



(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)



1-0047924

(51)^{2020.01} A61K 31/69; C07F 5/02; A61P 35/00

(13) B

(21) 1-2020-05623

(22) 04/03/2019

(86) PCT/US2019/020507 04/03/2019

(87) WO 2019/173188 12/09/2019

(30) 62/638,412 05/03/2018 US

(45) 25/06/2025 447

(43) 25/03/2021 396A

(73) ARCUS BIOSCIENCES, INC. (US)

3928 Eden Way, Hayward, California 94545, United States of America

(72) FOLEY, Corinne, Nicole (US); GRANGE, Rebecca, Louise (AU); GUNEY, Tezcan (TR); KALISIAK, Jaroslaw (PL); NEWCOMB, Eric, Thomas (US); TRAN, Anh, Thu (AU).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT ỨC CHẾ ARGINAZA VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(21) 1-2020-05623

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất là chất ức chế của ít nhất một trong số ARG1 và ARG2, và dược phẩm chứa hợp chất và phương pháp tổng hợp hợp chất này. Sáng chế cũng đề cập đến hợp chất và dược phẩm này dùng để điều trị một loạt bệnh, rối loạn, và tình trạng bệnh lý, bao gồm rối loạn liên quan đến bệnh ung thư và miễn dịch mà được điều tiết ít nhất một phần bởi ARG1 và ARG2.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất hoặc dược phẩm mà ức chế ít nhất một trong số ARG1 và ARG2 và có thể được sử dụng trong điều trị bệnh được điều tiết ít nhất một phần bởi ARG1 và/hoặc ARG2.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Arginaza giữ vai trò cơ bản trong chu trình ure trong gan, chuyển hóa L-arginin thành L-ornithin và ure. Ngoài ra, arginaza cho thấy là có khả năng chịu trách nhiệm hoặc tham gia vào quá trình loạn chức năng miễn dịch khởi phát do viêm, quá trình thoát miễn dịch khối u, quá trình ức chế miễn dịch và quá trình miễn dịch của bệnh lây nhiễm [Bronte V, Zanovello P (2005b). Regulation of immune responses by L-arginine metabolism. *Nat Rev Immunol* 5: 641-654].

Ở người, hai arginaza isoenzym tồn tại, arginaza I (ARG-1) và arginaza II (ARG-2). Chúng xúc tác phản ứng hóa sinh giống nhau nhưng khác nhau về sự biểu hiện tế bào, sự điều hòa và sự định vị dưới tế bào [Jenkinson et al. (1996)]. Comparative properties of arginases. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 114: 107-132]. ARG-1 làm tiêu arginin khỏi vi môi trường khối u, dẫn đến chức năng tế bào T suy giảm như dừng tăng sinh và dừng tiết xytokin. [Rodriguez et al (2002). Regulation of T cell receptor CD3zeta chain expression by L-arginine. *J Biol Chem* 277: 21123–21129; Munder, Arginasa in the Immune System, *British Journal of Pharmacology* (2009) 158 638–651]. Nồng độ arginaza cao được tìm thấy ở bệnh nhân mắc các bệnh ung thư khác nhau, bao gồm bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư vú và bệnh ung thư phổi [Suer et al (1999). Arginase and ornithine, as markers in human non-small cell lung carcinoma. *Cancer Biochem Biophys* 17:125–31; Singh et al (2000). Arginasa activity in human cancer cell lines: N(omega)-hydroxy-L-arginine selectively inhibits cell proliferation và induces apoptosis in MDA-MB-468 cells. *Cancer Res* 60:3305–12].

Như vậy, có yêu cầu trong lĩnh vực kỹ thuật đối với chất ức chế arginaza. Sáng chế giải quyết yêu cầu này và cũng tạo ra các ưu điểm liên quan.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

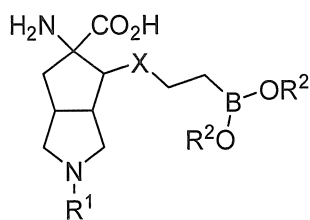
Sáng chế đề xuất hợp chất ức chế arginaza, và chế phẩm (ví dụ, dược phẩm) chứa các hợp chất này. Các hợp chất này, bao gồm các phương pháp tổng hợp chúng, và dược phẩm được mô tả chi tiết dưới đây.

Sáng chế cũng đề xuất việc sử dụng các hợp chất và dược phẩm này để điều trị và/hoặc ngăn ngừa một loạt bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý được điều tiết, toàn bộ hoặc một phần, bằng arginaza. Các bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý này được mô tả chi tiết ở đây. Trừ khi được chỉ ra khác, khi sử dụng hợp chất theo sáng chế được mô tả ở đây, cần hiểu rằng các hợp chất này có thể ở dạng chế phẩm (ví dụ, dược phẩm).

Như được thảo luận dưới đây, mặc dù hợp chất theo sáng chế được cho là hoạt tính của chúng bị ảnh hưởng bởi sự ức chế arginaza, nhưng không cần thiết phải hiểu chính xác về cơ chế hoạt động cơ bản của các hợp chất này để thực hiện sáng chế.

Arginaza là enzyme tồn tại ở động vật có vú ở hai dạng đồng phân: ARG-1 được tìm thấy trong bào tương và chủ yếu biểu hiện ở gan trong khi ARG-2 được tìm thấy trong ty thể và được biểu hiện trong thận, ruột non, não, bạch cầu đơn nhân và đại thực bào. Arginaza xúc tác sự chuyển hóa của axit amin L-arginin thành ornithin và ure, là tiền chất quan trọng đối với con đường chuyển hóa hướng xuôi cho phép tái tạo mô, tăng sinh tế bào và đáp ứng chống viêm. L-arginin cũng có thể được chuyển hóa bởi nitric oxid synthaza (NOS), tạo ra nitric oxid, là hợp chất rất dễ phản ứng quan trọng trong cơ chế gây độc tế bào của đại thực bào. ARG-1 được cho là được ưu tiên biểu hiện trong khối u xâm nhập các tế bào ức chế thu được từ tủy (myeloid-derived suppressor cell - MDSC), dẫn đến làm tiêu arginin khỏi vi môi trường khối u. Sự tiêu này còn dẫn đến mất biểu hiện của chuỗi TCR zeta, yếu tố truyền tín hiệu chính của TCR, gây suy giảm sự tăng sinh và giảm sản xuất cytokin. Như vậy, các phương án nhất định của sáng chế đề xuất hợp chất và phương pháp điều trị bệnh ung thư bằng cách tăng mức arginin trong vi môi trường khối u, do đó cho phép hoạt hóa tế bào T gây độc tế bào của cơ thể. [Timosenko, Modulation of cancer-specific immune responses by amino acid degrading enzymes. Immunotherapy (2017) 9(1), 83–97].

Theo một khía cạnh cụ thể, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I):



(I)

hoặc muối, hydrat hoặc solvat được dụng của nó, trong đó,

X là CH_2 , NH hoặc O ;

R^1 là thành phần được chọn từ nhóm bao gồm H , $-X^a-NH_2$, $-C(O)-X^a-NH_2$ và $-R^c$, trong đó

X^a là C_{1-4} alkylen không được thế hoặc được thế bằng một hoặc hai R^a ;

mỗi R^a độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-6} alkyl và aryl(C_{1-4} alkyl); trong đó C_{1-6} alkyl không được thế hoặc được thế bằng hydroxyl, metoxy, amino, thiol, $-CO_2H$, $-CONH_2$, và $-NHCONH_2$; và aryl được chọn từ nhóm bao gồm phenyl, hydroxyphenyl, metoxyphenyl và indol; và

R^c là vòng dị vòng no có từ bốn đến sáu cạnh có đỉnh vòng được chọn từ nhóm bao gồm O và NH ; hoặc là C_{1-6} alkyl không được thế hoặc được thế bằng một đến ba phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxyl và amino; hoặc

R^1 là axit amin có trong tự nhiên;

mỗi R^2 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H và C_{1-6} alkyl; hoặc hai nhóm R^2 được kết hợp với các nguyên tử mà mỗi nhóm được gắn vào để tạo ra vòng đơn vòng hoặc hai vòng có từ năm đến tám cạnh, không được thế hoặc được thế bằng một đến bốn phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxyl và metyl.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh ung thư ở đối tượng (ví dụ, người) bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng cho hiệu quả điều trị của ít nhất một chất ức chế arginaza được mô tả ở đây. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh ung thư ở đối tượng bằng cách dùng cho đối tượng ít nhất một trong số hợp chất được mô tả ở đây với lượng hữu hiệu để làm chậm, làm dừng hoặc đảo ngược sự tiến triển của sự ức chế miễn dịch được điều tiết bởi arginaza. Theo một số phương án, sự ức chế miễn dịch được điều tiết bởi arginaza qua trung gian tế bào ức chế thu được từ tủy (MDSC).

Ví dụ về các bệnh ung thư có thể được điều trị bằng cách sử dụng hợp chất và được phẩm được mô tả ở đây bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở: bệnh ung thư tuyến tiền liệt, đại trực tràng, tụy, cổ tử cung, dạ dày, màng trong tử cung, não, gan, bàng quang, buồng trứng, tinh hoàn, đầu, cổ, da (bao gồm u hắc sắc tố và caxinom tế bào đáy), lớp lót trung biểu mô, tế bào bạch cầu (bao gồm u lympho và bệnh bạch cầu) thực quản, vú, cơ, mô liên kết, phổi (bao gồm caxinom phổi tế bào nhỏ và caxinom phổi không tế bào nhỏ), tuyến thượng thận, tuyến giáp, thận hoặc xương; u nguyên bào xốp, u trung biểu mô, caxinom tế bào thận, caxinom dạ dày, sacom, bệnh ung thư rau, caxinom tế bào đáy qua da và u tinh seminom tinh hoàn. Theo một số phương án của sáng chế, bệnh ung thư là u hắc sắc tố, bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư phổi, bệnh bạch cầu, khối u não, u lympho, sacom, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư đầu và cổ, bệnh ung thư cổ tử cung hoặc sacom Kaposi. Bệnh ung thư là ứng viên để điều trị bằng hợp chất và được phẩm theo sáng chế được thảo luận thêm dưới đây.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị cho đối tượng nhận cấy ghép tủy xương hoặc cấy ghép tế bào gốc máu ngoại vi bằng việc dùng lượng cho hiệu quả điều trị của chất ức chế arginaza.

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa rối loạn lây nhiễm (ví dụ, lây nhiễm virus) ở đối tượng (ví dụ, người) bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng cho hiệu quả điều trị của ít nhất một chất ức chế arginaza (ví dụ, chất ức chế mới của sáng chế này). Theo một số phương án, rối loạn lây nhiễm là lây nhiễm virus (ví dụ, lây nhiễm virus mạn tính), lây nhiễm vi khuẩn, lây nhiễm nấm, hoặc lây nhiễm ký sinh trùng. Theo các phương án nhất định, lây nhiễm virus là virus gây suy giảm miễn dịch ở người hoặc cytomegalovirus.

Vẫn theo các phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý liên quan đến miễn dịch ở đối tượng (ví dụ, người), bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng cho hiệu quả điều trị của ít nhất một chất ức chế arginaza được mô tả ở đây. Ví dụ về bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý liên quan đến miễn dịch được mô tả dưới đây.

Các bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý khác có thể được điều trị hoặc ngăn ngừa, toàn bộ hoặc một phần, bằng cách điều biến hoạt tính arginaza là chỉ thị ứng viên đối với hợp chất ức chế arginaza theo sáng chế.

Sáng chế cũng đề xuất việc sử dụng chất ức chế arginaza được mô tả ở đây kết hợp với một hoặc nhiều chất bổ sung. Một hoặc nhiều chất bổ sung có thể có chức năng nhờ cơ chế hoạt động riêng biệt. Theo một số phương án, các chất này bao gồm chất phóng xạ (ví dụ, liệu pháp bức xạ cục bộ hoặc liệu pháp bức xạ toàn thân) và/hoặc phương thức điều trị khác có bản chất không dùng thuốc. Khi liệu pháp kết hợp được sử dụng, (các) hợp chất được mô tả ở đây và một (các) chất khác có thể ở dạng một dược phẩm duy nhất hoặc nhiều dược phẩm, và các phương thức điều trị có thể được sử dụng đồng thời, lần lượt hoặc thông qua một số phác đồ khác. Ví dụ, sáng chế đề xuất phác đồ điều trị trong đó giai đoạn phóng xạ sau đó là giai đoạn hóa trị liệu. Liệu pháp kết hợp có thể có tác dụng cộng hợp hoặc hiệp đồng. Các lợi ích khác của liệu pháp kết hợp được mô tả dưới đây.

Theo các phương án cụ thể, sáng chế đề xuất việc sử dụng chất ức chế arginaza được mô tả ở đây kết hợp với các chất ức chế điểm kiểm tra miễn dịch. Sự chặn điểm kiểm tra miễn dịch, dẫn đến khuếch đại quá trình đáp ứng tế bào T đặc hiệu kháng nguyên, cho thấy đây là phương pháp đầy hứa hẹn trong điều trị ung thư ở người. Ví dụ về các điểm kiểm tra miễn dịch (phối tử và thụ thể), một số trong số đó được điều chỉnh chọn lọc trong các loại tế bào khối u khác nhau, đó là các ứng viên để chặn bao gồm PD1 (protein gây chết tế bào theo chương trình 1); PDL1 (phối tử PD1); BTLA (chất làm giảm tế bào lympho B và T); CTLA4 (kháng nguyên liên kết tế bào lympho T gây độc tế bào 4); TIM3 (protein màng tế bào T 3); LAG3 (gen hoạt hóa tế bào lympho 3); TIGIT (thụ thể miễn dịch tế bào T với domain Ig và ITIM); và thụ thể ức chế giết tế bào. Các chất ức chế điểm kiểm tra miễn dịch và liệu pháp kết hợp với nó, được thảo luận chi tiết ở đây.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở đối tượng, bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng cho hiệu quả điều trị của ít nhất một chất ức chế arginaza và ít nhất một chất hóa trị liệu, các chất này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở chất alkyl hóa (ví dụ, nitơ mù tạt như chlorambuxil, xyclophosphamit, isofamit, mechlorethamin, melphalan, và uraxil mù tạt; aziridin như thiotepa; metansulphonat este như busulfan; chất tương tự nucleosit (ví dụ, gemcitabin); nitroso

ure như carmustin, lomustin, và streptozocin; topoisomeraza I (ví dụ, irinotecan); phức chất platin như cisplatin, carboplatin và oxaliplatin; chất alkyl hóa khử sinh học như mitomycin, procarbazine, dacarbazine và altretamine; liệu pháp dựa vào antracyclin (ví dụ, doxorubicin, daunorubicin, epirubicin và idarubicin); chất làm đứt gãy mạch ADN (ví dụ, bleomycin); các chất ức chế topoisomeraza II (ví dụ, amsacrine, dactinomycin, daunorubicin, idarubicin, mitoxantron, doxorubicin, etoposide và teniposide); chất gắn kết rãnh nhỏ ADN (ví dụ, plicamycin); chất chống chuyển hóa (ví dụ, chất đối kháng folat như methotrexate và trimetrexate; chất đối kháng pyrimidin như fluorouracil, flordeoxyuridine, CB3717, azacitidine, cytarabine và floxuridine; chất đối kháng purin như mercaptopurine, 6-thioguanine, fludarabine, pentostatin; asparaginase; và các chất ức chế ribonucleotide reductase như hydroxyurea); chất tương tác ống (ví dụ, vincristine, estramustine, vinblastine, docetaxel, dẫn xuất epothilone và paclitaxel); chất hormone (ví dụ, estrogen; estrogen liên hợp; ethinyl estradiol; diethylstilbestrol; chlortrianisene; idenestrol; progestin như hydroxyprogesterone caproate, medroxyprogesterone và megestrol; và androgen như testosterone, testosterone propionate, floxymesterone và methyltestosterone); corticosteroid thượng thận (ví dụ, prednisone, dexamethasone, methylprednisolone và prednisolone); chất giải phóng hormone tạo hoàng thể hoặc chất đối kháng hormone giải phóng gonadotropin (ví dụ, leuprolide acetate và goserelin acetate); và kháng nguyên kháng hormone (ví dụ, tamoxifen, chất kháng androgen như flutamide; và chất kháng tuyến thượng thận như mitotane và aminoglutethimide). Sáng chế cũng đề xuất việc sử dụng chất ức chế arginase kết hợp với các chất khác đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật (ví dụ, arsenic trioxide) và các chất hóa trị liệu được phát triển trong tương lai.

Theo một số phương án đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, việc dùng lượng cho hiệu quả điều trị của chất ức chế arginase được mô tả ở đây kết hợp với ít nhất một chất hóa trị liệu dẫn đến tỷ lệ sống sót sau ung thư lớn hơn tỷ lệ sống sót sau ung thư được quan sát khi dùng riêng lẻ. Theo các phương án khác đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư, việc dùng lượng cho hiệu quả điều trị của chất ức chế arginase được mô tả ở đây kết hợp với ít nhất một chất hóa trị liệu dẫn đến giảm kích thước khối u hoặc làm chậm sự phát triển của khối u hơn sự giảm kích thước khối u hoặc sự phát triển của khối u được quan sát khi dùng một chất duy nhất.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh ung thư ở đối tượng, bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng cho hiệu quả điều trị

của ít nhất một chất ức chế arginaza được mô tả ở đây và ít nhất một chất ức chế sự truyền tín hiệu (signal transduction inhibitor - STI). Theo một phương án cụ thể, ít nhất một STI được chọn từ nhóm bao gồm các chất ức chế bcr/abl kinaza, các chất ức chế thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì (epidermal growth factor - EGF), các chất ức chế thụ thể her-2/neu và các chất ức chế farnesyl transferaza (farnesyl transferase inhibitor - FTI). Các chất STI ứng viên khác được nêu ở đây.

Sáng chế cũng đề xuất các phương pháp tăng cường sự đào thải tế bào khối u ở đối tượng bao gồm việc dùng chất ức chế arginaza kết hợp với ít nhất một chất hóa trị liệu và/hoặc liệu pháp bức xạ, trong đó kết quả đào thải tế bào khối u lớn hơn kết quả thu được bằng việc dùng mình chất ức chế arginaza, chất hóa trị liệu hoặc liệu pháp bức xạ.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở đối tượng, bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng cho hiệu quả điều trị của ít nhất một chất ức chế arginaza và ít nhất một chất điều biến miễn dịch khác với chất ức chế arginaza. Theo các phương án cụ thể, ít nhất một chất điều biến miễn dịch được chọn từ nhóm bao gồm CD4OL, B7, B7RP1, kháng CD40, kháng CD38, kháng ICOS, phối tử 4-IBB, vaccin ung thư tế bào đuôi gai, IL2, IL12, ELC/CCL19, SLC/CCL21, MCP-1, IL-4, IL-18, TNF, IL-15, MDC, IFN- α -13, M-CSF, IL-3, GM-CSF, IL-13, kháng IL-10, các chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza 1 (IDO1) và chất đối kháng thụ thể adenosin 2. Chất điều biến miễn dịch ứng viên khác được nêu ở đây.

Sáng chế đề xuất các phương án bao gồm phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa rối loạn lây nhiễm (ví dụ, lây nhiễm virus) ở đối tượng (ví dụ, người) bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng cho hiệu quả điều trị của ít nhất một chất ức chế arginaza được mô tả ở đây và lượng cho hiệu quả điều trị của (các) chất chống lây nhiễm.

Theo một số phương án của sáng chế, chất trị liệu khác là xytokin, bao gồm, ví dụ yếu tố kích thích quần thể bạch cầu hạt-đại thực bào (granulocyte-macrophage colony stimulating factor - GM-CSF) hoặc phối tử flt3. Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa lây nhiễm virus (ví dụ, lây nhiễm virus mạn tính) bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, virus viêm gan C (HCV), virus gây bệnh u nhú ở người (HPV), cytomegalovirus (CMV), virus Epstein-Barr (EBV), virus varicella zoster, virus coxsackie, và virus gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV). Việc sử dụng hợp chất được

mô tả ở đây để điều trị lây nhiễm (riêng lẻ hoặc là thành phần của liệu pháp kết hợp) được thảo luận tiếp dưới đây.

Theo các phương án khác, việc điều trị rối loạn lây nhiễm bị ảnh hưởng do cùng dùng vaccin kết hợp với việc dùng lượng cho hiệu quả điều trị của chất ức chế arginaza theo sáng chế. Theo một số phương án, vaccin là vaccin chống virus, bao gồm, ví dụ, vaccin chống HIV. Theo các phương án khác, vaccin có tác dụng chống lại bệnh lao hoặc sốt rét. Vẫn theo các phương án khác, vaccin là vaccin khối u (ví dụ, vaccin có tác dụng chống lại u hắc sắc tố); vaccin khối u có thể bao gồm các tế bào khối u cải biến di truyền hoặc dòng tế bào cải biến di truyền, bao gồm các tế bào khối u cải biến di truyền hoặc dòng tế bào cải biến di truyền đã được chuyển nhiễm để biểu hiện yếu tố kích thích bạch cầu hạt-đại thực bào (GM-CSF). Theo các phương án cụ thể, vaccin bao gồm một hoặc nhiều peptit sinh miễn dịch và/hoặc tế bào đuôi gai.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp sử dụng hợp chất được mô tả ở đây kết hợp với một hoặc nhiều chất chống vi sinh vật.

Theo các phương án nhất định đề xuất sự điều trị lây nhiễm bằng việc dùng chất ức chế arginaza và ít nhất một chất trị liệu khác, triệu chứng lây nhiễm được quan sát sau khi dùng cả chất ức chế arginaza và chất trị liệu khác là được cải thiện so với cùng một triệu chứng lây nhiễm được quan sát sau khi dùng riêng lẻ. Theo một số phương án, các triệu chứng lây nhiễm được quan sát có thể là sự giảm tải lượng virus, tăng số lượng tế bào T CD4+, giảm sự lây nhiễm cơ hội, tăng thời gian sống sót, tiêu diệt sự lây nhiễm mạn tính hoặc kết hợp của chúng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trước khi sáng chế được mô tả thêm, cần hiểu rằng sáng chế không bị giới hạn ở các phương án cụ thể được nêu ở đây, và cũng cần hiểu rằng thuật ngữ được sử dụng ở đây chỉ nhằm mục đích mô tả các phương án cụ thể, và không được dự định để giới hạn.

Khoảng giá trị được đề xuất, được hiểu rằng mỗi giá trị ở giữa, đến một phần mười đơn vị của giới hạn dưới trừ khi được chỉ rõ theo ngữ cảnh, nằm giữa giới hạn trên và giới hạn dưới của khoảng này và giá trị được xác định hoặc ở giữa khác bất kỳ trong khoảng được xác định, được bao gồm trong phạm vi của sáng chế. Giới hạn trên và dưới của các khoảng nhỏ hơn này có thể độc lập được bao gồm các khoảng nhỏ hơn và cũng

bao gồm trong sáng chế, không bao gồm các giới hạn cụ thể trong khoảng được nêu. Khoảng giá trị được nêu bao gồm một hoặc cả hai giới hạn, các khoảng này ngoại trừ một trong hai hoặc cả hai giới hạn cũng được bao gồm trong phạm vi của sáng chế. Trừ khi được định nghĩa khác đi, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng ở đây được hiểu theo nghĩa chung bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực mà sáng chế thuộc về.

Như được sử dụng ở đây, dạng số ít chỉ “một” bao gồm cả nghĩa số nhiều, trừ khi nội dung rõ ràng quy định khác. Cần chú ý thêm rằng bộ yêu cầu bảo hộ có thể được soạn thảo để loại trừ yếu tố tùy chọn bất kỳ. Tương tự như vậy, tuyên bố này có vai trò như là cơ sở tiền đề để sử dụng thuật ngữ loại trừ như “duy nhất”, “chỉ” và thuật ngữ tương tự liên quan đến việc trích dẫn các yếu tố bảo hộ, hoặc sử dụng dấu hiệu “phủ định”.

Phản công bố được thảo luận ở đây được cung cấp để công bố trước ngày nộp đơn của đơn sáng chế này. Ngoài ra, ngày công bố được cung cấp có thể khác với ngày công bố thực, điều này có thể cần được xác nhận một cách độc lập.

Tổng quát

Được đề xuất ở đây, ví dụ, hợp chất và dược phẩm để ức chế arginaza, và dược phẩm chứa hợp chất này. Cũng được đề cập ở đây, ví dụ, phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý, hoặc triệu chứng của chúng, được điều tiết bằng cách ức chế arginaza.

Định nghĩa

Trừ khi được chỉ ra khác, các thuật ngữ dưới đây được dự định có nghĩa được nêu dưới đây. Các thuật ngữ khác được xác định trong suốt bản mô tả này.

Thuật ngữ “alkyl”, chính nó hoặc là một phần của phần tử thế khác, trừ khi được nêu khác đi, có nghĩa là gốc hydrocarbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh, có số nguyên tử cacbon được chỉ định (nghĩa là, C₁₋₈ có nghĩa là từ một đến tám cacbon). Alkyl có thể bao gồm số lượng cacbon bất kỳ, như C₁₋₂, C₁₋₃, C₁₋₄, C₁₋₅, C₁₋₆, C₁₋₇, C₁₋₈, C₁₋₉, C₁₋₁₀, C₂₋₃, C₂₋₄, C₂₋₅, C₂₋₆, C₃₋₄, C₃₋₅, C₃₋₆, C₄₋₅, C₄₋₆ và C₅₋₆. Ví dụ về nhóm alkyl bao gồm methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, t-butyl, isobutyl, sec-butyl, n-pentyl, n-hexyl, n-heptyl, n-octyl và tương tự.

Thuật ngữ “alkylen” chỉ gốc béo no mạch thẳng hoặc mạch nhánh, có số nguyên tử cacbon được chỉ ra và liên kết ít nhất hai nhóm khác, nghĩa là, gốc hydrocacbon hóa trị hai. Hai gốc liên kết với alkylen có thể liên kết với cùng nguyên tử hoặc các nguyên tử khác nhau của nhóm alkylen. Ví dụ, một ankylen mạch thẳng có thể là gốc hóa trị hai của $-(CH_2)_n-$, trong đó n là 1, 2, 3, 4, 5 hoặc 6. Nhóm alkylen tiêu biểu bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, metylen, etylen, propylen, isopropylen, butylen, isobutylen, sec-butylen, pentylen và hexylen. Nhóm alkylen, thường chỉ nhóm X^1 hoặc X^2 trong đơn sáng chế này, có thể được thế hoặc không được thế. Khi một nhóm chứa X^1 hoặc X^2 tùy ý được thế, cần hiểu rằng sự thế tùy ý có thể là trên phần alkylen của gốc này.

Như được sử dụng ở đây, đường gợn sóng, “~”, giao của liên kết đơn, đôi hoặc ba trong cấu trúc hóa học bất kỳ được mô tả ở đây, là điểm gắn của liên kết đơn, đôi hoặc ba vào phần còn lại của phân tử. Ngoài ra, liên kết kéo dài đến tâm của vòng (ví dụ, vòng phenyl) có nghĩa là để chỉ ra sự gắn vào bất kỳ đỉnh nào trong số các đỉnh vòng có sẵn. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ hiểu rằng nhiều phân tử thế được thể hiện là được gắn vào vòng sẽ chiếm các đỉnh của vòng mà tạo ra hợp chất ổn định và nếu không thì tương thích về mặt không gian. Đối với thành phần hóa trị hai, một biểu diễn có nghĩa là bao gồm một trong hai hướng (thuận hoặc ngược). Ví dụ, nhóm “ $-C(O)NH-$ ” có nghĩa là bao gồm một liên kết theo một trong hai hướng: $-C(O)NH-$ hoặc $-NHC(O)-$, và tương tự, “ $-O-CH_2CH_2-$ ” có nghĩa bao gồm cả $-O-CH_2CH_2-$ và $-CH_2CH_2-O-$.

Thuật ngữ “halo” hoặc “halogen” chính nó hoặc là một phần của một phân tử thế khác, nghĩa là, trừ khi được nêu khác đi, nguyên tử flo, clo, brom hoặc iot. Ngoài ra, các thuật ngữ như “haloalkyl” có nghĩa là bao gồm monohaloalkyl và polyhaloalkyl. Ví dụ, thuật ngữ “ C_{1-4} haloalkyl” có nghĩa là bao gồm triflometyl, 2,2,2-trifloetyl, 4-clobutyl, 3-bromopropyl và tương tự.

Thuật ngữ “aryl” nghĩa là, trừ khi được nêu khác đi, nhóm hydrocacbon không đa bão hòa, thường là thơm, có thể là vòng đơn hoặc đa vòng (lên đến ba vòng) được hợp nhất với nhau hoặc liên kết cộng hóa trị. Các ví dụ không giới hạn về nhóm aryl bao gồm phenyl, naphtyl và biphenyl.

