | $\leq 6,0$ mg/mL                               | 1,31          | 1,11          | 0,88          | -                |
| Tổng 10K PEG đo được bằng RP-HPLC   | $\leq 0,6$ mg/mL                               | 0,15          | 0,13          | 0,069         | -                |
| Nồng độ protein                     | 4,5-8,5 mg/mL                                  | 6,48          | 6,44          | 6,44          | -                |
| Chất dạng hạt                       | $\geq 2\mu\text{m}$ NMT 27.000 hạt/đồ chứa     | 530           | -             | -             | 207 <sup>1</sup> |
|                                     | $\geq 10\mu\text{m}$ NMT 6000 hạt/đồ chứa      | 12            | 55            | 69            | -                |
|                                     | $\geq 25\mu\text{m}$ NMT 600 hạt/đồ chứa       | 1             | 0             | 0             | -                |
| Thời gian hoàn nguyên               | NMT 3 phút                                     | 0,99          | 0,99          | 0,99          | -                |
| Nước (KF)                           | NMT 3,0%                                       | 0,2%          | -             | -             | -                |

<sup>1</sup> Thử nghiệm được thực hiện trong 9 tháng bằng cách sử dụng nước MilliQ để hoàn nguyên sản phẩm thuốc.

**Bảng 15: Dữ liệu độ ổn định trong điều kiện bảo quản lâu dài của Lô 3 (vuông góc)**

| Thử nghiệm                          | Tiêu chuẩn chấp nhận                                                         | Thời gian (tháng) |               |                  |   |
|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------|---------------|------------------|---|
|                                     |                                                                              | Ban đầu           | 3             | 6                | 9 |
| Vẻ bề ngoài                         | Bánh màu trắng đến màu trắng nhờ;<br>Dung dịch không màu sau khi hoàn nguyên | Thích hợp         | Thích hợp     | -                | - |
| Độ trong                            | Hạt trong, không nhìn thấy sau khi hoàn nguyên                               | Thích hợp         | Thích hợp     | -                | - |
| Độ pH                               | 7,2-7,4                                                                      | 7,4               | 7,4           | -                | - |
| Hiệu lực (hoạt tính)                | 600-900 IU/mL                                                                | 741               | 733           | -                | - |
| Hoạt tính riêng                     | $\geq 85$ IU/mg protein                                                      | 113               | 117           | -                | - |
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC  | $\geq 85\%$ hoạt chất;<br>$\leq 8\%$ kết tụ                                  | 97,05<br>0,55     | 98,87<br>0,65 | -                | - |
| Tổng PEG tự do đo được bằng RP-HPLC | $\leq 6,0$ mg/mL                                                             | 0,45              | 1,20          | -                | - |
| Tổng 10K PEG đo được bằng RP-HPLC   | $\leq 0,6$ mg/mL                                                             | 0,11              | 0,069         | -                | - |
| Nồng độ protein                     | 4,5-8,5 mg/mL                                                                | 6,55              | 6,25          | -                | - |
|                                     | $\geq 2 \mu\text{mNMT}$<br>27.000                                            | 5834              | -             | 165 <sup>1</sup> | - |

|                          |                                   |      |      |   |   |
|--------------------------|-----------------------------------|------|------|---|---|
| Chất dạng hạt            | hạt/đồ chứa                       |      |      |   |   |
|                          | ≥ 10µm NMT<br>6000<br>hạt/đồ chứa | 96   | 90   | - | - |
|                          | ≥ 25µm NMT 600<br>hạt/đồ chứa     | 2    | 0    | - | - |
| Thời gian hoàn<br>nguyên | NMT 3 phút                        | 0,99 | 0,99 | - | - |
| Nước (KF)                | NMT 3,0%                          | 0,1% | -    | - | - |

<sup>1</sup> Thử nghiệm được thực hiện trong 9 tháng bằng cách sử dụng nước MilliQ để hoàn nguyên sản phẩm thuốc.

**Bảng 16: Dữ liệu độ ổn định trong điều kiện bảo quản lâu dài của Lô 3 (nghịch đảo)**

| Thử nghiệm           | Tiêu chuẩn chấp<br>nhận                              | Thời gian (tháng) |           |   |   |
|----------------------|------------------------------------------------------|-------------------|-----------|---|---|
|                      |                                                      | Ban đầu           | 3         | 6 | 9 |
| Vẻ bề ngoài          | Bánh màu trắng<br>đến màu trắng<br>nhờ;              | Thích hợp         | Thích hợp | - | - |
|                      | Dung dịch không<br>màu sau khi hoàn<br>nguyên        |                   |           |   |   |
| Độ trong             | Hạt trong, không<br>nhìn thấy sau khi<br>hoàn nguyên | Thích hợp         | Thích hợp | - | - |
| Độ pH                | 7,2-7,4                                              | 7,4               | 7,4       | - | - |
| Hiệu lực (hoạt tính) | 600-900 IU/mL                                        | 741               | 745       | - | - |
| Hoạt tính riêng      | ≥ 85 IU/mg<br>protein                                | 113               | 118       | - | - |

|                                     |                                                  |               |               |   |   |
|-------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------|---------------|---|---|
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC  | $\geq 85\%$ hoạt chất;<br>$\leq 8\%$ kết tụ      | 97,05<br>0,55 | 98,90<br>0,63 | - | - |
| Tổng PEG tự do đo được bằng RP-HPLC | $\leq 6,0$ mg/mL                                 | 0,45          | 1,18          | - | - |
| Tổng 10K PEG đo được bằng RP-HPLC   | $\leq 0,6$ mg/mL                                 | 0,11          | $< 0,07$      | - | - |
| Nồng độ protein                     | 4,5-8,5 mg/mL                                    | 6,55          | 6,29          | - | - |
| Chất dạng hạt                       | $\geq 2\mu\text{m}$ NMT<br>27.000<br>hạt/đồ chứa | 5834          | -             | - | - |
|                                     | $\geq 10\mu\text{m}$ NMT<br>6000<br>hạt/đồ chứa  | 96            | 50            | - | - |
|                                     | $\geq 25\mu\text{m}$ NMT 600<br>hạt/đồ chứa      | 2             | 0             | - | - |
| Thời gian hoàn nguyên               | NMT 3 phút                                       | 0,99          | 0,99          | - | - |
| Nước (KF)                           | NMT 3,0%                                         | 0,1%          | -             | - | - |

*Độ ổn định tăng tốc ( $25 \pm 3^\circ\text{C}$ ;  $60\% \pm 5\%$  RH)*

Dữ liệu độ ổn định đối với các lô sản phẩm thuốc đông khô được bảo quản trong điều kiện tăng tốc ( $25 \pm 3^\circ\text{C}$ ;  $60\% \pm 5\%$  RH) được cung cấp trong các Bảng 17-20. Dữ liệu độ ổn định cho thấy rằng sản phẩm thuốc đông khô được bảo quản trong điều kiện tăng tốc vẫn tốt theo tiêu chuẩn chấp nhận đối với tất cả các thời điểm ổn định. Lượng nước (KF) nằm trong khoảng 1,12%-1,23% (thông số kỹ thuật= NMT 3,0%) ở điều kiện bảo quản  $25^\circ\text{C}$  qua 4 tuần. Đồ thị về độ ổn định đối với các thuộc tính chất lượng độ tinh khiết (Fig. 11) và mức hiệu lực (Fig. 12), cũng như mức kết tụ (Fig. 13), ở  $25 \pm 3^\circ\text{C}$  được thể hiện trên các hình vẽ kèm theo.

**Bảng 17: Dữ liệu độ ổn định tăng tốc của Lô 1**

| Thử nghiệm                          | Tiêu chuẩn chấp nhận                                                         | Thời gian (tháng) |            |              |               |              |
|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------|------------|--------------|---------------|--------------|
|                                     |                                                                              | Ban đầu           | 1          | 2            | 3             | 4            |
| Vẻ bề ngoài                         | Bánh màu trắng đến màu trắng nhò;<br>Dung dịch không màu sau khi hoàn nguyên | Thích hợp         | Thích hợp  | Thích hợp    | Thích hợp     | Thích hợp    |
| Độ trong                            | Hạt trong, không nhìn thấy sau khi hoàn nguyên                               | Thích hợp         | Thích hợp  | Thích hợp    | Thích hợp     | Thích hợp    |
| Độ pH                               | 7,2-7,4                                                                      | 7,4               | 7,4        | 7,4          | 7,4           | 7,4          |
| Hiệu lực (hoạt tính)                | 600-900 IU/mL                                                                | 805               | 782        | 809          | 778           | 805          |
| Hoạt tính riêng                     | $\geq 85$ IU/mg protein                                                      | 114               | 111        | 112          | 111           | -            |
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC  | $\geq 85\%$ hoạt chất;<br>$\leq 8\%$ kết tụ                                  | 97,07<br>4,73     | 96,43<br>- | 96,58<br>4,6 | 96,29<br>4,11 | 96,88<br>5,9 |
| Tổng PEG tự do đo được bằng RP-HPLC | $\leq 6,0$ mg/mL                                                             | 0,86              | 0,99       | 1,12         | 0,74          | 0,88         |
| Tổng 10K PEG đo được bằng RP-HPLC   | $\leq 0,6$ mg/mL                                                             | 0,13              | 0,14       | 0,17         | 0,12          | 0,13         |
| Nồng độ protein                     | 4,5-8,5 mg/mL                                                                | 7,06              | 7,03       | 7,2          | 7,02          | 7,13         |
| Chất dạng hạt                       | $\geq 2\mu\text{m}$ NMT<br>27.000 hạt/đồ chứa                                | 1835              | -          | -            | 11.753        | 12.096       |
|                                     | $\geq 10\mu\text{m}$ NMT<br>6000 hạt/đồ chứa                                 | 116               | -          | -            | 70            | 116          |
|                                     | $\geq 25\mu\text{m}$ NMT                                                     | 1                 | -          | -            | 1             | 1            |

|                       |                 |     |     |     |     |     |
|-----------------------|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|
|                       | 600 hạt/đồ chứa |     |     |     |     |     |
| Thời gian hoàn nguyên | NMT 3 phút      | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 |
| Nước (KF)             | NMT 3,0%        | -   | -   | -   | -   | -   |

**Bảng 18: Dữ liệu độ ổn định tăng tốc của Lô 2**

| Thử nghiệm                          | Tiêu chuẩn chấp nhận                                                         | Thời gian (tháng) |               |               |               |   |
|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------|---------------|---------------|---------------|---|
|                                     |                                                                              | Ban đầu           | 1             | 2             | 3             | 6 |
| Vẻ bề ngoài                         | Bánh màu trắng đến màu trắng nhờ;<br>Dung dịch không màu sau khi hoàn nguyên | Thích hợp         | Thích hợp     | Thích hợp     | Thích hợp     | - |
| Độ trong                            | Hạt trong, không nhìn thấy sau khi hoàn nguyên                               | Thích hợp         | Thích hợp     | Thích hợp     | Thích hợp     | - |
| Độ pH                               | 7,2-7,4                                                                      | 7,4               | 7,4           | 7,4           | 7,4           | - |
| Hiệu lực (hoạt tính)                | 600-900 IU/mL                                                                | 718               | 748           | 733           | 720           | - |
| Hoạt tính riêng                     | $\geq 85$ IU/mg protein                                                      | 111               | 115           | 113           | 116           | - |
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC  | $\geq 85\%$ hoạt chất;<br>$\leq 8\%$ kết tụ                                  | 97,16<br>4,35     | 96,69<br>4,01 | 96,52<br>3,76 | 96,79<br>4,31 | - |
| Tổng PEG tự do đo được bằng RP-HPLC | $\leq 6,0$ mg/mL                                                             | 1,31              | 1,48          | 1,12          | 1,16          | - |
| Tổng 10K PEG đo được bằng RP-HPLC   | $\leq 0,6$ mg/mL                                                             | 0,15              | 0,18          | 0,16          | 0,14          | - |

|                       |                                                 |      |      |      |        |   |
|-----------------------|-------------------------------------------------|------|------|------|--------|---|
| Nồng độ protein       | 4,5-8,5 mg/mL                                   | 6,48 | 6,51 | 6,46 | 6,21   | - |
| Chất dạng hạt         | $\geq 2\mu\text{m}$ NMT<br>27.000 hạt/đồ chứa   | 530  | -    | -    | 10.051 | - |
|                       | $\geq 10\mu\text{m}$ NMT<br>6000<br>hạt/đồ chứa | 12   | -    | -    | 121    | - |
|                       | $\geq 25\mu\text{m}$ NMT<br>600 hạt/đồ chứa     | 1    | -    | -    | 6      | - |
| Thời gian hoàn nguyên | NMT 3 phút                                      | < 1  | < 1  | < 1  | < 1    | - |
| Nước (KF)             | NMT 3,0%                                        | 0,2% | -    | -    | -      | - |

