



(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)



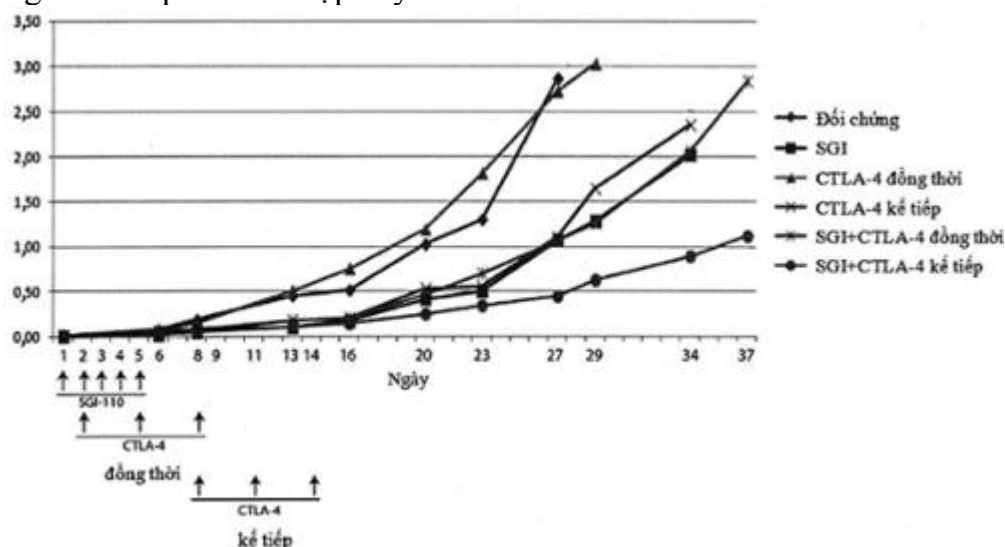
1-0023828

(51)⁷ A61K 9/19; A61K 31/69; A61K 37/02; (13) B
A61K 45/06; A61K 31/675; A61K
35/00

- (21) 1-2015-03454 (22) 27/02/2014
(86) PCT/US2014/019137 27/02/2014 (87) WO2014/134355A1 04/09/2014
(30) 61/771,525 01/03/2013 US; 61/887,165 04/10/2013 US
(45) 25/05/2020 386 (43) 25/03/2016 336A
(73) Astex Pharmaceuticals, Inc. (US)
4420 Rosewood Drive, Suite 200, Pleasanton, CA 94588, United States of America
(72) AZAB, Mohammad (US); TAVERNA, Pietro (US); COVRE, Alessia (IT); CORAL, Sandra (IT)
(74) Công ty TNHH Tư vấn sở hữu trí tuệ Việt (VIET IP CO.,LTD.)

(54) CHẾ PHẨM KẾT HỢP, KIT, QUY TRÌNH BẢO CHẾ, QUY TRÌNH SẢN XUẤT VÀ BỘT

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm kết hợp, kit, quy trình, bột hoặc chế phẩm chứa các dẫn xuất của dexitabin và các tác nhân hoạt tính khác, bao gồm chất hoạt hóa tế bào T, vắc-xin ngừa bệnh ung thư và tá dược. Một số dẫn xuất của dexitabin thể hiện độ ổn định hóa học và thời hạn sử dụng tốt, với hoạt tính sinh lý tương tự. Ngoài ra, sáng chế còn mô tả đến các phương pháp điều trị một hoặc nhiều hội chứng loạn sản tủy, bệnh ung thư, các rối loạn huyết học, hoặc các bệnh đi kèm với sự tổng hợp hemoglobin bất thường bằng cách sử dụng các chế phẩm kết hợp này.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực chế phẩm kết hợp, cụ thể là kết hợp các dẫn xuất của dexitabin và các tác nhân hoạt tính khác để điều trị một hoặc nhiều hội chứng loạn sản tủy, các bệnh ung thư, các rối loạn huyết học, hoặc các bệnh đi kèm với sự tổng hợp hemoglobin bất thường.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Biến đổi biểu sinh của bộ gen, và cụ thể là methyl hóa ADN, đóng vai trò lớn trong các bệnh lý ác tính ở người bằng cách tác động đến những quá trình tế bào cốt yếu trong quá trình khởi phát và phát triển bệnh ung thư (bao gồm kiểm soát chu trình tế bào, sự chết theo chương trình của tế bào, khả năng xâm lấn và di căn và sự tạo mạch). Quá trình methyl hóa ADN được điều chỉnh bởi enzym ADN methyltransferaza, và dẫn đến việc thêm methyl vào xytosin khi xytosin này xuất hiện trong trường hợp CpG dinucleotit.

Quá trình methyl hóa ADN của các đảo CpG đi kèm gen khởi đầu dẫn đến sự bất hoạt của gen tương ứng nói chung, các đảo CpG đi kèm gen khởi đầu không được methyl hóa ở các tế bào không ác tính. Do đó, sự tăng methyl hóa ADN khác thường ở các tế bào khối u có chức năng tương đương với sự vô hoạt các gen ngăn chặn khối u bằng cách đột biến, và do vậy thúc đẩy khối u lẫn tránh khỏi sự nhận dạng miễn dịch của vật chủ qua sự điều hòa xuôi chiều các thành phần khác nhau của phức hệ nhận dạng khối u trong các tế bào khối u (bao gồm các kháng nguyên HLA nhóm I, các kháng nguyên CTA và các phân tử phụ/đồng kích thích). Điều này dẫn đến sự giảm hiệu lực trên lâm sàng của các phương pháp miễn dịch trị liệu để điều trị bệnh ung thư.

Các tác nhân giảm methyl hóa ADN (DNA hypomethylating agent: DHA) gây ra sự giảm methyl hóa ADN đặc hiệu gen và toàn bộ. Điều này thúc đẩy sự biểu hiện lại của các kháng nguyên đi kèm khối u và do đó đẩy mạnh sự nhận dạng miễn dịch. Ví dụ bao gồm 5-azaxytidin, 5-aza-2'-đeoxyxytidin (dexitabin) và Zebularin: 5-azaxytidin và 5-aza-2'-đeoxyxytidin hiện được Cơ quan Quản lý Thuốc và Thực phẩm Mỹ phê chuẩn để điều trị bệnh nhân bị hội chứng loạn sản tủy, và dexitabin hiện được phát

triển dưới dạng dược phẩm để điều trị bệnh bạch cầu tủy bào mạn tính (chronic myelogenous leukemia: CML), hội chứng loạn sản tủy (MDS), bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ (non-small cell lung cancer: NSCLC), chứng thiếu máu tế bào hình lưỡi liềm và bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (acute myelogenous leukemia: AML).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất các chế phẩm kết hợp chứa dẫn xuất của dexitabin và các hoạt chất khác, bao gồm các chất hoạt hóa tế bào T, vắc-xin ngừa bệnh ung thư, và tá dược để điều trị một hoặc nhiều hội chứng loạn sản tủy, ung thư, rối loạn huyết học, hoặc các bệnh đi kèm với sự tổng hợp hemoglobin bất thường.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm kết hợp bao gồm hợp chất có công thức sau hoặc muối được dụng của nó:

(nhóm 5-azaxytosin)-L-(nhóm guanin)

trong đó L là nhóm liên kết chứa phospho trong đó số nguyên tử phospho trong L là 1;

và một hoặc nhiều thành phần điều trị phụ trợ được chọn từ:

chất hoạt hóa tế bào T;

vắc-xin ngừa bệnh ung thư; và

tá dược.

Trong phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm kết hợp bao gồm hợp chất có công thức sau hoặc muối được dụng của nó:

(nhóm 5-azaxytosin)-L-(nhóm guanin)

trong đó L là nhóm liên kết chứa phospho trong đó số nguyên tử phospho trong L là 1;

và một hoặc nhiều thành phần điều trị phụ trợ được chọn từ:

chất hoạt hóa tế bào T;

vắc-xin ngừa bệnh ung thư;

chất ức chế IDO; và

tá dược.

Sáng chế còn đề xuất kit và bột chứa chế phẩm kết hợp và quy trình điều chế chế phẩm kết hợp này.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG.1 minh họa nồng độ huyết tương trung bình của hợp chất I-1 ở khỉ *cynomolgus* đực và cái được dùng liều dưới da hàng tuần chứa hợp chất I-1 trong thử nghiệm dược động lực học.

FIG.2 minh họa nồng độ huyết tương trung bình của dexitabin ở khỉ *cynomolgus* đực và cái được dùng liều dưới da hàng tuần chứa dexitabin trong thử nghiệm dược động lực học.

FIG.3 minh họa sự giảm mức methyl hóa LINE1 quan sát được ở các mẫu máu lấy từ khỉ *cynomolgus* vào các ngày (D) khác nhau sau quá trình tiền thử nghiệm.

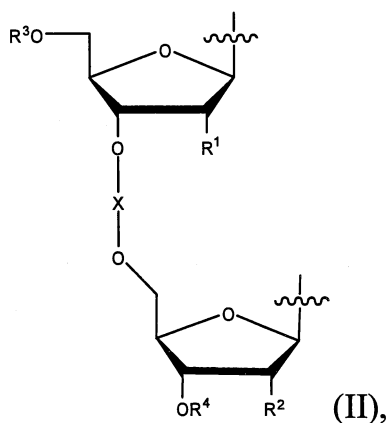
FIG.4 minh họa sự thay đổi tổng các chất liên quan của muối natri của hợp chất có công thức I-1 trong chế phẩm DMSO và chế phẩm DMSO/ nước.

FIG.5 minh họa tác dụng chống khối u của SGI-110 kết hợp với kháng thể kháng CTLA-4 của chuột.

FIG.6 minh họa tác dụng chống khối u của hai chu trình dùng lần lượt SGI-110 sau đó là mAb kháng CTLA-4 của chuột 9H10.

Mô tả chi tiết sáng chế

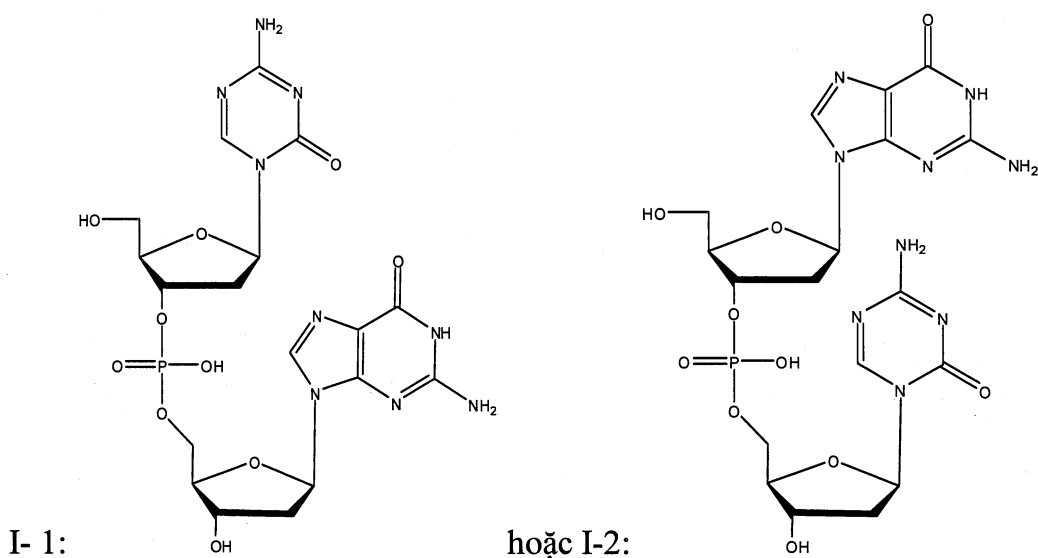
Theo một số phương án, trong hợp chất có công thức I, L là nhóm có công thức (II):



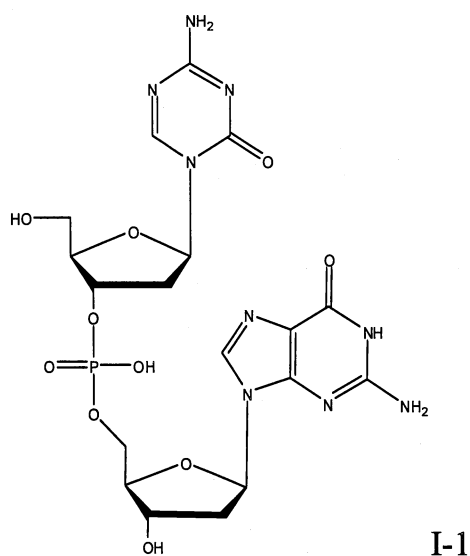
trong đó, R^1 và R^2 độc lập là H, OH, nhóm alkoxy, nhóm alkoxyalkoxy, nhóm alyloxy, nhóm cacbonat, nhóm cacbammat, hoặc halogen; R^3 là H, hoặc R^3 cùng với

nguyên tử oxy mà R^3 liên kết tạo ra ete, este, cacbonat, hoặc cacbamat; R^4 là H, hoặc R^4 cùng với nguyên tử oxy mà R^4 liên kết tạo ra ete, este, cacbonat, hoặc cacbamat; và X cùng với các nguyên tử oxy mà X liên kết tạo ra phosphodiester, phosphorothioat diester, boranophosphat diester, hoặc metylphosphonat diester. Theo một số phương án, R^1 và R^2 độc lập là H, OH, OMe, OEt, OCH_2CH_2OMe , OBn, hoặc F, và X cùng với các nguyên tử oxy mà X liên kết tạo ra phosphodiester. Theo một số phương án, R^1 và R^2 là H.

Theo một số phương án, hợp chất có công thức I là hợp chất có công thức bất kỳ trong số các công thức từ I-1 đến I-44. Theo một số phương án, hợp chất có công thức I là:



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



hoặc muối được dụng của nó. Theo một số phương án, muối này là muối natri.

Hợp chất hoặc muối của nó có thể ở dạng chế phẩm, ví dụ được hòa tan trong dung môi khan chứa propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 45% đến 85%; glyxerin với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 45%; và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 30%. Theo các phương án này, dung môi này có thể chứa propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 65% đến 70%; glyxerin với lượng nằm trong khoảng từ 25% đến 30%, và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 10%, ví dụ: (a) propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 65% đến 70% và glyxerin với lượng nằm trong khoảng từ 25% đến 30%, etanol với lượng cân bằng bất kỳ; (b) propylen glycol với lượng khoảng 65% ; glyxerin với lượng khoảng 25%; và etanol với lượng khoảng 10%; (c) propylen glycol với lượng khoảng 65%; glyxerin với lượng khoảng 25%; và etanol với lượng 10%; (d) propylen glycol với lượng khoảng 70% và glyxerin với lượng khoảng 30%, không có etanol; (e) propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 45% đến 85%; glyxerin với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 45%; và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 30% ; (f) propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 65% đến 70%; glyxerin với lượng nằm trong khoảng từ 25% đến 30%, và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 10%. chế phẩm này còn có thể chứa DMSO, tùy ý với tỷ lệ DMSO:hợp chất là 2:1; 1:1; 0,5:1; 0,3:1 hoặc 0,2-0,3:1. chế phẩm kết hợp này có thể thích hợp để dùng bằng cách tiêm dưới da.

Nếu có mặt dưới dạng một phần của chế phẩm, hợp chất này có thể có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ 80mg/ml đến 110mg/ml, tùy ý khoảng 100mg/ml.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kit chứa:

- (a) lọ thứ nhất chứa hợp chất hoặc muối của nó như được mô tả ở đây;
- (b) lọ thứ hai chứa dung môi khan như được mô tả ở đây; và
- (c) một hoặc nhiều thành phần điều trị phụ trợ như được mô tả ở đây.

Hợp chất có thể có mặt trong kit dưới dạng bột khan, ví dụ, được làm đông khô. Theo một số phương án, lọ thứ nhất có thể chứa hợp chất nêu trên với lượng nằm trong khoảng từ 80mg đến 110mg, ví dụ khoảng 100mg, và có thể còn chứa các hướng dẫn để sử dụng thuốc bằng cách tiêm dưới da.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất quy trình bào chế dược phẩm, quy trình này bao gồm bước hòa tan hợp chất hoặc muối của nó nêu trên trong dung môi khan

nêu trên, và sau đó kết hợp hợp chất đã được hòa tan này với một hoặc nhiều thành phần điều trị phụ trợ nêu trên. Theo một số phương án, quy trình này còn bao gồm các bước xử lý sơ bộ:

(a) hòa tan hợp chất nêu trên trong DMSO để tạo ra dung dịch chứa hợp chất nêu trên trong DMSO; và

(b) làm đông khô dung dịch thu được ở bước (a) để tạo ra hợp chất nêu trên dưới dạng bột khan.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất quy trình sản xuất dược phẩm bao gồm hợp chất hoặc muối của nó nêu trên dưới dạng bột khan, quy trình này bao gồm bước hòa tan hợp chất nêu trên trong DMSO để tạo ra dung dịch trong DMSO, làm đông khô dung dịch này để tạo ra hợp chất nêu trên dưới dạng bột khan và sau đó kết hợp bột này với một hoặc nhiều thành phần điều trị phụ trợ. Theo một số phương án, bột khan này chứa DMSO dư với lượng, ví dụ: (a) ≤ 2000 , hoặc từ 0,1 đến 2000mg/g hợp chất nêu trên; hoặc (b) ≤ 1000 , hoặc từ 0,1 đến 1000mg/g hợp chất nêu trên; ≤ 600 , hoặc từ 0,1 đến 600mg/g hợp chất nêu trên; ≤ 500 , hoặc từ 0,1 đến 500mg/g hợp chất nêu trên; ≤ 400 , hoặc từ 0,1 đến 400mg/g hợp chất nêu trên; ≤ 300 , hoặc từ 0,1 đến 300mg/g hợp chất nêu trên; hoặc khoảng từ 200 đến 300mg/g hợp chất nêu trên; hoặc (c) 200-300mg/g hợp chất nêu trên.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất bột khan về cơ bản là bao gồm hợp chất hoặc muối của nó như nêu trên và DMSO, trong đó DMSO có mặt với lượng ≤ 200 , hoặc khoảng từ 0,1% đến 200% tính theo trọng lượng, kết hợp với một hoặc nhiều thành phần điều trị phụ trợ như nêu trên. Theo các phương án này, DMSO có mặt với lượng $\leq 100\%$, hoặc khoảng từ 0,1% đến 100%, $\leq 60\%$, hoặc khoảng từ 0,1% đến 60%, $\leq 50\%$, hoặc khoảng từ 0,1% đến 50%, $\leq 40\%$, hoặc khoảng từ 0,1% đến 40%, hoặc $\leq 30\%$, hoặc khoảng từ 0,1% đến 30% tính theo trọng lượng DMSO/hợp chất, ví dụ, với lượng khoảng từ 20% đến 30% tính theo trọng lượng DMSO/hợp chất.

Sáng chế còn đề xuất dược phẩm có thể thu được, hoặc thu được bằng các quy trình theo sáng chế.

Theo một số phương án, thành phần điều trị phụ trợ bao gồm chất hoạt hóa tế bào T.

Theo một số phương án, thành phần điều trị phụ trợ bao gồm vắc-xin ngừa bệnh ung thư.

Theo một số phương án, thành phần điều trị phụ trợ bao gồm tá dược.

Theo một số phương án, thành phần điều trị phụ trợ bao gồm chất hoạt hóa tế bào T và vắc-xin ngừa bệnh ung thư.

Theo một số phương án, thành phần điều trị phụ trợ bao gồm chất hoạt hóa tế bào T, ví dụ được chọn từ các chất chủ vận hoặc các kháng thể đối với: ICOS, GITR, MHC, CD80, CD86, Galectin 9 và LAG-3.

Theo các phương án khác, chất hoạt hóa tế bào T là kháng thể, ví dụ được chọn từ: (a) chất chủ vận CD137; (b) chất chủ vận CD40; (c) chất chủ vận OX40; (d) mAb PD-1; (e) mAb PD-L1; (f) mAb PD-L2; (g) mAb CTLA-4; và (h) các tổ hợp của các phương án (a) đến (g).

Theo một số phương án, thành phần điều trị phụ trợ là Tremelimumab hoặc Ipilimumab.

Theo một số phương án, thành phần điều trị phụ trợ bao gồm vắc-xin ngừa bệnh ung thư CTA, ví dụ dựa trên kháng nguyên CTA được chọn từ: NY-ESO-1, LAGE-1, MAGE-A1, -A2, -A3, -A4, -A6, -A10, -A12, CT7, CT10, GAGE1-6, GAGE 1-2, BAGE, SSX1-5, SSX 2, HAGE, PRAME, RAGE-1, XAGE-1, MUC2, MUC5B, B7.1/2, CD28, B7-H1, HLA, CD40L và HMW-MAA, ví dụ dựa trên MAGE-A3 (ví dụ recMAGE-A3), NY-ESO-1 và PRAME.

Theo một số phương án, thành phần điều trị phụ trợ bao gồm chất ức chế IDO, ví dụ được chọn từ INCB24360, 1 metyl tryptophan và NLG919.

Theo một số phương án, sáng chế mô tả phương pháp miễn dịch trị liệu để điều trị bệnh được chọn từ:

hội chứng loạn sản tủy (myelodysplastic syndrome: MDS);

bệnh ung thư;

rối loạn huyết học; hoặc

bệnh đi kèm với sự tổng hợp hemoglobin bất thường,

phương pháp bao gồm cho đối tượng cần dùng sử dụng chế phẩm kết hợp, kit,

bột, quy trình hoặc chế phẩm theo sáng chế. Theo một số phương án, hợp chất hoặc muối của nó như nêu trên có thể được dùng trước, đồng thời, hoặc sau khi dùng một hoặc nhiều thành phần điều trị phụ trợ. Theo một số phương án, hợp chất có công thức I hoặc muối của nó được dùng đầu tiên (như là liệu pháp cơ bản), sau đó dùng thành phần điều trị phụ trợ.

MDS có thể được chọn từ MDS có nguy cơ thấp, nguy cơ trung bình và nguy cơ cao và các khối u tăng sinh tủy xương.

Bệnh rối loạn huyết học có thể là bệnh bạch cầu, ví dụ, được chọn từ: bệnh bạch cầu dạng tủy cấp (acute myeloid leukemia -AML), bệnh bạch cầu tiền tủy bào cấp, bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô cấp, và bệnh bạch cầu tủy bào mạn tính. Theo một số phương án, AML có thể được chọn từ AML do tuổi tác, AML tái phát lần đầu và AML tái phát lần thứ hai.

Bệnh ung thư có thể được chọn từ bệnh ung thư vú, bệnh ung thư da, bệnh ung thư xương, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư tuyến phổi tế bào không nhỏ dạng vảy, bệnh ung thư não, bệnh ung thư các cơ quan bao gồm thanh quản, túi mật, tuyến tụy, trực tràng, tuyến cận giáp, tuyến giáp, tuyến thượng thận, mô thần kinh, đầu và cổ, kết tràng, dạ dày, phế quản, và bệnh ung thư thận, caxinom tế bào đáy, caxinom tế bào vảy thuộc cả loại nhú và loét, caxinom da di căn, sacom xương, sacom Ewing, sacom tế bào lưới, u tủy, khối u tế bào khổng lồ, khối u phổi tế bào nhỏ, sỏi mật, khối u tế bào đảo, khối u não nguyên phát, các khối u bạch cầu hạt và bạch huyết bào cấp và mạn tính, khối u tế bào lông, u tuyến, chứng tăng sản, caxinom tủy, u tế bào ưa crôm, u thần kinh niêm mạc, u hạch thần kinh ruột, khối u dây thần kinh giác mạc tăng sản, khối u thể trạng cao và gầy (marfanoid habitus tumour), khối u Wilm, u tinh, khối u buồng trứng, bệnh ung thư buồng trứng kháng thuốc nhóm platin, khối u cơ trơn, loạn sản cổ tử cung và caxinom tại chỗ, u nguyên bào thần kinh, u nguyên bào võng mạc, sacom mô mềm, caxinoit ác tính, tổn thương da khu trú, u sùi dạng nấm, sacom cơ vân, sacom Kaposi, sacom sinh xương, tăng canxi huyết ác tính, khối u tế bào thận, bệnh tăng hồng cầu vô căn, ung thư tuyến, u nguyên bào đệm đa dạng (glioblastoma multiforma), bệnh bạch cầu, u lymphô, u hắc sắc tố, caxinom dạng biểu bì, caxinom tế bào gan và các khối u rắn.

Theo một số phương án, bệnh ung thư được chọn từ bệnh ung thư tuyến tụy, bệnh ung thư buồng trứng, u hắc sắc tố và bệnh ung thư phổi.

Theo một số phương án, bệnh đi kèm với sự tổng hợp hemoglobin bất thường được chọn từ bệnh thiếu máu tế bào hình lưỡi liềm và bệnh thiếu máu Địa Trung Hải β .

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm kết hợp, kit, quy trình, bột hoặc chế phẩm như nêu trong yêu cầu bảo hộ hoặc như được mô tả ở đây để dùng trong trị liệu hoặc phòng ngừa, ví dụ để sử dụng trong trị liệu miễn dịch hoặc điều trị bệnh như nêu trong yêu cầu bảo hộ và được mô tả ở đây.

Theo một số phương án, sáng chế mô tả việc sử dụng chế phẩm kết hợp, kit, quy trình, bột hoặc chế phẩm như nêu trong yêu cầu bảo hộ hoặc như được mô tả ở đây để sản xuất thuốc để dùng trong miễn dịch trị liệu hoặc trong phương pháp điều trị bệnh nêu trong yêu cầu bảo hộ và được mô tả ở đây.

Chế phẩm kết hợp, kit, quy trình, bột hoặc chế phẩm theo sáng chế có thể được dùng cho đối tượng theo chế độ liều dùng như sau: (a) một, hai, ba lần, bốn lần, năm lần, sáu lần hoặc bảy lần một tuần; hoặc (b) mỗi ngày trong 5, 6, 7, 8, 9 hoặc 10 ngày; hoặc (c) mỗi ngày trong tối đa 10 ngày; hoặc (d) mỗi ngày trong khoảng thời gian từ 5 đến 10 ngày; hoặc (e) mỗi ngày trong 5 ngày, lập tức sau đó là hai ngày không dùng liều và sau đó dùng hàng ngày trong 5 ngày tiếp theo. Việc dùng có thể là dùng dưới da.

Các chế phẩm kết hợp theo sáng chế hoạt hóa sự biểu hiện, hoặc điều hòa ngược chiều một cách mạnh mẽ các mức biểu hiện chủ yếu, của các thành phần của phức hệ nhận dạng khối u ở các tế bào khối u thuộc kiểu mô học khác nhau. Do đó, chúng có thể được sử dụng làm các tác nhân điều biến miễn dịch để gia tăng khả năng tạo miễn dịch và khả năng nhận dạng miễn dịch của các tế bào khối u. Điều này sẽ cho kết quả điều trị tốt hơn về mặt kiểm soát và đẩy lùi khối u, kéo dài quá trình tiến triển không phát bệnh, và cải thiện khả năng sống sót nói chung.

Các DHA thể hệ thứ hai từ dexitabin, bao gồm tác nhân giảm metyl hóa ADN là hợp chất I-1 (dinucleotit của 5-aza-2'-deoxyxytidin và deoxyguanosin), được mô tả trong WO2007/041071 (công bố đơn quốc tế này được kết hợp hoàn toàn vào đây bằng cách tham chiếu).

Hợp chất có công thức I để sử dụng trong các chế phẩm kết hợp theo sáng chế

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất các chế phẩm kết hợp bao gồm hợp chất có công thức I hoặc muối được dùng của nó:

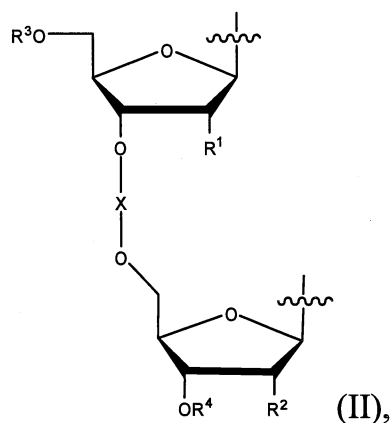
(nhóm 5-azaxytosin)-L-(nhóm guanin) (I),

trong đó L là nhóm liên kết chứa phospho trong đó số nguyên tử phospho trong L là 1.

L là nhóm thích hợp để liên kết nhóm 5-azaxytosin với nhóm guanin. Theo một số phương án, L chứa hydrat cacbon. Theo một số phương án, L chứa trên một hydrat cacbon. Theo một số phương án, L chứa hai hydrat cacbon. Nếu L chứa trên một hydrat cacbon thì các hydrat cacbon này có thể giống hoặc khác nhau. Hydrat cacbon có thể là monosacarit dưới dạng vòng kín, như dạng pyranoza hoặc furanoza. Hydrat cacbon có thể được thế ở vị trí bất kỳ hoặc được khử oxy ở vị trí bất kỳ sẽ bị oxy hóa ở dạng hydrat cacbon trong tự nhiên. Theo một số phương án, hydrat cacbon là riboza. Theo một số phương án, cacbohydrat là 2-đeoxyriboza. Riboza hoặc 2-đeoxyriboza này có thể được thế ở vị trí bất kỳ.

Nguyên tử phosphat của L có thể có mặt trong nhóm chức có trong tự nhiên hoặc tổng hợp bất kỳ chứa nguyên tử phospho. Các ví dụ không giới hạn về các nhóm chức này bao gồm các phosphodiester, phosphorothioat diester, boranophosphat diester, và methylphosphonat diester.

Theo một số phương án, L bao gồm nhóm có công thức II. Theo một số phương án, L là nhóm có công thức II.



trong đó, R^1 và R^2 độc lập là H, OH, nhóm alkoxy, nhóm alkoxyalkoxy, nhóm axyloxy, nhóm cacbonat, nhóm cacbamat, hoặc halogen; R^3 là H, hoặc R^3 cùng với

nguyên tử oxy mà R^3 liên kết tạo ra ete, este, cacbonat, hoặc cacbamat; R^4 là H, hoặc R^4 cùng với nguyên tử oxy mà R^4 liên kết tạo ra ete, este, cacbonat, hoặc cacbamat; và X cùng với các nguyên tử oxy mà X liên kết tạo ra phosphodiester, phosphorothioat diester, boranophosphat diester, hoặc methylphosphonat diester.

Nhóm 5-azaxytosin có thể được liên kết với một đầu bất kỳ của L, và nhóm guanin có thể được liên kết với đầu còn lại của L miễn là hợp chất chứa một nhóm 5-azaxytosin và một nhóm guanin. Do đó có thể điều chế được các chất đồng phân cấu tạo bằng cách trao đổi vị trí liên kết của nhóm 5-azaxytosin và nhóm guanin.

R^1 và R^2 có thể giống nhau hoặc khác nhau. Theo một số phương án, R^1 và R^2 độc lập là H, OH, OMe, OEt, OPh, OCH_2CH_2OMe , OCH_2CH_2OEt , OCH_2CH_2OBn , OBn, OAc, OBz, $OCOOMe$, $OCOOEt$, $OCOOBn$, $CONH_2$, $CONMe_2$, $CONEt_2$, $CONBn_2$, $CONHMe$, $CONHEt$, $CONHBn$, F, Cl, Br, hoặc I. Theo một số phương án, R^1 và R^2 độc lập là H, OH, OMe, OEt, OCH_2CH_2OMe , OBn, hoặc F. Theo một số phương án, R^1 và R^2 độc lập là H hoặc OH. Theo một số phương án, R^1 và R^2 là H. Theo một số phương án, R^1 và R^2 là OH.

R^3 và R^4 có thể giống nhau hoặc khác nhau.

Theo một số phương án, R^3 là H, hoặc R^3 cùng với nguyên tử oxy mà R^3 liên kết tạo ra OH, OMe, OEt, OPh, OCH_2CH_2OMe , OCH_2CH_2OEt , OCH_2CH_2OBn , OBn, OAc, OBz, $OCOOMe$, $OCOOEt$, $OCOOBn$, $CONH_2$, $CONMe_2$, $CONEt_2$, $CONBn_2$, $CONHMe$, $CONHEt$, hoặc $CONHBn$. Theo một số phương án, R^3 là H, hoặc R^3 cùng với nguyên tử oxy mà R^3 liên kết tạo ra OH, OMe, OEt, OCH_2CH_2OMe , hoặc OBn. Theo một số phương án, R^3 là H.

Theo một số phương án, R^4 là H, hoặc R^4 cùng với nguyên tử oxy mà R^4 liên kết tạo ra OH, OMe, OEt, OPh, OCH_2CH_2OMe , OCH_2CH_2OEt , OCH_2CH_2OBn , OBn, OAc, OBz, $OCOOMe$, $OCOOEt$, $OCOOBn$, $CONH_2$, $CONMe_2$, $CONEt_2$, $CONBn_2$, $CONHMe$, $CONHEt$, hoặc $CONHBn$. Theo một số phương án, R^4 là H, hoặc R^4 cùng với nguyên tử oxy mà R^4 liên kết tạo ra OH, OMe, OEt, OCH_2CH_2OMe , hoặc OBn. Theo một số phương án, R^4 là H.

Theo một số phương án, X là $P(O)OH$, $P(O)SH$, $P(\rightarrow O)BH_3^-$, hoặc $P(O)Me$. Theo một số phương án, X là $P(O)OH$. Theo một số phương án, X cùng với các nguyên tử oxy mà X liên kết tạo ra phosphodiester.

Các ví dụ không giới hạn về alkyl bao gồm các nhóm alkyl mạch thẳng, mạch nhánh, và mạch vòng. Các ví dụ không giới hạn về các nhóm alkyl mạch thẳng bao gồm metyl, etyl, propyl, butyl, pentyl, hexyl, heptyl, octyl, nonyl, và đexyl.

Các nhóm alkyl mạch nhánh bao gồm nhóm alkyl mạch thẳng được thế bằng một số nhóm alkyl bất kỳ. Các ví dụ không giới hạn về các nhóm alkyl mạch nhánh bao gồm isopropyl, isobutyl, sec-butyl, và t-butyl.

Các ví dụ không giới hạn về các nhóm alkyl mạch vòng bao gồm các nhóm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, xycloheptyl, và xyclooctyl. Các nhóm alkyl mạch vòng cũng bao gồm các hệ vòng hai vòng ngưng tụ, liên kết cầu, và xoắn và các hệ vòng ngưng tụ, liên kết cầu và xoắn cao hơn. Nhóm alkyl mạch vòng có thể được thế bằng một số nhóm alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh bất kỳ.

Nhóm halo-alkyl có thể là nhóm alkyl bất kỳ được thế bằng một số nguyên tử halogen bất kỳ, ví dụ, các nguyên tử flo, clo, brom, và iot.