Các thuật ngữ trên (ví dụ, “alkyl” và “aryl”), theo một số phương án, sẽ được thế tùy ý. Các phân tử thế được chọn cho mỗi loại gốc được đề xuất bên dưới.

Các phần tử thể tùy ý đối với gốc alkyl (bao gồm các nhóm thường chỉ alkylen, alkenyl và alkynyl) có thể là nhiều nhóm được chọn từ: halogen, $-OR'$, $-NR'R''$, $-SR'$, $-SiR'R''R'''$, $-OC(O)R'$, $-C(O)R'$, $-CO_2R'$, $-CONR'R''$, $-OC(O)NR'R''$, $-NR''C(O)R'$, $-NR'-C(O)NR''R'''$, $-NR''C(O)_2R'$, $-NH-C(NH_2)=NH$, $-NR'C(NH_2)=NH$, $-NH-C(NH_2)=NR'$, $-S(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)_2NR'R''$, $-NR'S(O)_2R''$, $-CN$ (xyano), $-NO_2$, aryl, aryloxy, oxo, xycloalkyl và heteroxycloalkyl trong khoảng số nằm trong khoảng từ 0 đến $(2m'+1)$, trong đó m' là tổng số nguyên tử cacbon trong gốc này. Mỗi R' , R'' và R''' độc lập chỉ hydro, C_{1-8} alkyl không được thế, aryl không được thế, aryl được thế bằng 1-3 halogen, C_{1-8} alkoxy hoặc nhóm C_{1-8} thioalkoxy hoặc nhóm aryl- C_{1-4} ankyl không được thế. Khi R' và R'' được gắn vào cùng một nguyên tử nitơ, chúng có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ để tạo ra vòng 3, 4, 5, 6 hoặc 7 cạnh. Ví dụ, $-NR'R''$ có nghĩa là bao gồm 1-pyrrolidinyl và 4-morpholinyl.

Tương tự, các phần tử thể tùy ý cho nhóm aryl được thay đổi và thường được chọn từ: -halogen, $-OR'$, $-OC(O)R'$, $-NR'R''$, $-SR'$, $-R'$, $-CN$, $-NO_2$, $-CO_2R'$, $-CONR'R''$, $-C(O)R'$, $-OC(O)NR'R''$, $-NR''C(O)R'$, $-NR''C(O)_2R'$, $-NR'-C(O)NR''R'''$, $-NH-C(NH_2)=NH$, $-NR'C(NH_2)=NH$, $-NH-C(NH_2)=NR'$, $-S(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)_2NR'R''$, $-NR'S(O)_2R''$, $-N_3$, perflo(C_{1-4})alkoxy, và perfloro(C_{1-4})alkyl, trong khoảng số nằm trong khoảng từ 0 đến tổng số các hóa trị mở trên hệ vòng thơm; và trong đó R' , R'' và R''' được chọn độc lập từ hydro, C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, C_{2-8} alkenyl và C_{2-8} alkynyl. Các phần tử thể thích hợp khác bao gồm mỗi phần tử thể aryl trong số các phần tử thể aryl ở trên được gắn với nguyên tử vòng bởi một liên kết alkylen ete có từ 1-6 nguyên tử cacbon.

Hai trong số các phần tử thể trên các nguyên tử liền kề của vòng aryl có thể tùy ý được thay thế bằng phần tử thể có công thức $-TC(O)-(CH_2)_q-U-$, trong đó T và U độc lập là $-NH-$, $-O-$, $-CH_2-$ hoặc liên kết đơn, và q là số nguyên từ 0 đến 2. Theo cách khác, hai trong số các phần tử thể trên các nguyên tử liền kề của vòng aryl hoặc heteroaryl có thể được tùy ý thế bằng phần tử thể có công thức $-A-(CR^fR^g)_r-B-$, trong đó A và B độc lập là $-CH_2-$, $-O-$, $-NH-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2NR'$ hoặc liên kết đơn, r là số nguyên từ 1 đến 3, và mỗi R^f và R^g độc lập là H của halogen. Một trong số các liên kết đơn của vòng mới được tạo thành có thể tùy ý được thế bằng liên kết đôi. Theo cách khác, hai trong số các phần tử thể trên các nguyên tử liền kề của vòng aryl hoặc heteroaryl có thể được tùy ý thay thế bằng phần tử thể có công thức $-(CH_2)_s-X-(CH_2)_t-$, trong đó s và t

độc lập là các số nguyên từ 0 đến 3, và X là -O-, -NR'-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, hoặc -S(O)₂NR'-. Phần tử thế R' trong -NR'- và -S(O)₂NR'- được chọn từ hydro hoặc C₁₋₆ alkyl không được thế.

Như được sử dụng, thuật ngữ “nguyên tử khác loại” nghĩa là bao gồm oxy (O), nitơ (N), lưu huỳnh (S) và silic (Si).

Thuật ngữ “muối được dụng” có nghĩa là bao gồm các muối của các hoạt chất mà được điều chế với axit hoặc bazơ tương đối không độc, tùy theo các phần tử thế cụ thể được tìm thấy trên các hợp chất được mô tả ở đây. Khi các hợp chất theo sáng chế chứa các nhóm chức tương đối là axit, các muối cộng bazơ có thể thu được bằng cách cho dạng trung tính của các hợp chất này tiếp xúc với lượng vừa đủ của bazơ mong muốn, nguyên chất hoặc trong dung môi trơ thích hợp. Ví dụ về các muối thu được từ các bazơ vô cơ được dụng bao gồm nhôm, amoni, canxi, đồng, sắt hóa trị hai, sắt hóa trị ba, liti, magie, mangan hóa trị hai, mangan hóa trị bốn, kali, natri, kẽm và tương tự. Các muối thu được từ các bazơ hữu cơ được dụng bao gồm các muối amin bậc một, bậc hai và bậc ba, bao gồm các amin được thế, amin vòng, các amin có trong tự nhiên và tương tự, như arginin, betain, caffein, cholin, N,N'-dibenzyletylendiamin, dietylamin, 2-dietylaminioetanol, 2-dimetylaminioetanol, etanolamin, etylendiamin, N-etylmorpholin, N-etylpiperidin, glucamin, glucosamin, histidin, hydrabamin, isopropylamin, lysin, metylglucamin, morpholin, piperazin, piperidin, nhựa polyamin, procain, purin, theobromin, trietylamin, trimetylamin, tripropylamin, tromethamin và tương tự. Khi các hợp chất theo sáng chế chứa các nhóm chức tương đối bazơ, các muối cộng axit có thể thu được bằng cách cho dạng trung tính của các hợp chất này tiếp xúc với lượng vừa đủ của axit mong muốn, nguyên chất hoặc trong dung môi trơ thích hợp. Ví dụ về các muối cộng axit được dụng bao gồm các muối thu được từ các axit vô cơ như axit clohydric, bromhydric, nitric, cacbonic, monohydrocacbonic, phosphoric, monohydrophosphoric, dihydrophosphoric, sulfuric, monohydrosulfuric, iodhydric, hoặc axit phosphor và tương tự, cũng như các muối thu được từ các axit hữu cơ tương đối không độc như axit axetic, propionic, isobutyric, malonic, benzoic, suxinic, suberic, fumaric, mandelic, phthalic, benzensulfonic, p-tolylsulfonic, xitric, tartric, metansulfonic, và tương tự. Cũng được bao gồm là các muối của các axit amin như arginat và tương tự, và các muối của axit hữu cơ như axit glucuronic hoặc galactunoric và tương tự (xem, ví dụ, Berge, S.M., et al, “Pharmaceutical Salts”, Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19).

Các hợp chất cụ thể nhất định của sáng chế chứa cả hai chức bazơ và axit cho phép hợp chất chuyển hóa thành muối cộng bazơ hoặc axit.

Các dạng trung tính của các hợp chất này có thể được tái tạo bằng cách cho muối này tiếp xúc với bazơ hoặc axit và phân lập hợp chất gốc theo cách thông thường. Dạng gốc của hợp chất này khác biệt với nhiều dạng muối khác nhau ở một số tính chất vật lý, như độ hòa tan trong dung môi phân cực, ngoài ra các muối này tương đương với dạng gốc của hợp chất cho các mục đích của sáng chế. Ngoài dạng muối, sáng chế đề xuất các hợp chất ở dạng tiền dược chất. Tiền dược chất của các hợp chất được mô tả ở đây là các hợp chất dễ dàng trải qua các thay đổi hóa học trong các điều kiện sinh lý để tạo ra các hợp chất theo sáng chế. Ngoài ra, các tiền dược chất có thể được chuyển hóa thành các hợp chất theo sáng chế bằng các phương pháp hóa học hoặc hóa sinh trong môi trường *ex vivo*. Ví dụ, các tiền dược chất có thể được chuyển hóa chậm thành các hợp chất theo sáng chế khi được đưa vào nguồn chứa dạng miếng dán hấp thu qua da cùng với enzym hoặc chất phản ứng hóa học thích hợp. Tiền dược chất được mô tả chi tiết hơn ở đây.

Ngoài dạng muối, sáng chế đề xuất các hợp chất ở dạng tiền dược chất. Tiền dược chất của các hợp chất được mô tả ở đây là các hợp chất dễ dàng trải qua các thay đổi hóa học trong các điều kiện sinh lý để tạo ra các hợp chất theo sáng chế. Ngoài ra, các tiền dược chất có thể được chuyển hóa thành các hợp chất theo sáng chế bằng các phương pháp hóa học hoặc hóa sinh trong môi trường *ex vivo*. Ví dụ, các tiền dược chất có thể được chuyển hóa chậm thành các hợp chất theo sáng chế khi được đưa vào nguồn chứa dạng miếng dán hấp thu qua da cùng với enzym hoặc chất phản ứng hóa học thích hợp.

Các hợp chất nhất định theo sáng chế có thể tồn tại ở dạng không solvat hóa cũng như dạng solvat hóa, bao gồm dạng được hydrat hóa. Nhìn chung, các dạng solvat hóa là tương đương với các dạng không solvat hóa và được dự định nằm trong phạm vi của sáng chế. Các hợp chất nhất định theo sáng chế có thể tồn tại ở nhiều dạng tinh thể hoặc vô định hình. Nhìn chung, tất cả các dạng vật lý là tương đương nhau đối với mục đích sử dụng được dự kiến bởi sáng chế và được dự định nằm trong phạm vi của sáng chế.

Các hợp chất nhất định theo sáng chế có nguyên tử cacbon bất đối (quang tâm) hoặc các liên kết đôi; các hỗn hợp *racemat*, chất đồng phân không đối quang, các chất

đồng phân hình học, chất đồng phân vị trí và các chất đồng phân đơn lẻ (ví dụ, chất đồng phân đối ảnh riêng biệt) đều được dự định bao gồm trong phạm vi của sáng chế. Khi mô tả hóa học lập thể được thể hiện, nó có nghĩa là chỉ hợp chất trong đó một trong số các đồng phân có mặt và về cơ bản không chứa đồng phân còn lại. “Về cơ bản không chứa” một đồng phân khác chỉ tỷ lệ của hai đồng phân ít nhất là 80/20, tốt hơn là 90/10, hoặc 95/5 hoặc hơn. Theo một số phương án, một trong số đồng phân sẽ có mặt với lượng ít nhất là 99%.

Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể chứa các tỷ lệ không tự nhiên của các chất đồng vị nguyên tử ở một hoặc nhiều nguyên tử tạo thành các hợp chất này. Tỷ lệ không tự nhiên của một đồng vị có thể được định nghĩa là khoảng từ lượng được tìm thấy trong tự nhiên trên lượng bao gồm 100% nguyên tử quan tâm. Ví dụ, các hợp chất có thể kết hợp các đồng vị phóng xạ, như ví dụ triti (^3H), iot 125 (^{125}I) hoặc cacbon 14 (^{14}C), hoặc đồng vị không phóng xạ, như đơteri (^2H) hoặc cacbon 13 (^{13}C). Các biến thể đồng vị này có thể cung cấp các lợi ích khác cho các biến thể được mô tả ở trong đơn này. Ví dụ, các biến thể đồng vị của hợp chất theo sáng chế có thể tìm thấy lợi ích khác, bao gồm nhưng không giới hạn ở, như chất chẩn đoán và/hoặc hình ảnh, hoặc là các chất trị liệu gây độc tế bào/phóng xạ. Ngoài ra, các biến thể đồng vị của hợp chất theo chế độ có thể có các đặc điểm dược động học và dược lực học thay đổi có thể góp phần nâng cao tính an toàn, khả năng dung nạp hoặc hiệu quả trong quá trình điều trị. Tất cả các biến thể đồng vị của hợp chất theo sáng chế, cho dù có phóng xạ hay không, đều được dự định được bao gồm trong phạm vi của sáng chế.

Thuật ngữ “bệnh nhân” hoặc “đối tượng” được dùng thay thế cho nhau để chỉ người hoặc động vật không phải người (ví dụ, động vật có vú).

Thuật ngữ “việc dùng”, “dùng” và tương tự, khi chúng áp dụng cho, ví dụ, đối tượng, tế bào, mô, cơ quan hoặc dịch sinh học, đề cập đến sự tiếp xúc của, ví dụ, chất ức chế arginaza, dược phẩm chứa chất ức chế này, hoặc chất chẩn đoán đối với đối tượng, tế bào, mô, cơ quan hoặc dịch sinh học. Trong ngữ cảnh liên quan đến tế bào, việc dùng bao gồm việc cho chất phản ứng tiếp xúc với tế bào (ví dụ, in vitro hoặc ex vivo), cũng như cho chất phản ứng tiếp xúc với dịch lỏng, nơi dịch lỏng tiếp xúc với tế bào.

Thuật ngữ “điều trị”, “sự điều trị”, “việc điều trị” và tương tự chỉ giai đoạn hành động (như dùng chất ức chế arginaza hoặc dược phẩm chứa chất ức chế này) được bắt đầu sau khi bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý, hoặc triệu chứng của chúng, đã được chẩn đoán, quan sát và tương tự để loại bỏ, làm giảm, ức chế, làm dịu, hoặc cải thiện, tạm thời hoặc vĩnh viễn, ít nhất trong một số nguyên nhân cơ bản của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý gây ảnh hưởng đến đối tượng, hoặc ít nhất một trong số các triệu chứng liên quan đến bệnh, rối loạn, tình trạng bệnh lý gây ảnh hưởng đến đối tượng. Do đó, việc điều trị bao gồm ức chế (ví dụ, làm ngừng sự phát triển hoặc sự phát triển thêm của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý hoặc các triệu chứng lâm sàng liên quan đến chúng) một bệnh đang hoạt động.

Thuật ngữ “cần điều trị” được sử dụng ở đây chỉ quyết định của bác sĩ hoặc người chăm sóc khác mà đối tượng yêu cầu hoặc sẽ được hưởng lợi từ việc điều trị. Quyết định này được đưa ra dựa trên nhiều yếu tố khác nhau thuộc lĩnh vực chuyên môn của bác sĩ hoặc người chăm sóc.

Thuật ngữ “ngăn ngừa”, “sự ngăn ngừa”, “việc ngăn ngừa” và tương tự chỉ giai đoạn hành động (như dùng chất ức chế arginaza hoặc dược phẩm chứa chất ức chế này) được bắt đầu theo cách (ví dụ, trước khi khởi phát bệnh, rối loạn, trạng thái bệnh lý hoặc triệu chứng của chúng) để ngăn ngừa, chặn, ức chế hoặc làm giảm, tạm thời hoặc vĩnh viễn, nguy cơ phát triển bệnh, rối loạn, tình trạng bệnh lý của đối tượng hoặc tương tự (như được xác định bởi, ví dụ, sự vắng mặt của các triệu chứng lâm sàng) hoặc làm chậm sự khởi phát của chúng, nhìn chung là trong hoàn cảnh đối tượng có xu hướng mắc bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý cụ thể. Trong một số ví dụ nhất định, thuật ngữ này cũng chỉ việc làm chậm sự tiến triển của bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý hoặc ức chế sự tiến triển của chúng đối với trạng thái có hại hoặc không mong muốn.

Thuật ngữ “cần ngăn ngừa” như được sử dụng ở đây chỉ quyết định được đưa ra bởi bác sĩ hoặc người chăm sóc khác mà đối tượng yêu cầu hoặc sẽ được hưởng lợi từ việc chăm sóc ngăn ngừa. Quyết định này được đưa ra dựa trên nhiều yếu tố khác nhau thuộc lĩnh vực chuyên môn của bác sĩ hoặc người chăm sóc.

Cụm từ “lượng cho hiệu quả điều trị” chỉ việc dùng chất cho đối tượng, riêng lẻ hoặc là một phần của dược phẩm và hoặc ở liều duy nhất hoặc là một phần của một loạt liều, với lượng có thể có hiệu quả tích cực, có thể phát hiện được đối với triệu chứng,

khía cạnh, hoặc đặc điểm bất kỳ của bệnh, rối loạn hoặc trạng thái bệnh lý khi được dùng cho đối tượng. Lượng cho hiệu quả điều trị có thể được xác định bằng cách đo hiệu quả sinh lý tương ứng, và có thể được điều chỉnh liên quan đến phác đồ dùng liều và phân tích chẩn đoán tình trạng bệnh lý của đối tượng, và tương tự. Ví dụ, việc đo nồng độ trong huyết thanh của chất ức chế arginaza (hoặc, ví dụ, chất chuyển hóa của nó) tại một thời điểm cụ thể sau khi dùng có thể cho biết liệu lượng cho hiệu quả điều trị đã được sử dụng hay chưa.

Cụm từ “với lượng đủ để tạo ra sự thay đổi” có nghĩa là có sự khác biệt có thể phát hiện được giữa mức của dấu hiệu chỉ thị được đo trước đó (ví dụ, mức đường cơ sở) và sau khi dùng liệu pháp cụ thể. Dấu hiệu chỉ thị bao gồm thông số khách quan bất kỳ (ví dụ, nồng độ huyết thanh) hoặc thông số chủ quan (ví dụ, cảm giác khỏe mạnh của đối tượng).

Thuật ngữ “phân tử nhỏ” chỉ hợp chất hóa học có khối lượng phân tử nhỏ hơn khoảng 10kDa, nhỏ hơn khoảng 2kDa hoặc nhỏ hơn khoảng 1kDa. Các phân tử nhỏ bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, phân tử vô cơ, phân tử hữu cơ, phân tử hữu cơ chứa thành phần vô cơ, phân tử bao gồm nguyên tử phóng xạ và phân tử tổng hợp. Về mặt điều trị, phân tử nhỏ có thể dễ thấm vào tế bào hơn, ít bị phân hủy hơn và ít có khả năng gây ra đáp ứng miễn dịch hơn phân tử lớn.

Thuật ngữ “phối tử” chỉ, ví dụ, peptit, polypeptit, phân tử liên kết màng hoặc gắn kết màng, hoặc phức hợp của chúng, có thể hoạt động như một chất chủ vận hoặc chất đối kháng của thụ thể. Phối tử bao gồm phối tử tự nhiên và phối tử tổng hợp, ví dụ, xytokin, biến thể xytokin, chất tương tự, mutein và thành phần gắn kết thu được từ kháng thể, cũng như các phân tử nhỏ. Thuật ngữ này cũng bao gồm chất không phải là chất chủ vận hay chất đối kháng, nhưng có thể gắn kết với thụ thể mà không ảnh hưởng đáng kể đến các đặc tính sinh học của nó, ví dụ, tín hiệu hoặc sự kết dính. Hơn nữa, thuật ngữ này bao gồm phối tử gắn kết màng đã được thay đổi bằng các phương pháp ví dụ, phương pháp hóa học hoặc tái tổ hợp, thành dạng hòa tan của phối tử gắn kết màng. Phối tử hoặc thụ thể có thể hoàn toàn nằm trong tế bào, nghĩa là, nó có thể nằm trong bào tương, nhân hoặc một số ngăn nội bào khác. Phức hợp của phối tử và thụ thể được gọi là “phức hợp phối tử-thụ thể”.

Thuật ngữ “chất ức chế” và “chất đối kháng”, hoặc “chất hoạt hóa” và “chất chủ vận” chỉ các phân tử ức chế hoặc hoạt hóa, tương ứng, ví dụ, để hoạt hóa, ví dụ, phổi tử, thụ thể, đồng yếu tố, gen, tế bào, mô hoặc cơ quan. Chất ức chế là phân tử làm giảm, phong bế, ngăn ngừa, làm chậm sự hoạt hóa, bất hoạt, khử nhạy, hoặc điều hòa giảm, ví dụ, gen, protein, phổi tử, thụ thể hoặc tế bào. Chất hoạt hóa là phân tử làm tăng, hoạt hóa, tạo điều kiện thuận lợi, tăng cường sự hoạt hóa, nhạy hoặc điều hòa tăng, ví dụ, gen, protein, phổi tử, thụ thể hoặc tế bào. Chất ức chế cũng có thể được xác định là phân tử làm giảm, phong bế hoặc bất hoạt hoạt động cấu thành. “Chất chủ vận” là phân tử tương tác với đích để gây ra hoặc thúc đẩy sự tăng hoạt hóa của đích. “Chất đối kháng” là phân tử chống lại (các) hoạt động của chất chủ vận. Chất đối kháng ngăn ngừa, làm giảm, ức chế hoặc trung hòa hoạt động của chất chủ vận và chất đối kháng cũng có thể ngăn ngừa, ức chế hoặc làm giảm hoạt động cấu thành của đích, ví dụ, thụ thể đích, ngay cả khi không có chất chủ vận được xác định.

Thuật ngữ “điều biến”, “sự điều biến” và tương tự chỉ khả năng của phân tử (ví dụ, chất hoạt hóa hoặc chất ức chế) để làm tăng hoặc giảm chức năng hoặc hoạt động của arginaza, trực tiếp hoặc gián tiếp. Chất điều biến có thể hoạt động riêng lẻ hoặc có thể sử dụng đồng yếu tố, ví dụ, protein, ion kim loại hoặc phân tử nhỏ. Ví dụ về chất điều biến bao gồm hợp chất phân tử nhỏ và các phân tử hữu cơ sinh học khác. Nhiều thư viện về các hợp chất phân tử nhỏ (ví dụ, thư viện tổ hợp) có bán trên thị trường và có thể dùng làm điểm khởi đầu để xác định chất điều biến. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có thể phát triển một hoặc nhiều thử nghiệm (ví dụ, thử nghiệm sinh hóa hoặc thử nghiệm dựa trên tế bào) trong đó các thư viện hợp chất này có thể được sàng lọc để xác định một hoặc nhiều hợp chất có các đặc tính mong muốn; sau đó, nhà hóa dược học có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có thể tối ưu hóa một hoặc nhiều hợp chất này ví dụ, bằng cách tổng hợp và đánh giá các chất tương tự và dẫn xuất của chúng. Các nghiên cứu mô hình tổng hợp và/hoặc phân tử cũng có thể được sử dụng trong việc xác định chất hoạt hóa.

“Hoạt động” của phân tử có thể mô tả hoặc chỉ sự gắn kết của phân tử với phổi tử hoặc thụ thể; chỉ hoạt động xúc tác; chỉ khả năng kích thích sự biểu hiện gen hoặc tín hiệu tế bào, biệt hóa, hoặc trưởng thành; chỉ hoạt động kháng nguyên; chỉ sự điều biến các hoạt động của các phân tử khác; và tương tự. Thuật ngữ “hoạt động tăng sinh” bao gồm hoạt động thúc đẩy, cần thiết cho hoặc liên quan cụ thể đến, ví dụ, phân chia tế bào

bình thường, cũng như bệnh ung thư, khối u, loạn sản, biến đổi tế bào, di căn và sinh mạch.

Như được sử dụng ở đây, “tương đương”, “hoạt tính tương đương”, “hoạt tính tương đương với”, “tác dụng tương đương”, “tác dụng tương đương với” và tương tự là các thuật ngữ tương đối có thể được xem xét về mặt định lượng và/hoặc định tính. Nghĩa của các thuật ngữ này thường phụ thuộc vào ngữ cảnh mà chúng được sử dụng. Ví dụ, hai chất mà cả hai đều hoạt hóa một thụ thể có thể được xem là có tác dụng tương đương từ quan điểm định tính, nhưng hai chất có thể được xem là thiếu tác dụng tương đương từ quan điểm định lượng nếu chỉ một chất có thể đạt được 20% hoạt tính của chất còn lại được xác định trong thử nghiệm được chấp nhận trong lĩnh vực kỹ thuật (ví dụ, thử nghiệm đáp ứng-liều) hoặc trong mô hình động vật được chấp nhận trong lĩnh vực kỹ thuật. Khi so sánh một kết quả này với một kết quả khác (ví dụ, một kết quả với một chuẩn tham chiếu), “tương đương” thường có nghĩa là (mặc dù không phải luôn luôn) kết quả lệch so với chuẩn tham chiếu nhỏ hơn 35%, nhỏ hơn 30%, nhỏ hơn 25%, nhỏ hơn 20%, nhỏ hơn 15%, nhỏ hơn 10%, nhỏ hơn 7%, nhỏ hơn 5%, nhỏ hơn 4%, nhỏ hơn 3%, nhỏ hơn 2%, hoặc nhỏ hơn 1%. Theo các phương án cụ thể, một kết quả tương đương với chuẩn tham chiếu nếu nó lệch nhỏ hơn 15%, nhỏ hơn 10%, hoặc nhỏ hơn 5% so với chuẩn tham chiếu. Ví dụ, nhưng không giới hạn, hoạt tính hoặc tác dụng có thể chỉ hiệu lực, tính ổn định, độ hòa tan hoặc tính sinh miễn dịch.

“Về cơ bản tinh khiết” chỉ ra rằng một thành phần chiếm nhiều hơn khoảng 50% tổng hàm lượng của dược phẩm và thường lớn hơn khoảng 60% tổng hàm lượng polypeptit. Thông thường hơn, “về cơ bản tinh khiết” chỉ dược phẩm trong đó ít nhất 75%, ít nhất 85%, ít nhất 90% hoặc hơn trong tổng dược phẩm là thành phần cần quan tâm. Trong một số trường hợp, polypeptit sẽ chiếm nhiều hơn khoảng 90% hoặc nhiều hơn khoảng 95% tổng hàm lượng của dược phẩm.

Thuật ngữ “gắn kết đặc biệt” hoặc “gắn kết chọn lọc”, khi chỉ cặp liên kết phối tử/thụ thể, kháng thể/kháng nguyên hoặc cặp liên kết khác, chỉ ra phản ứng gắn kết xác định sự có mặt của protein trong quần thể protein không đồng nhất và các chất sinh học khác. Do đó, ở tình trạng bệnh lý được chỉ định, phối tử cụ thể gắn kết với thụ thể cụ thể và không gắn kết ở lượng đáng kể với các protein khác có trong mẫu. Kháng thể, hoặc thành phần gắn kết thu được từ vị trí gắn kết kháng nguyên của kháng thể, của phương pháp được thiết kế gắn kết với kháng nguyên của nó, hoặc biến thể hoặc mutein của nó,

với ái lực lớn hơn ít nhất hai lần, lớn hơn ít nhất mười lần, lớn hơn ít nhất 20 lần, hoặc lớn hơn ít nhất 100 lần so với ái lực với kháng thể bất kỳ khác, hoặc thành phần gắn kết thu được từ đó. Theo phương án cụ thể, kháng thể sẽ có ái lực lớn hơn khoảng 10^9 lít/mol, được xác định bởi, ví dụ, phân tích Scatchard (Munsen, et al. 1980 *Analyt. Biochem.* 107:220-239).

Thuật ngữ “đáp ứng”, ví dụ, của tế bào, mô, cơ quan hoặc sinh vật, bao gồm sự thay đổi trạng thái sinh hóa hoặc sinh lý, ví dụ, nồng độ, mật độ, độ kết dính hoặc sự di chuyển trong ngăn sinh học, tốc độ biểu hiện gen, hoặc trạng thái biệt hóa, trong đó sự thay đổi này tương quan với sự hoạt hóa, kích thích hoặc điều trị, hoặc với các cơ chế bên trong như lập trình di truyền. Trong một số ngữ cảnh nhất định, thuật ngữ “hoạt hóa”, “kích thích” và tương tự chỉ sự hoạt hóa tế bào được điều chỉnh bởi các cơ chế bên trong, cũng như các yếu tố bên ngoài hoặc môi trường; trong khi thuật ngữ “ức chế”, “điều hòa giảm” và tương tự chỉ các tác động ngược lại.

