



(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)



1-0034736

(51)⁷ A61K 33/36; A61K 31/285

(13) B

(21) 1-2019-03011

(22) 04/12/2017

(86) PCT/KR2017/014082 04/12/2017

(87) WO 2018/105972 14/06/2018

(30) 10-2016-0167222 09/12/2016 KR

(45) 25/01/2023 418

(43) 25/11/2019 380A

(73) CHEMAS CO., LTD. (KR)

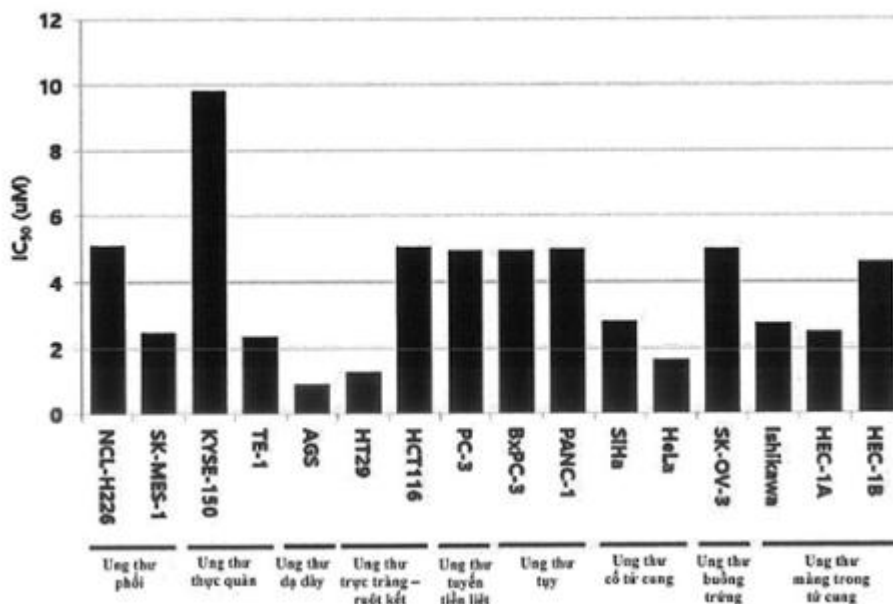
3rd Fl. 502, Bongeunsa-ro, Gangnam-gu, Seoul 06163, Republic of Korea

(72) BAE, Ill Ju (KR); LIAN, Zenglin (CN).

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

(54) DƯỢC PHẨM CHỨA TETRAARSEN HEXOXIT ĐỂ NGĂN NGỪA HOẶC ĐIỀU TRỊ BỆNH UNG THƯ

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư và phương pháp bào chế dược phẩm này, dược phẩm này chứa tetraarsen hexoxit trong đó hàm lượng của dạng đa hình tinh thể a của tetraarsen hexoxit ($\text{As}_4\text{O}_6\text{-a}$) bằng 99% hoặc nhiều hơn. Dược phẩm theo sáng chế thể hiện tác dụng ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư và như vậy có thể hữu ích làm thuốc chống ung thư.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến được phẩm chứa dạng đa hình tinh thể của tetraarsen hexoxit để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh ung thư được đặc trưng bởi sự phát triển tế bào không kiểm soát, và sự phát triển tế bào bất thường này tạo thành khối tế bào được gọi là khối u, khối u này thâm nhập vào các mô xung quanh, và, trong các trường hợp nghiêm trọng, gây di căn vào các cơ quan khác của cơ thể. Về mặt lý thuyết, các khối u được gọi là sự tạo u. Bệnh ung thư tác động đến tất cả các mô và các cơ quan của cơ thể với tốc độ lan nhiễm khác nhau.

Các loại bệnh ung thư có thể được phân loại theo mô và cơ quan trong đó tế bào ung thư phát triển đầu tiên, và có thể được phân loại theo hình dạng và nguồn gốc của tế bào ung thư. Ung thư phổi, ung thư dạ dày, ung thư trực tràng-ruột kết, ung thư cổ tử cung, và các bệnh ung thư tương tự thường được gọi theo cơ quan trong đó khối u phát triển đầu tiên. Ngoài ra, các loại bệnh ung thư nhìn chung có thể được phân chia thành khối u mô liên kết, khối u biểu mô, ung thư tuyến, và các khối u tương tự theo nguồn gốc của tế bào ung thư. Ở Hàn Quốc, bệnh ung thư phổ biến nhất, theo thứ tự tỷ lệ mắc phải, là ung thư tuyến giáp, sau đó là ung thư dạ dày, ung thư trực tràng-ruột kết, và ung thư phổi.

Các trị liệu ung thư được chia thành trị liệu xâm lấn để loại bỏ mô ung thư hóa rắn trong cơ quan hoặc tiêu diệt tế bào ung thư và trị liệu giảm đau để làm chậm sự phát triển của tế bào ung thư để làm giảm thiểu tác dụng phụ. Trong giai đoạn sớm của sự phát triển ung thư, các phương pháp điều trị để loại bỏ khối u thông qua phẫu thuật,

hóa trị liệu, trị liệu bằng chiếu xạ, và các biện pháp tương tự hoặc tiêu diệt tế bào ung thư thông qua hóa chất thuốc, chiếu xạ, và các biện pháp tương tự có thể được chọn. Tuy nhiên, trị liệu xâm lấn có các tác dụng phụ tương đối nghiêm trọng ở các bệnh nhân ung thư giai đoạn cuối, và do đó các phương pháp điều trị để làm chậm sự phát triển của tế bào ung thư để làm giảm tác dụng phụ và cải thiện chất lượng cuộc sống có thể được chọn. Nhìn chung, các thuốc chống ung thư chỉ sự hóa trị liệu chống ung thư thuộc trị liệu xâm lấn, và bao gồm các thuốc chống ung thư gây độc tế bào để tiêu diệt tế bào ung thư bằng các chất gây độc, thuốc ung thư nhắm đích để tác động một cách chọn lọc đến tế bào ung thư và các mạch máu mới xung quanh mô, và các dạng tương tự (Jung Geun-Young, Introduction and treatment trend of chemotherapy, BRIC View Trend Report, 2016-T20, 2016).

Hầu hết các thuốc chống ung thư đều là thuốc thể hiện tác dụng bằng cách tác động đến tế bào ung thư phân chia và phát triển nhanh chóng, nhưng gây ra các tác dụng phụ bằng cách tấn công ngay cả một số tế bào bình thường có sự sinh trưởng và phân chia nhanh chóng. Các chất trị liệu mà có thể điều trị ung thư một cách hoàn toàn đến nay chưa được phát triển. Do đó, liên quan đến việc điều trị bệnh ung thư, vẫn cần phải tiếp tục phát triển các tác nhân trị liệu có tác dụng chống ung thư tuyệt vời.

Các tác giả sáng chế đã nhận được quyền đối với patent về các dấu hiệu kỹ thuật trong đó tetraarsen hexoxit tinh chế từ arsenolit tự nhiên chứa arsen thông qua các kỹ thuật tách và tinh chế thể hiện tác dụng ức chế ung thư di căn trong các thử nghiệm ở động vật và có tác dụng điều trị chống ung thư tuyệt vời khi được sử dụng cho bệnh nhân bị ung thư giai đoạn cuối bị bệnh ung thư dạ con, ung thư bàng quang, ung thư phổi, ung thư xoang hàm, ung thư thận, và các bệnh ung thư tương tự (patent Hàn Quốc số 272835, Novel use of natural chemical substance tetraarsenic hexoxide as novel antitumor drug and pharmaceutical composition thereof, cấp ngày 30 tháng 8 2000).

Các tác giả sáng chế, trong quá trình nghiên cứu không ngừng về arsen, đã biết

rằng tetraarsen hexoxit có dạng đa hình tinh thể của tetraarsen hexoxit là 99% hoặc nhiều hơn có thể được tạo ra bằng phương pháp điều chế mới, khác với phương pháp được bộc lộ trong patent nêu trên, và được phẩm chứa tetraarsen hexoxit này có tác dụng lớn đối với việc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư bằng cách kìm hãm sự phát triển của các bệnh ung thư khác nhau, và hoàn thành sáng chế này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất được phẩm chứa dạng đa hình tinh thể của tetraarsen hexoxit (As_4O_6) làm thành phần hoạt tính để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế được phẩm chứa dạng đa hình tinh thể của tetraarsen hexoxit (As_4O_6) làm thành phần hoạt tính để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư.

Giải pháp kỹ thuật

Sáng chế đề cập đến được phẩm chứa tetraarsen hexoxit (As_4O_6) để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư, trong đó tetraarsen hexoxit này bao gồm dạng đa hình tinh thể a của tetraarsen hexoxit ($\text{As}_4\text{O}_6\text{-a}$) với lượng bằng 99% hoặc nhiều hơn.