Nhóm alkoxy có thể là, ví dụ, nguyên tử oxy được thế bằng nhóm alkyl bất kỳ. Một ete hoặc một nhóm ete chứa nhóm alkoxy. Các ví dụ không giới hạn về các nhóm alkoxy bao gồm metoxy, etoxy, propoxy, isopropoxy, và isobutoxy.

Nhóm alkoxyalkoxy có thể là, ví dụ, nhóm alkoxy được thế ở vị trí bất kỳ bằng nhóm alkoxy bất kỳ. Các ví dụ không giới hạn về các nhóm alkoxyalkoxy bao gồm metoxyetoxi, etoxyetoxi, etoxyetoxietoxi, các nhóm thu được từ thứ tự glyme bất kỳ, và các nhóm thu được từ polyetylen glycol.

Nhóm aryl có thể là nhóm dị vòng hoặc không dị vòng. Nhóm aryl có thể là nhóm một vòng hoặc nhóm nhiều vòng. Nhóm aryl có thể được thế bằng một số nhóm hydrocacbyl, một số nhóm alkyl, và một số nguyên tử halogen bất kỳ. Các ví dụ không giới hạn về các nhóm aryl bao gồm phenyl, toluyl, naphtyl, pyrolyl, pyridyl, imidazolyl, thiophenyl, và furyl.

Nhóm aryloxy có thể là, ví dụ, nguyên tử oxy được thế bằng nhóm aryl bất kỳ, như phenoxy.

Nhóm aralkyl có thể là, ví dụ, nhóm alkyl bất kỳ được thế bằng nhóm aryl bất kỳ, như benzyl.

Nhóm arylalkoxy có thể là, ví dụ, nguyên tử oxy được thế bằng nhóm aralkyl bất

kỳ, như benzyloxy.

Nhóm dị vòng có thể là vòng bất kỳ chứa một nguyên tử tạo vòng mà không phải là nguyên tử cacbon. Nhóm dị vòng có thể được thế bằng một số nhóm alkyl và một số nguyên tử halogen bất kỳ. Các ví dụ không giới hạn về các nhóm dị vòng bao gồm pyrol, pyrrolidin, pyridin, piperidin, succinamit, maleimit, morpholin, imidazol, thiophen, furan, tetrahydrofuran, pyran, và tetrahydropyran.

Nhóm axyl có thể là, ví dụ, nhóm cacbonyl được thế bằng hydrocacbyl, alkyl, hydrocacbyloxy, alkoxy, aryl, aryloxy, aralkyl, arylalkoxy, hoặc dị vòng. Các ví dụ không giới hạn về nhóm axyl bao gồm axetyl, benzoyl, benzyloxycarbonyl, phenoxycarbonyl, metoxycarbonyl, và etoxycarbonyl.

Nhóm axyloxy có thể là nguyên tử oxy được thế bằng nhóm axyl. Một este hoặc một gốc este chứa nhóm axyloxy.

Nhóm cacbonat có thể là nguyên tử oxy được thế bằng hydrocacbyloxycarbonyl, alkoxycarbonyl, aryloxycarbonyl, hoặc arylalkoxycarbonyl.

Nhóm cacbamat có thể là nguyên tử oxy được thế bằng nhóm cacbamoyl, trong đó nguyên tử nitơ của nhóm cacbamoyl không được thế, được thế một lần, hoặc được thế hai lần bằng một hoặc nhiều hydrocacbyl, alkyl, aryl, heteroxyclyl, hoặc aralkyl. Nếu nguyên tử nitơ được thế hai lần thì hai nhóm thế này cùng với nguyên tử nitơ có thể tạo ra dị vòng.

Nhóm chức bất kỳ của hợp chất nêu trên có thể tùy ý được bịt lại bằng nhóm bịt đầu. Ví dụ về các nhóm bịt đầu, xem GREENE'S PROTECTIVE GROUPS IN ORGANIC SYNTHESIS, 4th Ed. (Wiley 2006) (1980) và PROTECTING GROUPS, 3d Ed. (Thieme 2005) (1994), mỗi tài liệu này được đưa vào đây hoàn toàn bằng cách viện dẫn.

Các ví dụ không giới hạn về các nhóm bịt đầu thích hợp cho nhóm hydroxyl bao gồm các nhóm alkyl, haloalkyl, aryl, aralkyl, cacbonat, cacbamat, và axyl.

Các ví dụ không giới hạn về các nhóm bịt đầu thích hợp cho các nhóm chức chứa nitơ bao gồm nhóm alkyl, aryl, aralkyl, axyl, alkoxycarbonyl, aryloxycarbonyl, và aminocarbonyl. Nhóm bịt đầu cùng với nguyên tử nitơ mà nhóm bịt đầu này liên kết có thể tạo ra, ví dụ, amit, cacbamat, uretan, dị vòng, hoặc amin. Hai nhóm bịt đầu liên kết với cùng một nguyên tử nitơ có thể tạo ra, cùng với nguyên tử nitơ này, dị vòng.

Sáng chế đề xuất các muối được dụng của hợp chất bất kỳ nêu trên. Các muối được dụng bao gồm, ví dụ, các muối cộng axit và các muối cộng bazơ. Axit mà được bổ sung vào hợp chất để tạo ra muối cộng axit có thể là axit hữu cơ hoặc axit vô cơ. Bazơ mà được bổ sung vào hợp chất để tạo ra muối cộng bazơ có thể là bazơ hữu cơ hoặc bazơ vô cơ. Theo một số phương án, muối được dụng là muối kim loại. Theo một số phương án, muối được dụng là muối amoni.

Muối cộng axit có thể được tạo ra từ việc bổ sung axit vào hợp chất nêu trên. Theo một số phương án, axit này là axit hữu cơ. Theo một số phương án, axit này là axit vô cơ. Các ví dụ không giới hạn về các axit thích hợp bao gồm axit clohydric, axit bromhydric, axit iodhydric, axit nitric, axit nitơ, axit sulfuric, axit sulfuro, axit phosphoric, axit nicotinic, axit isonicotinic, axit lactic, axit salixylic, axit 4-aminosalixylic, axit tartaric, axit ascorbic, axit gentisinic, axit gluconic, axit glucaronic, axit saccaric, axit formic, axit benzoic, axit glutamic, axit pantothenic, axit axetic, axit propionic, axit butyric, axit fumaric, axit succinic, axit xitric, axit oxalic, axit maleic, axit hydroxymaleic, axit metylmaleic, axit glycolic, axit malic, axit xinnamic, axit mandelic, axit 2-phenoxybenzoic, axit 2-axetoxibenzoic, axit embonic, axit phenylaxetic, axit N-xyclohexylsulfamic, axit metansulfonic, axit etansulfonic, axit benzensulfonic, axit p-toluensulfonic, axit 2-hydroxyetansulfonic, axit etan-1,2-disulfonic, axit 4-metylbenzensulfonic, axit naptalen-2-sulfonic, axit naptalen-1,5-disulfonic, axit 2-phosphoglyxeric, axit 3-phosphoglyxeric, axit glucoza-6-phosphoric, và axit amin.

Các ví dụ không giới hạn về các muối cộng axit thích hợp bao gồm muối hydroclorua, muối hydrobromua, muối hydroiodua, muối nitrat, muối nitrit, muối sulfat, muối sulfit, muối phosphat, muối hydro phosphat, muối dihydro phosphat, muối cacbonat, muối bicarbonat, muối nicotinat, muối isonicotinat, muối lactat, muối salixylat, muối 4-aminosalixylat, muối tartrat, muối ascorbat, muối gentisinat, muối gluconat, muối glucaronat, muối saccarat, muối format, muối benzoat, muối glutamat, muối pantothenat, muối axetat, muối propionat, muối butyrat, muối fumarat, muối succinat, muối xitrat, muối oxalat, muối maleat, muối hydroxymaleat, muối metylmaleat, muối glycolat, muối malat, muối xinnamat, muối mandelat, muối 2-phenoxybenzoat, muối 2-axetoxibenzoat, muối embonat, muối phenylaxetat, muối N-xyclohexylsulfamat, muối metansulfonat, muối etansulfonat, muối benzensulfonat,

muối p-toluensulfonat, muối 2-hydroxyetansulfonat, muối etan-1,2-disulfonat, muối 4-methylbensensulfonat, muối naptalen-2-sulfonat, muối naptalen-1,5-disulfonat, muối 2-phosphoglyxerat, muối 3-phosphoglyxerat, muối glucoza-6-phosphat, và muối axit amin.

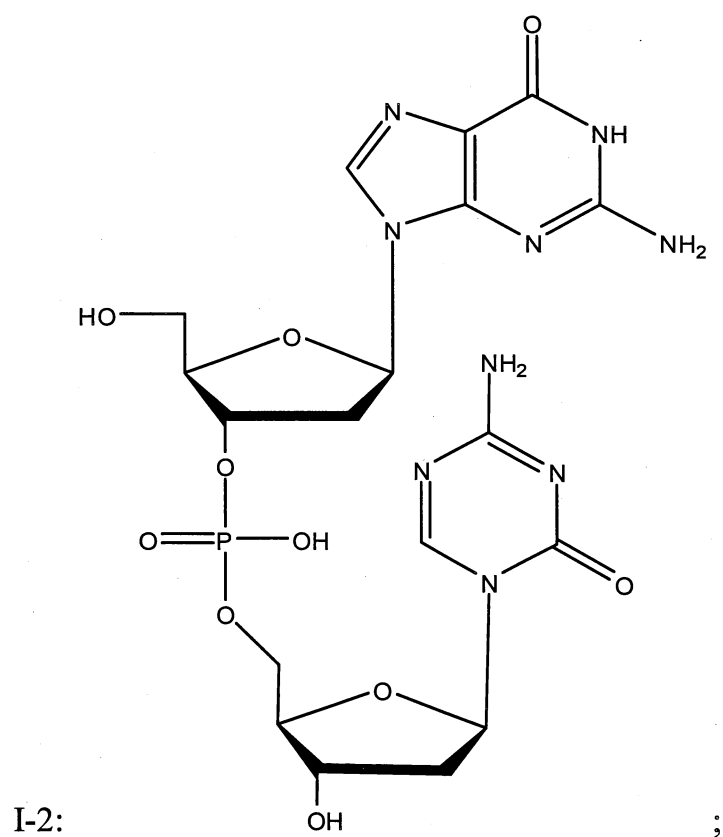
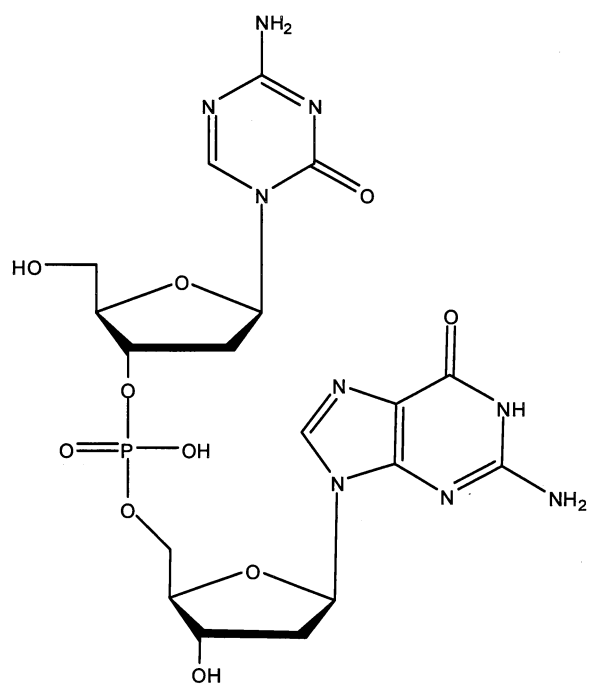
Các muối kim loại có thể được tạo ra từ việc bổ sung bazơ vô cơ vào hợp chất nêu trên. Bazơ vô cơ bao gồm cation kim loại cặp đôi với ion trái dấu bazơ, như, ví dụ, hydroxit, cacbonat, bicacbonat, hoặc phosphat. Kim loại này có thể là kim loại kiềm, kim loại kiềm thổ, kim loại chuyển tiếp, hoặc kim loại nhóm chính. Các ví dụ không giới hạn về các kim loại thích hợp bao gồm liti, natri, kali, xesi, xeri, magiê, mangan, sắt, canxi, stronti, coban, titan, nhôm, đồng, cadimi, và kẽm.

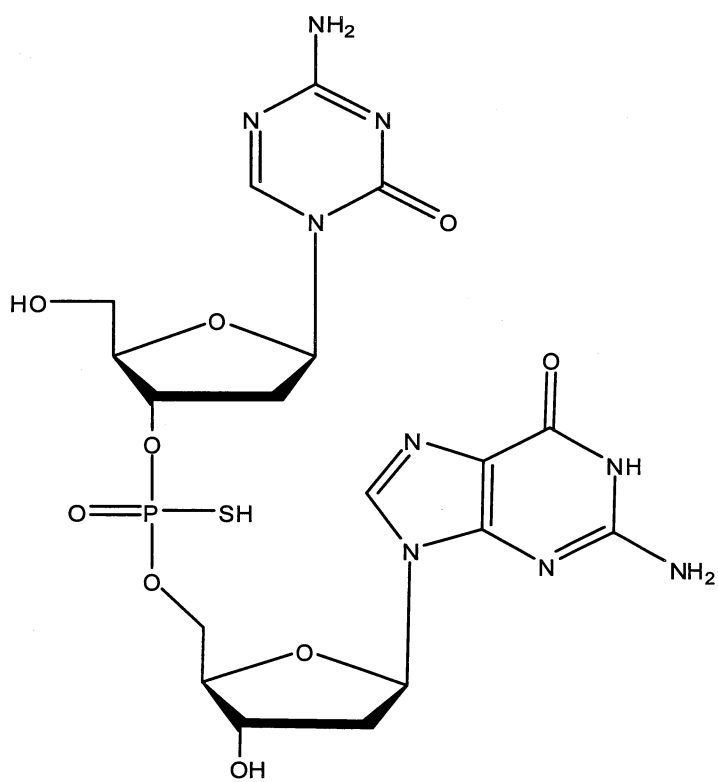
Các ví dụ không giới hạn về các muối kim loại thích hợp bao gồm muối liti, muối natri, muối kali, muối xesi, muối xeri, muối magiê, muối mangan, muối sắt, muối canxi, muối stronti, muối coban, muối titan, muối nhôm, muối đồng, muối cadimi, và muối kẽm.

Muối amoni có thể được tạo ra từ việc bổ sung amoniac hoặc amin hữu cơ vào hợp chất nêu trên. Các ví dụ không giới hạn về amin hữu cơ thích hợp bao gồm trietyl amin, diisopropyl amin, etanol amin, dietanol amin, trietanol amin, morpholin, N-metylmorpholin, piperidin, N-metylpiperidin, N-etylpiperidin, dibenzyl amin, piperazin, pyridin, pyrazol, pipyrazol, imidazol, pyrazin, pipyrazin, etylendi-amin, N,N'-dibenzyletylen diamin, procain, cloprocain, cholin, đixyclohexyl amin, và N-metylglucamin.

Các ví dụ không giới hạn về các muối amoni thích hợp bao gồm muối trietyl amin, muối diisopropyl amin, muối etanol amin, muối dietanol amin, muối trietanol amin, muối morpholin, muối N-metylmorpholin, muối piperidin, muối N-metylpiperidin, muối N-etylpiperidin, muối dibenzyl amin, muối piperazin, muối pyridin, muối pyrazol, muối pipyrazol, muối imidazol, muối pyrazin, muối pipyrazin, muối etylen diamin, muối N,N'-dibenzyletylen diamin, muối procain, muối cloprocain, muối cholin, muối đixyclohexyl amin, và muối N-metylglucamin.

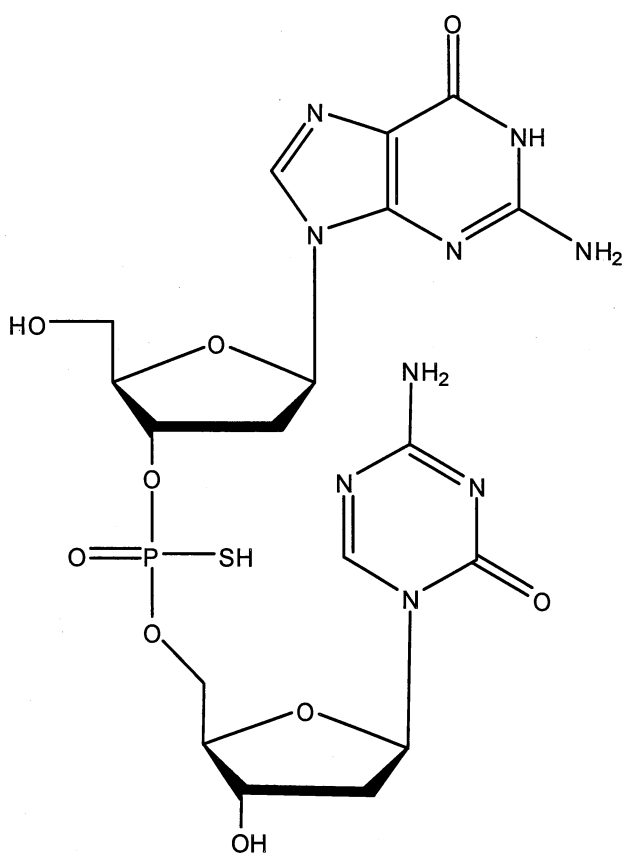
Các ví dụ không giới hạn về các hợp chất có công thức I bao gồm:





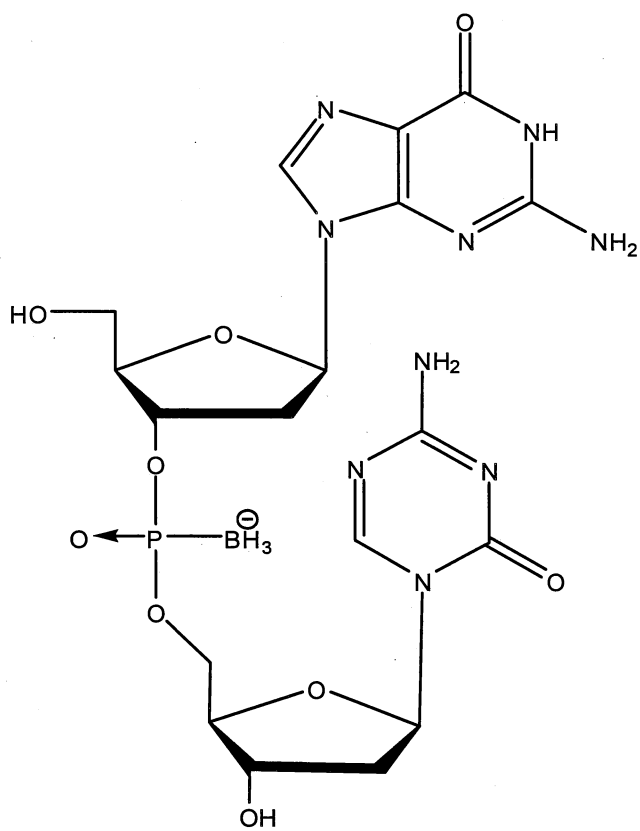
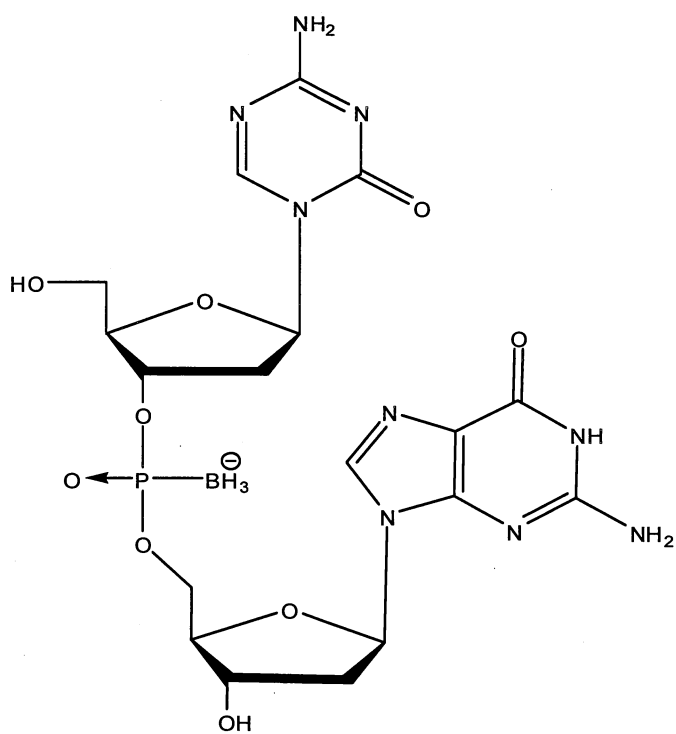
I-3:

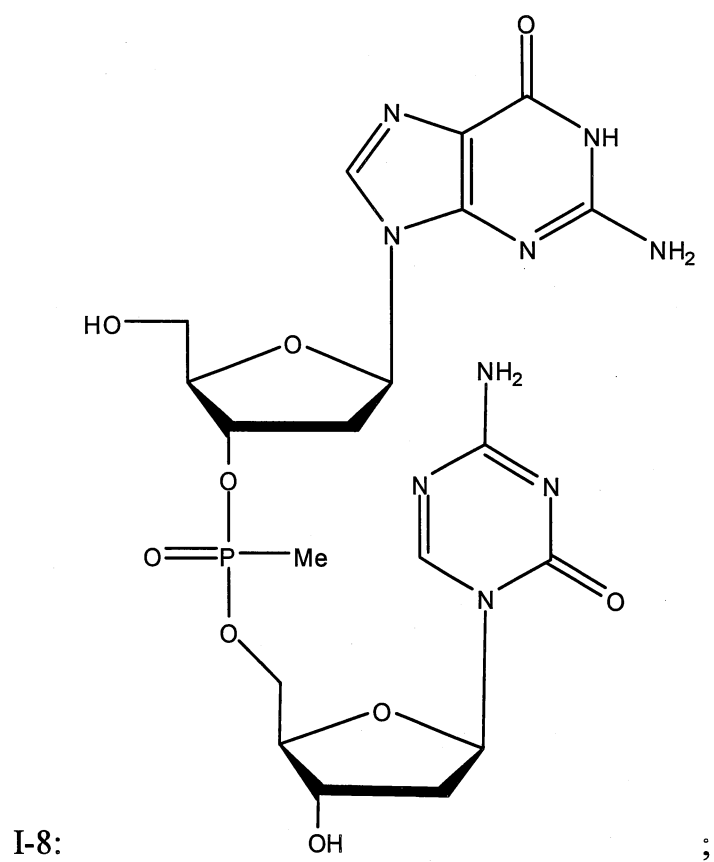
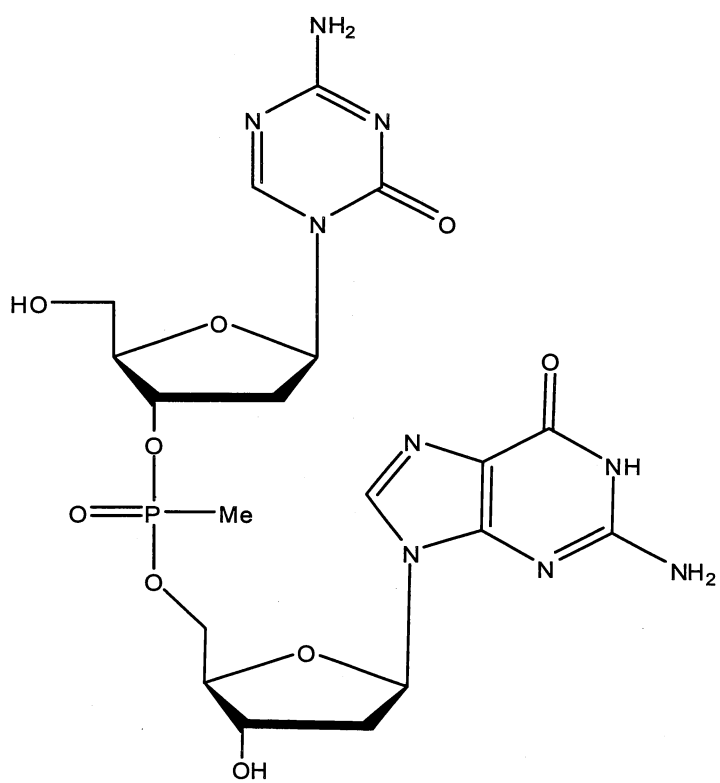
;



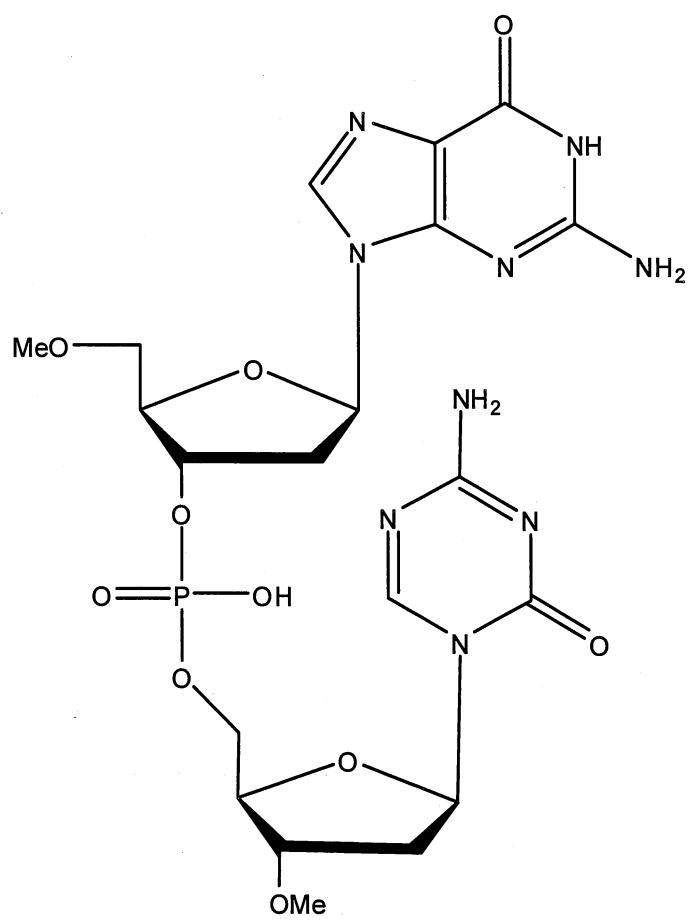
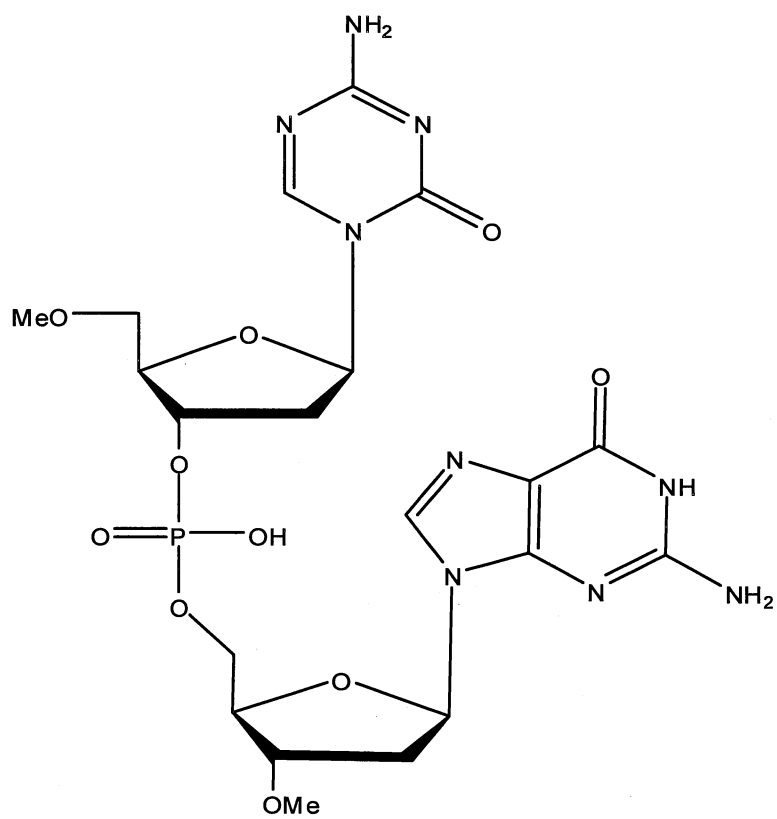
I-4:

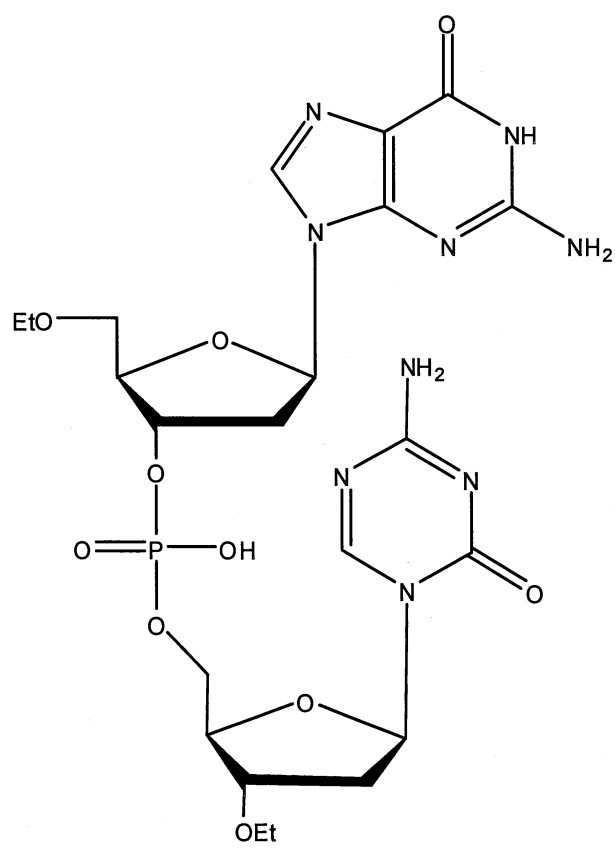
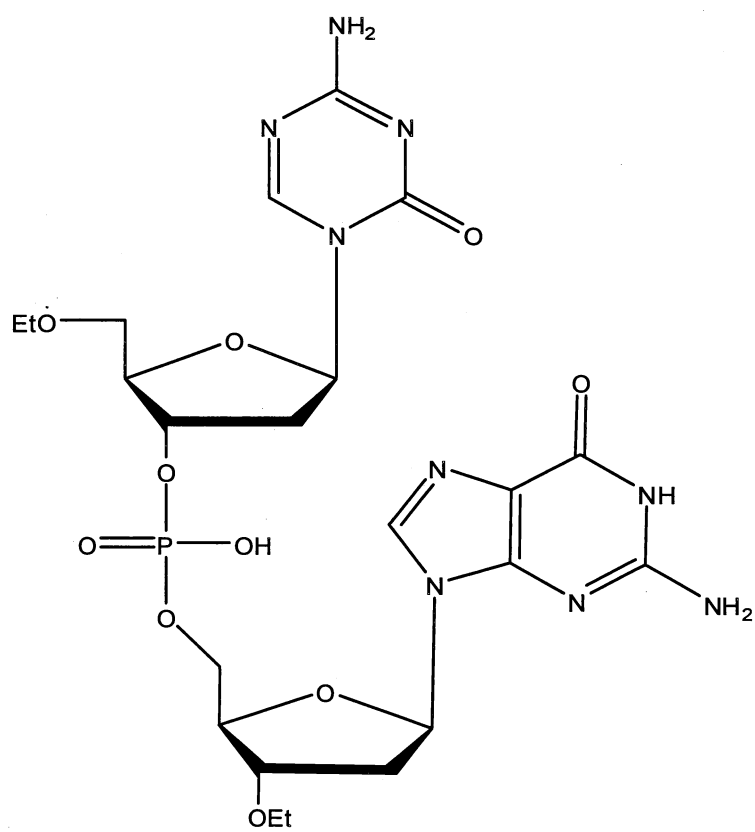
;

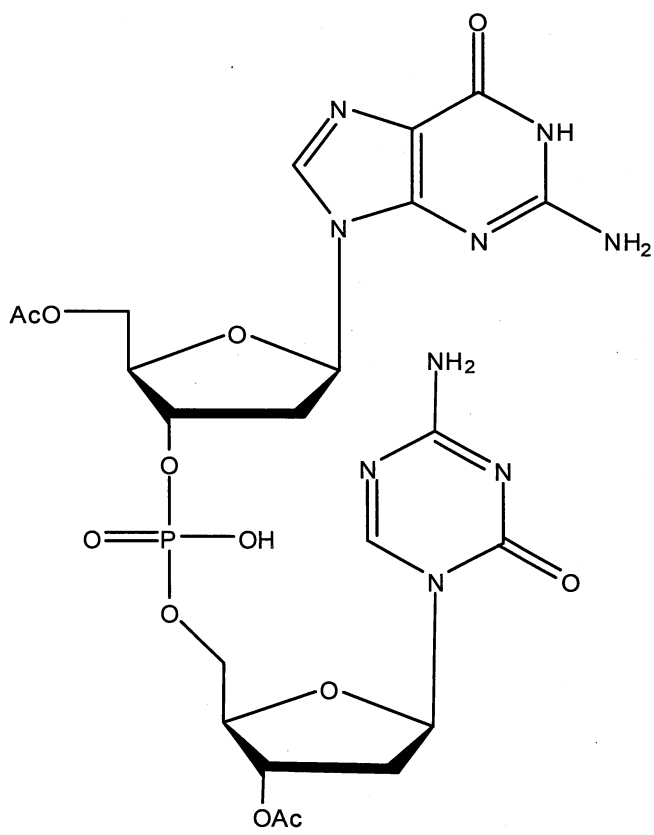
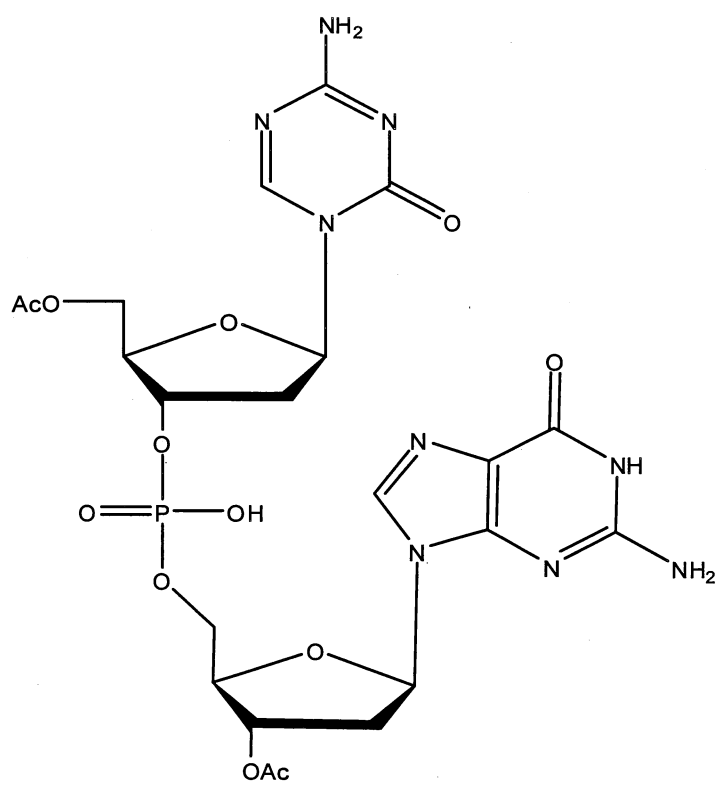