Thuật ngữ “polypeptit”, “peptit” và “protein”, được sử dụng thay thế cho nhau ở đây, đề cập đến dạng polyme của axit amin có độ dài bất kỳ, có thể bao gồm axit amin được mã hóa di truyền và không được mã hóa di truyền, axit amin được cải biến hoặc được dẫn xuất về mặt hóa học hoặc sinh hóa, và polypeptit có khung polypeptit được cải biến. Các thuật ngữ này bao gồm các protein dung hợp, bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, các protein dung hợp có trình tự axit amin khác loại, các protein dung hợp có trình tự dẫn đầu khác loại và cùng loại, có hoặc không có gốc methionin đầu N; protein được gắn thẻ miễn dịch sinh học; và tương tự.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “biến thể” và “dạng tương đồng” được sử dụng thay thế cho nhau để chỉ trình tự axit amin hoặc ADN tương tự trình tự axit amin hoặc axit nucleic tham chiếu, tương ứng. Thuật ngữ này bao gồm các biến thể có trong tự nhiên và các biến thể không có trong tự nhiên. Các biến thể có trong tự nhiên bao gồm các dạng tương đồng (polypeptit và axit nucleic mà khác nhau về trình tự axit amin hoặc nucleotit, tương ứng, từ loài này đến loài khác), và các biến thể alen (polypeptit và axit nucleic mà khác nhau về trình tự axit amin hoặc nucleotit, tương ứng, từ một cá thể này đến một cá thể khác trong một loài). Do đó, các biến thể và dạng tương đồng bao gồm các trình tự ADN và các protein có trong tự nhiên được mã hóa từ đó và các đồng phân của chúng, cũng như các biến thể nối của protein hoặc gen. Thuật ngữ này cũng bao gồm trình tự axit nucleic thay đổi một hoặc nhiều bazơ so với trình tự ADN có trong

tự nhiên nhưng vẫn dịch mã thành trình tự axit amin tương ứng với protein có trong tự nhiên do sự thoái hóa của mã di truyền. Các biến thể và dạng tương đồng không có trong tự nhiên bao gồm polypeptit và axit nucleic mà tương ứng có chứa sự thay đổi trình tự axit amin hoặc nucleotit, trong đó sự thay đổi trình tự được đưa vào một cách nhân tạo (ví dụ, mutein); ví dụ, sự thay đổi được tạo ra trong phòng thí nghiệm bởi sự can thiệp của con người (“bàn tay của con người”). Do đó, các biến thể và dạng tương đồng không có trong tự nhiên cũng có thể chỉ các biến thể và dạng tương đồng khác với trình tự có trong tự nhiên bởi một hoặc nhiều sự thay thế và/hoặc thể và/hoặc thể liên hợp bảo tồn.

Thuật ngữ “mutein” như được sử dụng ở đây theo nghĩa rộng chỉ các protein tái tổ hợp đột biến. Các protein này thường mang một axit amin thế duy nhất hoặc nhiều axit amin thế và thường thu được từ các gen được nhân dòng đã bị đột biến định hướng hoặc ngẫu nhiên, hoặc từ các gen tổng hợp hoàn toàn.

Thuật ngữ “ADN”, “axit nucleic”, “phân tử axit nucleic”, “polynucleotit” và tương tự được sử dụng thay thế cho nhau ở đây để chỉ dạng polyme của nucleotit có độ dài bất kỳ, hoặc deoxyribonucleotit hoặc ribonucleotit, hoặc các dạng tương tự của chúng. Các ví dụ không giới hạn về polynucleotit bao gồm axit nucleic mạch thẳng và vòng, ARN thông tin (mARN), ADN bổ sung (cADN), polynucleotit tái tổ hợp, vector, đoạn dò, đoạn mồi và tương tự.

Arginaza và sự ức chế của chúng

Như đã nêu ở trên, không cần phải có sự hiểu biết chính xác về cơ chế hoạt động cơ bản của hợp chất mà nhờ đó các hợp chất theo sáng chế tác động lên hoạt tính của chúng để thực hiện sáng chế, các hợp chất (hoặc tập hợp con của chúng) được cho là có tác dụng ức chế arginaza. Mặc dù các hợp chất theo sáng chế thường được gọi ở đây là chất ức chế arginaza, cần hiểu rằng thuật ngữ “chất ức chế arginaza” bao gồm các hợp chất có hoạt tính riêng lẻ thông qua ức chế arginaza, nhưng cũng hoạt động theo các cơ chế khác.

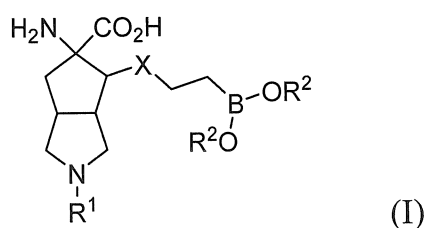
Xác định chất ức chế arginaza có các đặc điểm mong muốn

Sáng chế này một phần nhằm mục đích xác định các chất ức chế arginaza có ít nhất một đặc tính hoặc đặc điểm có liên quan đến việc điều trị. Các chất ức chế tiềm năng có thể được xác định bằng cách sử dụng, ví dụ, thử nghiệm hoặc mô hình được chấp nhận trong lĩnh vực kỹ thuật, các ví dụ về chúng được mô tả ở đây.

Sau khi xác định, chất ức chế ứng viên có thể được đánh giá tiếp bằng cách sử dụng các kỹ thuật mà cung cấp dữ liệu liên quan đến các đặc điểm của chất ức chế (ví dụ, thông số dược động học, các phương tiện xác định độ hòa tan hoặc độ ổn định). So sánh các chất ức chế ứng viên với tiêu chuẩn tham chiếu (có thể là “lớp tốt nhất” của các chất ức chế hiện tại) là dấu hiệu cho thấy khả năng tồn tại tiềm năng của các ứng viên này.

Hợp chất theo sáng chế

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I):



hoặc muối, hydrat hoặc solvat được dựng của nó, trong đó,

X là CH₂, NH hoặc O;

R¹ là thành phần được chọn từ nhóm bao gồm H, -X^a-NH₂, -C(O)-X^a-NH₂ và -R^c, trong đó

X^a là C₁₋₄ alkylen không được thế hoặc được thế bằng một hoặc hai R^a;

mỗi R^a độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C₁₋₆ alkyl và aryl(C₁₋₄ alkyl); trong đó C₁₋₆ alkyl không được thế hoặc được thế bằng hydroxyl, metoxy, amino, thiol, -CO₂H, -CONH₂, và -NHCONH₂; và aryl được chọn từ nhóm bao gồm phenyl, hydroxyphenyl, metoxyphenyl, và indol; và

R^c là vòng dị vòng no có từ bốn đến sáu cạnh có đỉnh vòng được chọn từ nhóm bao gồm O và NH; hoặc là C₁₋₆ alkyl không được thế hoặc được thế bằng một đến ba phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxyl và amino; hoặc

R¹ là axit amin có trong tự nhiên;

mỗi R² độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H và C₁₋₆ alkyl; hoặc hai nhóm R² được kết hợp với các nguyên tử mà mỗi nhóm được gắn vào để tạo ra vòng đơn vòng hoặc hai vòng có từ năm đến tám cạnh, không được thế hoặc được thế bằng một đến bốn phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxyl và metyl.

Theo một số phương án có công thức (I),

X là CH₂, NH hoặc O;

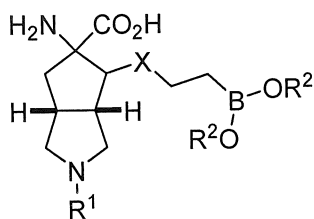
R¹ là thành phần được chọn từ nhóm bao gồm H, -X^a-NH₂ và -C(O)-X^a-NH₂; trong đó X^a là C₁₋₄ alkylen không được thế hoặc được thế bằng một hoặc hai R^a;

mỗi R^a độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C₁₋₆ alkyl và aryl(C₁₋₄ alkyl); trong đó C₁₋₆ alkyl không được thế hoặc được thế bằng hydroxyl, metoxy, amino, thiol, -CO₂H, -CONH₂, và -NHCONH₂; và aryl được chọn từ nhóm bao gồm phenyl, hydroxyphenyl, metoxyphenyl, và indol; hoặc

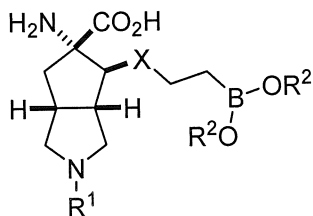
R¹ là axit amin có trong tự nhiên; và

mỗi R² độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H và C₁₋₆ alkyl; hoặc hai nhóm R² được kết hợp với các nguyên tử mà mỗi nhóm được gắn vào để tạo ra vòng năm hoặc sáu cạnh.

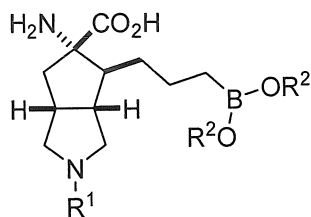
Theo một nhóm các phương án được chọn, hợp chất có công thức (I) được đề xuất có công thức:



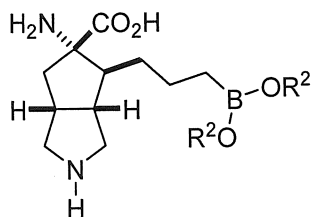
Theo một nhóm các phương án được chọn khác, hợp chất có công thức (I) được đề xuất có công thức:



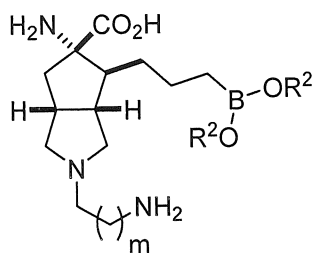
Theo một nhóm các phương án được chọn khác, hợp chất có công thức (I) được đề xuất có công thức:



Theo một nhóm các phương án được chọn khác, hợp chất có công thức (I) được đề xuất có công thức:

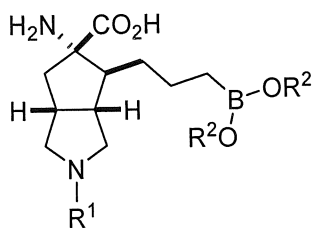


Vẫn theo các phương án được chọn khác, hợp chất có công thức (I) được đề xuất có công thức:



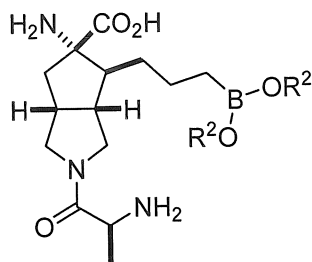
trong đó m là 1, 2 hoặc 3.

Theo một số phương án được chọn, hợp chất có công thức (I) được đề xuất có công thức:

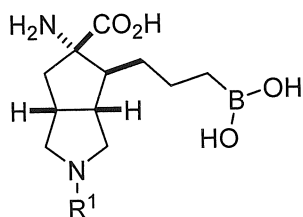


trong đó R¹ là axit amin có trong tự nhiên.

Vẫn theo các phương án được chọn khác, hợp chất có công thức (I) được đề xuất có công thức:



Theo một số phương án được chọn, hợp chất có công thức (I) có công thức:



Theo một số phương án được chọn, một hợp chất bất kỳ của bảng 1 được đề xuất.

Theo một số phương án được chọn, dạng đơteri hóa của hợp chất có công thức (I) được đề xuất. Đơteri có thể được thế độc lập cho hydrogen ở vị trí bất kỳ mà hydro có thể có mặt.

Phương pháp tổng hợp

Nhìn chung, hợp chất được đề xuất ở đây có thể được điều chế bằng các phương pháp thông thường như được mô tả trong các ví dụ dưới đây.

Tiền dược chất và các cách khác để phân phối và/hoặc kéo dài thời gian bán hủy của thuốc

Theo một số khía cạnh của sáng chế, hợp chất được mô tả ở đây được dùng ở dạng tiền dược chất.

Để có tác dụng kéo dài hoạt động điều trị, các phân tử dược chất có thể được thiết kế để sử dụng chất mang để phân phối. Chất mang này hoặc được sử dụng theo kiểu không cộng hóa trị, với gốc dược chất được bào chế hóa lý thành hỗn hợp chất mang-dung môi, hoặc bằng cách gắn cộng hóa trị bền vững của chất phản ứng chất mang với một trong các nhóm chức của gốc dược chất (xem trong tài liệu WO 20150202317).

Một số cách tiếp cận không cộng hóa trị được ưu tiên. Ví dụ, nhưng không giới hạn, theo các phương án nhất định, dạng bào chế bao gồm dạng bao nang dược chất không cộng hóa trị thành các chất mang polyme được sử dụng. Trong các dạng bào chế này, phân tử dược chất được kết hợp với nguyên liệu chất mang và được xử lý sao cho

phân tử dược chất này trở nên phân bố bên trong chất mang số lượng lớn. Ví dụ bao gồm các dạng kết hợp polyme vi hạt-dược chất (ví dụ, Degradex® Microspheres (Phosphorex, Inc.)), được dùng dưới dạng hỗn dịch tiêm được; dạng kết hợp phân tử dược chất-polyme được bào chế dưới dạng gel (ví dụ, Lupron Depot® (AbbVie Inc.)), được dùng dưới dạng liều tiêm nhanh duy nhất; và các dạng bào chế liposom (ví dụ, DepoCyt® (Pacira Pharmaceuticals)), trong đó chất mang này có thể là một thực thể polyme hoặc không phải polyme có khả năng hòa tan thuốc. Trong các dạng bào chế này, việc giải phóng phân tử dược chất có thể xảy ra khi chất mang phồng lên hoặc giảm về mặt vật lý. Trong các trường hợp khác, sự phân hủy hóa học cho phép dược chất khuếch tán vào môi trường sinh học; các quá trình phân huỷ hoá học này có thể là quá trình tự thủy phân hoặc được xúc tác bởi enzym. Trong số các hạn chế khác, việc bao nang dược chất không cộng hóa trị yêu cầu ngăn cản sự giải phóng dược chất không kiểm soát, và sự phụ thuộc vào cơ chế giải phóng của dược chất khi phân hủy sinh học có thể gây ra khả năng thay đổi giữa các bệnh nhân.

Theo các phương án cụ thể, các phân tử dược chất, bao gồm cả phân tử nhỏ và phân tử lớn, được liên hợp với chất mang thông qua liên kết cộng hóa trị bền vững. Việc điều trị bằng phân tử nhỏ nhất định thể hiện độ hòa tan thấp trong chất lỏng nước có thể được hòa tan bằng cách liên hợp với các polyme ưa nước, ví dụ được mô tả bất kỳ ở đây. Đối với các protein phân tử lớn, có thể đạt được sự kéo dài thời gian bán hủy ví dụ, bằng cách cải biến cộng hóa trị bền vững với gốc palmitoyl và bằng cách cải biến cộng hóa trị bền vững với một protein khác mà bản thân nó có thời gian bán hủy được kéo dài (ví dụ, Albuferon®). Nhìn chung, các phân tử dược chất cho thấy hoạt tính sinh học giảm khi chất mang được liên hợp cộng hóa trị với dược chất.

Trong một số trường hợp nhất định, các hạn chế liên quan đến phân tử dược chất chứa hỗn hợp polyme không cộng hóa trị hoặc gắn cộng hóa trị bền vững có thể được giải quyết thành công bằng cách sử dụng phương pháp tiếp cận tiền dược chất để liên hợp hóa học dược chất với chất mang polyme. Theo nội dung này, các chất trị liệu không hoạt động hoặc ít hoạt động hơn bản thân gốc dược chất được chuyển đổi thành các thực thể phân tử hoạt động. Hoạt động sinh học giảm của tiền dược chất so với dược chất đã được giải phóng là có lợi nếu dược chất được giải phóng chậm hoặc có kiểm soát. Trong trường hợp này, việc giải phóng dược chất xảy ra theo thời gian, do đó làm giảm mức độ cần thiết của việc dùng thuốc nhiều lần và thường xuyên. Phương pháp sử dụng tiền

được chất cũng có thể có lợi khi bản thân gốc được chất không được hấp thụ, hoặc hấp thụ ít hơn mức tối ưu, ở đường dạ dày ruột; trong các trường hợp này, tiền được chất tạo điều kiện cho sự hấp thụ của gốc được chất và sau đó được phân tách ra ở một thời điểm sau đó (ví dụ, thông qua chuyển hóa lần đầu). Phân tử được chất có hoạt tính sinh học thường được gắn kết với gốc chất mang polyme bằng liên kết tạm thời được tạo thành giữa gốc chất mang và nhóm hydroxy, amino hoặc carboxy của phân tử được chất.

Các phương pháp được mô tả ở trên có liên quan đến một số hạn chế. Sự hoạt hóa tiền được chất có thể xảy ra bằng cách phân tách liên kết tạm thời giữa chất mang và phân tử được chất bằng enzyme hoặc không bằng enzyme hoặc sự kết hợp lần lượt của cả hai (ví dụ, bước bằng enzym sau đó là cải biến không bằng enzym). Trong môi trường *in vitro* không có enzym (ví dụ, dung dịch đệm nước), liên kết tạm thời như este hoặc amit có thể bị thủy phân, nhưng tốc độ thủy phân tương ứng có thể nằm ngoài khoảng hữu ích có tác dụng điều trị. Ngược lại, trong môi trường *in vivo*, các esteraza hoặc amidaza thường có mặt, và các esteraza và amidaza này có thể gây ra sự tăng tốc xúc tác đáng kể động học của phản ứng thủy phân với độ lớn tăng từ hai lần lên đến vài lần (xem, ví dụ, tài liệu Greenwald et al., (1999) *J Med Chem* 42(18):3857-67).

Như được mô tả ở đây, các tiền được chất có thể được phân loại thành i) các tiền được chất sinh học và ii) các tiền được chất liên kết với chất mang. Tiền được chất sinh học không chứa nhóm chất mang và được hoạt hóa bằng cách tạo chuyển hóa nhóm chức. Ngược lại, trong tiền được chất liên kết với chất mang, hoạt chất được liên hợp với gốc chất mang nhờ liên kết tạm thời tại nhóm chức của thực thể có hoạt tính sinh học. Nhóm chức được ưu tiên là nhóm hydroxyl hoặc amino. Cả hai điều kiện gắn kết hóa học và thủy phân tùy thuộc vào loại nhóm chức được sử dụng. Chất mang có thể trở về mặt sinh học (ví dụ, PEG) hoặc có thể có các đặc tính hướng đích (ví dụ, kháng thể). Sự phân tách gốc chất mang của tiền được chất liên kết với chất mang dẫn đến thực thể có hoạt tính sinh học cần quan tâm và bản chất của nhóm chức được khử bảo vệ của thực thể có hoạt tính sinh học thường góp phần vào hoạt tính sinh học của nó.

Tài liệu sáng chế và khoa học mô tả nhiều tiền được chất đại phân tử trong đó liên kết tạm thời là liên kết este không bền. Trong các trường hợp này, nhóm chức của thực thể có hoạt tính sinh học là nhóm hydroxyl hoặc axit carboxylic (xem tài liệu, ví dụ Cheng et al. (2003) *Bioconjugate Chem* 14: 1007-17). Ngoài ra, nó thường có lợi cho các đại phân tử sinh học và một số loại được chất phân tử nhỏ nhất định để liên kết chất

mang với (các) nhóm amino của thực thể có hoạt tính sinh học (ví dụ, đầu N hoặc nhóm amino lysin của protein). Trong quá trình điều chế tiền dược chất, nhóm amin có thể được chỉ định chọn lọc hơn về mặt hóa học do tính ưa nhân hơn của chúng so với nhóm hydroxyl hoặc phenol. Điều này đặc biệt liên quan đến các protein và peptit có chứa nhiều chức năng phản ứng khác nhau, trong đó các phản ứng liên hợp không chọn lọc dẫn đến hỗn hợp sản phẩm không mong muốn yêu cầu xác định đặc tính hoặc tinh chế rộng rãi, do đó làm giảm hiệu suất phản ứng và hiệu quả điều trị của gốc hoạt động.

Nhìn chung, liên kết amit chống lại sự thủy phân ổn định hơn liên kết este, và tốc độ phân tách của liên kết amit có thể là quá chậm để sử dụng trong điều trị ở tiền dược chất liên kết chất mang. Kết quả là, có thể có lợi khi bổ sung các thành phần hóa học cấu trúc để có tác dụng kiểm soát khả năng phân tách của liên kết amit tiền dược chất. Các thành phần hóa học kiểm soát sự phân tách bổ sung này không được tạo ra bởi thực thể chất mang cũng như không được tạo ra bởi dược chất thường được gọi là “nhóm liên kết”. Các nhóm liên kết tiền dược chất có thể có ảnh hưởng lớn đến tốc độ thủy phân của liên kết tạm thời, và sự thay đổi bản chất hóa học của các nhóm liên kết thường dẫn đến các đặc tính cụ thể. Việc hoạt hóa tiền dược chất của các gốc có hoạt tính sinh học chứa amin bằng các enzym cụ thể để giải phóng hướng đích đòi hỏi cấu trúc của nhóm liên kết phải thể hiện môtip cấu trúc được nhận biết là cơ chất bằng enzyme nội sinh tương ứng. Trong các trường hợp này, sự phân tách của liên kết tạm thời xảy ra trong quy trình một bước được xúc tác bởi enzym. Ví dụ, sự giải phóng enzym của cytarabin bị ảnh hưởng bởi proteaza plasmin, nồng độ tương đối cao trong các loại khối u khác nhau.

Sự thay đổi giữa các bệnh nhân là một nhược điểm lớn của sự phân tách chủ yếu bằng enzym. Mức độ enzym có thể khác nhau đáng kể giữa các đối tượng dẫn đến sự biến đổi sinh học của sự hoạt hóa tiền dược chất bằng sự phân tách enzym. Mức độ enzym cũng có thể thay đổi tùy thuộc vào vị trí dùng (ví dụ, đối với việc tiêm dưới da, các vùng nhất định của cơ thể mang lại hiệu quả điều trị có thể dự đoán được hơn so với các vùng khác). Ngoài ra, khó thiết lập mối tương quan in vivo - in vitro về các đặc tính dược động học đối với tiền dược chất liên kết chất mang phụ thuộc enzym.

Các tiền dược chất chất mang khác sử dụng các liên kết tạm thời với các nhóm amino trong gốc dược chất là dựa theo cơ chế phân tầng. Sự phân tách theo tầng được phép bởi hợp chất nhóm liên kết được cấu thành từ sự kết hợp cấu trúc của nhóm che và

nhóm hoạt hóa. Nhóm che được gắn vào nhóm hoạt hóa bằng liên kết tạm thời thứ nhất như este hoặc carbamat. Nhóm hoạt hóa được gắn với nhóm amin của phân tử dược chất nhờ liên kết tạm thời thứ hai (ví dụ, carbamat). Tính ổn định hoặc tính nhạy cảm đối với sự thủy phân của liên kết tạm thời thứ hai tùy thuộc vào sự có mặt hoặc không có mặt của nhóm che. Khi có mặt nhóm che, liên kết tạm thời thứ hai có độ ổn định cao và không có khả năng giải phóng phân tử dược chất với động học hữu ích về mặt điều trị, trong khi nếu không có nhóm che, liên kết này sẽ trở nên không bền, dẫn đến việc phân tách và giải phóng gốc dược chất nhanh chóng.

Sự phân tách của liên kết tạm thời thứ nhất là bước giới hạn tốc độ trong cơ chế phân tầng. Bước đầu tiên có thể tạo ra sự sắp xếp lại phân tử của nhóm hoạt hóa (ví dụ, sự loại bỏ 1,6 như được mô tả trong tài liệu Greenwald et al. (1999) J Med Chem 42: 3657-67), và sự sắp xếp lại tạo ra liên kết tạm thời thứ hai không bền hơn sao cho tạo ra sự phân tách của nó. Lý tưởng là, tốc độ phân tách của liên kết tạm thời thứ nhất giống với tốc độ giải phóng mong muốn của phân tử dược chất trong một tình huống điều trị nhất định. Ngoài ra, mong muốn là sự phân tách của liên kết tạm thời thứ hai về cơ bản là tức thời sau khi tính không bền của nó được tạo ra bởi sự phân tách của liên kết tạm thời thứ nhất.

Một phương án khác bao gồm tiền dược chất chứa amino polyme dựa trên quá trình lacton hóa khóa trimetyl (xem tài liệu, ví dụ, Greenwald et al. (2000) J Med Chem 43 (3): 457-87). Trong hệ tiền dược chất này, axit o-hydroxyphenyl-dimethylpropionic được thể được liên kết với PEG bằng nhóm este, cacbonat, hoặc carbamat là liên kết tạm thời thứ nhất và với nhóm amino của phân tử dược chất bằng liên kết amit là liên kết tạm thời thứ hai. Bước xác định tốc độ giải phóng dược chất là sự phân tách enzym của liên kết thứ nhất, sau đó là sự phân tách amit nhanh bằng cách lacton hóa, giải phóng sản phẩm phụ lacton thơm. Nhược điểm chính của hệ tiền dược chất được mô tả bởi Greenwald et al. là sự giải phóng các sản phẩm phụ phân tử nhỏ thơm có khả năng phản ứng cao và độc hại như quinon methit hoặc lacton thơm sau khi phân tách liên kết tạm thời. Các thực thể có khả năng độc hại được giải phóng theo phép tính hệ số tỷ lệ 1:1 với dược chất và có thể giả định là nồng độ in vivo cao.

Theo các phương án nhất định của tiền dược chất phân tầng bao gồm nhóm hoạt hóa thơm dựa vào sự loại bỏ 1,6, nhóm che tách biệt về mặt cấu trúc với chất mang. Điều này có thể bị ảnh hưởng bởi việc sử dụng một liên kết ổn định giữa chất mang

polyme và nhóm hoạt hóa, trong đó liên kết ổn định này không tham gia vào cơ chế phân tách phân tầng. Nếu chất mang không phải là nhóm che và nhóm hoạt hóa được ghép với chất mang bằng liên kết ổn định, thì sẽ tránh được việc giải phóng các sản phẩm phụ có khả năng độc hại (như nhóm hoạt hóa). Sự gắn kết ổn định của nhóm hoạt hóa và polyme cũng ngăn chặn sự giải phóng các hợp chất trung gian nhóm liên kết được chất với được tính chưa xác định.

Ví dụ đầu tiên về phương pháp được mô tả trong đoạn trên bao gồm hệ tiền được chất polyme dựa vào nhóm hoạt hóa axit mandelic (xem tài liệu, ví dụ, Shabat et al. (2004) *Chem Eur J* 10: 2626-34). Trong phương pháp này, nhóm che được liên kết với nhóm hoạt hóa bằng liên kết carbamat. Nhóm hoạt hóa được liên hợp bền vững với polyme polyacrylamit nhờ liên kết amit. Sau khi hoạt hóa enzym nhóm che bằng kháng thể xúc tác, nhóm che được phân tách bằng cách đóng vòng và được chất được giải phóng; nhóm hoạt hóa vẫn được nối với polyme polyacrylamit sau khi giải phóng được chất. Hệ tiền được chất tương tự dựa vào nhóm hoạt hóa axit mandelic và nhóm che liên kết este có thể phân tách bằng enzym (xem tài liệu, ví dụ, Lee et al. (2004) *Angew Chem* 116:1707-10).

Khi các nhóm liên kết nêu trên được sử dụng, bước loại bỏ 1,6 vẫn tạo ra các hợp chất trung gian thơm dễ phản ứng. Ngay cả khi gốc thơm vẫn gắn bền vững với chất mang polyme, có thể dẫn đến các phản ứng phụ với các sản phẩm phụ có khả năng độc hại hoặc tác dụng sinh miễn dịch. Do đó, rất thuận lợi để tạo ra công nghệ nhóm liên kết để tạo thành tiền được chất polyme của các chất có hoạt tính chứa amin bằng cách sử dụng các nhóm liên kết tiền được chất béo không phụ thuộc vào enzym và không tạo ra các hợp chất trung gian thơm dễ phản ứng trong quá trình phân tách. Một ví dụ sử dụng PEG5000- maleic anhydrit để cải biến thuận nghịch nhóm amino trong chất hoạt hóa tiền chất plasmin (plasminogen) kiểu mô và urokinaza (xem tài liệu, ví dụ (1987) Garman et al. *FEBS Lett* 223 (2): 361-65). Sự tái tạo enzym chức năng từ thể liên hợp PEG-uPA khi ủ với đệm có độ pH bằng 7,4 bằng cách phân tách liên kết axit maleamic tuân theo động học bậc nhất với thời gian bán hủy khoảng 6 giờ. Một nhược điểm của liên kết axit maleamic là thiếu tính ổn định của thể liên hợp ở các giá trị pH thấp hơn.