Tetraarsen hexoxit của được phẩm theo sáng chế có thể được điều chế bằng cách: bước thứ nhất gia nhiệt natri clorua ở nhiệt độ $100\sim 800^\circ\text{C}$, sau đó là làm lạnh; bước thứ hai là đặt arsen trioxit (As_2O_3) trên natri clorua, tiếp theo là gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 100°C đến 1000°C ở trạng thái kín khí và sau đó là làm lạnh; bước thứ ba là tách các tinh thể đã được kết tinh trong tầng lọc thu gom arsen được thăng hoa; và bước thứ tư là lặp lại các bước thứ hai và thứ ba bốn đến mười lần bằng cách sử dụng các tinh thể thu được ở bước thứ ba thay cho arsen trioxit ở bước thứ hai, nhờ đó thu được các tinh thể tetraarsen hexoxit.

Tetraarsen hexoxit của được phẩm có thể chứa hợp chất dạng đa hình tinh thể

b của tetraarsen hexoxit (As_4O_6 -b) với lượng nhỏ hơn 1%.

Tetraarsen hexoxit có thể có độ tinh khiết bằng 99,9% hoặc lớn hơn.

As_4O_6 -a và As_4O_6 -b có các dấu hiệu từ (i) đến (iii) dưới đây.

Bảng 1

Loại	Dạng đa hình tinh thể a (As_4O_6 -a)	Dạng đa hình tinh thể b (As_4O_6 -b)
(i) Các thông số ô	$a = b = c = 11,0734 \text{ \AA}$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ $V = 1357,82 \text{ \AA}^3$	$a = b = c = 11,0600 \text{ \AA}$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ $V = 1352,90 \text{ \AA}^3$
(ii) Độ dài liên kết As-O	1,786 $\text{ \AA}$	2,011 $\text{ \AA}$
(iii) Góc liên kết O-As-O	98,36°	109,47°

As_4O_6 -a có dạng tinh thể, trong đó phổ nhiễu xạ bột tia X của nó thu được bằng cách sử dụng bước sóng nguồn sáng bằng 1,5406 $\text{ \AA}$ trong góc nhiễu xạ (2θ) nằm trong khoảng từ 10° đến 50° ở tốc độ $1^\circ/\text{phút}$ (bước quét bằng $0,02^\circ$) thể hiện đỉnh ở trị số 2θ bằng 13,84, 27,88, 32,32, 35,3, 39,84, 42,38, 46,34, 48,6, và 49,34 (xem FIG. 1). Ngoài ra, tỷ lệ giữa các đỉnh chính được thể hiện ở các trị số 2θ là 13,8 và 27,9 bằng 1:1,3.

As_4O_6 -b có dạng tinh thể, trong đó phổ nhiễu xạ bột tia X thu được bằng cách sử dụng bước sóng nguồn sáng bằng 1,5406 $\text{ \AA}$ trong góc nhiễu xạ (2θ) nằm trong khoảng từ 10° đến 50° ở tốc độ $1^\circ/\text{phút}$ (bước quét bằng $0,02^\circ$) thể hiện đỉnh ở các trị số 2θ bằng 13,86, 27,92, 32,36, 35,34, 39,9, 42,44, 46,4, 48,66, và 49,4 (xem FIG. 1). Ngoài ra, tỷ lệ giữa các đỉnh chính được thể hiện ở các trị số 2θ là 13,8 và 27,9 bằng 1:2,5.

Bệnh ung thư có thể được chọn từ nhóm bao gồm ung thư phổi, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư trực tràng-ruột kết, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tụy, ung thư cổ tử cung, ung thư buồng trứng, và ung thư màng trong dạ con.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG. 1 thể hiện phổ nhiễu xạ bột tia X của As_4O_6 -a và As_4O_6 -b.

FIG. 2 thể hiện đồ thị mô tả kết quả đánh giá tác dụng ức chế sự tăng sinh tế bào sau khi dòng tế bào ung thư phổi NCL-H226 được điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3 và được ủ trong 48 giờ (FIG. 2A) và 72 giờ (FIG. 2B).

FIG. 3 thể hiện đồ thị mô tả kết quả đánh giá tác dụng ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư phổi theo thời gian điều trị khi các dòng tế bào ung thư phổi NCL-H226 và SK-MES-1 được điều trị bằng 10 μM dược phẩm của Ví dụ 1.

FIG. 4 thể hiện đồ thị mô tả kết quả đánh giá tác dụng ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư thực quản theo thời gian điều trị khi các dòng tế bào ung thư thực quản KYSE-150 và TE-1 được điều trị bằng 10 μM dược phẩm của Ví dụ 1 (FIG. 4A) và tác dụng ức chế sự tăng sinh tế bào sau khi TE-1 được điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3 và sau đó được ủ trong 72 giờ (FIG. 4B).

FIG. 5 thể hiện đồ thị mô tả kết quả đánh giá tác dụng ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư dạ dày theo nồng độ của dược phẩm của Ví dụ 1 và thời gian điều trị khi dòng tế bào ung thư dạ dày AGS được điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 (FIG. 5A) và tác dụng ức chế sự tăng sinh tế bào sau khi AGS được điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3 và sau đó được ủ trong 72 giờ (FIG. 5B).

FIG. 6 thể hiện đồ thị mô tả kết quả đánh giá tác dụng ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư trực tràng-ruột kết theo thời gian điều trị khi dòng tế bào ung thư trực tràng-ruột kết HT29 và HCT116 được điều trị bằng 10 μM dược phẩm của Ví dụ 1 (FIG. 6A) và tác dụng ức chế sự tăng sinh tế bào sau khi HT29 được điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3 và sau đó được ủ trong 72 giờ (FIG. 6B).

FIG. 7 thể hiện đồ thị mô tả kết quả đánh giá tác dụng ức chế sự tăng sinh tế bào sau khi dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt PC-3 được điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3 và được ủ trong 48 giờ (FIG. 7A) và 72 giờ (FIG. 7B).

FIG. 8 thể hiện đồ thị mô tả kết quả đánh giá tác dụng ức chế sự tăng sinh tế bào sau khi dòng tế bào ung thư tụy BxPC-3 được điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3 và được ủ trong 72 giờ (FIG. 8A) và tác dụng ức chế sự tăng sinh tế bào sau khi dòng tế bào ung thư tụy BxPC-3 và PANC-1 được điều trị bằng Ví dụ 1 với các nồng độ khác nhau và được ủ trong 72 giờ (FIG. 8B).

FIG. 9 thể hiện đồ thị mô tả kết quả đánh giá sự ức chế tăng sinh tế bào sau khi dòng tế bào ung thư buồng trứng SK-OV-3 (FIG. 9A), dòng tế bào ung thư cổ tử cung của người HeLa (FIG. 9B), và dòng tế bào ung thư màng trong dạ con của người HEC-1B (FIG. 9C) được điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3 và sau đó được ủ trong 72 giờ.

FIG. 10 thể hiện đồ thị mô tả kết quả so sánh, thông qua các giá trị IC_{50} , mức độ ức chế sự tăng sinh tế bào của dược phẩm của Ví dụ 1 ở các dòng tế bào ung thư phổi, thực quản, dạ dày, trực tràng-ruột kết, tuyến tiền liệt, tụy, cổ tử cung, buồng trứng, và màng trong dạ con của người.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết.

Sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa tetraarsen hexoxit (As_4O_6) làm thành phần hoạt tính để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư, trong đó tetraarsen hexoxit này bao gồm dạng đa hình tinh thể a của tetraarsen hexoxit (As_4O_6 -a) với lượng bằng 99% hoặc nhiều hơn.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế dược

phẩm chứa dạng đa hình tinh thể của tetraarsen hexoxit (As_4O_6) làm thành phần hoạt tính để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư, phương pháp này bao gồm: bước thứ nhất gia nhiệt natri clorua ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ $100\sim 800^\circ\text{C}$, sau đó là làm lạnh; bước thứ hai là đặt arsen trioxit (As_2O_3) trên natri clorua, tiếp theo là gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 100°C đến 1000°C ở trạng thái kín khí và sau đó là làm lạnh; bước thứ ba là tách các tinh thể đã được kết tinh trong tầng lọc thu gom arsen được thăng hoa; và bước thứ tư là lặp lại các bước thứ hai và thứ ba bốn đến mười lần bằng cách sử dụng các tinh thể thu được ở bước thứ ba thay cho arsen trioxit ở bước thứ hai, nhờ đó thu được các tinh thể tetraarsen hexoxit, trong đó các tinh thể tetraarsen hexoxit thu được ở bước thứ tư bao gồm dạng đa hình tinh thể a của tetraarsen hexoxit ($\text{As}_4\text{O}_6\text{-a}$) với lượng bằng 99% hoặc nhiều hơn.

Bình phản ứng tổng hợp của nguyên liệu cao lanh và các kẹp có khả năng lắp các bộ lọc lên trên bình phản ứng tổng hợp được chuẩn bị. Sau đó, natri clorua được đặt trong bình phản ứng tổng hợp, và được gia nhiệt và làm lạnh. Lý do tại sao lại sử dụng natri clorua trong phương pháp bào chế theo sáng chế là vì khi tiến hành gia nhiệt trong khi đặt arsen trioxit lên trên natri clorua ở bước thứ hai, nhiệt được chuyển đều đến hợp chất arsen, nhờ đó giúp cho sự thăng hoa của các hợp chất arsen. Để loại bỏ các tạp chất và hơi ẩm ra khỏi natri clorua này, natri clorua được gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 100 đến 800°C trong khoảng thời gian từ 2 đến 6 giờ trong bước đầu tiên. Ở bước đầu tiên, natri clorua được làm lạnh ở nhiệt độ trong phòng trong khoảng thời gian từ 3 đến 10 giờ sau khi gia nhiệt.

