



(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)



1-0025160

(51)⁷ A61K 31/337; A61K 31/513; A61K 31/517; A61P 35/00; A61K 31/555; A61K 39/395; A61K 45/06; A61K 31/416; A61K 31/5355 (13) B

(21) 1-2010-02700

(22) 10/03/2009

(86) PCT/US2009/036608 10/03/2009

(87) WO2009/117277 24/09/2009

(30) 61/037,410 18/03/2008 US

(45) 25/08/2020 389

(43) 25/09/2011 282A

(73) GENENTECH, INC. (US)

1 DNA Way, South San Francisco, CA 94080, United States of America

(72) BERRY, Leanne (US); PHILLIPS, Gail, Lewis (US); SLIWKOWSKI, Mark, X. (US).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) DƯỢC PHẨM CHỨA TRASTUZUMAB-MCC-DM1 VÀ GDC-0941 HOẶC GNE-390

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa trastuzumab-MCC-DM1, và chất hoá trị liệu. Các dược phẩm này bao gồm cả chất đồng phân lập thể, chất đồng phân hình học, tautome, solvat, chất chuyển hóa và muối dược dụng của chúng, là hữu ích để ức chế sự phát triển tế bào khối u và dùng để điều trị các rối loạn như bệnh ung thư do HER2 và KDR (thụ thể VEGFR 1) gây ra.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Nhìn chung sáng chế đề cập đến các tổ hợp dược phẩm chứa các hợp chất có hoạt tính chống lại bệnh ung thư biểu hiện ErbB2. Các tổ hợp dược phẩm này hữu dụng để điều trị bệnh ung thư biểu hiện ErbB2.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Thụ thể HER2 (ErbB2) tyrosin là thành viên của họ thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì (epidermal growth factor receptor-EGFR) của thụ thể chuyển màng. Sự biểu hiện quá mức của HER2 được quan sát thấy ở khoảng 20% bệnh ung thư vú ở người và có liên quan đến sự phát triển nhanh và kết quả lâm sàng hạn chế liên quan đến các khối u này (Slamon et al (1987) Science 235:177-182).

Trastuzumab (CAS 180288-69-1, HERCEPTIN®, huMAb4D5-8, rhuMAb HER2, Genentech) được nhân tính hoá có nguồn gốc từ ADN tái tổ hợp, IgG1 kappa, phiên bản kháng thể đơn dòng của kháng thể HER2 của chuột mà gắn kết chọn lọc với ái lực cao trong thử nghiệm trên tế bào ($K_d = 5\text{nM}$) với miền ngoại bào của yếu tố sinh trưởng biểu bì thụ thể 2 protein của người, HER2 (ErbB2) (US 5677171; US 5821337; US 6054297; US 6165464; US 6339142; US 6407213; US 6639055; US 6719971; US 6800738; US 7074404; Coussens et al (1985) Science 230:1132-9; Slamon et al (1989) Science 244:707-12; Slamon et al (2001) New Engl. J. Med. 344:783-792). Trastuzumab chứa các vùng khung của người với các vùng quyết định bổ sung của kháng thể của chuột (4D5) mà gắn kết với HER2. Trastuzumab gắn kết với kháng nguyên HER2 và do đó ức chế sự phát triển của tế bào ung thư. Trastuzumab đã thể hiện, trong thử nghiệm *in vitro* và ở động vật, ức chế sự tăng sinh của tế bào khối u của người mà biểu hiện quá mức HER2 (Hudziak et al (1989) Mol Cell Biol 9:1165-72; Lewis et al (1993) Cancer Immunol Immunother; 37:255-63; Baselga et al (1998) Cancer Res. 58:2825-2831). Trastuzumab là chất trung gian độc tế bào phụ thuộc kháng thể, ADCC (Lewis et al (1993) Cancer Immunol Immunother 37(4):255-263; Hotaling et al (1996) [abstract]. Proc. Annual Meeting Am Assoc Cancer Res; 37:471; Pegram MD, et al (1997) [abstract]. Proc Am Assoc Cancer Res; 38:602; Sliwkowski et al (1999) Seminars in Oncology 26(4), Suppl 12:60-70; Yarden Y. và Sliwkowski, M. (2001) Nature Reviews: Molecular Cell Biology, Macmillan Magazines, Ltd., Vol.

2:127-137).

HERCEPTIN® được chấp thuận vào năm 1998 để điều trị bệnh nhân mắc bệnh ung thư vú di căn biểu hiện quá mức ErbB2 (Baselga et al, (1996) J. Clin. Oncol. 14:737-744) mà đã nhận điều trị kháng lại bệnh ung thư kéo dài, và do đó đã được sử dụng trong hơn 300,000 bệnh nhân (Slamon DJ, et al. N Engl J Med 2001;344:783–92; Vogel CL, et al. J Clin Oncol 2002;20:719–26; Marty M, et al. J Clin Oncol 2005;23:4265–74; Romond EH, et al. T N Engl J Med 2005;353:1673–84; Piccart-Gebhart MJ, et al. N Engl J Med 2005;353:1659–72; Slamon D, et al. [tóm tắt]. Breast Cancer Res Treat 2006, 100 (Suppl 1): 52). Vào năm 2006, FDA chấp thuận HERCEPTIN® (trastuzumab, Genentech Inc.) như là một phần của chế độ điều trị chứa doxorubicin, xyclophosphamit và paclitaxel để điều trị tá dược bệnh nhân mắc bệnh ung thư vú dương tính với HER2, dương tính khối u. Trong khi sự phát triển của HERCEPTIN® cung cấp cho bệnh nhân mắc khối u dương tính HER2 có kết quả tốt hơn rõ rệt so với hoá trị liệu đơn thuần, hầu như tất cả bệnh nhân mắc khối u vú di căn dương tính với HER2 (MBC) cuối cùng sẽ tiến tới điều trị có hiệu quả. Các cơ hội vẫn còn để cải thiện hiệu quả đối với bệnh nhân mắc MBC. Mặc dù cơ chế tác dụng ngược của trastuzumab, số lượng bệnh nhân được điều trị bằng trastuzumab không thể hiện đáp ứng hoặc ngừng đáp ứng sau thời gian điều trị có lợi. Một số khối u HER2+ (dương tính HER2) không đáp ứng với HERCEPTIN® và phần lớn bệnh nhân có khối u của họ cuối cùng đáp ứng tiến triển. Có nhu cầu lâm sàng đáng kể để phát triển điều trị bệnh ung thư liên quan đến HER2 khác đối với bệnh nhân mắc khối u biểu hiện quá mức HER2 hoặc các bệnh khác liên quan đến sự biểu hiện của HER2 mà không đáp ứng, hoặc đáp ứng yếu với điều trị HERCEPTIN®.

Phương pháp khác để điều trị hướng đích kháng thể là sử dụng kháng thể để phân phối dược chất độc tố đặc hiệu đến tế bào ung thư biểu hiện kháng nguyên. Maytansinoit, dẫn xuất của dược chất maytansin chống nguyên phân, gắn kết với vi ống theo cách tương tự với dược chất vinca alkaloid (Issell BF et al (1978) Cancer Treat. Rev. 5:199-207; Cabanillas F et al. (1979) Cancer Treat Rep, 63:507–9. Tiếp hợp kháng thể-dược chất (ADC) bao gồm maytansinoid DM1 được liên kết với trastuzumab thể hiện hoạt tính chống khối u hiệu nghiệm ở các dòng tế bào khối u nhạy trastuzumab và kháng trastuzumab biểu hiện quá mức HER2 và mô hình ghép ngoại lai bệnh ung thư vú của người. Tiếp hợp của maytansinoit liên kết với kháng thể

ung thư vú của chuột kháng HER2 TA.1 qua cầu liên kết MCC có hiệu lực nhỏ hơn 200 lần so với thể tiếp hợp tương ứng với cầu liên kết disulfua (Chari et al (1992) Cancer Res. 127-133). Thể tiếp hợp kháng thể-độc chất (ADC) bao gồm maytansinoid, DM1, được liên kết với trastuzumab thể hiện hoạt tính chống khối u ở dòng tế bào khối u nhạy trastuzumab biểu hiện quá mức và kháng HER2 và mô hình ghép ngoại lai bệnh ung thư vú của người. Trastuzumab-MCC-DM1 (T-DM1) hiện đang trải qua việc đánh giá thử nghiệm lâm sàng giai đoạn II ở bệnh nhân mà bệnh của nó khó chữa bằng điều trị trực tiếp HER2 (Beeram et al (2007) “A phase I study of trastuzumab-MCC-DM1 (T-DM1), a first-in-class HER2 antibody-drug conjugate (ADC), in patients (pts) with HER2+ metastatic breast cancer (BC)”, American Society of Clinical Oncology 43rd:June 02 (Abs 1042; Krop et al, European Cancer Conference ECCO, Poster 2118, September 23-27, 2007, Barcelona; US 7097840; US 2005/0276812; US 2005/0166993).

Điều trị kết hợp trong đó hai hoặc nhiều dược chất được sử dụng cùng với nhau theo một số chế độ phân liều hoặc dạng đường dùng, thông thường có một hoặc nhiều đích: (i) làm giảm tần suất mà với tần suất này sự kháng thuốc mắc phải xuất hiện bằng cách kết hợp các dược chất với sự kháng chéo tối thiểu, (ii) làm giảm liều dược chất với độc tố không chồng chéo và điều trị tương tự để đạt được hiệu quả với tác dụng phụ ít hơn, nghĩa là gia tăng chỉ số điều trị, (iii) làm nhạy tế bào với tác dụng của một dược chất thông qua sử dụng dược chất khác, như làm thay đổi giai đoạn chu trình tế bào hoặc các đặc tính phát triển và (iv) đạt được hiệu lực tăng cường bằng cách khai thác bổ sung hoặc lớn hơn bổ sung, hiệu quả trong hoạt tính sinh học của hai dược chất (Pegram, M., et al (1999) Oncogene 18:2241-2251; Konecny, G., et al (2001) Breast Cancer Res. and Treatment 67:223-233; Pegram, M., et al (2004) J. of the Nat. Cancer Inst. 96(10):739-749; Fitzgerald et al (2006) Nature Chem. Biol. 2(9):458-466; Borisy et al (2003) Proc. Natl. Acad. Sci 100(13):7977-7982).

Phương pháp cộng tính Loewe (Chou, T.C. and Talalay, P. (1977) J. Biol. Chem. 252:6438-6442; Chou, T.C. and Talalay, P. (1984) Adv. Enzyme Regul. 22:27-55; Berenbaum, M.C. (1989) Pharmacol. Rev. 41:93-141) và phương pháp độc lập/hiệp đồng Bliss (Bliss, C.I. (1956) Bacteriol. Rev. 20:243-258; Greco et al (1995) Pharmacol. Rev. 47:331-385) là các phương pháp được sử dụng để tính toán mối quan hệ đáp ứng liều mong đợi để điều trị kết hợp được so sánh với điều trị đơn dựa trên các

tham biến như IC50, liều được chất cần đạt được sự ức chế đích 50% và bằng với Ki trong trường hợp đơn giản nhất.

Các kháng thể là chất ức chế dime hoá HER2 và chất ức chế EGFR đã được thông báo đối với liệu pháp kết hợp điều trị bệnh ung thư (US 2007/0020261). Trastuzumab-MCC-DM1 (T-DM1) và pertuzumab có hoạt tính đã được chứng minh riêng rẽ ở bệnh nhân MBC và tổ hợp pertuzumab và trastuzumab đã thể hiện có hoạt tính ở bệnh nhân MBC dương tính HER (Baselga J, et al. "A Phase II trial of trastuzumab and pertuzumab in patients with HER2-positive metastatic breast cancer that had progressed during trastuzumab therapy: full response data", European Society of Medical Oncology, Stockholm, Sweden, September 12–16, 2008).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất được phẩm hữu ích trong điều trị các rối loạn tăng sinh tế bào quá mức như bệnh ung thư.

Để đạt được mục đích trên, sáng chế đề xuất thể tiếp hợp kháng thể kháng HER2-được chất, trastuzumab-MCC-DM1, được dùng kết hợp với một hoặc nhiều chất hoá trị liệu để ức chế sự phát triển của tế bào ung thư. Một số tổ hợp trastuzumab-MCC-DM1 và chất hoá trị liệu thể hiện hiệu quả hiệp đồng trong việc ức chế sự phát triển tế bào ung thư in vitro và in vivo. Các tổ hợp theo sáng chế có thể là hữu ích trong điều trị các rối loạn tăng sinh tế bào quá mức như bệnh ung thư. Các tổ hợp này có thể ức chế sự phát triển khối u ở động vật có vú và có thể là hữu ích để điều trị bệnh nhân mắc bệnh ung thư.

Theo đó, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất tổ hợp được phẩm để điều trị bệnh ung thư biểu hiện ErbB2, trong đó tổ hợp này được dùng ở dạng chế phẩm kết hợp hoặc được cung cấp lần lượt cho động vật có vú và trong đó tổ hợp được phẩm bao gồm lượng hữu hiệu để điều trị của trastuzumab-MCC-DM1, và lượng hữu hiệu để điều trị của chất hoá trị liệu được chọn từ GDC-0941, và GNE-390.

Lượng có hiệu quả điều trị của trastuzumab-MCC-DM1 và lượng hữu hiệu để điều trị của GDC-0941 và GNE-390 có thể được sử dụng dưới dạng chế phẩm kết hợp hoặc sử dụng lần lượt.

Sáng chế cũng đề cập đến các tổ hợp được phẩm tạo ra hiệu quả hiệp đồng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm bao gồm trastuzumab-MCC-DM1, chất hoá trị liệu được chọn từ GDC-0941, và GNE-390; và một hoặc nhiều chất

mang, chất gây trượt, chất pha loãng hoặc tá dược được dụng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất tổ hợp chứa lượng hữu hiệu trastuzumab-MCC-DM1 và lượng hữu hiệu chất hoá trị liệu từ GDC-0941, và GNE-390 để điều trị bệnh ung thư biểu hiện ErbB2, trong đó tổ hợp được phẩm được dùng cho động vật có vú dưới dạng chế phẩm kết hợp hoặc dùng lần lượt.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 thể hiện đồ thị về khả năng sống in vitro của tế bào SK-BR-3 ở 3 ngày theo các bội số của nồng độ IC50 của trastuzumab, trastuzumab-MCC-DM1 (T-DM1), và tổ hợp gồm trastuzumab và T-DM1.

Fig. 2 thể hiện đồ thị về khả năng sống in vitro của tế bào BT-474 EEI ở 3 ngày theo các bội số của nồng độ IC50 của trastuzumab, trastuzumab-MCC-DM1 (T-DM1), và tổ hợp gồm trastuzumab và T-DM1.

Fig. 3 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào KPL4 ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, GDC-0941, và tổ hợp T-DM1 và GDC-0941 (62,5 nM đến 1 μ M) với tỷ lệ liều cố định 1:10 ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0,25x đến 4x. Dự báo Bliss về cộng tính được lập đồ thị dưới dạng nét đứt.

Fig. 4 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào KPL4 ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, GDC-0941, và tổ hợp gồm T-DM1 (1,25 đến 80 ng/ml) và GDC-0941 (31,25 nM đến 2 μ M) với mức liều cố định 1:25 ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0,0625x đến 16x. Dự báo Bliss về cộng tính được lập đồ thị dưới dạng nét đứt.

Fig. 5 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào KPL-4 có Her2 được nhân lên, kháng HERCEPTIN®, đột biến PIK3CA (H1047R) ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, PI103, GDC-0941, và tổ hợp T-DM1 + PI103, và T-DM1 + GDC-0941 với tỷ lệ liều cố định, ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0 đến 16x.

Fig. 6 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào KPL4 Caspase 3/7 ở 24 giờ sau khi điều trị bằng T-DM1, GDC-0941, và tổ hợp T-DM1 và GDC-0941 với tỷ lệ liều cố định ở nồng độ T-DM1 không quá 160 ng/ml.

Fig. 7 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào KPL4 ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, GDC-0941, tổ hợp T-DM1 và GDC-0941 với tỷ lệ liều cố định ở nồng độ T-DM1 từ 0 đến 200 ng/ml.

Fig. 8 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào MDA-0MB-361 ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, GDC-0941, và tổ hợp T-DM1 (3,125 đến 50 ng/ml) và GDC-0941 (62,5 nM đến 1 μ M) với tỷ lệ liều cố định 1:20 ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0,125x đến 8x. Dự báo Bliss về cộng tính được lập đồ thị dưới dạng nét đứt.

Fig. 9 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào MDA-0MB-361 ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, GDC-0941, và tổ hợp T-DM1 (3,125 đến 100 ng/ml) và GDC-0941 (62,5 nM đến 2 μ M) với tỷ lệ liều cố định 1:20 ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0,125x đến 8x. Dự báo Bliss về cộng tính được lập đồ thị dưới dạng nét đứt.

Fig. 10 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào BT-474 ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, GDC-0941, và tổ hợp T-DM1 (3,125 đến 100 ng/ml) và GDC-0941 (31,25 nM đến 1 μ M) với tỷ lệ liều cố định 1:10 ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0,125x đến 4x. Dự báo Bliss về cộng tính được lập đồ thị dưới dạng nét đứt.

Fig. 11 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào BT-474 ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, GDC-0941, và tổ hợp T-DM1 (6,25 đến 100 ng/ml) và GDC-0941 (62,5 nM đến 1 μ M) với tỷ lệ liều cố định 1:10 ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0,25x đến 4x. Dự báo Bliss về cộng tính được lập đồ thị dưới dạng nét đứt.

Fig. 12 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào AU565 có Her2 được nhân lên, đột biến không-PI3K ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, PI103, GDC-0941, tổ hợp T-DM1 + PT103, và T-DM1 + GDC-0941 với tỷ lệ liều cố định ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0 đến 16x.

Fig. 13 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào EFM192A Her2 được nhân lên, đột biến PIK3CA (C420R) ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, PI103, GDC-0941, tổ hợp T-DM1 + PI103, và T-DM1 + GDC-0941 với tỷ lệ liều cố định ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0 đến 16x.

Fig. 14 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào HCC1954 có Her2 được nhân lên, kháng HERCEPTIN®, đột biến PIK3CA (H1047R)

sau khi điều trị bằng T-DM1, PI103, GDC-0941, tổ hợp T-DM1 + PI103, và T-DM1 + GDC-0941 với tỷ lệ liều cố định ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0 đến 16x.

Fig. 15 thể hiện đồ thị về sự mức thay đổi thể tích khối u trung bình in vivo theo thời gian trên khối u động vật có vú chuyển gen MMTV-Her2 Fo5 được cấy vào chuột nhắt CRL nu/nu sau khi cho dùng liều: (1) chất dẫn, đường miệng, ngày một lần x21 (2) T-DM1, 5 mg/kg, trong tĩnh mạch, ngày một lần x1, (3) GDC-0941, 100 mg/kg, đường miệng, ngày một lần x21, (4) GDC-0152, 50 mg/kg, đường miệng, tuần một lần x3, (5) T-DM1, 5 mg/kg, trong tĩnh mạch, ngày một lần x1 + GDC-0941, 100 mg/kg, đường miệng, ngày một lần x21, (6) T-DM1, 5 mg/kg, trong tĩnh mạch, ngày một lần x1 + GDC-0152, 50 mg/kg, đường miệng, tuần một lần x3

Fig. 16 thể hiện đồ thị về mức thay đổi thể tích khối u trung bình in vivo theo thời gian trên khối u động vật có vú MDA-MB-361.1 được cấy vào chuột nhắt CRL nu/nu sau khi cho dùng liều: (1) chất dẫn, đường miệng, ngày một lần x21 (2) GDC-0941, 25 mg/kg, đường miệng, ngày một lần x21, (3) GDC-0941, 50 mg/kg, đường miệng, ngày một lần x21, (4) GDC-0941, 100 mg/kg, đường miệng, ngày một lần x21, (5) T-DM1, 3 mg/kg, trong tĩnh mạch, ngày một lần x1, (6) T-DM1, 10 mg/kg, trong tĩnh mạch, ngày một lần x1, (7) GDC-0941, 25 mg/kg, đường miệng, ngày một lần x21 + T-DM1, 3 mg/kg, trong tĩnh mạch, ngày một lần x1, (8) GDC-0941, 50 mg/kg, đường miệng, ngày một lần x21 + T-DM1, 3 mg/kg, trong tĩnh mạch, ngày một lần x1, (9) GDC-0941, 100 mg/kg, đường miệng, ngày một lần x21 + T-DM1, 3 mg/kg, trong tĩnh mạch, ngày một lần x1, (10) GDC-0941, 25 mg/kg, đường miệng, ngày một lần x21 + T-DM1, 10 mg/kg, trong tĩnh mạch, ngày một lần x1, (11) GDC-0941, 50 mg/kg, đường miệng, ngày một lần x21 + T-DM1, 10 mg/kg, trong tĩnh mạch, ngày một lần x1, (12) GDC-0941, 100 mg/kg, đường miệng, ngày một lần x21 + T-DM1, 10 mg/kg, trong tĩnh mạch, ngày một lần x1.

Fig. 17 thể hiện đồ thị về mức thay đổi thể tích khối u trung bình in vivo theo thời gian trên khối u động vật có vú MDA-MB-361.1 được cấy vào chuột nhắt CRL nu/nu sau khi cho dùng liều: (1) chất dẫn [MCT (0,5% methylxenluloza/0,2% TWEEN 80™) + đệm succinat (100mM natri succinat, 100 mg/ml trehaloza, 0,1% TWEEN 80, pH 5,0)], đường miệng + IV, ngày một lần x21 và ngày một lần (2) GNE-390, 1,0 mg/kg, đường miệng, ngày một lần x21, (3) GNE-390, 2,5 mg/kg, đường miệng, ngày

một lần x21, (4) T-DM1, 3 mg/kg, trong tĩnh mạch, ngày một lần, (5) GNE-390, 1,0 mg/kg, đường miệng, ngày một lần x21 + T-DM1, 3 mg/kg, trong tĩnh mạch, ngày một lần, (6) GNE-390, 2,5 mg/kg, đường miệng, ngày một lần x21 + T-DM1, 3 mg/kg, trong tĩnh mạch, ngày một lần.

Mô tả chi tiết sáng chế

Dưới đây sáng chế sẽ được minh họa chi tiết hơn dựa vào một số phương án, các ví dụ được minh họa kèm theo cấu trúc và công thức. Trong khi sáng chế sẽ được mô tả kết hợp với các phương án được liệt kê, cần hiểu rằng những phương án này không nhằm mục đích giới hạn phạm vi bảo hộ của sáng chế.

ĐỊNH NGHĨA

Thuật ngữ "bao gồm", "chứa" khi được sử dụng trong phần mô tả và yêu cầu bảo hộ nhằm xác định sự có mặt các dấu hiệu, số nguyên, thành phần hoặc các bước, nhưng chúng không ngăn ngừa sự có mặt hoặc sự bổ sung một hoặc nhiều dấu hiệu, số nguyên, thành phần, bước hoặc các nhóm khác của chúng.

Thuật ngữ "điều trị" và "sự điều trị" đề cập đến các phương pháp điều trị và phòng bệnh hoặc ngăn ngừa, trong đó mục đích là để ngăn ngừa hoặc làm giảm sự thay đổi hoặc rối loạn sinh lý không mong muốn, như sự phát triển, sinh trưởng hoặc lan rộng tình trạng tăng sinh tế bào quá mức, như bệnh ung thư. Đối với mục đích theo sáng chế, các kết quả lâm sàng có lợi hoặc mong muốn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, giảm triệu chứng, làm giảm phạm vi của bệnh, làm ổn định (nghĩa là, không xấu hơn) tình trạng bệnh, làm chậm hoặc trì hoãn sự tiến triển bệnh, cải thiện hoặc làm nhẹ tình trạng bệnh và làm thuyên giảm (một phần hoặc tất cả), có thể phát hiện hoặc không thể phát hiện. "Sự điều trị" cũng có nghĩa là kéo dài sự sống sót khi được so sánh với sự sống sót mong đợi nếu không nhận điều trị. Những đối tượng cần điều trị bao gồm những đối tượng đã mắc tình trạng bệnh hoặc rối loạn cũng như những đối tượng có khả năng mắc tình trạng bệnh hoặc rối loạn hoặc những đối tượng trong đó tình trạng bệnh hoặc rối loạn cần được ngăn ngừa.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu để điều trị" có nghĩa là lượng hợp chất theo sáng chế mà (i) điều trị bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn cụ thể, (ii) làm suy giảm, cải thiện hoặc loại bỏ một hoặc nhiều triệu chứng bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn cụ thể, hoặc (iii) ngăn ngừa hoặc làm chậm sự khởi phát của một hoặc nhiều triệu chứng bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn cụ thể được mô tả ở đây. Trong trường hợp bệnh

ung thư, lượng hữu hiệu để điều trị của dược chất có thể làm giảm số lượng tế bào ung thư; giảm kích thước khối u; ức chế (nghĩa là, làm chậm đến một số mức độ và tốt hơn là làm ngừng) sự thâm nhiễm tế bào ung thư vào các cơ quan ngoại vi; ức chế (nghĩa là, làm chậm đến một chừng mực nhất định và tốt hơn là làm ngừng) sự di căn khối u; ức chế đến một chừng mực nhất định, sự phát triển khối u; và/hoặc làm thuyên giảm đến một chừng mực nhất định một hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến bệnh ung thư. Đến mức độ mà dược chất có thể ngăn ngừa sự phát triển và/hoặc giết chết tế bào ung thư đang tồn tại, nó có thể là độc tố tế bào và/hoặc chất độc. Để điều trị bệnh ung thư, hiệu quả có thể được xác định, ví dụ, bằng cách đánh giá thời gian tiến triển bệnh (TTP) và/hoặc xác định tốc độ đáp ứng (RR).