Một phương pháp tiếp cận khác bao gồm hệ tiền được chất phân tầng PEG dựa vào nhóm liên kết N,N-bis-(2-hydroxyetyl)glyxin amit (bixin) (xem tài liệu ví dụ (2004) *J Med Chem* 47: 726-34). Trong hệ thống này, hai phân tử chất mang PEG được liên

kết nhờ liên kết tạm thời với phân tử bixin ghép với nhóm amino của phân tử dược chất. Các bước đầu tiên trong quá trình hoạt hóa tiền dược chất liên quan đến sự phân tách bằng enzym của các liên kết tạm thời thứ nhất kết nối cả phân tử chất mang PEG với nhóm hydroxy của nhóm hoạt hóa bixin. Các liên kết khác nhau giữa PEG và bixin dẫn đến động học hoạt hóa tiền dược chất khác nhau. Bước thứ hai trong quá trình hoạt hóa tiền dược chất liên quan đến sự phân tách của liên kết tạm thời thứ hai nối nhóm hoạt hóa bixin với nhóm amino của phân tử dược chất. Một nhược điểm của hệ thống này là tốc độ thủy phân chậm của liên kết amit bixin tạm thời thứ hai này, dẫn đến việc giải phóng hợp chất trung gian tiền dược chất được cải biến bởi bixin có thể cho thấy các tính chất dược động học, sinh miễn dịch, độc tính và dược lực học khác nhau so với phân tử dược chất ban đầu tự nhiên.

Theo các phương án cụ thể, các dipeptit được sử dụng để phát triển tiền dược chất để hướng đích hoặc vận chuyển hướng đích vì chúng là cơ chất cho các hệ thống enzym hoặc vận chuyển sinh học. Con đường không phải enzym để tạo thành tiền dược chất dipeptit, tức là khả năng trải qua quá trình đóng vòng nội phân tử để tạo thành diketopiperazin (DKP) tương ứng và giải phóng dược chất có hoạt tính, chưa được xác định rõ.

Theo một số phương án, dipeptit được gắn vào gốc dược chất nhờ liên kết este, như được mô tả đối với các este dipeptit của dược chất paracetamol (Gomes et al. (2005) *Bio & Med Chem Lett*). Trong trường hợp này, phản ứng đóng vòng bao gồm sự tấn công ưa nhân của amin có đầu N của peptit vào nguyên tử cacbon của este để tạo thành hợp chất trung gian tứ diện, sau đó là sự chuyển proton từ amin sang nhóm dôi chuyển oxyanion với sự hình thành đồng thời liên kết peptit để tạo ra sản phẩm DKP mạch vòng và dược chất tự do. Phương pháp này có thể áp dụng cho các dược chất chứa hydroxyl in vitro nhưng đã được phát hiện là cạnh tranh với quá trình thủy phân liên kết este bằng enzym in vivo, vì paracetamol giải phóng các este dipeptit tương ứng ở tốc độ nhanh hơn nhiều so với trong dung dịch đệm (Gomes et al. (*Molecules* 12 (2007) 2484-2506)). Khả năng nhạy cảm của tiền dược chất gốc dipeptit đối với peptidaza có thể được giải quyết bằng cách kết hợp ít nhất một axit amin không có trong tự nhiên trong môtip dipeptit. Tuy nhiên, enzyme nội sinh có khả năng phân tách các liên kết este không bị giới hạn ở peptidaza, và sự phụ thuộc enzym của sự phân tách tiền dược chất này vẫn sẽ tăng đến mức sự biểu hiện in vivo không thể dự đoán được.

Theo một số phương án, sự phụ thuộc enzym được thiết kế có mục đích thành tiền dược chất DKP, chẳng hạn như tiền dược chất este dipeptit được formyl hóa ở đầu amino của dipeptit, và sự khử formyl bằng enzym được sử dụng để bắt đầu hình thành diketopiperazin và sự phân tách tiếp theo của liên kết este-dipeptit, sau đó là giải phóng phân tử dược chất (xem tài liệu, ví dụ, USP 7,163,923). Ví dụ, octapeptit được gắn bằng liên kết este với nhóm 4-hydroxyl của vinblastin và trải qua sự phân tách liên kết este bằng cách tạo thành DKP sau khi loại bỏ hexapeptit đầu N bằng enzym đặc hiệu (xem tài liệu Brady et al. (2002) J Med Chem 45:4706-15).

Phạm vi của phản ứng tạo thành DKP cũng được mở rộng cho các tiền dược chất amit. Ví dụ, USP 5,952,294 mô tả sự hoạt hóa tiền dược chất bằng cách sử dụng sự tạo thành diketopiperazin cho tiền dược chất dipeptidyl amit của cytarabin. Trong trường hợp này, liên kết tạm thời được tạo thành giữa cacbonyl của dipeptit và nhóm amino thiom của cytarabin. Tuy nhiên, không chắc rằng có thể đạt được tác dụng giải phóng chậm đối với các thể liên hợp như vậy vì không có chất mang hoặc gốc hoặc chức năng kéo dài thời gian bán hủy khác.

Các tiền dược chất dipeptit bao gồm các peptit có hoạt tính sinh học như GLP-1 có khả năng giải phóng peptit thông qua sự tạo thành diketopiperazin của sự mở rộng dipeptit cũng đã được mô tả (xem tài liệu, ví dụ, WO 2009/099763). Gốc peptit có hoạt tính sinh học có thể bao gồm chuỗi PEG bổ sung trên một trong các gốc chuỗi bên axit amin của nó để đạt được tuần hoàn kéo dài của peptit có hoạt tính sinh học. Tuy nhiên, phương pháp tiếp cận này có nhiều nhược điểm đáng kể. Đầu tiên, chuỗi PEG phải được liên kết với peptit mà không làm giảm hoạt tính sinh học của nó, điều này có thể khó đạt được đối với nhiều chất có hoạt tính sinh học gốc peptit. Thứ hai, vì bản thân peptit pegyl hóa có hoạt tính sinh học, nên tiền gốc dipeptit có ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học của peptit và có thể ảnh hưởng tiêu cực đến các đặc tính gắn kết thụ thể của nó.

Các công nghệ làm ví dụ cụ thể có thể được sử dụng với các hợp chất theo sáng chế bao gồm các công nghệ được phát triển bởi ProLynx (San Francisco, CA) và Ascendis Pharma (Palo Alto, CA). Nền tảng công nghệ ProLynx sử dụng các bộ nhóm liên kết mới được lập trình sẵn để phân tách ở các tốc độ khác nhau để cho phép giải phóng các phân tử nhỏ và peptit có kiểm soát, có thể dự đoán và bền vững từ thể liên hợp đại phân tử bán rắn tuần hoàn. Công nghệ này cho phép duy trì nồng độ chất trị liệu

trong huyết thanh ở trạng thái sẵn sàng để sử dụng mong muốn trong vài tuần đến vài tháng.

Nền tảng công nghệ Ascendis kết hợp các lợi ích của tiền dược chất và công nghệ giải phóng bền vững để tăng cường các đặc tính của các phân tử nhỏ và peptit. Trong khi tuần hoàn, các tiền dược chất riêng giải phóng chất trị liệu ban đầu có hoạt tính không cải biến theo tỷ lệ định trước được điều chỉnh bởi độ pH sinh lý và điều kiện nhiệt độ. Bởi vì chất trị liệu được giải phóng ở dạng không cải biến, nó vẫn giữ cơ chế hoạt động ban đầu của nó.

Cải biến để tăng cường các đặc điểm của chất ức chế

Điều này thường là có lợi, và thỉnh thoảng là bắt buộc, để cải thiện một trong các đặc tính vật lý của các phương thức điều trị được bộc lộ ở đây và/hoặc cách thức trong đó chúng được dùng. Sự cải thiện các đặc tính vật lý bao gồm, ví dụ, các phương pháp tăng độ hòa tan, độ sinh khả dụng, thời gian bán hủy trong huyết thanh và/hoặc thời gian bán hủy điều trị; và/hoặc điều chỉnh hoạt tính sinh học.

Các cải biến được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật bao gồm pegyl hóa, dung hợp Fc và dung hợp albumin. Mặc dù thường liên quan đến các chất phân tử lớn (ví dụ, polypeptit), các cải biến này gần đây được đánh giá bằng các phân tử nhỏ cụ thể. Ví dụ, Chiang, M. et al. (J. Am. Chem. Soc., 2014, 136 (9): 3370-73) mô tả chất chủ vận phân tử nhỏ của thụ thể adenosin 2a liên hợp với miền Fc của globulin miễn dịch. Thụ thể liên hợp Fc phân tử nhỏ giữ lại sự tương tác mạnh mẽ của thụ thể Fc và thụ thể adenosin 2a và cho thấy các đặc tính ưu vượt trội hơn so với phân tử nhỏ không liên hợp. Sự gắn kết cộng hóa trị của các phân tử PEG đến phương pháp điều trị bằng phân tử nhỏ cũng được mô tả (Li, W. et al., Progress in Polymer Science, 2013 38:421-44).

Các cải biến đã biết khác bao gồm sự đoteri hóa để cải thiện profin dược động học, dược lực học và độc tế bào. Do khối lượng nguyên tử của đoteri lớn hơn, nên sự phân tách của liên kết cacbon-đoteri yêu cầu nhiều năng lượng hơn liên kết cacbon-hydro. Bởi vì các liên kết mạnh hơn này khó bị phá vỡ hơn, nên tốc độ chuyển hóa được chất chậm hơn so với dạng không được đoteri hóa, cho phép dùng liều ít thường xuyên hơn và có thể còn làm giảm độc tính. (Charles Schmidt, *Nature Biotechnology*, 2017, 35(6): 493-494; Harbeson, S. and Tung, R., *Medchem News*, 2014(2): 8-22).

Sử dụng để điều trị và phòng ngừa

Sáng chế mô tả việc sử dụng chất ức chế arginaza được mô tả ở đây trong việc điều trị hoặc ngăn ngừa phổ rộng của bệnh, rối loạn và/hoặc tình trạng bệnh lý, và/hoặc các triệu chứng của chúng. Trong khi việc sử dụng cụ thể được mô tả trong chi tiết sau đây, cần phải hiểu rằng sáng chế không bị giới hạn. Hơn nữa, mặc dù các danh mục chung của bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý cụ thể được quy định sau đây, một số bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý có thể thuộc nhiều hơn một danh mục, và các bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý khác có thể không thuộc bất kỳ danh mục đã được bọc lộ nào.

Theo một số phương án, bệnh, rối loạn và/hoặc tình trạng bệnh lý được mô tả ở đây được điều tiết, ít nhất một phần, bằng arginaza.

Theo một số phương án, chất ức chế arginaza được mô tả ở đây được dùng với lượng hữu hiệu để làm chậm, làm dừng hoặc đảo ngược hoạt động ức chế miễn dịch được điều tiết bởi arginaza.

Rối loạn liên quan đến ung thư. Theo sáng chế, chất ức chế arginaza có thể được sử dụng để điều trị hoặc ngăn ngừa tình trạng bệnh lý hoặc rối loạn tăng sinh, bao gồm bệnh ung thư, ví dụ, bệnh ung thư tử cung, cổ tử cung, vú, tuyến tiền liệt, tinh hoàn, đường dạ dày ruột (ví dụ, thực quản, hầu họng, dạ dày, ruột non hoặc ruột già, ruột kết, hoặc trực tràng), thận, tế bào thận, bàng quang, xương, tủy xương, da, đầu hoặc cổ, gan, túi mật, tim, phổi, tuyến nước bọt, tuyến thượng thận, tuyến giáp, não (ví dụ, u thần kinh đệm), hạch, hệ thần kinh trung ương (CNS) và hệ thần kinh ngoại vi (PNS) và bệnh ung thư của hệ tạo máu và hệ miễn dịch (ví dụ, lá lách hoặc tuyến ức). Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa các bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý liên quan đến ung thư khác, bao gồm, ví dụ, khối u sinh miễn dịch, khối u không sinh miễn dịch, khối u không hoạt động, bệnh ung thư do virus gây ra (ví dụ, bệnh ung thư tế bào biểu mô, bệnh ung thư tế bào nội mô, caxinom tế bào vảy và virus gây u nhú), ung thư biểu mô tuyến, u lympho, caxinom, u hắc sắc tố, bệnh bạch cầu, u tủy, sacom, u quái ác tính, ung thư do hóa chất, di căn và bệnh tạo mạch. Sáng chế mô tả việc ức chế arginaza để đảo ngược sự tiêu arginin làm chết tế bào T và ngăn cản sự hoạt hóa và tăng sinh của chúng (Rodriguez et al. (2004), việc sản xuất arginaza I trong vi môi trường khối u bằng các tế bào tủy trưởng thành ức chế sự biểu hiện của thụ thể tế bào T và đáp ứng của tế bào T đặc hiệu với kháng nguyên. *Cancer Res.* 64(16), 5839–5849). Theo các phương án cụ thể, khối u hoặc bệnh ung thư là bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư buồng trứng,

bệnh ung thư vú, u hắc sắc tố, bệnh ung thư phổi, u nguyên bào xóp, hoặc bệnh bạch cầu. Việc sử dụng (các) thuật ngữ bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý liên quan đến bệnh ung thư có nghĩa là đề cập rộng rãi đến các tình trạng bệnh lý mà liên quan, trực tiếp hoặc gián tiếp, với bệnh ung thư, và bao gồm, ví dụ, bệnh tạo mạch và trạng thái tiền ung thư như loạn sản.

Theo các phương án nhất định, bệnh ung thư có thể di căn hoặc có nguy cơ trở nên di căn, hoặc có thể xuất hiện trong một mô lan tỏa, bao gồm bệnh ung thư máu hoặc tủy xương (ví dụ, bệnh bạch cầu). Theo một số phương án khác, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để vượt qua khả năng chống chịu của tế bào T.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị tình trạng bệnh lý tăng sinh, bệnh ung thư, khối u, hoặc tình trạng bệnh lý tiền ung thư bằng chất ức chế arginaza và ít nhất một chất trị liệu hoặc chẩn đoán khác, ví dụ được nêu ở đây.

Rối loạn liên quan đến miễn dịch và viêm. Như được sử dụng ở đây, các thuật ngữ như “bệnh miễn dịch”, “tình trạng bệnh lý miễn dịch”, “rối loạn miễn dịch”, “bệnh viêm”, “tình trạng bệnh lý viêm”, “rối loạn viêm” và thuật ngữ tương tự có nghĩa rộng là bao gồm bất kỳ tình trạng bệnh lý liên quan đến miễn dịch (ví dụ, bệnh tự miễn) hoặc rối loạn có thành phần viêm có thể được điều trị bằng chất ức chế arginaza được mô tả ở đây để thu được một số lợi ích điều trị. Các tình trạng bệnh lý này thường gắn bó chặt chẽ với các bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý khác. Ví dụ, “tình trạng bệnh lý miễn dịch” có thể chỉ tình trạng bệnh lý tăng sinh, như bệnh ung thư, khối u và bệnh tạo mạch; bao gồm bệnh lây nhiễm (cấp tính và mạn tính), khối u và bệnh ung thư chống lại sự tiêu diệt của hệ miễn dịch.

Các chất ức chế arginaza theo sáng chế có thể được sử dụng để làm tăng hoặc tăng cường đáp ứng miễn dịch; để cải thiện khả năng miễn dịch, bao gồm làm tăng hiệu quả của vacxin; và để tăng tình trạng viêm. Sự suy giảm miễn dịch liên quan đến bệnh suy giảm miễn dịch, điều trị y tế ức chế miễn dịch, sự lây nhiễm cấp tính và/hoặc mạn tính, và lão hóa có thể được điều trị bằng cách sử dụng hợp chất được bộc lộ ở đây. Chất ức chế arginaza cũng có thể được sử dụng để kích thích hệ miễn dịch của bệnh nhân bị ức chế miễn dịch gây ra do khám hoặc điều trị bệnh, bao gồm những người đã trải qua cấy ghép tủy xương, hóa trị hoặc xạ trị.

Theo các phương án cụ thể của sáng chế, chất ức chế arginaza được sử dụng để làm tăng hoặc tăng cường đáp ứng miễn dịch đối với kháng nguyên bằng cách tạo ra hoạt tính phù trợ. Theo phương án cụ thể, ít nhất một kháng nguyên hoặc vaccin được dùng cho đối tượng kết hợp với ít nhất một chất ức chế arginaza theo sáng chế để kéo dài đáp ứng miễn dịch với kháng nguyên hoặc vaccin. Dược phẩm điều trị cũng được đề xuất bao gồm ít nhất một chất kháng nguyên hoặc thành phần vaccin, bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, virus, vi khuẩn và nấm, hoặc các phần của chúng, protein, peptit, kháng nguyên đặc hiệu khối u và vaccin axit nucleic, kết hợp với ít nhất một chất ức chế arginaza theo sáng chế.

Một danh sách không giới hạn về các bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý liên quan đến miễn dịch và viêm có thể được điều trị hoặc ngăn ngừa bằng hợp chất và dược phẩm bao gồm, bệnh viêm khớp (ví dụ, bệnh viêm đa khớp dạng thấp), bệnh suy thận, bệnh luput, bệnh hen, bệnh vẩy nến, bệnh viêm ruột kết, bệnh viêm tụy, bệnh dị ứng, bệnh xơ hóa, biến chứng do phẫu thuật (ví dụ, trong đó xytokin viêm ngăn sự lành bệnh), thiếu máu và chứng đau cơ xơ hóa. Các bệnh và rối loạn khác có thể liên quan đến bệnh viêm mạn tính bao gồm bệnh Alzheimer, bệnh suy tim xung huyết, bệnh đột quỵ, bệnh hẹp van động mạch chủ, bệnh xơ cứng động mạch, chứng loãng xương, bệnh Parkinson, bệnh lây nhiễm, bệnh viêm ruột (ví dụ, bệnh Crohn và bệnh viêm ruột kết mạn loét), bệnh viêm da tiếp xúc dị ứng và bệnh eczema khác, bệnh xơ cứng toàn thân, cấy ghép và bệnh xơ cứng rải rác.

Trong số các rối loạn liên quan đến miễn dịch khác, được cho rằng sự ức chế chức năng arginaza cũng có thể đóng vai trò trong việc dung nạp miễn dịch và ngăn cản sự đào thải của thai nhi trong tử cung.

Theo một số phương pháp, chất ức chế arginaza được mô tả ở đây có thể được kết hợp với chất ức chế miễn dịch để giảm số lượng tế bào hiệu ứng miễn dịch.

Một số bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý nêu trên mà chất ức chế arginaza có thể là đặc biệt hữu hiệu (ví dụ, do hạn chế của các liệu pháp hiện tại) được mô tả chi tiết hơn dưới đây.

Bệnh viêm đa khớp dạng thấp (Rheumatoid Arthritis - RA), thường được đặc trưng bởi tình trạng viêm mạn tính ở lớp lót màng (dịch khớp) của khớp, ảnh hưởng đến khoảng 1% dân số Hoa Kỳ (2,1 triệu người). Sự hiểu biết hơn về vai trò của xytokin,

bao gồm TNF-a và IL-1, trong quá trình viêm cho phép phát triển và giới thiệu nhóm được chất mới chống thấp khớp cải biến bệnh (DMARD). Các chất (một số trong số đó trùng lặp với các phương thức điều trị cho RA) bao gồm ENBREL (etanercept), REMICADE (infliximab), HUMIRA (adalimumab) và KINERET (anakinra). Mặc dù một số chất này làm giảm các triệu chứng, ức chế sự tiến triển của sự phá hủy cấu trúc và cải thiện chức năng vật lý trong các quần thể bệnh nhân cụ thể, vẫn cần các chất thay thế có hiệu lực được cải thiện, cơ chế hoạt động bổ sung và tác dụng phụ ít hơn/ít nghiêm trọng hơn.

Bệnh vẩy nến, một nhóm bệnh về da mạn tính được điều tiết miễn dịch phổ biến, ảnh hưởng đến hơn 4,5 triệu người ở Hoa Kỳ, trong đó 1,5 triệu người được coi là mắc bệnh từ dạng trung bình đến nặng. Hơn nữa, hơn 10% bệnh nhân mắc bệnh vẩy nến phát triển thành bệnh viêm khớp do vẩy nến, phá hủy xương và các mô liên kết xung quanh khớp. Sự hiểu biết được cải thiện về sinh lý cơ bản của bệnh vẩy nến dẫn đến việc đưa các chất, ví dụ, hướng đích hoạt động của tế bào lympho T và xytokin chịu trách nhiệm cho bản chất viêm của bệnh. Các chất này bao gồm các chất ức chế TNF- α (cũng được sử dụng trong điều trị bệnh viêm đa khớp dạng thấp (RA)), bao gồm ENBREL (etanercept), REMICADE (infliximab) và HUMIRA (adalimumab)), và các chất ức chế tế bào T như AMEVIVE (alefacept) và RAPTIVA (efalizumab). Mặc dù một số chất trong số các chất này là hữu hiệu đến một mức độ nào đó đối với quần thể bệnh nhân nhất định, không có chất nào cho thấy là có thể điều trị hiệu quả cho tất cả các bệnh nhân.

Rối loạn liên quan đến vi sinh vật. Sáng chế mô tả việc sử dụng chất ức chế arginaza được mô tả ở đây trong việc điều trị và/hoặc ngăn ngừa bất kỳ virus, vi khuẩn, nấm, ký sinh trùng nào hoặc các bệnh, rối loạn, tình trạng bệnh lý lây nhiễm khác, mà điều trị bằng chất ức chế arginaza có thể có lợi.

Ví dụ về bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý do virus mà được đề xuất bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, virus viêm gan B (HBV), virus viêm gan C (HCV), virus gây bệnh u nhú ở người (HPV), HIV, AIDS (bao gồm các biểu hiện của nó như suy mòn, sa sút trí tuệ và tiêu chảy), virus herpes simplex (HSV), virus Epstein-Barr (EBV), virus varicella zoster, virus coxsackie, và cytomegalovirus (CMV).

Các ví dụ khác về bệnh và rối loạn như vậy bao gồm bệnh lây nhiễm tụ cầu và liên cầu (ví dụ, *Staphylococcus aureus* và *Streptococcus sanguinis*, tương ứng), *leishmania*, *toxoplasma*, *trichomonas*, *giardia*, *candida albicans*, *bacillus anthracis*, và *pseudomonas aeruginosa*. Theo một số phương án, bệnh hoặc rối loạn bao gồm sự lây nhiễm *Mycobacterium* (ví dụ, *Mycobacterium leprae* hoặc *Mycobacterium tuberculosis*) hoặc lây nhiễm do *Listeria monocytogenes* hoặc *Toxoplasma gondii*. Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị nhiễm khuẩn, làm giảm hoặc ức chế sự phát triển của vi khuẩn, và làm giảm hoặc ức chế các xytokin gây viêm.

Các phương án khác bao gồm việc điều trị sự lây nhiễm ký sinh trùng bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, *Leishmania donovani*, *Leishmania tropica*, *Leishmania major*, *Leishmania aethiopica*, *Leishmania mexicana*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, hoặc *Plasmodium malariae*. Thông thường, liệu pháp chống ký sinh trùng được dùng để phòng bệnh (ví dụ, trước khi đối tượng di chuyển đến khu vực có tần suất lây nhiễm ký sinh trùng cao).

Các rối loạn khác. Các phương án của sáng chế bao gồm việc dùng chất ức chế arginaza được mô tả ở đây cho đối tượng để điều trị hoặc ngăn ngừa bất kỳ rối loạn nào khác có thể được lợi từ ít nhất một mức độ nào đó của sự ức chế bằng arginaza. Bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý này bao gồm, ví dụ, rối loạn tim mạch (ví dụ, bệnh thiếu máu cục bộ ở tim), rối loạn đường dạ dày ruột (ví dụ, bệnh Crohn), rối loạn chuyển hóa (ví dụ, bệnh tiểu đường), rối loạn gan (ví dụ, bệnh xơ gan, NASH và NAFLD), rối loạn phổi (ví dụ, COPD và bệnh hen), rối loạn mắt (ví dụ, bệnh võng mạc do tiểu đường) và rối loạn thận (ví dụ, bệnh suy thận).

Dược phẩm

Chất ức chế arginaza theo sáng chế có thể ở dạng dược phẩm thích hợp để dùng cho đối tượng. Nhìn chung, các dược phẩm này là “dược phẩm” chứa (các) chất ức chế arginaza và một hoặc nhiều chất pha loãng, chất mang hoặc tá dược được dùng hoặc có thể chấp nhận được về mặt sinh lý. Theo các phương án nhất định, chất ức chế arginaza có mặt với lượng có thể chấp nhận được về mặt điều trị. Dược phẩm có thể được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế; do đó, ví dụ, dược phẩm có thể được dùng *ex vivo* hoặc *in vivo* cho đối tượng để thực hiện các phương pháp và cách sử dụng điều trị và phòng ngừa được mô tả ở đây.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế để tương thích với phương pháp hoặc đường dùng được dự định; các đường dùng làm ví dụ được nêu ở đây. Hơn nữa, dược phẩm có thể được sử dụng kết hợp với các chất hoặc hợp chất có hoạt tính trị liệu khác như được mô tả ở đây để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý được bao gồm bởi sáng chế.

Dược phẩm chứa thành phần hoạt tính (ví dụ, chất ức chế chức năng arginaza) có thể ở dạng thích hợp để sử dụng qua đường miệng, ví dụ, như viên nén, viên nang,片片 thuốc hình thoi, viên thuốc hình thoi, hỗn dịch nước hoặc dầu, bột hoặc hạt phân tán, nhũ tương, viên nang cứng hoặc mềm, hoặc sirô, dung dịch, vi hạt hoặc cốm ngọt. Dược phẩm được dự định sử dụng qua đường miệng có thể được điều chế theo bất kỳ phương pháp nào được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật để sản xuất dược phẩm và các dược phẩm này có thể chứa một hoặc nhiều chất như, ví dụ, chất làm ngọt, chất tạo hương, chất tạo màu và chất bảo quản để tạo ra các chế phẩm được dùng đẹp mắt và ngon miệng. Viên nén, viên nang và dạng tương tự chứa thành phần hoạt tính phối trộn với các tá dược được dùng không độc, phù hợp để sản xuất viên nén. Các tá dược này có thể là, ví dụ, chất pha loãng, như canxi cacbonat, natri cacbonat, lactoza, canxi phosphat hoặc natri phosphat; chất tạo hạt và chất phân hủy, ví dụ, tinh bột ngô, hoặc axit alginic; chất liên kết, ví dụ tinh bột, gelatin hoặc acacia, và chất làm trơn, ví dụ magie stearat, axit stearic hoặc talc.

Viên nén, viên nang và dạng tương tự thích hợp để dùng qua đường miệng có thể không bao hoặc bao bằng các kỹ thuật đã biết để làm chậm sự phân hủy và hấp thụ trong đường dạ dày ruột và do đó mang lại tác dụng lâu dài. Ví dụ, nguyên liệu làm chậm thời gian như glyxeryl monostearat hoặc glyxeryl distearat có thể được sử dụng. Chúng cũng có thể được phủ bằng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật để tạo ra viên nén trị liệu thẩm thấu để giải phóng có kiểm soát. Các chất khác bao gồm các hạt phân hủy sinh học hoặc tương hợp sinh học hoặc chất polyme như polyeste, polyamin axit, hydrogel, polyvinyl pyrrolidon, polyanhydrit, axit polyglycolic, etylen-vinylaxetat, methylxenluloza, carboxymethylxenluloza, protamin sulfat, hoặc copolyme lactit/glycolit, polylactit/glycolit hoặc copolyme etylenvinylaxetat để kiểm soát sự phân phối chế phẩm được dùng. Ví dụ, chất dùng qua đường miệng có thể được giữ lại trong vi nang được điều chế bằng kỹ thuật tụ giọt hoặc bằng cách trùng hợp bề mặt, bằng việc sử dụng lần lượt hydroxymethylxenluloza hoặc gelatin-vi nang hoặc poly (metylmethacrolat) vi nang,

hoặc trong hệ thống phân phối được chất dạng keo. Hệ phân tán dạng keo bao gồm các phức hợp đại phân tử, viên nang nano, vi cầu, vi hạt, và hệ gốc lipit, bao gồm nhũ tương dầu trong nước, mixen, mixen hỗn hợp và liposom. Phương pháp điều chế các chế phẩm nêu trên sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật.

Các chế phẩm để sử dụng qua đường miệng cũng có thể được thể hiện dưới dạng viên nang gelatin cứng trong đó thành phần hoạt tính được trộn với chất pha loãng rắn trơ, ví dụ, canxi cacbonat, canxi phosphat, cao lanh hoặc xenluloza vi tinh thể, hoặc như viên nang mềm gelatin trong đó thành phần hoạt tính được trộn với nước hoặc môi trường dầu, ví dụ dầu đậu phộng, parafin lỏng hoặc dầu ô liu.