Sau đó, tiến hành bước thứ hai bằng cách đặt arsen trioxit (As_2O_3) lên trên natri clorua, sau đó là gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 100°C đến 1000°C ở trạng thái kín khí và sau đó làm lạnh. Ở đây, sau khi đặt arsen trioxit, ba đến sáu bộ lọc (các tầng lọc) có khả năng thu gom arsen thăng hoa được lắp trên các kẹp sao cho các khoảng cách giữa các bộ lọc bằng 2 đến 6 mm. Các bộ lọc được sử dụng trong bản mô tả tốt hơn là có trọng lượng tối thiểu nằm trong khoảng từ 70 đến 100 g/m^2 , độ dày nằm trong khoảng từ 0,17 đến 0,25 mm, tốc độ lọc nằm trong khoảng từ 22 đến 30

giây/100 ml, và tốc độ lưu nằm trong khoảng từ 5 đến 10 μm .

Sau khi lắp các bộ lọc, tạo trạng thái kín khí, và sau đó phần đáy của bình phản ứng tổng hợp được gia nhiệt trong khoảng thời gian từ 3 đến 10 giờ trong khi nhiệt độ tăng từ từ từ 100°C đến 1000°C, sao cho nhiệt độ của phần giữa của tầng lọc cao nhất được duy trì ở nhiệt độ $150 \pm 100^\circ\text{C}$, và tetraarsen hexoxit kết tinh được cho qua các tầng lọc. Sau đó, tiến hành làm lạnh ở nhiệt độ trong phòng trong 5 giờ hoặc lâu hơn, và tốt hơn là trong khoảng thời gian từ 5 đến 10 giờ.

Sau đó, bước thứ ba được thực hiện bằng cách tách các tinh thể màu trắng được thu gom ở các tầng lọc được đặt cách nhau từ tầng 3 đến tầng 6 được lắp đặt theo kiểu xếp chồng.

Sau khi loại bỏ một lượng nhỏ arsen trioxit còn lại trên natri clorua trong bình phản ứng tổng hợp, các tinh thể màu trắng được thu gom được đặt trên thiết bị đó, và sau đó các bước thứ hai và thứ ba được lặp lại bốn đến mười lần trong cùng điều kiện, bằng cách này cuối cùng thu được các tinh thể tetraarsen hexoxit. Do việc kiểm tra các cấu trúc tinh thể thu được theo phương pháp bào chế theo sáng chế, đã được xác nhận rằng hầu hết các tinh thể đều là $\text{As}_4\text{O}_6\text{-a}$, các tinh thể này chiếm 99% hoặc nhiều hơn.

Bệnh ung thư có thể được chọn từ nhóm bao gồm ung thư phổi, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư trực tràng-ruột kết, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tụy, ung thư cổ tử cung, ung thư buồng trứng, và ung thư màng trong dạ con.

Dược phẩm chứa dạng đa hình tinh thể của tetraarsen hexoxit theo sáng chế có thể được sử dụng thích hợp để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế ở dạng: dược phẩm dùng qua đường miệng, như thuốc bột, hạt cốm, viên nén, viên nang, huyền phù, nhũ tương, sirô, hoặc sol khí; dược phẩm được dùng bên ngoài; thuốc đạn; và dung dịch tiêm vô trùng, theo phương pháp thông thường. Các ví dụ về chất mang, tá dược, và chất pha

loãng mà có thể được chứa trong dược phẩm có thể bao gồm lactoza, dextroza, sucroza, sorbitol, manitol, xylitol, erythritol, maltitol, tinh bột, cao su acacia, alginat, gelatin, canxi phosphat, canxi silicat, xenluloza, metyl xenluloza, xenluloza vi tinh thể, polyvinyl pyrolidon, nước, metyl hydroxybenzoat, propyl hydroxybenzoat, bột talc, magie stearat, và dầu khoáng. Dược phẩm có thể được bào chế thành các chế phẩm bằng cách sử dụng chất pha loãng hoặc tá dược, như chất làm đầy, chất độn, chất liên kết, chất thấm ướt, chất gây rã, hoặc chất hoạt động bề mặt. Dược phẩm rắn để dùng qua đường miệng bao gồm viên nén, viên tròn, thuốc bột, hạt cốm, viên nang, và các loại tương tự. Các dược phẩm rắn này có thể được bào chế bằng cách trộn tetraarsen hexoxit theo sáng chế với ít nhất một tá dược, ví dụ, tinh bột, canxi cacbonat, sucroza hoặc lactoza, gelatin, hoặc chất tương tự. Ngoài ra, các chất bôi trơn, như magie stearat và bột talc, có thể được sử dụng ngoài các tá dược đơn giản. Dược phẩm lỏng để dùng qua đường miệng tương ứng với huyền phù, chất lỏng để dùng bên trong, nhũ tương, sirô, và các chất tương tự, và có thể bao gồm các chất pha loãng đơn giản mà được sử dụng thường xuyên, như nước và parafin lỏng, và một số tá dược, như chất thấm ướt, chất tạo ngọt, chất tạo hương thơm, và chất bảo quản. Dược phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa bao gồm dung dịch nước vô trùng, dung môi không chứa nước, huyền phù, nhũ tương, chất làm đông khô, và thuốc đạn. Dung môi không chứa nước và huyền phù có thể bao gồm propylen glycol, polyetylen glycol, dầu thực vật như dầu ô liu, este tiêm được như etylolat, và các dung môi tương tự. Nguyên liệu nền dùng cho thuốc đạn có thể bao gồm Witepsol, Macrogol, Tween 61, bơ cacao, bơ laurin, glyxerogelatin, và các nguyên liệu tương tự.

Liều của dược phẩm có thể thay đổi tùy thuộc vào độ tuổi, giới tính, và cân nặng của đối tượng được điều trị, bệnh hoặc tình trạng bệnh lý cụ thể cần được điều trị, mức độ nghiêm trọng của bệnh hoặc tình trạng bệnh lý, đường dùng, và quyết định của bác sĩ kê đơn. Việc xác định liều dựa vào các yếu tố này thuộc phạm vi hiểu biết của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, và liều thông thường

nằm trong khoảng từ khoảng 0,01 đến 500 mg/kg/ngày. Liều tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100 mg/kg/ngày. Việc dùng có thể được thực hiện một lần một ngày hoặc vài lần với các liều chia nhỏ trong một ngày. Liều nêu trên không dự định làm giới hạn phạm vi của sáng chế theo cách bất kỳ.

Dược phẩm có thể được sử dụng cho các động vật có vú, như chuột cống, động vật nuôi trong nhà, và người thông qua các đường dùng khác nhau. Tất cả các cách dùng có thể được tính trước, và ví dụ, việc dùng có thể được thực hiện thông qua đường miệng, qua trực tràng, tiêm trong tĩnh mạch, trong cơ, dưới da, trong dạ con, trong não thất.

Hiệu quả của sáng chế

Dược phẩm chứa tetraarsen hexoxit bao gồm dạng đa hình tinh thể a của tetraarsen hexoxit để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư theo sáng chế có tác dụng chống ung thư tuyệt vời.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, các ví dụ ưu tiên của sáng chế sẽ được mô tả chi tiết. Tuy nhiên, sáng chế không bị giới hạn ở các ví dụ được mô tả ở đây, và như vậy có thể được kết hợp thành các dạng khác nhau. Ngoài ra, các ví dụ này được đưa ra để cho phần mô tả sẽ trọn vẹn và hoàn chỉnh, và sẽ chuyển tải đầy đủ phạm vi của sáng chế cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Ví dụ 1: Điều chế hợp chất tetraarsen hexoxit theo sáng chế

Bình phản ứng tổng hợp (chiều cao 100 mm và đường kính 190 mm) được sản xuất đặc biệt bằng cách sử dụng cao lanh và ba đến sáu bàn kẹp có khả năng lắp các bộ lọc trên đó được chuẩn bị. Bàn kẹp thứ nhất được lắp đặt ở khoảng cách bằng 50 mm từ bình phản ứng tổng hợp, và các bàn kẹp từ thứ 2 đến thứ 6 được lắp đặt ở trên bàn kẹp thứ nhất ở khoảng cách bằng từ 2 đến 6 mm từ bàn kẹp thứ nhất, và kích thước

của mỗi bàn kẹp có đường kính 210mm và độ dày 10mm.

Muối thô cân nặng 400-600 g (hàm lượng hơi ẩm 10% hoặc nhỏ hơn) được đưa vào bình phản ứng tổng hợp, và sau đó được trải đều và được đóng gói thành độ dày khoảng 20 mm. Bình phản ứng tổng hợp được gia nhiệt từ từ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 100 đến 800°C trong 3 giờ, và được gia nhiệt liên tục sao cho nhiệt độ bề mặt của muối bằng $290\pm 30^\circ\text{C}$ bên trong bình phản ứng này, bằng cách này loại được hơi ẩm và các tạp chất. Sau đó, tiến hành làm lạnh ở nhiệt độ trong phòng trong 5 giờ.