“Rối loạn tăng sinh tế bào quá mức” được chỉ định bởi khối u, bệnh ung thư và mô ung thư, bao gồm các giai đoạn trước ác tính và không phải ung thư và cũng bao gồm bệnh vảy nến, bệnh lạc nội mạc tử cung, polyp và u xơ tuyến.

Thuật ngữ "bệnh ung thư" đề cập đến hoặc mô tả tình trạng sinh lý ở động vật có vú mà thường được đặc trưng bởi sự phát triển tế bào không được điều hòa. "Khối u" bao gồm một hoặc nhiều tế bào ung thư. Các ví dụ về bệnh ung thư bao gồm nhưng không chỉ hạn chế ở, ung thư biểu mô, ung thư bạch huyết, u nguyên bào, sarcoma và bệnh bạch cầu hoặc khối u ác tính do tăng sinh lympho. Các ví dụ cụ thể hơn về các bệnh ung thư bao gồm bệnh ung thư tế bào hình vảy (ví dụ, bệnh ung thư tế bào hình vảy biểu mô), bệnh ung thư phổi bao gồm bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, ung thư phổi không tế bào nhỏ (non-small cell lung cancer - "NSCLC"), ung thư tuyến phổi và ung thư biểu mô tế bào hình vảy phổi, ung thư màng bụng, ung thư tế bào gan, ung thư dạ dày bao gồm ung thư dạ dày ruột, ung thư tuyến tụy, u nguyên bào đệm, ung thư cổ, ung thư buồng trứng, ung thư gan, ung thư bàng quang, ung thư gan, ung thư vú, ung thư ruột kết, ung thư đại tràng, ung thư trực tràng, ung thư biểu mô màng trong dạ con hoặc tử cung, ung thư tuyến nước bọt, ung thư thận hoặc gần thận, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư âm đạo, ung thư tuyến giáp, ung thư biểu mô gan, ung thư hậu môn, ung thư dương vật, cũng như ung thư đầu và cổ.

"Chất hoá trị liệu" là hợp chất hoá học hữu ích để điều trị bệnh ung thư, không quan tâm đến cơ chế tác dụng. Các lớp chất hoá trị liệu bao gồm nhưng không chỉ hạn chế ở: chất alkyl hóa, chất chống chuyển hóa, alkaloid thực vật độc tố tuý sống, chất kháng sinh độc tố/chống khối u, chất ức chế topoisomeraza, kháng thể, chất nhạy sáng

và chất ức chế kinaza. Chất hoá trị liệu bao gồm các hợp chất được sử dụng trong “điều trị đích” và hoá trị liệu thông thường. Các ví dụ về chất hoá trị liệu bao gồm: erlotinib (TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.), doxorubicin (DOXIL®, Sanofi-Aventis), 5-FU (flouraxil, 5-flouraxil, CAS No. 51-21-8), gemcitabine (GEMZAR®, Lilly), PD-0325901 (CAS No. 391210-10-9, Pfizer), cisplatin (cis-diaminodichloroplatinum(II), CAS No. 15663-27-1), carboplatin (CAS No. 41575-94-4), paclitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), trastuzumab (HERCEPTIN®, Genentech), temozolomide (4-methyl-5-oxo-2,3,4,6,8-pentazabicyclo [4.3.0] nona-2,7,9-trien- 9-carboxamide, CAS No. 85622-93-1, TEMODAR®, TEMODAL®, Schering Plough), tamoxifen ((Z)-2-[4-(1,2-diphenylbut-1-enyl)phenoxy]-N,N-dimethyl-ethanamine, NOLVADEX®, ISTUBAL®, VALODEX®), và doxorubicin (ADRIAMYCIN®), Akti-1/2, HSPD, và rapamycin.

Các ví dụ khác nữa về chất hoá trị liệu bao gồm: oxaliplatin (ELOXATIN®, Sanofi), bortezomib (VELCADE®, Millennium Pharm.), sunitinib (SUNITINIB®, SU11248, Pfizer), letrozole (FEMARA®, Novartis), imatinib mesylate (GLEEVEC®, Novartis), XL-518 (chất ức chế MEK, Exelixis, WO 2007/044515),ARRY-886 (chất ức chế Mek, AZD6244, Array BioPharma, AstraZeneca), SF-1126 (chất ức chế PI3K, Semafore Pharmaceuticals), BEZ-235 (chất ức chế PI3K, Novartis), XL-147 (chất ức chế PI3K, Exelixis), PTK787/ZK 222584 (Novartis), fulvestrant (FASLODEX®, AstraZeneca), leucovorin (axitinofolinate), rapamycin (sirolimus, RAPAMUNE®, Wyeth), lapatinib (TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline), lonafarnib (SARASAR™, SCH 66336, Schering Plough), sorafenib (NEXAVAR®, BAY43-9006, Bayer Labs), gefitinib (IRESSA®, AstraZeneca), irinotecan (CAMPTOSAR®, CPT-11, Pfizer), tipifarnib (ZARNESTRA™, Johnson & Johnson), ABRAXANE™ (Cremophor-free), chế phẩm hạt nano tạo ra albumin chứa paclitaxel (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, IL), vandetanib (rINN, ZD6474, ZACTIMA®, AstraZeneca), chlorambucil, AG1478, AG1571 (SU 5271; Sugen), temsirolimus (TORISEL®, Wyeth), pazopanib (GlaxoSmithKline), capecitabine (TELCYTA®, Telik), thiopeta và cyclophosphamide (CYTOXAN®, NEOSAR®); alkyl sulfonate như busulfan, improsulfan và piposulfan; aziridine như benzodopa, carboquone, metredopa, và uredopa; ethylenimine và methylmelamine bao gồm altretamine, triethylenmelamine, triethylenphosphoramide, triethylthiophosphoramide và

trimethylomelamin; acetogenin (đặc biệt là bullataxin và bullataxinon); camptothecin (bao gồm topotecan tương tự tổng hợp của nó); bryostatin; callystatin; CC-1065 (bao gồm adozelesin, carzelesin và bizelesin chất tương tự tổng hợp của nó); cryptophycin (tốt hơn là cryptophycin 1 và cryptophycin 8); dolastatin; duocarmyxin (bao gồm chất tương tự tổng hợp, KW-2189 và CB1-TM1); eleutherobin; pancratistatin; sarcodictyin; spongistatin; nitơ mù tạt như chlorambuxil, chlornaphazin, chlorophosphamit, estramustin, ifosfamid, mechlorethamin, mechlorethamin oxit hydroclorua, melphalan, novembichin, phenesterin, prednimustin, trofosfamid, uraxil mù tạt; nitrosoure như carmustin, chlorozotoxin, fotemustin, lomustin, nimustin và ranimustin; kháng sinh như kháng sinh enediyn (ví dụ, calicheamicin, calicheamicin gammaII, calicheamicin omegaII (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186); dynemixin, dynemixin A; bisphosphonat, như clodronat; esperamixin; cũng như neocarzinostatin chromophor và chromoprotein enediyn kháng sinh chromophor liên quan), aclacinomycin, actinomycin, anthramycin, azaserin, bleomycin, cactinomycin, carabixin, carminomycin, carzinophilin, chromomycinis, dactinomycin, daunorubicin, doxorubicin, 6-diazo-5-oxo-L-norleuxin, morpholino-doxorubicin, xyanomorpholino-doxorubicin, 2-pyrrolino-doxorubicin và deoxydoxorubicin), epirubicin, esorubicin, idarubicin, marcellomycin, mitomycin như mitomycin C, axit mycophenolic, nogalamycin, olivomycin, peplomycin, porfiromycin, puromycin, quelamycin, rodorubicin, streptonigrin, streptozoxin, tubercidin, ubenimex, zinostatin, zorubicin; chất chống chuyển hóa như methotrexat và 5-fluoraxil (5-FU); chất tương tự axit folic như denopterin, methotrexat, pteropterin, trimetrexat; chất tương tự purin như fludarabin, 6-mercaptopurin, thiamiprin, thioguanin; chất tương tự pyrimidin như anxitabin, azacitidin, 6-azauridin, carmofur, cytarabin, dideoxyuridin, doxifluridin, enocitabin, floxuridin; androgen như calusteron, dromostanolon propionat, epitiostanol, mepitiostan, testolacton; kháng adrenal như aminoglutethimit, mitotan, trilostan; chất cung cấp thêm axit folic như axit frolinic; axeglaton; aldophosphamid glycosit; axit aminolevulinic; eniluraxil; amsacrin; bestrabuxil; bisantren; edatraxat; defofamin; demecolxin; diaziquon; elfornithin; elliptini axetat; epothilon; etogluxit; gali nitrat; hydroxyure; lentinan; lonidainin; maytansinoit như maytansin và ansamitoxin; mitoguazon; mitoxantron; mopidanmol; nitraerin; pentostatin; phenamet; pirarubicin; losoxantron; axit podophylinic; 2-etylhydrazit; procarbazin; phức chất

PSK® polysacarit (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxan; rhizoxin; sizofiran; spirogermani; axit tenuazonic; triaziqun; 2,2',2"-trichlotrietylamin; trichothexen (độc tố T-2, verracurin A, roridin A và anguidin); urethan; vindesin; dacarbazin; mannomustin; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gacytosin; arabinosit (Ara-C); xyclophosphamit; thiotepa; 6-thioguanin; mercaptopurin; methotrexat; chất tương tự platin như cisplatin và carboplatin; vinblastin; etoposit (VP-16); ifosfamid; mitoxantron; vincristin; vinorelbin (NAVELBINE®); novantron; teniposit; edatrexat; daunomycin; aminopterin; capecitabin (XELODA®, Roche); ibandronat; CPT-11; chất ức chế topoisomeraza RFS 2000; diflometylornithin (DMFO); retinoid như axit retinoic; và muối được dùng, axit và dẫn xuất của hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất trên đây.

Cũng được bao gồm trong định nghĩa về "chất hoá trị liệu" là: (i) chất kháng hormon mà có tác dụng điều hòa hoặc ức chế tác dụng của hormon trên khối u như chất điều biến thụ thể kháng estrogen và estrogen chọn lọc (SERMs), bao gồm, ví dụ, tamoxifen (NOLVADEX®; tamoxifen citrate), raloxifen, droloxifen, 4-hydroxytamoxifen, trioxifene, keoxifen, LY117018, onapriston và FARESTON® (toremifin xitrat); (ii) chất ức chế aromataza mà ức chế enzym aromataza, là enzym điều hòa quá trình sản xuất estrogen trong tuyến thượng thận, như, ví dụ, 4(5)-imidazol, aminoglutethimide, MEGASE® (megestrol axetat), AROMASIN® (exemestan; Pfizer), formestani, fadrozol, RIVISOR® (vorozol), FEMARA® (letrozol; Novartis), và ARIMIDEX® (anastrozol; AstraZeneca); (iii) kháng androgen như flutamid, nilutamit, bicalutamit, leuprolit và goserelin; cũng như troxacitabin (chất tương tự 1,3-dioxolan nucleosit xytosin); (trong tĩnh mạch) chất ức chế protein kinaza như chất ức chế MEK (WO 2007/044515); (v) chất ức chế lipid kinaza; (vi) oligonucleotit đối nghĩa, cụ thể là các chất mà ức chế sự biểu hiện của gen trong con đường tạo tín hiệu có liên quan đến sự tăng sinh tế bào khác thường, ví dụ, PKC-alpha, Raf và H-Ras, như oblimersen (GENA SENSE®, Genta Inc.); (vii) ribozym như chất ức chế biểu hiện VEGF (ví dụ, ANGIOZYME®) và chất ức chế biểu hiện HER2; (viii) vắc xin như vắc xin điều trị gen, ví dụ, ALLOVECTIN®, LEUVECTIN®, và VAXID®; PROLEUKIN® rIL-2; chất ức chế topoisomeraza 1 như LURTOTECAN®; ABARELIX® rmRH; (ix) chất chống hình thành mạch như bevacizumab (AVASTIN®, Genentech); và muối được dùng, axit và dẫn xuất của hợp

chất bất kỳ trong số các hợp chất trên đây.

Cũng được bao gồm trong định nghĩa về "chất hoá trị liệu" là kháng thể điều trị như alemtuzumab (Campath), bevacizumab (AVASTIN®, Genentech); cetuximab (ERBITUX®, Imclone); panitumumab (VECTIBIX®, Amgen), rituximab (RITUXAN®, Genentech/Biogen Idec), pertuzumab (OMNITARG™, 2C4, Genentech), trastuzumab (HERCEPTIN®, Genentech), tositumomab (Bexxar, Corixa), và tiếp hợp kháng thể được chất, gemtuzumab ozogamixin (MYLOTARG®, Wyeth).

Kháng thể đơn dòng được nhân tính hoá có hiệu lực điều trị như chất hoá trị liệu trong tổ hợp với trastuzumab-MCC-DM1 bao gồm: alemtuzumab, apolizumab, aselizumab, atlizumab, bapineuzumab, bevacizumab, bivatuzumab mertansine, cantuzumab mertansin, cedelizumab, certolizumab pegol, cidfusituzumab, cidtuzumab, daclizumab, eculizumab, efalizumab, epratuzumab, erlizumab, felvizumab, fontolizumab, gemtuzumab ozogamicin, inotuzumab ozogamixin, ipilimumab, labetuzumab, lintuzumab, matuzumab, mepolizumab, motavizumab, motovizumab, natalizumab, nimotuzumab, nolovizumab, numavizumab, ocrelizumab, omalizumab, palivizumab, pascolizumab, pecfusituzumab, pectuzumab, pertuzumab, pexelizumab, ralivizumab, ranibizumab, reslivizumab, reslizumab, resyvizumab, rovelizumab, ruplizumab, sibrotuzumab, sipilizumab, sontuzumab, tacatuzumab tetraxetan, tadocizumab, talizumab, tefibazumab, tocilizumab, toralizumab, trastuzumab, tucotuzumab celmoleukin, tucosituzumab, umavizumab, urtoxazumab, và visilizumab.

"Chất chuyển hóa" là sản phẩm được tạo ra thông qua sự trao đổi chất trong cơ thể của hợp chất cụ thể hoặc muối của nó. Trao đổi chất của hợp chất có thể được xác định bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường đã biết trong lĩnh vực này và hoạt tính của chúng được xác định bằng các thử nghiệm như các thử nghiệm được mô tả ở đây. Các sản phẩm này có thể là kết quả ví dụ từ sự oxy hoá, khử, thủy phân, amit hoá, loại amit, este hoá, loại este, phân giải enzym và tương tự của hợp chất được dùng. Do đó, sáng chế bao gồm các chất chuyển hóa của hợp chất theo sáng chế, bao gồm các hợp chất được tạo ra bằng quy trình bao gồm cho hợp chất theo sáng chế tiếp xúc với động vật có vú trong thời gian đủ để tạo ra sản phẩm chuyển hóa của chúng.

Thuật ngữ "tờ hướng dẫn sử dụng" được sử dụng để đề cập đến các hướng dẫn thông thường được để trong bao gói bán trên thị trường của sản phẩm điều trị, mà chứa

các thông tin về chỉ định, sử dụng, liều, đường dùng, chống chỉ định và/hoặc cảnh báo liên quan đến việc sử dụng các sản phẩm điều trị này.

Cụm từ "muối được dụng" như được sử dụng ở đây, đề cập đến các muối hữu cơ và vô cơ được dụng của hợp chất theo sáng chế. Các muối ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ hạn chế ở, sulfat, xitrat, axetat, oxalat, clorua, bromua, iodua, nitrat, bisulfat, phosphat, phosphat axit, isonicotinat, lactat, salixylat, xitrat của axit, tartrat, oleat, tannat, pantothenat, bitartrat, ascorbat, succinat, maleat, gentisinat, fumarat, gluconat, glucuronat, saccharat, format, benzoat, glutamat, metansulfonat "mesylat", etansulfonat, benzenesulfonat, *p*-toluenesulfonat, và pamoat (nghĩa là, 1,1'-metylen-bis-(2-hydroxy-3-naphthoat)). Muối được dụng có thể bao gồm cả phân tử khác như ion axetat, ion succinat hoặc các ion trái dấu khác. Ion trái dấu có thể là gốc hữu cơ hoặc vô cơ mà làm ổn định điện tích trên hợp chất ban đầu. Hơn nữa, muối được dụng có thể có nhiều hơn một nguyên tử mang điện tích trong cấu trúc của nó. Các ví dụ trong đó nhiều nguyên tử mang điện tích là một phần của muối được dụng có thể có nhiều ion trái dấu. Do đó, muối được dụng có thể có một hoặc nhiều nguyên tử mang điện và/hoặc một hoặc nhiều ion trái dấu.

Nếu hợp chất theo sáng chế là bazơ, muối được dụng mong muốn có thể được điều chế bằng phương pháp thích hợp bất kỳ hiện đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ, xử lý bazơ tự do bằng axit vô cơ, như axit clohydric, axit hydrobromic, axit sulfuric, axit nitric, axit metansulfonic, axit phosphoric và tương tự hoặc bằng axit hữu cơ, như axit axetic, axit maleic, axit succinic, axit mandelic, axit fumaric, axit malonic, axit pyruvic, axit oxalic, axit glycolic, axit salixylic, axit pyranosidyl, như axit glucuronic hoặc axit galacturonic, axit alpha hydroxy, như axit xitric hoặc axit tartaric, axit amin, như axit aspartic hoặc axit glutamic, axit aromatic, như axit benzoic hoặc axit xinamic, axit sulfonic, như axit *p*-toluensulfonic hoặc axit etansulfonic, hoặc tương tự. Các axit mà thường được xem là thích hợp để tạo ra muối hữu ích hoặc muối được dụng từ hợp chất được cơ bản là được mô tả, ví dụ, bởi P. Stahl et al, Camille G. (eds.) Handbook of Pharmaceutical Salts. Properties, Selection and Use. (2002) Zurich: Wiley-VCH; S. Berge et al, Journal of Pharmaceutical Sciences (1977) 66(1) 1 19; P. Gould, International J. of Pharmaceutics (1986) 33 201 217; Anderson et al, The Practice of Medicinal Chemistry (1996), Academic Press, New York; Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., (1995) Mack Publishing Co., Easton PA; và trong

The Orange Book (trên trang mạng của Food & Drug Administration, Washington, D.C.).

Nếu hợp chất theo sáng chế là axit, muối được dụng mong muốn có thể được điều chế theo phương pháp thích hợp bất kỳ, ví dụ, xử lý axit tự do bằng bazơ vô cơ hoặc hữu cơ, như amin (bậc một, bậc hai hoặc bậc ba), hydroxit kim loại kiềm hoặc hydroxit kim loại kiềm thổ hoặc tương tự. Các ví dụ minh họa về muối thích hợp bao gồm nhưng không chỉ hạn chế ở, các muối hữu cơ được dẫn xuất từ axit amin, như glyxin và arginin, amoniac, amin bậc một, bậc hai và bậc ba và amin vòng, như piperidin, morpholin và piperazin và các muối vô cơ thu được từ natri, canxi, kali, magiê, mangan, sắt, đồng, kẽm, nhôm và lithi.

Cụm từ "được dụng" để chỉ chất hoặc chế phẩm phải tương thích về mặt hoá học và/hoặc độc tố, với các thành phần khác tạo ra chế phẩm và/hoặc động vật có vú sẽ được điều trị bằng nó.

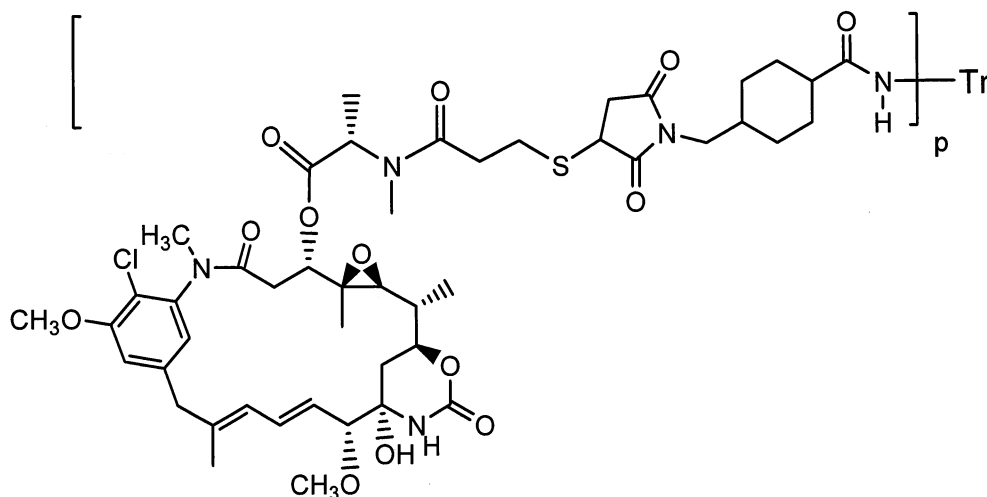
"Solvat" đề cập đến sự kết hợp vật lý hoặc phức chất của một hoặc nhiều phân tử dung môi và hợp chất theo sáng chế. Hợp chất theo sáng chế có thể tồn tại ở dạng không solvat cũng như solvat. Các ví dụ về dung môi mà tạo thành solvat bao gồm nhưng không chỉ hạn chế ở, nước, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, etyl axetat, axit axetic và etanolamin. Thuật ngữ "hydrat" đề cập đến phức chất trong đó phân tử dung môi là nước. Sự kết hợp vật lý này bao gồm các mức độ khác nhau của liên kết ion và liên kết hoá trị bao gồm cả liên kết hydro. Theo một số ví dụ, solvat có thể được phân lập, ví dụ khi một hoặc nhiều phân tử dung môi được kết hợp trong mạng tinh thể của chất rắn kết tinh. Quy trình điều chế solvat thường đã được biết đến, ví dụ, M. Caira et al, J. Pharmaceutical Sci., 93(3), 601 611 (2004). Các quy trình tương tự điều chế solvat, hemisolvat, hydrat và tương tự được mô tả bởi E. C. van Tonder et al, AAPS PharmSciTech., 5(1), article 12 (2004); và A. L. Bingham et al, Chem. Commun., 603 604 (2001). Thông thường, không giới hạn, quy trình bao gồm hoà tan hợp chất theo sáng chế trong lượng mong muốn của dung môi mong muốn (dung môi hữu cơ hoặc nước hoặc hỗn hợp của chúng) ở nhiệt độ cao hơn nhiệt độ môi trường và làm nguội dung dịch ở tốc độ đủ để tạo thành tinh thể mà sau đó được phân lập bởi các phương pháp tiêu chuẩn. Các kỹ thuật phân tích như, ví dụ I.R. quang phổ, thể hiện sự có mặt của dung môi (hoặc nước) trong tinh thể như solvat (hoặc hydrat).

Thuật ngữ "hiệp đồng" như được sử dụng ở đây đề cập đến tổ hợp dược phẩm

mà có hiệu quả cao hơn hiệu quả tổng hợp của hai hoặc nhiều chất đơn lẻ. Việc xác định tương tác hiệp đồng giữa trastuzumab-MCC-DM1, và một hoặc nhiều chất hoá trị liệu có thể dựa trên các kết quả thu được từ các thử nghiệm được mô tả ở đây. Các kết quả của thử nghiệm này được phân tích bằng cách sử dụng phương pháp kết hợp Chou và Talalay và phân tích hiệu quả liều với phần mềm CalcuSyn để thu được chỉ số kết hợp (Combination Index – CI) (Chou and Talalay (1984) Adv. Enzyme Regul. 22:27-55). Các tổ hợp được tạo ra bởi sáng chế được đánh giá trong một vài hệ thử nghiệm và các dữ liệu có thể được phân tích bằng cách sử dụng chương trình tiêu chuẩn để định lượng sự hiệp đồng, hiệu quả bổ sung và đối kháng trong số các chất chống ung thư. Chương trình được ưu tiên sử dụng là chương trình được mô tả bởi Chou and Talalay, trong "New Avenues in Developmental Cancer Chemotherapy," Academic Press, 1987, Chapter 2. Giá trị Combination Index (CI) nhỏ hơn 0,8 cho biết hiệp đồng, giá trị lớn hơn 1,2 cho biết đối kháng và giá trị nằm trong khoảng từ 0,8 đến 1,2 cho biết hiệu quả bổ sung. Điều trị kết hợp có thể tạo ra "hiệp đồng" và cải thiện "hiệp đồng", có nghĩa là hiệu quả đạt được khi thành phần hoạt tính được sử dụng cùng với nhau lớn hơn tổng các hiệu quả mà kết quả thu được từ việc sử dụng từng hợp chất riêng rẽ. Hiệu quả hiệp đồng có thể đạt được khi các thành phần hoạt tính là: (1) cùng được bào chế và được dùng hoặc phân phối đồng thời trong chế phẩm dạng liều đơn vị hoặc dạng tổ hợp; (2) phân phối xen kẽ dưới dạng chế phẩm riêng rẽ; hoặc (3) một số chế độ liều khác. Khi được phân phối trong liệu pháp điều trị xen kẽ, hiệu quả hiệp đồng có thể đạt được khi các hợp chất được dùng hoặc được phân phối tuần tự, ví dụ, bằng các lần tiêm khác nhau trong các ống thuốc tiêm riêng rẽ. Thông thường, trong liệu pháp điều trị xen kẽ, liều hữu hiệu của mỗi thành phần hoạt tính được dùng tuần tự, nghĩa là theo từng thời điểm.