Hỗn dịch nước chứa các nguyên liệu hoạt tính ở dạng phối trộn với các tá được thích hợp để sản xuất chúng. Các tá được này có thể là chất tạo hỗn dịch, ví dụ natri carboxymetylxenluloza, metyloxenluloza, hydroxy-propylmetylxenluloza, natri alginat, polyvinyl-pyrrolidon, gôm tragacanth và gôm acacia; chất phân tán hoặc chất làm ướt, ví dụ phosphatit có trong tự nhiên (ví dụ, lecithin), hoặc sản phẩm ngưng tụ của ankylen oxit với axit béo (ví dụ, polyoxy-etylen stearat), hoặc sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với rượu béo mạch dài (ví dụ, đối với heptadecaetylenoxycetanol), hoặc sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với một phần este thu được từ axit béo và hexitol (ví dụ, polyoxyetylen sorbitol monooleat), hoặc sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với một phần este thu được từ axit béo và hexitol anhydrit (ví dụ, polyetylen sorbitan monooleat). Hỗn dịch nước cũng có thể chứa một hoặc nhiều chất bảo quản.

Hỗn dịch dầu có thể được bào chế bằng cách tạo hỗn dịch các thành phần hoạt tính trong dầu thực vật, ví dụ dầu lạc, dầu ô liu, dầu mè hoặc dầu dừa, hoặc trong dầu khoáng như parafin lỏng. Hỗn dịch dầu có thể chứa chất làm đặc, ví dụ sáp ong, parafin cứng hoặc rượu xetyl. Các chất tạo ngọt như các chất nêu trên, và chất tạo hương có thể được bổ sung vào để tạo ra một chế phẩm dùng qua đường miệng ngon miệng.

Bột và hạt phân tán thích hợp để điều chế hỗn dịch nước bằng cách bổ sung nước tạo ra thành phần hoạt tính phối trộn với chất phân tán hoặc chất làm ướt, chất tạo hỗn dịch và một hoặc nhiều chất bảo quản. Các chất phân tán hoặc chất làm ướt và chất tạo hỗn dịch thích hợp được lấy làm ví dụ ở đây.

Dược phẩm theo sáng chế cũng có thể ở dạng nhũ tương dầu trong nước. Pha dầu có thể là dầu thực vật, ví dụ dầu ô liu hoặc dầu lạc, hoặc dầu khoáng, ví dụ, parafin lỏng

hoặc hỗn hợp của các chất này. Các chất tạo nhũ tương thích hợp có thể là gồm có trong tự nhiên, ví dụ, gồm acacia hoặc gồm tragacanth; phosphatit có trong tự nhiên, ví dụ, đậu nành, lecithin và este hoặc este một phần thu được từ axit béo; hexitol anhydrit, ví dụ, sorbitan monooleat; và sản phẩm ngưng tụ của một phần este với etylen oxit, ví dụ, polyoxyetylen sorbitan monooleat.

Dược phẩm thường chứa lượng cho hiệu quả điều trị của chất ức chế arginaza được bao gồm bởi sáng chế và một hoặc nhiều chất bào chế được dụng và có thể chấp nhận được về mặt sinh lý. Chất pha loãng, chất mang hoặc tá dược được dụng hoặc có thể chấp nhận được về mặt sinh lý thích hợp bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, chất chống oxy hóa (ví dụ, axit ascorbic và natri bisulfat), chất bảo quản (ví dụ, rượu benzyl, methyl paraben, etyl hoặc n-propyl, p-hydroxybenzoat), chất tạo nhũ tương, chất tạo hỗn dịch, chất phân tán, dung môi, chất làm đầy, chất độn, chất tẩy rửa, đệm, chất dẫn thuốc, chất pha loãng và/hoặc tá dược. Ví dụ, chất dẫn thuốc thích hợp có thể là dung dịch muối sinh lý hoặc dung dịch muối đệm xitrat, có thể được bổ sung bằng các nguyên liệu khác phổ biến trong dược phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa. Nước muối đệm trung tính hoặc nước muối trộn với albumin huyết thanh còn là các chất dẫn thuốc tiêu biểu. Người có hiểu biết về trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ dễ dàng nhận ra nhiều loại đệm có thể được sử dụng trong dược phẩm và các dạng bào chế được đề cập ở đây. Đệm điển hình bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, axit yếu, bazơ yếu được dụng hoặc hỗn hợp của chúng. Ví dụ, các thành phần đệm có thể là nguyên liệu tan trong nước như axit phosphoric, axit tartaric, axit lactic, axit succinic, axit citric, axit axetic, axit ascorbic, axit aspartic, axit glutamic và muối của chúng. Các chất đệm có thể được chấp nhận bao gồm, ví dụ, đệm Tris, N-(2-hydroxyethyl)piperazin-N'- (axit 2-etansulfonic) (HEPES), axit 2-(N-morpholino)etansulfonic (MES), muối natri của axit 2-(N-morpholino)etansulfonic (MES), axit 3-(N-morpholino)propansulfonic (MOPS) và axit N-tris[hydroxymethyl]methyl-3-aminopropansulfonic (TAPS).

Sau khi dược phẩm được bào chế, nó có thể được bảo quản trong lọ nhỏ vô trùng dưới dạng dung dịch, hỗn dịch, gel, nhũ tương, chất rắn, hoặc bột loại hydro hoặc đông khô. Chế phẩm này có thể được bảo quản ở dạng sẵn sàng sử dụng, dạng đông khô cần hoàn nguyên trước khi sử dụng, dạng lỏng cần pha loãng trước khi sử dụng, hoặc dạng được chấp nhận khác. Theo một số phương án, dược phẩm được chứa trong vật chứa sử dụng một lần (ví dụ, lọ, ống tiêm, xy lanh, hoặc thiết bị tiêm tự động dùng một lần

(tương tự như, ví dụ, EpiPen®)), trong khi vật chứa dùng nhiều lần (ví dụ, lọ nhỏ dùng nhiều lần) được đề xuất trong các phương án khác.

Các chế phẩm cũng có thể bao gồm các chất mang để bảo vệ dược phẩm chống lại sự phân hủy hoặc loại bỏ nhanh chóng khỏi cơ thể, như chế phẩm giải phóng có kiểm soát, bao gồm liposom, hydrogel, tiền dược chất và hệ phân phối vi nang hóa. Ví dụ, nguyên liệu làm chậm thời gian như glyxeryl monostearat hoặc glyxeryl stearat đơn lẻ, hoặc kết hợp với sáp, có thể được sử dụng. Bất kỳ thiết bị phân phối thuốc nào cũng có thể được sử dụng để phân phối chất ức chế arginaza, bao gồm thiết bị cấy ghép (ví dụ, bơm có thể cấy) và hệ thống ống thông, bơm và thiết bị tiêm chậm, tất cả đều đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật.

Thuốc tiêm dự trữ, thường được dùng dưới da hoặc trong cơ, cũng có thể được sử dụng để giải phóng chất ức chế arginaza được bọc lộ ở đây trong một khoảng thời gian xác định. Thuốc tiêm dự trữ thường là gốc rắn hoặc dầu và thường chứa ít nhất một thành phần chế phẩm được nêu ở đây. Một trong những kỹ năng thông thường trong lĩnh vực này là quen thuộc với các công thức và cách sử dụng thuốc tiêm dự trữ.

Dược phẩm có thể ở dạng hỗn dịch nước hoặc dầu tiêm vô trùng. Hỗn dịch này có thể được bào chế theo kỹ thuật đã biết bằng cách sử dụng các chất phân tán hoặc chất làm ướt và chất tạo hỗn dịch thích hợp được đề cập ở đây. Chế phẩm tiêm vô trùng cũng có thể là dung dịch hoặc hỗn dịch tiêm vô trùng trong dung môi hoặc chất pha loãng không độc có thể chấp nhận được ngoài đường tiêu hóa, ví dụ, như dung dịch trong 1,3-butan diol. Các chất pha loãng, dung môi và môi trường phân tán có thể chấp nhận được có thể được sử dụng bao gồm nước, dung dịch Ringer, dung dịch natri clorua đẳng trương, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, NJ) hoặc nước muối đệm phosphat (PBS), etanol, polyol (ví dụ, glyxerol, propylen glycol, và polyetylen glycol lỏng), và hỗn hợp thích hợp của chúng. Ngoài ra, dầu cố định, vô trùng thường được sử dụng dưới dạng dung môi hoặc môi trường hỗn dịch. Vì mục đích này, bất kỳ loại dầu cố định nhạt nào cũng có thể được sử dụng, bao gồm mono- hoặc diglyxerit tổng hợp. Hơn nữa, các axit béo như axit oleic, được sử dụng trong việc chuẩn bị thuốc tiêm. Có thể đạt được sự hấp thụ kéo dài các chế phẩm thuốc tiêm cụ thể bằng cách chứa chất làm chậm quá trình hấp thụ (ví dụ, nhôm monostearat hoặc gelatin).

Sáng chế đề xuất việc dùng chất ức chế arginaza ở dạng thuốc đạn để dùng qua trực tràng. Thuốc đạn có thể được điều chế bằng cách trộn dược chất với tá dược không gây kích ứng thích hợp ở dạng rắn ở nhiệt độ thường nhưng lỏng ở nhiệt độ của trực tràng và do đó sẽ chảy ra trong trực tràng để giải phóng dược chất. Các nguyên liệu này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, bơ cacao và polyetylen glycol.

Chất ức chế arginaza được dự định bởi sáng chế có thể ở dạng dược phẩm thích hợp bất kỳ khác (ví dụ, thuốc xịt để sử dụng cho mũi hoặc hít) hiện nay đã được biết đến hoặc được phát triển trong tương lai.

Đường dùng

Sáng chế đề xuất việc dùng chất ức chế arginaza và dược phẩm chứa chúng, theo bất kỳ cách nào thích hợp. Đường dùng thích hợp bao gồm đường qua đường miệng, ngoài đường tiêu hóa (ví dụ, trong cơ, trong tĩnh mạch, dưới da (ví dụ, tiêm hoặc cấy), trong màng não, trong bể, trong khớp, trong màng não, trong não (trong nhu mô) và trong não thất), mũi, âm đạo, dưới lưỡi, trong mắt, trực tràng, tại chỗ (ví dụ, qua da), miệng và hít. Thuốc tiêm dự trữ, thường được dùng dưới da hoặc trong cơ, cũng có thể được sử dụng để giải phóng chất ức chế arginaza được bộc lộ ở đây trong một khoảng thời gian xác định.

Các phương án cụ thể theo sáng chế đề xuất việc dùng qua đường miệng.

Liệu pháp kết hợp

Sáng chế đề xuất việc sử dụng chất ức chế arginaza riêng lẻ hoặc kết hợp với một hoặc nhiều chất trị liệu có hoạt tính. Các chất trị liệu có hoạt tính khác có thể là các phân tử hóa học nhỏ; các đại phân tử như protein, kháng thể, thể peptit, peptit, ADN, ARN hoặc các mảnh của các đại phân tử này; hoặc liệu pháp tế bào hoặc gen. Trong liệu pháp kết hợp này, các chất có hoạt tính khác nhau thường có các cơ chế hoạt động bổ sung khác nhau. Liệu pháp kết hợp này có thể đặc biệt có lợi bằng cách cho phép giảm liều của một hoặc nhiều chất, do đó làm giảm hoặc loại bỏ tác dụng phụ liên quan đến một hoặc nhiều chất. Hơn nữa, liệu pháp kết hợp này có thể có tác dụng trị liệu hiệp đồng hoặc phòng ngừa đối với bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý cơ bản.

Như được sử dụng ở đây, “kết hợp” có nghĩa là bao gồm các liệu pháp có thể được dùng riêng rẽ, ví dụ, được bào chế riêng rẽ để dùng riêng rẽ (ví dụ, dưới dạng có

thể được chứa trong kit) và các liệu pháp có thể được dùng cùng nhau trong chế phẩm duy nhất (tức là, “đồng chế phẩm”).

Theo các phương án nhất định, chất ức chế arginaza được dùng hoặc được sử dụng lần lượt, ví dụ, trong đó một chất được dùng trước một hoặc nhiều chất khác. Theo các phương án khác, chất ức chế arginaza được dùng đồng thời, ví dụ, trong đó hai hoặc nhiều chất được dùng tại hoặc gần cùng thời điểm; hai hoặc nhiều chất có thể có trong hai hoặc nhiều chế phẩm riêng rẽ hoặc được kết hợp vào một chế phẩm duy nhất (tức là đồng chế phẩm). Bất kể hai hoặc nhiều chất được dùng lần lượt hay đồng thời, chúng được coi là được dùng kết hợp cho các mục đích của sáng chế.

Chất ức chế arginaza theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với ít nhất một chất (có hoạt tính) khác theo cách bất kỳ thích hợp trong các trường hợp. Theo một phương án, việc điều trị bằng ít nhất một chất có hoạt tính và ít nhất một chất ức chế arginaza theo sáng chế được duy trì trong một khoảng thời gian. Theo một phương án khác, việc điều trị bằng ít nhất một chất có hoạt tính được làm giảm hoặc không liên tục (ví dụ, khi đối tượng ổn định), trong khi việc điều trị bằng chất ức chế arginaza theo sáng chế được duy trì ở phác đồ dùng liều không đổi. Theo một phương án khác, việc điều trị bằng ít nhất một chất có hoạt tính được làm giảm hoặc không liên tục (ví dụ, khi đối tượng ổn định), trong khi việc điều trị bằng chất ức chế arginaza theo sáng chế được giảm (ví dụ, liều thấp hơn, dùng liều với tần suất ít hơn hoặc phác đồ điều trị ngắn hơn). Theo một phương án khác, việc điều trị bằng ít nhất một chất có hoạt tính được làm giảm hoặc không liên tục (ví dụ, khi đối tượng ổn định), và việc điều trị bằng chất ức chế arginaza theo sáng chế được tăng lên (ví dụ, liều cao hơn, dùng liều thường xuyên hơn hoặc phác đồ điều trị dài hơn). Theo một phương án khác, việc điều trị bằng ít nhất một chất có hoạt tính được duy trì và việc điều trị bằng chất ức chế arginaza theo sáng chế được làm giảm hoặc không liên tục (ví dụ, liều thấp hơn, dùng liều với tần suất ít hơn hoặc phác đồ điều trị ngắn hơn). Theo một phương án khác, việc điều trị bằng ít nhất một chất có hoạt tính và việc điều trị bằng chất ức chế arginaza theo sáng chế được làm giảm hoặc không liên tục (ví dụ, liều thấp hơn, dùng liều với tần suất ít hơn hoặc phác đồ điều trị ngắn hơn).

Rối loạn liên quan đến ung thư. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị và/hoặc ngăn ngừa tình trạng bệnh lý tăng sinh, bệnh ung thư, khối u, hoặc bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý tiền ung thư bằng chất ức chế arginaza và ít nhất một chất trị liệu hoặc

chẩn đoán bổ sung. Theo một số phương án, chất trị liệu hoặc chẩn đoán bổ sung là chất phóng xạ, chất điều biến miễn dịch hoặc chất trị liệu hóa học hoặc chất chẩn đoán. Các chất điều biến miễn dịch thích hợp có thể được sử dụng trong sáng chế bao gồm CD4OL, B7 và B7RP1; các kháng thể đơn dòng hoạt hóa (mAbs) đối với các thụ thể kích thích, như, phối tử kháng CD40, kháng CD38, kháng ICOS và 4-IBB; tải kháng nguyên tế bào đuôi gai (in vitro hoặc in vivo); vacxin chống ung thư như vacxin ung thư tế bào đuôi gai; xytokin/chemokin, như, IL2, IL12, IL18, ELC/CCL19, SLC/CCL21, MCP-1, IL-4, IL-18, TNF, IL-15, MDC, IFN α /b, M-CSF, IL-3, GM-CSF, IL-13 và kháng IL-10; lipopolysaccharit của vi khuẩn (LPS); các chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza 1 (IDO1) và các oligonucleotit kích thích miễn dịch.

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa sự phát triển khối u bao gồm việc dùng chất ức chế arginaza được mô tả ở đây kết hợp với chất ức chế sự dẫn truyền tín hiệu (STI) để đạt được sự ngăn ngừa cộng hợp hoặc hiệp đồng của sự phát triển khối u. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “chất ức chế truyền tín hiệu” chỉ chất ức chế một cách chọn lọc một hoặc nhiều bước trong con đường truyền tín hiệu. Chất ức chế truyền tín hiệu (STI) theo sáng chế bao gồm: (i) chất ức chế bcr/abl kinaza (ví dụ, GLEEVEC); (ii) chất ức chế thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGF), bao gồm chất ức chế kinaza và kháng thể; (iii) chất ức chế thụ thể her-2/neu (ví dụ, HERCEPTIN); (iv) chất ức chế của kinaza họ Akt hoặc con đường Akt (ví dụ, rapamycin); (v) chất ức chế kinaza chu kỳ tế bào (ví dụ, flavopiridol); (vi) chất ức chế phosphatidyl inositol kinaza và (vii) chất ức chế phosphoinositit kinaza, như chất ức chế PI3K. Các chất liên quan đến quá trình điều biến miễn dịch cũng có thể được sử dụng kết hợp với chất ức chế arginaza được mô tả ở đây để ngăn ngừa sự phát triển khối u ở bệnh nhân mắc ung thư.

Ví dụ về các chất hóa trị liệu bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, chất alkyl hóa như thiotepa và xyclophosphamid; alkyl sulfonat như busulfan, improsulfan và piposulfan; aziridin như benzodopa, carboquon, meturedopa, và uredopa; etylenimin và metylamelamin bao gồm altretamin, trietylenmelamin, trietylenphosphoramit, trietylenthiophosphoramit và trimetylolomelamin; nitơ mù tạt như chiorambucil, clonaphazin, cholophosphamid, estramustin, ifosfamid, mechlorethamin, mechlorethamin oxit hydroclorua, melphalan, novembichin, phenesterin, prednimustin, trofosfamid, uraxil mù tạt; nitrosure như carmustin, clozotoxin, fotemustin, lomustin,

nimustin, ranimustin; kháng sinh như aclacinomycin, actinomycin, anthramycin, azaserin, bleomycin, cactinomycin, calicheamixin, carabixin, caminomycin, carzinophilin, chromomycin, dactinomycin, daunorubixin, detorubixin, 6-diazo-5-oxo-L-norleuxin, doxorubixin, epirubixin, esorubixin, idarubixin, marcellomycin, mitomycin, axit mycophenolic, nogalamycin, olivomycin, peplomycin, potfiromycin, puromycin, quelamycin, rodorubixin, streptonigrin, streptozocin, tubercidin, ubenimex, zinostatin, zorubixin; chất chống chuyển hóa như methotrexat và 5-florouraxil (5-FU); chất tương tự axit folic như denopterin, methotrexat, pteropterin, trimetrexat; chất tương tự purin như fludarabin, 6-mercaptopurin, thiamiprin, thioguanin; chất tương tự pyrimidin như ancitabin, azacitidin, 6-azauridin, carmofur, cytarabin, dideoxyuridin, doxifluridin, enocitabin, floxuridin, 5-FU; androgen như calusteron, dromostanolon propionat, epitiostanol, mepitiostan, testolacton; kháng thượng thận như aminoglutethimit, mitotan, trilostan; chất làm đầy axit folic như axit frolinic; aceglaton; aldophosphamit glycosit; axit aminolevulinic; amsacrin; bestrabucil; bisantren; edatraxat; defofamin; demecolcin; diaziquon; elformithin; elliptini axetat; etoglucit; gali nitrat; hydroxyure; lentinan; lonidamin; mitoguazon; mitoxantron; mopidamol; nitracrin; pentostatin; phenamet; pirarubixin; axit podophylinic; 2-etylhydrazit; procarbazin; razoxan; sizofiran; spirogermanium; axit tenuazonic; triaziquon; 2,2',2"-triclotrietylamin; urethan; vindesin; dacarbazin; mannomustin; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gaxytosin; arabinosit (Ara-C); xyclophosphamit; thiotepa; taxoit, ví dụ, paclitaxel và doxetaxel; cloambucil; gemcitabin; 6-thioguanin; mercaptopurin; methotrexat; platin và phức chất phối trí platin như cisplatin, carboplatin và oxaliplatin; vinblastin; etoposit (VP-16); ifosfamid; mitomycin C; mitoxantron; vincristin; vinorelbin; navelbin; novantron; teniposit; daunomycin; aminopterin; xeloda; ibandronat; CPT11; chất ức chế topoisomeraza; diflometylornithin (DMFO); axit retinoic; esperamixin; capecitabin; antraxycilin; và muối, axit hoặc dẫn xuất được dùng bất kỳ ở trên.

Chất hóa trị liệu cũng bao gồm chất chống hormone có tác dụng điều hòa hoặc ức chế hoạt động hormone đối với khối u như kháng estrogen, bao gồm ví dụ tamoxifen, raloxifene, aromatase ức chế 4(5)-imidazol, 4-hydroxytamoxifen, baxifen, keoxifen, onapriston và toremifen; và chống androgen như flutamid, nilutamit, bicalutamit, leuprolide, và goserelin; và muối, axit hoặc dẫn xuất được dùng bất kỳ ở trên. Theo các

phương án nhất định, liệu pháp kết hợp bao gồm phác đồ liệu pháp hóa trị bao gồm một hoặc nhiều chất hóa trị liệu. Theo các phương án nhất định, liệu pháp kết hợp bao gồm việc dùng hormone hoặc chất hormone liên quan.

Các phương thức điều trị khác có thể được sử dụng kết hợp với chất ức chế arginaza bao gồm liệu pháp phóng xạ, kháng thể đơn dòng chống lại kháng nguyên khối u, phức hợp của độc tố và kháng thể đơn dòng, chất hỗ trợ tế bào T, cấy ghép tủy xương, hoặc tế bào trình diện kháng nguyên (ví dụ, liệu pháp tế bào đuôi gai), bao gồm các chất chủ vận TLR được sử dụng để kích thích các tế bào trình diện kháng nguyên này.

Theo các phương án nhất định, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất được mô tả ở đây kết hợp với liệu pháp tế bào nuôi dưỡng, một dạng mới và đầy hứa hẹn của liệu pháp miễn dịch cá nhân hóa, trong đó các tế bào miễn dịch có hoạt tính chống khối u được sử dụng cho bệnh nhân ung thư. Liệu pháp tế bào nuôi dưỡng đang được khám phá bằng cách sử dụng tế bào lympho thâm nhập khối u (TIL) và tế bào T được thiết kế để biểu hiện, ví dụ, thụ thể kháng nguyên khả năng (CAR) hoặc thụ thể tế bào T (TCR). Liệu pháp tế bào nuôi dưỡng thường liên quan đến việc thu các tế bào T từ một cá nhân, cải biến di truyền chúng để hướng đích kháng nguyên đặc hiệu hoặc để tăng cường tác dụng chống khối u của chúng, khuếch đại chúng đến một số lượng đủ và truyền tế bào T đã cải biến di truyền vào bệnh nhân ung thư. Tế bào T có thể được thu từ bệnh nhân mà các tế bào lan rộng sau đó được truyền lần nữa (ví dụ, tự thân) hoặc có thể được thu từ bệnh nhân cho (ví dụ, dị sinh).

Theo các phương án nhất định, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất được mô tả ở đây kết hợp với liệu pháp dựa trên can thiệp ARN đối với sự biểu hiện gen im lặng. ARNi bắt đầu bằng sự phân tách các ARN sợi đôi dài hơn thành các ARN can thiệp nhỏ (siARN). Một sợi của siARN được kết hợp vào phức hợp ribonucleoprotein được gọi là phức hợp im lặng do ARN (RISC) gây ra, sau đó được sử dụng để xác định các phân tử mRNA bổ sung ít nhất một phần cho sợi siARN được kết hợp. RISC có thể liên kết hoặc phân tách mRNA, cả hai đều ức chế quá trình dịch mã.

Theo các phương án nhất định, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất được mô tả ở đây kết hợp với chất đối kháng thụ thể adenosin 2 (A_2R). Adenosin có thể gắn kết và hoạt hóa bốn thụ thể ghép đôi với protein G khác nhau: A_1R , $A_{2a}R$, $A_{2b}R$ và A_3R . Sự gắn kết của adenosin với thụ thể $A_{2a}R$, được biểu hiện trên tế bào T, tế bào giết tự nhiên

và tế bào tủy như tế bào đuôi gai, dẫn đến nồng độ AMP vòng nội bào tăng và làm suy giảm sự trưởng thành và/hoặc hoạt hóa của các tế bào này. Quá trình này làm suy giảm đáng kể sự hoạt hóa hệ thống miễn dịch chống lại các tế bào ung thư. Ngoài ra, A_{2A}R có liên quan đến việc tăng cường chọn lọc các xytokin chống viêm, thúc đẩy sự điều hòa tăng của PD-1 và CTLA-4, thúc đẩy sự tạo ra các tế bào T điều hòa LAG-3 và Foxp3+ và điều tiết ức chế các tế bào T điều hòa. PD-1, CTLA-4 và các điểm kiểm tra miễn dịch khác được thảo luận thêm ở đây. Việc kết hợp các chất đối kháng A_{2A}R trong các hỗn hợp được mô tả ở đây ít nhất có thể tạo ra tác dụng hỗ trợ khi xét đến các cơ chế hoạt động khác nhau của chúng.

Theo các phương án nhất định, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất được mô tả ở đây kết hợp với ectonucleotit xúc tác quá trình chuyển hóa ATP thành adenosin. Các hoạt động enzym của CD39 và CD73 đóng vai trò chiến lược trong việc xác định thời gian, độ lớn và bản chất hóa học của các tín hiệu sinh purin được phân phối đến các tế bào khác nhau (ví dụ, tế bào miễn dịch). Việc thay đổi các hoạt động enzym này có thể thay đổi tiến trình hoặc quyết định kết quả của nhiều sự kiện sinh lý bệnh, bao gồm bệnh ung thư, bệnh tự miễn, bệnh lây nhiễm, bệnh xơ vữa động mạch và tổn thương do thiếu máu cục bộ tái tưới máu. Các nghiên cứu sử dụng mô mà biểu hiện quá mức CD73 và sử dụng chuột bất hoạt CD73 đã cung cấp bằng chứng cho thấy chất ức chế CD73 có khả năng hữu ích đối với u hắc sắc tố, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư tuyến tiền liệt và bệnh ung thư vú (xem tài liệu, ví dụ, Sadej R. (2006) *Melanoma Res* 16: 213-22). Bởi vì mức độ biểu hiện cao hơn của CD73 có liên quan đến sự hình thành mạch máu mới của khối u, sự xâm lấn, chống lại liệu pháp hóa trị và di căn, các chất ức chế CD73 có thể được sử dụng để kiểm soát sự tiến triển và di căn của khối u.

Các chất ức chế điểm kiểm tra miễn dịch. Sáng chế mô tả việc sử dụng các chất ức chế chức năng arginaza được mô tả ở đây kết hợp với các chất ức chế điểm kiểm tra miễn dịch.

Số lượng lớn các thay đổi di truyền và biểu sinh là đặc trưng của tất cả bệnh ung thư tạo ra bộ kháng nguyên đa dạng mà hệ thống miễn dịch có thể sử dụng để phân biệt các tế bào khối u với các tế bào bình thường của chúng. Trong trường hợp tế bào T, độ lớn cuối cùng (ví dụ, mức sản xuất hoặc tăng sinh xytokin) và chất lượng (ví dụ, loại đáp ứng miễn dịch được tạo ra, như mô hình sản xuất xytokin) của phản ứng, được bắt đầu thông qua nhận diện kháng nguyên bởi thụ thể tế bào T (TCR), được điều hòa bởi

sự cân bằng giữa các tín hiệu đồng kích thích và ức chế (điểm kiểm tra miễn dịch). Trong điều kiện sinh lý bình thường, các điểm kiểm tra miễn dịch đóng vai trò quan trọng trong việc ngăn ngừa tính tự miễn dịch (tức là duy trì khả năng tự chống chịu) và cũng để bảo vệ các mô khỏi bị phá hủy khi hệ thống miễn dịch đang phản ứng với sự lây nhiễm gây bệnh. Sự biểu hiện của các protein điểm kiểm tra miễn dịch có thể bị rối loạn điều hòa bởi khối u như một cơ chế kháng miễn dịch quan trọng.

Tế bào T là trọng tâm chính của các nỗ lực điều khiển khả năng miễn dịch chống khối u nội sinh về mặt trị liệu vì i) khả năng của chúng để nhận diện chọn lọc các peptit thu được từ protein trong tất cả các ngăn tế bào; ii) khả năng của chúng để nhận diện và giết trực tiếp các tế bào biểu hiện kháng nguyên (bởi tế bào T tác động CD8 +; còn được gọi là tế bào lympho T gây độc tế bào (CTL)); và iii) khả năng của chúng để điều phối các đáp ứng miễn dịch đa dạng bởi tế bào T trợ giúp CD4 +, kết hợp các cơ chế tác động thích nghi và bẩm sinh.