Sau đó, 100 g nguyên liệu thô, As_2O_3 (độ tinh khiết bằng 98% hoặc cao hơn, được điều chế bởi YUNNAN WENSHAN JINCHI ARSENIC CO., LTD.) được đặt lên trên muối thô bên trong bình phản ứng tổng hợp, và các bộ lọc (các tầng lọc) có khả năng thu gom arsen thăng hoa được lắp trên ba đến sáu bàn kẹp được lắp đặt ở trên bình phản ứng tổng hợp sao cho các khoảng cách giữa các bộ lọc bằng từ 2 đến 6 mm. Các bộ lọc được sử dụng trong bản mô tả tốt hơn là có trọng lượng tối thiểu bằng 70-100 g/m², độ dày nằm trong khoảng từ 0,17 đến 0,25 mm, tốc độ lọc từ 22 đến 30 giây/100 ml, và tốc độ lưu nằm trong khoảng từ 5 đến 10 μm .

Các bộ lọc được lắp cố định bằng cách sử dụng các kẹp, và sau đó áp dụng gia nhiệt vào phần đáy của bình phản ứng tổng hợp để làm tăng từ từ nhiệt độ từ 100°C đến 1000°C. Trước tiên, phần đáy của bình phản ứng tổng hợp được gia nhiệt trong 1 giờ sao cho nhiệt độ bên ngoài phần đáy của bình phản ứng tổng hợp là khoảng $350\pm 100^\circ\text{C}$, và sau đó, tiến hành gia nhiệt sao cho nhiệt độ bên ngoài phần đáy của bình phản ứng tổng hợp là từ khoảng 600-650°C đến khoảng 700-1000°C, sao cho nhiệt độ của phần giữa của tầng lọc cao nhất được duy trì ở nhiệt độ $150\pm 100^\circ\text{C}$ thông qua gia nhiệt trong khoảng thời gian tổng cộng là từ 5 đến 10 giờ. Sau đó, tiến hành làm lạnh ở nhiệt độ trong phòng trong khoảng thời gian từ 5 đến 7 giờ. Trong quy trình này, bột As_2O_3 được đặt lên trên muối bên trong bình phản ứng tổng hợp được chuyển thành khí bên trong bình phản ứng tổng hợp, và khí này được chuyển lên, và sau đó

được chuyển thành chất lỏng vì nhiệt độ phía trên bên ngoài bình phản ứng tổng hợp là tương đối thấp, và sau đó, chất lỏng này được kết tinh dưới dạng chất rắn, và như vậy các tinh thể màu trắng được tạo ra trên các bộ lọc.

Các tinh thể màu trắng thu gom được được đặt trên muối thô bên trong bình phản ứng tổng hợp, và các quy trình gia nhiệt, làm lạnh, và thu gom tinh thể được lặp lại bốn lần, nhờ đó cuối cùng thu được 12,0 g tinh thể. Do việc kiểm tra cấu trúc tinh thể của các tinh thể hợp chất arsen thu được, đã xác nhận được rằng hầu hết các tinh thể đều là As_4O_6 -a trong khi thu được As_4O_6 -a với lượng bằng 99 % trọng lượng hoặc nhiều hơn và As_4O_6 -b với lượng ít hơn 1 % trọng lượng.

Đã xác nhận được rằng đối với giá trị đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC) ở tốc độ tăng nhiệt độ bằng $10^\circ\text{C}/\text{phút}$, As_4O_6 -a thể hiện đỉnh thu nhiệt (điểm nóng chảy) ở nhiệt độ $282,67^\circ\text{C}$ và As_4O_6 -b thể hiện đỉnh thu nhiệt (điểm nóng chảy) ở nhiệt độ $286,77^\circ\text{C}$.

Phổ nhiễu xạ bột tia X của As_4O_6 -a và As_4O_6 -b được thể hiện trên FIG. 1, và số liệu nhiễu xạ của As_4O_6 -a và As_4O_6 -b được thể hiện trong Bảng 2 dưới đây.

Bảng 2

As_4O_6 -a		As_4O_6 -b	
2θ ($^\circ$)	Cường độ nhiễu xạ	2θ ($^\circ$)	Cường độ nhiễu xạ
13,84	7631,01	13,86	4012,09
27,88	10000	27,92	10000
32,32	2801,74	32,36	2130,23
35,3	3369,82	35,34	2511
39,84	623,242	39,9	447,422
42,38	1551,5	42,44	1431,86
46,34	2345,2	46,4	4159,8
48,6	447,69	48,66	564,995
49,34	502,761	49,4	375,571

Như được xác nhận trên FIG. 1 và Bảng 2, tỷ lệ giữa các đỉnh chính được thể

hiện ở các trị số 2θ là 13,8 và 27,9 bằng 1:1,3 trong As_4O_6 -a, và tỷ lệ giữa các đỉnh chính được thể hiện ở các trị số 2θ là 13,8 và 27,9 bằng 1:2,5 trong As_4O_6 -b. Phân tích DSC, xác định cấu trúc, và phân tích nhiễu xạ tia X của các hợp chất được điều chế được tiến hành theo các phương pháp sau.

(1) Phân tích DSC

Bằng cách sử dụng hệ DSC (SDT Q600 V20.9 Build 20), 20,0 mg mẫu được phân tích trong khi tăng nhiệt độ lên đến 310°C với tốc độ tăng nhiệt độ là $10^\circ\text{C}/\text{phút}$ và dòng N_2 chảy ra ở tốc độ 100mL/phút.

(2) Tinh thể học tia X

Các tinh thể đơn của tetraarsen hexoxit (As_4O_6 , $\text{MW}=395,6$) được đặt lên trên sợi thủy tinh và sau đó tác động chùm tia X vào các tinh thể đó, để quan sát các kiểu nhiễu xạ trên các phim chụp và việc có hay không có sự sắp xếp các số liệu nhiễu xạ, nhờ đó xác định được các nhóm không gian và các tham số tế bào. Cường độ nhiễu xạ được thu thập trong khoảng $10^\circ < 2\theta < 50^\circ$. Cấu trúc tinh thể của As_4O_6 được xác định từ các số liệu theo phương pháp Patterson bằng cách sử dụng chương trình xác định cấu trúc (chương trình SHELXTL).

(3) Nhiễu xạ tia X

Mẫu được chuẩn bị bằng cách tán bột các tinh thể thu được thành các hạt có kích cỡ nằm trong khoảng từ 10 đến $30\ \mu\text{m}$ (cỡ sàng -325), chèn kẹp giữ kính để phân tích nhiễu xạ tia X ($20\ \text{mm} \times 16\ \text{mm} \times 1\ \text{mm}$) bằng các hạt, ép các hạt bằng phiến kính hoặc vật tương tự, và dàn mỏng các hạt để cho phép bề mặt mẫu song song với bề mặt kẹp giữ. Phổ nhiễu xạ tia X của các tinh thể được vẽ bằng cách sử dụng $\text{Cu K}\alpha_1$ ($1,54060\ \text{\AA}$) của XRD trong góc nhiễu xạ (2θ) nằm trong khoảng từ 10° đến 50° ở tốc độ $1^\circ/\text{phút}$ (bước quét bằng $0,02^\circ$).

Ví dụ so sánh 1: Điều chế hợp chất tetraarsen hexoxit

Chuẩn bị bình phản ứng tổng hợp (chiều cao 100 mm và đường kính 190 mm) được sản xuất đặc biệt bằng cách sử dụng cao lanh và ba đến sáu bàn kẹp có khả năng lắp các bộ lọc trên đó. Bàn kẹp thứ nhất được lắp đặt ở khoảng cách là 50 mm từ bình phản ứng tổng hợp, và các bàn kẹp từ thứ 2 đến thứ 6 được lắp đặt ở trên bàn kẹp thứ nhất ở khoảng cách bằng 2 đến 6 mm tính từ bàn kẹp thứ nhất, và kích thước của mỗi bàn kẹp có đường kính 210 mm và độ dày 10 mm.

Muối thô cân nặng 400-600 g (hàm lượng hơi ẩm 10% hoặc nhỏ hơn) được đưa vào bình phản ứng tổng hợp, và sau đó được trải đều và được đóng gói thành độ dày khoảng 20 mm. Bình phản ứng tổng hợp được gia nhiệt từ từ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 100 đến 800°C trong 3 giờ, và được gia nhiệt liên tục sao cho nhiệt độ bề mặt của muối bằng $290 \pm 30^\circ\text{C}$ bên trong bình phản ứng, bằng cách này loại được hơi ẩm và các tạp chất. Sau đó, tiến hành làm lạnh ở nhiệt độ trong phòng trong 5 giờ.