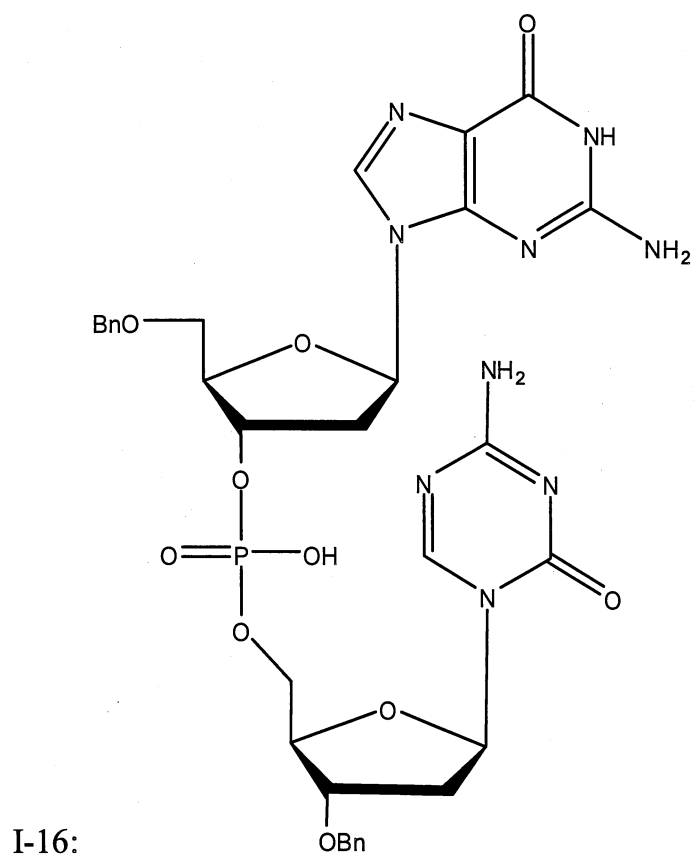
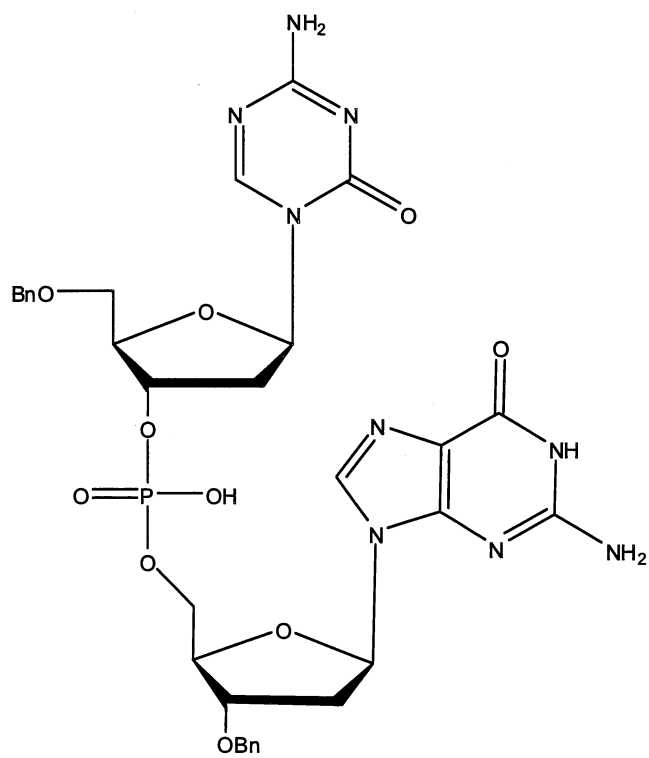


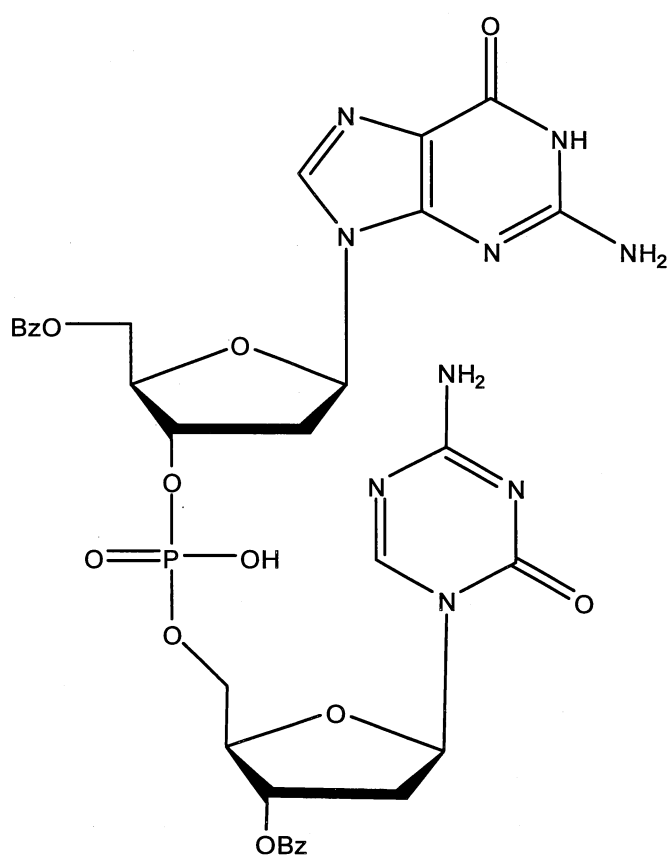
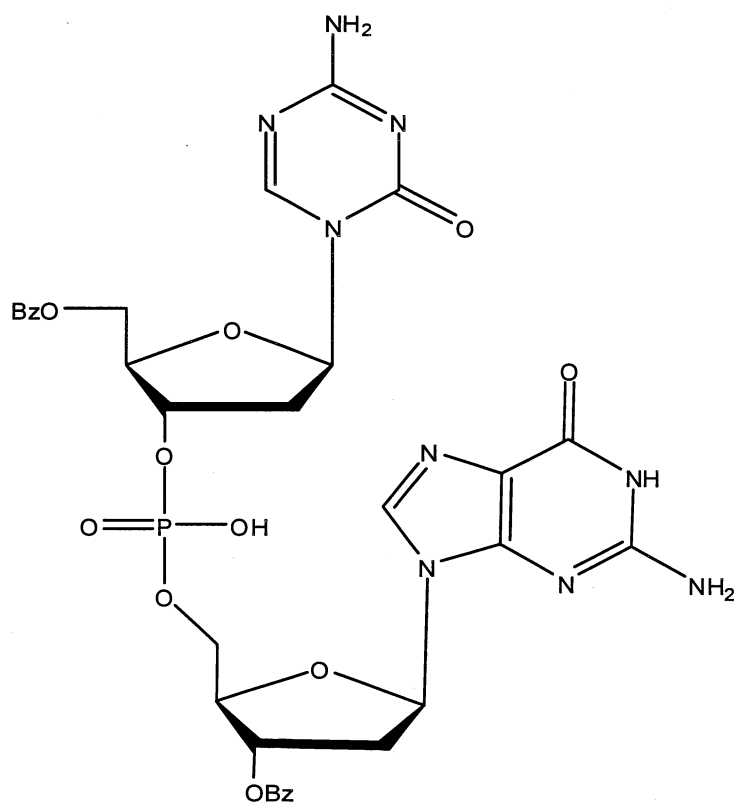
23828



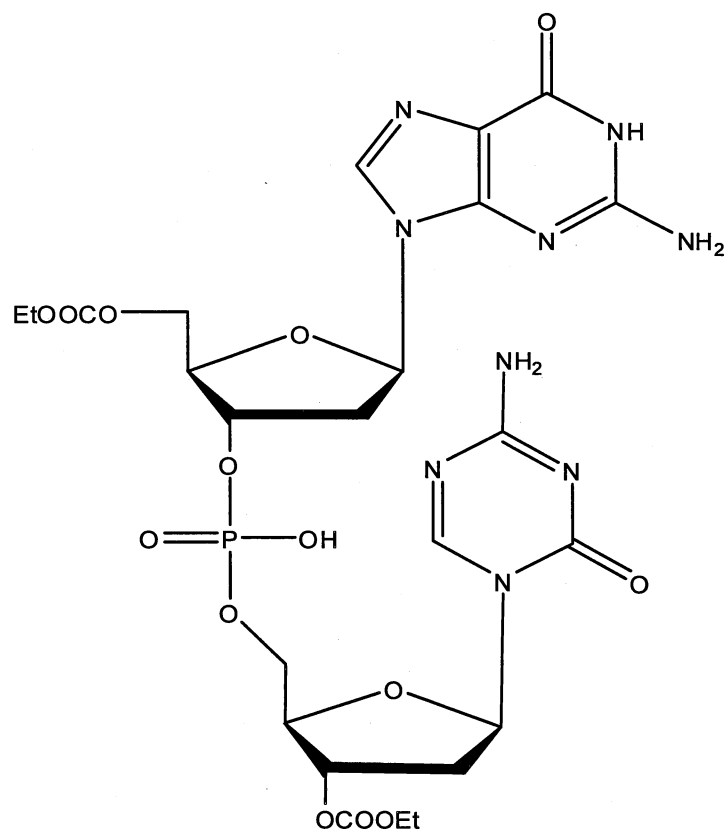
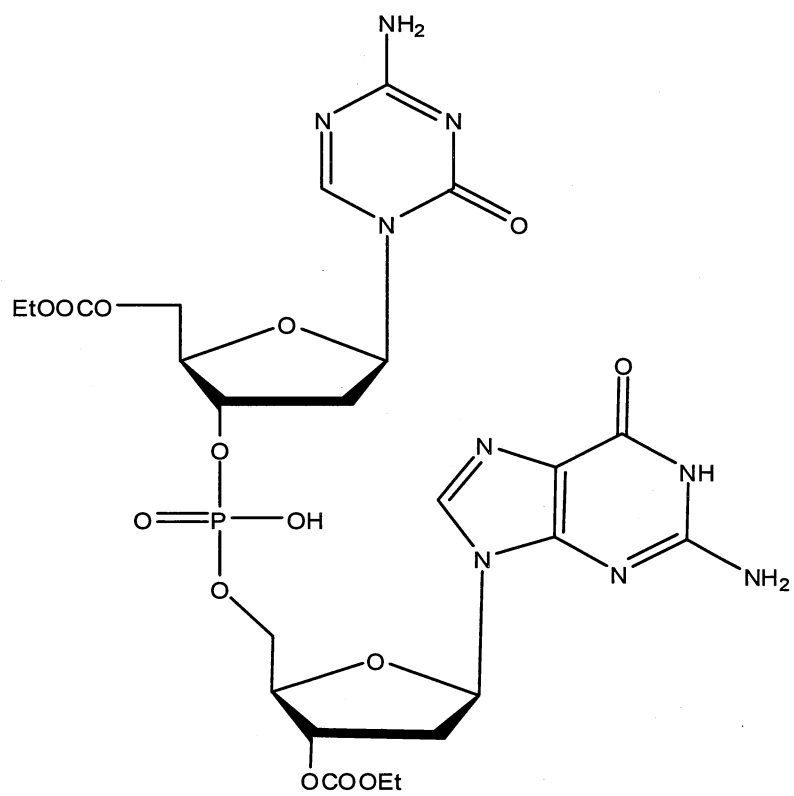


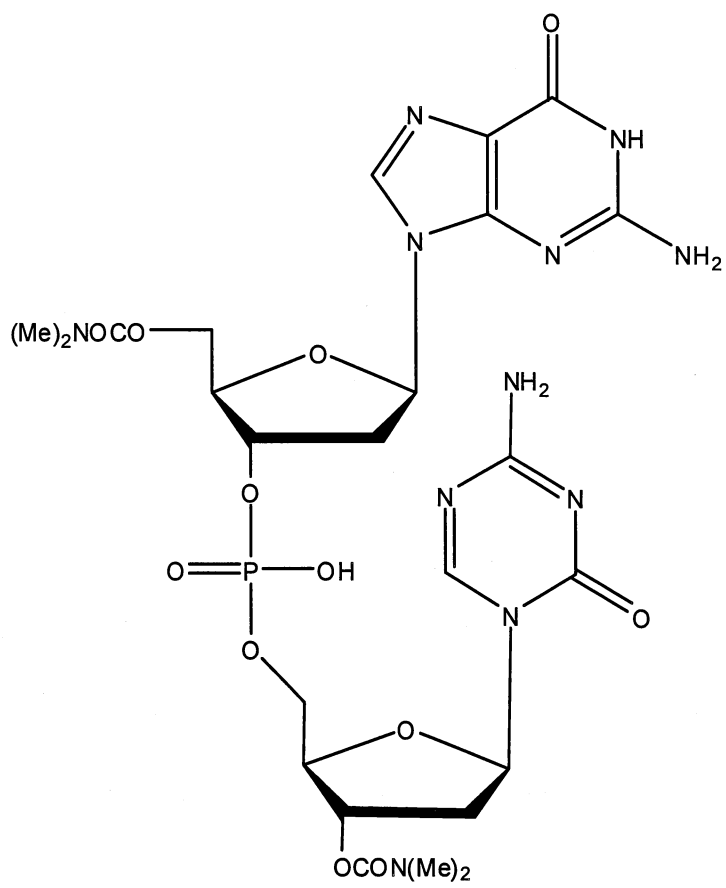
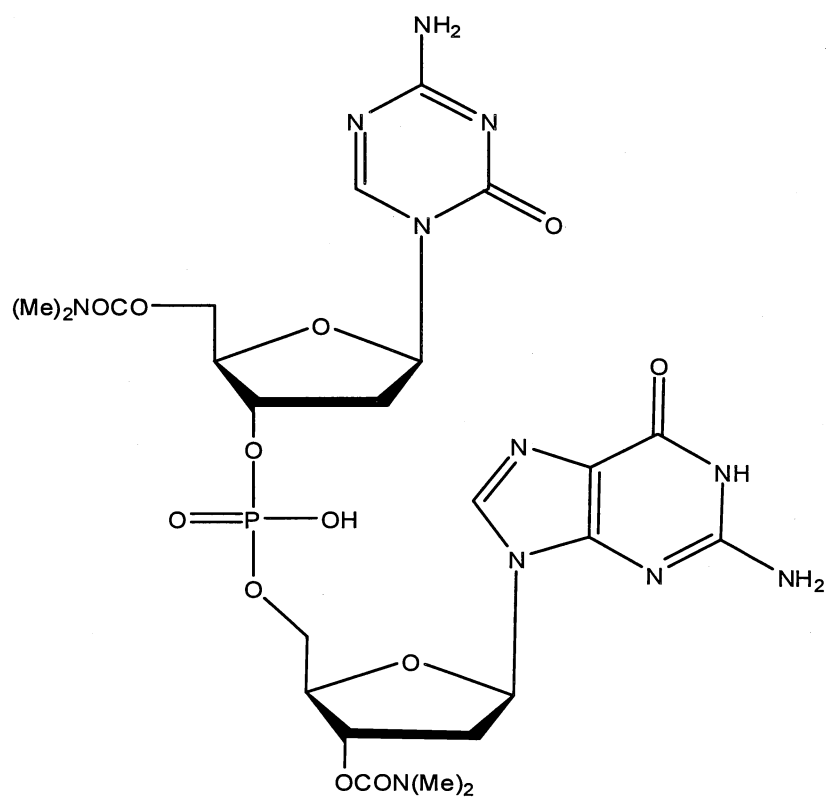


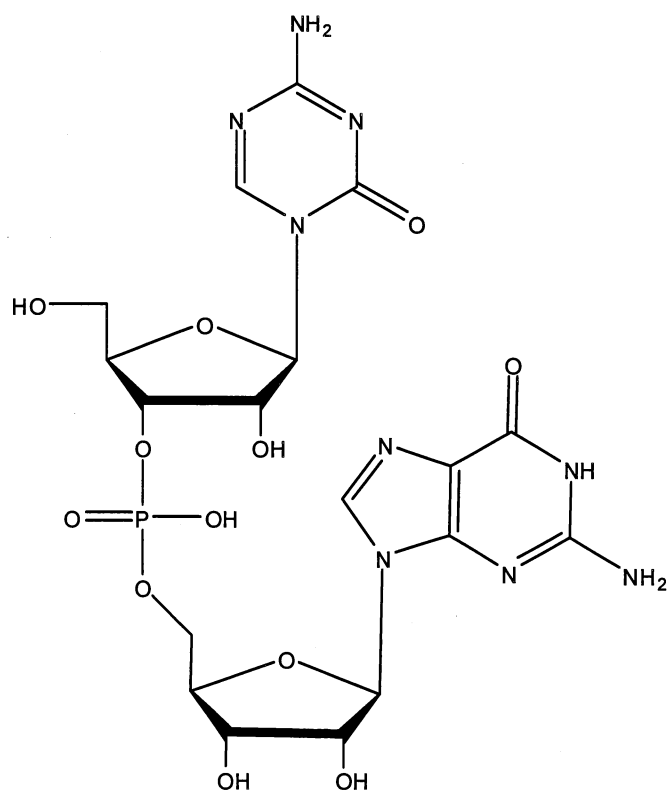




23828

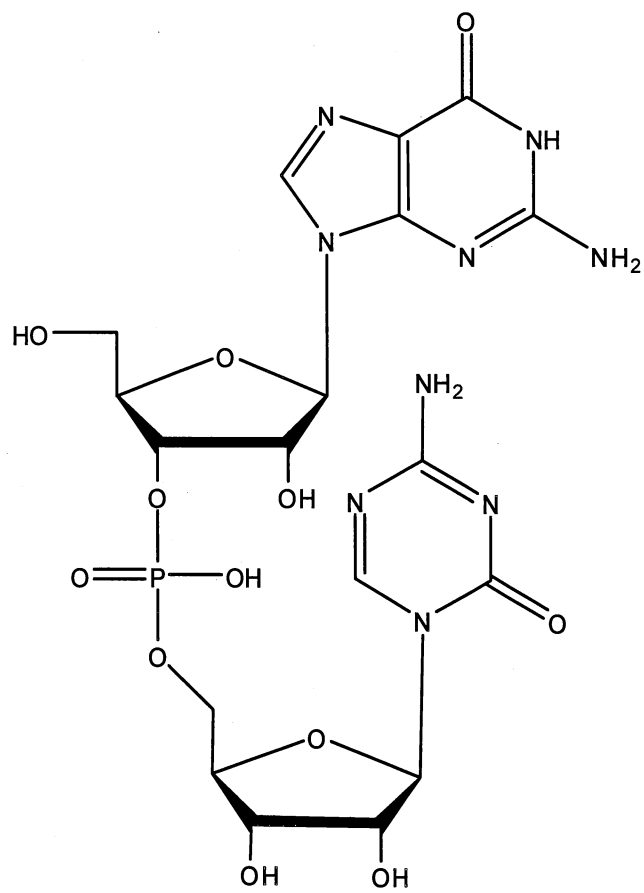






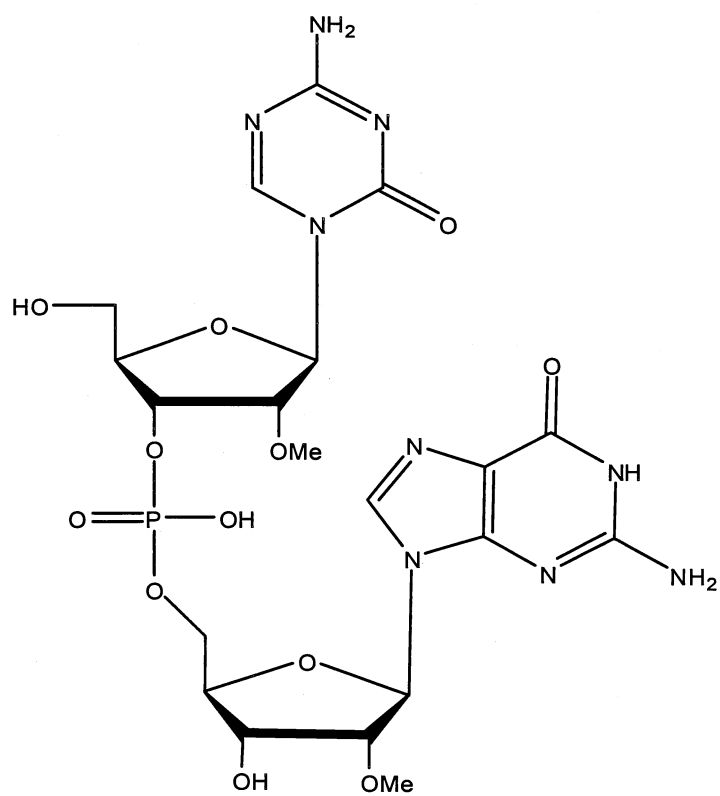
I-23:

;



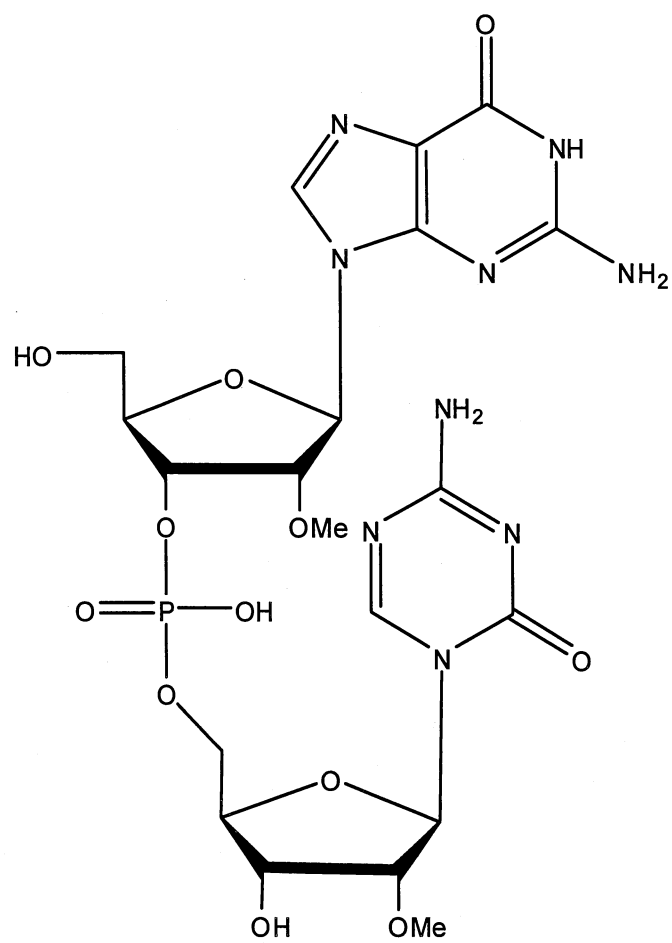
I-24:

;



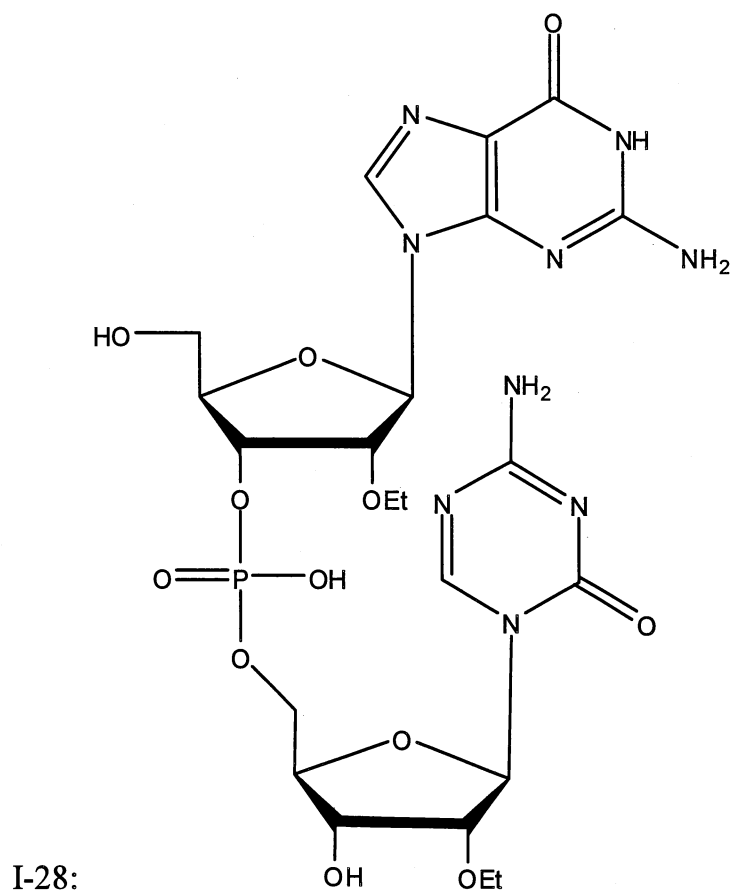
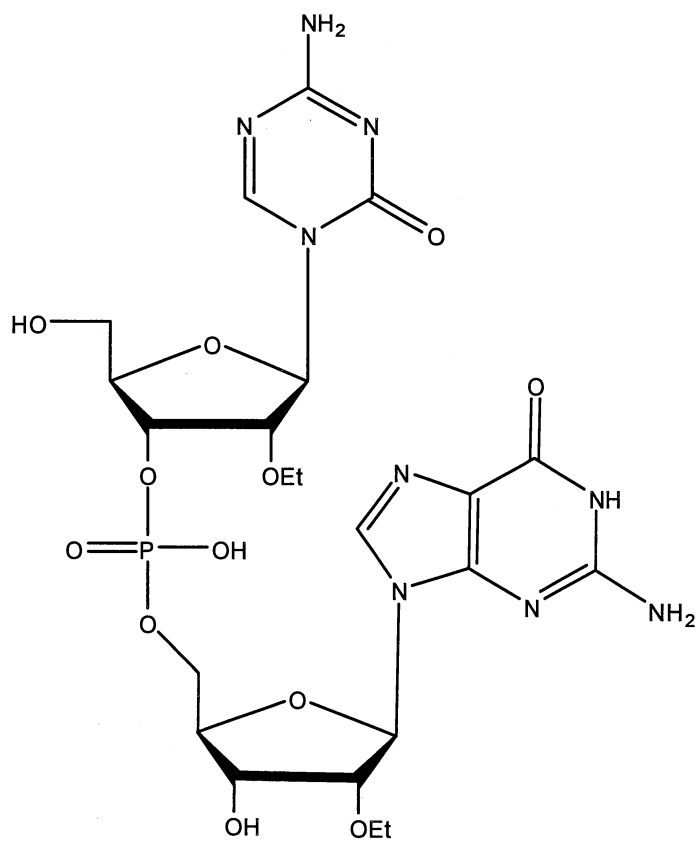
I-25:

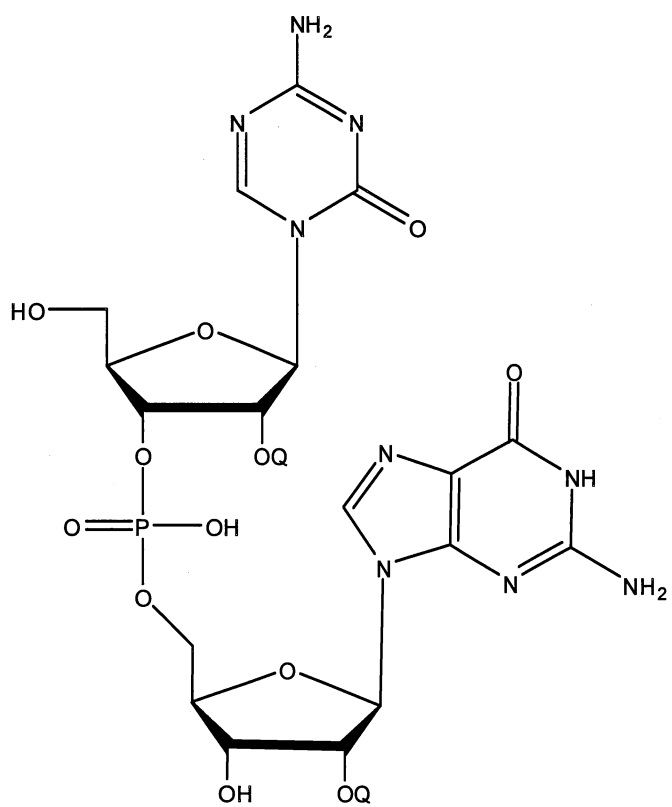
;



I-26:

;

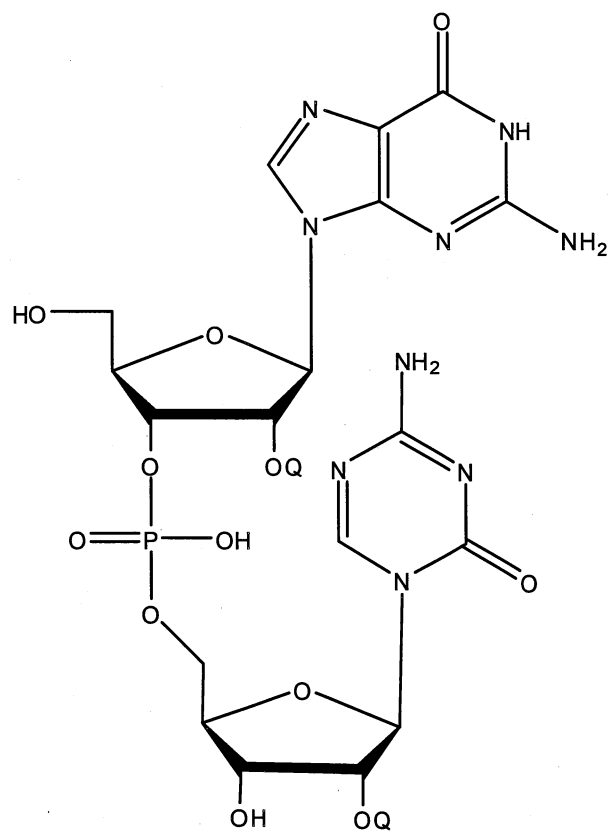




I-29:

OQ = OCH₂CH₂OMe

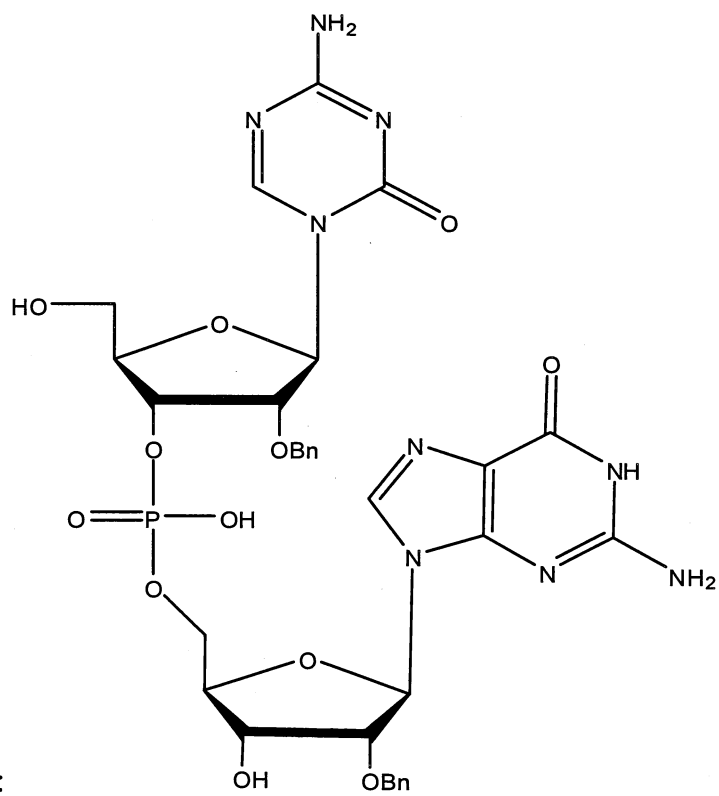
;



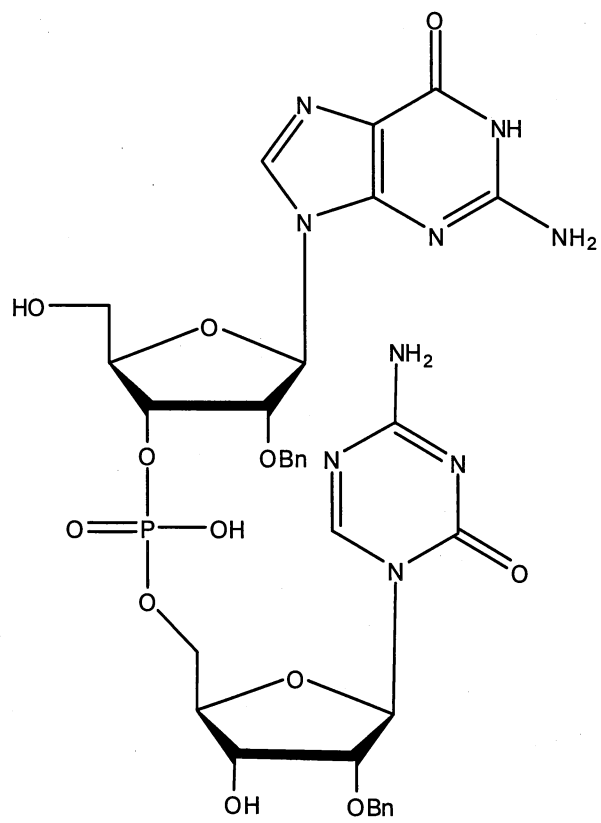
I-30:

OQ = OCH₂CH₂OMe

;