TRASTUZUMAB-MCC-DM1

Sáng chế đề cập đến tổ hợp dược phẩm bao gồm trastuzumab-MCC-DM1 (T-DM1), tiếp hợp kháng thể-dược chất (CAS Reg. No. 139504-50-0), mà có công thức:



trong đó Tr là trastuzumab, được liên kết qua gốc liên kết MCC, với phần dược chất maytansinoid, DM1 (US 5208020; US 6441163). Tỷ lệ của dược chất với kháng thể hoặc lượng dược chất được thể hiện bởi p trong công thức trên đây của trastuzumab-MCC-DM1, và nằm trong khoảng giá trị số nguyên từ 1 đến 8. Giá trị lượng dược chất p là từ 1 đến 8. Trastuzumab-MCC-DM1 bao gồm tất cả các hỗn hợp của các thể tiếp hợp được tải và các thể tiếp hợp kháng thể-dược chất được gắn vào theo cách khác nhau, trong đó 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, và 8 phần dược chất được liên kết cộng hoá trị với trastuzumab kháng thể (US 7097840; US 2005/0276812; US 2005/0166993). Trastuzumab-MCC-DM1 có thể được bào chế theo ví dụ 1.

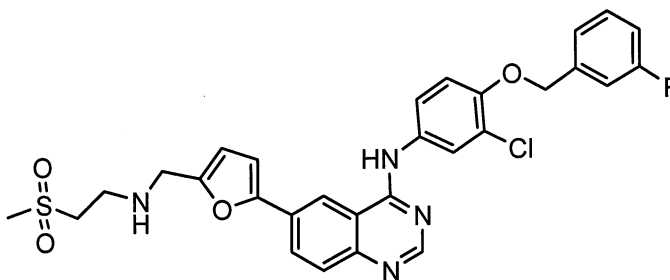
Trastuzumab được tạo ra bởi môi trường nuôi cấy tế bào động vật có vú (Chinese Hamster Ovary, CHO). Tiền gen sinh ung thư HER2 (hoặc c-erbB2) mã hoá protein thụ thể chuyển màng của 185kDa, mà có liên quan về mặt cấu trúc với thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì. Sự biểu hiện quá mức của HER2 protein được quan sát thấy ở 25%–30% bệnh ung thư vú giai đoạn sớm và có thể được xác định bằng cách sử dụng hoá trị liệu miễn dịch dựa trên thử nghiệm phong bế khối u cố định (Press MF, et al (1993) Cancer Res 53:4960-70. Trastuzumab là kháng thể mà có gốc gắn kết kháng nguyên hoặc có nguồn gốc từ, kháng thể 4D5 của chuột (ATCC CRL 10463, được lưu giữ bởi American Type Culture Collection, 12301 Parklawn Drive, Rockville, Md. 20852 theo the Budapest Treaty ngày 24/5/1990). Ví dụ về các kháng thể 4D5 được nhân tính hoá bao gồm huMAb4D5-1, huMAb4D5-2, huMAb4D5-3, huMAb4D5-4, huMAb4D5-5, huMAb4D5-6, huMAb4D5-7 và huMAb4D5-8 (HERCEPTIN®) như trong US 5821337.

Trong nghiên cứu giai đoạn I, liều được dung nạp tối đa (MTD) của T-DM1

được dùng bằng cách tiêm tĩnh mạch cứ hàng 3 tuần là 3,6 mg/kg. DLT (Độc tố giới hạn liều) bao gồm Grade 4 thrombocytopenia ở 2 trong số 3 bệnh nhân được điều trị ở 4,8 mg/kg. Grade tương ứng ≥ 2 các sự kiện bất lợi ở 3,6 mg/kg là hiếm khi xảy ra và có thể quản lý. Chế độ điều trị này được dung nạp tốt và kết hợp với hoạt tính lâm sàng đáng kể như được mô tả trên đây. Nghiên cứu Giai đoạn II thể hiện có khả năng dung nạp tương tự ở mức liều 3,6mg/kg được dùng cứ hàng 3 tuần, với chỉ phần trăm nhỏ bệnh nhân (3 trong số 112 bệnh nhân) cần giảm liều. Do đó, liều T-DM1 là 3,6 mg/kg được dùng hàng 3 tuần được chọn để thử nghiệm trong nghiên cứu này dựa trên 1) hiệu quả được chứng minh và tính an toàn của T-DM1 ở liều 3,6 mg/kg hàng 3 tuần và 2) sự thuận lợi của chế độ 3 tuần đối với quần thể bệnh nhân này.

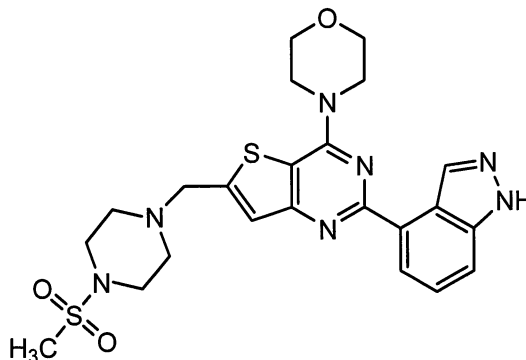
CHẤT HOÁ TRỊ LIỆU

Một số chất hoá trị liệu đã chứng minh có các đặc tính đáng ngạc nhiên và ngoài mong đợi khi được kết hợp với trastuzumab-MCC-DM1 trong việc ức chế tăng sinh tế bào in vitro và in vivo. Các chất hoá trị liệu này bao gồm GDC-0941, và GNE-390.

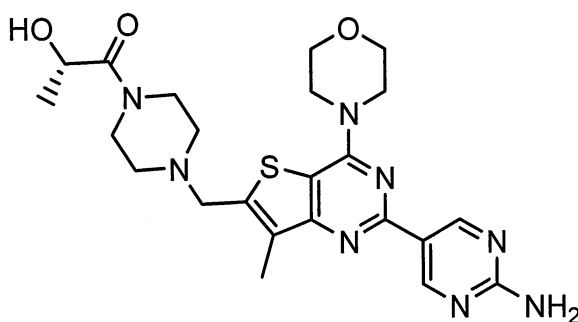


GDC-0941 (Genentech Inc.), là chất ức chế thienopyrimidin chọn lọc và có tính sinh khả dụng qua đường miệng của PI3K với các đặc tính dược và động dược học triển vọng (Folkes et al (2008) Jour. of Med. Chem. 51(18):5522-5532; US 2008/0076768; US 2008/0207611; Belvin et al, American Association for Cancer Research Annual Meeting 2008, 99th:April 15, Abstract 4004; Folkes et al, American Association for Cancer Research Annual Meeting 2008, 99th:April 14, Abstract LB-146; Friedman et al, American Association for Cancer Research Annual Meeting 2008, 99th:April 14, Abstract LB-110). GDC-0941, thể hiện hoạt tính hiệp đồng in vitro và in vivo trong tổ hợp với một số chất hoá trị liệu kháng dòng tế bào khối u rắn (US Ser. No. 12/208,227, Belvin et al "Combinations Of Phosphoinositide 3-Kinase Inhibitor Compounds and Chemotherapies, and Methods Of Use", nộp ngày

10/9/2008). GDC-0941 được gọi là 4-(2-(1H-indazol-4-yl)-6-((4-(methylsulfonyl)piperazin-1-yl)methyl)thieno[3,2-d]pyrimidin-4-yl)morpholin (CAS Reg. No. 957054-30-7), và có công thức:



GNE-390 (Genentech Inc.), là chất ức chế thienopyrimidin chọn lọc và có tính sinh khả dụng qua đường miệng của PI3K với các đặc tính độc dược học và được có triển vọng (US 2008/0242665; WO 2008/070740). GNE-390 thể hiện hoạt tính hiệp đồng in vitro và in vivo kết hợp với một số chất hoá trị liệu kháng dòng tế bào khối u rắn (US Ser. No. 12/208,227, Belvin et al "Combinations Of Phosphoinositide 3-Kinase Inhibitor Compounds and Chemotherapies and Methods Of Use", nộp ngày 10/9/2008). GNE-390 được gọi là (S)-1-(4-((2-(2-aminopyrimidin-5-yl)-7-methyl-4-morpholinothieno[3,2-d]pyrimidin-6-yl)methyl)piperazin-1-yl)-2-hydroxypropan-1-on, và có công thức:



ĐÁNH GIÁ SINH HỌC

Các nghiên cứu nuôi cấy tế bào in vitro bằng cách sử dụng trastuzumab-MCC DM1 T-DM1) kết hợp với chất hóa trị liệu khác nhau hoặc các chất hướng đích sinh học được thực hiện trên nhiều dòng tế bào HER2-được khuếch đại. Dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng phương pháp Chou & Talalay để xác định giá trị Combination

Index (CI) đối với mỗi tổ hợp, thiết lập theo bội số IC50 đối với mỗi dược chất. Giá trị CI nhỏ hơn 0,7 cho biết tính hiệp đồng; giá trị CI nằm trong khoảng từ 0,7 đến 1,3 cho biết tính bổ sung; và giá trị CI lớn hơn 1,3 cho biết tính đối kháng. T-DM1 kết hợp với GDC-0941 dẫn đến hiệu quả chống tăng sinh bổ sung hoặc hiệp đồng trong các thử nghiệm môi trường tế bào và hiệu quả chống khối u được tăng cường rất mạnh *in vivo* khi được so sánh với liệu pháp điều trị bằng các chất riêng rẽ. Trái lại, trastuzumab không được tiếp hợp đối kháng lại hoạt tính của T-DM1 do sự gắn kết của cùng một epitop trên HER2.

Tổ hợp trastuzumab-MCC-DM1 (T-DM1) với nhiều dược chất chống khối u được nghiên cứu bằng cách xác định hoạt tính chống tăng sinh tế bào *in vitro* ở tế bào khối u vú biểu hiện quá mức HER2 và hiệu quả chống khối u *in vivo* ở mô hình ghép ngoại lai ung thư vú. Trong các nghiên cứu này, trastuzumab-MCC-DM1 được thêm vào chất hóa trị liệu độc tố tế bào, các kháng thể hoặc chất ức chế kinaza phân tử nhỏ.

Sự phong bế con đường PI3 kinaza bằng GDC-0941, chất ức chế phân tử nhỏ kinaza của p110 isoform (WO 2007/129161), tạo hiệu lực hoạt tính của trastuzumab-DM1.

T-DM1 được kết hợp với chất ức chế PI3K GDC-0941 làm tăng cường hoạt tính chống khối u, ở dòng tế bào ung thư vú HER2-được khuếch đại với PI3K đột biến: BT-474 (K111N), MDA-361.1 (E545K), và KPL4 (H1047R). Điều trị kết hợp *in vitro* dẫn đến sự ức chế bổ sung hoặc hiệp đồng sự tăng sinh tế bào, cũng như gia tăng sự gây chết tế bào ung thư. Tương tự, hiệu quả *in vivo* được gia tăng với liệu pháp điều trị được chất kết hợp khi được so sánh với hoạt tính mỗi chất đơn lẻ ở mô hình MDA-MB-361.1 và mô hình ghép ngoại lai Fo5 HER2-được khuếch đại. Phân tích sinh hóa chất đánh dấu sinh học đối với từng chất thể hiện sự ức chế của phospho-Akt và phospho-ERK bởi cả T-DM1 và GDC-0941, sự phosphoryl hóa giảm của Rb và PRAS40 bởi GDC-0941, và sự gia tăng mức chất đánh dấu giãn phân phospho-histon H3 và xyclin B1 sau khi điều trị bằng T-DM1. Ngoài ra, sự điều trị bằng T-DM1 dẫn đến gây chết tế bào theo chương trình ở mô hình ung thư vú như được xác định bởi sự có mặt của mảnh phân tách 23 kDa PARP, giảm mức Bcl-XL, cũng như giảm hoạt tính của caspaza 3 và 7. Việc bổ sung GDC-0941 vào T-DM1 còn gia tăng cảm biến gây chết tế bào ung thư theo chương trình. Các nghiên cứu này tạo ra bằng chứng để sử dụng tổ hợp dược chất ở bệnh ung thư vú HER2-được khuếch đại và tạo ra phương

pháp điều trị bổ sung đối với bệnh nhân mà sự tiến triển bệnh của họ dựa trên liệu pháp điều trị trastuzumab hoặc lapatinib.

Thử nghiệm tăng sinh tế bào *in vitro*

Hiệu lực *in vitro* của tổ hợp trastuzumab-MCC-DM1 với chất hoá trị liệu được xác định bằng thử nghiệm tăng sinh tế bào của ví dụ 2; CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay, có thể mua được từ Promega Corp., Madison, WI. Phương pháp thử nghiệm đồng nhất này dựa trên sự biểu hiện tái tổ hợp của *Coleoptera luxiferaza* (US 5583024; US 5674713; US 5700670) và xác định số lượng tế bào có thể phát triển trong môi trường nuôi cấy dựa trên lượng ATP có mặt, chất chỉ thị của tế bào có hoạt tính trao đổi chất (Crouch et al (1993) J. Immunol. Meth. 160:81-88; US 6602677). Thử nghiệm CellTiter-Glo® được thực hiện trong đĩa 96 hoặc 384 giếng, làm cho nó có khả năng sàng tự động hiệu suất cao (HTS) (Cree et al (1995) AntiCancer Drugs 6:398-404). Quy trình thử nghiệm đồng nhất bao gồm thêm một chất phản ứng đơn lẻ (CellTiter-Glo® Reagent) trực tiếp vào tế bào được nuôi cấy trong môi trường được bổ sung huyết thanh. Các bước rửa tế bào, loại bỏ môi trường và các bước hút bằng ống hút là không cần thiết. Hệ này phát hiện được ít hơn 15 tế bào/ giếng trong đĩa 384 giếng trong 10 phút sau khi bổ sung chất phản ứng và trộn đều.

Đĩa đồng nhất "phương pháp bổ sung- trộn đều" dẫn đến làm tan tế bào và tạo ra tín hiệu huỳnh quang tỷ lệ thuận với lượng ATP có mặt. Lượng ATP tỷ lệ thuận trực tiếp với số lượng tế bào có mặt trong môi trường nuôi cấy. Thử nghiệm CellTiter-Glo® tạo ra tín hiệu huỳnh quang "loại sáng", được tạo ra bởi phản ứng huỳnh quang, mà có chu kỳ nửa phân rã thường lâu hơn năm giờ, phụ thuộc vào loại tế bào và môi trường được sử dụng. Các tế bào có khả năng sống sót được phản ánh bằng các đơn vị huỳnh quang tương đối (RLU). Chất nền, Beetle Luciferin, được loại carboxyl bằng cách oxy hóa bằng luxiferaza của đom đóm tái tổ hợp với sự biến đổi đồng thời của ATP thành AMP và tạo ra photon. Chu kỳ nửa phân rã kéo dài loại trừ nhu cầu sử dụng thiết bị bơm chất phản ứng và mang lại sự linh hoạt để xử lý liên tục hoặc theo mẻ nhiều đĩa. Thử nghiệm tăng sinh tế bào có thể được sử dụng với các đĩa nhiều giếng khác nhau, ví dụ đĩa 96 hoặc 384 giếng. Dữ liệu có thể được ghi lại bằng thiết bị đo độ phát quang hoặc thiết bị tạo hình ảnh máy ảnh CCD. Công suất phát quang được thể hiện như là đơn vị ánh sáng tương đối (RLU), được xác định theo thời gian.

Hiệu quả chống tăng sinh của trastuzumab-MCC-DM1 và tổ hợp với chất hoá

trị liệu được xác định bởi thử nghiệm CellTiter-Glo® (Ví dụ 2) chống lại dòng tế bào khối u được thể hiện trong các Fig. 1-2 và 3-14.

Các phương án được lấy làm ví dụ bao gồm phương pháp không nhằm mục đích chữa bệnh mà để xác định hợp chất sẽ được sử dụng kết hợp để điều trị bệnh ung thư bao gồm: a) dùng tổ hợp được phẩm chứa trastuzumab-MCC-DM1 (T-DM1) và chất hoá trị liệu cho dòng tế bào khối u in vitro và b) xác định hiệu quả hiệp đồng hoặc không hiệp đồng. Giá trị chỉ số kết hợp (CI) lớn hơn 1,3 cho biết đối kháng; giá trị CI nằm trong khoảng từ 0,7 đến 1,3 cho biết bổ sung và giá trị CI nhỏ hơn 0,7 cho biết tương tác hiệp đồng của thuốc.

Fig. 1 thể hiện hiệu quả đối kháng của trastuzumab trong tổ hợp với trastuzumab-MCC-DM1 (T-DM1) ở các nồng độ khác nhau trong nhiều giá trị IC₅₀ riêng rẽ (Bảng 1) ở tế bào SK-BR-3 mà nhạy trastuzumab. Số lượng tế bào có thể sống sót được xây dựng đồ thị so với nhiều giá trị IC₅₀. Chỉ số kết hợp (CI) so với IC₁₀ đến IC₉₀ đối với mỗi tổ hợp là lớn hơn 2, cho biết đối kháng in vitro. Tuy nhiên, tổ hợp T-DM1 + trastuzumab in vivo không thể hiện hiệu quả đối kháng.

Bảng 1: Tăng sinh tế bào SK-BR-3– 3 ngày

số lần IC ₅₀	trastuzumab ng/ml	T-DM1 ng/ml	Hiệu quả (%)	CI
0,5 X	20,57	2,28	5,1	>2
1 X	61,72	6,86	26,2	>2
2 X	185,19	20,58	36,3	>2
4 X	555,56	61,73	43,6	>2
8 X	1666,67	185,19	45,0	>2
16 X	5000	555,56	41,7	>2

Fig. 2 thể hiện hiệu quả đối kháng của trastuzumab trong tổ hợp với trastuzumab-MCC-DM1 (T-DM1) ở các nồng độ khác nhau của nhiều giá trị IC₅₀ riêng rẽ (Bảng 2) ở tế bào BT-474 EEI mà kháng trastuzumab. Số lượng tế bào có thể sống sót được lập đồ thị so với nhiều giá trị IC₅₀. Chỉ số tổ hợp (CI) so với IC₁₀ đến IC₉₀ đối với mỗi tổ hợp là lớn hơn 2, cho biết có đối kháng.

Bảng 2: Tăng sinh tế bào BT-474-EEI– 3 ngày

số lần IC50	trastuzumab ng/ml	T-DM1 ng/ml	Hiệu quả (%)	CI
0,125 X	1,52	1,52	9,5	>2
0,25 X	4,57	4,57	4,5	>2
0,5 X	13,71	13,71	3,1	>2
1 X	41,15	41,15	12,1	>2
2 X	123,46	123,46	10,8	>2
4 X	370,4	370,4	11,6	>2
8 X	1111,1	1111,1	18,4	>2

Fig. 3 thể hiện đồ thị khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào KPL4 ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, GDC-0941, và tổ hợp T-DM1 (từ 6,25 đến 100 ng/ml) và GDC-0941 (từ 62,5 nM đến 1 μ M) với tỷ lệ liều cố định ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0,25x đến 4x. Bảng 3 thể hiện hiệu quả trong khoảng ức chế 10-90% với giá trị CI được tính toán và CI trung bình là 1,111.

Dự báo Bliss về cộng tính được lập đồ thị dạng nét đứt trong Fig. 3. Đồ thị độc lập Bliss thể hiện đáp ứng bổ sung được tính toán từ tổ hợp gồm hai hợp chất riêng rẽ.

Bảng 3: GDC-0941 + T-DM1: Tăng sinh tế bào KPL4 – 3 ngày

số lần IC50	GDC-0941 (nM)	T-DM1 ng/ml	Hiệu quả (%)	CI
0,25x	62,5	6,25	1,0	6,319
0,5x	125	12,5	33,9	1,229
1x	250	25	71,8	1,053
2x	500	50	91,1	1,051
4x	1000	100	93,7	1,753

Fig. 4 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào KPL4 ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, GDC-0941, và tổ hợp gồm T-DM1 (từ 1,25 đến 80 ng/ml) và GDC-0941 (từ 31,25 nM đến 2 μ M) với tỷ lệ liều cố định ở các bội số của

nồng độ IC50 từ 0,0625x đến 16x. Dự báo Bliss về cộng tính được lập đồ thị dạng nét đứt. Bảng 4 thể hiện hiệu quả trong khoảng ức chế 10-90% với giá trị CI được tính toán và CI trung bình là 0,802. Tổ hợp gồm T-DM1 và GDC-0941 là chất bổ sung vào dòng tế bào KPL4

Bảng 4 GDC-0941 + T-DM1: Tăng sinh tế bào KPL4– 3 ngày

số lần IC50	GDC-0941 (nM)	T-DM1 ng/ml	Hiệu quả (%)	CI
0,125x	31,25	1,25	12,6	1,100
0,25x	62,5	2,5	20,6	1,344
0,5x	125	5	39,2	1,263
1x	250	10	84,5	0,452
2x	500	20	94,9	0,350
4x	1000	40	97,1	0,440
8x	2000	80	97,9	0,668

Fig. 5 thể hiện đồ thị khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào KPL4 có Her2 được nhân lên, kháng HERCEPTIN®, đột biến PIK3CA (H1047R), sau khi điều trị bằng T-DM1, PI103, GDC-0941, và tổ hợp gồm T-DM1 + PI103, và T-DM1 + GDC-0941 với tỷ lệ liều cố định, ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0 đến 16x. Bảng 5 thể hiện giá trị chỉ số kết hợp. Kết quả này cho thấy sự hiệp đồng vừa phải in vitro nằm trong khoảng từ T-DM-1 đến GDC-0941 do giá trị CI nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1, và hiệu quả bổ sung nằm trong khoảng từ T-DM-1 và PI103 do giá trị CI gần bằng 1.

Bảng 5 Tổ hợp: Tăng sinh tế bào KPL4

CI ở:	T-DM1 + GDC-0941	T-DM1 + PI103
ED50	0,74303	1,04069
ED75	0,63448	0,9721
ED90	0,54179	0,91094

Chất ức chế chọn lọc PI3K, PI103 (Hayakawa et al (2007) Bioorg. Med. Chem.

Lett. 17:2438-2442; Raynaud et al (2007) Cancer Res. 67:5840-5850; Fan et al (2006) Cancer Cell 9:341-349; US 6608053), và có công thức:

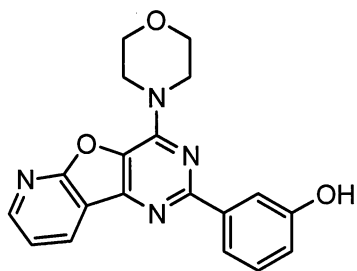


Fig. 6 thể hiện đồ thị về sự chết tế bào theo chương trình của KPL4 Caspase 3/7 in vitro (sự chết tế bào theo chương trình) ở 24 giờ sau khi điều trị bằng T-DM1, GDC-0941, và tổ hợp gồm T-DM1 và GDC-0941 với tỷ lệ liều cố định. Tổ hợp gồm T-DM1 và GDC-0941 dẫn đến sự chết tế bào theo chương trình gia tăng mạnh hơn so với từng chất riêng lẻ.

Fig. 7 thể hiện đồ thị về sự chết tế bào in vitro của KPL4 (sự chết tế bào theo chương trình) ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, GDC-0941, và tổ hợp gồm T-DM1 và GDC-0941 tỷ lệ liều cố định. Tổ hợp gồm T-DM1 và GDC-0941 dẫn đến sự chết tế bào theo chương trình gia tăng ở mức độ mạnh hơn so với từng chất riêng lẻ.

Fig. 8 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào MDA-MB-361 ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, GDC-0941, và tổ hợp có tỷ lệ liều cố định của T-DM1 (từ 3,125 đến 50 ng/ml) và GDC-0941 (62,5 nM đến 1 μ M) ở các bội số của nồng độ IC₅₀ từ 0,125x đến 8x. Dự báo Bliss về cộng tính được lập đồ thị dạng nét đứt. Bảng 6 thể hiện hiệu quả trong khoảng ức chế 10-90% với giá trị CI được tính toán và CI trung bình là 0,888. T-DM1 kết hợp với GDC-0941 dẫn đến hoạt tính chống tăng sinh bổ sung ở tế bào MDA-MB-361 với CI trung bình = 0,889.

Bảng 6 GDC-0941 + T-DM1: Tăng sinh tế bào MDA-MB-361– 3 ngày

số lần IC ₅₀	GDC-0941 (nM)	T-DM1 ng/ml	Hiệu quả (%)	CI
0,25x	62,5	3,125	21,9	1,003
0,5x	125	6,25	37,3	0,862
1x	250	12,5	51,8	0,920
2x	500	25	73,1	0,742
4x	1000	50	82,3	0,917

Fig. 9 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào MDA-MB-361 ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, GDC-0941, và tổ hợp có tỷ lệ liều cố định gồm T-DM1 (từ 3,125 đến 100 ng/ml) và GDC-0941 (62,5 nM đến 2 μ M) ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0,125x đến 8x. Dự báo Bliss về cộng tính được lập đồ thị dạng nét đứt. Bảng 7 thể hiện hiệu quả trong khoảng ức chế 10-90% với giá trị CI được tính toán và CI trung bình là 0,813. T-DM1 kết hợp với GDC-0941 dẫn đến hoạt tính chống tăng sinh bổ sung ở tế bào MDA-MB-361, với CI trung bình = 0,813.