**Bảng 19: Dữ liệu độ ổn định tăng tốc của Lô 3 (vuông góc)**

| Thử nghiệm           | Tiêu chuẩn chấp nhận                                                         | Thời gian (tháng) |           |           |           |   |
|----------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-----------|-----------|-----------|---|
|                      |                                                                              | Ban đầu           | 1         | 2         | 3         | 6 |
| Vẻ bề ngoài          | Bánh màu trắng đến màu trắng nhờ;<br>Dung dịch không màu sau khi hoàn nguyên | Thích hợp         | Thích hợp | Thích hợp | Thích hợp | - |
| Độ trong             | Hạt trong, không nhìn thấy sau khi hoàn nguyên                               | Thích hợp         | Thích hợp | Thích hợp | Thích hợp | - |
| Độ pH                | 7,2-7,4                                                                      | 7,4               | 7,4       | 7,4       | 7,4       | - |
| Hiệu lực (hoạt tính) | 600-900 IU/mL                                                                | 741               | 700       | 750       | 718       | - |
| Hoạt tính riêng      | $\geq 85$ IU/mg                                                              | 113               | 111       | 113       | -         | - |

|                                     | protein                                       |               |               |               |               |   |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---|
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC  | $\geq 85\%$ hoạt chất;<br>$\leq 8\%$ kết tụ   | 97,05<br>0,55 | 96,88<br>0,62 | 97,25<br>0,75 | 96,98<br>0,89 | - |
| Tổng PEG tự do đo được bằng RP-HPLC | $\leq 6,0$ mg/mL                              | 0,45          | 0,95          | 1,06          | 0,87          | - |
| Tổng 10K PEG đo được bằng RP-HPLC   | $\leq 0,6$ mg/mL                              | 0,11          | < 0,07        | < 0,07        | < 0,07        | - |
| Nồng độ protein                     | 4,5-8,5 mg/mL                                 | 6,55          | 6,28          | 6,63          | 6,34          | - |
| Chất dạng hạt                       | $\geq 2\mu\text{m}$ NMT<br>27.000 hạt/đồ chứa | 5834          | -             | -             | 8000          | - |
|                                     | $\geq 10\mu\text{m}$ NMT<br>6000 hạt/đồ chứa  | 96            | -             | -             | 83            | - |
|                                     | $\geq 25\mu\text{m}$ NMT<br>600 hạt/đồ chứa   | 2             | -             | -             | 2             | - |
| Thời gian hoàn nguyên               | NMT 3 phút                                    | < 1           | < 1           | < 1           | < 1           | - |
| Nước (KF)                           | NMT 3,0%                                      | 0,1%          | -             | -             | -             | - |

**Bảng 20: Dữ liệu độ ổn định tăng tốc của Lô 3 (nghịch đảo)**

| Thử nghiệm  | Tiêu chuẩn chấp nhận                                 | Thời gian (tháng) |           |           |           |   |
|-------------|------------------------------------------------------|-------------------|-----------|-----------|-----------|---|
|             |                                                      | Ban đầu           | 1         | 2         | 3         | 6 |
| Vẻ bề ngoài | Bánh màu trắng đến màu trắng nhờ;<br>Dung dịch không | Thích hợp         | Thích hợp | Thích hợp | Thích hợp | - |

|                                     |                                                |               |               |               |               |   |
|-------------------------------------|------------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---|
|                                     | màu sau khi hoàn nguyên                        |               |               |               |               |   |
| Độ trong                            | Hạt trong, không nhìn thấy sau khi hoàn nguyên | Thích hợp     | Thích hợp     | Thích hợp     | Thích hợp     | - |
| Độ pH                               | 7,2-7,4                                        | 7,4           | 7,4           | 7,4           | 7,4           | - |
| Hiệu lực (hoạt tính)                | 600-900 IU/mL                                  | 741           | 719           | 733           | 721           | - |
| Hoạt tính riêng                     | $\geq 85$ IU/mg protein                        | 113           | 113           | 113           | 113           | - |
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC  | $\geq 85\%$ hoạt chất;<br>$\leq 8\%$ kết tụ    | 97,05<br>0,55 | 96,76<br>0,63 | 97,31<br>0,72 | 97,02<br>0,74 | - |
| Tổng PEG tự do đo được bằng RP-HPLC | $\leq 6,0$ mg/mL                               | 0,45          | 0,92          | 1,04          | 1,22          | - |
| Tổng 10K PEG đo được bằng RP-HPLC   | $\leq 0,6$ mg/mL                               | 0,11          | < 0,07        | < 0,07        | 0,14          | - |
| Nồng độ protein                     | 4,5-8,5 mg/mL                                  | 6,55          | 6,37          | 6,49          | 6,38          | - |
| Chất dạng hạt                       | $\geq 2\mu\text{m}$ NMT<br>27.000 hạt/đồ chứa  | 5834          | -             | -             | 10.277        | - |
|                                     | $\geq 10\mu\text{m}$ NMT<br>6000 hạt/đồ chứa   | 96            | -             | -             | 113           | - |
|                                     | $\geq 25\mu\text{m}$ NMT<br>600 hạt/đồ chứa    | 2             | -             | -             | 1             | - |
| Thời gian hoàn nguyên               | NMT 3 phút                                     | < 1           | < 1           | < 1           | < 1           | - |
| Nước (KF)                           | NMT 3,0%                                       | 0,1%          | -             | -             | -             | - |

*Độ ổn định ứng suất nhiệt ( $40 \pm 2^\circ\text{C}$ ;  $75\% \pm 5\%$  RH)*

Dữ liệu độ ổn định đối với các lô sản phẩm thuốc đông khô được bảo quản trong điều kiện ứng suất ( $40 \pm 2^\circ\text{C}$ ;  $75\% \pm 5\% \text{ RH}$ ) được cung cấp trong các Bảng 21-24. Dữ liệu độ ổn định đã cho thấy rằng sản phẩm thuốc đông khô được bảo quản trong điều kiện ứng suất vẫn tốt theo tiêu chuẩn chấp nhận trong thời gian nghiên cứu. Lượng nước (KF) nằm trong khoảng 1,16%-1,45% (thông số kỹ thuật= NMT 3,0%) trong điều kiện bảo quản  $40^\circ\text{C}$  qua 4 tuần. Đồ thị về độ ổn định đối với mức hiệu lực (Fig. 14) và độ tinh khiết (Fig. 15), cũng như mức kết tụ (Fig. 16), ở  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  được cung cấp trong các hình vẽ kèm theo.

**Bảng 21: Dữ liệu độ ổn định trong điều kiện ứng suất nhiệt của lô 1**

| Thử nghiệm                          | Tiêu chuẩn chấp nhận                                                         | Thời gian (tháng) |           |           |           |           |
|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|                                     |                                                                              | Ban đầu           | 1         | 2         | 3         | 6         |
| Vẻ bề ngoài                         | Bánh màu trắng đến màu trắng nhò;<br>Dung dịch không màu sau khi hoàn nguyên | Thích hợp         | Thích hợp | Thích hợp | Thích hợp | Thích hợp |
| Độ trong                            | Hạt trong, không nhìn thấy sau khi hoàn nguyên                               | Thích hợp         | Thích hợp | Thích hợp | Thích hợp | Thích hợp |
| Độ pH                               | 7,2-7,4                                                                      | 7,4               | 7,4       | 7,4       | 7,4       | 7,4       |
| Hiệu lực (hoạt tính)                | 600-900 IU/mL                                                                | 805               | 757       | 747       | 759       | 746       |
| Hoạt tính riêng                     | $\geq 85$ IU/mg protein                                                      | 114               | 109       | 107       | 107       | -         |
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC  | $\geq 85\%$ hoạt chất;                                                       | 97,07             | 95,02     | 94,52     | 93,64     | 92,64     |
|                                     | $\leq 8\%$ kết tụ                                                            | 4,73              | -         | 4,74      | 4,31      | 6,01      |
| Tổng PEG tự do đo được bằng RP-HPLC | $\leq 6,0$ mg/mL                                                             | 0,86              | 1,07      | 1,15      | 0,86      | 1,07      |

|                                   |                                               |      |      |      |      |        |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------|------|------|------|------|--------|
| Tổng 10K PEG đo được bằng RP-HPLC | $\leq 0,6$ mg/mL                              | 0,13 | 0,15 | 0,16 | 0,13 | 0,14   |
| Nồng độ protein                   | 4,5-8,5 mg/mL                                 | 7,06 | 6,94 | 7,01 | 7,09 | 7,08   |
| Chất dạng hạt                     | $\geq 2\mu\text{m}$ NMT<br>27.000 hạt/đồ chứa | 1835 | -    | -    | -    | 12.025 |
|                                   | $\geq 10\mu\text{m}$ NMT<br>6000 hạt/đồ chứa  | 116  | -    | -    | -    | 53     |
|                                   | $\geq 25\mu\text{m}$ NMT<br>600 hạt/đồ chứa   | 1    | -    | -    | -    | 1      |
| Thời gian hoàn nguyên             | NMT 3 phút                                    | < 1  | < 1  | < 1  | < 1  | -      |
| Nước (KF)                         | NMT 3,0%                                      | -    | -    | -    | -    | -      |

**Bảng 22: Dữ liệu độ ổn định trong điều kiện ứng suất nhiệt của Lô 2**

| Thử nghiệm           | Tiêu chuẩn chấp nhận                                                         | Thời gian (tháng) |           |           |           |   |
|----------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-----------|-----------|-----------|---|
|                      |                                                                              | Ban đầu           | 1         | 2         | 3         | 6 |
| Vẻ bề ngoài          | Bánh màu trắng đến màu trắng nhò;<br>Dung dịch không màu sau khi hoàn nguyên | Thích hợp         | Thích hợp | Thích hợp | Thích hợp | - |
| Độ trong             | Hạt trong, không nhìn thấy sau hoàn nguyên                                   | Thích hợp         | Thích hợp | Thích hợp | Thích hợp | - |
| Độ pH                | 7,2-7,4                                                                      | 7,4               | 7,4       | 7,4       | 7,4       | - |
| Hiệu lực (hoạt tính) | 600-900 IU/mL                                                                | 718               | 738       | 690       | 694       | - |
| Hoạt tính riêng      | $\geq 85$ IU/mg protein                                                      | 114               | 109       | 107       | 107       | - |

|                                     |                                               |               |               |               |               |   |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---|
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC  | $\geq 85\%$ hoạt chất;<br>$\leq 8\%$ kết tụ   | 97,16<br>4,35 | 93,91<br>3,99 | 93,92<br>3,71 | 93,70<br>4,33 | - |
| Tổng PEG tự do đo được bằng RP-HPLC | $\leq 6,0$ mg/mL                              | 1,31          | 1,45          | 1,15          | 1,26          | - |
| Tổng 10K PEG đo được bằng RP-HPLC   | $\leq 0,6$ mg/mL                              | 0,15          | 0,17          | 0,16          | 0,14          | - |
| Nồng độ protein                     | 4,5-8,5 mg/mL                                 | 6,48          | 6,42          | 6,4           | 6,3           | - |
| Chất dạng hạt                       | $\geq 2\mu\text{m}$ NMT<br>27.000 hạt/đồ chứa | 530           | -             | -             | -             | - |
|                                     | $\geq 10\mu\text{m}$ NMT<br>6000 hạt/đồ chứa  | 12            | -             | -             | -             | - |
|                                     | $\geq 25\mu\text{m}$ NMT<br>600 hạt/đồ chứa   | 1             | -             | -             | -             | - |
| Thời gian hoàn nguyên               | NMT 3 phút                                    | < 1           | < 1           | < 1           | < 1           | - |
| Nước (KF)                           | NMT 3,0%                                      | 0,2%          | -             | -             | -             | - |

**Bảng 23: Dữ liệu độ ổn định trong điều kiện ứng suất nhiệt của Lô 3 (vuông góc)**

| Thử nghiệm  | Tiêu chuẩn chấp nhận                                                         | Thời gian (tháng) |           |           |           |   |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-----------|-----------|-----------|---|
|             |                                                                              | Ban đầu           | 1         | 2         | 3         | 6 |
| Vẻ bề ngoài | Bánh màu trắng đến màu trắng nhò;<br>Dung dịch không màu sau khi hoàn nguyên | Thích hợp         | Thích hợp | Thích hợp | Thích hợp | - |
| Độ trong    | Hạt trong, không nhìn thấy sau khi                                           | Thích hợp         | Thích hợp | Thích hợp | Thích hợp | - |

|                                     |                                               |               |               |              |              |   |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------|---------------|--------------|--------------|---|
|                                     | hoàn nguyên                                   |               |               |              |              |   |
| Độ pH                               | 7,2-7,4                                       | 7,4           | 7,4           | 7,4          | 7,4          | - |
| Hiệu lực (hoạt tính)                | 600-900 IU/mL                                 | 741           | 722           | 691          | 681          | - |
| Hoạt tính riêng                     | $\geq 85$ IU/mg protein                       | 113           | 112           | 111          | 109          | - |
| Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC  | $\geq 85\%$ hoạt chất;<br>$\leq 8\%$ kết tụ   | 97,05<br>0,55 | 96,11<br>0,98 | 95,4<br>2,58 | 93,1<br>2,88 | - |
| Tổng PEG tự do đo được bằng RP-HPLC | $\leq 6,0$ mg/mL                              | 0,45          | 1,1           | 1,25         | 0,64         | - |
| Tổng 10K PEG đo được bằng RP-HPLC   | $\leq 0,6$ mg/mL                              | 0,11          | < 0,07        | < 0,07       | < 0,07       | - |
| Nồng độ protein                     | 4,5-8,5 mg/mL                                 | 6,55          | 6,43          | 6,23         | 6,25         | - |
| Chất dạng hạt                       | $\geq 2\mu\text{m}$ NMT<br>27.000 hạt/đồ chứa | 5834          | -             | -            | 8989         | - |
|                                     | $\geq 10\mu\text{m}$ NMT<br>6000 hạt/đồ chứa  | 96            | -             | -            | 116          | - |
|                                     | $\geq 25\mu\text{m}$ NMT<br>600 hạt/đồ chứa   | 2             | -             | -            | 2            | - |
| Thời gian hoàn nguyên               | NMT 3 phút                                    | < 1           | < 1           | < 1          | < 1          | - |
| Nước (KF)                           | NMT 3,0%                                      | 0,1%          | -             | -            | -            | - |