Sau đó, 100 g nguyên liệu thô, As_2O_3 (độ tinh khiết bằng 98% hoặc cao hơn, được điều chế bởi YUNNAN WENSHAN JINCHI ARSENIC CO., LTD.) được đặt lên trên muối thô bên trong bình phản ứng tổng hợp, và các bộ lọc (các tầng lọc) có khả năng thu gom arsen thăng hoa được lắp trên ba đến sáu bàn kẹp được lắp đặt ở trên bình phản ứng tổng hợp sao cho các khoảng cách giữa các bộ lọc bằng từ 2 đến 6 mm. Các bộ lọc được sử dụng trong bản mô tả tốt hơn là có trọng lượng tối thiểu bằng 70-100 g/m², độ dày nằm trong khoảng từ 0,17 đến 0,25 mm, tốc độ lọc từ 22 đến 30 giây/100 ml, và tốc độ lưu nằm trong khoảng từ 5 đến 10 μm .

Các bộ lọc được lắp cố định bằng cách sử dụng các kẹp, và sau đó áp dụng gia nhiệt vào phần đáy của bình phản ứng tổng hợp để làm tăng từ từ nhiệt độ từ 100°C đến 1000°C. Trước tiên, phần đáy của bình phản ứng tổng hợp được gia nhiệt trong 1 giờ sao cho nhiệt độ bên ngoài phần đáy của bình phản ứng tổng hợp là khoảng

350±100°C, và sau đó, tiến hành gia nhiệt sao cho nhiệt độ bên ngoài phần đáy của bình phản ứng tổng hợp là từ khoảng 600-650°C đến khoảng 700-1000°C, sao cho nhiệt độ của phần giữa của tầng lọc cao nhất được duy trì ở nhiệt độ 150±100°C thông qua gia nhiệt trong khoảng thời gian tổng cộng là từ 5 đến 10 giờ. Sau đó, tiến hành làm lạnh ở nhiệt độ trong phòng trong khoảng thời gian từ 5 đến 7 giờ. Trong quy trình này, bột As₂O₃ được đặt lên trên muối bên trong bình phản ứng tổng hợp được chuyển thành khí bên trong bình phản ứng tổng hợp, và khí này được chuyển lên, và sau đó được chuyển thành chất lỏng vì nhiệt độ phía trên bên ngoài bình phản ứng tổng hợp là tương đối thấp, và sau đó, chất lỏng này được kết tinh dưới dạng chất rắn, và như vậy các tinh thể màu trắng được tạo ra trên các bộ lọc. 48,5 g tinh thể được thu gom từ các bộ lọc. Do việc kiểm tra cấu trúc tinh thể của các hợp chất arsen đã được thu gom, đã xác nhận được rằng As₄O₆-b chiếm 99% hoặc nhiều hơn.

Ví dụ so sánh từ 2 đến 4: Điều chế hợp chất tetraarsen hexoxit

Các hợp chất ở các ví dụ so sánh 2 và 3 được điều chế bằng cách trộn được phẩm của Ví dụ 1 (được phẩm có dạng đa hình tinh thể As₄O₆-a với lượng bằng 99% hoặc nhiều hơn) và được phẩm của Ví dụ so sánh 1 (được phẩm có dạng đa hình tinh thể As₄O₆-b với lượng bằng 99% hoặc nhiều hơn) lần lượt theo tỷ lệ là 4:1 và 1:1.

Ví dụ thử nghiệm 1: Thử nghiệm về tác dụng ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư ở người

(1) Các nguyên liệu và môi trường nuôi cấy tế bào

Huyết thanh bào thai bê (FBS) và môi trường nuôi cấy tế bào được chuẩn bị (Hyclone), và dimetyl sulfoxit (DMSO) và 3-(4,5-dimetyl-thiazol-2yl)-2,5-diphenyltetrazoli bromua (MTT, Amresco LLC, USC) được chuẩn bị.

Để làm các dòng tế bào ung thư của người, các dòng tế bào ung thư phổi của người NCL-H226 và SK-MES-1, dòng tế bào ung thư thực quản của người KYSE-150

và TE-1, dòng tế bào ung thư dạ dày của người AGS, dòng tế bào ung thư trực tràng-r ruột kết của người HT29 và HCT116, dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt của người PC-3, dòng tế bào ung thư tụy của người BxPC-3 và PANC-1, dòng tế bào ung thư cổ tử cung của người SiHa và HeLa, dòng tế bào ung thư buồng trứng của người SK-OV-3, và dòng tế bào ung thư màng trong dạ con của người Ishikawa, HEC-1A, và HEC-1B thu được từ Shanghai Cell Bank of Chinese Academy of Sciences. Các tế bào được ủ trong môi trường được bổ sung 10% FBS, 50 U/ml penixilin, và 50 $\mu\text{g/ml}$ streptomycin và thích hợp để ủ các tế bào tương ứng (RPMI-1640 (NCL-H226, TE-1, BxPC-3, Ishikawa), MEM (SK-MES-1, SiHa, HeLa, HEC-1B), Ham's F-12K (AGS), Ham's F-12 (PC-3), McCoy's 5A (HT29, HCT116, SK-OV-3, HEC-1A), RPMI-1640:Ham's F-12=1:1(thể tích:thể tích) (KYSE-150), và DMEM (PANC-1)) trong thiết bị ủ đã được làm ẩm với 5% CO₂ và 95% không khí. Môi trường được trao đổi ba ngày một lần.

(2) Thử nghiệm tăng sinh tế bào (thử nghiệm MTT):

Các tác dụng của dược phẩm của Ví dụ 1 và dược phẩm của Ví dụ so sánh từ 1 đến 3 đối với sự tăng sinh tế bào được đánh giá bằng cách sử dụng thử nghiệm MTT. Thử nghiệm MTT dựa trên khả năng các tế bào sống được chống lại MTT để tạo ra các sản phẩm formazan màu xanh da trời sẫm không tan. Sau khi các tế bào được tạo huyền phù trong môi trường bằng cách xử lý bằng trypsin và được thu gom, các tế bào được phân phối ở mật độ bằng 4×10^3 tế bào/lỗ trong đĩa nuôi cấy có 96 lỗ (Costar, Cambridge, MA, Mỹ). Sau 24 giờ, các tế bào trong môi trường chứa 10% FBS được xử lý bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và dược phẩm của Ví dụ so sánh 1 đến 3, ở nồng độ 0, 0,625, 1,25, 2,5, 5, 10, 20, 40, hoặc 80 μM , và sau đó được ủ. Trong bản mô tả này, dung dịch gốc thu được bằng cách hòa tan dược phẩm của Ví dụ 1 và dược phẩm của Ví dụ so sánh 1 đến 3 ở 5×10^{-2} M trong natri hydroxit 1 M được sử dụng. Đối với thử nghiệm MTT về sự tăng sinh tế bào, các dịch nổi được loại bỏ ra khỏi các tế bào

được ủ trong 48 giờ, và 72 giờ sau khi xử lý mẫu, và 20 μl trong số 5 mg/ml dung dịch MTT được bổ sung vào mỗi lỗ, và các tế bào được ủ ở nhiệt độ 37°C trong 4 giờ để tạo thành các tinh thể formazan. Sau khi ủ, một lần nữa các dịch nổi được loại bỏ, tiếp theo là bổ sung 100 μl DMSO vào từng lỗ, và sau đó tiến hành trộn để hòa tan hoàn toàn các tinh thể màu xanh da trời sẫm. Tất cả các tinh thể đều được hòa tan hoàn toàn bằng cách để yên ở nhiệt độ trong phòng trong 15 phút, và độ hấp thụ được đo bằng cách sử dụng thiết bị đọc vi đĩa ở bước sóng bằng 570nm ($A_{570\text{nm}}$).

(3) Phân tích thống kê:

Giá trị hấp thụ của nhóm đối chứng đã được xử lý mà không có mẫu được tính bằng 100, và giá trị hấp thụ của nhóm xử lý đã được xử lý bằng mẫu này, so với giá trị hấp thụ của nhóm đối chứng, được hiệu chuẩn, và phần trăm ức chế sự tăng sinh tế bào được tính theo phương trình sau.

Phần trăm (%) ức chế sự tăng sinh tế bào = $\frac{((\text{độ hấp thụ trung bình của các tế bào nhóm đối chứng} - \text{độ hấp thụ trung bình của các tế bào nhóm xử lý}) / \text{độ hấp thụ trung bình của các tế bào nhóm đối chứng}) \times 100}{1}$

Tất cả các số liệu đều được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn của giá trị trung bình (giá trị trung bình $\pm$ SEM). Phân tích phương sai một chiều (ANOVA) sau đó là kiểm định sau của Dunnett được sử dụng để tiến hành so sánh nhiều lần. Mức độ ý nghĩa về mặt thống kê được xác định là $p < 0,05$, và mỗi kiểm định được lặp lại ba lần.

(4) Kết quả nghiên cứu sự ức chế tăng sinh dòng tế bào ung thư phổi

Các dòng tế bào ung thư phổi của người NCL-H226 và SK-MES-1 được điều trị bằng được phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3, và được ủ trong 24, 48, và 72 giờ, sau đó là thử nghiệm MTT. Các kết quả thu được bằng cách sử dụng NCL-

H226 được thể hiện trên FIG. 2 và 3.