Bảng 7 GDC-0941 + T-DM1: Tăng sinh tế bào MDA-MB-361– 3 ngày

số lần IC50	GDC-0941 (nM)	T-DM1 ng/ml	Hiệu quả (%)	CI
0,25x	62,5	3,125	28,6	0,785
0,5x	125	6,25	36,7	0,960
1x	250	12,5	48,5	1,026
2x	500	25	66,6	0,807
4x	1000	50	82,2	0,590
8x	2000	100	87,7	0,709

Fig. 10 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào BT-474 ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, GDC-0941, và tổ hợp gồm T-DM1 (từ 3,125 đến 100 ng/ml) và GDC-0941 (từ 31,25 nM đến 1 μ M) với tỷ lệ liều cố định ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0,125x đến 4x. Dự báo Bliss về cộng tính được thể hiện dưới dạng đồ thị dạng nét đứt. Bảng 8 thể hiện hiệu quả trong khoảng ức chế 10-90% với giá trị CI được tính toán và CI trung bình là 1,2122. GDC-0941 và T-DM1 không có hiệu quả kết hợp đối với BT-474, bằng cách sử dụng các tỷ lệ liều này.

Bảng 8 GDC-0941 + T-DM1: Tăng sinh tế bào BT-474– 3 ngày

số lần IC50	GDC-0941 (nM)	T-DM1 ng/ml	Hiệu quả (%)	CI
0,125x	31,25	3,125	8,0	>2
0,25x	62,5	6,25	22,7	1,032
0,5x	125	12,5	31,4	1,178
1x	250	25	43,9	1,207
2x	500	50	53,9	1,473
4x	1000	100	71,5	1,171

Fig. 11 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào BT-474 ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, GDC-0941, và tổ hợp gồm T-DM1 (từ 6,25 đến 100 ng/ml) và GDC-0941 (từ 62,5 nM đến 1 μ M) với tỷ lệ liều cố định ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0,25x đến 4x. Dự báo Bliss về cộng tính được lập đồ thị dạng nét đứt. Bảng 9 thể hiện hiệu quả trong khoảng ức chế 10-90% với giá trị CI được tính toán và CI trung bình là 0,997, cho biết có tác dụng bổ sung.

Bảng 9 GDC-0941 + T-DM1: BT-474 Tăng sinh tế bào – 3 ngày

số lần IC50	GDC-0941 (nM)	T-DM1 ng/ml	Hiệu quả (%)	CI
0,25x	62,5	6,25	19,7	1,338
0,5x	125	12,5	31,5	1,167
1x	250	25	49,0	0,886
2x	500	50	66,0	0,708
4x	1000	100	73,9	0,886

Fig. 12 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào AU565 có Her2 được nhân lên, đột biến PI3K ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, PI103, GDC-0941, và tổ hợp gồm T-DM1 + PI103, và T-DM1 + GDC-0941 có tỷ lệ liều cố định ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0 đến 16x. Bảng 10 thể hiện giá trị chỉ số kết hợp. Các kết quả cho thấy có sự đối kháng in vitro giữa T-DM-1 và GDC-0941 do giá trị CI >1, và bổ sung hoặc đối kháng ở mức nhỏ giữa T-DM-1 và PI103 do giá trị CI là

gần với hoặc hơi lớn hơn 1.

Bảng 10 Tổ hợp: Tăng sinh tế bào AU565

CI ở:	T-DM1 + GDC-0941	T-DM1 + PI103
ED50	1,19123	1,12269
ED75	1,36342	0,97338
ED90	1,56063	0,84956

Fig. 13 thể hiện đồ thị về khả năng sống (tăng sinh) in vitro của tế bào EFM192A có Her2 được nhân lên, đột biến PIK3CA (C420R), ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, PI103, GDC-0941, và tổ hợp gồm T-DM1 + PI103, và T-DM1 + GDC-0941 với tỷ lệ liều cố định, ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0 đến 16x. Bảng 11 thể hiện giá trị chỉ số tổ hợp. Các kết quả này cho thấy tính hiệp đồng ở mức vừa phải in vitro giữa T-DM-1 và GDC-0941 do giá trị CI nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1, và tính hiệp đồng giữa T-DM-1 và PI103 do giá trị CI gần với 0,5.

Bảng 11 Tổ hợp: Tăng sinh tế bào EFM192A

CI ở:	T-DM1 + GDC-0941	T-DM1 + PI103
ED50	0,80379	0,53861
ED75	0,66352	0,52087
ED90	0,5485	0,52001

Fig. 14 thể hiện đồ thị về khả năng sống của các tế bào HCC1954 in vitro có Her2 được nhân lên, kháng HERCEPTIN®, đột biến PIK3CA (H1047R), ở 3 ngày sau khi điều trị bằng T-DM1, PI103, GDC-0941, và tổ hợp gồm T-DM1 + PI103, và T-DM1 + GDC-0941 với tỷ lệ liều cố định, ở các bội số của nồng độ IC50 từ 0 đến 16x. Bảng 12 thể hiện giá trị chỉ số tổ hợp. Các kết quả này thể hiện rằng có tính hiệp đồng bổ sung hoặc ở mức độ nhỏ in vitro giữa T-DM-1 và GDC-0941 do giá trị CI là gần với 1 và có tính hiệp đồng ở mức nhỏ giữa T-DM-1 và PI103 do giá trị CI <1.

Bảng 12 Tổ hợp: Tăng sinh tế bào HCC1954

CI ở:	T-DM1 + GDC-0941	T-DM1 + PI103
ED50	1,15864	0,78902
ED75	0,92365	0,78684
ED90	0,74198	0,80771

Hiệu quả ghép ngoại lai khối u in vivo

Hiệu quả của tổ hợp theo sáng chế có thể được xác định *in vivo* bằng ghép cùng loại hoặc ngoại lai tế bào ung thư ở bộ gặm nhấm và xử lý khối u bằng tổ hợp này. Các kết quả khác nhau được mong đợi phụ thuộc vào dòng tế bào, sự có mặt hoặc không có mặt của một số đột biến ở tế bào khối u, sau đó dùng trastuzumab-MCC-DM1 và chất hoá trị liệu, chế độ phân liều và các yếu tố khác. Chuột được điều trị bằng (các) thuốc hoặc (tá dược) đối chứng và được kiểm soát trong vài tuần hoặc lâu hơn để xác định khối u kép, giết chết tế bào và ức chế khối u (Ví dụ 3). Các hình vẽ trên Fig. 15-17 thể hiện hiệu quả của trastuzumab-MCC-DM1 trong tổ hợp với chất hoá trị liệu bằng cách ức chế khối u ghép ngoại lai ở chuột nhắt.

Fig. 15 thể hiện đồ thị về mức thay đổi thể tích trung bình của khối u in vivo theo thời gian đối với khối u động vật có vú chuyển gen MMTV-Her2 Fo5 được ghép vào chuột nhắt CRL nu/nu sau khi dùng liều: (1) Tá dược, qua đường miệng, ngày một lần x21 (2) T-DM1, 5 mg/kg, qua đường tĩnh mạch, ba tuần một lần, (3) GDC-0941, 100 mg/kg, qua đường miệng, ngày hai lần x21, (4) GDC-0152, 50 mg/kg, qua đường miệng, tuần một lần x2, (5) T-DM1, 5 mg/kg, qua đường tĩnh mạch, ba tuần một lần + GDC-0941, 100 mg/kg, qua đường miệng, ngày hai lần x21, (6) T-DM1, 5 mg/kg, qua đường tĩnh mạch, ba tuần một lần + GDC-0152, 50 mg/kg, qua đường miệng, tuần một lần x2. Điều trị bằng T-DM1 và GDC-0941 dẫn đến hoạt tính chống ung thư được gia tăng so với điều trị bằng từng chất đơn lẻ, trong khi tổ hợp gồm T-DM1 và GDC-0152 không có hiệu quả cao hơn so với điều trị chỉ bằng T-DM1.

GDC-0152 là chất ức chế caspaza mà nó là chất ức chế protein chết tế bào theo chương trình (Call et al (2008) *The Lancet Oncology*, 9(10):1002-1011; Deveraux et al (1999) *J Clin Immunol* 19:388-398).

Fig. 16 thể hiện đồ thị về mức thay đổi thể tích trung bình của khối u in vivo

theo thời gian đối với khối u động vật có vú MDA-MB-361.1 được ghép vào chuột nhắt CRL nu/nu sau khi dùng liều: (1) Tá dược, qua đường miệng, ngày một lần x21, (2) GDC-0941, 25 mg/kg, qua đường miệng, ngày một lần x21, (3) GDC-0941, 50 mg/kg, qua đường miệng, ngày một lần x21, (4) GDC-0941, 100 mg/kg, qua đường miệng, ngày một lần x21, (5) T-DM1, 3 mg/kg, qua đường tĩnh mạch, ba tuần một lần, (6) T-DM1, 10 mg/kg, qua đường tĩnh mạch, ba tuần một lần, (7) GDC-0941, 25 mg/kg, qua đường miệng, ngày một lần x21 + T-DM1, 3 mg/kg, qua đường tĩnh mạch, ba tuần một lần, (8) GDC-0941, 50 mg/kg, qua đường miệng, ngày một lần x21 + T-DM1, 3 mg/kg, qua đường tĩnh mạch, ba tuần một lần, (9) GDC-0941, 100 mg/kg, qua đường miệng, ngày một lần x21 + T-DM1, 3 mg/kg, qua đường tĩnh mạch, ba tuần một lần, (10) GDC-0941, 25 mg/kg, qua đường miệng, ngày một lần x21 + T-DM1, 10 mg/kg, qua đường tĩnh mạch, ba tuần một lần, (11) GDC-0941, 50 mg/kg, qua đường miệng, ngày một lần x21 + T-DM1, 10 mg/kg, qua đường tĩnh mạch, ba tuần một lần, (12) GDC-0941, 100 mg/kg, qua đường miệng, ngày một lần x21 + T-DM1, 10 mg/kg, qua đường tĩnh mạch, ba tuần một lần.

Động vật được dùng liều chất dẫn (1) thu được 0 đáp ứng từng phần (PR) và 0 đáp ứng hoàn toàn (CR). Động vật được cho dùng liều chỉ chứa riêng GDC-0941 25 mg/kg (2) thu được 0 PR và 0 CR. Động vật được dùng liều chỉ chứa riêng GDC-0941 50 mg/kg (3) thu được 1 PR và 0 CR. Động vật được dùng liều chỉ chứa riêng GDC-0941 100 mg/kg (4) thu được 0 PR và 0 CR. Động vật được dùng liều chỉ chứa riêng T-DM1 ở 3 mg/kg (5) thu được 1 (PR) và 1 CR). Động vật được dùng liều chỉ chứa riêng T-DM1 ở 10 mg/kg (6) thu được 8 (PR) và 1 CR). Động vật được dùng liều chứa tổ hợp gồm T-DM1 ở 3 mg/kg và GDC-0941 ở 25 mg/kg (7) thu được 5 PR và 0 CR. Động vật được dùng liều chứa tổ hợp gồm T-DM1 ở 3 mg/kg và GDC-0941 ở 50 mg/kg (8) thu được 3 PR và 0 CR. Động vật được dùng liều chứa tổ hợp gồm T-DM1 ở 3 mg/kg và GDC-0941 ở 100 mg/kg (9) thu được 3 PR và 1 CR. Động vật được dùng liều chứa tổ hợp gồm T-DM1 ở 10 mg/kg và GDC-0941 ở 50 mg/kg (10) thu được 9 PR và 0 CR. Động vật được dùng liều chứa tổ hợp gồm T-DM1 ở 10 mg/kg và GDC-0941 ở 50 mg/kg (11) thu được 7 PR và 2 CR. Động vật được dùng liều chứa tổ hợp gồm T-DM1 ở 10 mg/kg và GDC-0941 ở 100 mg/kg (12) thu được 9 PR và 1 CR.

Fig. 17 thể hiện đồ thị về mức thay đổi thể tích trung bình của khối u in vivo theo thời gian đối với khối u động vật có vú MDA-MB-361.1 được ghép vào chuột

CRL nu/nu sau khi dùng liều chứa: (1) Tá dược [MCT chất đệm (0,5% methylxenuloza/0,2% TWEEN 80) + succinat (100mM natri succinat, 100 mg/ml trehaloza, 0,1% TWEEN 80, pH 5,0)], đường miệng + qua đường tĩnh mạch, ngày một lần x21 và ngày một lần (2) GNE-390, 1,0 mg/kg, qua đường miệng, ngày một lần x21, (3) GNE-390, 2,5 mg/kg, qua đường miệng, ngày một lần x21, (4) T-DM1, 3 mg/kg, qua đường tĩnh mạch, ngày một lần, (5) GNE-390, 1,0 mg/kg, qua đường miệng, ngày một lần x21 + T-DM1, 3 mg/kg, qua đường tĩnh mạch, ngày một lần, (6) GNE-390, 2,5 mg/kg, qua đường miệng, ngày một lần x21 + T-DM1, 3 mg/kg, qua đường tĩnh mạch, ngày một lần.

Động vật được dùng liều chứa chất dẫn (1) thu được 0 đáp ứng từng phần (PR) và 0 đáp ứng hoàn toàn (CR). Động vật được dùng liều chứa GNE-390 ở 1,0 mg/kg riêng (2) thu được 0 PR và 0 CR. Động vật được dùng liều chứa GNE-390 ở 2,5 mg/kg riêng (3) thu được 1 PR và 0 CR. Động vật được dùng liều chỉ chứa riêng T-DM1 ở 3 mg/kg (5) thu được 1 (PR) và 1 CR). Động vật được dùng liều chỉ chứa riêng T-DM1 ở 3 mg/kg (4) thu được 0 PR và 0 CR. Động vật được dùng liều chứa tổ hợp gồm T-DM1 ở 3 mg/kg và GNE-390 ở 25 mg/kg (5) thu được 3 PR và 0 CR. Động vật được dùng liều chứa tổ hợp gồm T-DM1 ở 3 mg/kg và GNE-390 ở 2,5 mg/kg (6) thu được 5 PR và 1 CR. Tổ hợp gồm GNE-390 với T-DM1 làm gia tăng đáng kể số lượng đáp ứng chống khối u từng phần hoặc hoàn toàn khi được so với từng GNE-390 hoặc T-DM1 riêng lẻ ở mô hình ghép ngoại lai ung thư vú MDA-MB-361.1.

Dược phẩm

Dược phẩm hoặc chế phẩm theo sáng chế bao gồm tổ hợp trastuzumab-MCC-DM1, GDC-0941 và/hoặc GNE-390, và một hoặc nhiều chất mang, chất gây trượt, chất pha loãng hoặc tá dược được dùng.

Tổ hợp Trastuzumab-MCC-DM1 và GDC-0941 hoặc GNE-390 theo sáng chế có thể tồn tại ở dạng không được solvat cũng như solvat với dung môi được dùng như nước, etanol, và dung môi tương tự, và có nghĩa là sáng chế bao gồm cả dạng solvat và không solvat.

Các tổ hợp trastuzumab-MCC-DM1 và GDC-0941 hoặc GNE-390 theo sáng chế cũng có thể tồn tại ở dạng tautome khác nhau và tất cả các dạng này được bao gồm trong phạm vi yêu cầu bảo hộ của sáng chế. Thuật ngữ "tautome" hoặc "dạng tautome" đề cập đến các chất đồng phân có cấu trúc năng lượng khác nhau mà có thể chuyển đổi

qua lại qua rào cản năng lượng thấp. Ví dụ, proton tautome (cũng được biết là prototropic tautome) bao gồm sự chuyển đổi qua lại qua sự di trú của proton, như keto-enol và sự isome hóa imin-enamin. Các tautome hóa trị bao gồm các chuyển đổi bằng cách tổ chức lại một số electron gắn kết.

Dược phẩm bao gồm chế phẩm rời và các đơn vị liều riêng rẽ bao gồm nhiều hơn một (ví dụ, hai) dược chất bao gồm tổ hợp gồm trastuzumab-MCC-DM1 và GDC-0941 hoặc GNE-390 được mô tả ở đây, cùng với tá dược, chất pha loãng, chất mang hoặc chất gây trượt bất hoạt được bất kỳ. Chế phẩm rời và mỗi đơn vị liều riêng rẽ có thể chứa lượng cố định của dược chất nêu trên đây. Chế phẩm rời là nguyên liệu mà chưa được bào chế thành các đơn vị liều đơn. Đơn vị liều minh họa là đơn vị liều qua đường miệng như viên nén, viên thuốc tròn, viên nang và tương tự.

Dược phẩm cũng bao gồm hợp chất được đánh dấu chất đồng vị theo sáng chế mà giống với các chất được nêu ở đây, nhưng thực tế rằng một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bởi nguyên tử có khối lượng nguyên tử hoặc số khối khác với khối lượng nguyên tử hoặc số khối thường được thấy trong tự nhiên. Tất cả chất đồng vị của một nguyên tử hoặc nguyên tố cụ thể bất kỳ như được nêu cụ thể là đều nằm trong phạm vi của hợp chất theo sáng chế, và sử dụng chúng. Ví dụ về các chất đồng vị mà có thể được đưa vào hợp chất theo sáng chế bao gồm chất đồng vị của hydro, cacbon, nitơ, oxy, phospho, lưu huỳnh, flo, clo và ioda, như ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{123}I và ^{125}I . Một số hợp chất được đánh dấu đồng vị phóng xạ theo sáng chế (ví dụ, các hợp chất được đánh dấu với ^3H và ^{14}C) là hữu ích trong thử nghiệm phân bố hợp chất và/hoặc mô nền. Chất đồng vị được triti hóa (^3H) và cacbon-14 (^{14}C) là hữu ích vì dễ dàng điều chế và phát hiện chúng. Hơn nữa, việc thay thế bằng chất đồng vị nặng hơn như deuteri (^2H) có thể thu được một số thuận lợi điều trị do tính ổn định trao đổi chất lớn hơn (ví dụ, gia tăng chu kỳ nửa phân rã in vivo hoặc giảm nhu cầu liều) và do đó có thể được ưu tiên trong một số trường hợp. Các chất đồng vị phát ra positron như ^{15}O , ^{13}N , ^{11}C và ^{18}F là hữu ích đối với các nghiên cứu X quang phát ra positron (PET) để xem xét sự chiếm giữ thụ thể. Các hợp chất được đánh dấu đồng vị theo sáng chế thường có thể được điều chế theo các quy trình sau đây tương tự với các quy trình được mô tả trong các sơ đồ và/hoặc trong các ví dụ dưới đây, bằng cách thay thế chất phản ứng được đánh dấu đồng vị phóng xạ cho chất phản ứng không được đánh dấu đồng vị.

Trastuzumab-MCC-DM1 và chất hoá trị liệu có thể được bào chế theo thực tiễn được phẩm tiêu chuẩn để sử dụng trong tổ hợp được phẩm để điều trị (bao gồm điều trị phòng bệnh) rối loạn tăng sinh tế bào quá mức ở động vật có vú bao gồm cả người. Sáng chế đề xuất được phẩm bao gồm trastuzumab-MCC-DM1 kết hợp với một hoặc nhiều chất mang, chất gây trượt, chất pha loãng hoặc tá dược được dụng.

Chất mang, chất pha loãng và tá dược thích hợp là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này và bao gồm các nguyên liệu như carbohydrat, sáp, polyme có thể hòa tan trong nước và/hoặc có thể trương, các nguyên liệu ưa nước và kỵ nước, gelatin, dầu, dung môi, nước và tương tự. Chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược cụ thể được sử dụng sẽ phụ thuộc vào phương pháp và mục đích mà hợp chất theo sáng chế sẽ được áp dụng. Các dung môi thường được chọn dựa trên dung môi mà người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này nhận biết là an toàn (GRAS) khi dùng cho động vật có vú. Thông thường, dung môi an toàn là dung môi dạng nước không độc như nước và dung môi không độc khác mà có thể hòa tan hoặc trộn lẫn được với nước. Các dung môi dạng nước thích hợp bao gồm nước, etanol, propylen glycol, polyetylen glycols (ví dụ, PEG 400, PEG 300), v.v. và hỗn hợp của chúng. Chế phẩm này cũng bao gồm một hoặc nhiều chất đệm, chất làm ổn định, chất hoạt động bề mặt, chất làm ẩm, chất làm trơn, chất tạo nhũ hóa, chất tạo huyền phù, chất bảo quản, chất chống oxy hóa, chất làm đục, chất gây trượt, chất trợ xử lý, chất tạo màu, chất tạo ngọt, chất tạo hương, chất tạo mùi và các chất phụ trợ khác đã biết để tạo ra dạng trình bày ưa nhìn cho thuốc (nghĩa là, hợp chất theo sáng chế hoặc được phẩm của chúng) hoặc hỗ trợ việc sản xuất sản phẩm được (nghĩa là, thuốc).

Được phẩm có thể được bào chế bằng cách sử dụng quy trình hòa tan hoặc trộn thông thường. Ví dụ, thành phần thuốc dạng rời (nghĩa là, hợp chất theo sáng chế hoặc dạng được làm ổn định của hợp chất (ví dụ, phức chất với dẫn xuất cyclodextrin hoặc chất tạo phức hợp khác đã biết) được hòa tan trong dung môi thích hợp với sự có mặt của một hoặc nhiều tá dược được mô tả ở đây. Hợp chất theo sáng chế thường được bào chế thành dạng liều được phẩm để tạo ra dạng liều có thể kiểm soát dễ dàng chứa được chất và làm cho bệnh nhân dễ dàng tuân theo chế độ đã được quy định trước.

Được phẩm (hoặc chế phẩm) để sử dụng có thể được đóng gói theo nhiều cách phụ thuộc vào phương pháp được sử dụng để dùng được chất. Thông thường, vật dụng để cấp thuốc bao gồm vật chứa được lưu giữ trong đó được phẩm ở dạng thích hợp.

Vật chứa thích hợp là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này và bao gồm các vật dụng như chai (nhựa và thủy tinh), túi, ống thuốc tiêm, túi nhựa, xylanh kim loại và tương tự. Vật chứa cũng có thể bao gồm bộ chống mở để tránh sự thâm nhập vô ý vào bên trong của gói. Ngoài ra, vật chứa đã được bố trí trên đó nhãn hàng hóa mà mô tả hàm lượng bên trong của vật chứa. Nhãn hàng hóa cũng có thể bao gồm các cảnh báo thích hợp.

Dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế có thể được bào chế phù hợp cho nhiều đường và cách dùng khác nhau kết hợp với chất pha loãng, chất mang, tá dược hoặc chất làm ổn định dược dụng (Remington's Pharmaceutical Sciences (1995) 18th edition, Mack Publ. Co., Easton, PA), ở dạng chế phẩm được làm đông khô, bột mịn hoặc dung dịch trong nước. Chế phẩm có thể được bào chế bằng cách trộn ở nhiệt độ môi trường ở độ pH thích hợp và ở mức tinh khiết mong muốn với chất mang được chấp nhận về mặt sinh lý, nghĩa là không độc tố với người nhận ở các liều và nồng độ được dùng. Độ pH của chế phẩm chủ yếu phụ thuộc vào đường dùng và nồng độ hợp chất cụ thể, nhưng có thể nằm trong khoảng từ 3 đến 8.

Dược phẩm tốt hơn là tiệt trùng. Cụ thể là, chế phẩm để dùng *in vivo* phải là tiệt trùng. Việc làm tiệt trùng này được thực hiện dễ dàng bằng cách lọc qua màng lọc tiệt trùng.

Dược phẩm có thể thường được bảo quản dưới dạng chế phẩm rắn, chế phẩm đông khô hoặc dung dịch nước.

Dược phẩm theo sáng chế sẽ được phân liều và được dùng, nghĩa là, lượng, nồng độ, chế độ, thời gian, tá dược và đường dùng, thích hợp với thực tiễn thuốc tốt. Các yếu tố để xem xét trong nội dung này bao gồm các rối loạn cụ thể được điều trị, động vật có vú cụ thể sẽ được điều trị, tình trạng lâm sàng của bệnh nhân, nguyên nhân gây rối loạn, vị trí phân phối thuốc, phương pháp dùng, chế độ dùng và các yếu tố khác đã biết đối với bác sỹ điều trị. "Lượng có hiệu quả điều trị" của hợp chất được dùng sẽ được kiểm soát bởi các xem xét này, và nó là lượng tối thiểu cần để ngăn ngừa, làm giảm hoặc điều trị rối loạn qua trung gian yếu tố đông máu. Tốt hơn là, lượng này nhỏ hơn lượng mà gây độc đối với vật chủ hoặc làm cho vật chủ dễ bị chảy máu đáng kể hơn.

Theo quy định chung, lượng có hiệu quả được ban đầu của trastuzumab-MCC-DM1 được dùng/liều sẽ nằm trong khoảng từ 0,01-100 mg/kg, cụ thể là khoảng từ 0,1

đến 20 mg/kg thể trọng bệnh nhân/ngày, với khoảng ban đầu thường được sử dụng là từ 0,3 đến 15 mg/kg/ngày.

Chất pha loãng, chất mang, tá dược và chất làm ổn định chấp nhận được phải không độc với người nhận ở các liều và nồng độ được dùng và bao gồm các chất đệm như phosphat, xitrat và các axit hữu cơ khác; chất chống oxy hóa bao gồm axit ascorbic và methionin; chất bảo quản (như octadexyldimethylbenzyl amoni clorua; hexameton clorua; benzalkoni clorua, benzethoni clorua; phenol, butyl, etanol, hoặc benzylalcohol; alkyl paraben như metyl hoặc propyl paraben; catechol; resorcinol; xyclohexanol; 3-pentanol; và m-cresol); polypeptit, protein phân tử lượng thấp (nhỏ hơn khoảng 10 gốc); như albumin huyết thanh, gelatin, hoặc globulin miễn dịch; polyme ưa nước như polyvinylpyrrolidon; axit amin như glyxin, glutamin, asparagin, histidin, arginin, hoặc lysin; monosacarit, disacarit và các carbohydrat khác bao gồm glucoza, mannoza, hoặc dextrin; chất tạo chelat như EDTA; các đường như sucroza, manitol, trehaloza hoặc sorbitol; ion tạo muối như natri; các phức kim loại (ví dụ, các phức Zn-protein); và/hoặc chất hoạt động bề mặt không ion như TWEEN™, bao gồm Tween 80, PLURONICS™ hoặc polyetylen glycol (PEG), bao gồm PEG400. Các thành phần dược chất hoạt tính cũng có thể được đưa vào vi nang được bào chế, ví dụ, bằng các kỹ thuật đông tụ hoặc polyme hóa bề mặt phân giới, ví dụ, các vi nang hydroxymethylxenluloza hoặc vi nang gelatin và vi nang poly-(metylmetyxylat), tương ứng, trong các hệ phân phối dược chất dạng keo (ví dụ, liposom, vi khí albumin, vi nhũ hóa, hạt nano và nang nano) hoặc vi nhũ hóa. Các kỹ thuật này được mô tả trong Remington's Pharmaceutical Sciences 18th edition, (1995) Mack Publ. Co., Easton, PA.