**Bảng 24: Dữ liệu độ ổn định trong điều kiện ứng suất nhiệt của Lô 3 (nghịch đảo)**

| Thử nghiệm  | Tiêu chuẩn chấp nhận         | Thời gian (tháng) |       |       |       |   |
|-------------|------------------------------|-------------------|-------|-------|-------|---|
|             |                              | Ban đầu           | 1     | 2     | 3     | 6 |
| Vẻ bề ngoài | Bánh màu trắng đến màu trắng | Thích             | Thích | Thích | Thích | - |

|                                            |                                                       |               |               |               |               |   |
|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---|
|                                            | nhờ;<br>Dung dịch không<br>màu sau khi hoàn<br>nguyên | hợp           | hợp           | hợp           | hợp           |   |
| Độ trong                                   | Hạt trong, không<br>nhìn thấy sau khi<br>hoàn nguyên  | Thích<br>hợp  | Thích<br>hợp  | Thích<br>hợp  | Thích<br>hợp  | - |
| Độ pH                                      | 7,2-7,4                                               | 7,4           | 7,4           | 7,4           | 7,4           | - |
| Hiệu lực (hoạt tính)                       | 600-900 IU/mL                                         | 741           | 719           | 668           | 663           | - |
| Hoạt tính riêng                            | $\geq 85$ IU/mg<br>protein                            | 113           | 113           | 107           | 106           | - |
| Độ tinh khiết đo<br>được bằng GF-<br>HPLC  | $\geq 85\%$ hoạt chất;<br>$\leq 8\%$ kết tụ           | 97,05<br>0,55 | 96,12<br>1,02 | 95,31<br>1,01 | 96,45<br>2,74 | - |
| Tổng PEG tự do đo<br>được bằng RP-<br>HPLC | $\leq 6,0$ mg/mL                                      | 0,45          | 1,08          | 1,25          | 0,62          | - |
| Tổng 10K PEG đo<br>được bằng RP-<br>HPLC   | $\leq 0,6$ mg/mL                                      | 0,11          | $< 0,07$      | $< 0,07$      | $< 0,07$      | - |
| Nồng độ protein                            | 4,5-8,5 mg/mL                                         | 6,55          | 6,38          | 6,23          | 6,25          | - |
| Chất dạng hạt                              | $\geq 2\mu\text{m}$ NMT<br>27.000 hạt/đồ chứa         | 5834          | -             | -             | 9963          | - |
|                                            | $\geq 10\mu\text{m}$ NMT<br>6000 hạt/đồ chứa          | 96            | -             | -             | 157           | - |
|                                            | $\geq 25\mu\text{m}$ NMT<br>600 hạt/đồ chứa           | 2             | -             | -             | 3             | - |
| Thời gian hoàn<br>nguyên                   | NMT 3 phút                                            | $< 1$         | $< 1$         | $< 1$         | $< 1$         | - |
| Nước (KF)                                  | NMT 3,0%                                              | 0,1%          | -             | -             | -             | - |

**Ví dụ 2**

Chế phẩm chứa polyetylen glycol-asparaginaza có cầu liên kết SC-PEG (tức là, cầu liên kết succinimidyl cacbonat) được tạo ra - calaspargaza pegol (succinimidyl cacbonat-polyetylen glycol [SC-PEG] E. coli L-asparaginaza). Thành phần của chế phẩm được nêu trong Bảng 25.

**Bảng 25: Thành phần của chế phẩm Calaspargaza Pegol**

| Thành phần              | Tiêu chuẩn | Lượng trong mỗi g*       |
|-------------------------|------------|--------------------------|
| Calaspargaza Pegol      | không có   | 750 IU                   |
| Natri phosphat đibazơ   | USP        | 5,58 mg                  |
| Natri phosphat monobazơ | USP        | 1,29 mg                  |
| Natri clorua            | USP        | 8,50 mg                  |
| Nước dùng để tiêm (WFI) | USP        | Bổ sung vừa đủ đến 1,0 g |

**Ví dụ 3**

Sau khi tạo ra chế phẩm rời cô đặc, chế phẩm đông khô chứa calaspargaza pegol có thể được tạo ra từ chế phẩm rời cô đặc. Fig. 1 thể hiện một ví dụ về sơ đồ khối của quy trình có thể được sử dụng để tạo ra chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô theo các phương án theo sáng chế. Bột chế phẩm đông khô dùng để tiêm có thể được tạo ra trong lọ sử dụng một lần duy nhất chứa 3,750 IU calaspargaza pegol hoạt tính (750 IU/mL sau khi hoàn nguyên bằng 5,2mL WFI). Các thành phần của chế phẩm đông khô có thể bao gồm 4,5% sucroza, natri phosphat đibazơ, natri phosphat monobazơ, và natri clorua sau khi hoàn nguyên. Thành phần của chế phẩm đông khô được nêu trong Bảng 26.

**Bảng 26: Các thành phần của chế phẩm Calaspargaza Pegol**

| Thành phần              | Tiêu chuẩn | Lượng trong mỗi g* |
|-------------------------|------------|--------------------|
| Calaspargaza Pegol      | không có   | 750 IU             |
| Natri phosphat đibazơ   | USP        | 2,79 mg            |
| Natri phosphat monobazơ | USP        | 0,60 mg            |

|                         |                        |                          |
|-------------------------|------------------------|--------------------------|
| Natri clorua            | USP                    | 4,25 mg                  |
| Sucroza                 | Dược thư quốc gia (NF) | 45 mg                    |
| Nước dùng để tiêm (WFI) | USP                    | Bổ sung vừa đủ đến 1,0 g |

\* các giá trị là sau khi được hoàn nguyên bằng WFI

#### Ví dụ 4

Mục đích của nghiên cứu này là nhằm cung cấp thông tin về dược động học (PK), dược lực học (PD) và tính sinh miễn dịch so sánh đối với pegaspargaza (PEG-L-asparaginaza lỏng; Oncaspar®) và pegaspargaza đông khô, khi được dùng trong tĩnh mạch, bằng cách tiêm liều cao chậm, cho chó săn thỏ một lần (Ngày 1) hoặc một lần mỗi tuần trong 4 tuần (Ngày 1, 15, 22, 29 và 36). Do pegaspargaza đông khô hoàn nguyên sẽ được dùng trong tĩnh mạch cho người, đường dùng thuốc này cũng được sử dụng trong nghiên cứu này. Nghiên cứu PK/PD liều đơn duy nhất và liều dùng lặp lại là cần thiết để xác định và so sánh dược động học và dược lực học của chế phẩm đông khô lỏng và hoàn nguyên ở liều tương đương.

Chó săn thỏ (theo lý thuyết 5 con/giới tính/nhóm) được cho dùng 500 IU/kg pegaspargaza lỏng hoặc pegaspargaza đông khô hoàn nguyên bằng cách tiêm tĩnh mạch ở thể tích liều là 0,667 mL/kg (xem Bảng 27). Chó săn thỏ khoảng 6 tháng tuổi có khối lượng từ 7,2 kg đến 10,7 kg đối với con đực và từ 5,6 kg đến 8,2 kg đối với con cái.

Pegaspargaza lỏng (5mL dung dịch đậm PBS với 50 mM phosphat và 0,85% nước muối ở độ pH 7,2-7,4) được sử dụng như cung cấp và không cần pha chế. Pegaspargaza đông khô (xem, ví dụ 1) được điều chế để dùng bằng cách (sử dụng bơm tiêm cỡ 21) hoàn nguyên thành phần trong lọ bằng 5,2mL nước dùng để tiêm (WFI) bằng cách sử dụng kỹ thuật vô trùng để đạt được nồng độ 750 IU/mL. Thành phần trong lọ được xoay nhẹ cho đến khi hòa tan hoàn toàn. Hỗn hợp này được kiểm tra bằng trực quan về dạng hạt, tình trạng đục hoặc hiện tượng đổi màu trước khi dùng. Chế phẩm mới được pha chế cho mỗi ngày dùng liều, được duy trì ở nhiệt độ trong phòng và được sử dụng trong vòng 2 giờ pha chế.

**Bảng 27: Quy trình và phác đồ dùng liều**

| Nhóm | Điều trị | Liều<br>(IU/kg) | Nồng độ<br>(IU/mL) | Liều theo<br>thể tích | Chó<br>đực | Chó<br>cái |
|------|----------|-----------------|--------------------|-----------------------|------------|------------|
|------|----------|-----------------|--------------------|-----------------------|------------|------------|

|   |                                              |     |     | (mL/kg) |   |   |
|---|----------------------------------------------|-----|-----|---------|---|---|
| 1 | Pegaspargaza lỏng - Liều đơn<br>duy nhất     | 500 | 750 | 0,667   | 5 | 6 |
| 2 | Pegaspargaza lỏng - Liều dùng<br>lặp lại     | 500 | 750 | 0,667   | 5 | 5 |
| 3 | Pegaspargaza đông khô - Liều<br>đơn duy nhất | 500 | 750 | 0,667   | 5 | 5 |
| 4 | Pegaspargaza đông khô - Liều<br>dùng lặp lại | 500 | 750 | 0,667   | 6 | 5 |

Các con chó trong các nhóm 1 và 3 tiếp nhận lần lượt một liều duy nhất của pegaspargaza lỏng hoặc pegaspargaza đông khô, vào ngày 1. Các con chó trong các nhóm 2 và 4 được tiếp nhận lặp lại lần lượt các liều pegaspargaza lỏng hoặc pegaspargaza đông khô. Việc tiêm tĩnh mạch liều cao (trên 2 phút) trong vòng 2 giờ chế phẩm thử nghiệm được sử dụng. Ống thông đặt trong cơ thể (ống thông không bướm) được sử dụng, tiếp đó là phun nước muối để làm sạch nắp của ống thông chứa thể tích liều còn lại. Một kim tiêm thẳng được lồng vào nắp của ống thông để đảm bảo việc thay thế kim tiêm sẽ vẫn nhất quán trong thời gian hơn 2 phút.

Các mẫu máu thu được từ tất cả các con chó vào các ngày 1 và 36 dùng để phân tích được động học và dược lực học. Khoảng 1,0mL máu toàn phần thu được ở mỗi thời điểm. Các động vật không được gây tê và không được nhịn đói trước khi thu gom máu. Máu được thu gom vào ống chứa chất chống đông máu natri heparin và đặt lên đá ướt ở vị trí phía trên bên phải. Việc ly tâm mẫu máu trong 5 phút (ở tốc độ khoảng 3000 vòng/phút, ở khoảng 4°C) để thu được huyết tương bắt đầu trong vòng 5 phút thu gom mẫu máu.

PD: Một phần phân ước 125  $\mu$ L huyết tương được hút bằng pipet vào ống cryo đã được nạp trước 125  $\mu$ L SeraPrep để xác định asparagin. Ống này được đảo lộn 3 lần để trộn SeraPrep và làm đông lạnh nhanh ngay bằng nitơ lỏng hoặc metanol/băng khô trong vòng 15 phút kể từ khi thu gom mẫu máu. Tất cả các phần phân ước chứa SeraPrep được phân tích để xác định asparagin bằng sắc ký lỏng cao áp (HPLC) với phép dò khối phổ (LC-MS/MS).

PK: Phần còn lại của huyết tương được chia vào hai ống cryo để xác định hoạt

tính asparaginaza và được làm đông lạnh nhanh trong vòng 30 phút kể từ thời điểm thu gom mẫu máu. Tất cả các phân phân ước không chứa SeraPrep được phân tích về hoạt tính asparaginaza bằng phản ứng enzym hỗn hợp đo màu.

#### Kết quả

Các phân tích được tiến hành trong suốt giai đoạn điều trị đối với pegaspargaza đông khô đã khẳng định được rằng các chế phẩm liều chứa nồng độ thích hợp (nồng độ protein mong muốn là 6,6 mg/mL và hoạt tính là 741 IU/mL, cho mỗi phân tích mẻ) đã được dùng (Bảng 28).

**Bảng 28: Hóa phân tích**

| Khoảng thời gian | Protein (mg/mL) |         | Hoạt tính (IU/mL) |         |
|------------------|-----------------|---------|-------------------|---------|
|                  | Con đực         | Con cái | Con đực           | Con cái |
| Ngày tiêm 1      | 6,36            | 6,30    | 738               | 722     |
| Ngày tiêm 22     | 6,55            | 6,54    | 794               | 785     |
| Ngày tiêm 36     | 6,30            | 6,44    | 722               | 741     |

Nồng độ asparaginaza huyết tương trung bình của các nhóm gom lại (Cmax) và diện tích trung bình của các nhóm gom lại dưới các đường cong nồng độ asparaginaza huyết tương và thời gian được ước tính lên đến 552 giờ sau khi dùng liều (AUC<sub>0-552</sub>) vào ngày 1 và sau khi dùng liều lặp lại vào ngày 36 được tóm tắt cho mỗi nhóm (giới tính kết hợp) trong Bảng 29.

**Bảng 29: Đương lượng sinh học: Dữ liệu trung bình của các nhóm gom lại (giới tính kết hợp)**

| Chế phẩm (500 IU/kg) |            | Cmax trung bình của nhóm (mIU/mL) |         | AUC <sub>0-552</sub> trung bình của nhóm (mIU.h/mL) |         |
|----------------------|------------|-----------------------------------|---------|-----------------------------------------------------|---------|
|                      |            | Ngày 1                            | Ngày 36 | Ngày 1                                              | Ngày 36 |
| Lỏng                 | Geomean    | 9947                              | 19440   | 2929202                                             | 4514287 |
|                      | Trung bình | 10018                             | 19580   | 2953000                                             | 4561000 |
|                      | SD         | 1300                              | 2404    | 405245                                              | 648322  |
|                      | CV%        | 13,0                              | 12,3    | 13,7                                                | 14,2    |
|                      |            |                                   |         |                                                     |         |
| Đông khô             | Geomean    | 9393                              | 17416   | 2603255                                             | 4258048 |
|                      | Trung      | 9416                              | 17480   | 2611000                                             | 4350000 |

|  |     |     |      |        |        |
|--|-----|-----|------|--------|--------|
|  | SD  | 688 | 1555 | 214758 | 797663 |
|  | CV% | 7,3 | 8,9  | 8,2    | 18,3   |

Nghiên cứu này được thiết kế dưới dạng thiết kế nhóm song song và dữ liệu được phân tích thống kê bằng cách sử dụng phép phân tích kỹ thuật phương sai. Dữ liệu Cmax và AUC<sub>0-552</sub> từ cả hai ngày được phân tích bằng cách sử dụng mô hình ANOVA với chế phẩm, thời gian, giới tính và sự tương tác của chúng dưới dạng các yếu tố.