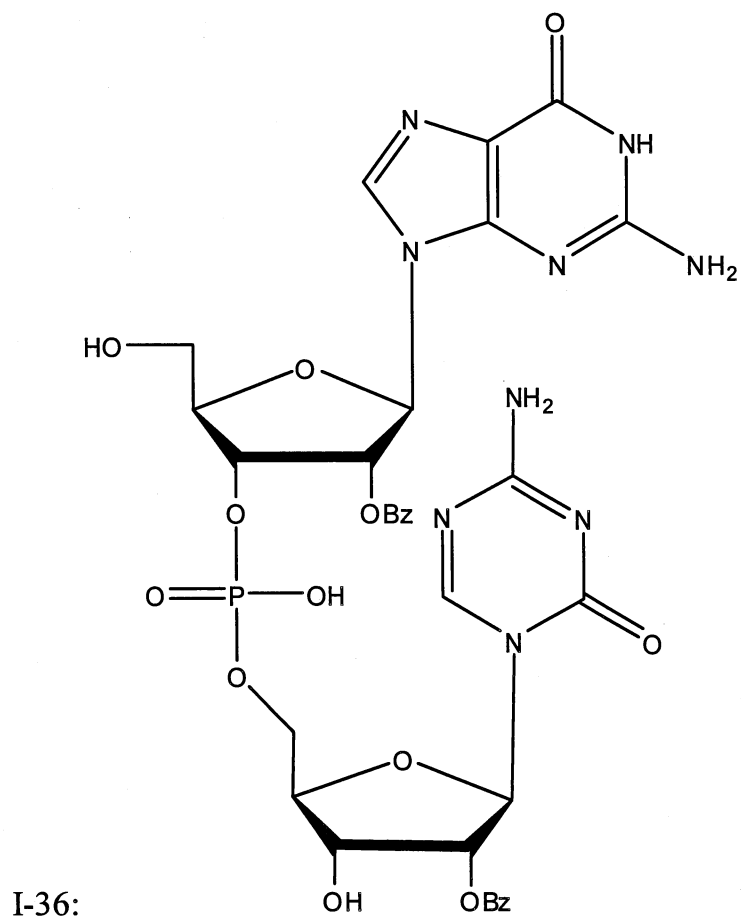
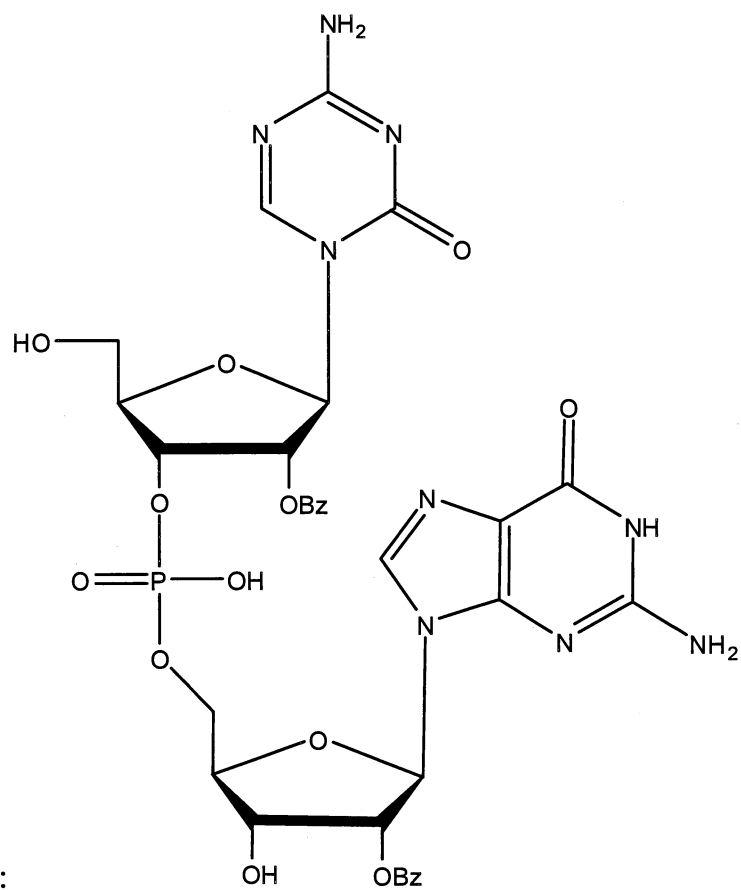
;

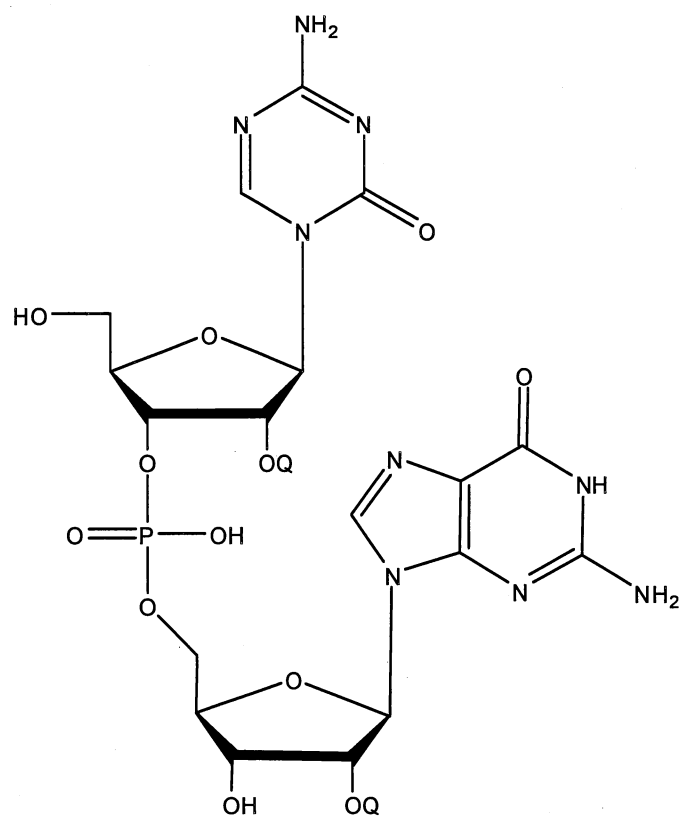


;

23828



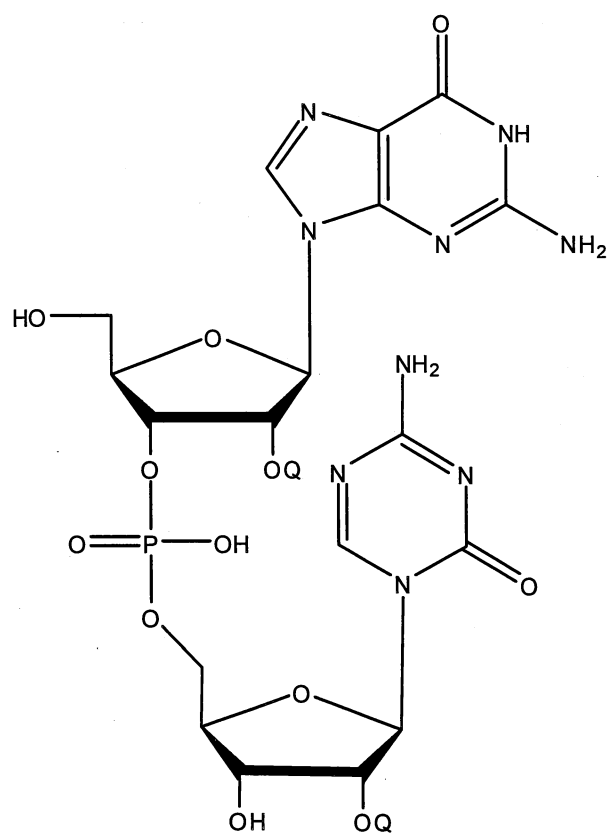




I-37:

OQ = OCOOEt

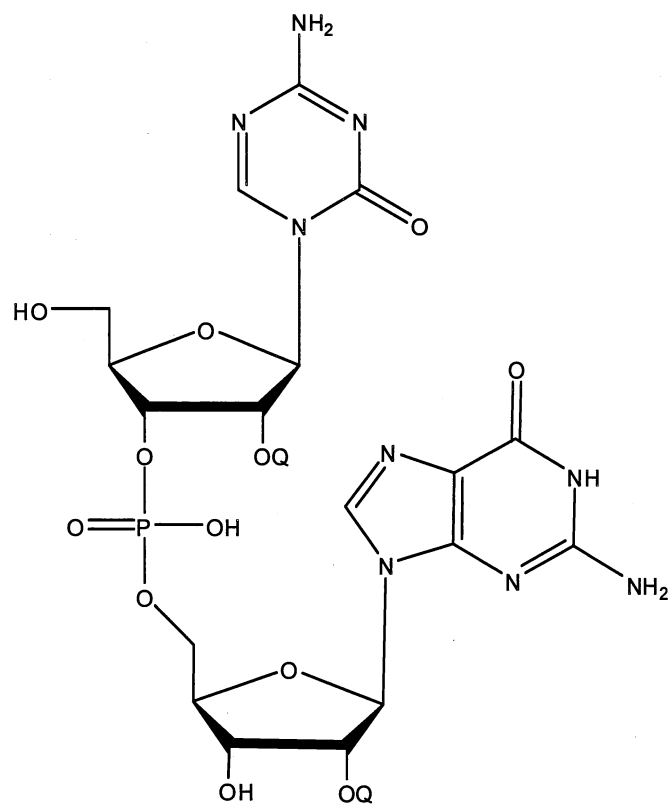
;



I-38:

OQ = OCOOEt

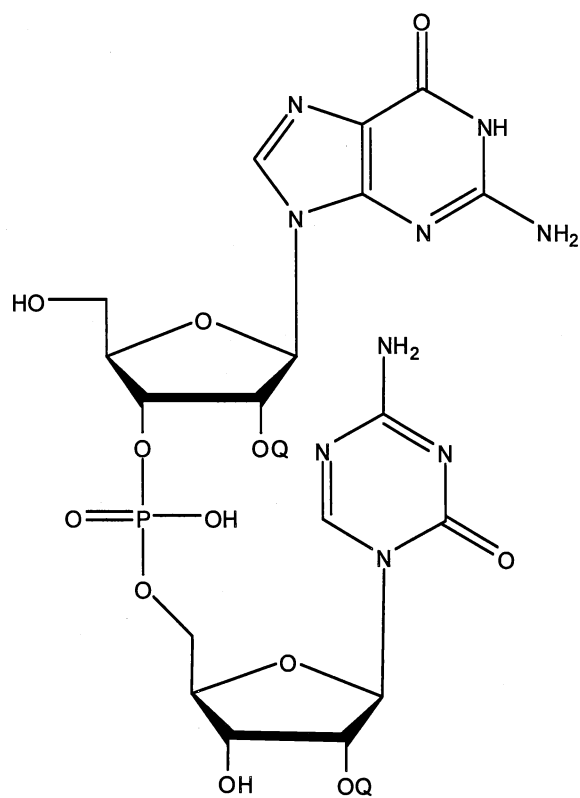
;



I-39:

OQ = OCON(Me)₂

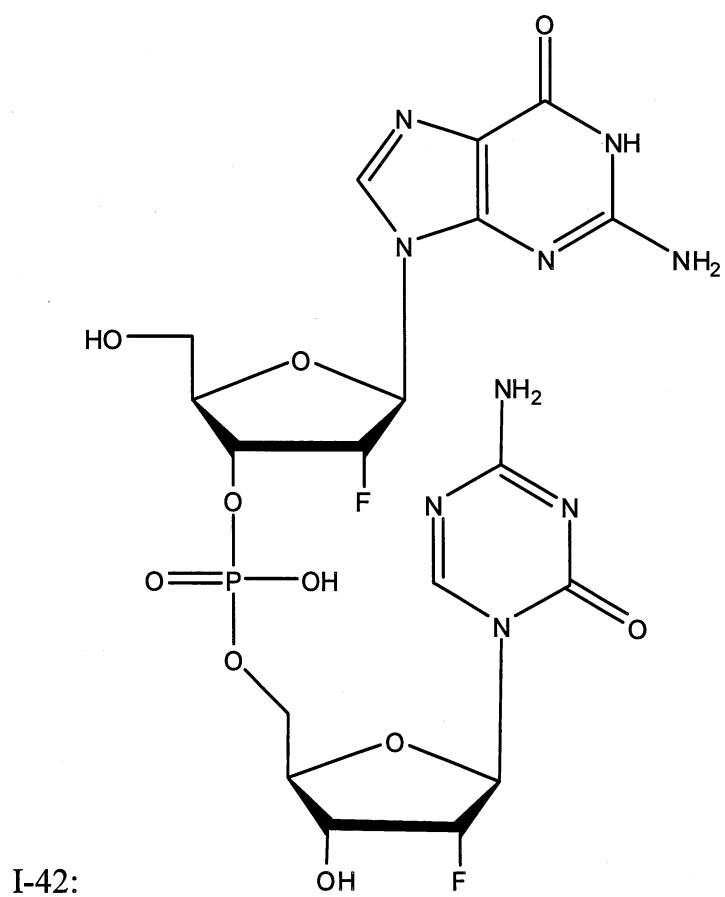
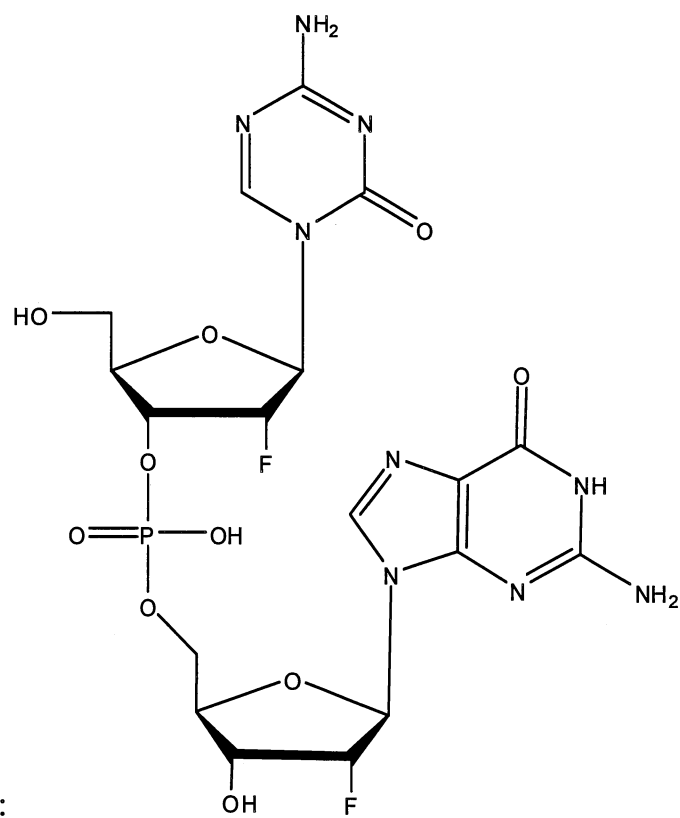
;

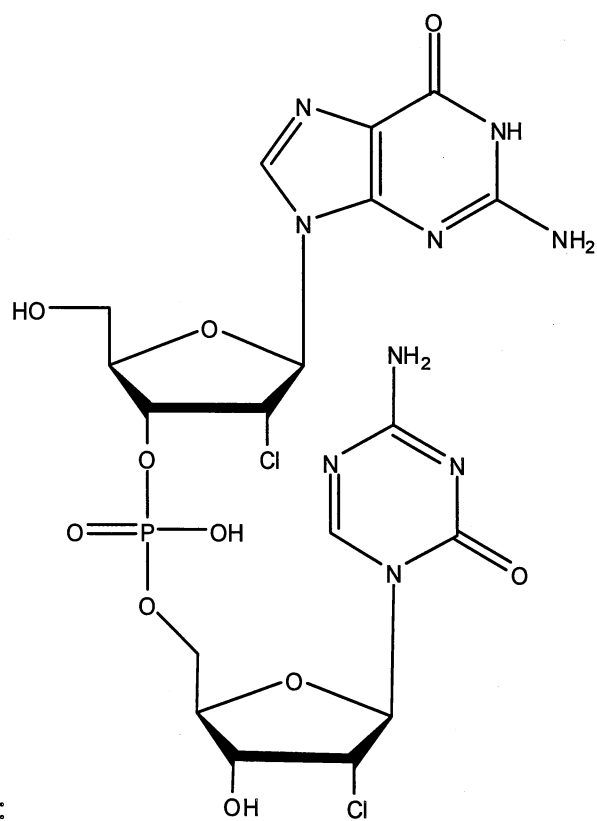
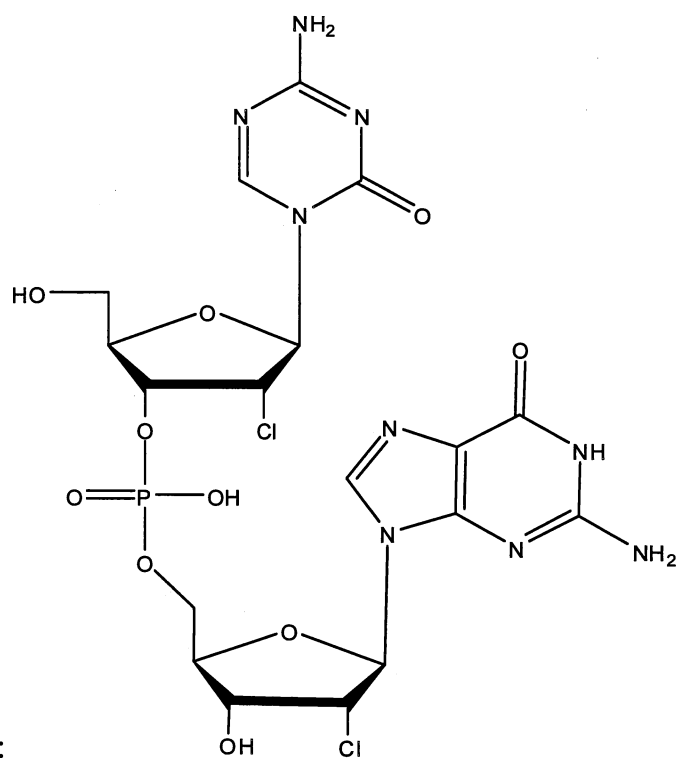


I-40:

OQ = OCON(Me)₂

;





và các muối được dựng của hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất trên. Theo một số phương án, muối là muối natri của hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất trên.

Các hợp chất nêu trên có thể được tổng hợp bằng các phương pháp đã biết trong

lĩnh vực này, ví dụ, tổng hợp pha rắn hoặc pha dung dịch. Để mô tả phương pháp tổng hợp các hợp chất theo sáng chế, và để mô tả cơ chế hoạt động của các hợp chất theo sáng chế, xem WO2007/041071, công bố đơn quốc tế này được đưa vào đây hoàn toàn bằng cách viện dẫn.

Các chế phẩm để sử dụng trong các chế phẩm kết hợp theo sáng chế.

Các hợp chất để sử dụng trong các chế phẩm kết hợp theo sáng chế có thể được tạo ra dưới dạng thích hợp bất kỳ và có thể được điều chế theo các kỹ thuật đã biết (xem, ví dụ, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA, USA). Ví dụ về các chế phẩm thích hợp được mô tả trong WO2007/041071 ở các trang 13-23, công bố đơn quốc tế này được đưa vào đây hoàn toàn bằng cách viện dẫn.

Một liệu pháp điều trị hiệu quả có thể cung cấp các tác dụng có lợi như hoạt tính, tính đồng vận, giảm tác dụng phụ, giảm độc tính, tăng thời gian tiến triển bệnh, tăng thời gian sống, nhạy hóa hoặc khử nhạy tác nhân này đối với tác nhân khác, hoặc cải thiện tỷ lệ đáp ứng. Có lợi nếu tác dụng hiệu quả có thể cho phép dùng liều thấp hơn đối với mỗi thành phần hoặc các thành phần cho bệnh nhân, nhờ đó giảm độc tính của liệu pháp hóa học trong khi vẫn tạo ra và/hoặc duy trì tác dụng điều trị như cũ.

Tỷ lệ đáp ứng có thể mô tả phần trăm số bệnh nhân đạt được trạng thái đáp ứng. Do đó, ví dụ, tỷ lệ đáp ứng 50% có nghĩa là một nửa số bệnh nhân được điều trị đạt được trạng thái đáp ứng. Trạng thái đáp ứng có thể liên quan đến loại bệnh lý ác tính, ví dụ, loại rắn hay loại huyết học. Trong trường hợp đầu, thường được xác định theo các tiêu chuẩn RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors: Tiêu chuẩn đánh giá đáp ứng đối với các khối u rắn), trong khi trong trường hợp sau, các tiêu chuẩn đáp ứng khác được sử dụng (chủ yếu là các tiêu chuẩn của IWG (International Working Group: Nhóm làm việc quốc tế)).

Tác dụng đồng vận có thể là tác dụng điều trị được tạo ra bởi chế phẩm kết hợp mà có mức độ lớn hơn tổng của các tác dụng điều trị của từng thành phần của chế phẩm kết hợp nếu để riêng rẽ.

Tác dụng bổ sung có thể là tác dụng điều trị được tạo ra bởi chế phẩm kết hợp mà có mức độ lớn hơn tác dụng điều trị của thành phần bất kỳ của chế phẩm kết hợp nếu để riêng rẽ.

Các ví dụ không giới hạn về dược phẩm bao gồm chế phẩm bất kỳ thích hợp để dùng cho bệnh nhân, ở, ví dụ, dưới dạng, nồng độ và/hoặc mức độ tinh khiết thích hợp để dùng cho người hoặc động vật. Theo một số phương án, dược phẩm là vô trùng và/hoặc không có tác nhân gây sốt. Dược phẩm không có tác nhân gây sốt không gây ra các đáp ứng viêm không mong muốn khi được dùng cho bệnh nhân.

Các ví dụ không giới hạn về kit dược phẩm bao gồm mảnh chứa một hoặc nhiều liều đơn vị chứa dược phẩm cùng với dụng cụ phân liều (ví dụ, dụng cụ đo) và/hoặc dụng cụ phân phát (ví dụ, ống hít hoặc ống tiêm), tùy ý tất cả được chứa trong bao gói thông thường. Trong kit dược phẩm chứa kết hợp của hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân, các hợp chất/tác nhân riêng rẽ có thể là các chế phẩm đơn nhất hoặc không đơn nhất. Theo một số phương án, liều đơn vị có thể được chứa trong vỉ phòng. Theo một số phương án, kit dược phẩm còn chứa hướng dẫn sử dụng.

Gói dược phẩm có thể là mảnh chứa một hoặc nhiều liều đơn vị dược phẩm, tùy ý chứa trong bao gói thông thường. Trong các gói dược phẩm chứa kết hợp của hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân, các hợp chất/tác nhân riêng rẽ có thể là các chế phẩm đơn nhất hoặc không đơn nhất. (Các) liều đơn vị có thể được chứa trong vỉ phòng. Theo một số phương án, gói dược phẩm còn chứa hướng dẫn sử dụng.

Hộp thuốc dùng cho bệnh nhân có thể là gói, được kê cho bệnh nhân chứa dược phẩm dùng cho toàn bộ khóa điều trị. Hộp thuốc dùng cho bệnh nhân có thể chứa một hoặc nhiều vỉ phòng. Hộp thuốc dùng cho bệnh nhân có ưu điểm so với các toa thuốc truyền thống, trong đó dược sỹ phân chia nguồn dược phẩm của bệnh nhân từ nguồn dược phẩm khối lượng lớn, theo cách này bệnh nhân luôn phải tiếp cận với vật chèn vào gói dược chứa trong hộp thuốc dùng cho bệnh nhân, thường thiếu quy định dùng thuốc cho bệnh nhân. Việc đưa vào vật chèn vào gói thuốc này đã cho thấy là cải thiện mức độ tuân thủ của bệnh nhân đối với các hướng dẫn của bác sỹ.

Các ví dụ không giới hạn về các hợp chất/tác nhân kết hợp đi kèm không phải về mặt vật lý bao gồm:

nguyên liệu (ví dụ, chế phẩm không đơn nhất) chứa ít nhất một trong số hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân cùng với hướng dẫn cho việc ngay tức thì tạo ra kết hợp của ít nhất một hợp chất/tác nhân để tạo ra kết hợp vật lý của hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân;

nguyên liệu (ví dụ, chế phẩm không đơn nhất) chứa ít nhất một trong số hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân cùng với hướng dẫn cho liệu pháp kết hợp với hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân này;

nguyên liệu chứa ít nhất một trong số hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân cùng với hướng dẫn để dùng cho bệnh nhân trong đó hợp chất/tác nhân còn lại trong số hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân này đã được (hoặc đang được) dùng;

nguyên liệu bao gồm ít nhất một trong số hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân với lượng hoặc dưới dạng mà đặc biệt thích hợp để dùng kết hợp với hợp chất/tác nhân còn lại trong số hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân này.

Các ví dụ không giới hạn về liệu pháp kết hợp bao gồm các liệu pháp mà bao gồm việc sử dụng kết hợp của hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân (như nêu trên). Các hợp chất này có thể được dùng dưới dạng một phần của chế độ điều trị chung như nhau. Do vậy, liều lượng của mỗi trong số hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân có thể khác nhau: mỗi hợp chất/tác nhân có thể được dùng ở cùng một thời điểm hoặc ở các thời điểm khác nhau. Theo một số phương án, các hợp chất/tác nhân của kết hợp này có thể được dùng lần lượt (ví dụ, trước hoặc sau) hoặc đồng thời, hoặc trong cùng một dược phẩm (tức là cùng nhau), hoặc trong các dược phẩm khác nhau (tức là riêng rẽ). Đồng thời trong cùng một chế phẩm là giống như chế phẩm đơn nhất trong khi đó đồng thời trong các dược phẩm khác nhau là giống như chế phẩm không đơn nhất. Theo một số phương án, hợp chất có công thức I hoặc muối của nó được dùng đầu tiên (như là liệu pháp mồi), sau đó dùng thành phần điều trị phụ trợ. Liều lượng của mỗi trong số hai hoặc nhiều hợp chất/tác nhân trong liệu pháp kết hợp cũng có thể khác nhau về đường dùng.

Theo một số phương án, các chế phẩm kết hợp theo sáng chế tạo ra tác dụng hiệu quả về mặt điều trị so với tác dụng điều trị của từng hợp chất/tác nhân khi được dùng riêng rẽ.

Thành phần điều trị phụ trợ có thể là hợp chất/tác nhân mà tạo ra kết hợp hiệu quả khi được kết hợp với hợp chất có công thức (I). Thành phần phụ trợ có thể góp phần tăng hiệu quả của chế phẩm kết hợp (ví dụ, bằng cách tạo ra tác dụng đồng vận hoặc tác dụng bổ sung hoặc cải thiện tỷ lệ đáp ứng).

Hiệu quả chống khối u của các chế phẩm kết hợp có thể được đánh giá bằng cách

tham khảo các tác động đối với sự methyl hóa ADN và/hoặc sự điều biến biên dạng miễn dịch khối u. Sự methyl hóa ADN đặc hiệu gen hoặc toàn bộ có thể được giám sát bằng cách phân tích ADN được xử lý bằng natri bisulfit sử dụng phương pháp giải trình tự dựa trên pyrophosphat (pyrosequencing), phân tích RT-PCR định lượng thời gian thực và RT-PCR hoặc PCR đặc hiệu methyl hóa định lượng. Biên dạng miễn dịch khối u có thể được mô tả bằng kỹ thuật hóa mô miễn dịch (immunohistochemistry: IHC) về sự có mặt và tần suất tương đối của các tế bào T được hoạt hóa. Hoạt tính điều biến miễn dịch của các chế phẩm kết hợp này cũng có thể được đánh giá bằng phương pháp phân tích RT-PCR và RT-PCR định lượng thời gian thực đối với sự cảm ứng hoặc sự điều biến của các kháng nguyên tinh hoàn ung thư (Cancer Testis Antigen: CTA) như NY-ESO-1 hoặc họ MAGE của các kháng nguyên. Hiệu quả của việc điều trị bằng chế phẩm kết hợp này cũng có thể được xác định bằng sự đáp ứng miễn dịch đối với hoạt tính chống khối u của các chế phẩm kết hợp này. Ví dụ, sự điều biến của đáp ứng tế bào T chống khối u có thể được đánh giá bằng các thử nghiệm Tế bào khối u bạch huyết hỗn hợp (Mixed Lymphocyte Tumour Cell -MLTC). Chi tiết thêm về các kỹ thuật phân tích này được cung cấp trong, ví dụ như, *Coral et al. (2012) Immunomodulatory activity of SGI-110, a 5-aza-2'-deoxycytidine-containing demethylating dinucleotide* Cancer Immunol. Immunother. DOI 10.1007/s00262-012-1365-7.

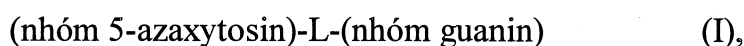
Các ví dụ không giới hạn về các kháng thể bao gồm: i) toàn bộ kháng thể (bao gồm các kháng thể đa dòng và các kháng thể đơn dòng (mAb)); ii) các mảnh kháng thể, bao gồm F(ab), F(ab'), F(ab')₂, Fv, Fc₃ và các kháng thể chuỗi đơn (và các tổ hợp của chúng), các mảnh này có thể được tạo ra bằng các kỹ thuật ADN tái tổ hợp hoặc bằng cách phân cắt bằng enzym hoặc hóa chất các kháng thể nguyên vẹn; iii) các kháng thể hai chức năng hoặc đặc hiệu kép, các kháng thể này là các kháng thể lai tổng hợp có hai cặp chuỗi nặng/nhẹ khác nhau và hai vị trí liên kết khác nhau; iv) các kháng thể khảm (chimaeric antibodies, các kháng thể có miền globulin miễn dịch kháng thể không đổi của người kết hợp với một hoặc nhiều miền globulin miễn dịch kháng thể thay đổi không phải của người, hoặc các mảnh của nó); v) các tiểu kháng thể (minibodies) (xem WO 94/09817), các dung hợp Fv-Fc chuỗi đơn và các kháng thể của người được tạo ra bởi động vật chuyển gen; và vi) các kháng thể multimer xxx và các phức chất bậc cao của các protein (ví dụ, các kháng thể heterodimer xxx). Các

kháng thể đặc hiệu kép có thể được tạo ra bằng rất nhiều phương pháp bao gồm phương pháp dung hợp các tế bào lai hoặc liên kết các mảnh Fab'. Theo một số phương án, các kháng thể khảm là các kháng thể được làm tương thích với người.

Các ví dụ không giới hạn về miễn dịch trị liệu bao gồm sự can thiệp (ví dụ, dùng chế phẩm kết hợp theo sáng chế cho đối tượng) mà chữa, làm thuyên giảm hoặc làm giảm nhẹ các triệu chứng của bệnh hoặc loại bỏ (hoặc làm giảm tác động của) (các) nguyên nhân gây bệnh, và sự can thiệp này được qua trung gian, ít nhất một phần, bởi các thành phần của hệ miễn dịch chủ. Miễn dịch trị liệu mà có thể đạt được bằng sự điều biến miễn dịch, có thể là sự kích thích và/hoặc ngăn chặn một hoặc nhiều thành phần hoặc hoạt tính của hệ thống miễn dịch.

Các chế phẩm nêu trên cung cấp các hợp chất dưới dạng độ hòa tan cao, thể tích tiêm thấp, và độ ổn định hóa học tốt và hạn sử dụng dài. Các tính chất này giúp chế phẩm vẫn giữ mức phần trăm hiệu quả ban đầu cao và phân phát lượng hữu hiệu trong điều trị của hợp chất thậm chí sau khi bảo quản ở nhiệt độ bằng hoặc thấp hơn nhiệt độ trong phòng trong thời gian dài.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất các chế phẩm kết hợp chứa chế phẩm bao gồm: a) hợp chất có công thức I hoặc muối được dụng của nó:



trong đó L là nhóm liên kết chứa phospho trong đó số nguyên tử phospho trong L là 1; và b) dung môi bao gồm: propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 45% đến 85%; glyxerin với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 45%; và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 30%; và c) tùy ý, tá dược được dụng.

Các chế phẩm thích hợp có thể là dung dịch hoặc hỗn dịch chứa hợp chất trong dung môi hoặc hỗn hợp các dung môi. Các ví dụ không giới hạn về các dung môi thích hợp bao gồm propylen glycol, glyxerin, etanol, và kết hợp bất kỳ của các dung môi trên. Các chế phẩm này có thể được bào chế dưới dạng các chế phẩm không chứa nước. Các chế phẩm này có thể là khan hoặc khan.

Hỗn hợp các dung môi có thể chứa phần trăm propylen glycol trên cơ sở khối lượng hoặc thể tích. Theo một số phương án, phần trăm propylen glycol có thể ít nhất là 10%, ít nhất là 20%, ít nhất là 30%, ít nhất là 40%, ít nhất là 50%, ít nhất là khoảng

10%, ít nhất là khoảng 20%, ít nhất là khoảng 30%, ít nhất là khoảng 40%, hoặc ít nhất là khoảng 50%. Theo một số phương án, phần trăm propylen glycol có thể nhiều nhất là 90%, nhiều nhất là 80%, nhiều nhất là 70%, nhiều nhất là 60%, nhiều nhất là khoảng 90%, nhiều nhất là khoảng 80%, nhiều nhất là khoảng 70%, hoặc nhiều nhất là khoảng 60%. Theo một số phương án, phần trăm propylen glycol có thể là nằm trong khoảng từ 30% đến 90%, nằm trong khoảng từ 45% đến 85%, nằm trong khoảng từ 55% đến 75%, nằm trong khoảng từ 60% đến 70%, nằm trong khoảng từ 30% đến 90%, nằm trong khoảng từ 45% đến 85%, nằm trong khoảng từ 55% đến 75%, hoặc nằm trong khoảng từ 60% đến 70%. Theo một số phương án, phần trăm propylen glycol có thể là 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, khoảng 30%, khoảng 35%, khoảng 40%, khoảng 45%, khoảng 50%, khoảng 55%, khoảng 60%, khoảng 65%, khoảng 70%, khoảng 75%, khoảng 80%, khoảng 85%, hoặc khoảng 90%.

Hỗn hợp của các dung môi có thể chứa phần trăm glyxerin trên cơ sở khối lượng hoặc thể tích. Theo một số phương án, phần trăm glyxerin có thể ít nhất là 5%, ít nhất là 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là khoảng 5%, ít nhất là khoảng 10%, ít nhất là khoảng 15%, ít nhất là khoảng 25%, hoặc ít nhất là khoảng 30%. Theo một số phương án, phần trăm glyxerin có thể nhiều nhất là 70%, nhiều nhất là 60%, nhiều nhất là 50%, nhiều nhất là 40%, nhiều nhất là 30%, nhiều nhất là khoảng 70%, nhiều nhất là khoảng 60%, nhiều nhất là khoảng 50%, nhiều nhất là khoảng 40%, hoặc nhiều nhất là khoảng 30%. Theo một số phương án, phần trăm glyxerin có thể nằm trong khoảng từ 0% đến 50%, nằm trong khoảng từ 5% đến 45%, nằm trong khoảng từ 15% đến 35%, nằm trong khoảng từ 20% đến 30%, nằm trong khoảng từ 0% đến 50%, nằm trong khoảng từ 5% đến 45%, nằm trong khoảng từ 15% đến 35%, hoặc nằm trong khoảng từ 20% đến 30%. Theo một số phương án, phần trăm glyxerin có thể là 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, khoảng 5%, khoảng 10%, khoảng 15%, khoảng 20%, khoảng 25%, khoảng 30%, khoảng 35%, khoảng 40%, khoảng 45%, hoặc khoảng 50%.