Trong cài đặt lâm sàng, sự chặn điểm kiểm tra miễn dịch — dẫn đến khuếch đại đáp ứng tế bào T đặc hiệu kháng nguyên — đã cho thấy đây là một cách tiếp cận đầy hứa hẹn trong điều trị bệnh ung thư cho người.

Miễn dịch qua trung gian tế bào T bao gồm nhiều bước tuần tự, mỗi bước được điều chỉnh bởi các tín hiệu kích thích và ức chế cân bằng để tối ưu hóa phản ứng. Trong khi gần như tất cả các tín hiệu ức chế trong đáp ứng miễn dịch cuối cùng điều chỉnh các con đường truyền tín hiệu nội bào, nhiều tín hiệu được bắt đầu thông qua các thụ thể màng, các phối tử của thụ thể màng là (xytokin) gắn kết màng hoặc hòa tan. Trong khi các thụ thể đồng kích thích và ức chế và các phối tử điều hòa sự hoạt hóa tế bào T thường không được biểu hiện quá mức ở bệnh ung thư so với các mô bình thường, các phối tử ức chế và thụ thể mà điều hòa chức năng tác động tế bào T trong mô thường được biểu hiện quá mức đối với tế bào khối u hoặc đối với các tế bào không biến đổi liên kết với vi môi trường khối u. Các chức năng của thụ thể hòa tan và gắn kết màng - điểm kiểm tra miễn dịch phối tử có thể được điều chỉnh bằng cách sử dụng kháng thể chủ vận (đối với con đường đồng kích thích) hoặc kháng thể đối kháng (đối với con đường ức chế). Do đó, ngược lại với hầu hết các kháng thể hiện được chấp nhận cho liệu pháp ung thư, các kháng thể mà phong bế điểm kiểm tra miễn dịch không hướng đích trực tiếp vào các tế bào khối u, mà thay vào đó là hướng đích vào các thụ thể tế bào lympho hoặc các phối

tử của chúng để tăng cường hoạt động chống khối u nội sinh. [Xem tài liệu Pardoll, (April 2012) Nature Rev. Cancer 12:252-64].

Ví dụ về điểm kiểm tra miễn dịch (phối tử và các thụ thể), một số điểm kiểm tra miễn dịch được tăng điều chỉnh có chọn lọc trong các loại tế bào khối u khác nhau, là các ứng viên để chặn bao gồm PD1 (protein gây chết tế bào theo chương trình 1); PDL1 (phối tử PD1); BTLA (chất làm giảm tế bào lympho B và T); CTLA4 (kháng nguyên liên kết tế bào lympho T gây độc tế bào 4); TIM3 (protein màng tế bào T 3); LAG3 (gen hoạt hóa tế bào lympho 3); TIGIT (thụ thể miễn dịch tế bào T với miền Ig và ITIM); và thụ thể ức chế tế bào giết, có thể được chia thành hai lớp dựa trên đặc điểm cấu trúc của chúng: i) thụ thể giống globulin miễn dịch tế bào giết (KIR), và ii) thụ thể lectin typ C (thành viên của họ thụ thể xuyên màng typ II). Các điểm kiểm tra miễn dịch khác ít được xác định rõ được mô tả trong tài liệu, bao gồm cả hai thụ thể (ví dụ, thụ thể 2B4 (còn được gọi là CD244)) và phối tử (ví dụ, phối tử ức chế họ B7 nhất định như B7-H3 (còn được gọi là CD276) và B7-H4 (còn được gọi là B7-S1, B7x và VCTN1)). [Xem tài liệu Pardoll, (April 2012) Nature Rev. Cancer 12:252-64].

Sáng chế mô tả việc sử dụng các chất ức chế chức năng arginaza được mô tả ở đây kết hợp với các chất ức chế của các thụ thể và phối tử điểm kiểm tra miễn dịch nêu trên, cũng như các thụ thể và phối tử điểm kiểm tra miễn dịch chưa được mô tả. Chất điều biến điểm kiểm tra miễn dịch nhất định có sẵn hiện nay, trong khi các chất điều biến khác đang được phát triển ở giai đoạn sau. Để minh họa, khi nó được chấp nhận để điều trị u hắc sắc tố vào năm 2011, kháng thể đơn dòng CTLA4 được làm giống người hoàn toàn ipilimumab (YERVOY; Bristol-Myers Squibb) trở thành chất ức chế điểm kiểm tra miễn dịch đầu tiên nhận được sự chấp nhận theo quy định tại Hoa Kỳ. Các protein dung hợp bao gồm CTLA4 và kháng thể (CTLA4-Ig; abatacept (ORENCIA; Bristol-Myers Squibb)) được sử dụng để điều trị bệnh viêm đa khớp dạng thấp, và các protein dung hợp khác được cho thấy là hữu hiệu ở bệnh nhân ghép thận nhạy cảm với Epstein Barr Virut. Các kháng thể PD1 đang được phát triển (ví dụ, nivolumab (Bristol-Myers Squibb) và lambrolizumab (Merck)) và các kháng thể kháng PDL1 cũng đang được đánh giá (ví dụ, MPDL3280A (Roche)). Nivolumab đã cho thấy nhiều hứa hẹn đối với bệnh nhân mắc u hắc sắc tố, bệnh ung thư phổi và thận.

Theo một khía cạnh của sáng chế, chất ức chế arginaza được bảo hộ được kết hợp với chất ung thư miễn dịch là (i) chất chủ vận của thụ thể kích thích (bao gồm đồng kích

thích) hoặc (ii) chất đối kháng của tín hiệu ức chế (bao gồm đồng ức chế) trên các tế bào T, cả hai dẫn đến sự khuếch đại đáp ứng tế bào T đặc hiệu kháng thể. Các phân tử kích thích và ức chế nhất định là thành phần của siêu họ globulin miễn dịch (IgSF). Một họ quan trọng của các phối tử gắn kết màng mà gắn kết với các thụ thể đồng kích thích hoặc đồng ức chế là họ B7, bao gồm B7-1, B7-2, B7-H1 (PD-L1), B7-DC (PD-L2), B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA) và B7-H6. Một họ khác của phối tử gắn kết màng gắn kết với các thụ thể đồng kích thích hoặc đồng ức chế là họ TNF của các phân tử mà gắn kết với các thành phần họ thụ thể TNF cùng nguồn, bao gồm CD40 và CD40L, OX-40, OX-40L, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, TACI, APRIL, BCMA, LT13R, LIGHT, DcR3, HVEM, VEGI/TL1A, TRAMP/DR3, EDAR, EDA1, XEDAR, EDA2, TNFR1, Lymphotoxin α /TNF13, TNFR2, TNF α , LT13R, Lymphotoxin α 1132, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY, NGFR.

Theo một khía cạnh khác, chất ung thư miễn dịch là xytokin ức chế sự hoạt hóa tế bào T (ví dụ, IL-6, IL-10, TGF- β , VEGF và các xytokin ức chế miễn dịch khác) hoặc xytokin kích thích sự hoạt hóa tế bào T, để kích thích đáp ứng miễn dịch.

Theo một khía cạnh, phản ứng của tế bào T có thể được kích thích bởi sự kết hợp của chất ức chế arginaza được bộc lộ và một hoặc nhiều (i) chất đối kháng của protein ức chế sự hoạt hóa tế bào T (ví dụ, các chất ức chế điểm kiểm tra miễn dịch) như CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, TIM-3, Galectin 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, Galectin-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1, và TIM-4, và/hoặc (ii) chất chủ vận của protein kích thích sự hoạt hóa tế bào T như B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27, CD40, DR3 và CD2. Các chất khác có thể được kết hợp với chất ức chế arginaza theo sáng chế để điều trị ung thư bao gồm chất đối kháng các thụ thể ức chế đối với tế bào NK hoặc chất chủ vận hoạt hóa thụ thể trên tế bào NK. Ví dụ, hợp chất ở đây có thể được kết hợp với các chất đối kháng của KIR, như lirilumab.

Tuy nhiên, các chất khác dùng trong các liệu pháp kết hợp bao gồm các chất ức chế hoặc làm tiêu tế bào đại thực bào hoặc bạch cầu đơn nhân, bao gồm nhưng không giới hạn ở chất đối kháng CSF-1R như các kháng thể đối kháng CSF-1R bao gồm

RG7155 (W011/70024, W011/107553, W011/131407, W013/87699, W013/119716, W013/132044) hoặc FPA-008 (W011/140249; W013169264; W014/036357).

Theo một khía cạnh khác, chất ức chế arginaza được bộc lộ có thể được sử dụng với một hoặc nhiều chất chủ vận mà liên kết thụ thể đồng kích thích, chất phong bế làm giảm việc truyền tín hiệu thông qua các thụ thể ức chế, chất đối kháng và một hoặc nhiều chất làm tăng tần suất một cách hệ thống của tế bào T chống khối u, các chất mà vượt qua các con đường ức chế miễn dịch riêng biệt trong vi môi trường khối u (ví dụ, phong bế sự tham gia của thụ thể ức chế (ví dụ, tương tác PD-L1/PD-1), làm tiêu hoặc ức chế Tregs (ví dụ, sử dụng kháng thể đơn dòng kháng CD25 (ví dụ, daclizumab) hoặc bằng cách làm tiêu hạt kháng CD25 ex vivo), hoặc đảo ngược/ngăn ngừa năng lượng hoặc sự cạn kiệt tế bào T) và các chất hoạt hóa miễn dịch bẩm sinh và/hoặc viêm tại các vị trí khối u.

Theo một khía cạnh, chất ung thư miễn dịch là chất đối kháng CTLA-4, như kháng thể CTLA-4 có tính đối kháng. Các kháng thể CTLA-4 thích hợp bao gồm, ví dụ, YERVOY (ipilimumab) hoặc tremelimumab.

Theo một khía cạnh khác, chất ung thư miễn dịch là chất đối kháng PD-1, như kháng thể PD-1 có tính đối kháng. Các kháng thể PD-1 thích hợp bao gồm, ví dụ, OPDIVO (nivolumab), KEYTRUDA (pembrolizumab), hoặc MEDI-0680 (AMP-514; W02012/145493). Chất ung thư miễn dịch cũng có thể bao gồm pidilizumab (CT-011), mặc dù tính đặc hiệu của nó để gắn kết PD-1 vẫn đang là một câu hỏi. Một cách tiếp cận khác để hướng đích thụ thể PD-1 là protein tái tổ hợp bao gồm miền ngoại bào của PD-L2 (B7-DC) được dung hợp với phần Fc của IgG1, được gọi là AMP-224.

Theo một khía cạnh khác, chất ung thư miễn dịch là chất đối kháng PD-L1, như kháng thể PD-L1 có tính đối kháng. Các kháng thể PD-L1 thích hợp bao gồm, ví dụ, MPDL3280A (RG7446; W02010/077634), durvalumab (MEDI4736), BMS-936559 (W02007/005874) và MSB0010718C (W02013/79174).

Theo một khía cạnh khác, chất ung thư miễn dịch là chất đối kháng LAG-3, như kháng thể LAG-3 có tính đối kháng. Các kháng thể LAG3 thích hợp bao gồm, ví dụ, BMS-986016 (W010/19570, W014/08218), hoặc IMP-731 hoặc IMP-321 (W008/132601, W009/44273).

Theo một khía cạnh khác, chất ung thư miễn dịch là chất chủ vận CD137 (4-1BB), là kháng thể CD137 có tính chủ vận. Các kháng thể CD137 thích hợp bao gồm, ví dụ, urelumab và PF-05082566 (W012/32433).

Theo một khía cạnh khác, chất ung thư miễn dịch là chất chủ vận GITR, như kháng thể GITR có tính chủ vận. Các kháng thể GITR thích hợp bao gồm, ví dụ, BMS-986153, BMS-986156, TRX-518 (W006/105021, W009/009116) và MK-4166 (W011/028683).

Theo một khía cạnh khác, chất ung thư miễn dịch là chất chủ vận OX40, như kháng thể OX40 có tính chủ vận. Các kháng thể OX40 thích hợp bao gồm, ví dụ, MEDI-6383 hoặc MEDI-6469.

Theo một khía cạnh khác, chất ung thư miễn dịch là chất đối kháng OX40L, như kháng thể OX40 có tính đối kháng. Các chất đối kháng OX40L thích hợp bao gồm, ví dụ, RG-7888 (W006/029879).

Theo một khía cạnh khác, chất ung thư miễn dịch là chất chủ vận CD40, như kháng thể CD40 có tính chủ vận. Theo một phương án khác, chất ung thư miễn dịch là chất đối kháng CD40, như kháng thể CD40 có tính đối kháng. Các kháng thể CD40 thích hợp bao gồm, ví dụ, lucatumumab hoặc dacetuzumab.

Theo một khía cạnh khác, chất ung thư miễn dịch là chất chủ vận CD27, như kháng thể CD27 có tính chủ vận. Các kháng thể CD27 thích hợp bao gồm, ví dụ, varlilumab.

Theo một khía cạnh khác, chất ung thư miễn dịch là MGA271 (đến B7H3) (W011/109400).

Sáng chế đề xuất muối, axit hoặc dẫn xuất được dụng bất kỳ ở trên.

Bệnh về chuyển hóa và tim mạch. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị và/hoặc ngăn ngừa các bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý liên quan đến tim mạch và/hoặc chuyển hóa nhất định, cũng như các rối loạn liên quan với chúng, bằng chất ức chế arginaza và ít nhất một chất trị liệu hoặc chẩn đoán khác.

Ví dụ về chất trị liệu hữu ích trong liệu pháp kết hợp để điều trị tăng cholesterol trong máu (và chứng xơ vữa động mạch) bao gồm statin (ví dụ, CRESTOR, LESCOL, LIPITOR, MEVACOR, PRAVACOL và ZOCOR), ức chế tổng hợp cholesterol bằng

enzym; nhựa axit mật (ví dụ, COLESTID, LO-CHOLEST, PREVALITE, QUESTRAN và WELCHOL), tách cholesterol và ngăn ngừa sự hấp thụ của nó; ezetimibe (ZETIA), phong bế sự hấp thụ cholesterol; axit fibrin (ví dụ, TRICOR), làm giảm triglycerit và có thể làm tăng HDL một cách vừa phải; niacin (ví dụ, NIACOR), làm giảm cholesterol LDL và triglycerit một cách vừa phải; và/hoặc tổ hợp của các chất nêu trên (ví dụ, VYTORIN (ezetimibe với simvastatin). Phương pháp xử lý cholesterol thay thế có thể là ứng viên để sử dụng kết hợp với chất ức chế arginaza được mô tả ở đây bao gồm các chất bổ sung và thảo mộc khác nhau (ví dụ, garlic, policosanol và guggul).

Sáng chế đề xuất muối, axit hoặc dẫn xuất được dụng bất kỳ ở trên.

Rối loạn liên quan đến miễn dịch và viêm. Sáng chế xuất phương pháp điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý liên quan đến miễn dịch; và bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý có thành phần gây viêm; bằng chất ức chế arginaza và ít nhất một chất trị liệu hoặc chẩn đoán khác.

Ví dụ về chất trị liệu hữu ích trong liệu pháp kết hợp bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, dưới đây: thuốc chống viêm không steroid (NSAID) như aspirin, ibuprofen và các dẫn xuất của axit propionic khác (alminoprofen, benoxaprofen, axit bucloxic, carprofen, fenbufen, fenoprofen, fluprofen, flurbiprofen, indoprofen, ketoprofen, miroprofen, naproxen, oxaprozin, piroprofen, pranoprofen, suprofen, axit tiaprofenic, và tioxaprofen), dẫn xuất của axit axetic (indomethacin, acemetacin, alclofenac, clidanac, diclofenac, fenclofenac, axit fencloxic, fentiazac, furofenac, ibufenac, isoxepac, oxpinac, sulindac, tiopinac, tolmetin, zidometacin, và zomepirac), dẫn xuất của axit fenamic (axit flufenamic, axit meclofenamic, axit mefenamic, axit niflumic và axit tolfenamic), dẫn xuất của axit biphenylcarboxylic (diflunisal và flufenisal), oxicam (isoxicam, piroxicam, sudoxicam và tenoxicam), salixylat (axit axetyl salixylic) và pyrazolon (apazon, bezpiperylon, feprazon, mofebutazon, oxyphenbutazon, phenylbutazon). Các hỗn hợp khác bao gồm các chất ức chế xyclooxygenaza-2 (COX-2).

Các chất có hoạt tính khác để kết hợp bao gồm steroid như prednisolon, prednison, methylprednisolon, betamethason, dexamethason hoặc hydrocortison. Sự kết hợp như vậy có thể đặc biệt thuận lợi vì một hoặc nhiều tác dụng phụ của steroid có thể giảm hoặc thậm chí loại bỏ bằng cách giảm liều steroid cần thiết.

Ví dụ khác về các chất có hoạt tính mà có thể được sử dụng kết hợp để điều trị, ví dụ, bệnh viêm đa khớp dạng thấp, bao gồm (các) thuốc chống viêm ức chế xytokin (CSAID); kháng thể hoặc chất đối kháng của xytokin hoặc các yếu tố tăng trưởng của người khác, ví dụ, TNF, LT, IL-10, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-15, IL-16, IL-18, EMAP-II, GM-CSF, FGF hoặc PDGF.

Sự kết hợp cụ thể của các chất có hoạt tính có thể can thiệp vào các điểm khác nhau trong dòng tự miễn dịch và viêm tiếp theo, và bao gồm các chất đối kháng TNF như kháng thể TNF khảm, của người hoặc được làm giống người, REMICADE, các mảnh kháng thể kháng TNF (ví dụ, CDP870) và các thụ thể TNF p55 hoặc p75 hòa tan, các dẫn xuất của chúng, p75TNFR1gG (ENBRELEXT) hoặc p55TNFR1gG (LENERCEPT), thụ thể IL-13 hòa tan (sIL-13), và các chất ức chế enzym chuyển hóa TNFa (TACE); tương tự, các chất ức chế IL-1 (ví dụ, chất ức chế enzym chuyển hóa Interleukin-1) có thể là hữu hiệu. Các kết hợp khác bao gồm Interleukin 11, phối tử glycoprotein kháng P7 và p-selectin (PSGL). Các ví dụ khác về các chất hữu ích kết hợp với chất ức chế arginaza được mô tả ở đây bao gồm interferon-131a (AVONEX); interferon-131b (BETASERON); copaxone; oxy tăng áp; globulin miễn dịch tiêm tĩnh mạch; clabribin; và các kháng thể, hoặc chất đối kháng của xytokin hoặc các yếu tố tăng trưởng của người khác (ví dụ, các kháng thể đối với phối tử CD40 và CD80).

Bệnh do vi khuẩn. Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý do virus, vi khuẩn, nấm và ký sinh trùng gây ra, cũng như rối loạn liên quan đến chúng, bằng chất ức chế arginaza và ít nhất một chất trị liệu hoặc chẩn đoán khác (ví dụ, một hoặc nhiều chất chống virus khác và/hoặc một hoặc nhiều chất không liên quan đến liệu pháp virus).

Liệu pháp kết hợp này bao gồm các chất chống virus hướng đích các giai đoạn khác nhau trong vòng đời của virus và có các cơ chế hoạt động khác nhau, bao gồm nhưng không giới hạn ở các điều sau đây: các chất ức chế chống bao virus (ví dụ, amantadin và rimantidin); các chất ức chế phiên mã ngược (ví dụ, axyclovir, zidovudin và lamivudin); chất hướng đích integrase; chất phong bế sự gắn các yếu tố phiên mã vào ADN của virus; chất (ví dụ, phân tử đối nghĩa) tác động đến quá trình dịch mã (ví dụ, fomivirsen); chất điều biến chức năng dịch mã/ribozym; các chất ức chế proteaza; chất điều biến lắp ráp virus (ví dụ, rifampicin); chất kháng retrovirus như, ví dụ, chất ức chế phiên mã ngược tương tự nucleosit (ví dụ, azidothymidin (AZT), ddI, ddC, 3TC, d4T);

chất ức chế phiên mã ngược không nucleosit (ví dụ, efavirenz, nevirapin); chất ức chế phiên mã ngược tương tự nucleosit; và các chất ngăn ngừa sự giải phóng các hạt virut (ví dụ, zanamivir và oseltamivir). Điều trị và/hoặc ngăn ngừa một số bệnh lây nhiễm virut nhất định (ví dụ, HIV) thường đòi hỏi nhóm (“dung dịch hỗn hợp thuốc”) các chất chống virut.

Các chất chống virut khác được đề xuất sử dụng kết hợp với chất ức chế arginaza bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, dưới đây: abacavir, adefovir, amantadin, amprenavir, ampligen, arbidol, atazanavir, atripla, boceprevir, tet, didanosin, edoxudin, emtricitabin, enfuvirtit, entecavir, famciclovir, fosamprenavir, foscarnet, fosfonet, http://en.wikipedia.org/wiki/Fusion_inhibitor ganciclovir, ibacitabin, imunovir, idoxuridin, imiquimod, indinavir, inosin, các interferon khác (ví dụ, peginterferon alfa-2a), lopinavir, lovirit, maraviroc, moroxydin, methisazon, nelfinavir, nexavir, penciclovir, peramivir, pleconaril, podophylotoxin, raltegravir, ribavirin, ritonavir, pyrimidin, saquinavir, stavudin, telaprevir, tenofovir, tipranavir, trifluridin, trizivir, tromantadin, truvada, valaciclovir, valganciclovir, vicriviroc, vidarabin, viramidin và zalcitabin.

Sáng chế đề xuất việc sử dụng các chất ức chế có chức năng của arginaza được mô tả ở đây kết hợp với chất chống ký sinh trùng. Các chất này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, thiabendazol, pyrantel pamoat, mebendazol, praziquantel, niclosamit, bithionol, oxamniquin, metrifonat, ivermectin, albendazol, eflornithin, melarsoprol, pentamidin, benznidazole, nifurtimox và nitroimidazol. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật nhận thức được các chất khác có thể sử dụng để điều trị rối loạn do ký sinh.

Các phương án theo sáng chế đề xuất việc sử dụng chất ức chế arginaza được mô tả ở đây kết hợp với các chất hữu ích trong việc điều trị hoặc ngăn ngừa các rối loạn do vi khuẩn. Các chất kháng khuẩn có thể được phân loại theo nhiều cách khác nhau, bao gồm dựa trên cơ chế hoạt động, dựa trên cấu trúc hóa học và dựa trên phổ hoạt động. Ví dụ về các chất kháng khuẩn bao gồm các chất hướng đích thành tế bào vi khuẩn (ví dụ, cephalosporin và penicilin) hoặc màng tế bào (ví dụ, polymyxin), hoặc can thiệp vào các enzym thiết yếu của vi khuẩn (ví dụ, sulfonamit, rifamycin và quinolin). Hầu hết các chất kháng khuẩn hướng đích tổng hợp protein (ví dụ, tetracyclin và macrolit) có

tác dụng kìm hãm vi khuẩn, trong khi các chất như aminoglycosit có tác dụng diệt khuẩn. Một cách khác để phân loại các chất kháng khuẩn dựa trên tính đặc hiệu mục tiêu của chúng; các chất “phổ hẹp” hướng đích các loại vi khuẩn cụ thể (ví dụ, vi khuẩn gram dương như *Streptococcus*), trong khi các chất “phổ rộng” có hoạt tính chống lại phổ vi khuẩn rộng hơn. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật nhận thức được các loại chất chống vi khuẩn thích hợp để sử dụng trong các bệnh lây nhiễm vi khuẩn cụ thể.

Các phương án của sáng chế đề xuất việc sử dụng chất ức chế arginaza được mô tả ở đây kết hợp với các chất hữu ích trong việc điều trị hoặc ngăn ngừa rối loạn do nấm. Các chất chống nấm bao gồm polyen (ví dụ, amphotericin, nystatin và pimaricin); azol (ví dụ, fluconazole, itraconazole và ketoconazole); allylamin (ví dụ, naftifin và terbinafin) và morpholin (ví dụ, amorolfine); và các chất chống chuyển hóa (ví dụ, 5-fluorouracil).

Sáng chế đề xuất muối, axit hoặc dẫn xuất được dùng của các chất (và thành phần của lớp các chất) nêu ở trên.

Liều

Chất ức chế arginaza theo sáng chế có thể được dùng cho đối tượng ở lượng tùy thuộc vào, ví dụ, mục đích dùng (ví dụ, độ phân giải mong muốn); độ tuổi, cân nặng, giới tính và sức khỏe và tình trạng vật lý của đối tượng mà chế phẩm được dùng; đường dùng; và bản chất của bệnh, rối loạn, tình trạng bệnh lý hoặc triệu chứng của bệnh. Phác đồ dùng liều cũng có thể áp dụng khi xem xét sự có mặt, bản chất và mức độ của các phản ứng phụ bất kỳ liên quan đến (các) chất được dùng. Có thể dễ dàng xác định được lượng liều và phác đồ liều lượng hiệu quả ví dụ, từ các thử nghiệm về độ an toàn và tăng liều, nghiên cứu in vivo (ví dụ, mô hình động vật) và các phương pháp khác đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật.

Nhìn chung, thông số liều chỉ định rằng lượng liều nhỏ hơn lượng có thể gây độc không hồi phục được cho đối tượng (liều được dung nạp tối đa (maximum tolerated dose - MTD)) và lớn hơn lượng cần thiết để tạo ra tác dụng có thể xác định được đối với đối tượng. Lượng này được xác định bởi, ví dụ, các thông số dược động học và dược lực học liên quan đến ADME, có xét đến đường dùng và các yếu tố khác.

Liều hữu hiệu (ED) là liều hoặc lượng chất tạo ra đáp ứng điều trị hoặc tác dụng mong muốn ở một số phần của đối tượng dùng nó. “Liều hữu hiệu trung vị” hoặc ED₅₀

của chất là liều hoặc lượng chất tạo ra đáp ứng trị liệu hoặc tác dụng mong muốn trong 50% số người dùng nó. Mặc dù ED50 thường được sử dụng khi xác định kỳ vọng hợp lý về hiệu quả của chất, không nhất định là liều mà bác sĩ có thể thấy thích hợp khi xem xét tất cả các yếu tố liên quan. Do đó, trong một số trường hợp lượng hữu hiệu lớn hơn ED50 đã tính, trong các trường hợp khác lượng hữu hiệu nhỏ hơn ED50 đã tính, và vẫn trong các trường hợp khác lượng hữu hiệu là bằng ED50 đã tính.

Ngoài ra, liều hữu hiệu của chất ức chế arginaza theo sáng chế có thể là lượng, khi được dùng ở một hoặc nhiều liều cho đối tượng, tạo ra kết quả mong muốn so với đối tượng khỏe mạnh. Ví dụ, đối với đối tượng mắc rối loạn cụ thể, liều hữu hiệu có thể là liều cải thiện thông số, kết quả đo, chỉ thị chẩn đoán và dấu hiệu tương tự của rối loạn này ít nhất khoảng 5%, ít nhất khoảng 10%, ít nhất khoảng 20%, ít nhất khoảng 25%, ít nhất khoảng 30%, ít nhất khoảng 40%, ít nhất khoảng 50%, ít nhất khoảng 60%, ít nhất khoảng 70%, ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 90%, hoặc lớn hơn 90%, trong đó 100% được xác định là thông số, kết quả đo, chỉ thị chẩn đoán và dấu hiệu tương tự được thể hiện bởi đối tượng bình thường.

Theo các phương án nhất định, chất ức chế arginaza được đề xuất bởi sáng chế có thể được dùng (ví dụ, qua đường miệng) ở nồng độ liều nằm trong khoảng từ khoảng 0,01 mg/kg đến khoảng 50 mg/kg, hoặc khoảng 1 mg/kg đến khoảng 25 mg/kg, khối lượng cơ thể của đối tượng mỗi ngày, một hoặc nhiều lần một ngày, để thu được tác dụng trị liệu mong muốn.

Để dùng chất qua đường miệng, dược phẩm có thể được chứa ở dạng viên nén, viên nang và dạng tương tự với lượng nằm trong khoảng từ 1,0 đến 1000 miligam thành phần hoạt tính, cụ thể là 1,0, 3,0, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0, 50,0, 75,0, 100,0, 150,0, 200,0, 250,0, 300,0, 400,0, 500,0, 600,0, 750,0, 800,0, 900,0, và 1000,0 miligam thành phần hoạt tính.