Tất cả các kết quả thử nghiệm thu được bằng cách điều trị NCL-H226 bằng được phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3 và sau đó ủ các tế bào trong 48 giờ (FIG. 2A) và 72 giờ (FIG. 2B) đều xác nhận rằng tỷ lệ phần trăm ức chế sự tăng sinh dòng tế bào ung thư phổi NCL-H226 là cao hơn khi điều trị bằng được phẩm của Ví dụ 1 so với khi điều trị bằng được phẩm của Ví dụ so sánh 1 đến 3.

Ngoài ra, do kết quả của việc nghiên cứu sự ức chế tăng sinh tế bào ung thư theo thời gian điều trị khi các dòng tế bào ung thư phổi NCL-H226 và SK-MES-1 được điều trị bằng 10 μ M được phẩm của Ví dụ 1 (FIG. 3), đã xác nhận rằng tỷ lệ phần trăm ức chế sự tăng sinh tế bào là tăng theo thời gian điều trị ở cả NCL-H226 và SK-MES-1.

(5) Kết quả nghiên cứu ức chế sự tăng sinh dòng ung thư thực quản

Dòng tế bào ung thư thực quản của người KYSE-150 và TE-1 được điều trị bằng được phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3, và được ủ trong 24, 48, và 72 giờ, sau đó là thử nghiệm MTT. Các kết quả được thể hiện trên FIG. 4.

Do kết quả của việc nghiên cứu sự ức chế tăng sinh tế bào ung thư theo thời gian điều trị sau khi KYSE-150 và TE-1 được điều trị bằng 10 μ M được phẩm của Ví dụ 1 (FIG. 4A), đã xác nhận rằng trong trường hợp của dòng tế bào ung thư thực quản TE-1, tỷ lệ phần trăm ức chế sự tăng sinh tế bào tăng theo thời gian điều trị, và trong trường hợp của dòng tế bào ung thư thực quản KYSE-150, không có sự khác biệt lớn về tỷ lệ phần trăm ức chế sự tăng sinh tế bào giữa việc điều trị trong 24 giờ và điều trị trong 48 giờ, nhưng tỷ lệ phần trăm ức chế sự tăng sinh tế bào tăng đáng kể khi điều trị trong 72 giờ.

Ngoài ra, tất cả các kết quả thử nghiệm thu được bằng cách điều trị TE-1 bằng được phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3 và sau đó ủ các tế bào trong 72 giờ

(FIG. 4B) đều xác nhận rằng tỷ lệ phần trăm ức chế sự tăng sinh dòng tế bào ung thư thực quản TE-1 cao hơn khi điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 so với khi điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ so sánh 1 đến 3.

(6) Kết quả nghiên cứu sự ức chế tăng sinh dòng ung thư dạ dày

Dòng tế bào ung thư dạ dày của người AGS được điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3, và được ủ trong 24, 48, và 72 giờ, sau đó là thử nghiệm MTT. Các kết quả được thể hiện trên FIG. 5.

Do kết quả của việc nghiên cứu sự ức chế tăng sinh tế bào ung thư theo thời gian điều trị khi dòng tế bào ung thư dạ dày AGS được điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 với các nồng độ khác nhau (FIG. 5A), đã xác nhận rằng ức chế sự tăng sinh tế bào tăng theo thời gian điều trị ở mỗi nồng độ điều trị, và tỷ lệ phần trăm ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư dạ dày là cao mặc dù thời gian điều trị chỉ là 48 giờ.

Ngoài ra, tất cả các kết quả thử nghiệm thu được bằng cách điều trị AGS bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3 và sau đó ủ các tế bào trong 72 giờ (FIG. 5B) đều xác nhận rằng tỷ lệ phần trăm ức chế sự tăng sinh dòng tế bào ung thư dạ dày AGS cao hơn khi điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 so với khi điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ so sánh 1 đến 3.

(7) Kết quả nghiên cứu sự ức chế tăng sinh dòng tế bào ung thư trực tràng-ruột kết

Dòng tế bào ung thư trực tràng-ruột kết của người HT29 và HCT116 được điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3, và được ủ trong 24, 48, và 72 giờ, sau đó là thử nghiệm MTT. Các kết quả được thể hiện trên FIG. 6.

Do kết quả của việc nghiên cứu sự ức chế tăng sinh tế bào ung thư theo thời gian điều trị khi HT29 và HCT116 được điều trị bằng 10 μ M dược phẩm của Ví dụ 1

(FIG. 6A), đã xác nhận rằng tỷ lệ phần trăm ức chế sự tăng sinh tế bào tăng theo thời gian điều trị ở cả HT29 và HCT116.

Ngoài ra, tất cả các kết quả thử nghiệm thu được bằng cách điều trị HT29 bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3 và sau đó ủ các tế bào trong 72 giờ (FIG. 6B) xác nhận rằng tỷ lệ phần trăm ức chế sự tăng sinh dòng tế bào ung thư trực tràng-ruột kết HT29 cao hơn khi điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 so với khi điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ so sánh 1 đến 3.

(8) Kết quả nghiên cứu sự ức chế tăng sinh dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt

Dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt PC-3 được điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3, và được ủ trong 48 và 72 giờ, sau đó là thử nghiệm MTT. Các kết quả được thể hiện trên FIG. 7.

Tất cả các kết quả thử nghiệm thu được bằng cách điều trị PC-3 bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3 và sau đó ủ các tế bào trong 48 giờ (FIG. 7A) và 72 giờ (FIG. 7B) đều xác nhận rằng tỷ lệ phần trăm ức chế sự tăng sinh dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt PC-3 cao hơn khi điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 so với khi điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ so sánh 1 đến 3.

(9) Kết quả nghiên cứu sự ức chế tăng sinh dòng tế bào ung thư tụy

Dòng tế bào ung thư tụy của người BxPC-3 và PANC-1 được điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3, và được ủ trong 24, 48, và 72 giờ, sau đó là thử nghiệm MTT. Các kết quả được thể hiện trên FIG. 8.

Tất cả các kết quả thử nghiệm thu được bằng cách điều trị BxPC-3 bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3 và sau đó ủ các tế bào trong 72 giờ (FIG. 8A) đều xác nhận rằng tỷ lệ phần trăm ức chế sự tăng sinh dòng tế bào ung thư tụy BxPC-3 cao hơn khi điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 so với khi điều trị bằng dược

phẩm của Ví dụ so sánh 1 đến 3.

Ngoài ra, các kết quả thử nghiệm thu được bằng cách điều trị dòng tế bào ung thư tụy BxPC-3 và PANC-1 bằng dược phẩm của Ví dụ 1 theo nồng độ của dược phẩm của Ví dụ 1 và sau đó ủ các tế bào trong 72 giờ (FIG. 8B) xác nhận rằng tỷ lệ phần trăm ức chế sự tăng sinh tế bào tăng phụ thuộc vào nồng độ của dược phẩm của Ví dụ 1 ở cả BxPC-3 và PANC-1.

(10) Kết quả nghiên cứu sự ức chế tăng sinh tế bào ung thư buồng trứng, cổ tử cung, và màng trong dạ con

Dòng tế bào ung thư buồng trứng của người SK-OV-3, dòng tế bào ung thư cổ tử cung của người SiHa và HeLa, và dòng tế bào ung thư màng trong dạ con của người Ishikawa, HEC-1A, và HEC-1B được điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3, và được ủ trong 72 giờ, sau đó là thử nghiệm MTT. Các kết quả được thể hiện trên FIG. 9.

Tất cả các kết quả thử nghiệm thu được bằng cách điều trị dòng tế bào ung thư buồng trứng của người SK-OV-3 (FIG. 9A), dòng tế bào ung thư cổ tử cung của người HeLa (FIG. 9B), và dòng tế bào ung thư màng trong dạ con của người HEC-1B (FIG. 9C) bằng dược phẩm của Ví dụ 1 và Ví dụ so sánh 1 đến 3 và sau đó ủ các tế bào trong 72 giờ đều xác nhận rằng tỷ lệ phần trăm ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư buồng trứng, cổ tử cung, và màng trong dạ con là cao hơn khi điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 so với khi điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ so sánh 1 đến 3.

(11) So sánh hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào ở nhiều dòng tế bào ung thư khác nhau

Giá trị IC_{50} của Ví dụ 1 được phân tích trên cơ sở của các kết quả thử nghiệm thu được bằng cách điều trị bằng dược phẩm của Ví dụ 1 trong 72 giờ trong các kết quả thử nghiệm thu được thông qua các thử nghiệm ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư

phổi, thực quản, dạ dày, trực tràng-ruột kết, tuyến tiền liệt, tụy, buồng trứng, cổ tử cung, và màng trong dạ con của người. Kết quả phân tích được thể hiện trong Bảng 3 và FIG. 10.