Hai chế phẩm pegaspargaza được phân tích về Cmax và AUC<sub>0-552</sub> và khoảng tin cậy hai phía 90% tương ứng đối với tỷ lệ của các giá trị trung bình hình học được tóm tắt trong bảng 30.

**Bảng 30: Dữ liệu dược động học**

| Thông số             | Bảng giá trị trung bình của chế phẩm (đã được chuyển đổi trở lại - mIU/mL) |         | Khoảng tin cậy 90% của tỷ lệ trung bình (Đông khô/Lỏng) |       |          |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------|---------|---------------------------------------------------------|-------|----------|
|                      | Đông khô                                                                   | Lỏng    | Thấp hơn                                                | Tỷ lệ | Thấp hơn |
| Cmax                 | 12790                                                                      | 13943   | 0,867                                                   | 0,917 | 0,970    |
| AUC <sub>0-552</sub> | 3329382                                                                    | 3636380 | 0,841                                                   | 0,916 | 0,996    |

Đối với Cmax, có bằng chứng về đương lượng sinh học là khoảng tin cậy (từ 0,867 đến 0,970) nằm trong vùng tới hạn. Đối với AUC<sub>0-552</sub>, có bằng chứng về đương lượng sinh học là khoảng tin cậy (từ 0,841 đến 0,996) nằm trong vùng tới hạn.

Nồng độ huyết tương tối đa trung bình (Cmax) của pegaspargaza và các vùng trung bình dưới các đường cong nồng độ pegaspargaza huyết tương và thời gian được ước tính lên đến 552 giờ sau khi dùng liều (AUC<sub>0-552</sub>) vào ngày 1 và sau khi dùng liều lặp lại vào ngày 36 được tóm tắt dưới đây (theo giới tính) với độ lệch chuẩn trong dấu ngoặc đơn trong Bảng 31.

**Bảng 31: Profin nồng độ huyết tương-thời gian**

| Chế phẩm<br>(500 IU/kg) | Cmax (mIU/mL) |         |         |         | AUC <sub>0-552</sub> (mIU.h/mL) |         |         |         |
|-------------------------|---------------|---------|---------|---------|---------------------------------|---------|---------|---------|
|                         | Ngày 1        |         | Ngày 36 |         | Ngày 1                          |         | Ngày 36 |         |
|                         | Con đực       | Con cái | Con đực | Con cái | Con đực                         | Con cái | Con đực | Con cái |

|          |                 |               |                 |                 |                     |                     |                      |                     |
|----------|-----------------|---------------|-----------------|-----------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
| Lông     | 10700<br>(1600) | 9450<br>(610) | 20200<br>(2700) | 19000<br>(2200) | 3250000<br>(370000) | 2660000<br>(140000) | 4660000<br>(690000)  | 4470000<br>(670000) |
| Đông khô | 9580<br>(540)   | 9250<br>(840) | 17800<br>(1400) | 17200<br>(1800) | 2700000<br>(190000) | 2520000<br>(220000) | 4170000<br>(1120000) | 4530000<br>(320000) |

Mối quan hệ giữa nồng độ huyết tương tối đa trung bình ( $C_{max}$ ) của asparaginaza, diện tích trung bình dưới các đường cong nồng độ asparaginaza huyết tương và thời gian ( $AUC_{0-552}$ ) và mức liều đối với chế phẩm đông khô được biểu diễn dưới dạng tỷ lệ được so sánh với chế phẩm lỏng và được thể hiện trong Bảng 32.

**Bảng 32: Mối quan hệ giữa  $C_{max}$  trung bình,  $AUC$  trung bình, và mức liều**

| Chế phẩm<br>(500<br>IU/kg) | Tỷ lệ<br>mức<br>liều | Tỷ lệ $C_{max}$ |            |            |            | Tỷ lệ $AUC_{0-552}$ |            |         |         |
|----------------------------|----------------------|-----------------|------------|------------|------------|---------------------|------------|---------|---------|
|                            |                      | Ngày 1          |            | Ngày 36    |            | Ngày 1              |            | Ngày 36 |         |
|                            |                      | Con<br>đực      | Con<br>cái | Con<br>đực | Con<br>cái | Con<br>đực          | Con<br>cái | Con đực | Con cái |
| Lông                       | 1                    | 1               | 1          | 1          | 1          | 1                   | 1          | 1       | 1       |
| Đông khô                   | 1                    | 0,90            | 0,98       | 0,88       | 0,91       | 0,83                | 0,95       | 0,89    | 1,0     |

Các giá trị  $C_{max}$  và  $AUC_{0-552}$  khi các con chó được tiếp xúc toàn thân với asparaginaza là tương tự nhau sau khi dùng pegaspargaza đông khô hoàn nguyên, so với chế phẩm lỏng, vào ngày 1 và sau khi dùng lặp lại vào ngày 36. Không có bằng chứng về sự sai khác đáng kể giữa các chế phẩm về  $AUC_{0-552}$ , nhưng có một số bằng chứng về sự sai khác giữa các giá trị  $C_{max}$  của các chế phẩm khác nhau trong đó  $C_{max}$  sau khi dùng sản phẩm đông khô là thấp hơn một chút (8%) so với khi được dùng liều chế phẩm lỏng.

Các giá trị  $C_{max}$  và  $AUC_{0-552}$  khi các con chó cái tiếp xúc toàn thân với asparaginaza nói chung là tương tự với các giá trị tiếp xúc ở các con đực và không có bằng chứng nào cho thấy sự khác biệt liên quan đến giới tính có ý nghĩa thống kê bất kỳ khi tiếp xúc toàn thân đối với  $C_{max}$  hoặc  $AUC_{0-552}$ .

Các thông số khác được đánh giá trong quá trình nghiên cứu là: khả năng sống sót, các quan sát lâm sàng, thể trọng, sự tiêu thụ thức ăn, nhịp thở, nhiệt độ cơ thể, máu, hóa học về đông máu và máu; không có tác dụng bất lợi liên quan đến mục thử nghiệm về các thông số này.

Sau khi dùng liều tĩnh mạch lặp lại (Ngày 36) giá trị  $C_{max}$  và mức tiếp xúc toàn thân ( $AUC_{0-552}$ ) của các con chó với asparaginaza là cao hơn so với các giá trị sau

khi dùng một liều duy nhất (Ngày 1) và các sai khác này là có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ). Tỷ lệ tích tụ trung bình, được tính toán dựa trên cơ sở các giá trị  $AUC_{0-552}$  (lưu ý rằng các con vật khác nhau cung cấp dữ liệu vào mỗi ngày), lớn hơn một cho thấy rằng sự tích tụ asparaginaza đã xảy ra sau khi dùng nhắc lại trong tĩnh mạch pegaspargaza lỏng.

Nói chung, đã thấy rằng hai chế phẩm pegaspargaza là tương đương đối với  $C_{max}$  và  $AUC_{0-552}$ , dưới dạng khoảng tin cậy hai phía 90% tương ứng đối với tỷ lệ của các giá trị trung bình hình học nằm hoàn toàn trong các tỷ lệ đương lượng sinh học thông thường từ 0,8 đến 1,25. Không có sự sai khác đáng kể giữa hai chế phẩm về  $AUC_{0-552}$ . Sự tiếp xúc toàn thân với asparaginaza là tương tự với hai sản phẩm và một số tích tụ đã xảy ra ở cả hai giới tính khi dùng liều nhắc lại. Asparagin ức chế hoàn toàn trong thời gian lên đến 336 giờ ở tất cả các con chó và lên đến 552 giờ ở phần lớn chúng.

Tóm lại, không có sự sai khác đáng kể giữa các liều dùng là 500 IU/kg với pegaspargaza lỏng hoặc pegaspargaza đông khô hoàn nguyên và chúng có profin được động học, dược lực học và tính sinh miễn dịch tương đương.

#### Các phương án theo sáng chế

Theo một phương án thực hiện, sáng chế đề xuất chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô chứa polyalkylen oxit-asparaginaza có nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị bằng cầu liên kết với asparaginaza. Chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô cũng chứa dung dịch đệm, muối, và đường.

Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol. Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử nằm trong khoảng từ 2.000 đến 10.000 dalton. Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton.

Theo một số phương án thực hiện, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*.

Theo một số phương án thực hiện, cầu liên kết là cầu liên kết uretan. Theo một số phương án thực hiện, cầu liên kết là cầu liên kết succinat.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 500 đến 1.000 IU/g.

Theo một số phương án thực hiện, dung dịch đệm bao gồm dung dịch đệm phosphat. Theo một số phương án thực hiện, dung dịch đệm phosphat bao gồm natri

phosphat đibazơ và natri phosphat monobazơ. Theo một số phương án thực hiện, natri phosphat đibazơ có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,5% khối lượng. Theo một số phương án thực hiện, natri phosphat monobazơ có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,1% khối lượng.

Theo một số phương án thực hiện, muối là natri clorua. Theo một số phương án thực hiện, natri clorua có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1% khối lượng.

Theo một số phương án thực hiện, đường bao gồm đisacarit. Theo một số phương án thực hiện, đisacarit bao gồm sucroza. Theo một số phương án thực hiện, đường bao gồm sucroza với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10% khối lượng.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm có mặt trong đồ chứa liều đơn vị. Theo một số phương án thực hiện, đồ chứa liều đơn vị là lọ. Theo một số phương án thực hiện, lọ là lọ thủy tinh kín.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt với lượng là 750 IU/g, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol với khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, cầu liên kết là cầu liên kết uretan, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat bao gồm natri phosphat đibazơ với lượng nằm trong khoảng từ 0,25 đến 0,3% khối lượng và natri phosphat monobazơ với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,07% khối lượng, muối là natri clorua với lượng nằm trong khoảng từ 0,4 đến 0,45% khối lượng, và đường là sucroza với lượng nằm trong khoảng từ 4 đến 5% khối lượng.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt với lượng là 750 IU/g, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol với khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, cầu liên kết là cầu liên kết uretan, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat bao gồm natri phosphat đibazơ với lượng là 0,279% khối lượng và natri phosphat monobazơ với lượng là 0,06% khối lượng, muối là natri clorua với lượng là 0,425% khối lượng, và đường là sucroza với lượng là 4,5% khối lượng.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt với lượng là 750 IU/g, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol với khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, cầu liên kết là cầu liên kết succinat, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat bao gồm natri phosphat đibazơ với lượng nằm trong khoảng từ 0,25 đến 0,3% khối lượng và natri phosphat

monobazơ với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,07% khối lượng, muối là natri clorua với lượng nằm trong khoảng từ 0,4 đến 0,45% khối lượng, và đường là sucroza với lượng nằm trong khoảng từ 4 đến 5% khối lượng.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt với lượng là 750 IU/g, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol với khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, cầu liên kết là cầu liên kết succinat, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat bao gồm natri phosphat đibazơ với lượng là 0,279% khối lượng và natri phosphat monobazơ với lượng là 0,06% khối lượng, muối là natri clorua với lượng là 0,425% khối lượng, và đường là sucroza với lượng là 4,5% khối lượng.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt với lượng là 750 IU/g, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol với khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, cầu liên kết là cầu liên kết uretan, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat bao gồm natri phosphat đibazơ với lượng là 0,558% khối lượng và natri phosphat monobazơ với lượng là 0,129% khối lượng, và muối là natri clorua với lượng là 0,85% khối lượng.

Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô chứa polyetylen glycol-asparaginaza có nhóm polyetylen glycol được liên kết cộng hóa trị bằng cầu liên kết succinat với asparaginaza *E. coli*. Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô chứa polyetylen glycol-asparaginaza có nhóm polyetylen glycol được liên kết cộng hóa trị bằng cầu liên kết uretan với asparaginaza *E. coli*. Chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô cũng bao gồm dung dịch đệm phosphat, muối, và tùy ý disacarit như được nêu trong các phương án trên đây.

Theo phương án thực hiện khác, phần mô tả còn bộc lộ phương pháp khử amin asparagin ở đối tượng bằng cách cho sử dụng chế phẩm như được bộc lộ ở đây.

Theo một số phương án thực hiện, phương pháp bao gồm việc hoàn nguyên chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô theo sáng chế để tạo ra đơn vị liều lượng hoàn nguyên, và cho đối tượng dùng đơn vị liều lượng hoàn nguyên để khử amin asparagin ở đối tượng.

Theo một số phương án thực hiện, việc hoàn nguyên bao gồm việc kết hợp chế

phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô với nước dùng để tiêm (WFI).

Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa trong khoảng từ 700 đến 800 IU/mL polyalkylen oxit- asparagmaza.

Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa trong khoảng từ 2,5 đến 6 mg/g natri phosphat hai bazơ. Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa trong khoảng từ 2,5 đến 3 mg/g natri phosphat hai bazơ. Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa trong khoảng từ 5 đến 6 mg/g natri phosphat hai bazơ. Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa trong khoảng từ 5,25 đến 5,75 mg/g natri phosphat hai bazơ.

Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa trong khoảng từ 0,45 đến 1,5 mg/g natri phosphat đơn chức. Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa trong khoảng từ 0,45 đến 0,75 mg/g natri phosphat đơn chức. Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa trong khoảng từ 1 đến 2 mg/g natri phosphat đơn chức. Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa trong khoảng từ 1 đến 1,5 mg/g natri phosphat đơn chức.

Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa trong khoảng từ 4 đến 9 mg/g natri clorua. Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa trong khoảng từ 4 đến 4,5 mg/g natri clorua. Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa trong khoảng từ 8 đến 9 mg/g natri clorua.

Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng chứa sucroza. Theo một số phương án thực hiện, sucroza có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 40 đến 50 mg/g.

Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng hoàn nguyên phân phối trong khoảng từ 1.500 đến 3.000 IU/m<sup>2</sup> polyalkylen oxit-asparaginaza cho đối tượng. Theo một số phương án thực hiện, đơn vị liều lượng hoàn nguyên dùng cho đối tượng nằm trong khoảng từ 2.000 đến 2.750 IU/m<sup>2</sup> polyalkylen oxit-asparaginaza.

Theo một số phương án thực hiện, phương pháp được bộc lộ phương pháp điều trị đối tượng mắc tình trạng bệnh lý ung thư. Theo một số phương án thực hiện, tình trạng bệnh lý ung thư là ung thư. Theo một số phương án thực hiện, ung thư là bệnh bạch cầu. Theo một số phương án thực hiện, bệnh bạch cầu là bệnh bạch cầu cấp tính nguyên bào lymphô (ALL). Theo một số phương án thực hiện, bệnh bạch cầu là bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (AML).

Theo một số phương án thực hiện, đối tượng được kê phác đồ điều trị bao gồm

pha cảm ứng, pha củng cố và pha duy trì. Theo một số phương án thực hiện, phương pháp bao gồm việc cho đối tượng dùng một đơn vị liều lượng hoàn nguyên duy nhất trong pha cảm ứng và nhiều đơn vị liều lượng hoàn nguyên trong pha duy trì. Theo một số phương án thực hiện, nhiều đơn vị liều lượng hoàn nguyên được dùng cho đối tượng bằng cách cho đối tượng dùng đơn vị liều lượng hoàn nguyên mỗi 3 tuần. Theo một số phương án thực hiện, nhiều đơn vị liều lượng hoàn nguyên được dùng cho đối tượng bằng cách cho đối tượng dùng đơn vị liều lượng hoàn nguyên mỗi 2 tuần.

Theo một số phương án thực hiện, đối tượng là đối tượng vị thành niên. Theo một số phương án thực hiện, đối tượng là đối tượng trưởng thành.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt với lượng là 750 IU/mL, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối uretan, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat bao gồm natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 2,5 đến 3 mg/g và natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 0,7 mg/g, muối là natri clorua với lượng nằm trong khoảng từ 4 đến 4,5 mg/g, và đường là sucroza với lượng nằm trong khoảng từ 40 đến 50 mg/g.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt với lượng là 750 IU/mL, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối uretan, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat bao gồm natri phosphat hai bazơ với lượng là 2,79 mg/g và natri phosphat đơn chức với lượng là 0,6 mg/g, muối là natri clorua với lượng là 4,25 mg/g, và đường là sucroza với lượng là 45 mg/g.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt với lượng là 750 IU/mL, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối succinat, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat bao gồm natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 2,5 đến 3 mg/g và natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 0,7 mg/g, muối là natri clorua với lượng nằm trong khoảng từ 4 đến 4,5 mg/g, và đường là sucroza với lượng nằm trong khoảng từ 40 đến 50 mg/g.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt với lượng là 750 IU/mL, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối succinat, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat bao gồm natri phosphat hai bazơ với lượng là 2,79 mg/g và natri phosphat đơn chức với lượng là 0,6 mg/g, muối là natri clorua với lượng là 4,25 mg/g, và đường là sucroza với lượng là 45 mg/g.

Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza đông khô bằng cách đông khô chế phẩm nước cô đặc theo cách đủ để tạo ra chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô. Chế phẩm nước cô đặc chứa polyalkylen oxit-asparaginaza có nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị bằng liên kết cầu nối với asparaginaza, dung dịch đệm, muối, và đường.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm nước cô đặc chứa trong khoảng từ 1.500 đến 3.000 IU/mL polyalkylen oxit-asparaginaza.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm nước cô đặc chứa trong khoảng từ 0,1 đến 0,5% khối lượng natri phosphat hai bazơ. Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm nước cô đặc chứa trong khoảng từ 0,01 đến 0,1% khối lượng natri phosphat đơn chức.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm nước cô đặc chứa trong khoảng từ 0,1 đến 1% khối lượng natri clorua.

Theo một số phương án thực hiện, chế phẩm nước cô đặc chứa sucroza. Theo một số phương án, sucroza có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10% khối lượng. Theo một số phương án thực hiện, phương pháp cũng bao gồm việc tạo ra chế phẩm nước cô đặc.

Theo một số phương án thực hiện, phương pháp cũng bao gồm việc đưa chế phẩm nước cô đặc vào đồ chứa liều đơn vị và đông khô chế phẩm nước cô đặc trong đồ chứa liều đơn vị. Theo một số phương án thực hiện, đồ chứa liều đơn vị là lọ. Theo một số phương án, lọ này là lọ thủy tinh. Theo một số phương án thực hiện, phương pháp cũng bao gồm việc bít kín chế phẩm đông khô trong đồ chứa liều đơn vị.

Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol. Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyetylen glycol có khối

lượng phân tử nằm trong khoảng từ 2.000 đến 10.000 dalton. Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton.

Theo một số phương án thực hiện, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*.

Theo một số phương án thực hiện, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối uretan. Theo một số phương án thực hiện, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối succinat.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt với lượng là 750 IU/g, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối uretan, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat bao gồm natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 0,25 đến 0,3% khối lượng và natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,07% khối lượng, muối là natri clorua với lượng nằm trong khoảng từ 0,4 đến 0,45% khối lượng, và đường là sucroza với lượng nằm trong khoảng từ 4 đến 5% khối lượng.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt với lượng là 750 IU/g, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối succinat, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat bao gồm natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 0,25 đến 0,3% khối lượng và natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,07% khối lượng, muối là natri clorua với lượng nằm trong khoảng từ 0,4 đến 0,45% khối lượng, và đường là sucroza với lượng nằm trong khoảng từ 4 đến 5% khối lượng.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất kit bao gồm hơn hai đồ chứa liều đơn vị mà mỗi đồ chứa chứa chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô. Chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô chứa polyalkylen oxit-asparaginaza có nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị bằng liên kết cầu nối với asparaginaza, dung dịch đệm, muối, và đường.

Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol. Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử nằm trong khoảng từ 2.000 đến 10.000 dalton. Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton.

Theo một số phương án thực hiện, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*.

Theo một số phương án thực hiện, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối uretan. Theo

một số phương án thực hiện, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối succinat.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 500 đến 1.000 IU/g.

Theo một số phương án thực hiện, dung dịch đệm bao gồm dung dịch đệm phosphat. Theo một số phương án thực hiện, dung dịch đệm phosphat bao gồm natri phosphat hai bazơ và natri phosphat đơn chức. Theo một số phương án thực hiện, natri phosphat hai bazơ có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,5% khối lượng. Theo một số phương án thực hiện, natri phosphat đơn chức có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,1% khối lượng.

Theo một số phương án thực hiện, muối là natri clorua. Theo một số phương án thực hiện, natri clorua có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1% khối lượng.

Theo một số phương án thực hiện, đường bao gồm disaccarit. Theo một số phương án thực hiện, disaccarit bao gồm sucroza. Theo một số phương án thực hiện, đường bao gồm sucroza với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10% khối lượng.

Theo một số phương án thực hiện, đồ chứa liều đơn vị là các lọ. Theo một số phương án thực hiện, các lọ là lọ thủy tinh. Theo một số phương án thực hiện, đồ chứa liều đơn vị được bít kín.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt với lượng là 750 IU/g, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối uretan, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat bao gồm natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 0,25 đến 0,3% khối lượng và natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,07% khối lượng, muối là natri clorua với lượng nằm trong khoảng từ 0,4 đến 0,45% khối lượng, và đường là sucroza với lượng nằm trong khoảng từ 4 đến 5% khối lượng.

Theo một số phương án thực hiện, polyalkylen oxit-asparaginaza có mặt với lượng là 750 IU/g, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối succinat, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat bao gồm natri phosphat hai bazơ với lượng nằm trong khoảng từ 0,25 đến 0,3% khối lượng và natri phosphat đơn chức với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,07% khối lượng, muối là natri clorua với lượng nằm trong khoảng từ 0,4 đến 0,45% khối lượng, và đường là

sucroza với lượng nằm trong khoảng từ 4 đến 5% khối lượng.

Theo phương án thực hiện khác, phần mô tả còn bộc lộ phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (AML). Phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng dùng polyalkylen oxit-asparaginaza với liều dùng hữu hiệu để điều trị đối tượng mắc AML, trong đó polyalkylen oxit-asparaginaza có nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị bằng liên kết cầu nối với asparaginaza.

Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol. Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử nằm trong khoảng từ 2.000 đến 10.000 dalton. Theo một số phương án thực hiện, nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton.

Theo một số phương án thực hiện, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*.

Theo một số phương án thực hiện, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối uretan. Theo một số phương án thực hiện, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối succinat.

Theo một số phương án thực hiện, liều dùng chứa trong khoảng từ 700 đến 800 IU/mL polyalkylen oxit- asparaginaza.

Theo một số phương án thực hiện, liều dùng chứa dung dịch đệm và muối. Theo một số phương án thực hiện, dung dịch đệm bao gồm dung dịch đệm phosphat. Theo một số phương án thực hiện, dung dịch đệm phosphat bao gồm natri phosphat hai bazơ và natri phosphat đơn chức. Theo một số phương án thực hiện, liều dùng chứa trong khoảng từ 5,25 đến 5,75 mg/g natri phosphat hai bazơ. Theo một số phương án thực hiện, liều dùng chứa trong khoảng từ 1,0 đến 1,5 mg/g natri phosphat đơn chức. Theo một số phương án thực hiện, muối là natri clorua. Theo một số phương án, liều dùng chứa trong khoảng từ 8 đến 9 mg/g natri clorua.

Theo một số phương án thực hiện, liều dùng bao gồm 750 IU/mL polyalkylen oxit-asparaginaza, nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối uretan, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat chứa trong khoảng từ 5,25 đến 5,75 mg/g natri phosphat hai bazơ và từ 1 đến 1,5 mg/g natri phosphat đơn chức, và muối chứa trong khoảng từ 8 đến 9 mg/g natri clorua.

Theo một số phương án thực hiện, liều dùng bao gồm 750 IU/mL polyalkylen oxit-asparaginaza, nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối uretan, dung

dịch đậm là dung dịch đậm phosphat chứa 5,58 mg/g natri phosphat hai bazơ và 1,29 mg/g natri phosphat đơn chức, và muối chứa 8,5 mg/g natri clorua.

Theo một số phương án thực hiện, liều dùng bao gồm 750 IU/mL polyalkylen oxit-asparaginaza, nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối succinat, dung dịch đậm là dung dịch đậm phosphat chứa trong khoảng từ 5,25 đến 5,75 mg/g natri phosphat hai bazơ và từ 1 đến 1,5 mg/g natri phosphat đơn chức, và muối chứa trong khoảng từ 8 đến 9 mg/g natri clorua.

Theo một số phương án thực hiện, liều dùng bao gồm 750 IU/mL polyalkylen oxit-asparaginaza, nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối succinat, dung dịch đậm là dung dịch đậm phosphat chứa 5,58 mg/g natri phosphat hai bazơ và 1,29 mg/g natri phosphat đơn chức, và muối chứa 8,5 mg/g natri clorua.

Theo một số phương án thực hiện, liều dùng chứa dung dịch đậm, muối và đường. Theo một số phương án thực hiện, dung dịch đậm bao gồm dung dịch đậm phosphat. Theo một số phương án thực hiện, dung dịch đậm phosphat bao gồm natri phosphat hai bazơ và natri phosphat đơn chức. Theo một số phương án thực hiện, liều dùng chứa trong khoảng từ 2,5 đến 3 mg/g natri phosphat hai bazơ. Theo một số phương án, liều dùng chứa trong khoảng từ 0,45 đến 0,75 mg/g natri phosphat đơn chức. Theo một số phương án thực hiện, muối là natri clorua. Theo một số phương án thực hiện, liều dùng chứa trong khoảng từ 4 đến 4,5 mg/g natri clorua. Theo một số phương án thực hiện, đường bao gồm disaccarit. Theo một số phương án thực hiện, disaccarit bao gồm sucroza. Theo một số phương án thực hiện, sucroza có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 40 đến 50 mg/g.

Theo một số phương án thực hiện, liều dùng bao gồm 750 IU/mL polyalkylen oxit-asparaginaza, nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối uretan, dung dịch đậm là dung dịch đậm phosphat chứa trong khoảng từ 2,5 đến 3 mg/g natri phosphat hai bazơ và từ 0,5 đến 0,7 mg/g natri phosphat đơn chức, muối chứa trong khoảng từ 4 đến 4,5 mg/g natri clorua, và đường chứa trong khoảng từ 40 đến 50 mg/g sucroza.

Theo một số phương án thực hiện, liều dùng bao gồm 750 IU/mL polyalkylen oxit-asparaginaza, nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton,

asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối uretan, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat chứa 2,79 mg/g natri phosphat hai bazơ và 0,6 mg/g natri phosphat đơn chức, muối chứa 4,25 mg/g natri clorua, và đường chứa 45 mg/g sucroza.

Theo một số phương án thực hiện, liều dùng bao gồm 750 IU/mL polyalkylen oxit-asparaginaza, nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối succinat, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat chứa trong khoảng từ 2,5 đến 3 mg/g natri phosphat hai bazơ và từ 0,5 đến 0,7 mg/g natri phosphat đơn chức, muối chứa trong khoảng từ 4 đến 4,5 mg/g natri clorua, và đường chứa trong khoảng từ 40 đến 50 mg/g sucroza.

Theo một số phương án thực hiện, liều dùng bao gồm 750 IU/mL polyalkylen oxit-asparaginaza, nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton, asparaginaza là asparaginaza *E. coli*, liên kết cầu nối là liên kết cầu nối succinat, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat chứa 2,79 mg/g natri phosphat hai bazơ và 0,6 mg/g natri phosphat đơn chức, muối chứa 4,25 mg/g natri clorua, và đường chứa 45 mg/g sucroza.