Theo các phương án nhất định, liều dùng chất ức chế arginaza mong muốn được bao gồm trong “dạng liều đơn vị”. Cụm từ “dạng liều đơn vị” chỉ đơn vị rời rạc về mặt vật lý, mỗi đơn vị chứa lượng định trước của chất ức chế arginaza, riêng lẻ hoặc kết hợp với một hoặc nhiều chất bổ sung, đủ để tạo ra hiệu quả mong muốn. Được đánh giá rằng các thông số của dạng liều đơn vị sẽ tùy thuộc vào chất cụ thể và hiệu quả cần đạt được.

Kit

Sáng chế cũng đề xuất kit chứa hợp chất được mô tả ở đây, và được phẩm của chúng. Kit thường ở dạng cấu trúc vật lý chứa các thành phần khác nhau, như được mô tả dưới đây, và có thể được sử dụng, ví dụ, trong thực tiễn các phương pháp được mô tả ở trên.

Kit có thể chứa một hoặc nhiều hợp chất được bộc lộ ở đây (được chứa trong, ví dụ, vật chứa vô trùng), có thể ở dạng được phẩm thích hợp để dùng cho đối tượng. Hợp chất được mô tả ở đây có thể được tạo ra ở dạng sẵn sàng để sử dụng (ví dụ, viên nén hoặc viên nang) hoặc ở dạng yêu cầu, ví dụ, hoàn nguyên hoặc pha loãng (ví dụ, bột) trước khi dùng. Khi hợp chất được mô tả ở đây ở dạng cần được hoàn nguyên hoặc được pha loãng bởi người sử dụng, kit cũng có thể bao gồm chất pha loãng (ví dụ, nước vô trùng), đệm, tá dược được dụng và dạng tương tự, được đóng gói cùng hoặc được tách ra với hợp chất được mô tả ở đây. Khi liệu pháp kết hợp được dự định, kit có thể chứa nhiều chất một cách riêng rẽ hoặc chúng có thể được kết hợp sẵn trong kit. Mỗi bộ phận của kit có thể được đựng trong vật chứa riêng lẻ, và tất cả của các vật chứa khác nhau có thể đóng trong một gói duy nhất. Kit theo sáng chế có thể được thiết kế cho các điều kiện cần thiết để giữ các thành phần chính xác bên trong chúng (ví dụ, làm lạnh hoặc làm đông).

Kit có thể chứa nhãn hoặc tờ hướng dẫn đóng gói bao gồm thông tin xác định các thành phần trong đó và hướng dẫn sử dụng chúng (ví dụ, thông số liều dùng, dược lý lâm sàng của (các) thành phần hoạt tính, bao gồm cơ chế hoạt động, dược động học và dược lực học, tác dụng phụ, chống chỉ định, v.v.). Nhãn hoặc tờ hướng dẫn có thể bao gồm thông tin nhà sản xuất như số lô và ngày hết hạn. Nhãn hoặc tờ hướng dẫn đóng gói có thể, ví dụ, được kết hợp kết cấu trúc vật lý chứa các thành phần, được chứa riêng trong cấu trúc vật lý, hoặc được gắn vào bộ phận của kit (ví dụ, ống tiêm, ống hoặc lọ nhỏ).

Ngoài ra, các nhãn hoặc tờ hướng dẫn có thể bao gồm, hoặc được kết hợp vào vật ghi đọc được bằng máy tính, như đĩa (ví dụ, đĩa cứng, thẻ, đĩa nhớ), đĩa quang như CD- hoặc DVD-ROM/RAM, DVD, MP3, băng từ, hoặc thiết bị lưu trữ bằng điện như RAM và ROM hoặc kết hợp của các thứ này như thiết bị lưu trữ từ/quang, thiết bị FLASH hoặc thẻ kiểu bộ nhớ. Theo một số phương án, đề xuất rằng hướng dẫn thực tế không có mặt trong kit, nhưng có các cách để thu được hướng dẫn từ nguồn từ xa, ví dụ, qua internet.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây được đưa ra để cung cấp cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sự bộc lộ và sự mô tả hoàn chỉnh làm thế nào để tạo ra và sử dụng sáng chế, và không được dự định để giới hạn phạm vi mà các tác giả sáng chế coi là sáng chế của họ, hoặc chúng được dự định để thể hiện các thử nghiệm dưới đây được thực hiện hoặc chúng là tất cả các thử nghiệm có thể được thực hiện. Cần hiểu rằng phần mô tả làm ví dụ được viết ở thì hiện tại không nhất thiết đã được thực hiện, nhưng thay vào đó phần mô tả này có thể được thực hiện để tạo ra dữ liệu và tương tự về bản chất được mô tả ở đây. Các nỗ lực được tạo ra để đảm bảo sự chính xác liên quan đến các số được sử dụng (ví dụ, lượng, nhiệt độ, v.v.), nhưng một số lỗi thử nghiệm và độ lệch phải được tính đến.

Trừ khi được chỉ ra khác, phần là phần theo khối lượng, khối lượng phân tử là khối lượng phân tử trung bình về khối lượng, nhiệt độ là độ Celsius ($^{\circ}\text{C}$), và áp suất là bằng hoặc gần với áp suất khí quyển. Chữ viết tắt theo tiêu chuẩn được sử dụng, bao gồm dưới đây: wt = kiểu đại; bp = cặp bazơ; kb = kilobazơ; nt = nucleotit; aa = axit amin; s hoặc sec = giây; min = phút; h hoặc hr = giờ; ng = nanogram; μg = microgam; mg = miligam; g = gam; kg = kilogam; dl hoặc dL = decilit; μl hoặc μL = microlit; ml hoặc mL = mililit; l hoặc L = lit; μM = micromol; mM = milimol; M = mol; kDa = kilodalton; i.m. = trong cơ; i.p. = trong màng bụng; SC hoặc SQ = dưới da; QD = hàng ngày; BID = hai lần một ngày; QW = hàng tuần; QM = hàng tháng; HPLC = sắc ký lỏng hiệu năng cao; BW = khối lượng cơ thể; U = đơn vị; ns = không có ý nghĩa thống kê; PBS = nước muối đệm phosphat; IHC = hóa mô miễn dịch; DMEM = môi trường Eagle được cải biến bởi Dulbecco; EDTA = axit etylenđiamintetraaxetic.

Nguyên liệu và phương pháp

Nguyên liệu và phương pháp chung dưới đây được sử dụng trong đó được chỉ ra, hoặc có thể được sử dụng trong các ví dụ dưới đây:

Các phương pháp chuẩn trong sinh học phân tử được mô tả trong tài liệu khoa học (xem tài liệu, ví dụ, Sambrook and Russell (2001) *Molecular Cloning*, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; và Ausubel, et al. (2001) *Current Protocols in Molecular Biology*, quyển 1-4, John Wiley and Sons, Inc. New York, N.Y., mô tả việc nhân dòng tế bào vi khuẩn và đột biến ADN (quyển 1), nhân

dòng tế bào động vật có vú và nấm men (quyển 2), biểu hiện thể liên hợp glyco và protein (quyển 3) và tin sinh học (quyển 4)).

Tài liệu khoa học mô tả phương pháp tinh chế protein, bao gồm kết tủa miễn dịch, sắc ký, điện di, ly tâm và kết tinh, cũng như phân tích hóa học, cải biến hóa học, cải biến sau dịch mã, sản xuất protein dung hợp và glycosyl hóa protein (xem tài liệu, ví dụ, Coligan, et al. (2000) *Current Protocols in Protein Science*, quyển 1-2, John Wiley và Sons, Inc., NY).

Gói phần mềm và cơ sở dữ liệu để xác định, ví dụ, mảnh kháng nguyên, trình tự dẫn đầu, gấp nếp protein, miền chức năng, vị trí glycosyl hóa và căn chỉnh trình tự, là có sẵn (xem tài liệu, ví dụ, GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc., San Diego, CA); và DeCypher™ (TimeLogic Corp., Crystal Bay, NV).

Tài liệu có đầy đủ các thử nghiệm và các kỹ thuật thử nghiệm khác có thể dùng làm cơ sở để đánh giá hợp chất được mô tả ở đây. Ví dụ, thử nghiệm gắn kết phối tử dựa vào khối phổ (xem, ví dụ, Massink, A. et al. *Purinergic Signaling* (2015) 11:581. <https://doi.org/10.1007/s11302-015-9477-0>; Dionisotti S. et al. *J Pharmacol Exp Ther.* (1996) 298:726-732) có thể được sử dụng để đánh giá các tính chất khác nhau của hợp chất theo sáng chế.

Thử nghiệm chức năng cũng có thể được thực hiện để đánh giá hợp chất theo sáng chế.

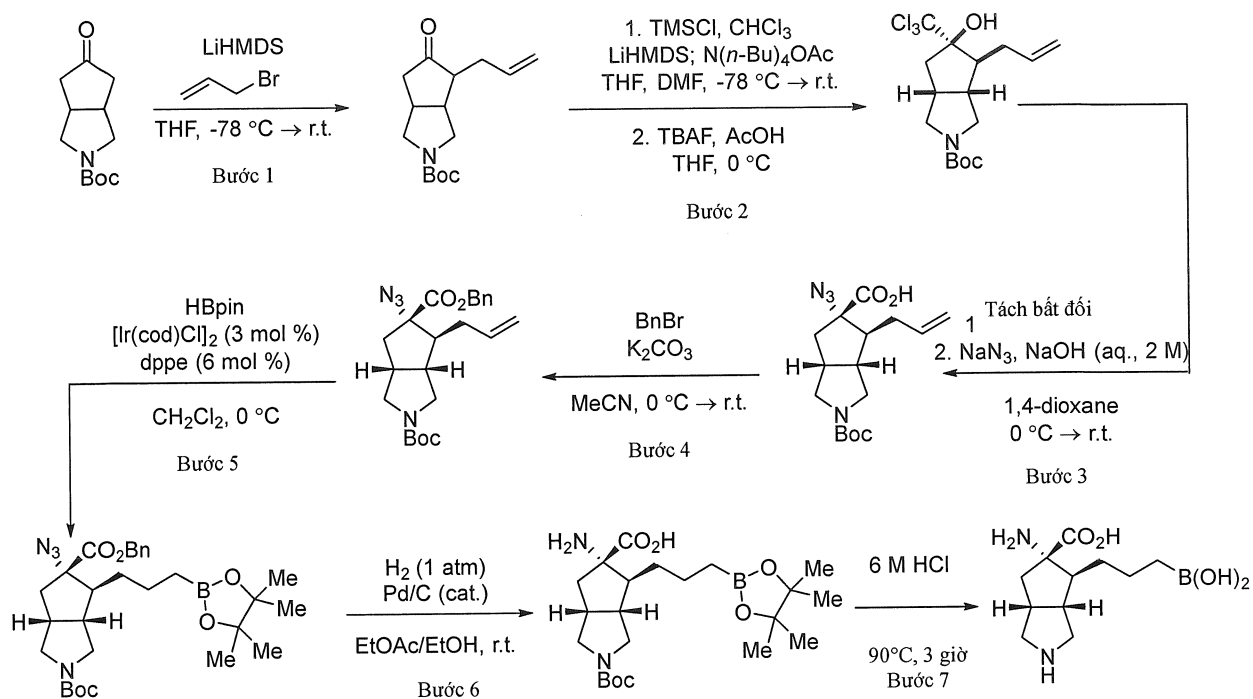
Ví dụ

Phương pháp chung

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ nhận ra có nhiều phương pháp có sẵn để tạo ra phân tử được trình bày trong yêu cầu bảo hộ.

Nhiều phương pháp được mô tả ở trên được sử dụng để điều chế hợp chất theo sáng chế, một số phương pháp trong số đó được thể hiện trong ví dụ. Dạng đơteri hóa trong các ví dụ dưới đây có thể được tổng hợp bằng cách sử dụng các hợp chất trung gian được đơteri hóa thích hợp.

Ví dụ 1: Axit (3aR,4S,5S,6aR)-5-amino-4-[3-(dihydroxyboranyl)propyl]-octahydrocyclopenta[c]pyrrol-5-carboxylic



Bước 1: Bỏ sung từng giọt dung dịch lithi bis(trimetylsilyl)amit (61,2 mL, 1,0 M trong THF) vào dung dịch của *cis*-tert-butyl 5-oxohexahydrocyclopenta[c]pyrrol-2(1H)-carboxylat (11,49 g, 51 mmol) trong THF khan (155 mL) ở nhiệt độ -78°C trong 20 phút. Sau khi khuấy thêm 30 phút, dung dịch của allyl bromua (5,3 mL, 61,2 mmol) trong THF (15 mL) được bỏ sung từng giọt trong 15 phút. Sau khi hoàn thành việc bỏ sung, bể lạnh được loại bỏ và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 12 giờ, tại thời điểm nó được rót vào nước/EtOAc và các lớp tách ra. Lớp chứa nước được chiết hai lần bằng EtOAc. Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng 1M HCl chứa nước, nước muối, được làm khô trên MgSO_4 và được lọc. Cặn thô được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , CH_2Cl_2 /hexan (1:1) $\rightarrow$ CH_2Cl_2 /hexan (1:1)/EtOAc, 3:1) tạo ra sản phẩm allyl hóa là dầu không màu (4,74 g, hiệu suất 35%). ESI MS $[\text{M}-t\text{Bu}+\text{H}]^+$ đối với $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{NO}_3$, calcd 210,1, phát hiện 210,0.

Bước 2-4: Bỏ sung từng giọt dung dịch lithi bis(trimetylsilyl)amit (33,9 mL, 1,0 M trong THF) vào dung dịch của clorofom khan (3,55 mL, 44,65 mmol) và clotrimetylsilan (4,3 mL, 33,9 mmol) trong THF khan (40,6 mL) ở nhiệt độ -78°C trong 30 phút. Sau khi bỏ sung thêm 30 phút ở nhiệt độ -78°C , bể lạnh được thay thế bằng bể -30°C . Đồng thời, dung dịch của keton từ bước 1 (4,74 g, 17,86 mmol) trong DMF khan (12,8 mL) và dung dịch của tetrabutylammonium axetat (538 mg, 1,79 mmol) trong DMF khan (1,28 mL) được bỏ sung vào hỗn hợp phản ứng trong 15 phút. Bể lạnh được

loại bỏ và được khuấy thêm trong 2 giờ ở nhiệt độ môi trường trước khi kiểm tra âm tính đối với keton ban đầu bằng TLC (3:3:1 hexan/CH₂Cl₂/EtOAc; thuốc nhuộm ninhydrin). Hỗn hợp phản ứng sau đó được rót vào dung dịch amoni clorua chứa nước bão hòa và được chiết bằng hexan (3 × 250 mL). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên MgSO₄, được lọc, và được cô. Cặn thô tạo thành được sử dụng trong bước tiếp theo như vậy. Bổ sung từng giọt axit axetic (1,02 mL, 17,86 mmol) sau đó là dung dịch tetrabutylamoni florua (17,86 mL, 1M trong THF) vào dung dịch ở nhiệt độ 0°C của silyl ete thô trong THF khan (45 mL) trong 15 phút. Hỗn hợp được khuấy thêm 10 phút, được rót vào dung dịch natri bicacbonat đá lạnh (150 mL), và được chiết bằng EtOAc (3 × 150 mL). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên MgSO₄, được lọc và được cô. Sản phẩm raxemic có thể được tách thành chất đồng phân đối ảnh bằng cách sử dụng cột bất đối (Chiralpak-AD; 3,5 % *i*-PrOH trong hexan) có đỉnh thứ hai là chất đồng phân đối ảnh mong muốn. ESI MS [M-*i*Bu+H]⁺ đối với C₁₂H₁₇Cl₃NO₃, calcd 328,0 và 330,0, phát hiện 328,0 và 330,0.

Bổ sung từng giọt dung dịch của natri azit được làm lạnh trước (3,5 g, 53,6 mmol) và natri hydroxit (2,14 g, 53,6 mmol) trong nước (26,8 mL) vào dung dịch của rượu bậc ba ở nhiệt độ 15°C trong 1,4-dioxan (30 mL) trong 30 phút. Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 30 giờ, được rót vào dung dịch amoni clorua chứa nước bão hòa (100 mL), và sau đó được chiết bằng EtOAc (3 × 150 mL). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên MgSO₄, được lọc và được cô. Cặn thô tạo thành được sử dụng trong bước tiếp theo như vậy. ESI MS [M-H]⁻ đối với C₁₆H₂₃N₄O₄, calcd 335,2, phát hiện 335,0.

Bổ sung benzyl bromua (2,3 mL, 19,65 mmol) vào axit carboxylic thô và kali cacbonat (12,3 g, 89,3 mmol) trong axetonitril khan (45 mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp tạo thành được khuấy mạnh ở nhiệt độ môi trường trong 16 giờ tại thời điểm các chất bay hơi được loại bỏ bằng cách bay hơi quay. Bổ sung hexan và nước vào cặn rắn và sau đó hai lớp được tách ra. Lớp chứa nước được chiết bằng hexan (2 × 150 mL). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên MgSO₄, được lọc, và được cô. Cặn thô được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, hexan → Hexan/EtOAc, 3:1) tạo ra hợp chất trung gian benzyl este là dầu không màu (2,41 g, 35% qua bốn bước). ESI MS [M-*i*Bu+H]⁺ đối với C₁₉H₂₃N₄O₄, calcd 371,2, phát hiện 371,0.

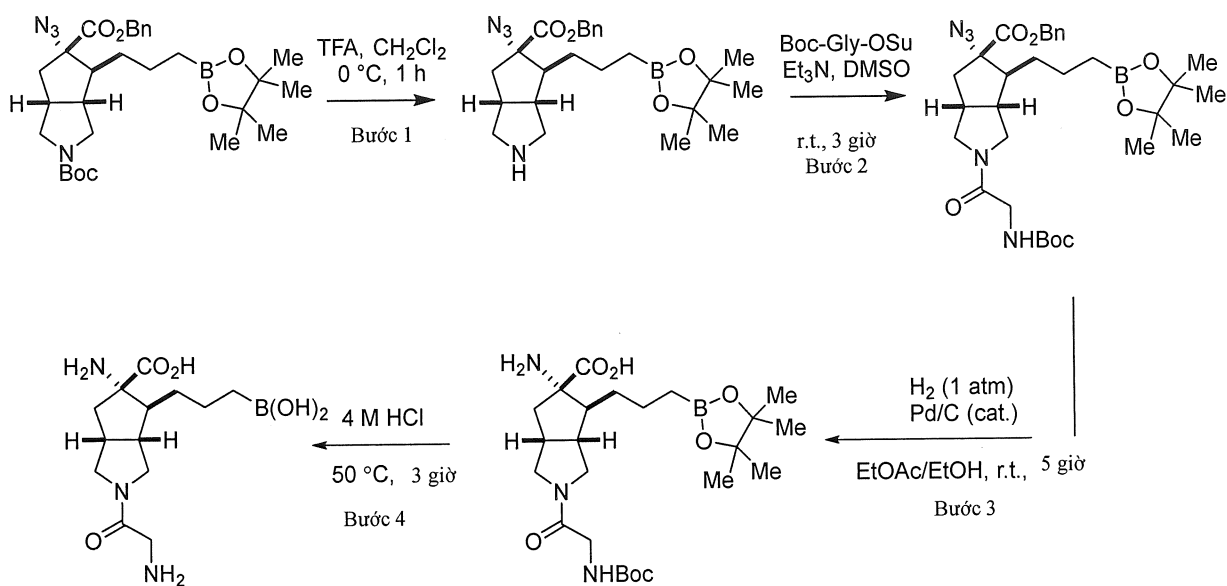
Bước 5: Dung dịch của alken (2,41 g, 5,65 mmol) trong diclometan (15 mL) được loại khí (3 vac/N₂ chu kỳ lấp đầy). Bis(1,5-xyclooctadien)diiridi(I)diclorua (114 mg, 0,1695 mmol) và 1,2-bis(diphenylphosphino)etan (135 mg, 0,339 mmol) được bổ sung vào dung dịch này, và hỗn hợp tạo thành được loại khí lần thứ hai (3 chân không/N₂ chu kỳ lấp đầy). Sau khi già hóa trong 20 phút, hỗn hợp được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C và dung dịch được loại khí từ trước của pinacolboran (1,1 mL, 7,91 mmol) trong diclometan (5 mL) được bổ sung trong 1,5 giờ qua bơm xy lanh. Bể lạnh được loại bỏ và hỗn hợp phản ứng được khuấy thêm 25 phút ở nhiệt độ môi trường, tại thời điểm nó được làm lạnh trở lại nhiệt độ 0°C, được pha loãng bằng diclometan (100 mL), và nước (30 mL) được bổ sung. Sau khi khuấy 15 phút, các lớp được tách ra, và lớp chứa nước được chiết bằng diclometan (2 × 100 mL). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên MgSO₄, được lọc và được cô. Cặn thô tạo thành được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, hexan → Hexan/EtOAc, 6:1), dầu không màu (2,59 g, hiệu suất 83%). ¹H NMR: (400 MHz, CDCl₃) δ 7,37 (s, 5H), 5,21 (d, J = 3,1 Hz, 2H), 3,46 – 3,21 (m, 3H), 2,94 – 2,79 (m, 1H), 2,60 – 2,41 (m, 2H), 1,95 – 1,85 (m, 1H), 1,80 – 1,70 (m, 1H), 1,48 – 1,33 (m, 12H), 1,29 – 1,08 (m, 14H), 0,73 – 0,62 (m, 2H). ESI MS [M-N₂-iBu+H₂+Na]⁺ đối với C₂₅H₃₇BN₂O₆Na, calcd 495,3, phát hiện 495,2.

Bước 6: Bổ sung Pd/C (90 mg, 0,126 mmol, 15%) vào azido benzyeste (700 mg, 1,26 mmol) trong hỗn hợp tỷ lệ 1:1 của etanol khan (2,1 mL) và etyl axetat (2,1 mL) dưới N₂. Không khí được thay bằng hydro (tạo bọt khí trong dung dịch trong 5 phút) và được khuấy dưới bong bóng hydro trong 3 giờ. Khí hydro được thay bằng N₂, hỗn hợp phản ứng được lọc cẩn thận qua Celite, và được rửa sau đó bằng etanol (2 × 5 mL). Thể tích dung môi được làm giảm đến khoảng 2 mL và được lọc qua bộ lọc xy lanh 0,22 μm. Dung môi được loại bỏ để tạo ra hợp chất trung gian axit amin thô (390 mg) là chất rắn màu trắng nhạt. ESI MS [M-iBu+H]⁺ đối với C₁₈H₃₂BN₂O₆, calcd 383,2, phát hiện 383,2.

Bước 7: HCl chứa nước (3,0 mL, 6,0 M) được bổ sung vào hợp chất trung gian axit amin (sản phẩm ở bước 6, 380 mg, 0,867 mmol). Bình phản ứng được bịt kín, được gia nhiệt đến nhiệt độ 90°C, và được khuấy ở nhiệt độ này trong 3 giờ. Dung môi được loại bỏ trong chân không, nước (khoảng 10 mL) được bổ sung và được loại bỏ lần nữa trong chân không để làm giảm HCl dư bất kỳ. Chất rắn màu trắng nhạt tạo thành được hòa tan trong nước (khoảng 5 mL) và được tinh chế bằng HPLC pha đảo (cột RediSep

C18 Gold, 0 đến 20% gradien của axetonitril và nước bằng 0,1% chất phụ gia TFA) để tạo ra sản phẩm là chất rắn màu trắng. Nguyên liệu này được chuyển hóa thành muối bis hydroclorua bằng cách bổ sung 1 M HCl và sau đó đông khô (lặp lại hai lần) để tạo ra hợp chất khử bào vệ hoàn toàn là chất rắn màu trắng (160 mg, hiệu suất 56%). ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 3,56 (dd, $J = 12,2, 8,5$ Hz, 1H), 3,47 (dd, $J = 11,8, 8,3$ Hz, 1H), 3,39 – 3,29 (m, 1H), 3,24 (dd, $J = 12,2, 4,6$ Hz, 1H), 3,17 (dd, $J = 11,9, 5,6$ Hz, 1H), 3,00 – 2,87 (m, 1H), 2,68 (dd, $J = 13,7, 8,9$ Hz, 1H), 2,15 – 2,05 (m, 1H), 1,82 (dd, $J = 13,6, 9,2$ Hz, 1H), 1,66 – 1,52 (m, 1H), 1,50 – 1,40 (m, 1H), 1,39 – 1,24 (m, 2H), 0,82 – 0,70 (m, 2H). ESI MS $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ đối với $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{BN}_2\text{O}_3$, calcd 239,2, phát hiện 239,0.

Ví dụ 2: Axit 5-Amino-2-(2-aminoaxetyl)-4-[3-(dihydroxyboranyl)propyl]-octahydrocyclopenta[c]pyrrol-5-carboxylic



Bước 1: α -Azido benzyeste (0,40 g, 0,72 mmol, 1,0 đương lượng) được hòa tan trong CH_2Cl_2 (5,8 mL) và được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C . TFA (1,44 mL, 18,0 mmol, 25,0 đương lượng) được bổ sung từng giọt trong 15 phút và phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ. Khi hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng CH_2Cl_2 và được rửa bằng NaHCO_3 chứa nước bão hòa. Lớp chứa nước được chiết bằng CH_2Cl_2 (3×20 mL). Dịch chiết hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô (Na_2SO_4), được lọc và được cô bằng cách bay hơi quay để tạo ra sản phẩm amin là

dầu màu vàng (0,32 g, hiệu suất 99%), được thực hiện trong bước kế tiếp mà không tinh chế thêm. ESI MS $[M+H]^+$ đối với $C_{24}H_{36}BN_4O_4$, calcd 455,3, phát hiện 455,2.

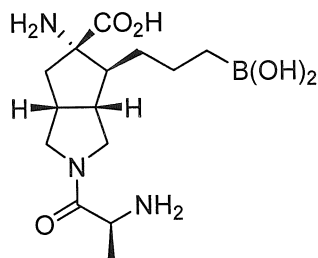
Bước 2: Amin (sản phẩm ở bước 1) (0,32 g, 0,72 mmol, 1,0 đương lượng) được hòa tan trong DMSO (3,6 mL) và được xử lý bằng Et_3N (0,3 mL, 2,2 mmol, 3,0 đương lượng). Boc-glyxin *N*-hydroxysuxinimit este (0,24 g, 0,86 mmol, 1,2 đương lượng) sau đó được bổ sung dưới dạng chất rắn và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 4 giờ. Phản ứng này sau đó được làm ngưng bằng NH_4Cl chứa nước bão hòa và được pha loãng bằng EtOAc. Hỗn hợp được chiết bằng EtOAc (3×20 mL). Dịch chiết hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô (Na_2SO_4), được lọc, và được cô bằng cách bay hơi quay để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế bằng sắc ký nhanh silic oxit (0% $\rightarrow$ 60% EtOAc trong hexan) tạo ra glyxin amit là dầu màu vàng (0,34 g, hiệu suất 77%). ESI MS $[M-Boc+2H]^+$ đối với $C_{26}H_{39}BN_5O_5$, calcd 512,4, phát hiện 512,4.

Bước 3: α -Azido benzyleste (sản phẩm ở bước 2) (0,34 g, 0,56 mmol) trong hỗn hợp tỷ lệ 1:1 của etanol khan (1,5 mL) và etyl axetat (1,5 mL) dưới N_2 được bổ sung 10% paladi trên cacbon (115 mg, 0,11 mmol). Không khí được thay bằng hydro (tạo bọt khí trong dung dịch trong 10 phút) và được khuấy dưới bong bóng hydro trong 3 giờ. Khí hydro được thay bằng N_2 , hỗn hợp phản ứng được lọc cẩn thận qua tấm Celit, và được rửa sau đó bằng etanol (2×5 mL). Thể tích dung môi được làm giảm đến khoảng 10 mL và được lọc qua bộ lọc xy lanh 0,22 μm . Dung môi được loại bỏ để tạo ra hợp chất trung gian axit amin thô (0,16 g) là chất rắn màu trắng nhạt. ESI MS $[M+H]^+$ đối với $C_{24}H_{43}BN_3O_7$, calcd 496,3, phát hiện 496,3.