Dược phẩm bao gồm những loại thích hợp với các đường dùng được mô tả chi tiết ở đây. Dược phẩm này thường được bào chế ở dạng liều đơn vị và có thể được bào chế theo các phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực dược phẩm. Các kỹ thuật và các dạng bào chế thường được tìm thấy trong Remington's Pharmaceutical Sciences 18th Ed. (1995) Mack Publishing Co., Easton, PA. Các phương pháp này bao gồm bước kết hợp thành phần hoạt tính với chất mang mà tạo thành một hoặc nhiều thành phần bổ sung. Thông thường, chế phẩm được bào chế bằng cách kết hợp đồng đều và kỹ thành phần hoạt tính với chất mang dạng lỏng hoặc chất mang rắn được nghiền mịn hoặc cả hai, và sau đó, nếu cần, tạo hình sản phẩm.

Chế phẩm của chất hoá trị liệu thích hợp để dùng qua đường miệng có thể được bào chế dưới dạng liều đơn vị riêng rẽ như viên thuốc, cứng và mềm ví dụ, nang gelatin, viên nhộng, viên ngậm, viên hình thoi, huyền phù trong nước hoặc dầu, bột có thể phân tán hoặc hạt, nhũ hóa, xi-rô hoặc cồn ngọt chứa lượng được xác định trước của hợp chất trastuzumab-MCC-DM1 và/hoặc chất hoá trị liệu. Các chế phẩm này có thể được bào chế theo phương pháp đã biết trong lĩnh vực này để sản xuất được phẩm và các dược phẩm này có thể chứa một hoặc nhiều chất bao gồm chất tạo ngọt, chất tạo hương, chất tạo màu và chất bảo quản, để tạo thành chế phẩm có thể chấp nhận được. Các viên nén được nén có thể được bào chế bằng cách nén trong máy thích hợp thành phần hoạt tính ở dạng chảy tự do hoặc hạt, tùy ý trộn với chất kết dính, chất làm trơn, chất pha loãng trợ, chất bảo quản, chất hoạt động bề mặt hoặc chất phân tán. Các viên nén được tạo khuôn khác có thể được bào chế bằng cách đúc trong máy thích hợp hỗn hợp gồm thành phần hoạt tính dạng bột được tạo ẩm bằng chất pha loãng lỏng trợ. Các viên nén này tùy ý có thể được bao ngoài hoặc được tạo rãnh và tùy ý được bào chế để giải phóng chậm hoặc có kiểm soát thành phần hoạt tính từ chúng.

Tá dược viên nén của dược phẩm có thể bao gồm: chất độn (hoặc chất pha loãng) để gia tăng thể tích rời của dược chất dạng bột làm thành viên nén; Chất gây rã để hỗ trợ viên nén vỡ thành các mảnh nhỏ, các hạt dược chất riêng rẽ, khi được tiêu hóa và thúc đẩy hòa tan nhanh và hấp thu dược chất; Chất kết dính để đảm bảo rằng các hạt và viên nén có thể được tạo thành có độ bền cơ học cần thiết và giữ viên nén cùng với nhau sau khi nó được nén, ngăn ngừa nó bị phá vỡ thành bột hợp phần trong khi đóng gói, vận chuyển và vận chuyển thông thường; Chất gây trượt để cải thiện khả năng chảy của bột tạo thành viên nén trong quá trình sản xuất; Chất làm trơn để đảm bảo rằng bột tạo viên nén không bám dính vào thiết bị được sử dụng để nén viên nén trong quá trình sản xuất. Chúng cải thiện độ chảy hỗn hợp bột trộn qua máy nén và giảm thiểu ma sát và vỡ vụn khi các viên nén thành phẩm được đẩy ra khỏi thiết bị; Chất chống bám dính với chức năng tương tự với chức năng của chất gây trượt, làm giảm sự bám dính giữa bột tạo thành viên nén và máy mà được sử dụng để đột dập tạo hình viên nén trong quá trình sản xuất; chất tạo hương được kết hợp vào viên nén để tạo vị dễ chịu hơn hoặc che vị khó ưa và chất tạo màu để hỗ trợ việc xác định và khả năng tuân thủ của bệnh nhân.

Viên nén chứa thành phần hoạt tính trong hỗn hợp với tá dược được dụng

không độc mà thích hợp để sản xuất viên nén là có thể chấp nhận. Các tá dược này có thể là, ví dụ, chất pha loãng trợ, như canxi hoặc natri carbonat, lactoza, canxi hoặc natri phosphat; chất tạo hạt và chất phân tán, như tinh bột ngô hoặc axit alginic; chất kết dính như tinh bột, gelatin hoặc cây keo; và chất làm trơn như magie stearat, axit stearic hoặc bột talc. Viên nén có thể không được bao ngoài hoặc có thể được bao ngoài bằng các kỹ thuật đã biết bao gồm bao vi nang để làm chậm sự phân rã và hấp phụ vào đường dạ dày ruột và nhờ đó tạo ra tác dụng duy trì trong thời gian dài hơn. Ví dụ, nguyên liệu làm chậm thời gian như glyxeryl monostearat hoặc glyxeryl distearat đơn lẻ hoặc cùng với sáp có thể được dùng.

Để điều trị mắt hoặc mô bên ngoài khác, ví dụ miệng và da, chế phẩm này tốt hơn là được áp dụng dưới dạng thuốc mỡ dùng khu trú hoặc kem chứa (các) thành phần hoạt tính với lượng, ví dụ, từ 0,075 đến 20% khối lượng. Khi được bào chế thành thuốc mỡ, thành phần hoạt tính có thể được dùng với parafin hoặc mỡ nền có thể trộn lẫn với nước. Theo cách khác, thành phần hoạt tính có thể được bào chế thành kem với kem nền dầu trong nước.

Nếu muốn, pha nước của kem nền có thể bao gồm rượu polyhydric, nghĩa là rượu có hai hoặc nhiều nhóm hydroxyl như propylen glycol, butan 1,3-diol, manitol, sorbitol, glyxerol và polyetylen glycol (bao gồm PEG 400) và hỗn hợp của chúng. Các chế phẩm dùng khu trú có thể mong muốn bao gồm hợp chất mà làm tăng cường sự hấp phụ hoặc thẩm thấu thành phần hoạt tính qua da hoặc các vùng bị tác động khác. Các ví dụ về chất làm tăng cường thâm nhập qua da bao gồm dimetyl sulfoxit và các chất tương tự liên quan.

Pha dầu của chất nhũ hóa theo sáng chế có thể được tạo cấu thành từ các thành phần đã biết theo cách đã biết, bao gồm hỗn hợp gồm ít nhất một chất tạo nhũ hóa với chất béo hoặc dầu hoặc với cả chất béo và dầu. Tốt hơn là, chất tạo nhũ hóa ưa nước được bao gồm cùng với chất tạo nhũ hóa ưa lipid mà có tác động như chất ổn định. Đồng thời, (các) chất tạo nhũ hóa với hoặc không cùng với (các) chất làm ổn định tạo thành sáp nhũ hóa và sáp cùng với dầu và chất béo chứa mỡ nền nhũ hóa mà mỡ này tạo thành pha phân tán dầu của chế phẩm kem. Các chất tạo nhũ hóa và chất ổn định nhũ hóa thích hợp để sử dụng trong chế phẩm của sáng chế bao gồm Tween® 60, Span® 80, rượu cetostearyl, rượu benzyl, rượu myristyl, glyxeryl mono-stearat và natri lauryl sulfat.

Huyền phù nước chứa được phẩm theo sáng chế chứa thành phần hoạt tính trong hỗn hợp với tá dược thích hợp để sản xuất huyền phù trong nước. Các tá dược này bao gồm chất tạo nhũ hóa như natri carboxymetylxenluloza, croscarmeloza, povidon, metylxenluloza, hydroxypropyl metylxenluloza, natri alginat, polyvinylpyrrolidon, gôm tragacanth và gôm keo và chất phân tán hoặc chất làm ẩm như phosphatit có trong tự nhiên (ví dụ, lexithin), sản phẩm ngưng tụ của alkylen oxit với axit béo (ví dụ, polyoxyetylen stearat), sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với rượu béo chuỗi dài (ví dụ, heptadecaetylenoxycetanol), sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với este một phần được dẫn xuất từ axit béo và hexitol anhydrit (ví dụ, polyoxyetylen sorbitan monooleat). Huyền phù trong nước cũng có thể chứa một hoặc nhiều chất bảo quản như etyl hoặc n-propyl p-hydroxybenzoat, một hoặc nhiều chất tạo màu, một hoặc nhiều chất tạo hương và một hoặc nhiều chất tạo ngọt, như sucroza hoặc sacarin.

Dược phẩm có thể ở dạng chế phẩm tiệt trùng có thể tiêm được như thể huyền phù trong nước hoặc huyền phù dầu tiệt trùng có thể tiêm được. Huyền phù này có thể được bào chế theo cách đã biết bằng cách sử dụng chất phân tán hoặc chất làm ẩm thích hợp và các chất tạo huyền phù mà đã được nêu trên đây. Chế phẩm tiệt trùng có thể tiêm được có thể là dung dịch hoặc huyền phù trong chất pha loãng hoặc dung môi có thể dùng ngoài đường tiêu hóa, không độc như dung dịch trong 1,3-butanediol hoặc được bào chế từ bột được làm đông khô. Trong số các tá dược và dung môi có thể chấp nhận được mà có thể được sử dụng là nước, dung dịch Ringer và dung dịch đẳng trương natri clorua. Ngoài ra, dầu không bay hơi, tiệt trùng thường có thể được sử dụng làm dung môi hoặc môi trường tạo huyền phù. Đối với mục đích này, dầu không bay hơi ôn hòa bất kỳ có thể được dùng bao gồm mono- hoặc diglyxerit tổng hợp. Ngoài ra, các axit béo như axit oleic có thể được sử dụng trong chế phẩm có thể tiêm được.

Lượng thành phần hoạt tính có thể kết hợp với nguyên liệu chất mang để tạo thành dạng liều đơn sẽ thay đổi phụ thuộc vào vật chủ được điều trị và đường dùng cụ thể. Ví dụ, chế phẩm giải phóng theo thời gian nhằm mục đích dùng qua đường miệng cho người có thể chứa từ 1 đến 1000mg nguyên liệu hoạt tính được trộn với lượng thích hợp và thuận lợi của nguyên liệu mang với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 5 đến 95% tổng chế phẩm (khối lượng:khối lượng). Dược phẩm có thể được bào chế để tạo ra lượng có thể xác định dễ dàng để dùng. Ví dụ, dung dịch trong nước được dự

định để truyền qua tĩnh mạch có thể chứa từ khoảng 3 đến 500 μ g thành phần hoạt tính/ml dung dịch để truyền thể tích thích hợp ở tốc độ khoảng 30 mL/giờ.

Chế phẩm thích hợp để dùng ngoài đường tiêu hóa bao gồm dung dịch tiêm tiết trùng dạng nước và không phải dạng nước mà có thể chứa chất chống oxy hóa, chất đệm, chất kìm hãm vi khuẩn và chất tan mà làm cho chế phẩm đẳng trương so với máu của đối tượng nhận được dự định; và huyền phù tiết trùng dạng nước và không phải dạng nước có thể bao gồm chất tạo huyền phù và chất làm đặc.

Chế phẩm thích hợp để dùng khu trú cho mắt cũng bao gồm thuốc nhỏ mắt trong đó thành phần hoạt tính được hòa tan hoặc được tạo huyền phù trong chất mang thích hợp, đặc biệt là dung môi trong nước đối với thành phần hoạt tính. Thành phần hoạt tính tốt hơn là có mặt trong chế phẩm ở nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 0,5 đến 20% khối lượng/khối lượng, ví dụ nằm trong khoảng từ khoảng 0,5 đến 10% khối lượng/khối lượng, ví dụ khoảng 1,5% khối lượng/khối lượng.

Các chế phẩm thích hợp để dùng khu trú trong miệng bao gồm viên thuốc hình thoi chứa thành phần hoạt tính trong nền chất tạo hương, thường là sucroza và acacia hoặc tragacanth; viên ngậm bao gồm thành phần hoạt tính trong chất nền trợ như gelatin và glyxerin, hoặc sucroza và acacia; và nước súc miệng bao gồm thành phần hoạt tính trong chất mang lỏng thích hợp.

Chế phẩm để dùng qua đường trực tràng có thể có dạng như là viên thuốc đạn với chất nền thích hợp bao gồm ví dụ bơ cacao hoặc salixylat.

Chế phẩm thích hợp để dùng trong phổi hoặc dùng trong mũi có kích cỡ hạt ví dụ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 500 micromet (bao gồm kích cỡ hạt nằm trong khoảng từ 0,1 đến 500 micromet theo mức thay đổi cỡ micromet như 0,5, 1, 30 micromet, 35 micromet, v.v.), mà được dùng bằng cách xông nhanh qua mũi hoặc xông qua miệng sao cho đạt đến túi phổi. Chế phẩm thích hợp bao gồm dung dịch trong nước hoặc dầu chứa thành phần hoạt tính. Chế phẩm thích hợp để sol khí hoặc dùng bột khô có thể được bào chế theo các phương pháp thông thường và có thể được phân phối với các chất điều trị khác như các hợp chất trước đây được sử dụng trong điều trị hoặc điều trị dự phòng các rối loạn như được mô tả ở đây.

Chế phẩm thích hợp để dùng trong âm đạo có thể được trình bày ở dạng như vòng tránh thai, băng vệ sinh, kem, gel, bột nhào, bột hoặc chế phẩm phun chứa thành phần hoạt tính và các chất mang mà đã biết trong lĩnh vực này nếu thích hợp.

Chế phẩm có thể được đóng gói trong các đồ chứa liều đơn vị hoặc nhiều liều, ví dụ ống thuốc tiêm kín và lọ nhỏ và có thể được bảo quản trong điều kiện khô lạnh (đông khô) chỉ cần bổ sung chất mang lỏng tiệt trùng, ví dụ nước, để tiêm ngay trước khi sử dụng. Dung dịch và huyền phù tiêm ngay được bào chế từ bột, hạt tiệt trùng và viên nén thuộc loại được mô tả trước đây. Chế phẩm liều đơn vị được ưu tiên là chế phẩm chứa liều hàng ngày hoặc dưới liều đơn vị hàng ngày của thành phần hoạt tính, như được nêu trên đây hoặc phân thích hợp của chúng.

Sáng chế còn đề xuất chế phẩm thuốc thú y bao gồm ít nhất là một thành phần hoạt tính như được xác định trên đây cùng với chất mang thú y của chúng. Chất mang thú y là nguyên liệu hữu ích cho mục đích dùng chế phẩm và có thể là chất rắn, dịch lỏng hoặc khí mà theo cách khác là trợ hoặc chấp nhận được trong lĩnh vực thú y và tương thích với thành phần hoạt tính. Các chế phẩm thú y cũng có thể được dùng ngoài đường tiêu hóa, qua đường miệng hoặc theo đường dùng được mô tả trên đây.

Điều trị phối hợp

Trastuzumab-MCC-DM1 có thể được dùng kết hợp với các chất hoá trị liệu khác để điều trị bệnh ung thư biểu hiện ErbB2. Theo các phương án nhất định, trastuzumab-MCC-DM1 được kết hợp trong dược phẩm hoặc chế độ phân liều như trong liệu pháp điều trị kết hợp, với hợp chất thứ hai mà có các đặc tính chống tăng sinh quá mức hoặc là hữu ích để điều trị bệnh ung thư biểu hiện ErbB2. Hợp chất thứ hai của dược phẩm hoặc chế độ phân liều tốt hơn là có các hoạt tính bổ sung với trastuzumab-MCC-DM1, và chúng không có ảnh hưởng xấu đối với nhau. Các hợp chất này thích hợp có mặt trong tổ hợp với lượng mà có hiệu quả cho mục đích định trước. Theo một phương án, dược phẩm theo sáng chế bao gồm trastuzumab-MCC-DM1 kết hợp với GDC-0941 hoặc GNE-390. Ví dụ 4 là quy trình lâm sàng đối với T-DM1 + GDC-0941.

Liệu pháp phối hợp cũng có thể được dùng như chế độ đồng thời hoặc theo trình tự. Khi được dùng theo trình tự, tổ hợp cũng có thể được dùng hai hoặc nhiều lần dùng. Dùng kết hợp bao gồm cùng dùng, bằng cách sử dụng chế phẩm riêng rẽ hoặc từng dược phẩm đơn lẻ và dùng liên tục theo trình tự, trong đó tốt hơn là trong thời gian khi cả hai (hoặc tất cả) thành phần hoạt tính đồng thời tạo ra các hoạt tính sinh học của chúng.

Các liều thích hợp đối với các chất cùng dùng trên đây là các liều hiện đang

được sử dụng và có thể được giảm do tác dụng kết hợp (hiệp đồng) của chất mới được xác định và các chất hoá trị liệu hoặc điều trị khác.

Theo phương án cụ thể về liệu pháp chống ung thư, trastuzumab-MCC-DM1 có thể kết hợp với tổ hợp được GDC-0941 hoặc GNE-390 được mô tả ở đây, cũng như được kết hợp với liệu pháp phẫu thuật và điều trị phóng xạ. Lượng trastuzumab-MCC-DM1 và (các) chất hoá trị liệu có hoạt tính được khác và thời gian dùng tương đối sẽ được chọn để đạt được hiệu quả điều trị kết hợp mong muốn.

Đường dùng dược phẩm

Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được dùng theo đường bất kỳ thích hợp với tình trạng bệnh sẽ được điều trị. Các đường dùng thích hợp bao gồm qua đường miệng, ngoài đường tiêu hóa (bao gồm dưới da, trong bắp, trong tĩnh mạch, trong động mạch, xông, trong da, nội tủy mạc, trên màng cứng và các kỹ thuật tiêm truyền), qua da, trực tràng, mũi, dùng khu trú (bao gồm miệng và dưới lưỡi), âm đạo, trong mắt, trong phổi và trong mũi. Việc dùng khu trú cũng có thể bao gồm việc sử dụng dùng qua da như miếng dán qua da hoặc thiết bị điện chuyển ion. Chế phẩm được là được mô tả trong Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., (1995) Mack Publishing Co., Easton, PA. Các ví dụ khác về chế phẩm được có thể được tìm thấy trong Liberman, H. A. và Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, Vol 3, 2nd Ed., New York, NY. Để điều trị ức chế miễn dịch cục bộ, các hợp chất cũng có thể được dùng bằng cách dùng trong thương tổn, bao gồm truyền dịch hoặc cho mảnh ghép tiếp xúc với chất ức chế trước khi ghép. Sẽ thích hợp rằng đường dùng ưu tiên có thể thay đổi ví dụ tùy thuộc vào tình trạng của người nhận. Khi các hợp chất được dùng qua đường miệng, nó có thể được bào chế thành viên thuốc, nang, viên nén, v.v. với chất mang chất gây trượt hoặc tá dược được dùng. Khi hợp chất được dùng ngoài đường tiêu hóa, nó có thể được bào chế với tá dược hoặc chất pha loãng ngoài đường tiêu hóa được dùng và ở dạng liều đơn vị có thể tiêm được như được mô tả dưới đây.

Liều trastuzumab-MCC-DM1 để điều trị cho bệnh nhân có thể nằm trong khoảng từ 100mg đến 500 mg. Liều trastuzumab-MCC-DM1 cũng có thể được dùng một lần hàng sáu tuần, một lần hàng ba tuần, hàng tuần hoặc thường xuyên hơn, phụ thuộc vào các đặc tính dược động học (PK) và dược lực học (PD), bao gồm sự hấp thụ, phân phối, chuyển hóa và bài tiết. Liều của chất hoá trị liệu, được sử dụng kết hợp với

trastuzumab-MCC-DM1, có thể nằm trong khoảng từ 10mg đến 1000 mg. Chất hoá trị liệu cũng có thể được dùng một lần hàng sáu tuần, một lần hàng ba tuần, hàng tuần hoặc thường xuyên hơn, như một lần hoặc hai lần/ngày. Ngoài ra, các yếu tố độc tố có thể tác động đến liều và chế độ dùng. Khi được dùng qua đường miệng, viên thuốc, nang hoặc viên nén có thể được tiêu hóa hàng ngày hoặc ít thường xuyên hơn trong thời gian cụ thể. Chế độ này có thể được lặp lại trong nhiều vòng điều trị.

Phương pháp điều trị

Tổ hợp dược phẩm bao gồm: (1) trastuzumab-MCC-DM1 và (2) GDC-0941 hoặc GNE-390 là hữu ích để điều trị bệnh ung thư đặc trưng bởi sự hoạt hóa con đường HER2.

Các bệnh ung thư mà có thể được điều trị theo phương pháp theo sáng chế bao gồm nhưng không chỉ hạn chế ở, bệnh ung thư vú, ung thư buồng trứng, ung thư cổ tử cung, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tinh hoàn, ung thư đường sinh dục niệu, ung thư thực quản, ung thư thanh quản, u nguyên bào đệm, u nguyên bào thần kinh, ung thư dạ dày, ung thư da, u gai sừng, ung thư phổi, ung thư biểu mô biểu bì, ung thư biểu mô tế bào lớn, ung thư biểu mô phổi không tế bào nhỏ (NSCLC), ung thư biểu mô tế bào nhỏ, ung thư tuyến phổi, ung thư xương, ung thư ruột kết, u tuyến, u tuyến tụy, ung thư tuyến, u tuyến giáp, ung thư biểu mô nang, ung thư biểu mô không biệt hóa, ung thư biểu mô hình nhú, u tinh, khối u ác tính, xacôm, ung thư biểu mô bàng quang, ung thư biểu mô gan và đường mật, ung thư biểu mô thận, rối loạn dạng tủy, rối loạn bạch huyết, ung thư tế bào tóc, ung thư khoang miệng và họng (miệng), ung thư môi, ung thư lưỡi, ung thư miệng, ung thư họng, ung thư ruột nhỏ, ung thư ruột kết-trực tràng, ung thư ruột lớn, ung thư trực tràng, ung thư não và ung thư hệ thần kinh trung ương, Hodgkin và bệnh bạch cầu.

Các dược phẩm hoặc tổ hợp dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị cho động vật có vú, ví dụ, người, mắc bệnh ung thư biểu hiện ErbB2.

Vật phẩm sản xuất

Các tổ hợp dược phẩm có thể được cung cấp dưới dạng vật phẩm sản xuất hoặc "kit", chứa trastuzumab-MCC-DM1 hữu ích để điều trị bệnh và rối loạn được mô tả trên đây. Kit có thể bao gồm vật chứa chứa trastuzumab-MCC-DM1. Kit còn có thể bao gồm nhãn hàng hóa hoặc tờ hướng dẫn sử dụng, trên hoặc gắn liền với vật chứa. Thuật ngữ "tờ hướng dẫn sử dụng" được sử dụng đề cập đến các hướng dẫn thường

được đưa vào gói thương mại của sản phẩm điều trị, mà chứa các thông tin về chỉ định, cách dùng, liều dùng, đường dùng, chống chỉ định và/hoặc cảnh báo liên quan đến việc sử dụng sản phẩm điều trị này. Các vật chứa thích hợp bao gồm, ví dụ, chai, lọ nhỏ, ống nhỏ, túi phòng, v.v.. Vật chứa có thể được làm từ nhiều nguyên liệu như thủy tinh hoặc nhựa. Vật chứa có thể chứa trastuzumab-MCC-DM1 hoặc chế phẩm của chúng mà có hiệu quả để điều trị tình trạng bệnh và có thể có lối ra vào tiết trùng (ví dụ, vật chứa có thể là túi dung dịch tiêm tĩnh mạch hoặc lọ nhỏ có nắp có thể xuyên qua bởi kim tiêm dưới da). Ít nhất là một hoạt chất trong dược phẩm là trastuzumab-MCC-DM1. Nhãn hàng hóa hoặc tờ hướng dẫn sử dụng cho biết rằng dược phẩm được sử dụng để điều trị tình trạng bệnh lựa chọn, như bệnh ung thư. Theo một phương án, nhãn hàng hóa hoặc tờ hướng dẫn sử dụng cho biết dược phẩm bao gồm trastuzumab-MCC-DM1 có thể được sử dụng để điều trị rối loạn do sự phát triển tế bào bất thường. Nhãn hàng hóa hoặc tờ hướng dẫn sử dụng cũng có thể cho biết rằng dược phẩm có thể được sử dụng để điều trị các rối loạn khác. Theo cách khác, hoặc ngoài ra, vật phẩm sản xuất còn có thể bao gồm vật chứa thứ hai chứa chất đệm dược dụng như nước kim hãm vi khuẩn để tiêm (BWFI), nước muối đệm phosphat, dung dịch Ringer và dung dịch dextroza. Nó còn có thể bao gồm các vật liệu mong muốn khác tùy vào nhu cầu của thị trường và từ phía người sử dụng, bao gồm các chất đệm, chất pha loãng, bộ lọc, kim tiêm và xi lanh.