Bảng 3

Loại ung thư	Dòng tế bào	Ức chế sự phát triển của tế bào ung thư (IC_{50} , μM)
Ung thư phổi	NCL-H226	5.12
	SK-MES-1	2.47
Ung thư thực quản	KYSE-150	9.85
	TE-1	2.35
Ung thư dạ dày	AGS	0.9
Ung thư trực tràng-ruột kết	HT29	1.27
	HCT116	5.07
Ung thư tuyến tiền liệt	PC-3	4.98
Ung thư tụy	BxPC-3	4.98
	PANC-1	5.62
Ung thư cổ tử cung	SiHa	2.8
	HeLa	1.63
Ung thư buồng trứng	SK-OV-3	5.02
Ung thư màng trong dạ con	Ishikawa	2.75
	HEC-1A	2.47
	HEC-1B	4.61

Như có thể thấy được từ bảng 3 và FIG. 10, giá trị IC_{50} của Ví dụ 1, mà có liên quan đến hoạt tính ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư, có nồng độ thấp trong tất cả các loại bệnh ung thư.

Mặc dù không được thể hiện trong sáng chế, tetraarsen hexoxit theo sáng chế được xác nhận là ức chế sự tăng sinh của các tế bào ung thư khác nhau, như ung thư não, ung thư vú, ung thư gan, và ung thư da.

Do đó, có thể thấy rằng Ví dụ 1 thể hiện tác dụng chống ung thư tuyệt vời bằng cách ức chế sự phát triển tế bào ung thư trong nhiều bệnh ung thư khác nhau, như ung

thư phổi, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư trực tràng-ruột kết, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tụy, ung thư cổ tử cung, ung thư buồng trứng, và ung thư màng trong dạ con.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm chứa tetraarsen hexoxit (As_4O_6) làm thành phần hoạt tính để điều trị bệnh ung thư, trong đó tetraarsen hexoxit này chứa dạng đa hình tinh thể a của tetraarsen hexoxit với lượng bằng 99% trọng lượng hoặc nhiều hơn có các dấu hiệu từ (i) đến (iii) dưới đây:

i) các thông số ô:

$$a = b = c = 11,0734^\circ$$

$$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$$

$$V = 1357,82 \text{ \AA}^3$$

(ii) độ dài liên kết As-O: 1,786 \AA

(iii) góc liên kết O-As-O: 98,36°,

trong đó dược phẩm này còn chứa ít nhất một trong số chất mang, chất pha loãng, và tá dược,

trong đó trong phổ nhiễu xạ bột tia X của dạng đa hình tinh thể a, thu được bằng cách sử dụng bước sóng nguồn sáng là 1,5406 \AA trong góc nhiễu xạ (2θ) nằm trong khoảng từ 10° đến 50° ở tốc độ $1^\circ/\text{phút}$ (bước quét bằng $0,02^\circ$), các đỉnh được thể hiện ở các giá trị 2θ bằng 13,84, 27,88, 32,32, 35,3, 39,84, 42,38, 46,34, 48,6, và 49,34,

trong đó tetraarsen hexoxit được điều chế bằng các bước:

bước thứ nhất là gia nhiệt natri clorua ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ $100\sim 800^\circ$, sau đó là làm lạnh;

bước thứ hai là đặt arsen trioxit (As_2O_3) trên natri clorua, tiếp theo là gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 100°C đến 1000°C ở trạng thái kín khí và sau đó là làm lạnh;

bước thứ ba là tách các tinh thể đã được kết tinh trong tầng lọc thu gom arsen được thăng hoa; và

bước thứ tư là lặp lại các bước thứ hai và thứ ba từ bốn đến mười lần bằng cách sử dụng các tinh thể thu được ở bước thứ ba thay cho arsen trioxit ở bước thứ hai, nhờ đó thu được tetraarsen hexoxit chứa dạng đa hình tinh thể α của tetraarsen hexoxit với lượng bằng 99% trọng lượng hoặc nhiều hơn, và

trong đó chất mang, chất pha loãng, và tá dược không bao gồm nước.

2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó tetraarsen hexoxit có độ tinh khiết bằng 99,9% hoặc cao hơn.

3. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược là ít nhất một trong số lactoza, dextroza, sucroza, sorbitol, manitol, xylitol, erythritol, maltitol, tinh bột, cao su acacia, alginat, gelatin, canxi phosphat, canxi silicat, xenluloza, metyl xenluloza, xenluloza vi tinh thể, polyvinyl pyrrolidon, metyl hydroxybenzoat, propyl hydroxybenzoat, bột talc, magie stearat, dầu khoáng, propylen glycol, polyetylen glycol, dầu thực vật, este tiêm được, sáp, polyetylen glycol, polysorbat 61, bơ cacao, bơ laurin, và glyxerogelatin.