Bước 4: HCl chứa nước (3,0 mL, 4,0 M) được bổ sung vào hợp chất trung gian axit amin (sản phẩm ở bước 3, 0,16 g, 0,87 mmol). Bình phản ứng được bịt kín, được gia nhiệt đến nhiệt độ 50°C, và được khuấy trong 2 giờ. Sản phẩm thô sau đó được tinh chế trực tiếp bằng HPLC pha đảo (cột RediSep C18 Gold, 0 đến 20% gradien của axetonitril và nước), tạo ra sản phẩm là chất rắn màu trắng. Sau đó đông khô tạo ra hợp chất được khử bảo vệ hoàn toàn là chất rắn màu trắng (45 mg, hiệu suất 25% qua hai bước). 1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4,01 – 3,82 (m, 2H), 3,71 – 3,57 (m, 2H), 3,52 – 3,34 (m, 2H), 3,30 – 3,10 (m, 1H), 2,92 – 2,71 (m, 1H), 2,67 (m, 1H), 2,10 – 1,96 (m,

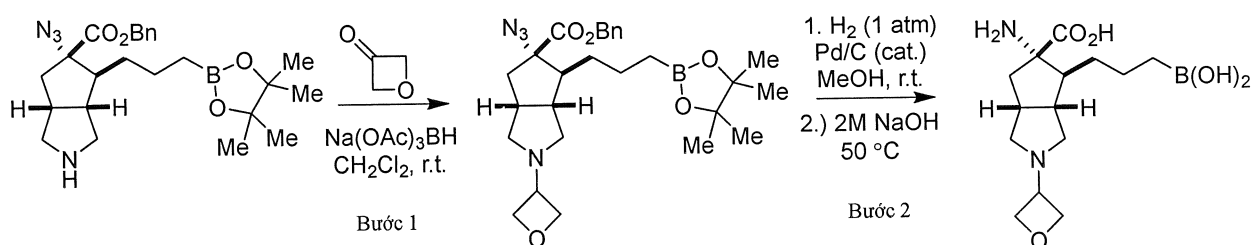
1H), 1,77 (dt, $J = 13,9, 7,1$ Hz, 1H), 1,61 – 1,25 (m, 4H), 0,78 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H). ESI MS $[M-H_2O+H]^+$ đối với $C_{13}H_{23}BN_3O_4$, calcd 296,2, phát hiện 296,1.

Ví dụ 3: Axit (3aR,4S,5S,6aR)-5-amino-2-[(2S)-2-aminopropanoyl]-4-[3-(dihydroxyboranyl)propyl]-octahydrocyclopenta[c]pyrrol-5-carboxylic



Hợp chất ở tiêu đề được tổng hợp theo cùng quy trình thử nghiệm được nêu trong ví dụ 2. 1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4,38 – 4,26 (m, 1H), 3,88 – 3,65 (m, 3H), 3,62 – 3,35 (m, 2H), 3,28 – 3,10 (m, 1H), 2,95 – 2,75 (m, 1H), 2,68 (ddd, $J = 14,1, 10,0, 6,3$ Hz, 1H), 2,12 – 1,93 (m, 1H), 1,89 – 1,65 (m, 1H), 1,64 – 1,23 (m, 6H), 0,87-0,70 (m, 2H). ESI MS $[M-H_2O+H]^+$ đối với $C_{14}H_{25}BN_3O_4$, calcd 310,1, phát hiện 310,0.

Ví dụ 4: Axit 5-amino-4-[3-(dihydroxyboranyl)propyl]-2-(oxetan-3-yl)-octahydrocyclopenta[c]pyrrol-5-carboxylic

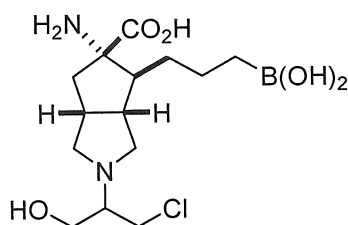


Bước 1: α -Azido benzyeste (0,44 g, 0,77 mmol) được hòa tan trong CH_2Cl_2 (10 mL) và 3-oxetanon (55 mg, 0,77 mmol) được bổ sung sau đó là $Na(OAc)_3BH$ rắn (326 mg, 1,54 mmol). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm, sau đó được làm ngưng bằng $NaHCO_3$ bão hòa (2 x 10 mL). Lỏng hữu cơ được làm khô trên $MgSO_4$, được lọc và được làm bay hơi để tạo ra sản phẩm thô được sử dụng mà không tinh chế thêm.

Bước 2: Nguyên liệu thô từ bước 1 được hòa tan trong MeOH (5 mL), được thổi N_2 và 10% Pd/C (200 mg, 50% độ ẩm) được bổ sung. Hỗn hợp được khuấy mạnh dưới khí H_2 (bong bóng) trong 2 giờ hoặc cho đến khi phân tích LCMS cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu ban đầu. Hỗn hợp phản ứng được lọc, được làm bay hơi và phần

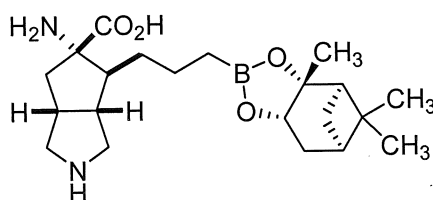
được khuấy bằng 2M NaOH (2 mL) ở nhiệt độ 50°C trong 1 giờ, sau đó được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và được trung hòa bằng 1M HCl. Sản phẩm được tinh chế bằng sắc ký C18 pha đảo (0 đến 20% gradien của axetonitril và nước), tạo ra sản phẩm là chất rắn màu trắng (10 mg, 3 %). ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4,87 – 4,81 (m, 2H), 4,41 – 4,32 (m, 1H), 4,03 – 3,68 (m, 1H), 3,60 – 3,05 (m, 4H), 2,90 – 2,75 (m, 2H), 2,52 – 2,43 (m, 1H), 2,05 – 1,90 (m, 1H), 1,77 – 1,64 (m, 1H), 1,48 – 1,39 (m, 1H), 1,32 – 1,04 (m, 4H), 0,66-0,59 (m, 2H). ESI MS $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ đối với $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{BN}_2\text{O}_4$, calcd 295,2, phát hiện 295,2.

Ví dụ 5: Axit 5-amino-2-(1-clo-3-hydroxypropan-2-yl)-4-[3-(dihydroxyboranyl)propyl]-octahydroxyclopenta[c]pyrrol-5-carboxylic



Hợp chất ở tiêu đề được tổng hợp theo cùng quy trình thử nghiệm được nêu trong ví dụ 4 nhưng ở bước loại bỏ cuối cùng dung dịch HCl 3M được sử dụng thay thế. ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4,05 – 3,80 (m, 5H), 3,64 – 3,51 (m, 2H), 3,26 – 2,95 (m, 3H), 2,85 – 2,72 (m, 1H), 2,52 – 2,40 (m, 1H), 2,13 – 2,03 (m, 1H), 1,81 – 1,70 (m, 1H), 1,50 – 1,41 (m, 1H), 1,46 – 1,05 (m, 3H), 0,69-0,59 (m, 2H). ESI MS $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ đối với $\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{BClN}_2\text{O}_4$, calcd 31,2, phát hiện 331,2.

Ví dụ 6: Axit 5-amino-4-{3-[(1R,2R,6S,8R)-2,9,9-trimetyl-3,5-dioxa-4-boratrixyclo[6.1.1.0^{2,6}] decan-4-yl]propyl}-octahydroxyclopenta[c]pyrrol-5-carboxylic



Bổ sung (1R,2R,3S,5R)-(-) pinanediol (46,5 mg, 0,27 mmol, 1,5 đương lượng) vào ví dụ 1 (60 mg, 0,18 mmol) trong axetonitril khan (6 mL). Hỗn hợp này được nghiền bằng sóng âm trong 10 phút, thanh khuấy được thêm vào, được gia nhiệt đến nhiệt độ 80°C trong 2,5 giờ, sau đó dung môi được loại bỏ. Cặn tạo thành được nghiền thành bột với ete dietyl (3 × 4 mL), được lọc, và chất rắn được làm khô dưới chân không cao trong

12 giờ. Este bis hydroclorua của axit boric pinanediol (40 mg) thu được là chất rắn màu trắng nhạt. ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4,41 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 3,60 – 3,40 (m, 2H), 3,39 – 3,12 (m, 3H), 2,92 (s, 1H), 2,70 – 2,60 (m, 1H), 2,46 – 2,33 (m, 2H), 2,25 (s, 1H), 2,13 – 1,68 (m, 3H), 1,86 – 1,70 (m, 1H), 1,60 (s, 1H), 1,52 – 1,13 (m, 8H), 0,98 (d, $J = 10,7$ Hz, 1H), 0,93 – 0,70 (m, 6H). ESI MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ đối với $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{BN}_2\text{O}_4$, calcd 391,3, phát hiện 391,2.

Phương pháp phân tích

LC: Agilent 1100 series; Khối phổ kế: Agilent G6120BA, tứ cực đơn

Phương pháp LC-MS: LCMS cột Waters XSelect® HSS C18 3,5 μm (2,1 x 75 mm), 35°C, 0,9 mL/phút tốc độ dòng, 2,5 phút gradien từ 0 đến 100% B với 0,5 phút rửa ở 100% B; A = 0,1% axit formic / 5% axetonitril / 94,9% nước; B = 0,1% axit formic / 5% nước / 94,9% axetonitril

Cột bay hơi nhanh: ISCO Rf+

HPLC pha đảo: ISCO-EZ; Cột: Kinetex 5 μm EVO C18 100 A; 250 x 21,2 mm (Phenomenex)

Xác định hoạt lực hợp chất bằng thử nghiệm enzym ghép đôi arginaza sử dụng ARG1 và ARG2 tái tổ hợp ở người

ARG1 và ARG2 tái tổ hợp ở người đã tinh chế được điều chế trong 50 mM Bixin, pH 8,5, 100 μM MnCl_2 , 20% glyxerol và 1mM DTT ở nồng độ gốc cuối cùng lần lượt là 14,4 μM và 7,56 μM . 2,5 nM ARG1 hoặc ARG2 được ủ với các nồng độ thay đổi của hợp chất trong 10 mM natri phosphat, pH 7,4, 0,1 mM MnCl_2 và 2,5% DMSO ở tổng thể tích bằng 40 μl trong vi đĩa 384 lỗ (Corning™ #3640) ở nhiệt độ 37°C trong 1 giờ. Phản ứng enzym arginaza được bắt đầu bằng cách bổ sung 10 μl 4 mM L-arginin được ủ trước trong 10 mM natri phosphat, pH 7,4, và 0,1 mM MnCl_2 ở nhiệt độ 37°C vào enzym và hỗn hợp hợp chất, tạo ra điều kiện phản ứng cuối cùng: 2 nM ARG1 hoặc ARG2 và 0,8 mM L-arginin trong 10 mM natri phosphat, pH 7,4, 0,1 mM MnCl_2 và 2% DMSO với nồng độ hợp chất thay đổi. Sau khi ủ 2 giờ ở nhiệt độ 37°C, phản ứng enzym arginaza được làm dừng bằng cách chuyển 10 μl dung dịch phản ứng vào 10 μl hỗn hợp phát hiện (204 μM Axiit Amino-2-Bo-6-Hexanoic, hỗn hợp 0,25 μl enzym arginaza, 0,25 μl chất hiện arginaza, 0,25 μl enzym chuyển hóa arginaza trong đệm thử nghiệm

arginaza từ kit thử nghiệm so màu hoạt động arginaza, BioVision Inc. #K755-100) trong vi đĩa trong 384 lỗ (Greiner #781801). Đĩa này ngay lập tức được đặt vào thiết bị đọc đĩa (thiết bị đọc đĩa đa chế độ Synergy™ Neo2) để theo dõi sự hấp thụ ở 570 nm ở nhiệt độ 37°C. Giá trị hấp thụ ở 12 ~ 20 phút được sử dụng để tính toán hoạt lực hợp chất. Giá trị của mẫu trống DMSO (MIN ức chế = 100% hoạt tính) được sử dụng làm đối chứng âm. Đối chứng dương được thiết lập bằng cách bổ sung 8 µl enzym và hỗn hợp DMSO vào 10 µl hỗn hợp phát hiện sau đó là bổ sung 2 µl L-arginin (MAX ức chế = 0% hoạt tính). Để tính toán phần trăm hoạt tính, phương trình 1 được sử dụng. Abs_{570nm} là giá trị ở nồng độ hợp chất nhất định:

$$\% \text{ hoạt tính} = \frac{Abs_{570 \text{ nM}} - MAX}{MIN - MAX} \times 100$$

Phương trình 1

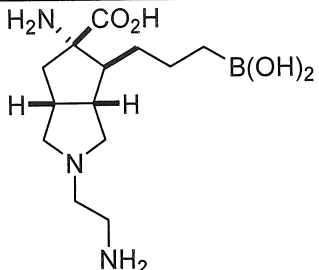
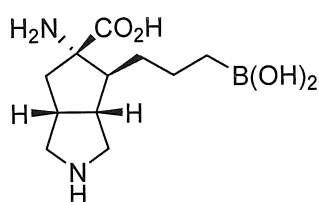
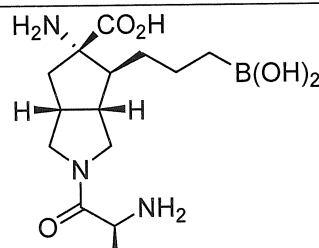
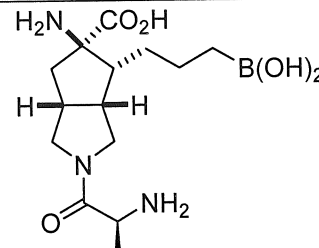
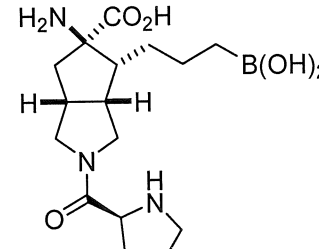
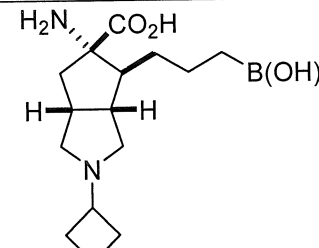
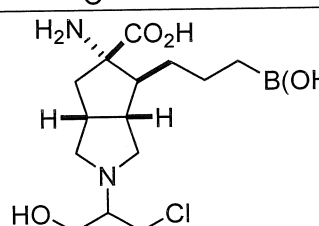
Nồng độ của hợp chất mà dẫn đến 50% hao hụt hoạt tính enzym (IC_{50}) được tính toán bằng GraphPad Prism sử dụng phương trình 2 trong đó N là hệ số Hill:

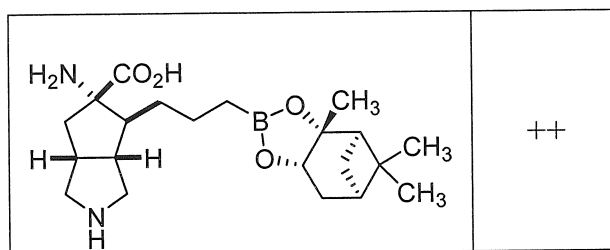
$$\% \text{ hoạt tính} = \text{dưới} + \frac{\text{trên} - \text{dưới}}{1 + \left(\frac{[I]}{IC_{50}}\right)^N}$$

Phương trình 2

Sàng lọc bằng thiết bị đếm được thực hiện để xác định sự ức chế bất kỳ của các enzym ghép đôi bằng hợp chất kiểm tra. 10 µl 0,26 mM ure với nồng độ hợp chất thay đổi trong 10 mM natri phosphat, pH 7,4, 0,1 mM MnCl₂ và 2% DMSO được bổ sung vào 10 µl hỗn hợp phát hiện trong hỗn hợp phản ứng enzym arginaza. Phản ứng hấp thụ được theo dõi ở 570 nm như được mô tả ở trên. Các giá trị của mẫu trống không chứa cơ chất (không có ure; MAX ức chế = 0% hoạt tính) và mẫu trống DMSO (MIN ức chế = 100% hoạt tính) được sử dụng lần lượt là đối chứng dương và âm. Đường cong đáp ứng liều không đổi được mong đợi đối với hợp chất mà không ức chế enzym ghép đôi bất kỳ. Tính không hoạt động khi sàng lọc bằng thiết bị đếm được sử dụng để xác nhận rằng các kết quả phản ánh chính xác giá trị IC_{50} đối với ARG1 và ARG2.

Bảng 1: Ví dụ cụ thể (hoạt lực: IC_{50} ức chế arginaza 1: + nghĩa là > 1 µM, ++ nghĩa là từ 100 nM đến 1 µM, +++ nghĩa là < 100 nM)

Ví dụ	Hoạt lực
	++
	+++
	++
	++
	++
	++
	+++

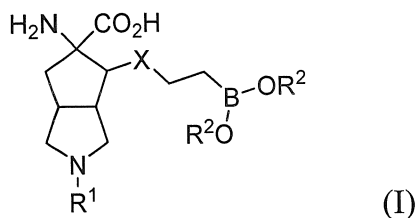


Các phương án cụ thể của sáng chế này được mô tả trong bản mô tả này, bao gồm cả phương thức tốt nhất đã biết đối với các tác giả sáng chế để thực hiện sáng chế này. Khi đọc phần mô tả ở trên, các thay đổi của các phương án đã bộc lộ có thể trở nên rõ ràng đối với người làm việc trong lĩnh vực kỹ thuật, và được mong đợi rằng người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có thể thực hiện các thay đổi này khi thích hợp. Do đó, được dự định rằng sáng chế được thực hiện theo cách khác những gì được mô tả cụ thể ở đây, và sáng chế bao gồm tất cả cải biến và tương đương của đối tượng được nêu trong yêu cầu bảo hộ kèm theo đây như được cho phép bởi luật hiện hành. Hơn nữa, kết hợp bất kỳ của các phần tử được mô tả trên đây ở tất cả các dạng thay đổi có thể có của chúng đều được bao quát bởi sáng chế này trừ khi trong bản mô tả này có quy định khác hoặc trái ngược rõ ràng theo ngữ cảnh.

Tất cả công bố, đơn sáng chế, số truy cập, và các tài liệu tham khảo khác được trích dẫn trong bản mô tả này được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn nếu mỗi công bố hoặc đơn sáng chế đơn lẻ được chỉ ra một cách cụ thể và riêng rẽ được kết hợp bằng cách viện dẫn.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



hoặc muối, hydrat hoặc solvat được dụng của nó, trong đó,

X là CH₂;

R¹ là thành phần được chọn từ nhóm bao gồm H, -X^a-NH₂, -C(O)-X^a-NH₂ và -R^c, trong đó

X^a là C₁₋₄ alkylen không được thế;

R^c là vòng dị vòng no có từ bốn đến sáu cạnh có đỉnh vòng được chọn từ nhóm bao gồm O và NH; hoặc là C₁₋₆ alkyl không được thế hoặc được thế bằng một đến ba phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxyl và amino; hoặc

R¹ là axit amin có trong tự nhiên được chọn từ nhóm bao gồm glyxin, alanin và prolin, được liên kết với nguyên tử nitơ trong vòng octahydroxyclopentapyrol thông qua nhóm cacbonyl của nó; và

mỗi R² độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H và C₁₋₆ alkyl.

2. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối, hydrat hoặc solvat được dụng của nó, trong đó,

X là CH₂;

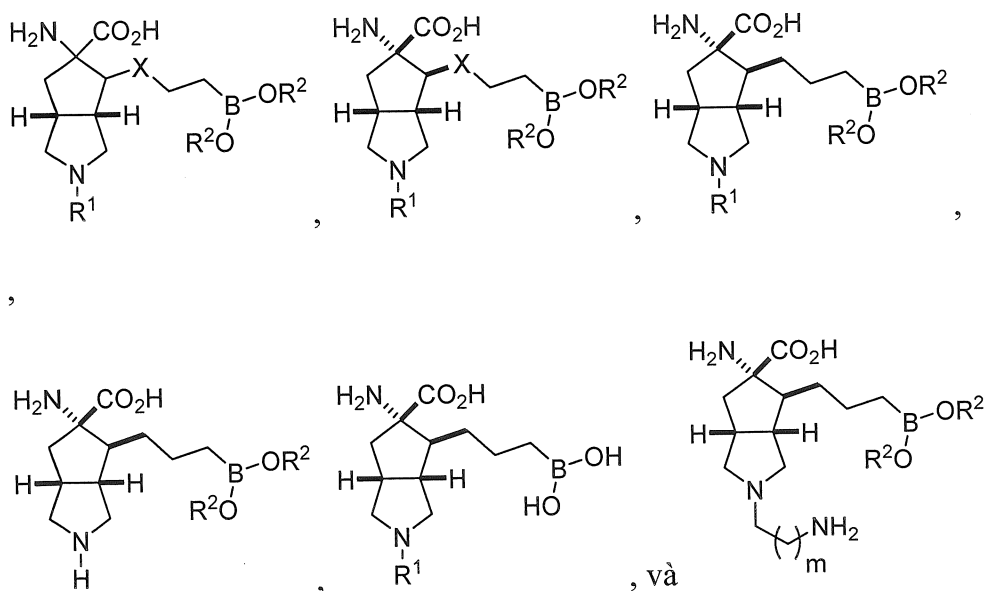
R¹ là thành phần được chọn từ nhóm bao gồm H, -X^a-NH₂ và -C(O)-X^a-NH₂;

trong đó X^a là C₁₋₄ alkylen không được thế; hoặc

R¹ là axit amin có trong tự nhiên được chọn từ nhóm bao gồm glyxin, alanin và prolin, được liên kết với nguyên tử nitơ trong vòng octahydroxyclopentapyrol thông qua nhóm cacbonyl của nó; và

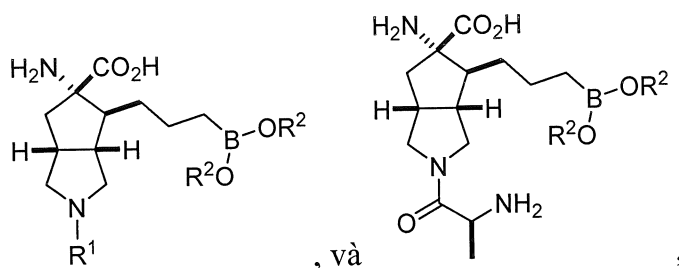
mỗi R² độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H và C₁₋₆ alkyl.

3. Hợp chất theo điểm 1 hoặc điểm 2, hoặc muối, hydrat hoặc solvat được dụng của nó, có cấu trúc có công thức được chọn từ nhóm bao gồm:



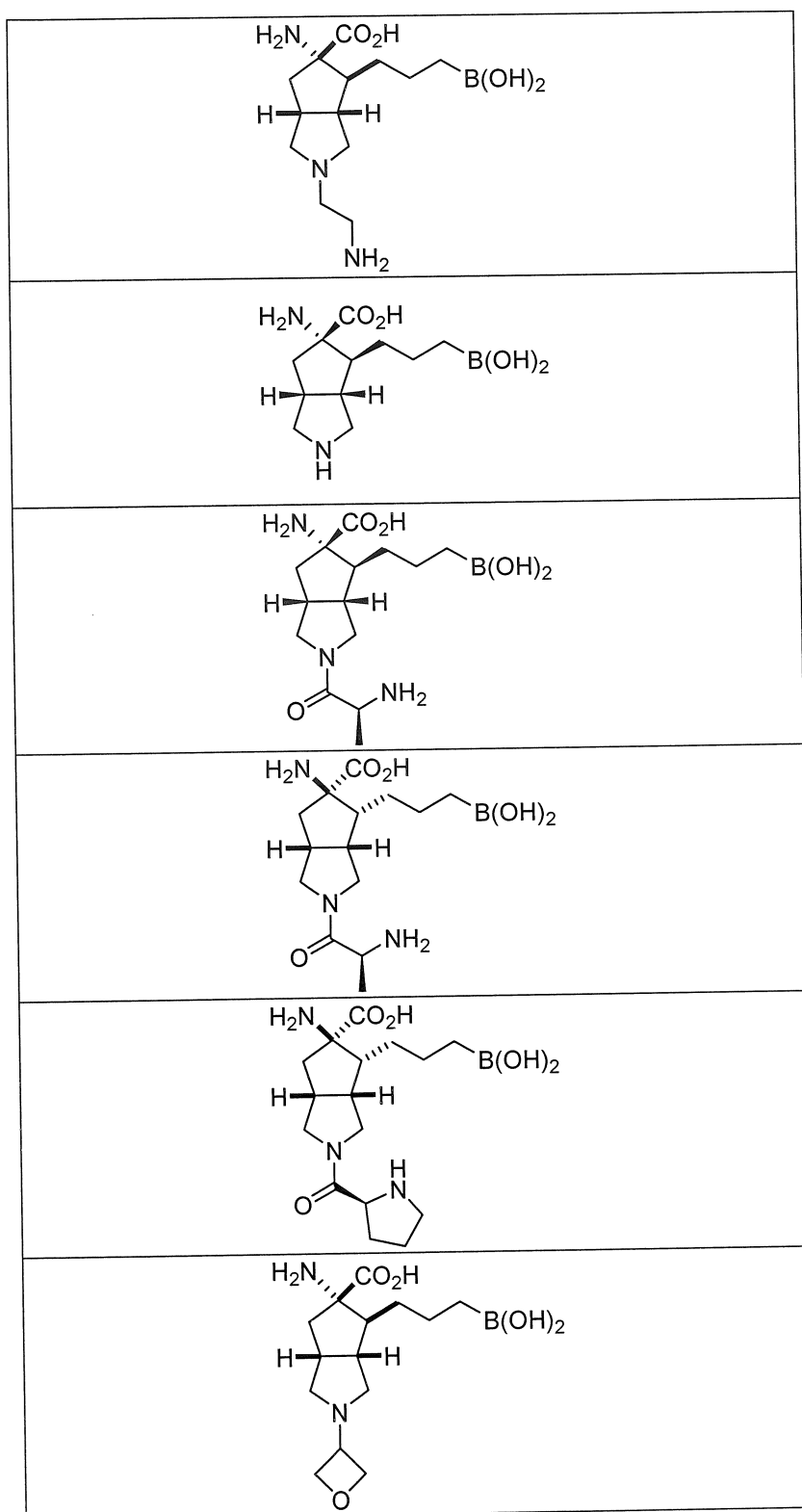
trong đó m là 1, 2 hoặc 3.

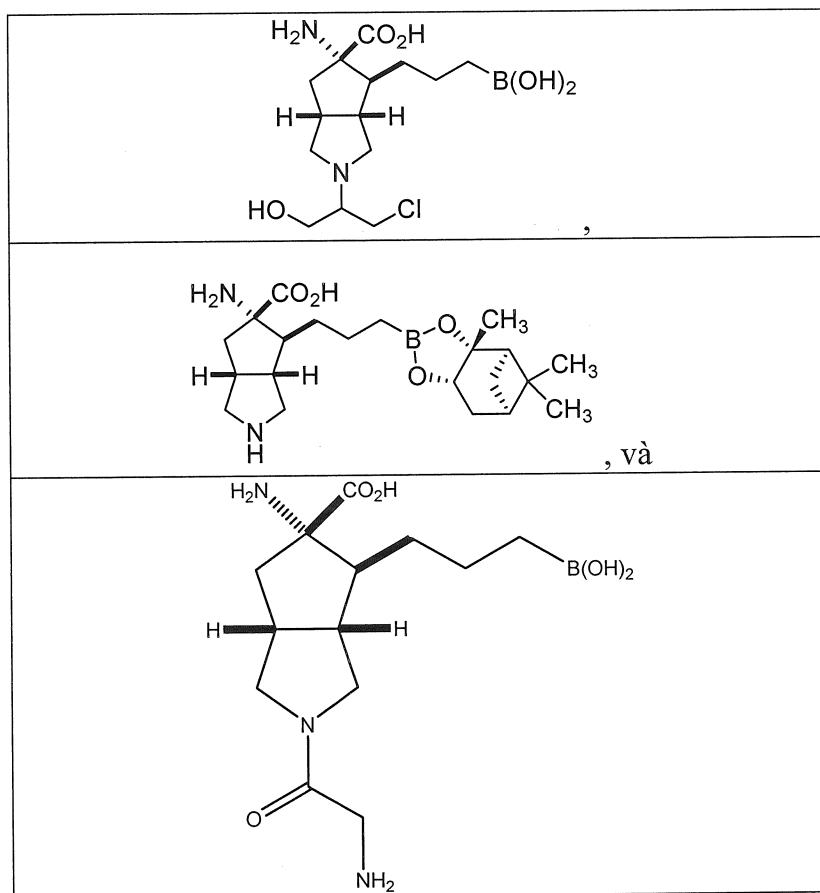
4. Hợp chất theo điểm 1 hoặc điểm 2, hoặc muối, hydrat hoặc solvat được dụng của nó, có cấu trúc có công thức được chọn từ nhóm bao gồm:



trong đó R^1 là axit amin có trong tự nhiên được chọn từ nhóm bao gồm glyxin, alanin và prolin, được liên kết với nguyên tử nitơ trong vòng octahydroxyclopentapyrol thông qua nhóm cacbonyl của nó.

5. Hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:





hoặc muối được dụng của nó.

6. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, hoặc muối, hydrat hoặc solvat được dụng của nó, và tá dược được dụng.