Theo một số phương án thực hiện, phương pháp cũng bao gồm việc tạo ra liều bằng cách hoàn nguyên chế phẩm ổn định trong điều kiện cất giữ đông khô.

Theo một số phương án thực hiện, liều dùng cho đối tượng nằm trong khoảng từ 1.500 đến 3.000 IU/m<sup>2</sup> polyalkylen oxit-asparaginaza. Theo một số phương án thực hiện, liều dùng cho đối tượng nằm trong khoảng từ 2.000 đến 2.750 IU/m<sup>2</sup> polyalkylen oxit-asparaginaza.

Theo một số phương án thực hiện, đối tượng được kê phác đồ điều trị bao gồm pha cảm ứng, pha củng cố và pha duy trì. Theo một số phương án thực hiện, phương pháp bao gồm việc cho đối tượng dùng một liều duy nhất trong pha cảm ứng và nhiều liều trong pha duy trì. Theo một số phương án thực hiện, nhiều liều dùng cho đối tượng bằng cách cho cho đối tượng dùng liều mỗi 3 tuần. Theo một số phương án thực hiện, nhiều liều dùng cho đối tượng bằng cách cho cho đối tượng dùng liều mỗi 2 tuần.

Theo một số phương án thực hiện, đối tượng là đối tượng vị thành niên. Theo một số phương án thực hiện, đối tượng là đối tượng trưởng thành.

Mặc dù các phương án trên đây đã được mô tả một cách chi tiết bằng cách minh họa và ví dụ nhằm mục đích hiểu rõ ràng sáng chế, nhưng người có hiểu biết trong lĩnh

vực kỹ thuật này hiển nhiên hiểu rằng có thể thực hiện các thay đổi và cải biến nhất định mà không tách rời khỏi tinh thần hoặc phạm vi của các yêu cầu kèm theo.

Theo đó, phần mô tả trên đây chỉ đơn thuần minh họa các nguyên tắc của các phương án theo sáng chế. người có hiểu biết trong lĩnh vực kỹ thuật này hiển nhiên hiểu rằng có thể đưa ra các cách bố trí khác nhau, mặc dù không được mô tả hoặc trình bày rõ ràng trong bản mô tả này, thể hiện các nguyên tắc của các phương án theo sáng chế và nằm trong tinh thần và phạm vi của sáng chế. Hơn nữa, tất cả các ví dụ và ngôn ngữ có điều kiện được trích dẫn trong bản mô tả này chủ yếu nhằm giúp người đọc hiểu được các nguyên tắc của các phương án theo sáng chế và các khái niệm được đóng góp bởi các tác giả sáng chế để đẩy mạnh tình trạng kỹ thuật, và được hiểu là không giới hạn ở các ví dụ và điều kiện cụ thể như vậy. Hơn nữa, tất cả các phần mô tả ở đây đều thể hiện các nguyên tắc, khía cạnh và phương án theo sáng chế cũng như các ví dụ cụ thể của chúng, nhằm mục đích bao hàm cả các dạng tương đương về cấu trúc và chức năng của chúng. Ngoài ra, cũng dự định rằng các dạng tương đương như vậy bao gồm cả dạng tương đương hiện đã biết và dạng tương đương sẽ phát triển trong tương lai, tức là, các yếu tố bất kỳ được phát triển mà thực hiện cùng chức năng, bất kể cấu trúc. Do đó, phạm vi của các phương án theo sáng chế, không nhằm giới hạn ở các phương án được thể hiện và mô tả trong bản mô tả này. Thay vào đó, phạm vi và tinh thần của các phương án theo sáng chế được thể hiện bởi các yêu cầu bảo hộ kèm theo.

**YÊU CẦU BẢO HỘ**

1. Chế phẩm đông khô hoàn nguyên chứa:

polyalkylen oxit-asparaginaza với nồng độ nằm trong khoảng từ 100 đến 5.000 IU trên một ml chế phẩm;

natri phosphat đibazơ với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,8% khối lượng;

natri phosphat monobazơ với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,5% khối lượng;

muối với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,05 đến 1% khối lượng; và

đường với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 25% khối lượng,

trong đó polyalkylen oxit-asparaginaza bao gồm asparaginaza được liên kết cộng hóa trị với nhóm polyalkylen oxit.

2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó:

a. nồng độ của natri phosphat đibazơ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,5% khối lượng, hoặc 0,2 đến 0,3% khối lượng; và

b. nồng độ của natri phosphat monobazơ nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,1% khối lượng, hoặc 0,05 đến 0,07% khối lượng.

3. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó:

nồng độ của đường nằm trong khoảng từ 0,5 đến 20% khối lượng, 1 đến 10% khối lượng, hoặc 4 đến 5% khối lượng.

4. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó muối là natri clorua, kali clorua, canxi clorua, magie clorua, hoặc hỗn hợp của chúng, tùy ý trong đó muối là natri clorua.

5. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó đường là monosacarit, disacarit, hoặc polysacarit, tùy ý trong đó đường là sucroza, manitol, maltoza, trehaloza, 2-hydroxypropyl-beta-xyclodextrin ( $\beta$ -HPCD), lactoza, glucoza, fructoza, galactoza, glucosamin, hoặc các hỗn hợp của chúng, còn tùy ý trong đó đường là sucroza.

6. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó nồng độ của polyalkylen oxit-asparaginaza là:

a. 500 đến 1.000 IU trên một ml chế phẩm;

b. 700 đến 800 IU trên một ml chế phẩm; hoặc

c. 750 IU trên một ml chế phẩm.

7. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó nhóm polyalkylen oxit bao gồm nhóm polyetylen glycol, tùy ý trong đó:

- a. nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử nằm trong khoảng từ 2.000 đến 10.000 dalton; hoặc
- b. nhóm polyetylen glycol có khối lượng phân tử là 5.000 dalton.

8. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó cầu liên kết là cầu liên kết uretan hoặc succinat.

9. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó chế phẩm này còn bao gồm natri hydroxit hoặc axit clohydric.

10. Chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô bao gồm:

polyalkylen oxit-asparaginaza;

dung dịch đệm bao gồm natri phosphat đibazơ và natri phosphat monobazơ;

muối; và

đường,

trong đó chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô có khả năng tạo thành chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9 bằng cách hoàn nguyên chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô này với nước dùng để tiêm (water for injection-WFI).

11. Phương pháp điều chế chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza đông khô, trong đó phương pháp này bao gồm bước làm đông khô chế phẩm cô đặc trong nước chứa:

- (i) polyalkylen oxit-asparaginaza bao gồm nhóm polyalkylen oxit được liên kết cộng hóa trị với asparaginaza bằng cầu liên kết;
- (ii) dung dịch đệm, bao gồm natri phosphat đibazơ và natri phosphat monobazơ;
- (iii) muối; và
- (iv) đường,

theo cách đủ để tạo thành chế phẩm polyalkylen oxit-asparaginaza ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô theo điểm 10,

tùy ý trong đó phương pháp này còn bao gồm bước cho chế phẩm cô đặc chứa nước vào đồ chứa liều đơn vị và làm đông khô chế phẩm cô đặc chứa nước trong đồ chứa liều đơn vị này, tùy ý trong đó đồ chứa liều đơn vị là lọ, như lọ thủy tinh được bít kín.