Kit còn có thể bao gồm các hướng dẫn để dùng trastuzumab-MCC-DM1 và, nếu có mặt, GDC-0941 hoặc GNE-390. Ví dụ, nếu kit bao gồm dược phẩm thứ nhất bao gồm trastuzumab-MCC-DM1 và dược phẩm thứ hai GDC-0941 hoặc GNE-390, kit còn có thể bao gồm các hướng dẫn để dùng đồng thời, theo trình tự hoặc riêng rẽ dược phẩm thứ nhất hoặc dược phẩm thứ hai GDC-0941 hoặc GNE-390 cho bệnh nhân cần điều trị này.

Theo phương án khác, kit thích hợp để phân phối các dạng rắn qua đường miệng chứa trastuzumab-MCC-DM1, như viên nén hoặc nang. Tốt hơn là, kit này bao gồm nhiều liều đơn vị. Kit này có thể bao gồm thể có các liều được định hướng theo trình tự để sử dụng chúng. Ví dụ về kit là "vi thuốc". Vi thuốc đã được biết rõ trong công nghiệp đóng gói và được sử dụng phổ biến đối với các dạng liều đơn vị dược phẩm đóng gói. Nếu muốn, vật dụng trợ nhớ có thể được cung cấp, ví dụ ở dạng số, chữ số hoặc cá phương thức đánh dấu khác hoặc với tờ lịch lồng vào, chỉ ra các ngày

trong chế độ điều trị mà các liều có thể được dùng.

Theo một phương án, kit có thể bao gồm (a) đồ chứa thứ nhất với trastuzumab-MCC-DM1 được chứa trong đó; và tùy ý (b) đồ chứa thứ hai với dược phẩm thứ hai được chứa trong đó, trong đó dược phẩm thứ hai bao gồm GDC-0941 hoặc GNE-390.

Theo cách khác hoặc ngoài ra, kit còn có thể bao gồm vật chứa thứ ba chứa chất đệm dược dụng, như nước kìm hãm vi khuẩn để tiêm (BWFI), nước muối đệm phosphat, dung dịch Ringer và dung dịch dextroza. Nó còn có thể bao gồm các nguyên liệu mong muốn khác tùy thuộc vào nhu cầu trên thị trường và từ phía người sử dụng, bao gồm chất đệm, chất pha loãng, bộ lọc, kim tiêm và xi lanh.

Khi kit bao gồm tổ hợp trastuzumab-MCC-DM1 và chất điều trị thứ hai, nghĩa là GDC-0941 hoặc GNE-390, kit có thể bao gồm vật chứa để chứa từng dược phẩm riêng rẽ như chai được phân chia hoặc gói nhỏ cơ bản được phân chia, tuy nhiên, các dược phẩm riêng rẽ cũng có thể được chứa trong một vật chứa đơn, không được phân chia. Thông thường, kit bao gồm các hướng dẫn để dùng các thành phần riêng rẽ. Dạng kit đặc biệt có lợi nếu các thành phần riêng lẻ được dùng ở dạng liều dùng khác nhau (ví dụ, đường miệng và ngoài đường tiêu hóa), được dùng ở khoảng thời gian phân liều khác nhau hoặc khi sự chuẩn độ của từng thành phần riêng rẽ của tổ hợp được mong muốn bởi bác sỹ điều trị.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây nhằm minh họa sáng chế, mà không làm giới hạn phạm vi bảo hộ của sáng chế.

Ví dụ 1 Điều chế trastuzumab-MCC-DM1

Trastuzumab được tinh chế từ HERCEPTIN® bằng cách trao đổi chất đệm ở 20 mg/mL trong 50 mM kali phosphat/ 50 mM natri clorua/ 2 mM EDTA, độ pH = 6,5 và được xử lý bằng 7,5 đến 10 đương lượng mol của succinimidyl 4-(N-maleimidomethyl) xyclohexan-1-carboxylat (SMCC, Pierce Biotechnology, Inc), 20 mM trong DMSO hoặc DMA (dimethylacetamid), 6,7 mg/mL (US 2005/0169933; US 2005/0276812). Sau khi khuấy trong thời gian từ 2 đến 4 giờ trong môi trường khí argon ở nhiệt độ môi trường, lọc hỗn hợp phản ứng qua cột Sephadex G25 được cân bằng bằng 50mM kali phosphat/ 50 mM natri clorua/ 2 mM EDTA, độ pH = 6,5. Theo cách khác, lọc gel hỗn hợp phản ứng bằng 30 mM xitrat và 150 mM natri clorua ở độ pH = 6. Các phần chứa kháng thể được gom lại và thử nghiệm. Thu hồi trastuzumab-SMCC là 88%.

Chất trung gian được chất-cầu liên kết, trastuzumab-MCC được nêu trên đây, được pha loãng bằng 50 mM kali phosphat/50 mM natri clorua/2 mM EDTA, độ pH = 6,5, đến nồng độ cuối cùng là 10 mg/ml, và được cho phản ứng với dung dịch 10mM DM1 (1,7 đương lượng với 5 SMCC/trastuzumab, 7,37 mg/ml) trong dimethylacetamid. DM1 có thể được điều chế từ các sản phẩm lên men ansamitoxin (US 6790954; US 7432088) và được tạo dẫn xuất để tiếp hợp (US 6333410; RE 39151). Khuấy phản ứng ở nhiệt độ môi trường trong môi trường khí argon trong thời gian từ 4 đến 6 giờ. Lọc hỗn hợp phản ứng tiếp hợp qua cột lọc gel Sephadex G25 (1,5 x 4,9 cm) với 1 x PBS ở độ pH = 6,5. Theo cách khác, lọc gel hỗn hợp phản ứng bằng 10mM succinat và 150 mM natri clorua ở độ pH = 5. Tỷ lệ DM1/trastuzumab (p) là 3,1, như được xác định bởi độ hấp thụ ở 252 nm và ở 280 nm. Tỷ lệ được chất với kháng thể (p) cũng có thể được xác định bằng quang phổ khối. Việc tiếp hợp cũng có thể được kiểm soát bằng cách điện di gel SDS polyacrylamit. Sự tích tụ có thể được đánh giá bằng cách phân tích phân tán ánh sáng laser.

Theo cách khác, trastuzumab-MCC-DM1 có thể được điều chế bằng cách tạo thành chất phản ứng cầu liên kết-được chất MCC-DM1 và sau đó phản ứng với trastuzumab.

Thông thường, phản ứng tiếp hợp của trastuzumab-MCC với DM1 tạo ra hỗn hợp không đồng nhất chứa số lượng kháng thể khác nhau gắn vào, được chất DM1 được tiếp hợp, nghĩa là tải lượng được chất trong đó p là phân bố từ 1 đến 8. Kích cỡ bổ sung của sự không đồng nhất tồn tại với các vị trí gắn kết khác nhau của SMCC với trastuzumab trong đó nhiều ưa nhân khác nhau trên trastuzumab, ví dụ các nhóm lysin amino tận cùng, có thể phản ứng với SMCC. Do đó, trastuzumab-MCC-DM1 bao gồm các phân tử loại được phân lập, được tinh chế cũng như hỗn hợp của tải lượng được chất trung bình từ 1 đến 8 và trong đó MCC-DM1 được gắn vào thông qua vị trí bất kỳ của kháng thể trastuzumab.

Số gốc được chất DM1 trung bình trên một kháng thể trastuzumab trong tổ hợp trastuzumab-MCC-DM1 từ các phản ứng tiếp hợp có thể được xác định bởi các phương pháp thông thường như phổ khối, thử nghiệm ELISA, điện di và HPLC. Sự phân bố định lượng của trastuzumab-MCC-DM1 theo p cũng có thể được xác định. Theo ELISA, giá trị trung bình của p trong chế phẩm cụ thể chứa ADC có thể được xác định (Hamblett et al (2004) *Clinical Cancer Res.* 10:7063-7070; Sanderson et al

(2005) *Clinical Cancer Res.* 11:843-852). Tuy nhiên, phân bố của giá trị p (dược chất) là không thể thấy rõ bởi sự gắn kết kháng thể-kháng nguyên và giới hạn phát hiện của ELISA. Tương tự, thử nghiệm ELISA để phát hiện các tiếp hợp kháng thể-dược chất không xác định xem các gốc dược chất có được gắn vào kháng thể, như các phần chuỗi nặng hoặc chuỗi nhẹ hoặc các gốc axit amin cụ thể hay không. Trong một số trường hợp, quá trình tách, tinh chế và xác định đặc tính của trastuzumab-MCC-DM1 đồng nhất trong đó p là một số giá trị nhất định từ trastuzumab-MCC-DM1 với các tải lượng dược chất khác có thể đạt được bằng các phương pháp như HPLC đảo pha hoặc điện di.

Ví dụ 2 Thử nghiệm tăng sinh tế bào In vitro

Hiệu quả của tổ hợp theo sáng chế được xác định bằng thử nghiệm tăng sinh tế bào bằng cách sử dụng phương pháp (Promega Corp. Technical Bulletin TB288; Mendoza et al (2002) *Cancer Res.* 62:5485-5488). Các chất phản ứng thử nghiệm cell-titer Glo và phương pháp là hiện có bán trên thị trường (Promega). Thử nghiệm đánh giá khả năng của hợp chất thâm nhập vào tế bào và tác động đến sự tăng sinh tế bào. Thử nghiệm này về căn bản là xác định số lượng tế bào có thể sống sót có mặt bằng cách định lượng ATP tế bào. Cell-titer Glo là chất phản ứng được sử dụng cho việc định lượng này. Đây là thử nghiệm đồng nhất trong đó việc bổ sung cell-titer Glo dẫn đến làm tan tế bào và tạo ra tín hiệu huỳnh quang thông qua phản ứng luxiferaza. Tín hiệu huỳnh quang là tỷ lệ thuận với lượng ATP có mặt.

Các đĩa DMSO và đĩa môi trường: Các đĩa polypropylen đáy hình nón 96 giếng mua được từ Nunc (cat.# 249946)

Các đĩa tế bào: Các đĩa TC đáy trong màu đen 384 giếng (vi sạch) với nắp mua được từ Falcon (353962)

Môi trường nuôi cấy tế bào: Glucoza nhiều RPMI hoặc DMEM; Ham's F-12 (50:50), 10% huyết thanh bào thai bò, 2mM L-Glutamin

Cell-titer Glo: Promega (cat.# G7572)

Quy trình:

Ngày 1 Cấy vào các đĩa tế bào, thu hoạch tế bào, cấy tế bào ở mật độ 1000-2000 tế bào/54 μ l/giếng trong các đĩa tế bào 384 giếng trong 3 ngày thử nghiệm. Ủ qua đêm (khoảng 16 giờ) ở 37°C, 5% CO₂.

Ngày 2 – Thêm dược chất vào tế bào, pha loãng hợp chất, các đĩa DMSO (1:2

trong 9 điểm). Thêm 20ul hợp chất (10mM dung dịch gốc đối với dược chất phân tử nhỏ) trong cột thứ hai của đĩa 96 giếng. Thực hiện pha loãng hàng loạt theo tỷ lệ 1:2 qua đĩa (10ul + 10ul 100% DMSO) trong tổng số 9 điểm bằng cách sử dụng Precision Media Plates (pha loãng 1:50). Thêm 147ul môi trường vào tất cả các giếng của đĩa môi trường 96 giếng riêng rẽ. Chuyển 3ul DMSO + hợp chất từ mỗi giếng trong đĩa DMSO vào mỗi giếng tương ứng trên đĩa môi trường bằng cách sử dụng Rapidplate. Đối với 2 nghiên cứu kết hợp dược chất, chuyển một dược chất 1,5ul DMSO + hợp chất từ mỗi giếng trong đĩa DMSO vào mỗi giếng tương ứng trên đĩa môi trường bằng cách sử dụng Rapidplate. Sau đó, chuyển dược chất khác 1,5ul vào đĩa môi trường.

Bổ sung dược chất vào tế bào, đĩa tế bào (pha loãng 1:10), thêm 6ul môi trường + hợp chất trực tiếp vào tế bào (54ul môi trường trên tế bào). Ủ 3 ngày ở 37°C, 5% CO₂ trong thiết bị ủ mà sẽ không mở thường xuyên.

Ngày 5 – Phát triển các đĩa, làm tan đệm Cell Titer Glo ở nhiệt độ trong phòng. Lấy các đĩa tế bào ra khỏi 37°C và làm cân bằng đến nhiệt độ trong phòng trong khoảng 30 phút. Thêm chất đệm Cell Titer Glo vào chất nền Cell Titer Glo (từ chai vào chai). Thêm 30ul chất phản ứng Cell Titer Glo vào mỗi giếng tế bào. Đặt lên thiết bị lắc đĩa trong khoảng 30 phút. Đọc huỳnh quang trên PerkinElmer Envision (0,1 giây/giếng) hoặc Analyst HT Plate Reader (nửa giây/giếng).

Các thử nghiệm khả năng sống của tế bào và thử nghiệm tổ hợp: Tế bào được cấy ở mật độ 1000-2000 tế bào/giếng trong các đĩa 384 giếng trong 16 giờ. Vào ngày 2, chín chuỗi pha loãng hợp chất 1:2 được thực hiện trong DMSO trong đĩa 96 giếng. Pha loãng tiếp hợp chất này vào môi trường sinh trưởng bằng cách sử dụng Rapidplate robot (Zymark Corp., Hopkinton, MA). Sau đó, thêm các hợp chất được pha loãng vào bốn giếng trong đĩa 384 giếng và ủ ở 37°C và 5% CO₂. Sau 4 ngày, số lượng tế bào có khả năng sống tương đối được xác định bằng huỳnh quang bằng cách sử dụng Cell Titer Glo (Promega) theo hướng dẫn của nhà sản xuất và đọc trên Envision hoặc Wallac Multilabel Reader (PerkinElmer, Foster City). Giá trị EC₅₀ được tính toán bằng cách sử dụng Kaleidagraph 4.0 (Synergy Software) hoặc phần mềm Prism 4.0 (GraphPad, San Diego). Các dược chất trong thử nghiệm tổ hợp được phân liều bắt đầu ở nồng độ 8X EC₅₀. Trong các trường hợp nếu EC₅₀ của dược chất là >2,5 µM, nồng độ cao nhất được sử dụng là 10µM. Trastuzumab-MCC-DM1 và chất hoá trị liệu được thêm vào đồng thời hoặc cách nhau 4 giờ (lần lượt) trong tất cả thử nghiệm.

Một ví dụ bổ sung trong thử nghiệm tăng sinh tế bào in vitro bao gồm các bước sau đây:

1. Dung dịch chứa 100 μ l môi trường nuôi cấy tế bào chứa khoảng 10^4 tế bào (xem Fig. 1 đối với các dòng tế bào và loại khối u) trong môi trường được lưu giữ trong mỗi giếng của đĩa vách đục 384 giếng.
2. Các giếng đối chứng được chuẩn bị để chứa môi trường và không có tế bào.
3. Hợp chất được thêm vào các giếng thử nghiệm và được ủ trong 3-5 ngày.
4. Các đĩa được làm cân bằng đến nhiệt độ trong phòng trong khoảng 30 phút.
5. Thể tích của chất phản ứng Cell Titer Glo bằng với thể tích của môi trường nuôi cấy tế bào có mặt trong mỗi giếng được thêm vào.
6. Trộn lẫn hỗn hợp trong 2 phút trên thiết bị lắc để làm tan tế bào.
7. Ủ đĩa ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút để làm ổn định tín hiệu huỳnh quang.
8. Huỳnh quang được ghi lại và báo cáo dưới dạng đồ thị như RLU = đơn vị huỳnh quang tương đối (relative luminescence units).

Theo cách khác, tế bào được cấy vào ở mật độ tối ưu trong đĩa 96 giếng và được ủ trong 4 ngày với sự có mặt của hợp chất thử nghiệm. Alamar Blue™ sau đó được thêm vào môi trường thử nghiệm và ủ tế bào trong 6 giờ trước khi đọc ở bước sóng kích thích 544nm, phát xạ 590nm. Giá trị EC₅₀ được tính toán bằng cách sử dụng đường cong đáp ứng liều sigma.

Ví dụ 3 Ghép ngoại lai khối u in vivo

Động vật thích hợp cho thử nghiệm chuyển gen có thể thu được từ các nguồn chuẩn có bán trên thị trường. Các nhóm chuột cái màu be CB-17 SCID (Charles River Laboratory) được cấy dưới da với 3 triệu tế bào ung thư vú KPL-4 (biểu hiện quá mức Her2) vào gan bàn chân của động vật có vú. Các nhóm chuột cái trụi lông (Charles River Laboratory or Harlan) được ghép với các mảnh 2 x 2 mm³ khối u vú chuyển gen MMTV-Her2 Fo5 vào gan bàn chân động vật có vú. Các mảnh ghép ngoại lai được phân liều ở ngày 0 với dược chất, tổ hợp dược hoặc tá dược theo sơ đồ được xác định đối với mỗi mô hình khối u. 5-FU, gemxitabin, carboplatin và B20-4.1 được dùng trong bụng, pertuzumab được dùng trong tĩnh mạch hoặc trong bụng như dược chỉ định, trastuzumab-MCC-DM1 và doxorubicin được dùng trong tĩnh mạch, lapatinib, GDC-0941 và ABT-869 được dùng quanh đường miệng bằng cách đưa thức ăn bằng

ống vào dạ dày. Kích thước khối u được ghi lại hai lần hàng tuần trong thời gian nghiên cứu. Thể trọng chuột cũng được ghi lại hai lần hàng tuần và chuột được quan sát thường xuyên. Thể tích khối u được xác định theo hai chiều (chiều dài và chiều rộng) bằng cách sử dụng com-pan Ultra Cal IV (Model 54-10-111; Fred V. Fowler Co., Inc.; Newton, MA) và được phân tích bằng cách sử dụng Excel v.11.2 (Microsoft Corporation; Redmond, WA). Các biểu đồ ức chế khối u được ghi lại bằng cách sử dụng KaleidaGraph, Version 3.6 (Synergy Software; Reading, PA). Thể tích khối u được tính toán với công thức: Kích thước khối u (mm^3) = (xác định lâu hơn x xác định nhanh hơn²) x 0,5

Thể trọng động vật được xác định bằng cách sử dụng cân Adventurera Pro AV812 (Ohaus Corporation; Pine Brook, NJ). Đồ thị được tạo ra bằng cách sử dụng KaleidaGraph Version 3.6. Thay đổi phần trăm khối lượng được tính toán bằng cách sử dụng công thức: Nhóm thay đổi phần trăm khối lượng = $(1 - (\text{khối lượng ban đầu} / \text{khối lượng thực})) \times 100$.

Thể tích khối u của chuột vượt quá 2000 mm^3 hoặc giảm thể trọng của chuột lớn hơn 20% so với thể trọng ban đầu của chúng được cho chết nhẹ nhàng một cách nhanh chóng theo hướng dẫn thông thường.

Phần trăm làm chậm phát triển khối u (% TGD) khi kết thúc nghiên cứu (EOS) được tính toán bằng cách sử dụng công thức: % TGD = $100 \times (\text{Thời điểm kết thúc trung bình đối với nhóm điều trị} - \text{thời điểm kết thúc trung bình đối với nhóm đối chứng}) / \text{Thời điểm kết thúc trung bình đối với nhóm đối chứng}$.

Tỷ lệ mắc khối u (TI) được xác định dựa trên số lượng khối u có thể đo được còn lại trong mỗi nhóm khi kết thúc nghiên cứu. Đáp ứng một phần (PR) được xác định khi giảm thể tích khối u nhiều hơn 50% nhưng ít hơn 100% so với thể tích khối u ban đầu, được quan sát đối với ba lần xác định liên tiếp. Đáp ứng hoàn toàn (CR) được xác định khi giảm thể tích khối u 100% so với thể tích khối u ban đầu, được quan sát trong ba lần xác định liên tiếp. Các dữ liệu được phân tích và giá trị p được xác định bằng cách sử dụng kiểm định t của Dunnett với phần mềm phân tích JMP, phiên bản 5.1.2 (SAS Institute; Cary, NC). Thể tích khối u riêng rẽ khi kết thúc thử nghiệm và thể tích trung bình của khối u giá trị $\pm \text{SEM}$ được tính toán bằng cách sử dụng phần mềm phân tích JMP, version 5.1.2. Dữ liệu thể trọng được vẽ đồ thị dựa trên phần trăm thay đổi trung bình từ thể trọng ban đầu $\pm \text{SEM}$.

Bào chế T-DM1

T-DM1 có thể được cung cấp dưới dạng chế phẩm đông khô sử dụng một lần trong lọ thủy tinh 20-mL Type I USP/European Pharmacopeia được đậy bằng nắp nhựa flo 20-mm và đai nhôm với nắp bật bằng chất dẻo nhẹ màu đen xám. Tiếp theo hoàn nguyên bằng 8,0 mL nước tiệt trùng để tiêm (SWFI), sản phẩm thu được chứa 20 mg/mL T-DM1 trong 10 mM natri succinat, độ pH = 5,0, 6% (khối lượng/thể tích) sucroza và 0,02% (khối lượng/thể tích) polysorbat 20. Mỗi lọ nhỏ 20-mL chứa khoảng 172 mg T-DM1 để cho phép phân phối 160 mg T-DM1. Thể tích được chỉ định của dung dịch T-DM1 được lấy ra khỏi (các) lọ nhỏ và được chovào túi tiêm tĩnh mạch. T-DM1 đã được hoàn nguyên được pha loãng vào các túi PVC hoặc túi polyolefin không có PVC không có nhựa mủ (PO) chứa 0,45% hoặc 0,9% natri clorua (thể tích tối thiểu là 250 mL). Sử dụng các túi PVC hoặc túi PO chứa 0,45% natri clorua là được ưu tiên. Trong các trường hợp trong đó sử dụng các túi PVC hoặc túi PO chứa 0,9% natri clorua, thì khuyến dùng các bộ lọc nội tuyến 0,22 μ m. Túi được dốc ngược nhẹ nhàng để trộn dung dịch. Dung dịch chứa T-DM1 để tiêm truyền được pha loãng trong túi polyvinyl clorua (PVC) hoặc túi polyolefin không PVC không nhựa mủ (PO) chứa 0,9% hoặc 0,45% natri clorua, USP, có thể được bảo quản ở 2°C–8 °C (36 °F–46 °F) trong thời gian ngắn.

Ví dụ 4 Nghiên cứu lâm sàng trastuzumab-MCC-DM1 (T-DM1) trong tổ hợp với GDC-0941

Pha Ib, nghiên cứu nhãn mở về tổ hợp T-DM1 được dùng qua đường tĩnh mạch và GDC-0941 được dùng qua đường miệng cho bệnh nhân mắc bệnh ung thư vú di căn dương tính HER2 người đang tiến triển đối với liệu pháp điều trị trên trastuzumab trước đó để xác định độ an toàn, tính dung nạp, dược lực học và hoạt tính của tổ hợp. Mục đích cơ bản của nghiên cứu này là: Để đánh giá tính an toàn và sự dung nạp của GDC-0941 khi được dùng với T-DM1; Để đánh giá MTD của GDC-0941 khi được dùng với T-DM1; xác định liều khuyến nghị Pha II đối với GDC-0941 khi được dùng kết hợp với T-DM1; và để xác định hoạt tính chống khối u bất kỳ quan sát thấy của GDC-0941 khi được dùng kết hợp với T-DM1. Mục đích động dược học là: Để xác định động lực học của GDC-0941 với sự không có mặt và có mặt của T-DM1; và để xác định động dược học của T-DM1 với sự không có mặt và có mặt tương đối của GDC-0941.

Bào chế GDC-0941

GDC-0941 là bột khô để dùng qua đường miệng. Sản phẩm được bào chế được cung cấp trong nang gelatin cứng gồm hai nồng độ (15 và 50 mg) mà được tạo nang với kích thước vỏ 0 và được phân biệt bằng màu sắc. Tá dược được bao gồm trong chế phẩm nang là xenluloza vi tinh thể NF/EP, natri lauryl sulfat NF/DP (chỉ ở nồng độ 50mg), axit xitric USP/EP khan, croscarmelloza natri NF/EP, keo silic dioxit NF/EP, và magiê stearat (không phải bò) NF/EP. Các viên nang GDC-0941 sẽ được bảo quản ở nhiệt độ được làm lạnh giữa 36°F và 46°F (2°C và 8°C). Bệnh nhân sẽ được hướng dẫn bảo quản được chất nghiên cứu ở nhiệt độ được làm lạnh giữa 36°F và 46°F (2°C và 8°C).

Xác định hiệu quả

Các số liệu về tính an toàn, động lực học, động dược học và tính hiệu quả sẽ được xác định và đánh giá, bao gồm các phương pháp phân tích như nêu trong ví dụ 4.

Điều trị thử nghiệm

Các điều trị nghiên cứu sẽ được dùng trong chu kỳ 3 tuần. Bệnh nhân nhận lợi ích lâm sàng từ điều trị nghiên cứu có thể có khả năng điều trị trong nhiều chu kỳ mà có thể xuất hiện trong nghiên cứu riêng rẽ, phụ thuộc vào tình trạng, tính khả dụng của dược chất và các yếu tố khác.