Hỗn hợp của các dung môi có thể chứa phần trăm etanol trên cơ sở trọng lượng hoặc thể tích. Theo một số phương án, phần trăm etanol có thể ít nhất là 1%, ít nhất là 3%, ít nhất là 5%, ít nhất là 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là khoảng 1%, ít nhất là khoảng 3%, ít nhất là khoảng 5%, ít nhất là khoảng 10%, hoặc ít nhất là khoảng 15%.

Theo một số phương án, phần trăm etanol có thể nhiều nhất là 30%, nhiều nhất là 25%, nhiều nhất là 20%, nhiều nhất là 15%, nhiều nhất là 10%, nhiều nhất là khoảng 30%, nhiều nhất là khoảng 25%, nhiều nhất là khoảng 20%, nhiều nhất là khoảng 15%, hoặc nhiều nhất là khoảng 10%. Theo một số phương án, phần trăm etanol có thể là nằm trong khoảng từ 0% đến 30%, nằm trong khoảng từ 0% đến 25%, nằm trong khoảng từ 0% đến 20%, nằm trong khoảng từ 5% đến 15%, nằm trong khoảng từ 0% đến 30%, nằm trong khoảng từ 0% đến 25%, nằm trong khoảng từ 0% đến 20%, hoặc nằm trong khoảng từ 5% đến 15%. Theo một số phương án, phần trăm etanol có thể là 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, khoảng 1%, khoảng 2%, khoảng 3%, khoảng 4%, khoảng 5%, khoảng 6%, khoảng 7%, khoảng 8%, khoảng 9%, khoảng 10%, khoảng 11%, khoảng 12%, khoảng 13%, khoảng 14%, hoặc khoảng 15%.

Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi bao gồm propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 45% đến 85%, glycerin với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 45%, và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 30%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi chứa propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 45% đến 85%, glycerin với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 45%, và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 30%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi bao gồm về cơ bản là propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 45% đến 85%, glycerin với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 45%, và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 30%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi bao gồm về cơ bản là propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 45% đến 85%, glycerin với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 45%, và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 30%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi là propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 45% đến 85%, glycerin với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 45%, và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 30%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi là propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 45% đến 85%, glycerin với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 45%, và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 30%.

Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi bao gồm propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 55% đến 75%, glycerin với lượng nằm

trong khoảng từ 15% đến 35%, và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 20%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi bao gồm propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 55% đến 75%, glyxerin với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 15% đến 35%, và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 20%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi bao gồm về cơ bản là propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 55% đến 75%, glyxerin với lượng nằm trong khoảng từ 15% đến 35%, và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 20%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi bao gồm về cơ bản là propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 55% đến 75%, glyxerin với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 15% đến 35%, và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 20%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi là propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 55% đến 75%, glyxerin với lượng nằm trong khoảng từ 15% đến 35%, và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 20%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi là propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 55% đến 75%, glyxerin với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 15% đến 35%, và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 20%.

Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi bao gồm propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 60% đến 70%; glycerin với lượng nằm trong khoảng từ 20% đến 30%; và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 15%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi bao gồm propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 60% đến 70%; glycerin với lượng nằm trong khoảng từ 20% đến 30%; và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 15%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi bao gồm về cơ bản là propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 60% đến 70%; glycerin với lượng nằm trong khoảng từ 20% đến 30%; và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 15%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi bao gồm về cơ bản là propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 60% đến 70%; glycerin với lượng nằm trong khoảng từ 20% đến 30%; và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 15%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi là propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 60% đến 70%; glycerin với lượng nằm trong khoảng từ 20% đến 30%; và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 15%.

5% đến 15%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi là propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 60% đến 70%; glyxerin với lượng nằm trong khoảng từ 20% đến 30%; và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 15%.

Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi bao gồm propylen glycol với lượng 65%; glyxerin với lượng 25%; và etanol với lượng 10%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi bao gồm propylen glycol với lượng khoảng 65%; glyxerin với lượng khoảng 25%; và etanol với lượng khoảng 10%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi bao gồm về cơ bản là propylen glycol với lượng 65%; glyxerin với lượng 25%; và etanol với lượng 10%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi bao gồm về cơ bản là propylen glycol với lượng khoảng 65%; glyxerin với lượng khoảng 25%; và etanol với lượng khoảng 10%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi là propylen glycol với lượng 65%; glyxerin với lượng 25%; và etanol với lượng 10%. Theo một số phương án, dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi là propylen glycol với lượng khoảng 65%; glyxerin với lượng khoảng 25%; và etanol với lượng khoảng 10%.

Các chế phẩm để sử dụng trong các chế phẩm kết hợp theo sáng chế có thể được bào chế, bảo quản, vận chuyển, và xử lý dưới dạng khan hoặc khan. Dung môi có thể được làm khô trước khi điều chế chế phẩm, và hợp chất có thể được làm khô, ví dụ, bằng cách làm đông khô. Tác nhân làm khô, hoặc chất hút nước, có thể được sử dụng trong quá trình điều chế, bảo quản, vận chuyển, hoặc xử lý để điều chỉnh hàm lượng nước. Các ví dụ không giới hạn về các tác nhân làm khô bao gồm silicagel, canxi sulfat, canxi clorua, canxi phosphat, natri clorua, natri bicacbonat, natri sulfat, natri phosphat, monmorilonit, rây phân tử (dạng hạt hoặc bột), nhôm oxit, titan oxit, ziricon oxit, và natri pyrophosphat. Tác nhân làm khô có thể tiếp xúc trực tiếp với chế phẩm, chèn vào trong chế phẩm dưới dạng túi với màng xuyên thấm, hoặc được bảo quản với chế phẩm trong môi trường kín, như máy sấy, sao cho tác nhân làm khô và chế phẩm đồng thời tiếp xúc với cùng một môi trường được điều khiển. Tác nhân làm khô có thể được loại bỏ khỏi chế phẩm, ví dụ, bằng cách lọc hoặc đặt ống thông. Ngoài ra, chế phẩm có thể được bảo quản trong đồ chứa kín trong môi trường được điều chỉnh chứa về cơ bản là, hoặc được làm giàu, khí nitơ hoặc argon.

Các điều kiện khan hoặc khan là có ích đối với hạn sử dụng của chế phẩm theo sáng chế trong môi trường bình thường và cả trong môi trường nhiệt độ giảm. Lợi ích này làm giảm các chi phí đi kèm với việc bảo quản, vận chuyển, và sự hư hỏng chế phẩm, tăng sự thuận tiện trong việc bảo quản và xử lý, và tránh được yêu cầu phải sử dụng chế phẩm lạnh, nhờ đó cải thiện mức độ dung nạp và thích ứng của đối tượng đối với chế độ dùng chế phẩm theo sáng chế.

Các chế phẩm này còn có thể bao gồm tá dược dược dụng. Các ví dụ không giới hạn về các tá dược bao gồm manitol, sorbitol, lactoza, dextroza, và xyclodextrin. Các tá dược có thể được bổ sung để điều chỉnh tỷ trọng, độ lưu biến, mức độ đồng đều, và độ nhớt của chế phẩm.

Các chế phẩm còn có thể bao gồm các tá dược có tính axit hoặc bazơ để điều chỉnh độ axit hoặc độ kiềm của chế phẩm. Các ví dụ không giới hạn về các axit thích hợp để tăng độ axit của chế phẩm bao gồm axit clohydric, axit bromhydric, axit iodhydric, axit sulfuric, axit phosphoric, axit nitric, axit ascorbic, axit xitric, axit tartric, axit lactic, axit oxalic, axit formic, axit benzensulphonic, axit benzoic, axit maleic, axit glutamic, axit succinic, axit aspartic, axit diatrizoic, axit và axit axetic. Các ví dụ không giới hạn về các bazơ thích hợp để tăng độ kiềm của chế phẩm bao gồm liti hydroxit, natri hydroxit, kali hydroxit, natri cacbonat, natri bicarbonat, natri phosphat, kali phosphat, natri axetat, natri benzoat, tetrabutylamoni axetat, tetrabutylamoni benzoat, và trialkyl amin. Các tá dược đa chức, như etylen diamin tetraaxetic axit (EDTA), hoặc muối của nó, cũng có thể được sử dụng để điều chỉnh độ axit hoặc độ kiềm.

Hợp chất có công thức I nêu trên có thể có trong chế phẩm với lượng bất kỳ. Theo một số phương án, hợp chất này có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ 1mg/ml đến 130mg/ml, 10mg/ml đến 130mg/ml, 40mg/ml đến 120mg/ml, 80mg/ml đến 110mg/ml, khoảng 1mg/ml đến 130mg/ml, khoảng 10mg/ml đến 130mg/ml, khoảng 40mg/ml đến 120mg/ml, hoặc khoảng 80mg/ml đến 110mg/ml. Theo một số phương án, hợp chất này có mặt với nồng độ 10mg/ml, 20mg/ml, 30mg/ml, 40mg/ml, 50mg/ml, 60mg/ml, 70mg/ml, 80mg/ml, 90mg/ml, 100mg/ml, 110mg/ml, 120mg/ml, 130mg/ml, 140mg/ml, 150mg/ml, 160mg/ml, 170mg/ml, 180mg/ml, 190mg/ml, 200mg/ml, khoảng 10mg/ml, khoảng 20mg/ml, khoảng 30mg/ml, khoảng 40mg/ml, khoảng 50mg/ml, khoảng 60mg/ml, khoảng 70mg/ml, khoảng 80mg/ml, khoảng

90mg/ml, khoảng 100mg/ml, khoảng 110mg/ml, khoảng 120mg/ml, khoảng 130mg/ml, khoảng 140mg/ml, khoảng 150mg/ml, khoảng 160mg/ml, khoảng 170mg/ml, khoảng 180mg/ml, khoảng 190mg/ml, hoặc khoảng 200mg/ml. Theo một số phương án, hợp chất này có mặt với nồng độ 100mg/ml. Theo một số phương án, hợp chất này có mặt với nồng độ khoảng 100mg/ml.

Chế phẩm có thể được bào chế bằng cách cho hợp chất nêu trên tiếp xúc với dung môi hoặc hỗn hợp của các dung môi. Cách khác, hợp chất này có thể được tiếp xúc với một dung môi, và các dung môi còn lại có thể được bổ sung sau đó, dưới dạng hỗn hợp, hoặc được bổ sung lần lượt. Nếu chế phẩm cuối cùng là dung dịch thì sự solvat hóa hoàn toàn có thể đạt được ở bước bất kỳ của quy trình là thiết thực cho quá trình sản xuất. Các tá dược tùy ý có thể được bổ sung vào chế phẩm ở bước bất kỳ là thiết thực trong quá trình sản xuất.

Việc bào chế chế phẩm có thể tùy ý được thúc đẩy bằng việc khuấy, gia nhiệt, hoặc kéo dài thời gian hòa tan. Các ví dụ không giới hạn về việc khuấy bao gồm lắc, siêu âm, trộn, khuấy, xoáy mạnh, và kết hợp các cách này.

Theo một số phương án, chế phẩm tùy ý được tiệt trùng. Các ví dụ không giới hạn về các kỹ thuật tiệt trùng bao gồm lọc, tiệt trùng bằng hóa chất, chiếu xạ, và gia nhiệt.

Dimethyl sulfoxit (DMSO)

Việc sử dụng DMSO làm dung môi trong việc bào chế các chế phẩm để sử dụng trong các chế phẩm kết hợp theo sáng chế cho phép giảm thể tích nạp và thể tích khối dung dịch (thể tích nạp và thể tích khối dung dịch có thể được giảm xuống 1/5 lần thể tích được sử dụng với các hệ nước) và giảm hạn chế về thời gian và nhiệt độ khi sản xuất. Hơn nữa, việc sử dụng DMSO khan làm tăng đáng kể độ ổn định: việc tăng nồng độ nước sẽ tương ứng với việc giảm độ ổn định (như được thể hiện trên FIG.4, FIG này thể hiện % thay đổi ở tất cả các chất liên quan của muối natri của hợp chất có công thức I-1 khi được bảo quản trong DMSO hoặc DMSO/nước (nước để tiêm (water for injection: "WFI")) ở nhiệt độ 25°C/độ ẩm tương đối 60% trong 24 giờ).

Nguồn DMSO bất kỳ có thể được sử dụng theo sáng chế. Theo một số phương án, nguồn DMSO là thích hợp cho các ứng dụng chăm sóc sức khỏe và phân phát thuốc, ví dụ theo chuyên đề trong dược điển của châu Âu hoặc của Mỹ, và được sản

xuất theo hướng dẫn cGMP và API. Các hạng mức như khan hoặc dung môi được dùng có thể được sử dụng theo sáng chế.

DMSO để sử dụng theo sáng chế có thể có các tạp chất với lượng rất thấp, ví dụ <0,2% nước theo phương pháp xác định hàm lượng nước Karl Fischer, <0,01% cặn không bay hơi và <0,1% các hợp chất có liên quan.

Theo một số phương án, DMSO có thể chứa các chất đẳng vị của nó, bao gồm các chất đẳng vị DMSO cụ thể trong đó một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bằng chất đồng vị cùng nguồn, ví dụ hydro được thay thế bằng đơteri.

Liều và cách dùng

Các liều thích hợp của các chế phẩm theo sáng chế có thể được dùng cho đối tượng bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này, và các thông số về liều và cách dùng mẫu được mô tả trong WO2007/041071, công bố đơn quốc tế này được đưa vào đây hoàn toàn bằng cách viện dẫn.

Do đó, các ví dụ không giới hạn về phương pháp dùng bao gồm tiêm dưới da, tiêm tĩnh mạch, và truyền. Theo một số phương án, đối tượng cần thiết hoặc mong muốn sử dụng chế phẩm. Theo một số phương án, việc dùng là dùng dưới da.

Lượng hữu hiệu trong điều trị của hợp chất theo sáng chế có thể được biểu thị dưới dạng mg hợp chất này trên kg thể trọng đối tượng. Theo một số phương án, lượng hữu hiệu trong điều trị là nằm trong khoảng từ 1 đến 1000mg/kg, 1 đến 500mg/kg, 1 đến 250mg/kg, 1 đến 100mg/kg, 1 đến 50mg/kg, 1 đến 25mg/kg, hoặc 1 đến 10mg/kg. Theo một số phương án, lượng hữu hiệu trong điều trị là 5mg/kg, 10mg/kg, 25mg/kg, 50mg/kg, 75mg/kg, 100mg/kg, 150mg/kg, 200mg/kg, 250mg/kg, 300mg/kg, 400mg/kg, 500mg/kg, 600mg/kg, 700mg/kg, 800mg/kg, 900mg/kg, 1,000mg/kg, khoảng 5mg/kg, khoảng 10mg/kg, khoảng 25mg/kg, khoảng 50mg/kg, khoảng 75mg/kg, khoảng 100mg/kg, khoảng 150mg/kg, khoảng 200mg/kg, khoảng 250mg/kg, khoảng 300mg/kg, khoảng 400mg/kg, khoảng 500mg/kg, khoảng 600mg/kg, khoảng 700mg/kg, khoảng 800mg/kg, khoảng 900mg/kg, hoặc khoảng 1000mg/kg.

Lượng hữu hiệu trong điều trị của hợp chất theo sáng chế cũng có thể được biểu thị dưới dạng mg hợp chất trên mét vuông diện tích cơ thể đối tượng. Theo một số phương án, các chế phẩm kết hợp theo sáng chế có thể được dùng dưới da trong

khoảng liều, ví dụ nằm trong khoảng từ 1 đến 1500mg (0,6 đến 938mg/m²), hoặc 2 đến 800mg (1,25 đến 500mg/m²), hoặc 5 đến 500mg (3,1 đến 312mg/m²), hoặc 2 đến 200mg (1,25 đến 125mg/m²) hoặc 10 đến 1000mg (6,25 đến 625mg/m²), các ví dụ cụ thể về các liều bao gồm 10mg (6,25mg/m²), 20mg (12,5mg/m²), 50mg (31,3mg/m²), 80mg (50mg/m²), 100mg (62,5mg/m²), 200mg (125mg/m²), 300mg (187,5mg/m²), 400mg (250mg/m²), 500mg (312,5mg/m²), 600mg (375mg/m²), 700mg (437,5mg/m²), 800mg (500mg/m²), 900mg (562,5mg/m²) và 1000mg (625mg/m²).

Chế phẩm kết hợp có thể được dùng một hoặc nhiều hơn một lần mỗi ngày. chế phẩm kết hợp thường được dùng liên tục (tức là dùng hàng ngày mà không có khoảng thời gian nghỉ trong khóa điều trị).

Theo một số phương án, lượng hữu hiệu trong điều trị có thể được dùng 1 đến 35 lần/tuần, 1 đến 14 lần/tuần, hoặc 1 đến 7 lần/tuần. Theo một số phương án, lượng hữu hiệu trong điều trị có thể được dùng 1 đến 10 lần/ngày, 1 đến 5 lần/ngày, 1, 2, hoặc 3 lần/ngày.

Theo một số phương án, các nguyên liệu theo sáng chế có thể được dùng theo chế độ liều dùng là: (a) một, hai, ba lần, bốn lần, năm lần, sáu lần hoặc bảy lần một tuần; hoặc (b) mỗi ngày trong 5, 6, 7, 8, 9 hoặc 10 ngày; hoặc (c) mỗi ngày trong tối đa 10 ngày; hoặc (d) mỗi ngày trong thời gian từ 5 đến 10 ngày; hoặc (e) mỗi ngày trong 5 ngày, lập tức sau đó là hai ngày không dùng liều và sau đó dùng hàng ngày trong 5 ngày tiếp theo. Theo một số phương án, việc dùng là dùng dưới da.

Các ứng dụng điều trị

Các chế phẩm kết hợp theo sáng chế có thể được dùng để điều trị rất nhiều bệnh.

Các chỉ định mà có thể được điều trị bao gồm các chỉ định liên quan đến sự tăng sinh tế bào không được kiểm soát hoặc không mong muốn. Các chỉ định này bao gồm các khối u lành tính, các loại bệnh ung thư khác nhau như các khối u nguyên phát và các khối u di căn, sự tái phát hẹp (ví dụ, các tổn thương mạch vành, động mạch cảnh, và não), các rối loạn huyết học, các kích thích bất thường của các tế bào nội mô (xơ vữa động mạch), các chấn thương đối với mô cơ thể do phẫu thuật, sự lành vết thương bất thường, sự tạo mạch bất thường, các bệnh mà gây ra sự xơ hóa mô, các rối loạn vận động lặp lại, các rối loạn của các mô mà không được tạo mạch ở mức cao, và các đáp ứng tăng sinh đi kèm với sự ghép cơ quan.

Nói chung, các tế bào ở các khối u lành tính vẫn giữ được các đặc tính biệt hóa của chúng và không phân chia theo cách thức không được kiểm soát hoàn toàn. Khối u lành tính thường được khoanh vùng và không di căn. Các loại cụ thể về các khối u lành tính mà có thể được điều trị bằng cách sử dụng sáng chế bao gồm u mạch, u tuyến tế bào gan, u máu thể hang, chứng tăng sản thể nốt khu trú, u dây thần kinh thính giác, u xơ thần kinh, u tuyến ống mật, u tuyến nang ống mật, u xơ, u mỡ, u cơ trơn, u trung biểu mô, u quái, u niêm, chứng tăng sản tái tạo dạng nốt, bệnh mắt hột và u hạt sinh mủ.

Trong khối u ác tính, các tế bào trở nên không biệt hóa, không đáp ứng với các tín hiệu kiểm soát sự phát triển của cơ thể, và nhân lên theo cách thức không được kiểm soát. Khối u ác tính có tính xâm lấn và có thể lan rộng đến các vị trí xa (di căn). Các khối u ác tính thường được phân chia thành hai loại: nguyên phát và thứ phát. Các khối u nguyên phát phát sinh trực tiếp từ mô mà trong đó nó được phát hiện. Khối u thứ phát, hoặc di căn, là khối u mà có nguồn gốc từ đâu đó trong cơ thể nhưng hiện đã lan đến cơ quan ở xa. Con đường di căn thông thường là sự phát triển trực tiếp vào các cấu trúc liền kề, lan qua hệ mạch hoặc hệ bạch huyết, và đi dọc theo mặt phẳng mô và các không gian trong cơ thể (dịch phúc mạc, dịch não tủy, v.v.).

Các loại bệnh ung thư cụ thể hoặc các khối u ác tính, nguyên phát hoặc thứ phát, mà có thể được điều trị bằng cách sử dụng sáng chế bao gồm bệnh ung thư vú, bệnh ung thư da, bệnh ung thư xương, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư não, bệnh ung thư các cơ quan bao gồm thanh quản, túi mật, tuyến tụy, trực tràng, tuyến cận giáp, tuyến giáp, tuyến thượng thận, mô thần kinh, đầu và cổ, kết tràng, dạ dày, phế quản, thận, caxinom tế bào đáy, caxinom tế bào vảy thuộc cả loại nhú và loét, caxinom da di căn, sacom xương, sacom Ewing, sacom tế bào lưới, u tủy, khối u tế bào khổng lồ, khối u phổi tế bào nhỏ, sỏi mật, khối u tế bào đảo, khối u não nguyên phát, các khối u bạch cầu hạt và bạch huyết bào cấp và mạn tính, khối u tế bào lông, u tuyến, chứng tăng sản, caxinom tủy, u tế bào ưa crôm, u thần kinh niêm mạc, u hạch thần kinh ruột, khối u dây thần kinh giác mạc tăng sản, khối u thể trạng cao và gầy (marfanoid habitus tumour), khối u Wilm, u tinh, khối u buồng trứng, u cơ trơn, loạn sản cổ tử cung và caxinom tại chỗ, u nguyên bào thần kinh, u nguyên bào võng mạc, sacom mô mềm, caxinoit ác tính, tổn thương da khu trú, bệnh sùi dạng nấm, sacom cơ vân, sacom Kaposi, sacom sinh xương và sacom khác,

tăng canxi huyết ác tính, khối u tế bào thận, bệnh tăng hồng cầu vô căn, ung thư tuyến, u nguyên bào đệm đa dạng (glioblastoma multiforma), bệnh bạch cầu, u lymphô, u hắc sắc tố ác tính, caxinom dạng biểu bì, và các bệnh caxinom và sacom khác.

Các rối loạn huyết học bao gồm sự phát triển bất thường của các tế bào máu mà có thể dẫn tới sự thay đổi loạn sản ở các tế bào máu và các bệnh lý ác tính về huyết học như các loại bệnh bạch cầu khác nhau. Ví dụ về các rối loạn huyết học bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh bạch cầu tủy bào cấp, bệnh bạch cầu tiền tủy bào cấp, bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô cấp, bệnh bạch cầu tủy bào mạn tính, hội chứng loạn sản tủy, và bệnh thiếu máu tế bào hình lưỡi liềm.

Việc điều trị chứng tăng sinh tế bào bất thường do thương tổn đối với mô cơ thể trong quá trình phẫu thuật có thể khá dĩ đối với nhiều thủ tục phẫu thuật, bao gồm phẫu thuật khớp, phẫu thuật ruột, và sẹo lồi. Các bệnh mà tạo ra mô xơ hóa bao gồm khí thủng. Các rối loạn vận động lặp lại mà có thể được điều trị bằng cách sử dụng sáng chế bao gồm hội chứng ống cổ tay. Ví dụ về các rối loạn tăng sinh tế bào mà có thể được điều trị bằng cách sử dụng sáng chế là khối u xương.

Các đáp ứng tăng sinh đi kèm với sự ghép cơ quan mà có thể được điều trị bằng cách sử dụng sáng chế bao gồm các đáp ứng tăng sinh góp phần vào sự thải ghép cơ quan tiềm năng hoặc các biến chứng đi kèm. Cụ thể là, các đáp ứng tăng sinh này có thể diễn ra trong quá trình ghép tim, phổi, gan, thận, và các cơ quan khác hoặc các hệ cơ quan khác trong cơ thể.

Sự tạo mạch bất thường mà có thể được điều trị bằng cách sử dụng sáng chế bao gồm, ví dụ, sự tạo mạch bất thường đi kèm với bệnh viêm khớp dạng thấp, tổn thương và phù não thiếu máu cục bộ-tái tưới máu, thiếu máu cục bộ vỏ não, chứng tăng sản buồng trứng và chứng tăng mạch máu, (hội chứng buồng trứng đa nang), bệnh lạc nội mạc tử cung, bệnh vảy nến, bệnh vồng mạc tiêu đường, và các bệnh tạo mạch ở mắt khác như bệnh vồng mạc ở trẻ sinh non (chứng tạo mô xơ sau thủy tinh), bệnh thoái hóa cơ, chứng thải mảnh ghép giác mạc, bệnh tăng nhãn áp tạo mạch mới và hội chứng Oster Webber.

Các bệnh đi kèm với sự tạo mạch bất thường cần hoặc gây ra sự phát triển mạch. Ví dụ, sự tạo mạch giác mạc gồm ba pha: giai đoạn tiềm ẩn tiền mạch, giai đoạn tạo mạch mới hoạt động, và giai đoạn trưởng thành và thoái triển mạch.

Theo một số phương án, các chế phẩm và dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị các bệnh đi kèm với sự tạo mạch bất thường hoặc không mong muốn. Phương pháp bao gồm cho bệnh nhân bị sự tạo mạch bất thường hoặc không mong muốn sử dụng các dược phẩm theo sáng chế một mình, hoặc kết hợp với tác nhân chống khối u mà hoạt tính của nó khi làm tác nhân chống khối u *in vivo* bị tác động bất lợi bởi mức metyl hóa ADN cao. Liều cụ thể của các tác nhân này cần để ức chế sự tạo mạch và/hoặc các bệnh tạo mạch có thể tùy thuộc vào độ nặng của tình trạng bệnh, cách dùng, và các nhân tố liên quan mà có thể được quyết định bởi bác sỹ điều trị. Nói chung, liều hàng ngày hữu hiệu và được chấp nhận là lượng đủ để ức chế một cách hữu hiệu sự tạo mạch và/hoặc các bệnh tạo mạch.

Theo một số phương án, các dược phẩm theo sáng chế có thể được dùng để điều trị nhiều bệnh đi kèm với sự tạo mạch không mong muốn như sự tạo mạch mới ở võng mạc/màng mạch và sự tạo mạch mới ở giác mạc. Ví dụ về sự tạo mạch mới ở võng mạc/màng mạch bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh Bests, cận thị, chứng rối thị giác (optic pits), bệnh Stargarts, bệnh Paget, chứng tắc tĩnh mạch, chứng tắc động mạch, chứng thiếu máu tế bào hình lưỡi liềm, sarcoid, bệnh giang mai, các bệnh tắc nghẽn động mạch cảnh u màng giả sợi chun, viêm màng mạch nho/viêm dịch kính (vitritis) mạn tính, bệnh nhiễm mycobacteria, bệnh Lyme, bệnh lupus ban đỏ hệ thống, bệnh võng mạc ở trẻ sinh non, bệnh Eales, bệnh võng mạc tiểu đường, thoái hóa điểm vàng, bệnh Bechets, các bệnh nhiễm gây ra viêm võng mạc hoặc viêm màng mạch, bệnh nấm histoplasma mắt giả định (presumed ocular histoplasmosis), viêm màng bồ đào ngoại vi (pars planitis), bong võng mạc mạn tính, các hội chứng tăng độ nhót, chứng nhiễm Toxoplasma, các biến chứng do chấn thương và sau khi dùng tia laze, các bệnh đi kèm với chứng đỏ mắt (sự tạo mạch mới của góc) và các bệnh do sự tăng sinh mạch sợi hoặc mô sợi bất thường gây ra bao gồm tất cả các dạng tăng sinh dịch kính võng mạc.

Các ví dụ không giới hạn về sự tạo mạch mới ở giác mạc bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh viêm kết-giác mạc dịch, chứng thiếu vitamin A, chứng quá mỏi thủy tinh thể tiếp xúc (contact lens overwear), viêm giác mạc dị ứng, viêm giác mạc rìa trên (superior limbic keratitis), khô viêm mộng giác mạc (pterygium keratitis sicca), hội chứng Sjogren, chứng mũi đỏ, viêm kết mạc mụn rộp, bệnh võng mạc tiểu đường, bệnh võng mạc ở trẻ sinh non, chứng thái mảnh ghép giác mạc, chứng loét

Mooren, chứng thoái hóa rìa Terrien, chứng tróc lớp sừng da rìa, viêm đa động mạch, bệnh saccit Wegener, bệnh viêm củng mạc, mở giác mạc tiết căn pemphigut, chứng tăng nhãn áp do sự phát triển của mạch máu mới và tạo mô xơ sau thủy tinh, bệnh giang mai, bệnh nhiễm Mycobacteria, chứng thoái hóa lipid, bỏng hóa chất, loét do vi khuẩn, loét do nấm, bệnh nhiễm ngứa sẩn Herpes, bệnh nhiễm Herpes, bệnh nhiễm nguyên sinh bào và bệnh sacom Kaposi.

Theo một số phương án, các dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị các bệnh viêm mạn tính đi kèm với sự tạo mạch bất thường. Phương pháp bao gồm cho bệnh nhân bị bệnh viêm mạn tính đi kèm với sự tạo mạch bất thường sử dụng các dược phẩm theo sáng chế một mình, hoặc kết hợp với tác nhân chống khối u mà hoạt tính của chúng khi làm tác nhân chống khối u *in vivo* bị tác động bất lợi bởi mức methyl hóa ADN cao. Sự viêm mạn tính phụ thuộc vào sự tạo ra liên tục các mầm mao mạch để duy trì sự tràn vào của các tế bào viêm. Sự tràn vào và sự có mặt của các tế bào viêm gây ra các u hạt và do đó, duy trì tình trạng viêm mạn tính. Sự ức chế sự tạo mạch bằng cách sử dụng các dược phẩm theo sáng chế có thể ngăn ngừa sự tạo ra u hạt, nhờ đó làm thuyên giảm bệnh. Các ví dụ về bệnh viêm mạn tính bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các bệnh viêm ruột như bệnh Crohn và viêm ruột kết mạn loét, bệnh vảy nến, bệnh saccit, và bệnh viêm khớp dạng thấp.

Các bệnh viêm ruột như bệnh Crohn và viêm ruột kết mạn loét được đặc trưng bằng chứng viêm mạn tính và sự tạo mạch ở các vị trí khác nhau trong đường tiêu hóa. Ví dụ, bệnh Crohn diễn ra dưới dạng bệnh viêm xuyên thành mạn tính mà thường tác động nhất đến hồi tràng và kết tràng và có thể còn diễn ra ở phần bất kỳ trong đường tiêu hóa từ miệng đến hậu môn và vùng quanh hậu môn. Các bệnh nhân bị bệnh Crohn thường bị tiêu chảy mạn tính đi kèm với đau bụng, sốt, chán ăn, giảm cân và chướng bụng. Bệnh viêm ruột kết mạn loét cũng là bệnh viêm và loét, không đặc hiệu, mạn tính phát sinh ở niêm mạc ruột kết và được đặc trưng bằng sự xuất hiện tiêu chảy có máu. Các bệnh viêm ruột này thường do sự viêm u hạt mạn tính gây ra trên đường tiêu hóa, có liên quan đến các mầm mao mạch mới được bao quanh bởi trục các tế bào viêm. Sự ức chế tạo mạch bằng các dược phẩm theo sáng chế sẽ ức chế sự tạo ra các mầm này và ngăn ngừa sự tạo ra các u hạt. Bệnh viêm ruột còn thể hiện sự biểu lộ ngoài ruột, như tổn thương da. Các tổn thương này được đặc trưng bằng sự viêm và sự tạo mạch và có thể diễn ra ở nhiều vị trí ngoài đường tiêu hóa. Sự ức chế tạo mạch

bằng các dược phẩm theo sáng chế sẽ làm giảm sự tràn vào của các tế bào viêm và ngăn ngừa sự tạo ra thương tổn.

Bệnh sacoit, một bệnh viêm mạn tính khác, được đặc trưng như là rối loạn u hạt đa hệ. Các u hạt của bệnh này có thể tạo ra ở bất cứ đâu trong cơ thể và, do đó, triệu chứng tùy thuộc vào vị trí của các u hạt và liệu bệnh này có hiệu lực. Các u hạt được tạo ra bởi các mầm mao mạch tạo mạch cung cấp nguồn cung liên tục các tế bào viêm. Bằng cách sử dụng các dược phẩm theo sáng chế để ức chế sự tạo mạch, sự tạo u hạt này có thể được ức chế. Bệnh vẩy nến, cũng là một bệnh viêm mạn tính và tái diễn, được đặc trưng bởi các nốt sần và các mảng có kích thước khác nhau. Việc điều trị bằng cách sử dụng các dược phẩm theo sáng chế sẽ ngăn chặn sự tạo ra các mạch máu mới cần thiết để duy trì các thương tổn đặc trưng và giúp bệnh nhân giảm nhẹ triệu chứng bệnh.

Bệnh viêm khớp dạng thấp (RA) cũng là bệnh viêm mạn tính được đặc trưng bằng sự viêm không đặc hiệu của các khớp ngoại vi. Người ta tin rằng các mạch máu trong lớp lót hoạt dịch của khớp có trải qua sự tạo mạch. Ngoài sự tạo ra các mạng mạch mới, các tế bào nội mô giải phóng các nhân tố và các gốc oxy hoạt động mà dẫn đến sự phát triển dịch rỉ viêm khớp và sự phá hủy sụn. Các nhân tố có liên quan trong sự tạo mạch có thể tích cực góp phần vào, và giúp duy trì, tình trạng viêm mạn tính của bệnh viêm khớp dạng thấp. Việc điều trị bằng cách sử dụng các dược phẩm theo sáng chế một mình hoặc kết hợp với các tác nhân chống viêm khớp dạng thấp khác có thể ngăn chặn sự tạo ra các mạch máu mới cần thiết để duy trì chứng viêm mạn tính và giúp bệnh nhân bị bệnh viêm khớp dạng thấp giảm nhẹ các triệu chứng bệnh.

Theo một số phương án, các dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị các bệnh đi kèm với sự tổng hợp hemoglobin bất thường. Phương pháp bao gồm cho bệnh nhân bị bệnh đi kèm với sự tổng hợp hemoglobin bất thường sử dụng các dược phẩm theo sáng chế. Các chế phẩm chứa dexitabin kích thích sự tổng hợp hemoglobin thai nhi do cơ chế kết hợp vào ADN đi kèm với sự giảm metyl hóa ADN. Ví dụ về bệnh đi kèm với sự tổng hợp hemoglobin bất thường bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh thiếu máu tế bào hình lưỡi liềm và bệnh thiếu máu Địa Trung Hải beta.