12. Kit bao gồm một hoặc nhiều đồ chứa liều đơn vị chứa chế phẩm ổn định trong điều kiện bảo quản đông khô theo điểm 10.

1/13

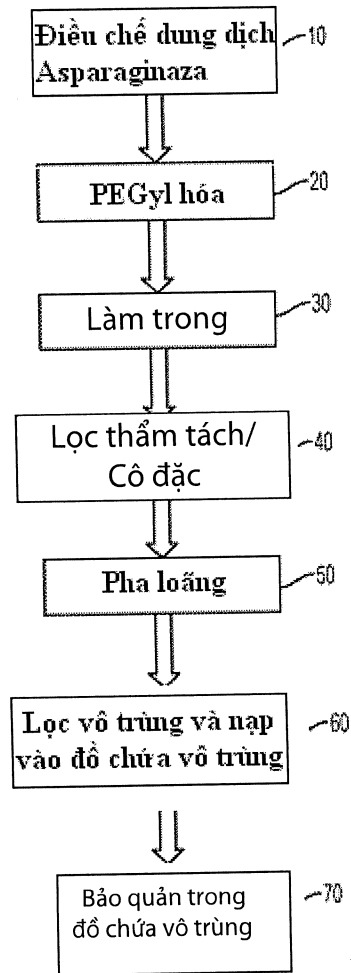


FIG. 1

2/13

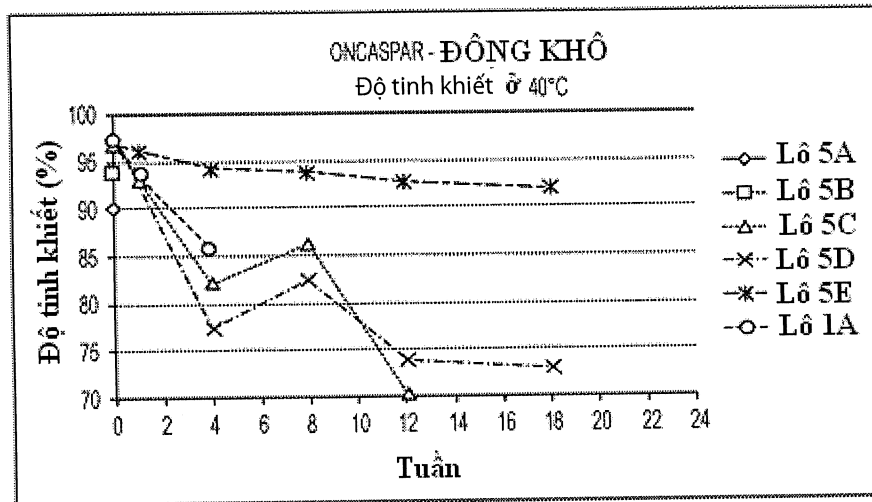


FIG. 2

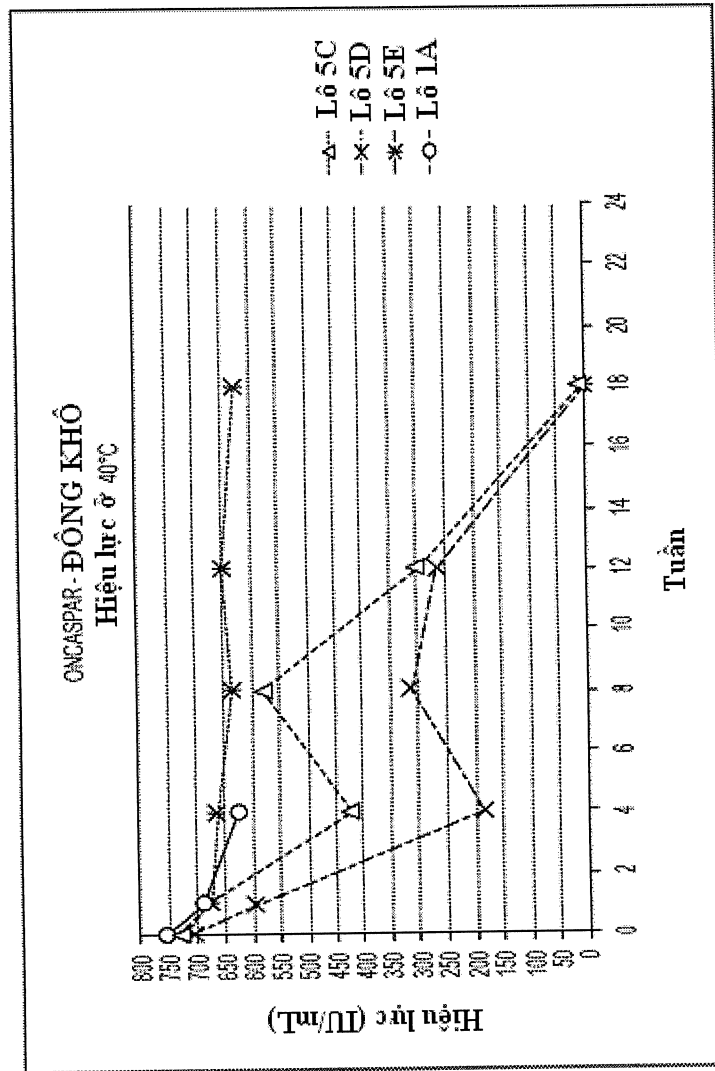


FIG. 3

4/13

ONCASPAP - ĐÔNG KHÔ

Độ tinh khiết ở 25°C

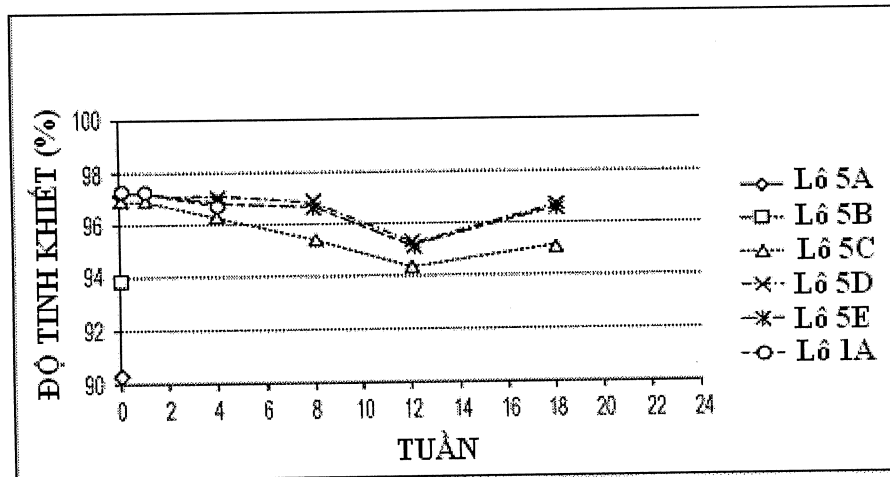


FIG. 4

5/13

ONCASPAR - ĐÔNG KHÔ  
HIỆU LỰC Ở 25°C

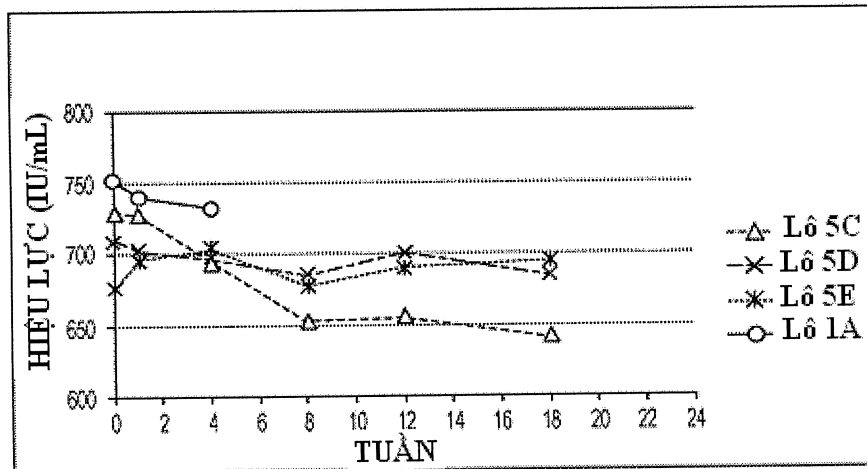


FIG. 5

6/13

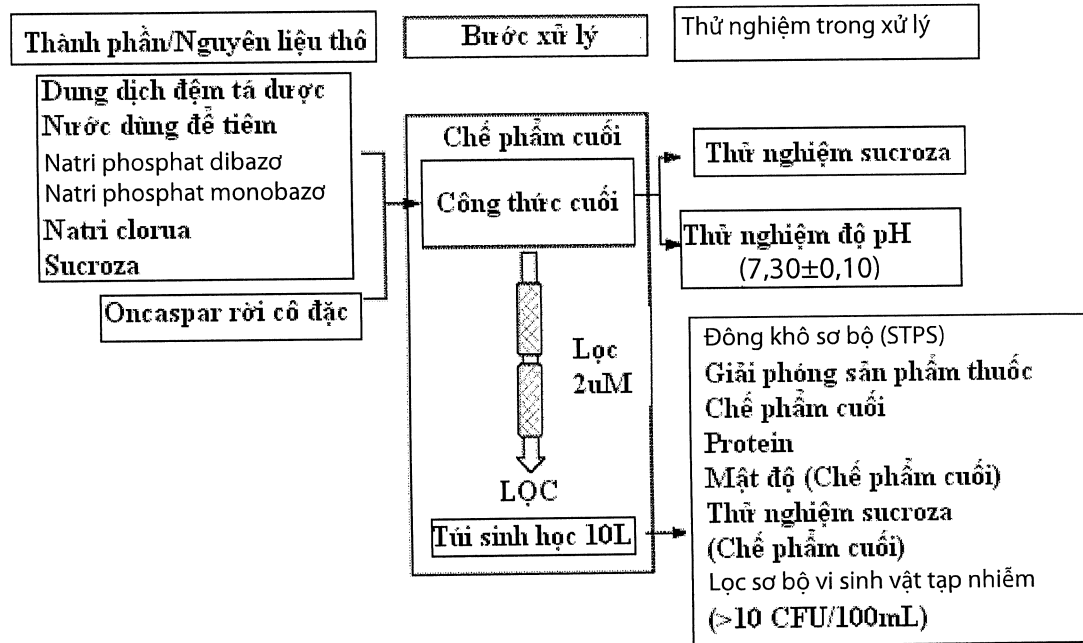


FIG. 6

7/13

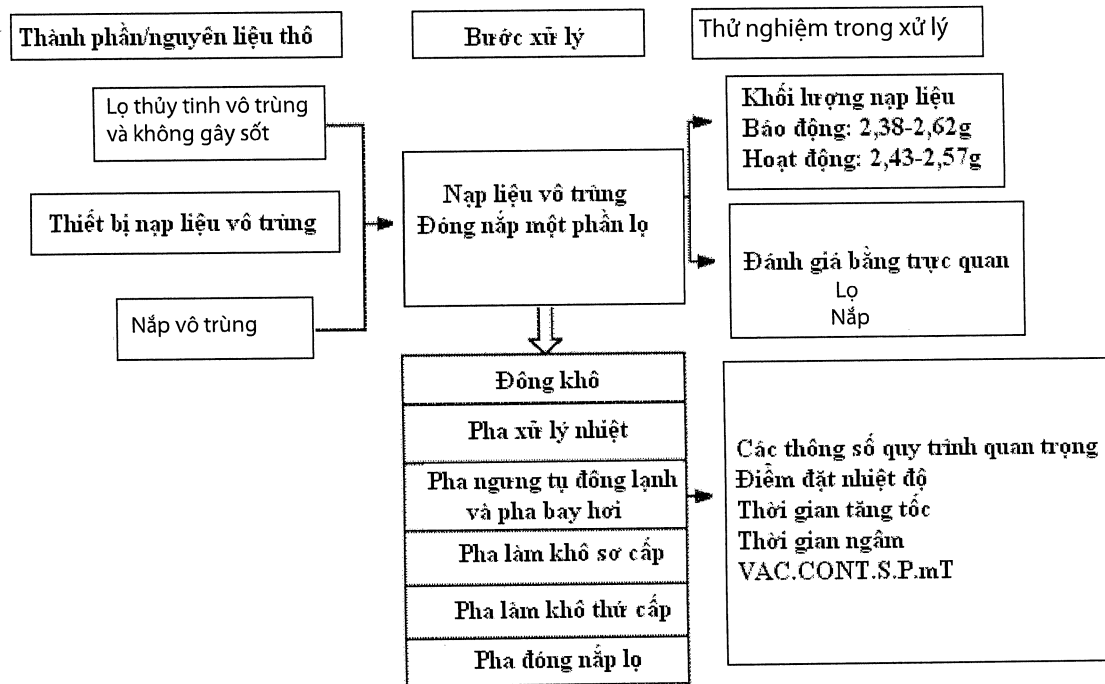


FIG. 7

8/13

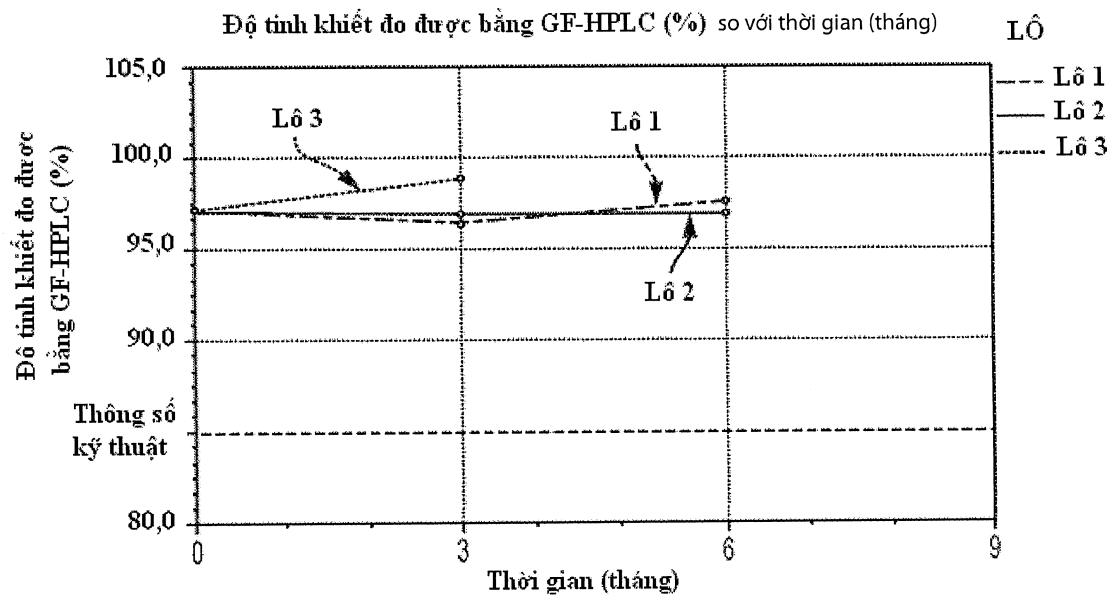


FIG. 8

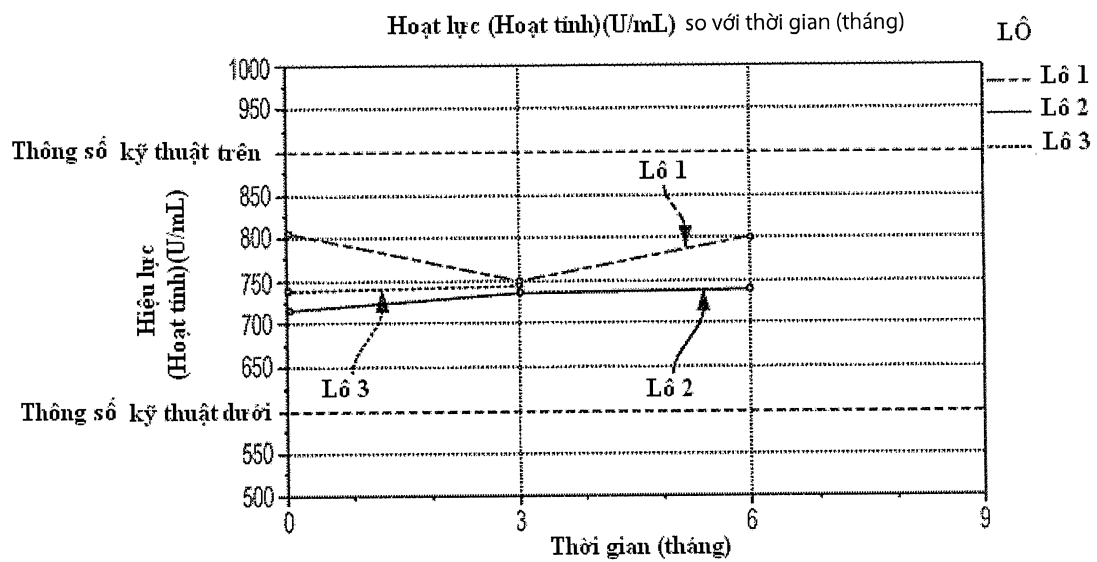


FIG. 9

9/13

Tổng % mức kết tụ đo được bằng GF-HPLC so với thời gian (tháng)