Trong giai đoạn nghiên cứu tăng liều, bệnh nhân sẽ nhận liều đơn GDC-0941 vào ngày 1 của chu kỳ 1 khi dạ dày trống rỗng, để cho phép thu mẫu trước và sau liều GDC-0941 PK và để quan sát sự thay đổi bên trong bệnh nhân. Liều khởi đầu của GDC-0941 sẽ là 60 mg ngày một lần, là liều mà đã được xác định là an toàn để làm tác nhân riêng rẽ mà không có các độc tính giới hạn liều bất kỳ trong nghiên cứu pha I. Vào ngày 2 của chu kỳ 1, toàn bộ liều T-DM1 sẽ được dùng với liều 3,6 mg/kg qua đường tĩnh mạch trong 90 phút mà không có liều tải. Sau đó là liều GDC-0941. Bệnh nhân sẽ được theo dõi trong 90 phút sau khi truyền T-DM1 lần đầu tiên. GDC-0941 sau đó sẽ được dùng ngày một lần, tổng cộng 14 liều sau đó là 1 tuần nghỉ trong chu kỳ đầu tiên.

Việc gia tăng liều GDC-0941 ở các bệnh nhân tiếp theo sẽ tiếp tục cho đến khi tiến triển hoặc không dung nạp. Sau đó, chu kỳ điều trị nghiên cứu sẽ kéo dài 3 tuần, bằng T-DM1 3,6 mg/kg qua đường tĩnh mạch được dùng trong 90 phút lần đầu tiên vào ngày 1 của mỗi chu kỳ và GDC-0941 được dùng sau khi truyền T-DM1 và tiếp tục

trong tổng số 2 tuần tiếp theo và nghỉ 1 tuần. Phân liều sẽ tiếp tục cho đến khi tiến triển hoặc không dung nạp. T-DM1 sẽ được dùng từ 30 đến 90 phút (± 10) truyền qua tĩnh mạch, phụ thuộc vào việc T-DM1 được dung nạp như thế nào trong nghiên cứu ban đầu. Nếu 90 phút truyền được dung nạp tốt, các lần truyền sau đó có thể được tiến hành phân phối trong 30 (± 10) phút.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm chứa trastuzumab-MCC-DM1, chất hóa trị liệu được chọn từ GDC-0941 và GNE-390, và một hoặc nhiều chất mang, chất gây trượt, chất pha loãng hoặc tá dược được dụng.
2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này chứa chất gây trượt được dụng được chọn từ silic dioxit, xenluloza dạng bột, xenluloza vi tinh thể, stearat kim loại, natri nhôm silicat, natri benzoat, canxi carbonat, canxi silicat, tinh bột ngô, magie carbonat, talc không chứa amian, stearowet C, tinh bột, tinh bột 1500, magie lauryl sulfat, magie oxit, và tổ hợp của chúng.