Theo một số phương án, các dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để

kiểm soát sự biểu hiện gen nội bào. Phương pháp bao gồm cho bệnh nhân bị bệnh đi kèm với mức biểu hiện gen bất thường sử dụng các dược phẩm theo sáng chế. Sự methyl hóa ADN đi kèm với sự kiểm soát sự biểu hiện gen. Cụ thể là, sự methyl hóa ở hoặc gần các gen khởi đầu làm ức chế sự phiên mã trong khi đó sự loại methyl lại hồi phục biểu hiện gen. Ví dụ về các ứng dụng khả dĩ của các cơ chế nêu trên bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, sự ức chế phát triển được điều biến trong điều trị, sự cảm ứng sự chết theo chương trình của tế bào, và sự biệt hóa tế bào.

Sự hoạt hóa gen được tạo điều kiện thuận lợi bởi các dược phẩm theo sáng chế có thể gây ra sự biệt hóa các tế bào nhằm mục đích điều trị bệnh. Sự biệt hóa tế bào được gây ra qua cơ chế giảm methyl hóa. Ví dụ về sự biệt hóa chức năng và hình thái học bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở sự biệt hóa theo hướng tạo ra các tế bào cơ, ống cơ (myotube), các tế bào thuộc dòng hồng cầu và bạch huyết.

Hội chứng loạn sản tủy (MDS) là các rối loạn tế bào thân sinh huyết dòng không đồng nhất đi kèm với sự xuất hiện của các thay đổi loạn sản ở một hoặc nhiều dòng sinh huyết, bao gồm các thay đổi loạn sản ở các chuỗi tủy bào, hồng cầu, và tế bào nhân khổng lồ. Các thay đổi này dẫn đến chứng giảm tế bào máu ở một hoặc nhiều trong số ba dòng này. Các đối tượng bị bệnh MDS thường phát triển các biến chứng liên quan đến chứng thiếu máu, giảm bạch cầu trung tính (bệnh nhiễm), hoặc chứng giảm lượng tiểu cầu (chảy máu). Nói chung, khoảng 10% đến 70% đối tượng bị MDS phát triển bệnh bạch cầu cấp. Hội chứng loạn sản tủy điển hình bao gồm bệnh bạch cầu tủy bào cấp, bệnh bạch cầu tiền tủy bào cấp, bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô cấp, và bệnh bạch cầu tủy bào mạn tính.

Bệnh bạch cầu tủy bào cấp (AML) là loại bệnh bạch cầu cấp thông thường nhất ở người lớn. Các rối loạn gen di truyền nặng và các tình trạng suy giảm miễn dịch đi kèm với sự gia tăng nguy cơ AML. Các rối loạn này bao gồm các rối loạn với sự suy giảm độ ổn định ADN dẫn đến sự vỡ nhiễm sắc thể ngẫu nhiên, như hội chứng Bloom, chứng thiếu máu Fanconi, hội chứng Li-Fraumeni, mất điều hòa giãn mạch, và chứng vô gama globulin huyết liên kết X.

Bệnh bạch cầu tiền tủy bào cấp (APML) là phân nhóm phụ AML riêng. Kiểu phụ này được đặc trưng bằng các nguyên tiền tủy bào chứa chuyển đoạn nhiễm sắc thể 15; 17. Sự chuyển đoạn này dẫn đến sự tạo ra bản sao dung hợp bao gồm chuỗi thụ thể

axit retinoic và chuỗi bạch cầu tiền tủy bào.

Bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô cấp (ALL) là bệnh không đồng nhất với các đặc tính lâm sàng khác biệt được biểu lộ bằng các kiểu phụ khác nhau. Các bất thường di truyền tế bào tái diễn đã được chứng minh trong bệnh ALL. Bất thường di truyền tế bào đi kèm thông thường nhất là sự chuyển đoạn 9; 22 dẫn đến sự phát triển nhiễm sắc thể Philadelphia.

Bệnh bạch cầu tủy bào mạn tính (CML) là rối loạn tăng sinh tủy xương dòng vô tính của tế bào thân đa năng, nói chung do sự chiếu xạ ion hóa gây ra. CML được đặc trưng bằng sự bất thường nhiễm sắc thể đặc hiệu liên quan đến sự chuyển đoạn các nhiễm sắc thể 9 và 22, tạo ra nhiễm sắc thể Philadelphia.

Các hợp chất nêu trên và các chế phẩm của nó có thể được sử dụng để cung cấp liệu pháp điều trị cho bệnh MDS. Theo một số phương án, hợp chất hoặc chế phẩm của nó có thể cung cấp liệu pháp điều trị cho nhiều hơn một MDS bằng cách sử dụng riêng.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị hội chứng loạn sản tủy (MDS). Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị một hoặc nhiều hội chứng loạn sản tủy, bệnh bạch cầu, hoặc khối u rắn. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh bạch cầu tủy bào cấp (AML). Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh bạch cầu tiền tủy bào cấp (APML) ở đối tượng. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô cấp (ALL). Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh bạch cầu tủy bào mạn tính (CML).

Theo một số phương án, hội chứng loạn sản tủy là bệnh bạch cầu tủy bào cấp (AML), bệnh bạch cầu tiền tủy bào cấp (APL), bệnh bạch cầu nguyên bào lymphô cấp (ALL), hoặc bệnh bạch cầu tủy bào mạn tính (CML).

Theo một số phương án, việc dùng là dùng dưới da.

Việc điều trị tình trạng bệnh bất kỳ nêu trên, như sự phát triển khối u, hội chứng loạn sản tủy, hoặc tình trạng bệnh liên quan đến sự tạo mạch, có thể được thực hiện với mức hiệu lực nhất định. Mức hiệu lực có thể là khoảng 5%, khoảng 10%, khoảng 15%, khoảng 20%, khoảng 25%, khoảng 30%, khoảng 35%, khoảng 40%, khoảng

45%, khoảng 50%, khoảng 55%, khoảng 60%, khoảng 62,9%, khoảng 65%, khoảng 70%, khoảng 75%, khoảng 80%, khoảng 84,4%, khoảng 85%, khoảng 90%, khoảng 95%, khoảng 97%, khoảng 98%, khoảng 99%, hoặc khoảng 100%. Mức hiệu lực có thể ít nhất là 5%, ít nhất là 10%, ít nhất là 15%, ít nhất là 20%, ít nhất là 25%, ít nhất là 30%, ít nhất là 35%, ít nhất là 40%, ít nhất là 45%, ít nhất là 50%, ít nhất là 55%, ít nhất là 60%, ít nhất là 62,9%, ít nhất là 65%, ít nhất là 70%, ít nhất là 75%, ít nhất là 80%, ít nhất là 84,4%, ít nhất là 85%, ít nhất là 90%, ít nhất là 95%, ít nhất là 97%, ít nhất là 98%, hoặc ít nhất là 99%.

Liệu pháp kết hợp

Các hợp chất, chế phẩm và dược phẩm theo sáng chế được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều thành phần điều trị phụ trợ được chọn từ các nhóm sau:

Các tác nhân hoạt hóa tế bào T, bao gồm các kháng thể điều biến miễn dịch;

Các vắc-xin ngừa bệnh ung thư;

Các chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza (IDO);

Các tá dược; và

Các kết hợp của hai hoặc nhiều thành phần trong số các nhóm nêu trên, bao gồm các kết hợp cụ thể của các chất hoạt hóa tế bào T và các vắc-xin ngừa bệnh ung thư.

Cách khác, các hợp chất này, chế phẩm và dược phẩm theo sáng chế được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều thành phần điều trị phụ trợ được chọn từ các nhóm sau:

1. Các chất hoạt hóa tế bào T, bao gồm các kháng thể điều biến miễn dịch;

2. Các vắc-xin ngừa bệnh ung thư;

3. Các tá dược; và

4. Các kết hợp của hai hoặc nhiều thành phần trong các nhóm nêu trên, bao gồm các kết hợp cụ thể của các chất hoạt hóa tế bào T và các vắc-xin ngừa bệnh ung thư.

Theo một số phương án, tác nhân phụ có thể ở dạng ion, muối, solvat, chất đồng phân, chất hồ biến, N-oxit, este, tiền dược chất, chất đồng vị hoặc dạng dược bảo vệ của một tác nhân phụ trợ (ví dụ, các muối hoặc các chất hồ biến hoặc các chất đồng phân hoặc các N-oxit hoặc các solvat của nó).

1. Các chất hoạt hóa tế bào T, bao gồm các kháng thể điều biến miễn dịch

Các thành phần điều trị phụ trợ thích hợp để sử dụng trong các chế phẩm kết hợp theo sáng chế bao gồm các chất hoạt hóa tế bào T.

Các tác nhân này bao gồm, ví dụ, các chất mà thúc đẩy sự hoạt hóa tế bào T và làm cho các tế bào tác động T kháng lại các tế bào điều hòa T (T regulatory cells - Tregs), bao gồm các tác nhân mà phong bế CTLA-4.

Liệu pháp điều trị mAb kháng CTLA-4 là chiến lược chống khối u có liên quan trong việc mở rộng hệ miễn dịch qua trung gian tế bào bằng cách phong bế các quá trình ức chế sự hoạt hóa tế bào T (O'Day SJ, et al. Cancer 2007; 110:2614-2627). Sự phong bế quá trình ra tín hiệu CTLA-4 đã được thể hiện là đem lại sự loại khỏi u ở các mẫu động vật, khi được sử dụng một mình hoặc kết hợp với các chiến lược điều trị miễn dịch khác (Leach DR, et al. Science 1996;271:1734-1736; Weber J, Semin Oncol 2010;37:430-439). mAb kháng CTLA-4 đang chứng minh hiệu quả trong việc đem lại các đáp ứng lâm sàng kéo dài và cải thiện khả năng sống sót ở các bệnh nhân bị u hắc sắc tố da di căn (Hodi FS, et al. N Engl J Med 2010;363:711-23; Di Giacomo A, et al. Cancer Immunol Immunother 2011;60:467-77).

Theo các phương án trong đó thành phần điều trị phụ trợ bao gồm tác nhân phong bế sự ra tín hiệu CTLA-4 (ví dụ, mAb kháng CTLA-4 như nêu dưới đây), hợp chất có công thức I hoặc muối của nó tốt hơn là được dùng đầu tiên (như là liệu pháp môi), sau đó là dùng tác nhân mà phong bế CTLA-4 (ví dụ, mAb kháng CTLA).

Các ví dụ không giới hạn về các mAb kháng CTLA-4 thích hợp bao gồm Tremelimumab (CP675,206) (của Pfizer), kháng thể đơn dòng kiểu tương đương IgG2 và Ipilimumab (MDX-010) (của BMS/Medarex), kháng thể đơn dòng kiểu tương đương IgG1.

Tremelimumab được mô tả trong, ví dụ, WO00/037504 (công bố đơn quốc tế này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn); và trong WO2006/048749 (công bố đơn quốc tế này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Ipilimumab được mô tả trong, ví dụ, WO01/014424 (công bố đơn quốc tế này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn); và trong WO2012/033953 (công bố đơn quốc tế này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn).

Nhóm các chất hoạt hóa tế bào T khác thích hợp để sử dụng làm các thành phần điều trị phụ trợ là các tác nhân mà làm giảm nhẹ hoặc ngăn chặn sự dung nạp ngoại vi và/hoặc sự giảm số lượng các Treg (các tế bào T điều hòa) ở vị trí khối u. Ví dụ về các tác nhân này bao gồm các tác nhân mà phong bế thụ thể chết theo chương trình-1 (programmed death receptor-1: PD-1), phối tử thụ thể chết theo chương trình-1 (programmed death receptor-1 ligand: PD-L1) và phối tử thụ thể chết theo chương trình-2 (programmed death receptor-2 ligand: PD-L2), bao gồm các kháng thể kháng PD-1, PD-L1 và PD-L2.

Protein chết theo chương trình-1 (Programmed death 1: PD-1), thụ thể đồng ức chế tế bào T, và các phối tử của nó, PD-L1 và PD-L2, đóng vai trò chủ yếu trong khả năng lẩn tránh của các tế bào khối u đối với hệ miễn dịch của vật chủ. Sự phong bế các tương tác giữa PD-1 và PD-L1/2 gián tiếp gây ra hoạt tính chống khối u ở các mô hình tiền lâm sàng (Iwai Y et al., Proc Natl Acad Sci USA (2002) 99: 12293-12297). Các nghiên cứu nhận dạng hoạt tính lâm sàng của cả mAb kháng PD-1 và mAb kháng PD-L1 ở các bệnh nhân bị các bệnh ung thư tiến triển, bao gồm bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ, u hắc sắc tố, và bệnh ung thư tế bào thận (Brahmer JR, et al. N Engl J Med. 2012 Jun 2; Topalian SL, et al. N Engl J Med. 2012 Jun 2).

Các ví dụ không giới hạn về các mAb kháng PD-1 và các mAb kháng PD-L1 thích hợp bao gồm BMS-936558 (Nivolumab, ONO 4538), kháng thể IgG4 đơn dòng hoàn toàn của người kháng PD-1 và BMS-936559 (kháng thể đơn dòng IgG4 (S228P), đặc hiệu đối với PD-L1, hoàn toàn của người mà ức chế sự liên kết của PD-L1 với PD-1 và CD80) được mô tả trong WO2007/005874. Các mAb này có thể được dùng theo đề nghị của các nhà sản xuất, và các liều thích hợp đối với Nivolumab được mô tả trong WO2006/121168, công bố đơn quốc tế này được đưa vào đây đặc biệt bằng cách viện dẫn.

Các tác nhân kháng PD-1 khác bao gồm MK-3475 (Lambrolizumab), kháng thể đơn dòng IgG4 kháng PD-1 được làm tương thích với người. Liều thích hợp đối với Lambrolizumab bao gồm 10mg/kg một lần mỗi 2 tuần.

Các tác nhân kháng PDL-1 khác bao gồm MED14736 (kháng thể đơn dòng IgG1 của người kháng PDL-1), và MPDL3280A (là kháng thể đơn dòng IgG của người mà miền Fc của nó đã được thao tác di truyền một cách đặc biệt để ngăn chặn tính gây độc

tế bào qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể). Các mAb này có thể được dùng theo đề nghị của nhà sản xuất.

Các nhóm chất hoạt hóa tế bào T khác thích hợp để sử dụng làm các thành phần điều trị phụ trợ bao gồm các chất chủ vận cho CD137, CD40 và OX40, Các ví dụ về các tác nhân này bao gồm các kháng thể đơn dòng mà hoạt động như là các chất chủ vận của CD137, CD40 hoặc OX40.

CD137 còn được biết như là thụ thể 4-1BB (4-1BBR), glycoprotein mà là thành viên của liên họ thụ thể nhân tố hoại tử khối u 1–4 và liên kết với phối tử ái lực cao (4-1BBL) được biểu hiện trên một số tế bào có kháng nguyên như các đại thực bào và các tế bào B hoạt hóa. Chất chủ vận thích hợp đối với CD137 là PF-05082566, mAb IgG2 hoàn toàn của người mà liên kết với miền ngoại bào của CD137 của người với ái lực và độ đặc hiệu cao (xem Fisher *et al.* (2012) Cancer Immunology, Immunotherapy, Volume 61, Issue 10, pp 1721-1733).

Các nhóm chất hoạt hóa tế bào T khác thích hợp để sử dụng làm các thành phần điều trị phụ trợ bao gồm các chất chủ vận của ICOS, GITR, MHC, CD80, CD86, Galectin 9 và LAG-3. Ví dụ về các tác nhân này bao gồm các kháng thể đơn dòng mà hoạt động như là các chất chủ vận của ICOS, GITR, MHC, CD80, CD86, Galectin 9 và LAG-3.

Các kết hợp của hai hoặc nhiều chất hoạt hóa tế bào T (ví dụ, các kết hợp của các kháng thể phong bế CTLA-4 và/hoặc các kháng thể kháng PD-1 và PD-L1 và/hoặc PD-L2) cũng có thể được sử dụng làm các thành phần điều trị phụ trợ để sử dụng theo sáng chế.

2. Các vắc-xin ngừa bệnh ung thư

Các vắc-xin ngừa bệnh ung thư mà kích thích đáp ứng miễn dịch thích hợp sẽ có tác dụng làm các thành phần điều trị phụ trợ để sử dụng trong các chế phẩm kết hợp theo sáng chế.

Các vắc-xin ngừa bệnh ung thư biểu thị (các) kháng nguyên đi kèm khối u (tumour associated antigen: TAA) đối với hệ miễn dịch của vật chủ để nhắc vật chủ tạo ra đáp ứng miễn dịch thể dịch và/hoặc thể tế bào thích hợp với việc điều trị, ví dụ qua sự hoạt hóa tế bào T và/hoặc sự hoạt hóa tế bào đuôi gai (dendritic cell: DC). Các

vắc-xin ngừa bệnh ung thư có thể được sản xuất dựa trên toàn bộ tế bào khối u, phần chiết hoặc một phần tế bào khối u. Cũng thích hợp để sử dụng theo sáng chế là các vắc-xin phân đơn vị ngừa bệnh ung thư, các vắc-xin ngừa bệnh ung thư kết hợp và các vắc-xin ADN.

Kháng nguyên bất kỳ thích hợp hoặc kết hợp của các TAA có thể được sử dụng trong các vắc-xin theo sáng chế, bao gồm, ví dụ, (các) axit nucleic (ADN hoặc ARN) mà mã hóa một hoặc nhiều TAA; (các) protein hoặc (các) peptit; (các) glycoprotein; (các) polysaccharit và (các) hydrat cacbon khác; (các) protein dung hợp; (các) lipid; (các) glycolipit; (các) chất tương tự peptit của các polysaccharit; (các) hydrat cacbon và (các) protein trong hỗn hợp; (các) liên hợp hydrat cacbon-protein; các tế bào hoặc các phần chiết của nó hoặc các tế bào khối u hoặc các phần chiết của nó.

Các vắc-xin phân đơn vị được dựa trên các kháng nguyên được tổng hợp hoặc được phân lập được tạo ra bằng cách sử dụng các kỹ thuật tái tổ hợp và/hoặc (sinh)hóa (ví dụ, các peptit tái tổ hợp, quy trình tổng hợp hoặc tinh chế protein và/hoặc hydrat cacbon). Các vắc-xin liên hợp chứa liên kết (thường bằng liên kết ngang hóa học) giữa các kháng nguyên (thường trên cơ sở hydrat cacbon) tương đối không miễn dịch và các protein mang gây miễn dịch mạnh hơn. Vắc-xin ADN/ARN phân phát (các) kháng nguyên dưới dạng axit nucleic mã hóa và do đó dựa vào sự biểu hiện nội sinh của trình tự mã hóa sau khi dùng. Các vắc-xin này thường yêu cầu vector thích hợp (ví dụ, plasmit, nang lipid hoặc virus) để phân phát axit nucleic mã hóa đến gần thích hợp của vật chủ.

Các vắc-xin ngừa bệnh ung thư thích hợp để sử dụng kết hợp với các chế phẩm, dược phẩm và hợp chất theo sáng chế có thể được phân loại theo bản chất của TAA, và bao gồm các vắc-xin chứa kháng nguyên tinh hoàn ung thư (CTA).

Các kháng nguyên tinh hoàn ung thư (CTA) có tính chất gây miễn dịch khá cao với sự không biểu hiện hoặc sự biểu hiện được hạn chế ở mức cao ở các mô bình thường (tinh hoàn và nhau thai). Ví dụ bao gồm các vắc-xin dựa trên: NY-ESO-1, LAGE-1, MAGE-A1, -A2, -A3, -A4, -A6, -A10, -A12, CT7, CT10, GAGE1-6, GAGE 1-2, BAGE, SSX1-5, SSX 2, HAGE, PRAME, RAGE-1, XAGE-1, MUC2, MUC5B, B7.1/2, CD28, B7-H1, HLA, CD40L và HMW-MAA. Theo một số phương án, các vắc-xin CTA bao gồm các vắc-xin dựa trên MAGE-A1, MAGE-A3 (ví dụ recMAGE-

A3), NY-ESO-1 và PRAME. Các vắc-xin CTA nêu trên có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp, ví dụ hỗn hợp của hai hoặc nhiều of MAGE-A1, MAGE-A3 (ví dụ recMAGE-A3), NY-ESO-1 và/hoặc PRAME có thể được sử dụng.

MAGE-A1 được mô tả trong ví dụ, WO2002/094859 (công bố đơn quốc tế này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Nó có thể được sử dụng không được phụ trợ hoặc được phụ trợ.

MAGE-A3 (và cụ thể là recMAGE-A3), hoặc Astuprotimut-R) được mô tả trong ví dụ, WO1999/040188 (công bố đơn quốc tế này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Nó có thể được sử dụng không được phụ trợ hoặc được phụ trợ, ví dụ dưới dạng Astuprotimut-R. Nó có thể được sử dụng với liều nằm trong khoảng từ 1 đến 1000µg protein. Theo một số phương án, liều của chúng nằm trong khoảng từ 30 đến 300µg.

NY-ESO-1 được mô tả trong ví dụ, WO2005/032475 (công bố đơn quốc tế này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Nó có thể được sử dụng không được phụ trợ hoặc được phụ trợ, và có thể được sử dụng với các tác nhân hóa trị khác (bao gồm, ví dụ, doxorubixin).

PRAME (còn được biết như là kháng nguyên ưu tiên của u hắc sắc tố, MAPE, DAGE và OIP4) được mô tả trong, ví dụ, WO2006/071983 (công bố đơn quốc tế này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn). Nó có thể được sử dụng không được phụ trợ hoặc được phụ trợ.

Các kháng nguyên CTA khác nhau nêu trên có thể được sử dụng trong trường hợp các vắc-xin dựa trên tế bào khác nhau, ví dụ vắc-xin dựa trên tế bào đuôi gai. Ví dụ, trong một mô hình điều trị dựa trên tế bào đuôi gai, các tế bào được nạp (được tạo xung, được môi, hoặc được nhồi) kháng nguyên hoặc các kháng nguyên nhất định (ví dụ, MAGE-A1, MAGE-A3 (ví dụ recMAGE-A3), NY-ESO-1 hoặc PRAME) và sau đó được dùng để thúc đẩy đáp ứng miễn dịch. Phương pháp này có thể được sử dụng kết hợp với các tá dược khác nhau, bao gồm, ví dụ, các chất chủ vận TLR (ví dụ, imiquimod).

Trong một ví dụ minh họa về mô hình điều trị dựa trên tế bào, bệnh nhân nhận mỗi tháng ba chu kỳ điều trị sử dụng hợp chất có công thức I (hoặc muối của nó) trong 5 ngày, mỗi chu kỳ được theo sau bởi 2 đợt dùng vắc-xin mỗi tuần bao gồm các tế bào đuôi gai bản thân được xung động với các peptit chồng chéo thu được từ MAGE-A1

có chiều dài đầy đủ, MAGE-A3, và NY-ESO-1 (JPT Peptide Technologies, Berlin, Germany). Imiquimod được dùng ở vị trí vắc-xin trước và sau khi chủng ngừa, để thúc đẩy sự thâm nhiễm tế bào miễn dịch ở vị trí chủng ngừa.

Nhóm các vắc-xin ngừa bệnh ung thư thích hợp khác là các vắc-xin ngừa bệnh ung thư dựa trên các kháng nguyên biệt hóa, bao gồm MART-1, tyrosinaza và Gp100.

Theo một số phương án, các vắc-xin ngừa bệnh ung thư được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều tá dược làm các thành phần điều trị phụ trợ khác để sử dụng trong các chế phẩm kết hợp theo sáng chế, như nêu dưới đây.

3. Các chất ức chế IDO

Các thành phần điều trị phụ trợ thích hợp để sử dụng với các chế phẩm kết hợp theo sáng chế bao gồm các chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza (IDO).

IDO là chất điều hòa miễn dịch quan trọng, có vai trò chính trong sự giám sát miễn dịch khối u. Sự thoát miễn dịch là đặc điểm cơ bản của bệnh ung thư trong đó cytokin interferon- γ typ Th1 (IFN- γ) dường như là đóng vai trò chính. Trong số các quá trình sinh hóa diệt tế bào khối u khác, IFN- γ cảm ứng IDO trong nhiều loại tế bào bao gồm các đại thực bào, các tế bào đuôi gai (DC) và các tế bào khối u. IDO làm việc bằng cách ngăn ngừa sự hoạt hóa tế bào T và phong bế các đáp ứng miễn dịch đối với các tế bào bệnh ung thư. Trong khi đó các quá trình chịu trách nhiệm cho việc làm mất tryptophan không được biết đến, sự tăng methyl hóa có thể là một trong số các cơ chế nguyên nhân mà dẫn đến sự thất bại trong việc tạo ra đáp ứng miễn dịch.

Do đó các chất ức chế IDO có thể làm tăng hiệu lực của phương pháp miễn dịch trị liệu chống bệnh ung thư, và có thể được sử dụng trong các chế phẩm kết hợp theo sáng chế để ngăn ngừa sự thoát miễn dịch/dung nạp miễn dịch qua trung gian IDO (xem, ví dụ, Sucher *et al.* (2010) *IDO-Mediated Tryptophan Degradation in the pathogenesis of Malignant Tumor Disease*. International Journal of Tryptophan Research: 3, 113–120).

Chất ức chế IDO thích hợp bất kỳ có thể được sử dụng theo sáng chế. Ngoài ra còn có các chất ức chế các isoenzym IDO, bao gồm, ví dụ, tryptophan (2,3)-dioxygenaza (TDO) và/hoặc IDO2. Do đó, chất ức chế IDO để sử dụng với các chế phẩm kết hợp theo sáng chế có thể ức chế, trực tiếp hoặc gián tiếp, IDO và/hoặc TDO

và/hoặc IDO2.

Các chất ức chế IDO thích hợp bao gồm các chất dựa trên các sản phẩm tự nhiên, như brassinin chiết xuất từ cải bắp, annulin B chiết xuất từ loài thủy tức biển và exiguamin A chiết xuất từ bọt biển, bao gồm các dẫn xuất tổng hợp của chúng.

Các chất ức chế IDO thích hợp khác bao gồm các chất tương tự về mặt phân tử của cơ chất, tryptophan của nó. Các chất ức chế này bao gồm chất giống tryptophan 1-methyl tryptophan (1-MT). 1-MT tồn tại dưới dạng hai chất đồng phân lập thể: chất đồng phân L ức chế một cách đáng kể IDO1, trong khi đó chất đồng phân D đặc hiệu hơn đối với IDO2. Chất đồng phân D (D-1-MT, indoximod) hiện đang được đánh giá ở thử nghiệm được đối chứng giả dược, ngẫu nhiên, mù kép, pha II.

Các chất ức chế IDO thích hợp khác bao gồm INCB24360, chất ức chế phân tử nhỏ hydroxyamidin. Không giống các chất ức chế dựa trên 1-MT, các chất ức chế hydroxyamidin còn ức chế tryptophan (2,3)-dioxygenaza (TDO), một enzym có hoạt tính tương tự IDO.

Chất ức chế IDO thích hợp khác là NLG919.

Các tác nhân mà không ức chế enzym IDO một cách trực tiếp, mà thay vào đó, phong bế tác dụng xuôi dòng của sự hoạt hóa IDO, cũng thích hợp để sử dụng với các chế phẩm kết hợp theo sáng chế. Các chất ức chế quá trình IDO này được dự tính là được bao gồm trong thuật ngữ "chất ức chế IDO" nêu trên.

4. Tá dược

Các thành phần điều trị phụ trợ thích hợp để sử dụng với các chế phẩm kết hợp theo sáng chế bao gồm các tá dược.

Tá dược là hợp chất hoặc chế phẩm bất kỳ mà làm tăng cường độ và/hoặc thời gian đáp ứng miễn dịch đối với kháng nguyên lạ so với cường độ và/hoặc thời gian có được khi chỉ sử dụng kháng nguyên. Do đó, các đặc điểm chức năng chính của tá dược bao gồm khả năng của nó trong việc gia tăng đáp ứng miễn dịch thích hợp đối với kháng nguyên đích, an toàn lâu dài trong ứng dụng thịnh hành, và linh hoạt khi sử dụng với các ứng dụng kháng nguyên/bệnh khác nhau. Tá dược có thể là, ví dụ, tác nhân mà không tạo thành kháng nguyên đặc hiệu, nhưng làm tăng cường độ và/hoặc tuổi thọ của đáp ứng miễn dịch (bao gồm, ví dụ, đáp ứng miễn dịch bẩm sinh) đối với kháng

nguyên cùng được sử dụng.

Nếu tá dược được sử dụng làm thành phần điều trị phụ trợ, hợp chất này và tá dược có thể cùng được sử dụng, tức là, đồng thời hoặc lần lượt. Nếu các tá dược được dùng đồng thời, chúng có thể được dùng trong cùng một chế phẩm hoặc các chế phẩm riêng rẽ, và trong trường hợp sau ở cùng một vị trí hoặc ở các vị trí riêng rẽ, nhưng có thể được dùng đồng thời. Các tá dược này có thể được dùng lần lượt, khi việc dùng ít nhất là hai tá dược là tách biệt về thời gian. Khoảng cách thời gian giữa việc dùng hai tá dược có thể là vài phút hoặc có thể lâu hơn. Khoảng cách thời gian này có thể là dưới 14 ngày, dưới 7 ngày, hoặc dưới 1 ngày. Khoảng cách thời gian này cũng có thể là, ví dụ, với một tá dược vào thời điểm ban đầu và một tá dược vào thời điểm tăng cường, hoặc một tá dược vào thời điểm ban đầu và kết hợp ở thời điểm tăng cường, hoặc kết hợp của một tá dược ở thời điểm ban đầu và một tá dược ở thời điểm tăng cường.

Các ví dụ không giới hạn về các nhóm các tá dược/tá dược thích hợp bao gồm các phối tử thụ thể nhận dạng tác nhân gây bệnh (Pathogen-Recognition Receptor: PRR). Các chất này bao gồm các phối tử/các chất chủ vận đối với các thụ thể RIG-1, các phối tử NOD-protein, các phối tử thụ thể giống Toll (Toll-like receptor: TLR) và các phối tử lectin typ C. Các phối tử PRR thích hợp liên kết với một hoặc nhiều TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10 và TLR11, tức là các phối tử TLR. Theo một số phương án, phối tử này là phối tử TLR9 hoặc TLR4. Theo một số phương án, phối tử là các tá dược mà chứa các phối tử TLR đối với hai hoặc nhiều TLR khác nhau, bao gồm, ví dụ, các tá dược mà chứa các phối tử TLR đôi hoặc ba, ví dụ TLR2 và/hoặc TLR6 và/hoặc TLR3 và/hoặc TLR9. Theo một số phương án, phối tử TLR ba bao gồm phối tử của TLR2, TLR3, và TLR9. Theo một số phương án, tá dược này bao gồm chế phẩm kết hợp của: (i) chất chủ vận TLR 7/8 với chất chủ vận TLR 9; (ii) chất chủ vận TLR 7/8 với chất chủ vận TLR 4; hoặc (iii) chất chủ vận TLR 9 với chất chủ vận TLR 3.

Các tá dược dựa trên TLR được tổng kết trong tài liệu Steinhagen *et al.* (2011) *TLR-Based Immune Adjuvants Vaccine* 29(17): 3341–3355, công bố đơn quốc tế này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Các chế phẩm kết hợp theo sáng chế cũng có thể được sử dụng thêm vào các

phương pháp điều trị hóa học trị liệu và/hoặc không phải hóa học trị liệu khác như phương pháp xạ trị, phẫu thuật và cấy ghép tế bào thân. Ví dụ, các chế phẩm kết hợp theo sáng chế có thể được dùng sau quá trình phẫu thuật và/hoặc xạ trị khối u nguyên phát để ngăn ngừa hoặc trì hoãn sự tái phát/di căn. Trong trường hợp sử dụng thêm với sự cấy ghép tế bào thân, các chế phẩm kết hợp này có thể được sử dụng như là “cầu nối với mảnh ghép”, trong đó các chế phẩm kết hợp theo sáng chế được sử dụng để đạt được tỷ lệ đáp ứng đủ (ví dụ, trị bệnh) cho quá trình cấy ghép tế bào thân. Các chế phẩm kết hợp này cũng có thể được sử dụng ở liều duy trì, thấp sau quá trình cấy ghép tế bào thân để làm giảm/ngăn ngừa sự tái phát.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Các tác dụng đối với phân tử, kiểu hình, và chức năng *in vivo* của SGI-110 kết hợp với mAb kích thích miễn dịch ở mô hình bệnh ung thư ở chuột.

Mô hình đồng gen về bệnh ung thư ở chuột được sử dụng để đánh giá, ở mức tiền lâm sàng, các tác dụng đối với phân tử, kiểu hình, và chức năng *in vivo* của muối natri của hợp chất có công thức I-1 (SGI-110), được dùng một mình hoặc kết hợp với mAb kích thích miễn dịch kháng chuột.

Các phép phân tích thử nghiệm: (a) hiệu lực điều trị của việc dùng kết hợp SGI-110 và mAb kích thích miễn dịch cho bệnh ung thư ở chuột; và (b) sự liên quan của đáp ứng miễn dịch vật chủ đối với các tác động chống khối u tiềm năng của việc sử dụng để điều trị hiệu quả nhất SGI-110 và mAb kích thích miễn dịch.

Hoạt tính điều biến miễn dịch SGI-110 *in vitro* ở bệnh ung thư ở chuột

Các thử nghiệm *in vitro* sơ bộ sẽ được thực hiện để nghiên cứu các tác dụng điều biến miễn dịch của SGI-110 trên các tế bào caxinom vú của chuột, TS/A, được chọn dựa trên kiểu hình miễn dịch, tốc độ tăng trưởng và khối u ở chuột của chúng. Các tế bào được xử lý *in vitro* theo chương trình chuẩn và phương pháp phân tích RT-PCR và RT-PCR định lượng thời gian thực khảo sát hiệu lực của việc điều trị đối với việc gây ra và/hoặc điều hòa ngược CTA chuột (bao gồm P1A, họ Mage-a) ở các tế bào bệnh ung thư.

Hiệu lực điều trị của SGI-110 kết hợp với mAb kích thích miễn dịch ở bệnh ung thư của chuột

Việc điều trị bằng MAb kích thích miễn dịch được thực hiện đồng thời hoặc kế tiếp với chương trình dùng SGI-110 theo chế độ dùng liều nêu dưới đây. Chuột BALB/c (6 con mỗi nhóm) được ghép các tế bào TS/A vào vùng sườn và được điều trị bằng SGI-110 một mình hoặc kết hợp với mAb kháng CTLA-4 của chuột hoặc mAb kháng PD-1 của chuột. Hiệu lực và khả năng dung nạp của việc điều trị được đánh giá lần lượt bằng các số đo thể tích khối u và thể trọng.

Ngày -6: Các tế bào TS/A của chuột được cấy truyền dưới da vào vùng sườn của tất cả các con chuột.