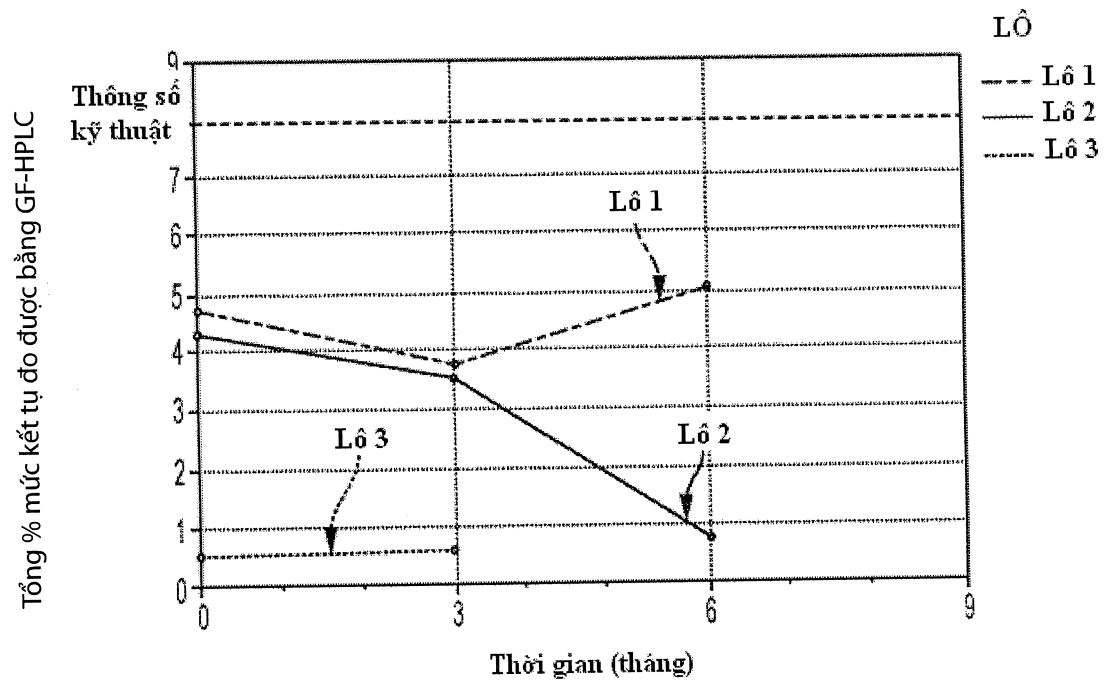


FIG. 10

10/13

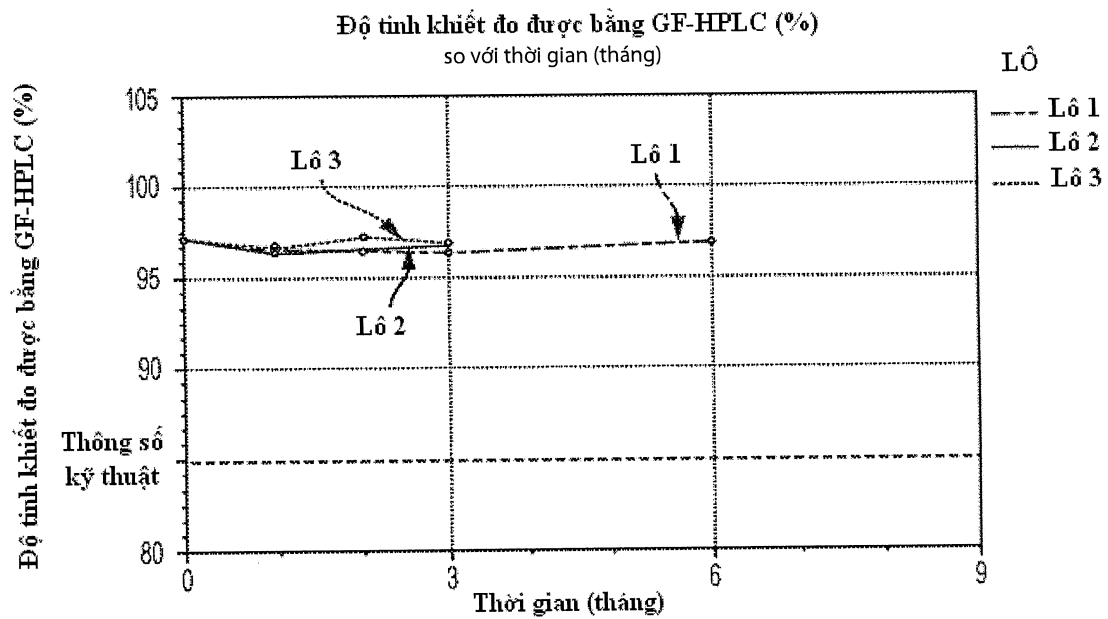


FIG. 11

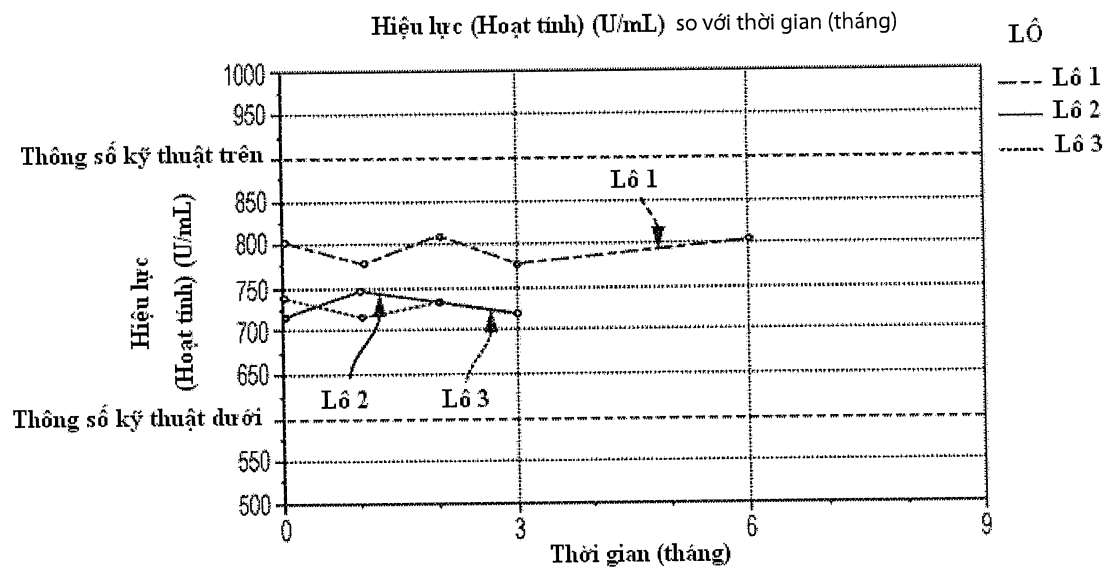


FIG. 12

11/13

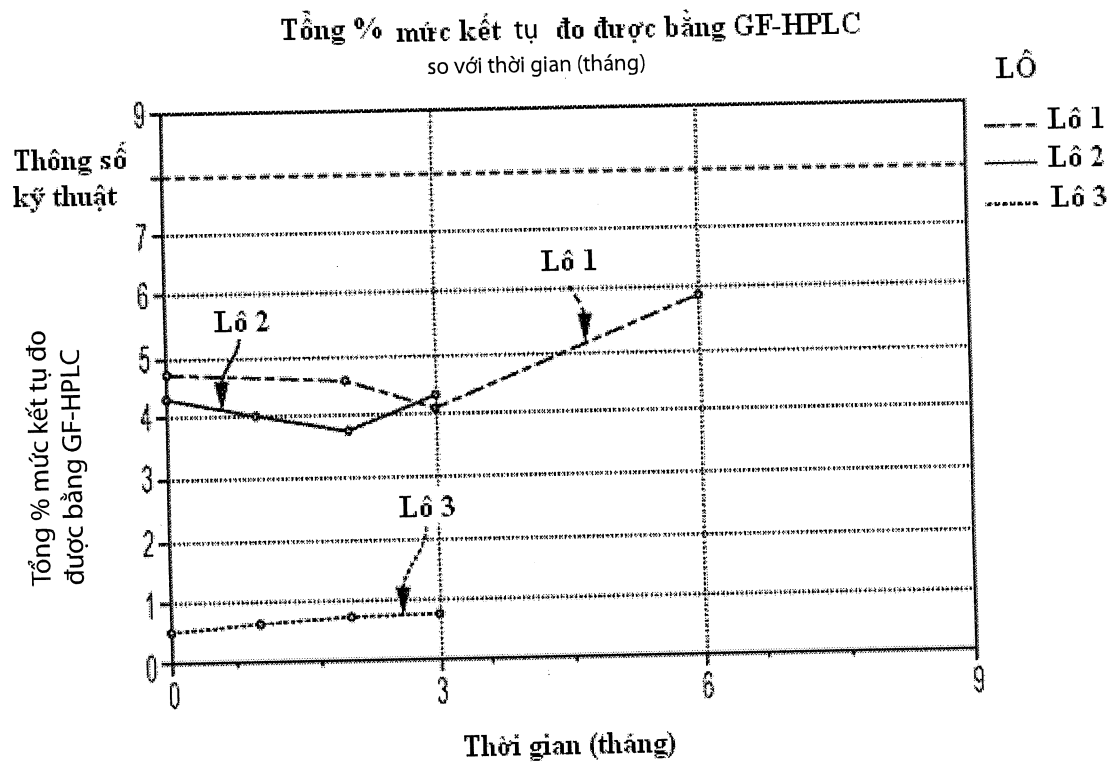


FIG. 13

12/13

Độ tinh khiết đo được bằng GF-HPLC (%)  
so với thời gian (tháng)

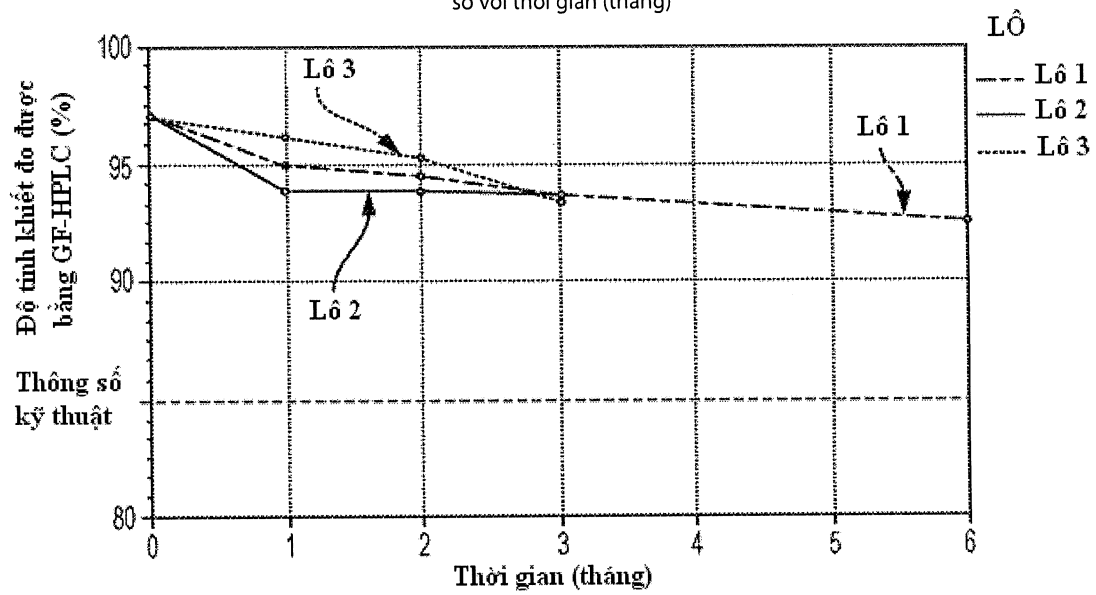


FIG. 14

Hiệu lực (Hoạt tính)(U/mL)  
so với thời gian (tháng)

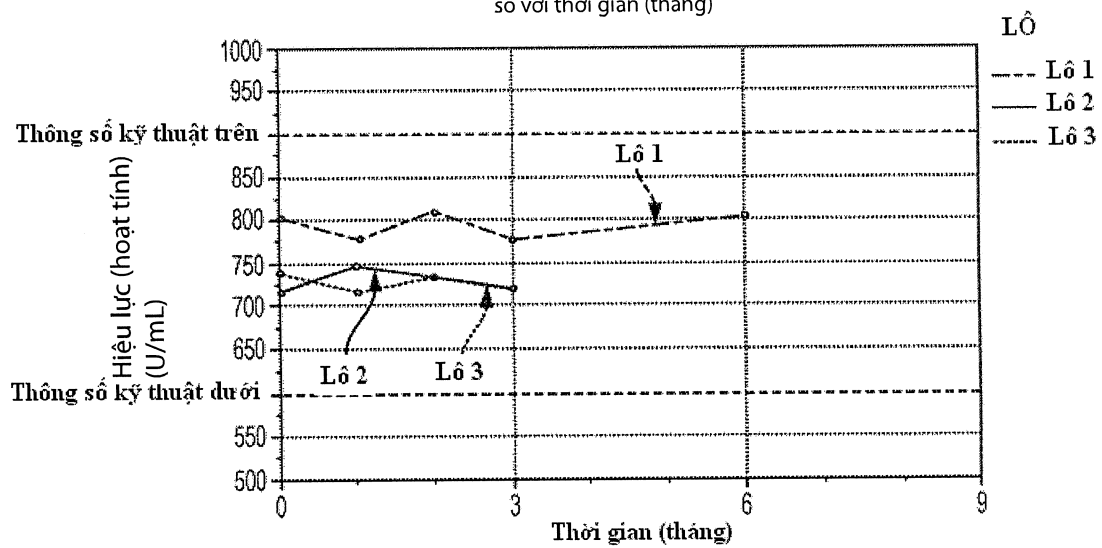


FIG. 15

13/13

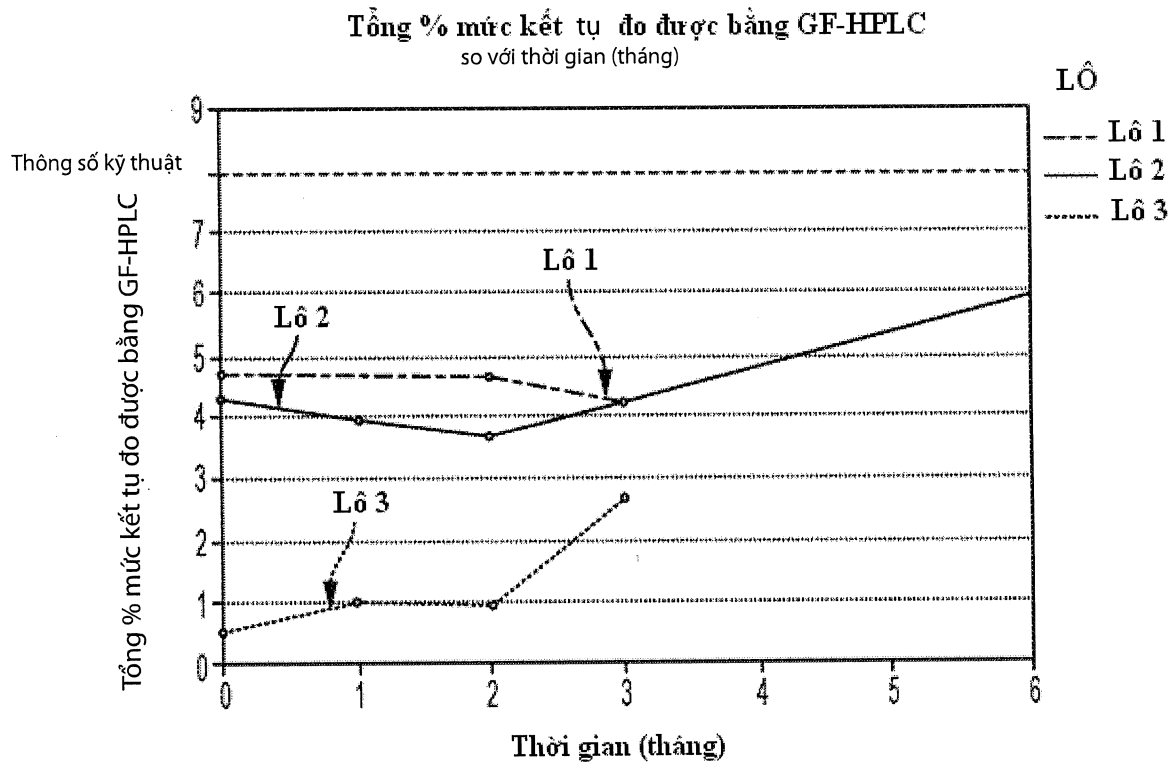


FIG. 16