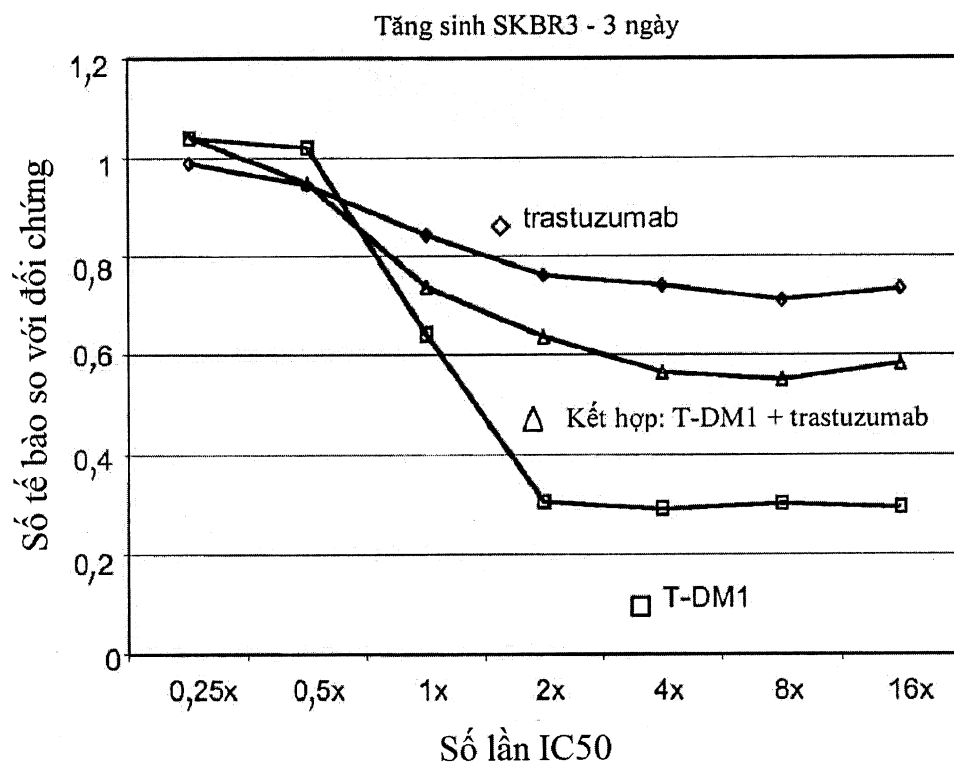


Fig 1

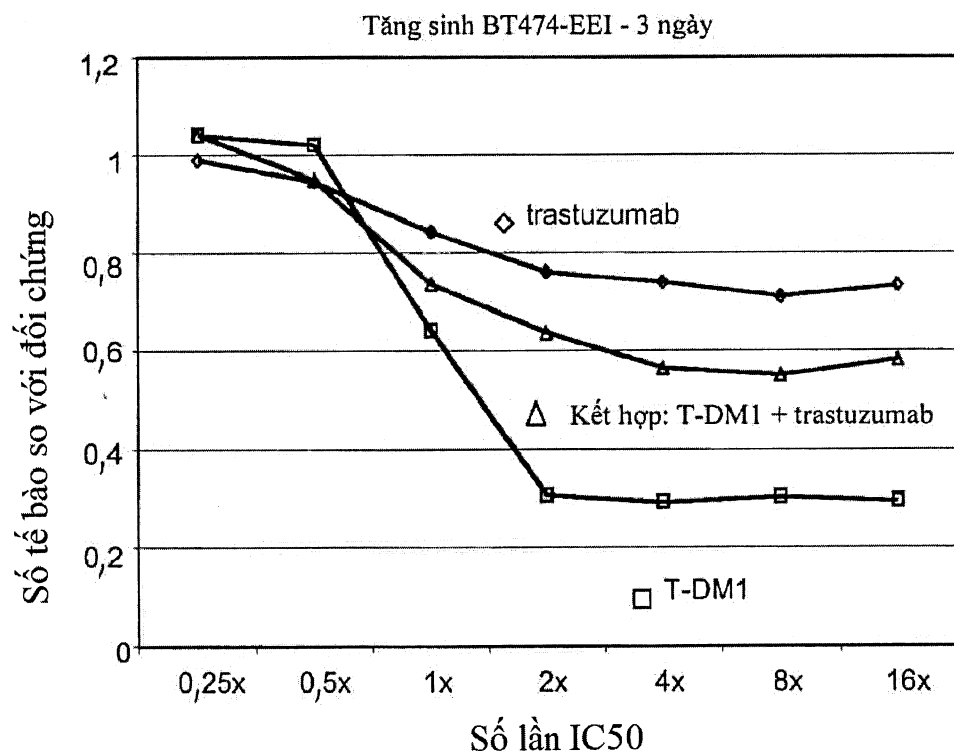


Fig 2

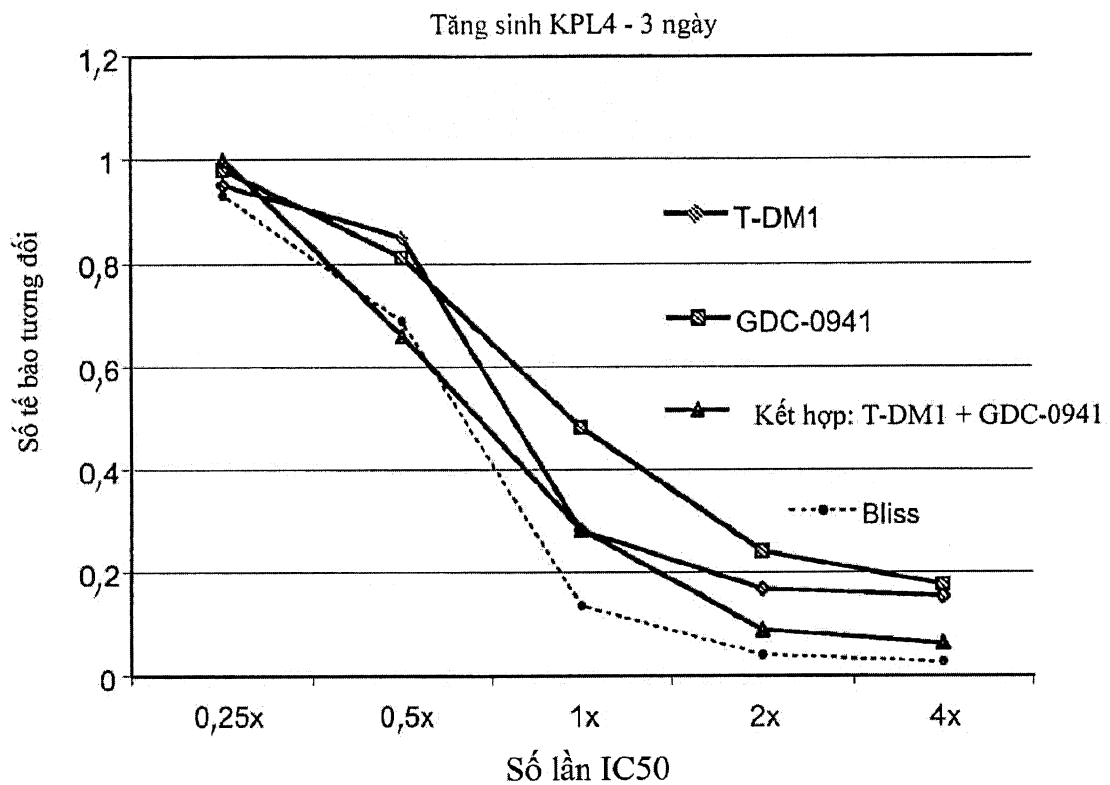


Fig 3

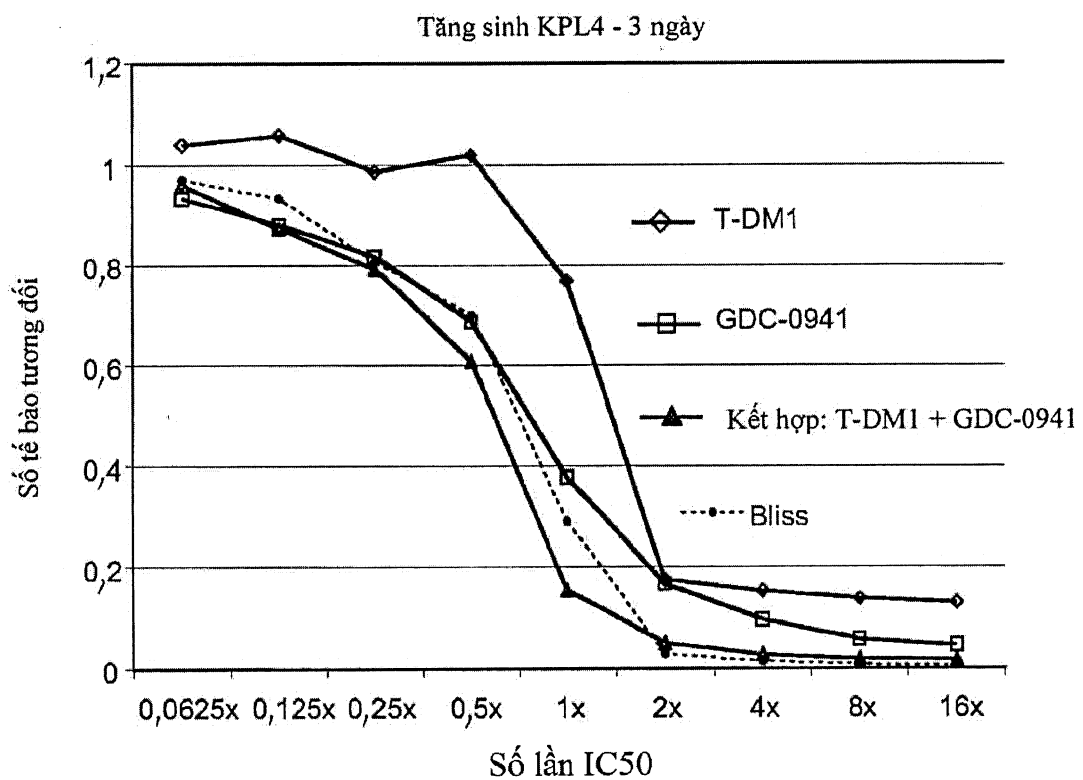


Fig 4

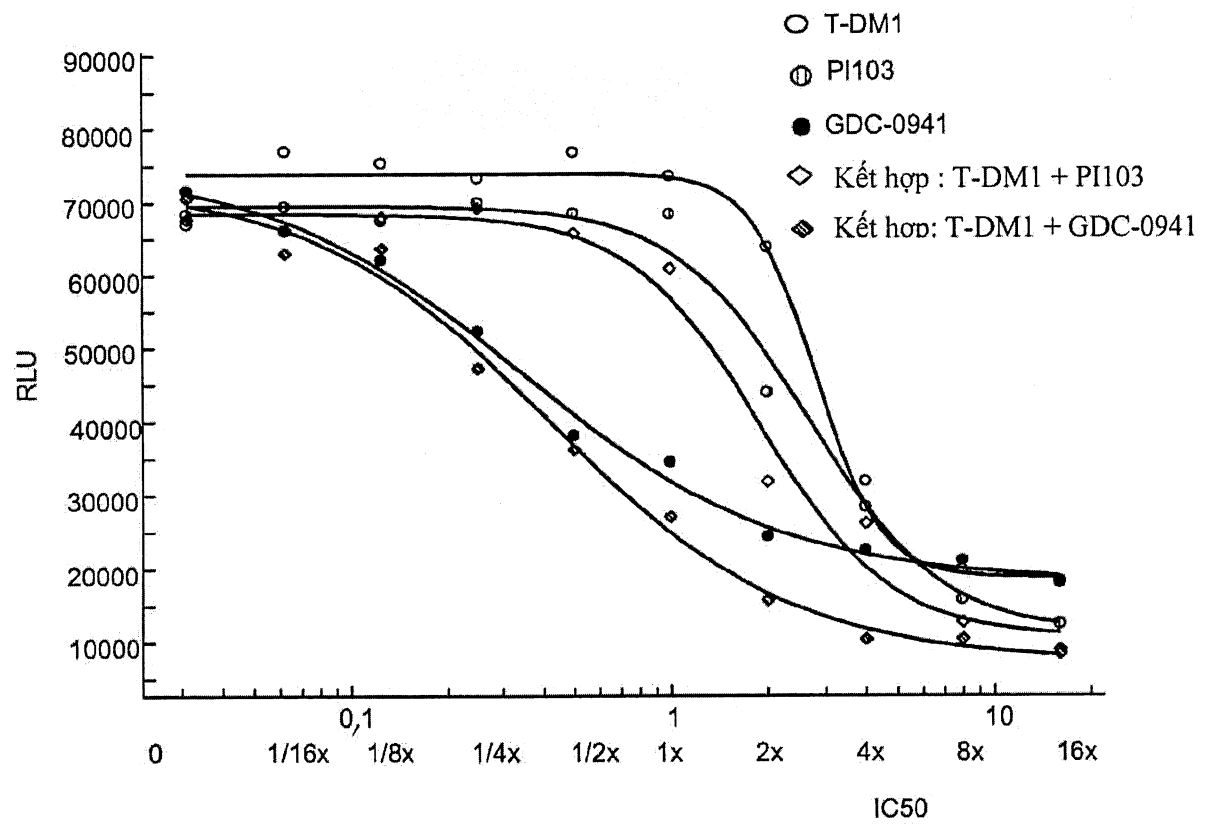


Fig 5

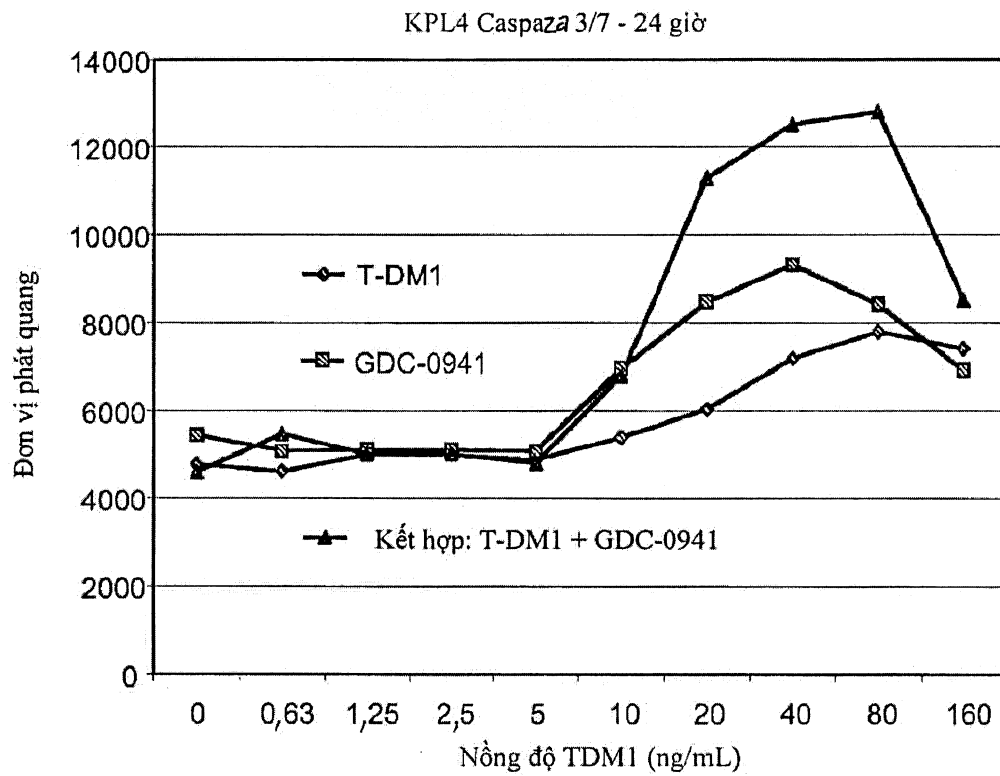


Fig 6

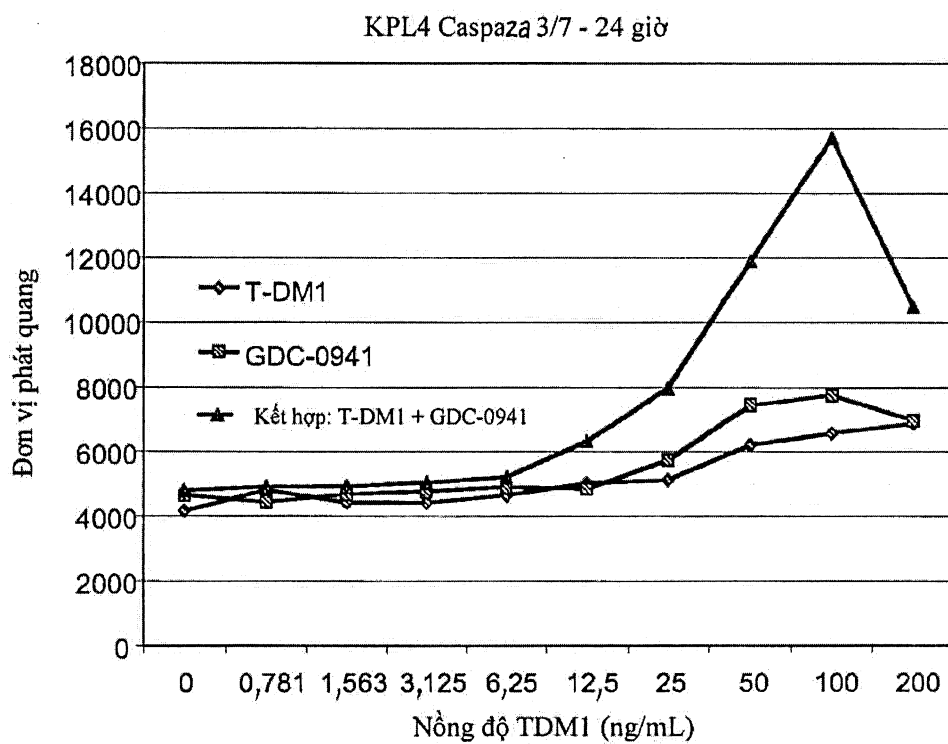


Fig 7

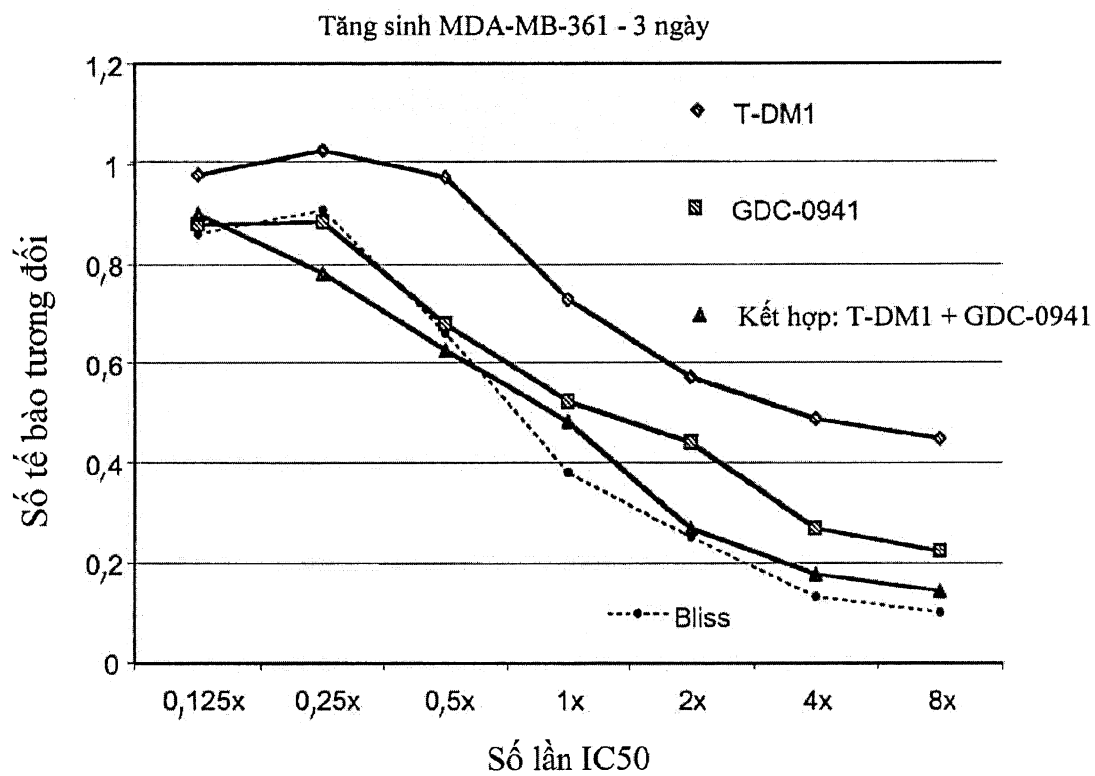


Fig 8

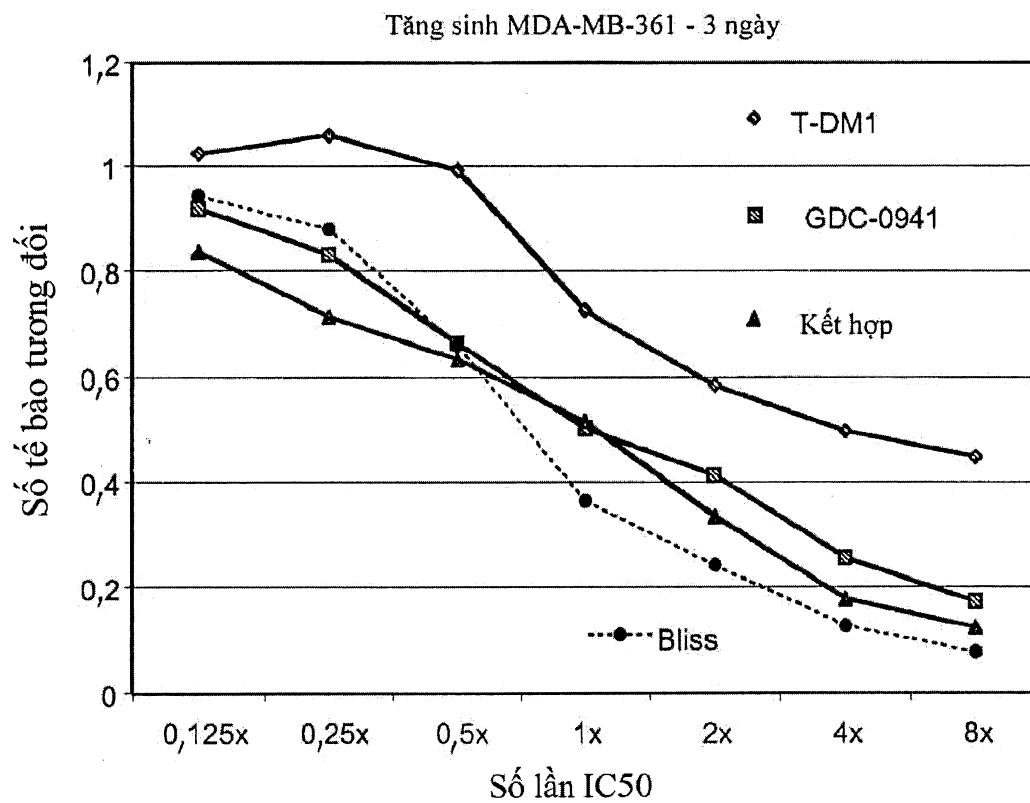


Fig 9

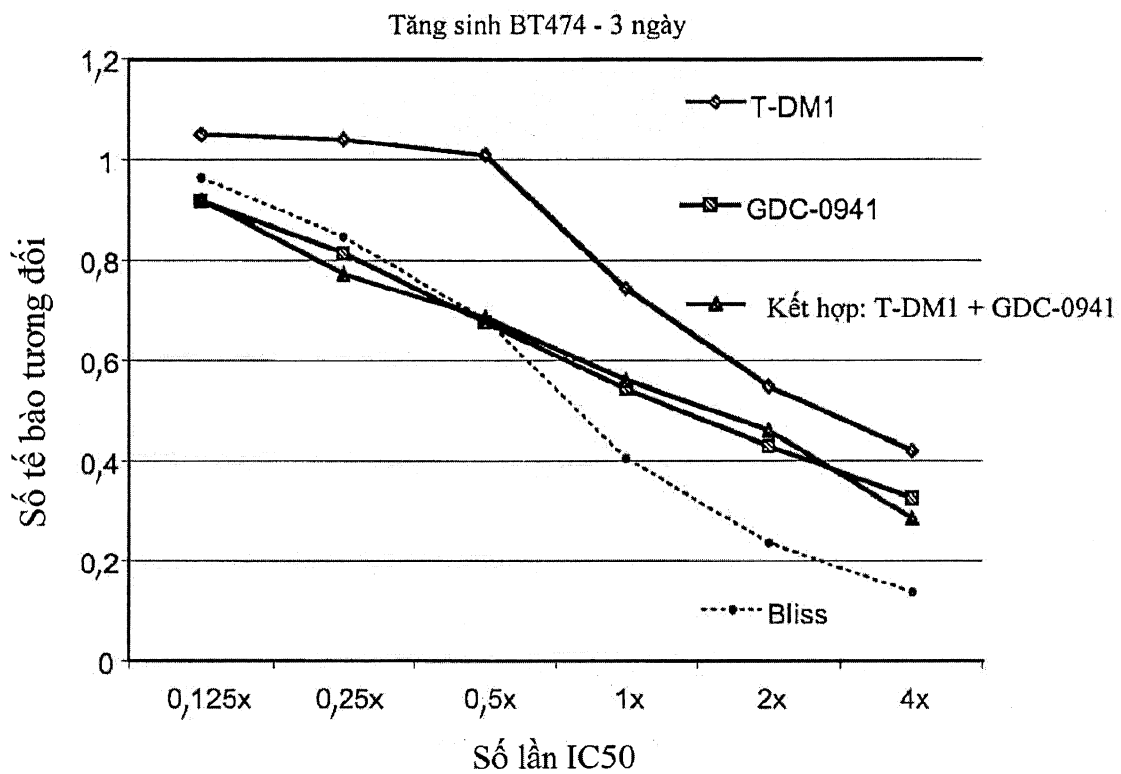


Fig 10

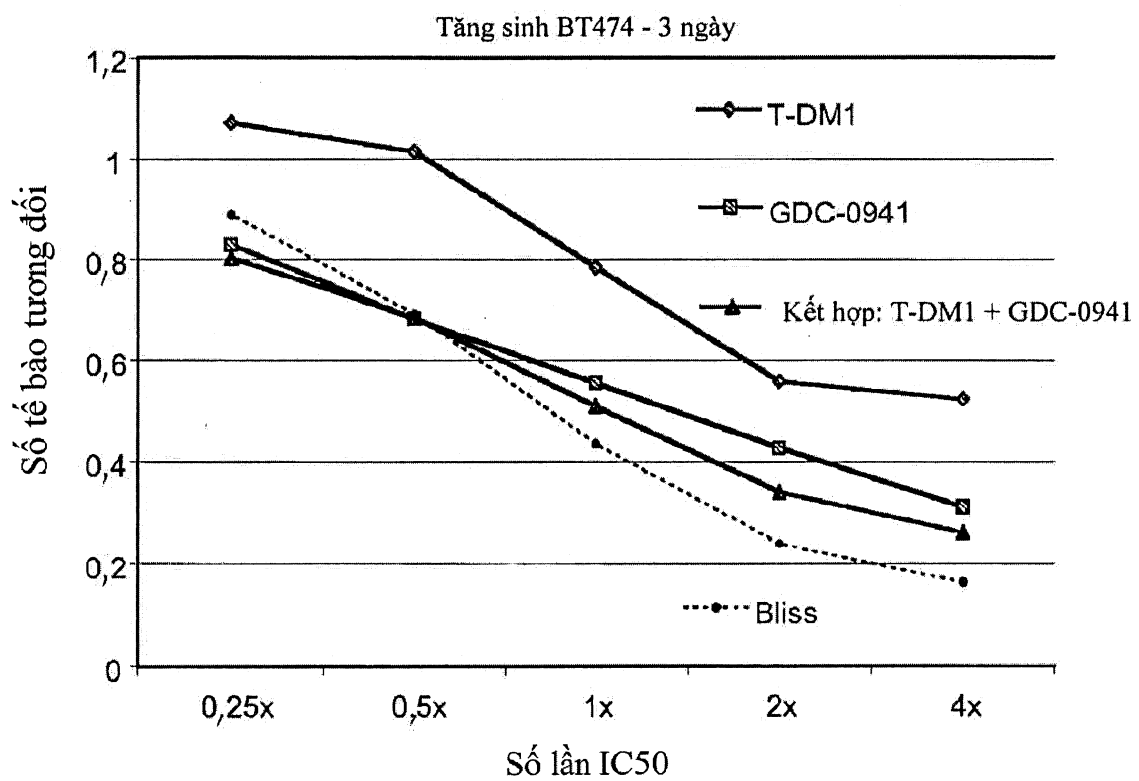


Fig 11

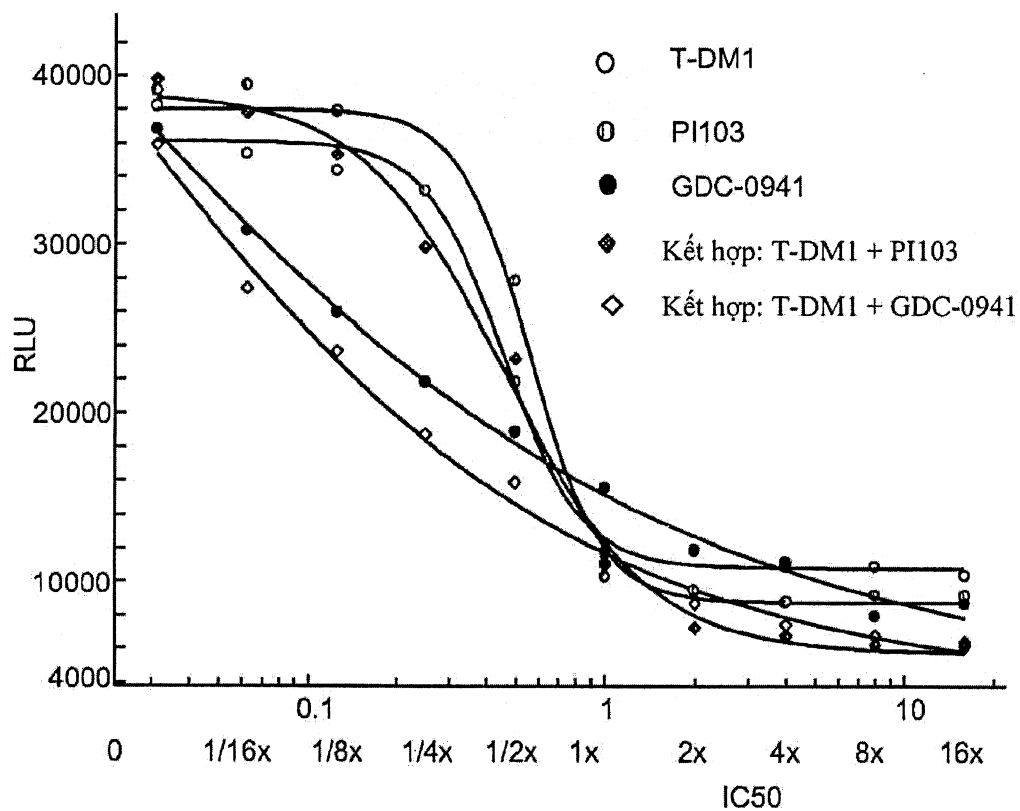


Fig 12

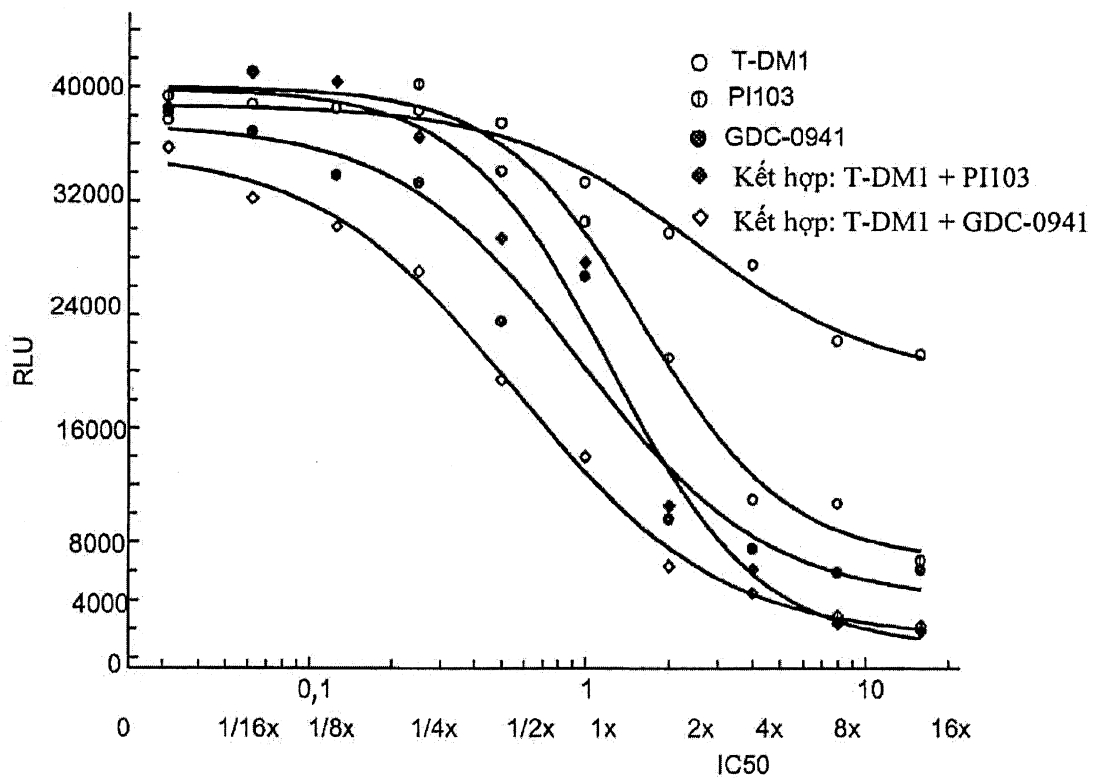


Fig 13

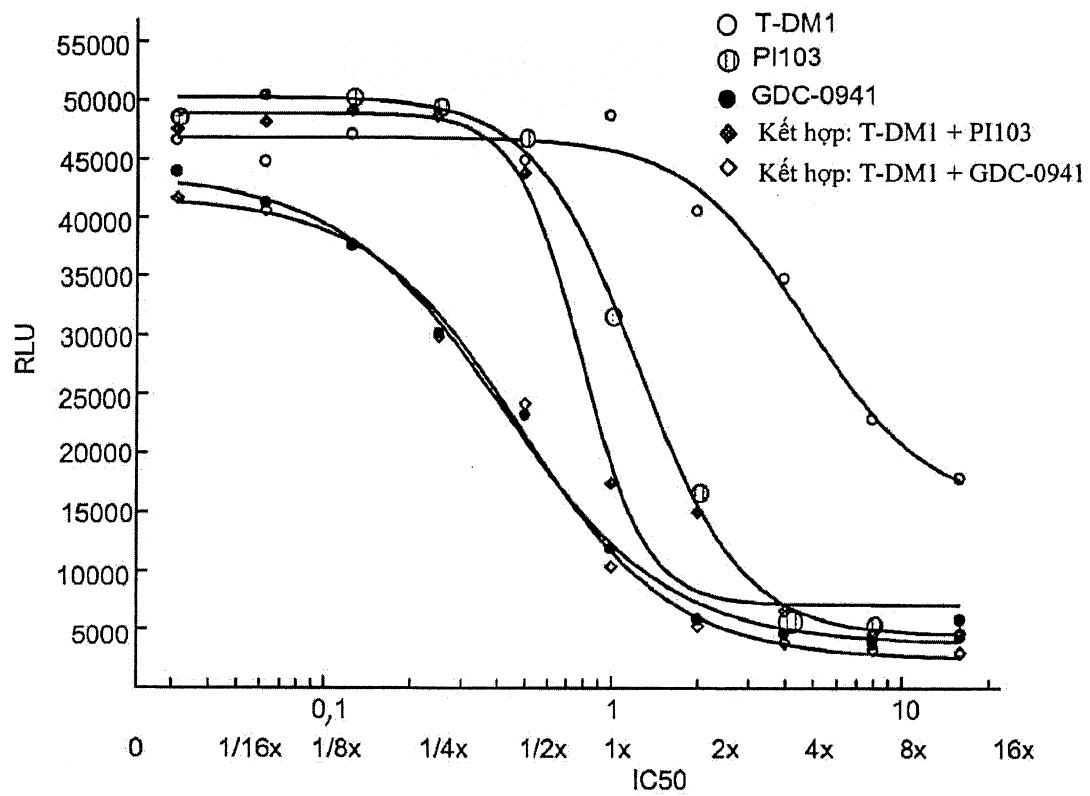


Fig 14

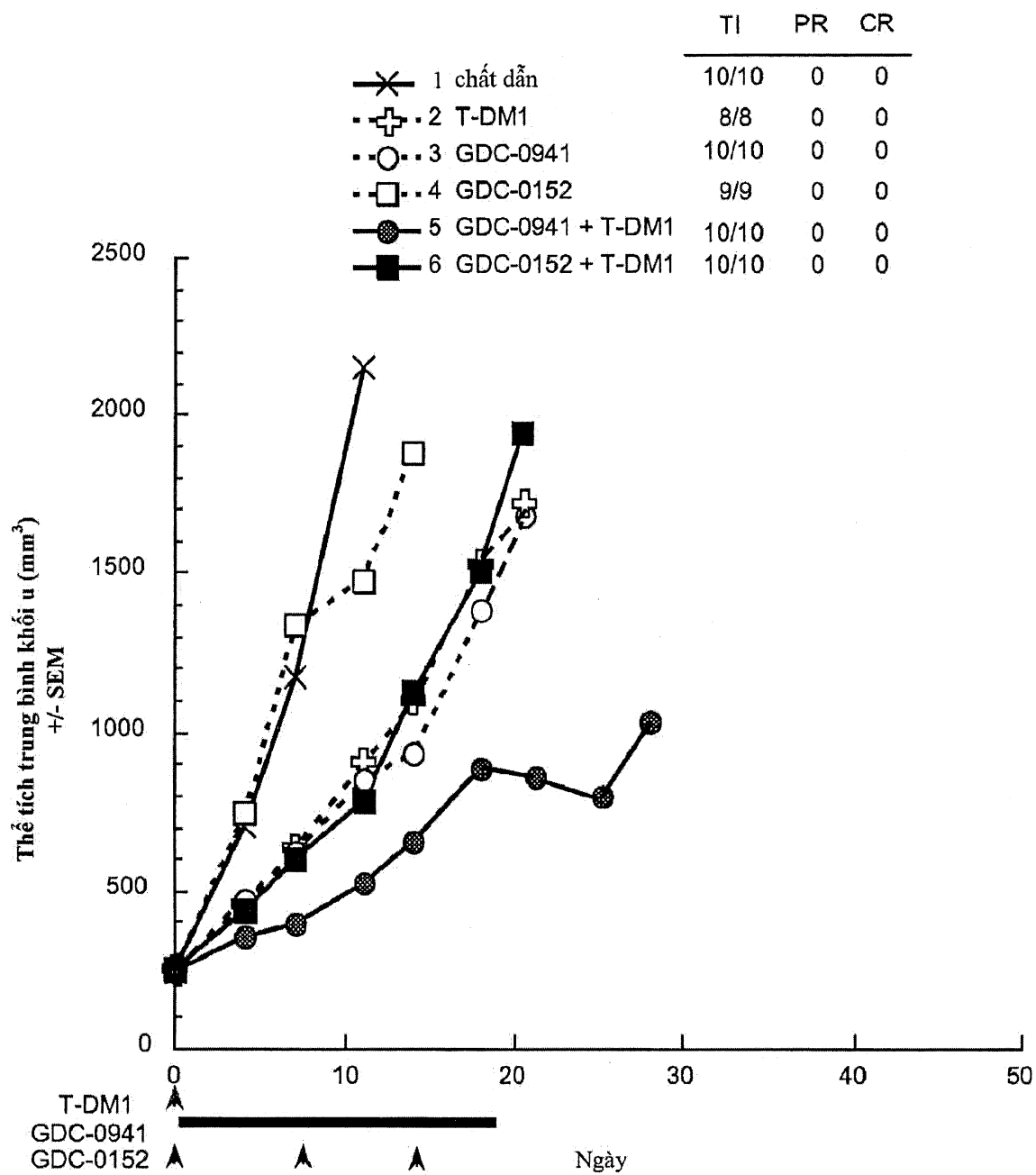


Fig 15

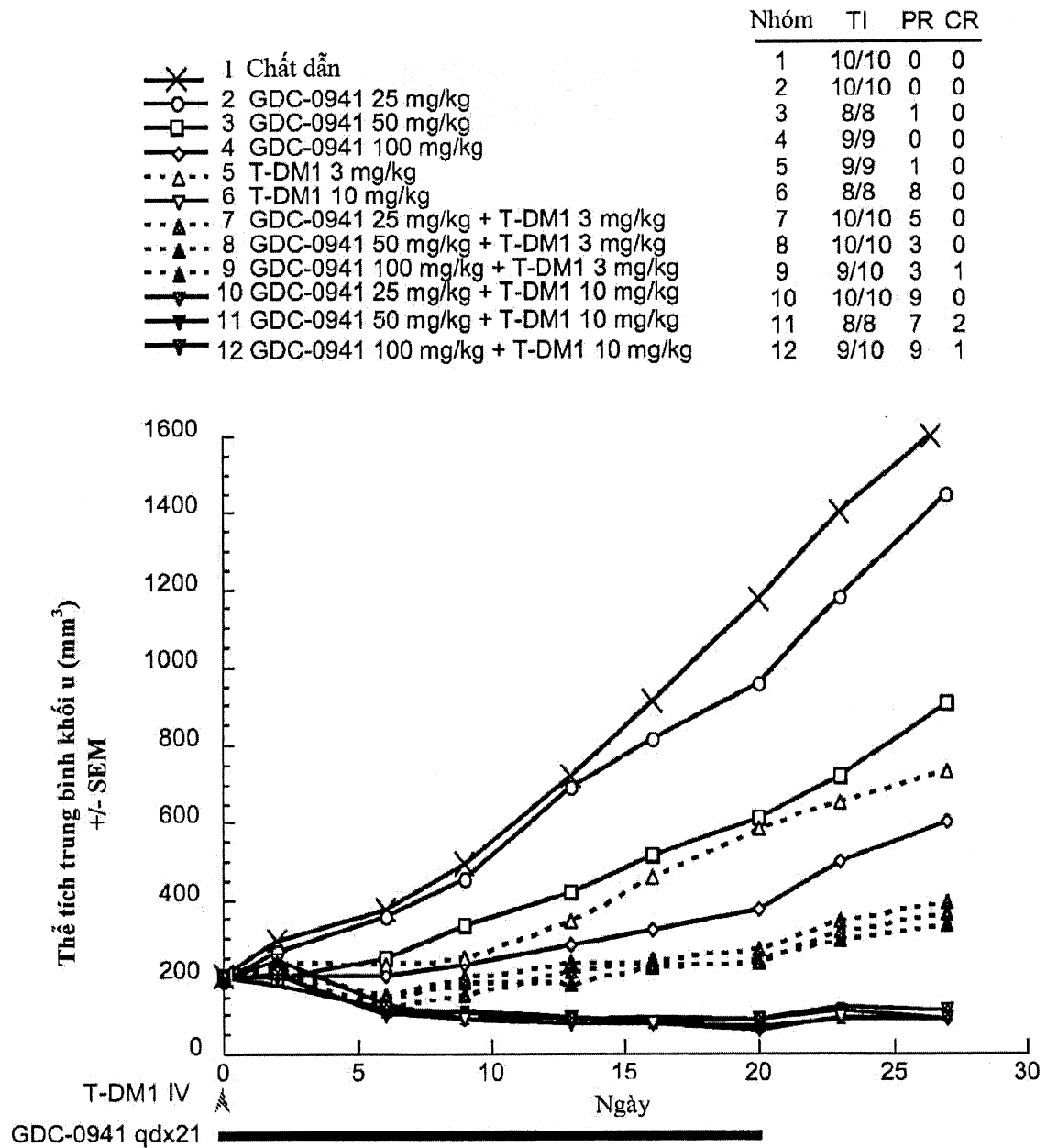


Fig 16

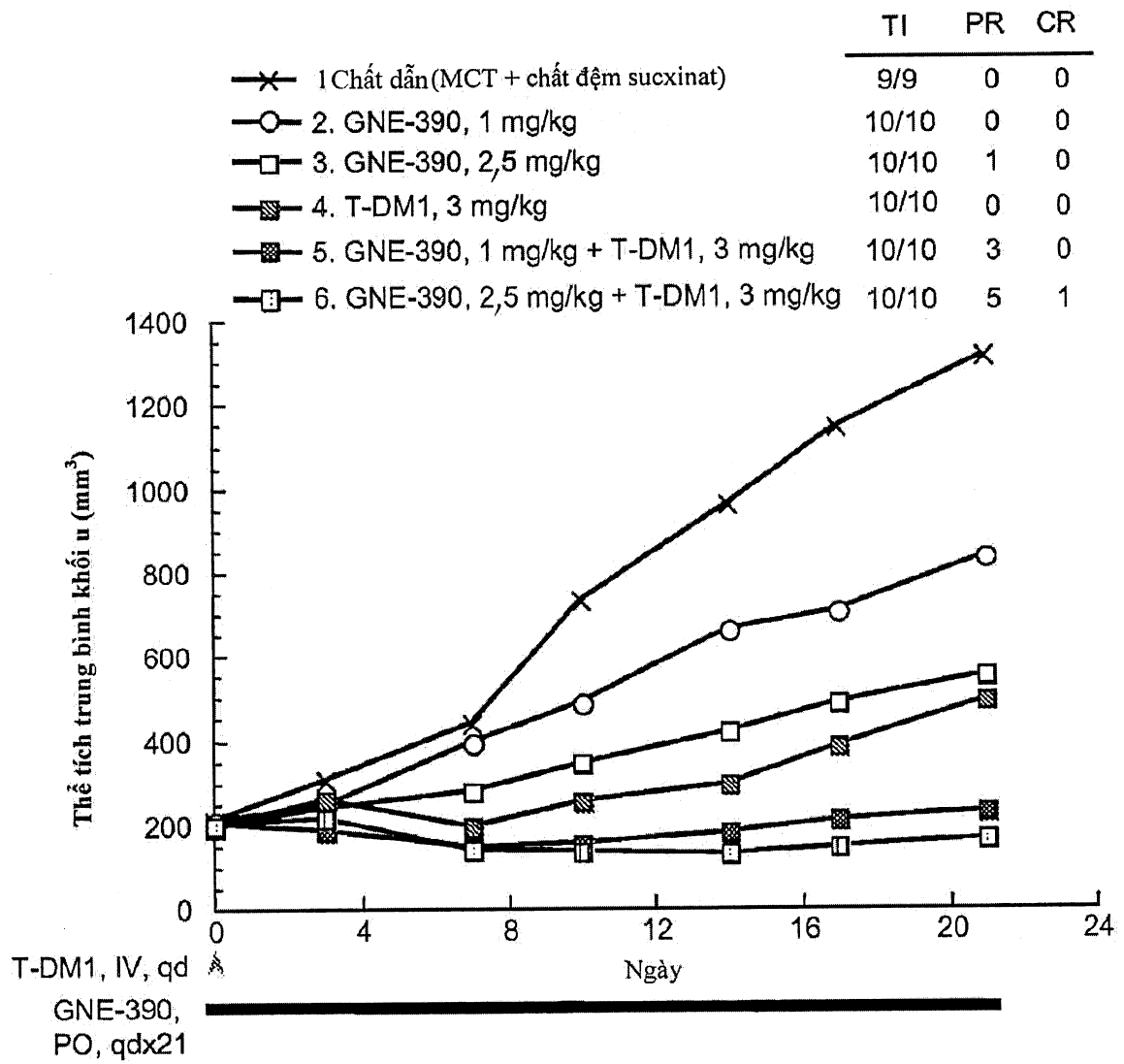


Fig 17