Ngày 0: Sau thời gian chờ 7 ngày, các con chuột mang các mảnh ghép khối u nhìn thấy và sờ thấy được rõ ràng (đường kính $\geq 0,2\text{cm}$) được chia tách thành các nhóm điều trị khác nhau (6 con mỗi nhóm).

Chương trình điều trị: Dùng dưới da (subcutaneous: SQ) trong 5 ngày ("SQ5")

Nhóm 1: Chất dẫn qdx5 SQ ở ngày 1-5 (qd: một lần mỗi ngày)

Nhóm 2: SGI-110, 3mg/kg qdx5 SQ ở ngày 1-5

Nhóm 3: kháng thể kháng CTLA-4 của chuột ở ngày 2, 5, 8

Nhóm 4: kháng thể kháng CTLA-4 của chuột ở ngày 8, 11, 14

Nhóm 5: SGI-110, 3mg/kg qdx5 SQ (ở ngày 1-5) + kháng thể kháng CTLA-4 của chuột (ở ngày 2, 5, 8) (chương trình đồng thời)

Nhóm 6: SGI-110, 3mg/kg qdx5 SQ (ở ngày 1-5) + kháng thể kháng CTLA-4 của chuột (ở ngày 8, 11, 14) (chương trình kế tiếp)

Nhóm 7: kháng thể kháng PD-1 của chuột ở ngày 2, 5, 8

Nhóm 8: kháng thể kháng PD-1 của chuột ở ngày 8, 11, 14

Nhóm 9: SGI-110, 3mg/kg qdx5 SQ (ở ngày 1-5) + kháng thể kháng PD-1 của chuột (ở ngày 2, 5, 8) (chương trình đồng thời)

Nhóm 10: SGI-110, 3mg/kg qdx5 SQ (ở ngày 1-5) + kháng thể kháng PD-1 của chuột (ở ngày 8, 11, 14) (chương trình kế tiếp)

Chương trình điều trị: trong màng bụng (intraperitoneal: i.p.) hàng tuần

Nhóm 11: Chất dẫn (3 mũi tiêm i.p. mỗi 3 giờ) ở ngày 1 và 8

Nhóm 12: SGI-110, 36,6mg/kg/ngày (3 mũi tiêm i.p. mỗi 3 giờ) ở ngày 1 và 8

Nhóm 13: kháng thể kháng CTLA-4 của chuột ở ngày 3, 6, 9

Nhóm 14: SGI-110, 36,6mg/kg/ngày (3 mũi tiêm i.p. mỗi 3 giờ) ở ngày 1 và 8 + kháng thể kháng CTLA-4 của chuột (ở ngày 3, 6, 9)

Hiệu lực điều trị của chương trình SQ5

Dựa trên kết quả thu được bởi việc dùng *in vivo* SGI-110 theo chương trình SQ5 (xem trên đây), liều đơn của chương trình “SQ hàng tuần” dùng SGI-110 được kiểm tra kết hợp với mAb kích thích miễn dịch. Việc điều trị bằng MAb được sử dụng đồng thời hoặc kế tiếp với chương trình SGI-110. Đến cuối quá trình này, các con chuột BALB/c (6 con mỗi nhóm) được cấy ghép các tế bào TS/A vào vùng sườn và được điều trị bằng SGI-110 một mình hoặc kết hợp với mAb kháng CTLA-4 của chuột hoặc mAb kháng PD-1 của chuột. Hiệu lực và khả năng dung nạp được đánh giá lần lượt bằng các số đo thể tích khối u và thể trọng.

Chương trình điều trị: SQ hàng tuần.

Nhóm 1: Chất dẫn SQ hàng tuần ở ngày 1, 8, 15

Nhóm 2: SGI-110, 24,4mg/kg SQ hàng tuần ở ngày 1, 8, 15

Nhóm 3: Kháng thể kháng CTLA-4 của chuột ở ngày 3, 6, 9

Nhóm 4: Kháng thể kháng CTLA-4 của chuột ở ngày 17, 20, 23

Nhóm 5: SGI-110, 24,4mg/kg SQ hàng tuần (ở ngày 1, 8, 15) + Kháng thể kháng CTLA-4 của chuột (ở ngày 3, 6, 9) (chương trình đồng thời)

Nhóm 6: SGI-110, 24,4mg/kg SQ hàng tuần (ở ngày 1, 8, 15) + Kháng thể kháng CTLA-4 của chuột (ở ngày 17, 20, 23) (chương trình kế tiếp)

Nhóm 7: Kháng thể kháng PD-1 của chuột ở ngày 3, 6, 9

Nhóm 8: Kháng thể kháng PD-1 của chuột ở ngày 17, 20, 23

Nhóm 9: SGI-110, 24,4mg/kg SQ hàng tuần (ở ngày 1, 8, 15) + Kháng thể kháng PD-1 của chuột (ở ngày 3, 6, 9) (chương trình đồng thời)

Nhóm 10: SGI-110, 24,4mg/kg SQ hàng tuần (ở ngày 1, 8, 15) + Kháng thể kháng PD-1 của chuột (ở ngày 17, 20, 23) (chương trình kế tiếp)

Chương trình điều trị: i.p. (trong màng bụng) hàng tuần.

Nhóm 11: Chất dẫn (3 mũi tiêm i.p. mỗi 3 giờ) ở ngày 1 và 8

Nhóm 12: SGI-110, 36,6mg/kg/ngày (3 mũi tiêm i.p. mỗi 3 giờ) ở ngày 1 và 8

Nhóm 13: SGI-110, 36,6mg/kg/ngày (3 mũi tiêm i.p. mỗi 3 giờ) ở ngày 1 và 8 +
Kháng thể kháng CTLA-4 của chuột (ở ngày 3, 6, 9)

Các tác động đối với phân tử, kiểu hình và chức năng của SGI-110 kết hợp với mAb kích thích miễn dịch

Các biến đổi gây ra *in vivo* bởi chế độ điều trị hữu hiệu nhất sử dụng SGI-110, kết hợp với mAb kích thích miễn dịch được khảo sát trên cả các khối u và các ngăn miễn dịch của vật chủ. Đến cuối quá trình này, dựa trên kết quả tạo ra ở bước 2, các con chuột BALB/c (6 con mỗi nhóm) được cấy ghép các tế bào TS/A vào vùng sườn và được điều trị bằng chế độ điều trị hữu hiệu nhất sử dụng SGI-110 kết hợp với một mAb kích thích miễn dịch.

Sự giảm methyl hóa ADN, cũng như sự điều biến biên dạng miễn dịch của các mô khối u, thu được từ các con chuột được điều trị và đối chứng, được đánh giá bằng các thử nghiệm phân tử (bao gồm các phương pháp phân tích PCR đặc hiệu methyl hóa định lượng, RT-PCR và RT-PCR định lượng thời gian thực). Các phần lọc miễn dịch của các mô khối u được lấy để mô tả đặc tính về sự xuất hiện và tần suất tương đối của các tế bào T hoạt hóa bằng kỹ thuật hóa mô miễn dịch (IHC). Hơn nữa, các mô bình thường từ các con chuột được điều trị và đối chứng được lấy ra bằng cách phẫu thuật và được bảo tồn một cách thích hợp cho các phân tích thử nghiệm sau này (xem dưới đây).

Các tác dụng điều biến miễn dịch *in vivo* của việc dùng kết hợp SGI-110 và mAb kích thích miễn dịch, ở các mô lành tính

Sự kết hợp hoạt tính điều biến miễn dịch *in vivo* với hiện tượng tự miễn toàn thân (bao gồm sự cảm ứng và/hoặc sự điều biến của các gen liên quan đến miễn dịch ở các mô bình thường) được khảo sát.

Sự xuất hiện và mức biểu hiện của CTA chuột (tức là, P1A, họ Mage-a) được đánh giá bằng phương pháp phân tích RT-PCR và RT-PCR định lượng thời gian thực trong ít nhất là 4 mẫu lành tính (bao gồm tim, phổi, gan, ruột, thận, cơ và da). Hơn

nữa, các phân lọc miễn dịch của các mô bình thường được lấy để mô tả đặc tính về sự xuất hiện và tần suất tương đối của các tế bào T hoạt hóa bởi IHC.

Sự đóng góp đáp ứng miễn dịch vào hoạt tính chống khối u của các liệu pháp điều trị kết hợp được khảo sát

Sự liên quan của đáp ứng miễn dịch của vật chủ đối với các tác dụng chống khối u tiềm năng của chế độ điều trị kết hợp được chọn được khảo sát. Cả hai giống chuột có đủ miễn dịch (tức là, BALB/c) và suy giảm miễn dịch (tức là, chuột không có tuyến ức thiếu tế bào T và chuột SCID/Beige thiếu tế bào T, tế bào B và tế bào tiêu diệt tự nhiên (natural killer: NK)) (6 con chuột mỗi nhóm) được cấy ghép các tế bào TS/A vào vùng sườn và được điều trị bằng chế độ điều trị được chọn. Hiệu lực của việc điều trị được đánh giá bằng phương pháp đánh giá thể tích khối u, phương pháp phân tích so sánh này cho phép xác định sự đóng góp của sự miễn dịch của tế bào T, B và NK đối với hoạt tính chống khối u giả định của liệu pháp điều trị hóa miễn dịch kết hợp.

Sự điều biến của đáp ứng tế bào T chống khối u có thể được đánh giá qua thử nghiệm MLTC, tăng sinh tế bào, giải phóng IFN- γ và/hoặc gây độc tế bào.

Ví dụ 2: Ức chế sự methyl hóa ADN bằng các hợp chất theo sáng chế

Hoạt tính loại methyl của các hợp chất theo sáng chế được kiểm tra trong thử nghiệm protein huỳnh quang xanh dựa trên tế bào (green fluorescent protein: GFP). Trong thử nghiệm này, sự giảm mức độ methyl hóa do tiếp xúc với chất ức chế methyl hóa dẫn đến sự biểu hiện GFP, và được ghi nhận một cách dễ dàng.

Dòng tế bào CMV-EE210 chứa gen chuyển (transgene) GFP được bất hoạt về mặt biểu sinh được sử dụng để phân tích sự tái hoạt hóa sự biểu hiện GFP bằng phương pháp đo dòng chảy tế bào. CMV-EE210 được tạo ra bằng cách chuyển nạp plasmit pTR-UF/UF1/UF2 vào các tế bào NIH 3T3, các tế bào này đã chứa pBS(+) (Stratagene, Inc.) với gen khởi đầu của virus cự bào (cytomegalovirus: CMV) dẫn dắt gen GFP được làm tương thích với người được làm thích nghi để biểu hiện trong các tế bào động vật có vú. Sau khi chuyển nạp, các tế bào biểu hiện GFP ở mức cao được lựa chọn ban đầu bằng phương pháp phân tích FACS và phân loại bằng cách sử dụng tế bào kế MoFlo (Cytomation, Inc.).

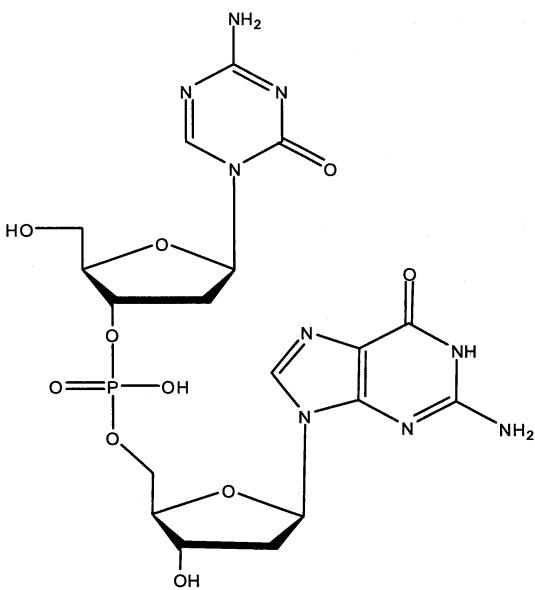
Dexitabin, chất ức chế có hiệu lực của DNMT1 động vật có vú, được sử dụng

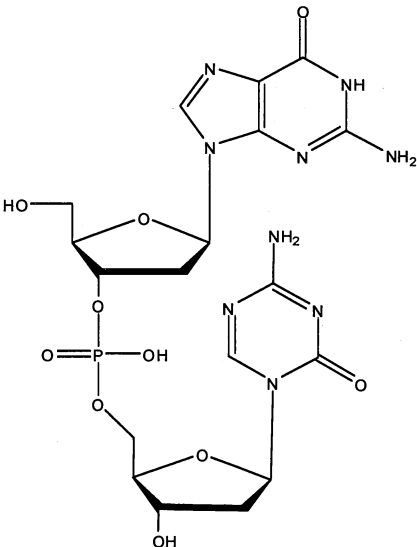
làm đối chứng dương. Để sàng lọc nhằm tái hoạt hóa CMV-EE210, dexitabin ($1\ \mu\text{M}$) hoặc hợp chất thử nghiệm ($30\text{-}50\ \mu\text{M}$) được bổ sung vào môi trường đầy đủ (DMEM không chứa đỏ phenol (Gibco, Life Technologies) được bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò (Hyclone)). Sau đó các tế bào được nuôi cấy đến mức hợp dòng 30% (~ 5000 tế bào/lỗ) trong đĩa 96 lỗ chứa các hợp chất thử nghiệm, và được nuôi trong ba ngày ở nhiệt độ 37°C trong môi trường 5% CO_2 .

Các đĩa được kiểm tra dưới kính hiển vi huỳnh quang sử dụng máy lọc kích thích 450-490 (khối lọc I3, Leica, Deerfield Ill.). Các lỗ được ghi điểm g1 dương tính, g2 dương tính, hoặc g3 nếu GFP được biểu hiện lần lượt với lượng 10%, 30%, $>75\%$ số tế bào sống sót.

Bảng 1 cung cấp kết quả của thử nghiệm đối với dexitabin và các hợp chất thử nghiệm như là các chất ức chế sự methyl hóa ADN. GFP_{50} là nồng độ của chất ức chế tại đó mức biểu hiện protein huỳnh quang xanh (Green Fluorescent Protein: GFP) được giảm từ g3 xuống g1/2. Bảng 1 chứng minh rằng các hợp chất được thử nghiệm ức chế sự methyl hóa ADN một cách hữu hiệu ở các nồng độ thấp, dẫn đến sự tái hoạt hóa sự phiên mã gen GFP.

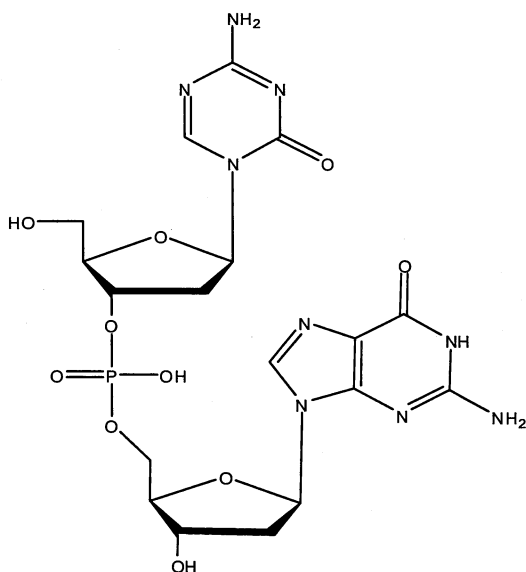
Bảng 1.

Hợp chất	Mức biểu hiện GFP	GFP_{50} (nM)
Dexitabin	g3	500
 I-1:	g3	400

I-2: 	g ³	700
---	----------------	-----

Ví dụ 3: Độ ổn định của hợp chất điển hình trong các chế phẩm dung môi.

Độ ổn định của hợp chất theo sáng chế trong các chế phẩm khác nhau trong các điều kiện bảo quản khác nhau được khảo sát. Độ ổn định được xác định bằng phương pháp HPLC ở các khoảng thời gian xác định. Kết quả được tổng kết trên bảng 2 đối với các chế phẩm bao gồm muối natri của hợp chất I-1 (tức là SGI-110):



Bảng 2.

Chế phẩm	Điều kiện bảo quản	Mốc thời gian	Phần trăm hợp chất được phát hiện	% phân hủy trên giờ
nước, độ pH bằng 7,0	2-8°C	0	95,8%	0,14
		5 giờ	95,1%	
nước, độ pH bằng 7,0	Nhiệt độ trong phòng	0	95,8%	1,1
		5 giờ	90,4%	
DMSO/ nước (1:1, tính theo trọng lượng)	25°C/ độ ẩm tương đối 60%	0	93,7%	0,72
		5 giờ	90,1%	
DMSO/ nước (3:1, tính theo trọng lượng)	25°C/ độ ẩm tương đối 60%	0	96,6%	0,10
		24 giờ	94,2%	
Propylen glycol/ Glyxerin (70:30, thể tích/thể tích)	Nhiệt độ trong phòng	0	96,8%	0,021
		24 giờ	96,3%	
Propylen glycol/ Glyxerin/ Etanol (65:25:10, tính theo trọng lượng/trọng lượng)	2-8°C	0	95,8%	0,00032
		3 tháng	95,1%	
	25°C/ độ ẩm tương đối 60%	0	95,8%	0,013
		3 tháng	67,6%	

Dung dịch SGI-110 trong nước ở độ pH bằng 7, độ pH tại đó các hợp chất thuộc nhóm này ổn định nhất, dẫn đến sự phân hủy nhanh trong vài giờ, thậm chí cả khi ở nhiệt độ thấp hơn, điều này làm cho nó không thích hợp đối với quy trình sản xuất. Sử dụng hỗn hợp DMSO/ nước (1:1) cho kết quả tốt hơn một chút ở nhiệt độ cao hơn. Sự tốt hơn một chút này được thấy khi sử dụng chế phẩm DMSO/ nước 3:1. Hợp chất này ổn định trong DMSO khan, do đó dung môi này được chọn cho quy trình sản xuất.

Liên quan đến việc chọn lựa các dung môi được dùng cho dược phẩm cuối cùng để dùng ngay, hệ propylen glycol/ glyxerin khan cho độ ổn định tốt hơn. Dược phẩm cuối cùng được bào chế bằng cách thay thế lượng nhỏ propylen glycol và glyxerin bằng etanol, để tạo ra hệ propylen glycol/ glyxerin/ etanol (65:25:10). Dược phẩm này là dược phẩm duy nhất trong một số dược phẩm được thử nghiệm mà cho thấy sự cải

thiện lớn về độ hòa tan và độ ổn định của hợp chất ở cả nhiệt độ cao và nhiệt độ thấp.

Dựa trên các thử nghiệm được thực hiện trong nước, sự cải thiện độ ổn định gấp 10 lần có thể được trông đợi khi thay đổi từ điều kiện bảo quản ở nhiệt độ trong phòng sang điều kiện bảo quản ở nhiệt độ lạnh hơn ($2-8^{\circ}\text{C}$). Tuy nhiên, trong hệ propylen glycol/ glycerin/ etanol (65:25:10), sự thay đổi điều kiện bảo quản từ ấm sang lạnh hơn cho thấy mức độ cải thiện độ ổn định gấp 40 lần. Tác dụng kết hợp làm lạnh cộng với bổ sung etanol vào hệ propylen glycol/ glycerin cho thấy mức cải thiện độ ổn định gấp 66 lần. Mức độ cải thiện độ ổn định của SGI-110 rất lớn này trong quá trình bảo quản có thể đã không được mong đợi.

Hệ propylen glycol/ glycerin/ etanol (65:25:10) cung cấp SGI-110 dưới dạng dung dịch, dung dịch này trơn, chảy tự do, và thích hợp chảy qua kim tiêm cỡ 23 mà không có các rắc rối hoặc tắc nghẽn. Độ hòa tan tối đa của hợp chất này trong môi trường này được xác định là khoảng 130-150mg/ml, giá trị này là lớn hơn nhiều so với độ tan trong nước là 20mg/ml. Độ ổn định hóa học tốt cùng với độ hòa tan tuyệt vời đã xác nhận hệ glycol/ glycerin/ etanol (65:25:10) là chế phẩm để sử dụng trong các thử nghiệm ở động vật.

Ví dụ 4: Các thử nghiệm ở động vật sử dụng chế phẩm theo ví dụ 3

Chế phẩm glycol/ glycerin/ etanol (65:25:10) theo ví dụ 3, chứa 100mg/ml đương lượng bazơ tự do của muối natri của hợp chất I-1 được dùng cho động vật sống. chế phẩm dexitabin tương tự được sử dụng để so sánh (lọ chứa 50mg bột dexitabin đông khô được hoàn nguyên với nước để tiêm đến nồng độ 10mg/ml và được dùng làm dịch truyền bằng cách pha loãng trong các túi dịch truyền).

Việc dùng liều đơn chứa chế phẩm cho khí (10mg/kg) cho nồng độ sinh lý của hợp chất I-1 cao hơn (C_{max} 1,130ng/ml; AUC là 1,469 ng•giờ/ml) so với dexitabin (C_{max} 160 ng/ml; AUC là 340 ng•giờ/ml).

Trong thử nghiệm dùng liều nhắc lại, khí được dùng liều dưới da 3 lần hàng tuần (3mg/kg). Ở ngày thứ 15, nồng độ toàn thân của hợp chất I-1 (C_{max} 181ng/ml; AUC là 592 ng•giờ/ml) là lớn hơn so với nồng độ toàn thân của dexitabin (C_{max} 28ng/ml; AUC là 99 ng•giờ/ml). Các thông số dược động lực học của các hợp chất này không thay đổi đáng kể trong suốt thời gian quan sát 22 ngày, và sự tích tụ tối thiểu được phát hiện (FIG.1 và 2). Các tính chất dược động lực học (không được thể hiện) được giám sát và

có thể chấp nhận được. Các mẫu máu được lấy định kỳ để thử nghiệm sự methyl hóa ADN LINE-1.

Sự giảm mức methyl hóa ADN LINE-1, yếu tố chỉ báo hoạt tính sinh học, được quan sát, và sự giảm tiếp tục cho đến khi kết thúc thử nghiệm vào ngày thứ 22. Mức methyl hóa LINE-1 quan sát được khác đáng kể ($p < 0,05$) so với mức methyl hóa quan sát được trước khi bắt đầu dùng liều (FIG.3).

Chế phẩm được dung nạp tốt trong các loài được thử nghiệm. Ba chế độ dùng liều được đánh giá: a) liều dưới da một lần hàng ngày ở chuột và thỏ trong 5 ngày; b) liều dưới da một lần hàng tuần ở thỏ và khỉ *cynomolgus* trong 28 ngày để dung nạp; và c) liều dưới da hai lần hàng tuần ở chuột trong 28 ngày để dung nạp. Thỏ dung nạp chế độ dùng liều 5 ngày tốt, tới liều tối đa 1,5mg/kg/ngày, tương đương với 18mg/kg/ngày ở người, và chế độ dùng liều hàng tuần tới liều tối đa là 1,5mg/kg/tuần trong 3 tuần.

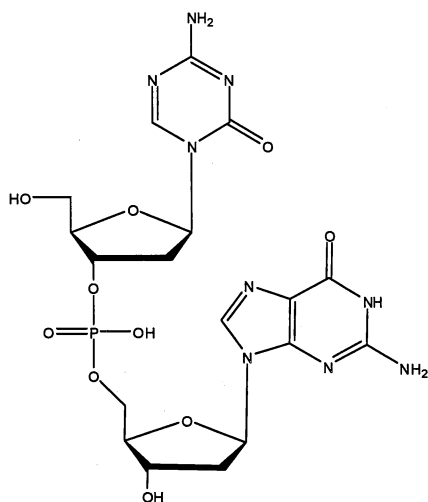
Khỉ *cynomolgus* dung nạp chế độ dùng liều hàng tuần tốt, tới liều tối đa là 3,0mg/kg/tuần trong 3 tuần, tương đương với liều 36mg/kg/tuần ở người. Chuột dung nạp liều cao hơn nhiều: 30mg/kg/ngày trong 5 ngày; và 20mg/kg hai lần hàng tuần trong 4 tuần.

Độc tính chính trong tất cả các thử nghiệm là gây triệt tử. Tuy nhiên, chế phẩm được thử nghiệm dưới da biểu hiện gây triệt tử ít hơn và hồi phục nhanh hơn.

Ví dụ 5: Bào chế kit để sử dụng theo sáng chế

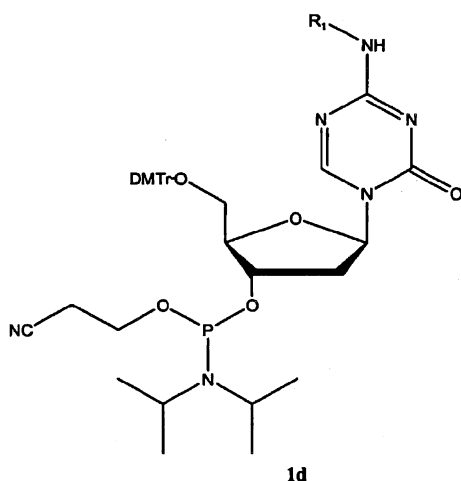
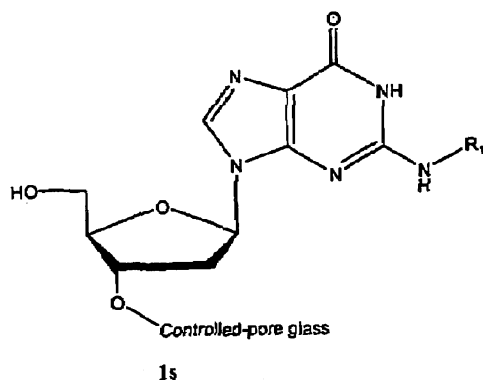
Lọ thứ nhất: Hợp chất có công thức I-1 để tiêm, 100mg

Muối natri của hợp chất có công thức:



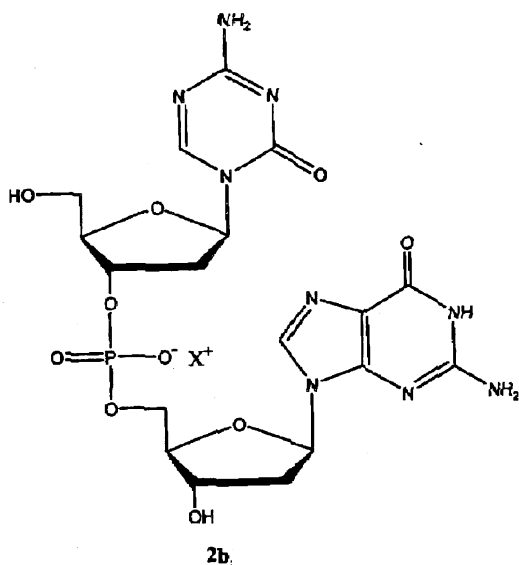
I-1

(ở đây còn gọi là “SGI-110”) được điều chế như được mô tả trong patent Mỹ số 7700567 (nội dung của patent này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn – xem, cụ thể, cột 41, hai đoạn cuối cùng) bằng cách kết hợp hợp chất có công thức 1s (trong đó R_1 = nhóm bảo vệ cacbamat) với hợp chất có công thức 1d khóa việc xây dựng phosphoramidit:



Hợp chất có công thức 1s nền rắn CPG được liên kết với 2'-đeoxyguanosin được bảo vệ (trong đó R_1 = *tert*-butyl phenoxyaxetyl) được kết hợp với 2-2,5 đương lượng phenoxyaxetyl dexitabin phosphoramidit (1d, trong đó R_1 = phenoxyaxetyl) với sự có mặt của 60% dung dịch hoạt hóa benzylthiotetrazol 0,3M (trong axetonitril) trong 10 phút. Nền rắn CPG chứa DpG dinucleotit được bảo vệ được xử lý bằng 20ml dung dịch K_2CO_3 50mM trong metanol trong 1 giờ và 20 phút. Sản phẩm kết hợp được oxy hóa, nhóm bảo vệ được loại bỏ, rửa, lọc, và tinh chế bằng thiết bị HPLC ÄKTA Explorer 100 với cột điều chế Gemini C18 (Phenomenex), 250x21,2 mm, 10 μ m với cột bảo vệ (Phenomenex), 50x21,2mm, 10 μ m, với dung dịch triethylamoni axetat 50mM (độ pH bằng 7) trong nước MilliQ (Pha động A) và 80% axetonitril trong nước MilliQ (Pha động B), với 2% đến 20/25% Pha động B trong các thể tích cột.

ESI-MS (-ve) của DpG đinucleotit có công thức 2b:



nếu X^+ = triethylamoni (khối lượng chính xác được tính cho hợp chất $C_{18}H_{24}N_9O_{10}P$ trung tính là 557,14), biểu thị m/z 556,1 $[M-H]^-$ và 1113,1 đối với $[2M-H]^-$ (xem phổ khối trên FIG.31 của patent Mỹ số 7700567).

Muối natri của hợp chất có công thức I-1 (tức là DpG đinucleotit có công thức 2b, trong đó X^+ = natri; SGI-110) thu được bằng cách tái hòa tan muối triethylamoni trong 4ml nước, 0,2ml dung dịch $NaClO_4$ 2M. Khi bổ sung 36ml axeton, đinucleotit này kết tủa. Dung dịch này được giữ ở $-20^\circ C$ trong vài giờ và được ly tâm ở tốc độ 4000 vòng/phút trong 20 phút. Phần nổi được loại bỏ và chất rắn được rửa bằng 30ml axeton sau đó ly tâm thêm ở tốc độ 4000 vòng/phút trong 20 phút. Kết tủa được hòa tan trong nước và được làm đông khô, sản phẩm biểu thị m/z 556,0 $[M-H]^-$ (xem phổ khối ở FIG.36 của patent Mỹ số 7700567).

Tạo hợp chất và nạp chế phẩm khối lượng lớn

Dựa trên giá trị thử nghiệm của lô SGI-110, lượng SGI-110 và DMSO cần thiết được tính và xác định trọng lượng một cách thích hợp cho quy mô mẻ dự kiến.

2. SGI-110 được hòa tan trong DMSO bằng cách sử dụng máy trộn trên cao trong bình thép không gỉ (stainless steel - SS) kích thước thích hợp.

3. Khi hoàn thành việc hòa tan được chất trong DMSO, các mẫu dung dịch khối lượng lớn được kiểm tra bằng cách sử dụng phương pháp xử lý UV hoặc HPLC để xác định rằng lượng SGI-110 là nằm trong khoảng từ 95 đến 105% nồng độ mục tiêu.

4. Dung dịch khối lượng lớn được lọc qua chuỗi hai máy lọc tiệt trùng 0,2 micron

đã được tiệt trùng trước mà thích hợp với DMSO, và được thu gom vào bình hoãn xung bằng thép không gỉ dung tích 2L.

Tốc độ lọc được điều chỉnh liên tục bằng cách giám sát bằng mắt lượng sẵn sàng để nạp vào trong bình hoãn xung.

Một gam của dung dịch khối lượng lớn được lọc này được nạp vào mỗi lọ thủy tinh trong, đã được khử tác nhân gây sốt, dung tích 5ml và thao tác này được tiếp tục cho đến khi toàn bộ dung dịch khối lượng lớn được lọc này được nạp hết.

Mỗi lọ được đẩy nút từng phần và tự động trên dây chuyền nạp bằng nút đông khô cao su clobutyl, được phủ flopolyme mà đã được tiệt trùng trước.

Các lọ sản phẩm được chuyển sang máy làm làm đông khô trong điều kiện chuyển giao vô trùng để bắt đầu chu trình làm đông khô.

Quy trình làm đông khô đẩy nắp lọ

Các lọ được làm đông khô bằng cách sử dụng các thông số chu trình dưới đây.

Kết đông	Làm khô sơ cấp/thứ cấp					Điểm cài đặt cuối cùng (điều kiện đẩy nút)
Nhiệt độ	-40°C	-5°C	10°C	30°C	60°C	25°C
Thời gian đạt nhiệt độ quy định (Ramp time) (phút)	133	117	50	67	100	-
Thời gian (phút)	360	1440	1440	1440	1440	Giữ
Độ chân không (mTorr)	- (lưu ý: 100 mT cho môi trường chân không ở -50°C)	100	100	50	50	50 mT trước khi nạp lại

2. Khi hoàn thành chu trình đông khô, máy làm đông khô được nạp lại khí nitơ, và các lọ được đẩy nút hoàn toàn và tự động.

3. Các lọ được vận chuyển theo cách vô trùng đến máy cách ly, tại đó mỗi lọ được đóng nắp tự động bằng nắp lọ loại giặt ra bằng nhôm xanh.

4. Các lọ được xét duyệt bằng mắt trước khi tiến hành lấy mẫu cho công đoạn kiểm tra phát hành, và dán nhãn và đóng gói. Các lọ được giữ ở nhiệt độ trong khoảng từ 2 đến 8°C cho đến khi tiến hành kiểm tra.

Dán nhãn và đóng gói

Mỗi lọ được dán nhãn theo nội dung đã duyệt, và được đóng gói riêng rẽ thành túi lá nhôm hàn nhiệt với chất hút nước trong môi trường chân không. Túi lá nhôm được dán nhãn bên ngoài với nhãn giống như đã được sử dụng cho lọ sản phẩm. Các lọ được dán nhãn và đóng gói được bảo quản ở 2-8°C cho đến khi được đem phân phối tiếp.

DMSO dư

Bốn mẻ quy mô giống nhau gồm 3000 lọ/mẻ được bào chế bằng cách sử dụng quy trình giống nhau như nêu trên. DMSO được loại bỏ một cách nhất quán đến lượng dư dưới đây để tạo ra bột rắn màu trắng, điều này chứng minh rằng quy trình làm đông khô SGI-110 ra khỏi DMSO như nêu trên tạo ra bột SGI-110 an toàn và ổn định về mặt hóa học:

Số thứ tự	DMSO (mg/lọ)
Mẻ 1	25
Mẻ 2	28
Mẻ 3	27
Mẻ 4	29

Bình thứ hai: Dịch pha loãng SGI-110 để hoàn nguyên, 3ml

Tạo hợp chất và nạp chế phẩm khối lượng lớn

Lượng đã được tính (xem bảng dưới đây) của propylen glycol, etanol, và glycerin theo thứ tự nêu trên được bổ sung vào bình thép không gỉ kích thước thích hợp được trang bị máy trộn trên cao.

	% mỗi thành phần	Loại	Chức năng
Propylen glycol	65	NF, PhEur	Dung môi
Glyxerin	25	NF, PhEur	dung môi
Rượu/Etanol	10	USP, PhEur	Tác nhân làm loãng

2. Thực hiện trộn từng đợt trong suốt quá trình bổ sung các thành phần sau đó trộn ít nhất là 30 phút để tạo ra dung dịch được trộn kỹ.

3. Dung dịch khối lượng lớn được lọc qua chuỗi hai máy lọc tiệt trùng 0,2 micron thích hợp đã được tiệt trùng trước, và được thu gom vào bình hoãn xung bằng thép không gỉ dung tích 2L.

4. Tốc độ lọc được điều chỉnh bằng cách giám sát bằng mắt lượng sẵn sàng để nạp vào bình hoãn xung.

Ít nhất là 3,15g, tương đương với 3,0ml, dung dịch khối lượng lớn đã được lọc được nạp vào mỗi lọ thủy tinh trong, đã được khử tác nhân gây sốt, dung tích 5ml, sau đó đậy nút tự động bằng cách sử dụng các tấm chắn cao su clobutyl được phủ flopolyme.

Các lọ được đậy nút này được đậy nắp bằng các nắp lọ loại giạt ra bằng nhôm trắng đã tiệt trùng.

Các lọ được xét duyệt bằng mắt trước khi tiến hành lấy mẫu cho công đoạn kiểm tra phát hành và dán nhãn và được bảo quản ở nhiệt độ trong khoảng từ 2 đến 30°C cho đến khi tiến hành kiểm tra.

Dán nhãn và đóng gói

Mỗi lọ dịch pha loãng được dán nhãn theo nội dung đã được duyệt. Các lọ được dán nhãn được bảo quản ở 2-30°C cho đến khi được đem phân phối tiếp.

Ví dụ 6: Hoạt tính chống khối u của SGI-110 kết hợp với kháng thể kháng CTLA-4

Tác dụng chống khối u của SGI-110 kết hợp với kháng thể kháng CTLA-4 của chuột được đánh giá trên mô hình bệnh ung thư vú ở chuột.

Nguyên liệu và phương pháp

TS/A là các tế bào caxinom vú ở chuột có nguồn gốc từ bệnh ung thư tuyến vú gây miễn dịch, biệt hóa nhẹ tự phát ở chuột cái BALB/c 20 tháng tuổi.

Kháng thể kháng CTLA-4 của chuột là mAb CTLA-4 9H10, mua từ BioXCell (West Lebanon, NH, USA), dùng với liều 100µg/con chuột với lượng 200µl (trong phúc mạc).

Chuột Balb/c (6 con/nhóm) được tiêm SQ vào vùng sườn các tế bào caxinom vú ở chuột TS/A (2×10^5).

Các con chuột mang mảnh ghép khối u có thể sờ thấy được (đường kính $\geq 0,2$ cm) được tiêm dưới da liều 3mg/kg thể trọng hoạt chất SGI-110 đã được hoàn nguyên QDx5 (hàng ngày trong năm ngày) ở ngày 1-5, một mình hoặc kết hợp với các kháng thể đơn dòng (mAb) kháng CTLA-4 của chuột với liều 100µg/con chuột, đồng thời (ở ngày 2, 5 và 8) hoặc kế tiếp (ở ngày 8, 11 và 14).

Các con chuột đối chứng được tiêm dịch pha loãng để hoàn nguyên. Hiệu lực và khả năng dung nạp lần lượt được đánh giá bằng các số đo thể tích khối u và thể trọng.

Kết quả và kết luận

Kết quả được thể hiện trên bảng FIG.5. Tác dụng chống khối u tốt nhất đạt được ở các con chuột được điều trị bằng SGI-110 sau đó bằng mAb kháng CTLA-4. Trong trường hợp này, thấy rằng trọng lượng khối u nhỏ hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với trọng lượng khối u của các con chuột đối chứng, thể hiện, ở ngày 26, mức độ ức chế sự phát triển khối u là 84,4%. Hơn nữa, mức giảm trọng lượng khối u đáng kể, nhưng thấp hơn, diễn ra ở các con chuột được điều trị bằng SGI-110 so với các con chuột đối chứng, với mức độ ức chế sự phát triển khối u là 62,9% ở ngày 26. Không thấy có sự khác biệt về mức độ ức chế sự phát triển khối u giữa các con chuột được điều trị bằng SGI-110 kết hợp với sử dụng đồng thời mAb kháng CTLA-4 và các con chuột chỉ được điều trị bằng SGI-110. Không thấy có sự giảm thể trọng (số liệu không được thể hiện) ở tất cả các con chuột được khảo sát, chứng minh khả năng dung nạp tốt của tất cả các chế độ điều trị được thử nghiệm.

Do đó, mối biểu sinh với SGI-110 sau đó là phong bế CTLA-4 cung cấp hoạt tính chống khối u được cải thiện.

Ví dụ 7: Hoạt tính chống khối u của hai chu trình dùng lần lượt SGI-110 và kháng CTLA-4

Tác dụng chống khối u của hai chu trình dùng lần lượt SGI-110 sau đó là mAb kháng CTLA-4 của chuột 9H10 cũng được đánh giá trên mô hình TS/A chuột.

Nguyên liệu và phương pháp

Các con chuột Balb/c (6 con/nhóm) được tiêm SQ các tế bào caxinom vú của chuột TS/A (2×10^5) vào vùng sườn.

Các con chuột mang mảnh ghép khối u có thể sờ thấy (đường kính $\geq 0,2$ cm) được điều trị bằng hai chu trình dùng SGI-110 được hoàn nguyên QDx5 với liều 3mg/kg (tiêm dưới da hàng ngày trong năm ngày) ở ngày 1-5 và 21-25, một mình hoặc kết hợp với hai chu trình kế tiếp dùng các kháng thể đơn dòng (mAb) kháng CTLA-4 của chuột với liều 100 μ g/con chuột, ở ngày 8, 11, 14, 28, 31 và 34.

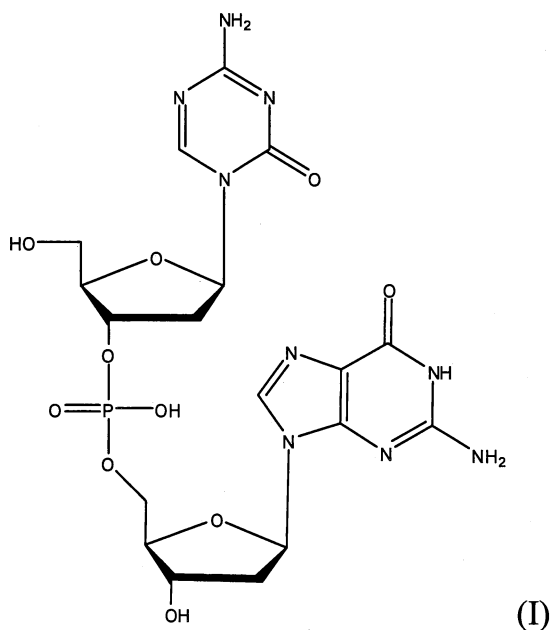
Các con chuột đối chứng được tiêm dung dịch pha loãng để hoàn nguyên. Hiệu lực và khả năng dung nạp được đánh giá lần lượt bằng các số đo thể tích khối u và thể trọng.

Kết quả và kết luận

Kết quả được thể hiện trên FIG.6: hai chu trình dùng lần lượt SGI-110 và kháng thể kháng CTLA4 là có hiệu lực và gia tăng tác dụng chống khối u của kháng thể. Các số đo thể trọng (không được thể hiện) thể hiện rằng việc điều trị được dung nạp tốt.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm kết hợp bao gồm hợp chất có công thức I hoặc muối được dụng của nó, trong đó hợp chất có công thức:



và một hoặc nhiều thành phần điều trị phụ trợ, trong đó thành phần điều trị phụ trợ là chất hoạt hóa tế bào T.

2. Chế phẩm kết hợp theo điểm 1, trong đó muối là muối natri.
3. Chế phẩm kết hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm trên, trong đó hợp chất có công thức I hoặc muối của nó là ở dạng chế phẩm, được hòa tan trong dung môi khan bao gồm propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 45% đến 85%; glycerin với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 45%; và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 30%.
4. Chế phẩm kết hợp theo điểm 3, trong đó dung môi bao gồm propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 65% đến 70%; glycerin với lượng nằm trong khoảng từ 25% đến 30%; và etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 10%.
5. Chế phẩm kết hợp theo điểm 4, trong đó dung môi bao gồm propylen glycol với lượng từ 65% đến 70%; glycerin với lượng từ 25% đến 30%; và etanol với lượng cân bằng bất kỳ.
6. Chế phẩm kết hợp theo điểm 3, trong đó dung môi bao gồm propylen glycol với lượng khoảng 65%; glycerin với lượng khoảng 25%; và etanol với lượng khoảng 10%.

7. Chế phẩm kết hợp theo điểm 6, trong đó dung môi là propylen glycol với lượng 65%; glycerin với lượng 25%; và etanol với lượng 10%.

8. Chế phẩm kết hợp theo điểm 4, trong đó dung môi bao gồm propylen glycol với lượng khoảng 70% và glycerin với lượng khoảng 30%, không chứa etanol.

9. Chế phẩm kết hợp theo điểm 3, trong đó dung môi bao gồm:

propylen glycol với lượng từ 45% đến 85%; glycerin với lượng từ 5% đến 45%; và etanol với lượng từ 0% đến 30%; hoặc

propylen glycol với lượng từ 65% đến 70%; glycerin với lượng từ 25% đến 30%; và etanol với lượng từ 0% đến 10%.

10. Chế phẩm kết hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 9, trong đó hợp chất có công thức I hoặc muối của nó có trong chế phẩm ở nồng độ nằm trong khoảng từ 80mg/ml đến 110mg/ml, tùy ý khoảng 100mg/ml.

11. Chế phẩm kết hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 10, trong đó chế phẩm này còn chứa dimetyl sunfoxit, tùy ý với tỷ lệ dimetyl sunfoxit:hợp chất bằng 2:1; 1:1; 0,5:1; 0,3:1 hoặc 0,2-0,3:1.

12. Chế phẩm kết hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 11, trong đó chế phẩm này thích hợp để dùng bằng cách tiêm dưới da.

13. Kit chứa:

lọ thứ nhất chứa hợp chất có công thức I hoặc muối của nó như được xác định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 2;

lọ thứ hai chứa dung môi khan như được xác định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 9; và

thành phần điều trị phụ trợ như được xác định theo điểm 1.

14. Kit theo điểm 13, trong đó hợp chất có công thức I là ở dạng bột khan.

15. Kit theo điểm 14, trong đó hợp chất có công thức I được làm đông khô.

16. Kit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 13 đến 15, trong đó lọ thứ nhất chứa hợp chất có công thức I hoặc muối của nó với lượng nằm trong khoảng từ 80mg đến 110mg.

17. Kit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 13 đến 16, trong đó lọ thứ nhất chứa hợp chất có công thức I hoặc muối của nó với lượng khoảng 100mg.

18. Quy trình bào chế được phẩm bao gồm bước hòa tan hợp chất có công thức I hoặc muối của nó như được xác định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 2 trong dung môi khan như được xác định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 9 và kết hợp hợp chất có công thức I đã được hòa tan này với thành phần điều trị phụ trợ như được xác định theo điểm 1.

19. Quy trình theo điểm 18, trong đó quy trình này có thêm các bước sơ bộ:

(a) hòa tan hợp chất có công thức I hoặc muối của nó trong dimethyl sulfoxide để tạo ra dung dịch chứa hợp chất có công thức I trong dimethyl sulfoxide; và

(b) làm đông khô dung dịch thu được ở bước (a) để tạo ra hợp chất có công thức I hoặc muối của nó dưới dạng bột khan.

20. Quy trình sản xuất được phẩm bao gồm hợp chất có công thức I hoặc muối của nó như được xác định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 2 dưới dạng bột khan, quy trình này bao gồm bước hòa tan hợp chất có công thức I hoặc muối của nó trong dimethyl sulfoxide để tạo ra dung dịch trong dimethyl sulfoxide, làm đông khô dung dịch này để tạo ra hợp chất có công thức I hoặc muối của nó dưới dạng bột khan và sau đó kết hợp bột này với thành phần điều trị phụ trợ như được xác định theo điểm 1.

21. Quy trình theo điểm 20, trong đó bột khan chứa dimethyl sulfoxide dư.

22. Quy trình theo điểm 21, trong đó dimethyl sulfoxide dư hiện diện với lượng từ 0,1 đến 2000mg/g hợp chất có công thức I hoặc muối của nó.

23. Quy trình theo điểm 22, trong đó dimethyl sulfoxide dư hiện diện với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1000mg/g; từ 0,1 đến 600mg/g; từ 0,1 đến 500mg/g; từ 0,1 đến 400mg/g; từ 0,1 đến 300mg/g hoặc khoảng 200 đến khoảng 300mg/g hợp chất có công thức I hoặc muối của nó.

24. Quy trình theo điểm 23, trong đó dimethyl sulfoxide dư hiện diện với lượng 200 đến 300mg/g hợp chất có công thức I hoặc muối của nó.

25. Bột khan chứa chủ yếu là hợp chất có công thức I hoặc muối của nó như được xác định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 2 và dimethyl sulfoxide, dimethyl sulfoxide hiện diện với lượng $\leq 200\%$ tính theo trọng lượng, kết hợp với thành phần

điều trị phụ trợ như được xác định theo điểm 1.

26. Bột theo điểm 25, trong đó dimetyl sunfoxit hiện diện với lượng khoảng từ 0,1% đến 100%, khoảng từ 0,1% đến 60%, khoảng từ 0,1% đến 50%, khoảng từ 0,1% đến 40% hoặc khoảng từ 0,1% đến 30% tính theo trọng lượng dimetyl sunfoxit/hợp chất có công thức I hoặc muối của nó.

27. Bột theo điểm 26, trong đó dimetyl sunfoxit hiện diện với lượng nằm trong khoảng từ 20 đến 30% tính theo trọng lượng dimetyl sunfoxit/hợp chất có công thức I hoặc muối của nó.

28. Chế phẩm kết hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12, trong đó thành phần điều trị phụ trợ bao gồm chất hoạt hóa tế bào T, được chọn từ các chất chủ vận hoặc các kháng thể đối với: ICOS, GITR, MHC, CD80, CD86, Galectin 9 và LAG-3.

29. Kit theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 13 đến 17, trong đó thành phần điều trị phụ trợ bao gồm chất hoạt hóa tế bào T, được chọn từ các chất chủ vận hoặc các kháng thể đối với: ICOS, GITR, MHC, CD80, CD86, Galectin 9 và LAG-3.

30. Quy trình theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 18 đến 24, trong đó thành phần điều trị phụ trợ bao gồm chất hoạt hóa tế bào T, được chọn từ các chất chủ vận hoặc các kháng thể đối với: ICOS, GITR, MHC, CD80, CD86, Galectin 9 và LAG-3.

31. Bột theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 25 đến 27, trong đó thành phần điều trị phụ trợ bao gồm chất hoạt hóa tế bào T, được chọn từ các chất chủ vận hoặc các kháng thể đối với: ICOS, GITR, MHC, CD80, CD86, Galectin 9 và LAG-3.

32. Chế phẩm kết hợp theo điểm 28, trong đó chất hoạt hóa tế bào T là kháng thể, được chọn từ: (a) chất chủ vận CD137; (b) chất chủ vận CD40; (c) chất chủ vận OX40; (d) mAb PD-1; (e) mAb PD-L1; (f) mAb PD-L2; (g) mAb CTLA-4; và (h) các kết hợp của các phương án (a) đến (g).

33. Kit theo điểm 29, trong đó chất hoạt hóa tế bào T là kháng thể, được chọn từ: (a) chất chủ vận CD137; (b) chất chủ vận CD40; (c) chất chủ vận OX40; (d) mAb PD-1; (e) mAb PD-L1; (f) mAb PD-L2; (g) mAb CTLA-4; và (h) các kết hợp của các phương án (a) đến (g).

34. Quy trình theo điểm 30, trong đó chất hoạt hóa tế bào T là kháng thể, được chọn từ: (a) chất chủ vận CD137; (b) chất chủ vận CD40; (c) chất chủ vận OX40; (d) mAb

PD-1; (e) mAb PD-L1; (f) mAb PD-L2; (g) mAb CTLA-4; và (h) các kết hợp của các phương án (a) đến (g).

35. Bột theo điểm 31, trong đó chất hoạt hóa tế bào T là kháng thể, được chọn từ: (a) chất chủ vận CD137; (b) chất chủ vận CD40; (c) chất chủ vận OX40; (d) mAb PD-1; (e) mAb PD-L1; (f) mAb PD-L2; (g) mAb CTLA-4; và (h) các kết hợp của các phương án (a) đến (g).

36. Chế phẩm kết hợp theo điểm 32, trong đó kháng thể bao gồm kháng thể được chọn từ: (a) Tremelimumab; (b) Ipilimumab; (c) Nivolumab; (d) Lambrolizumab; (e) BMS-936559; (f) MEDI4736; (g) MPDL3280A; và (h) PF-05082566.

37. Kit theo điểm 33, trong đó kháng thể bao gồm kháng thể được chọn từ: (a) Tremelimumab; (b) Ipilimumab; (c) Nivolumab; (d) Lambrolizumab; (e) BMS-936559; (f) MEDI4736; (g) MPDL3280A; và (h) PF-05082566.

38. Quy trình theo điểm 34, trong đó kháng thể bao gồm kháng thể được chọn từ: (a) Tremelimumab; (b) Ipilimumab; (c) Nivolumab; (d) Lambrolizumab; (e) BMS-936559; (f) MEDI4736; (g) MPDL3280A; và (h) PF-05082566.

39. Bột theo điểm 35, trong đó kháng thể bao gồm kháng thể được chọn từ: (a) Tremelimumab; (b) Ipilimumab; (c) Nivolumab; (d) Lambrolizumab; (e) BMS-936559; (f) MEDI4736; (g) MPDL3280A; và (h) PF-05082566.

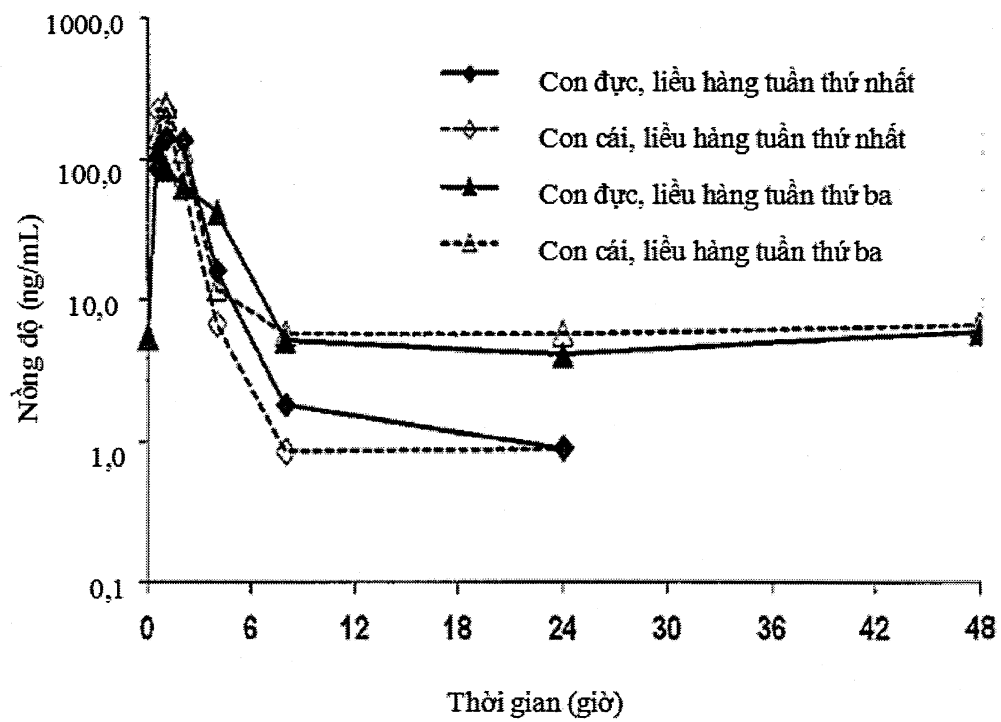


FIG.1

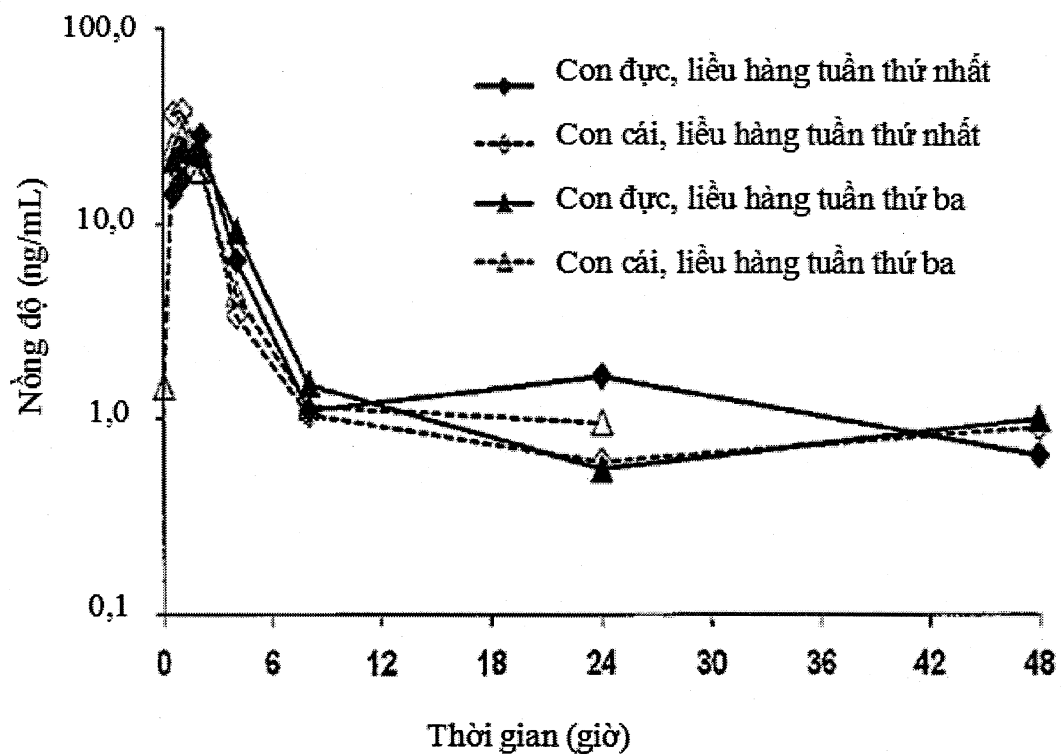


FIG.2

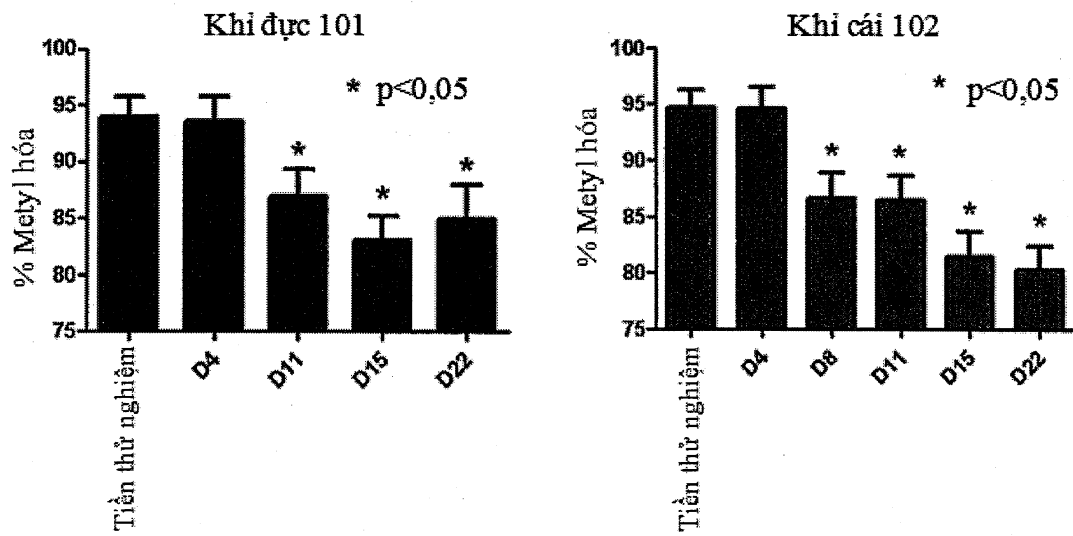


FIG.3

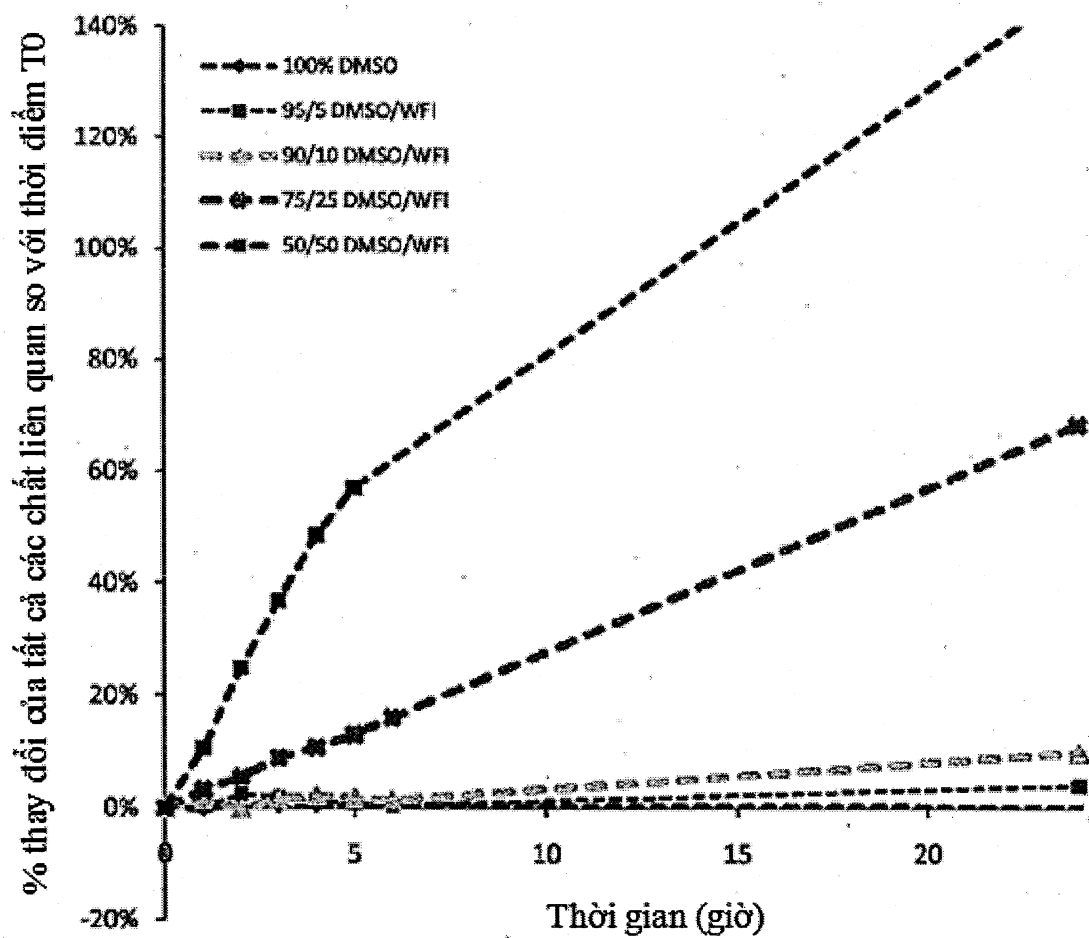


FIG.4

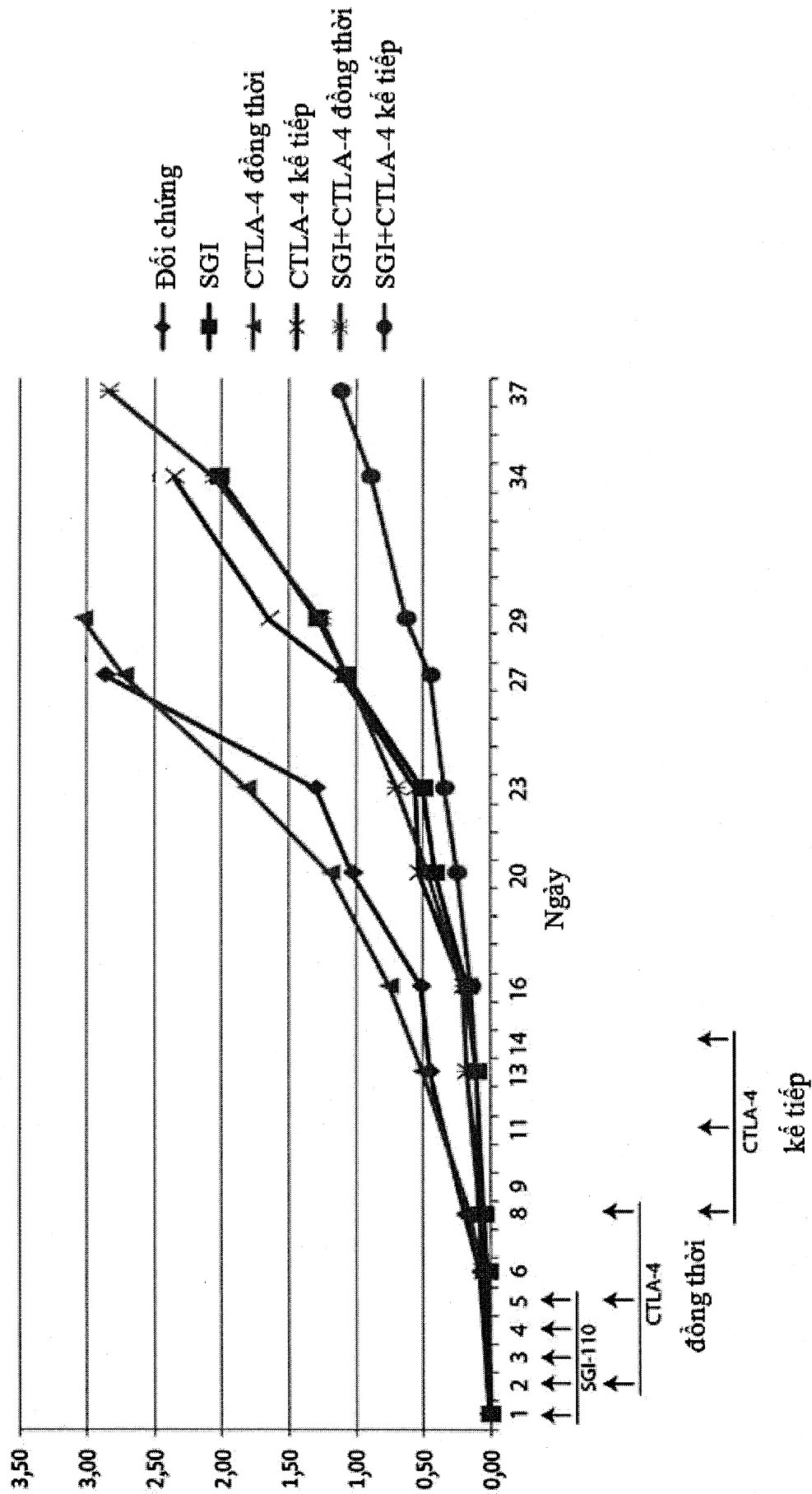


FIG.5

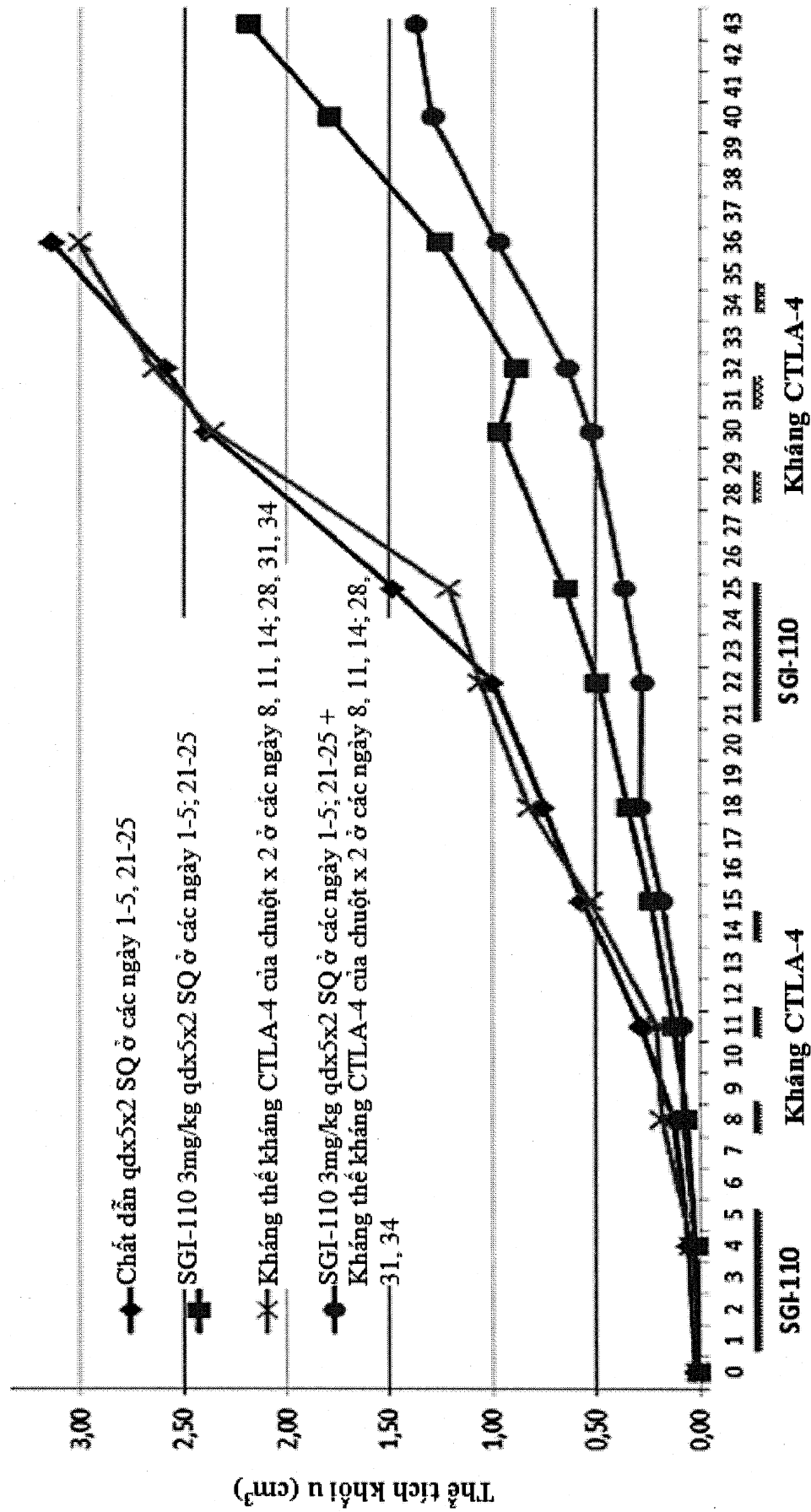


FIG.6