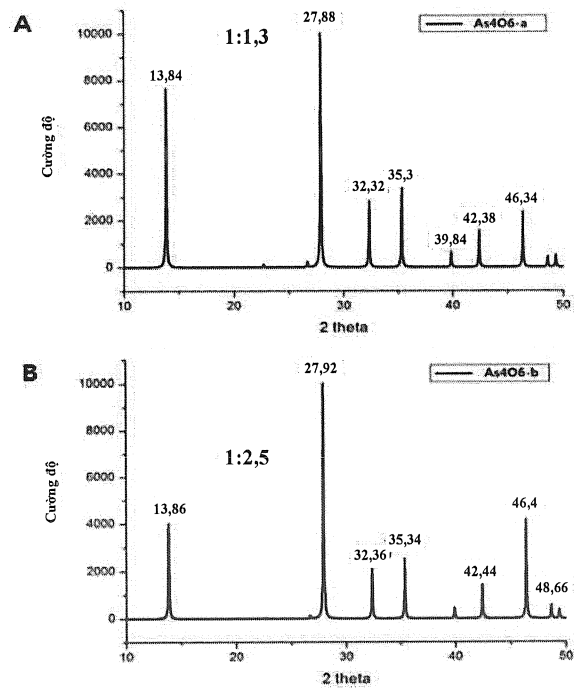


FIG. 1

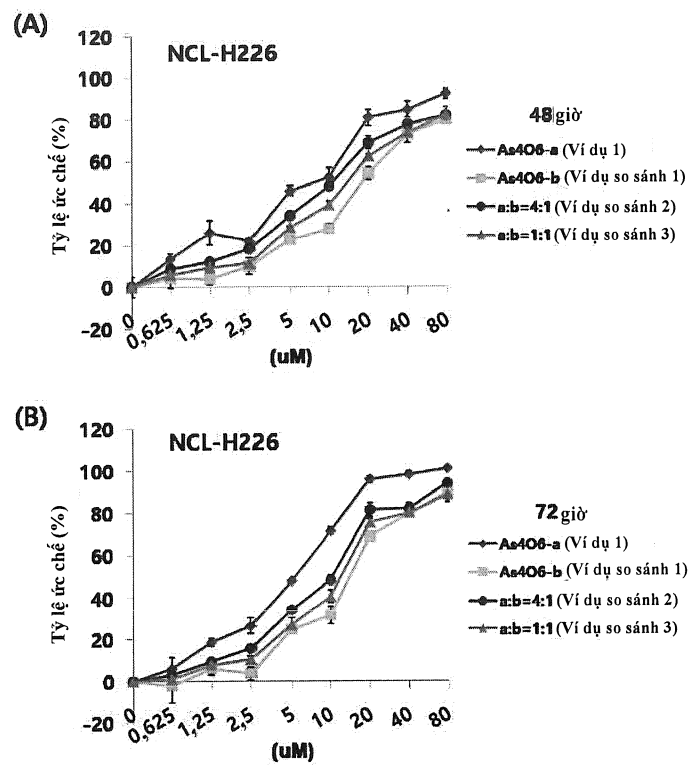


FIG. 2

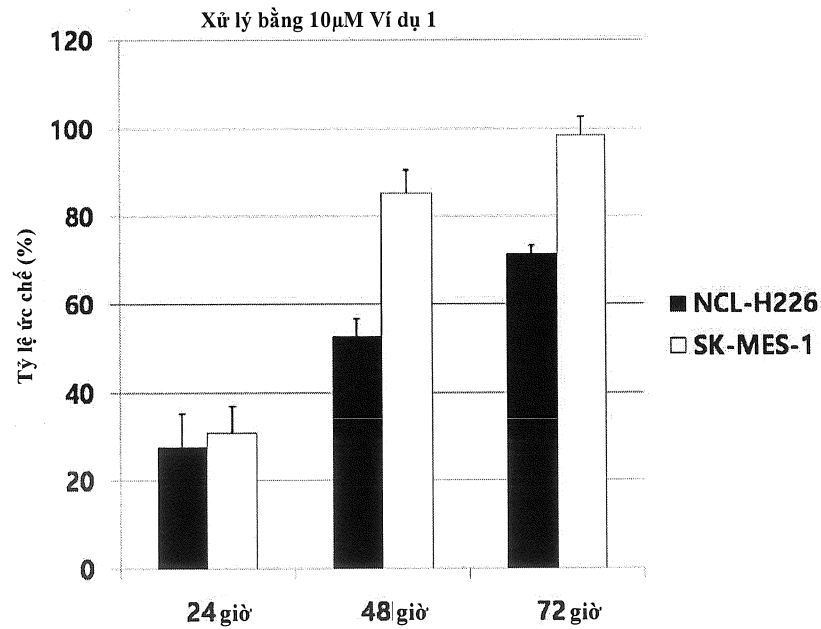


FIG. 3

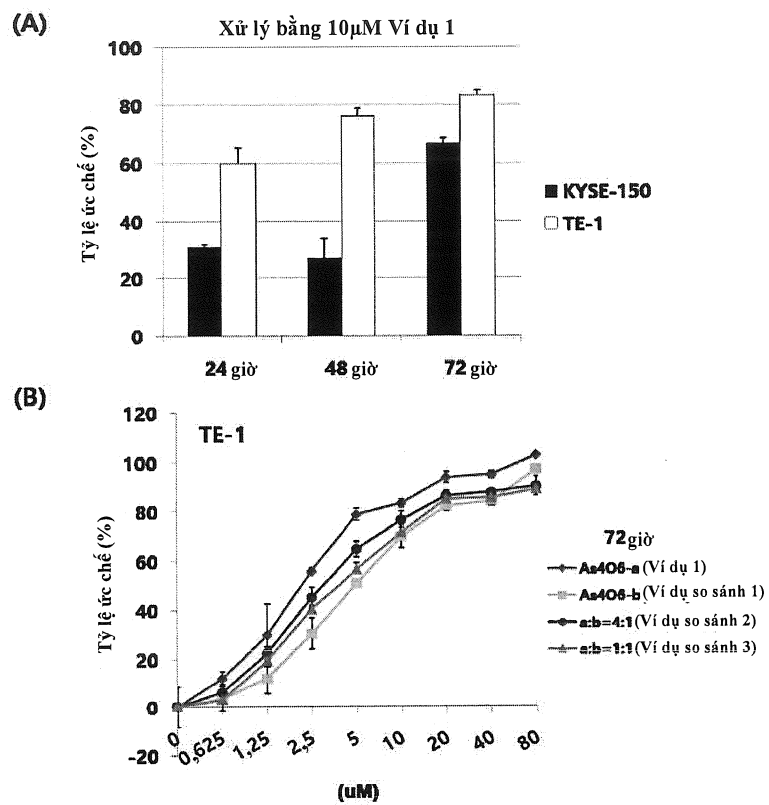


FIG. 4

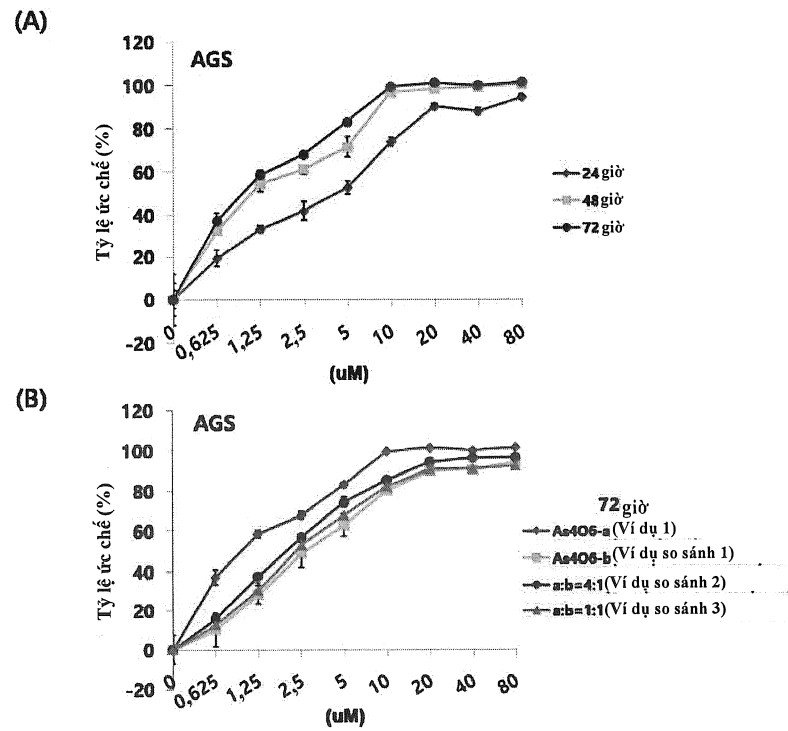


FIG. 5

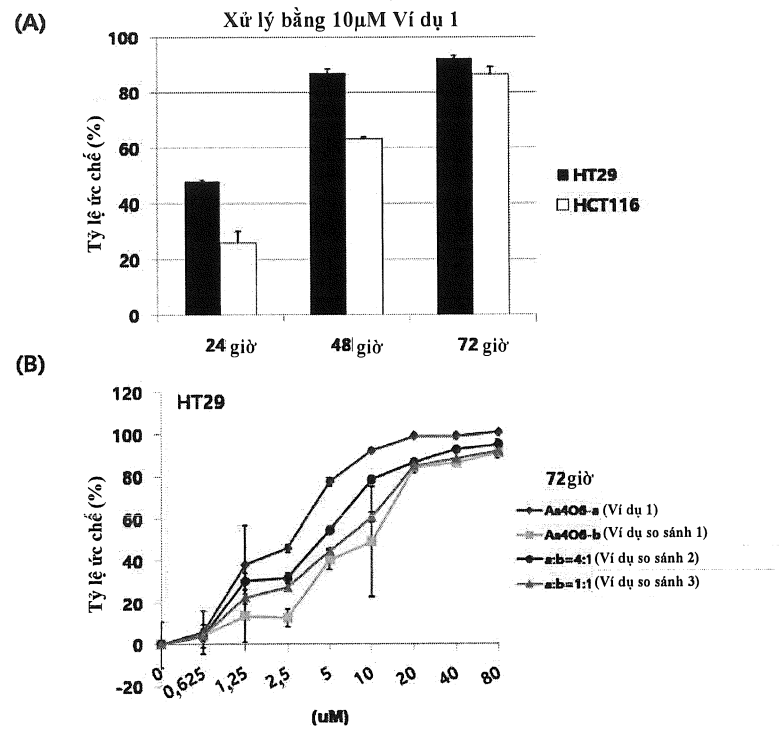


FIG. 6

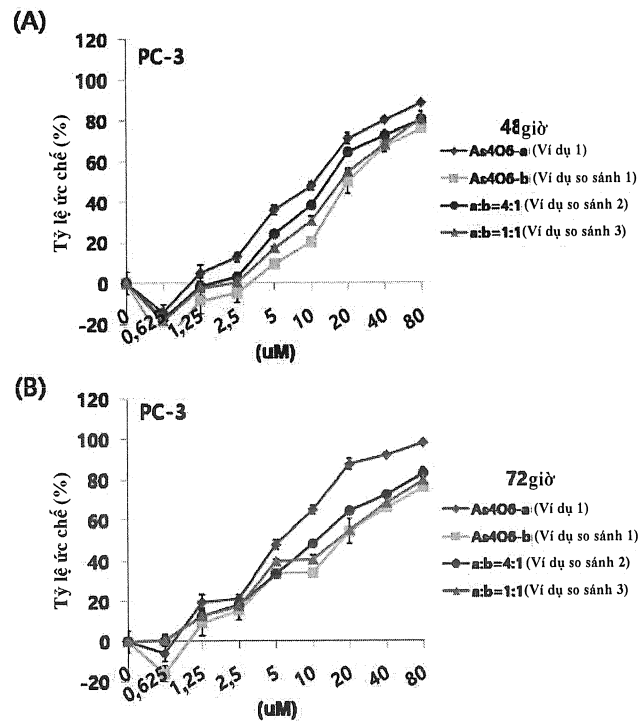


FIG. 7

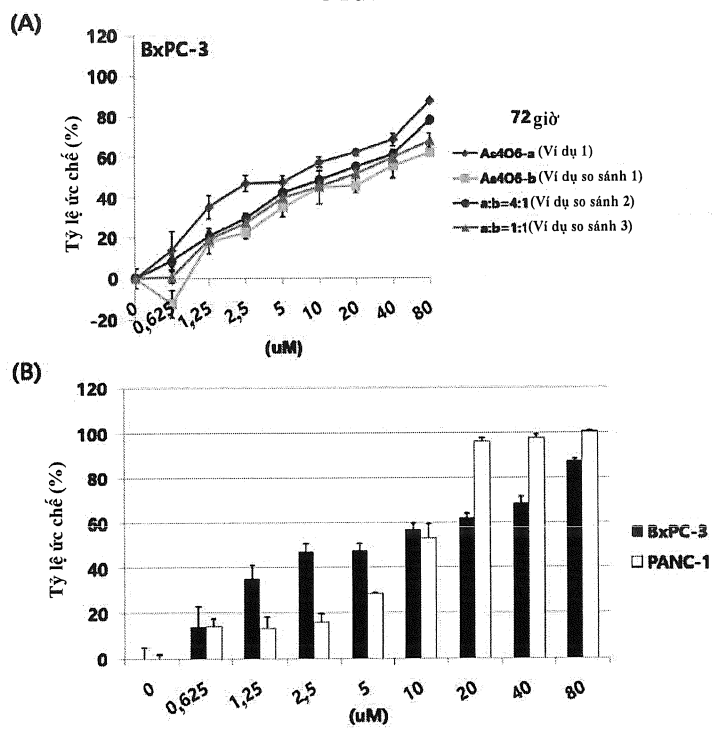


FIG. 8

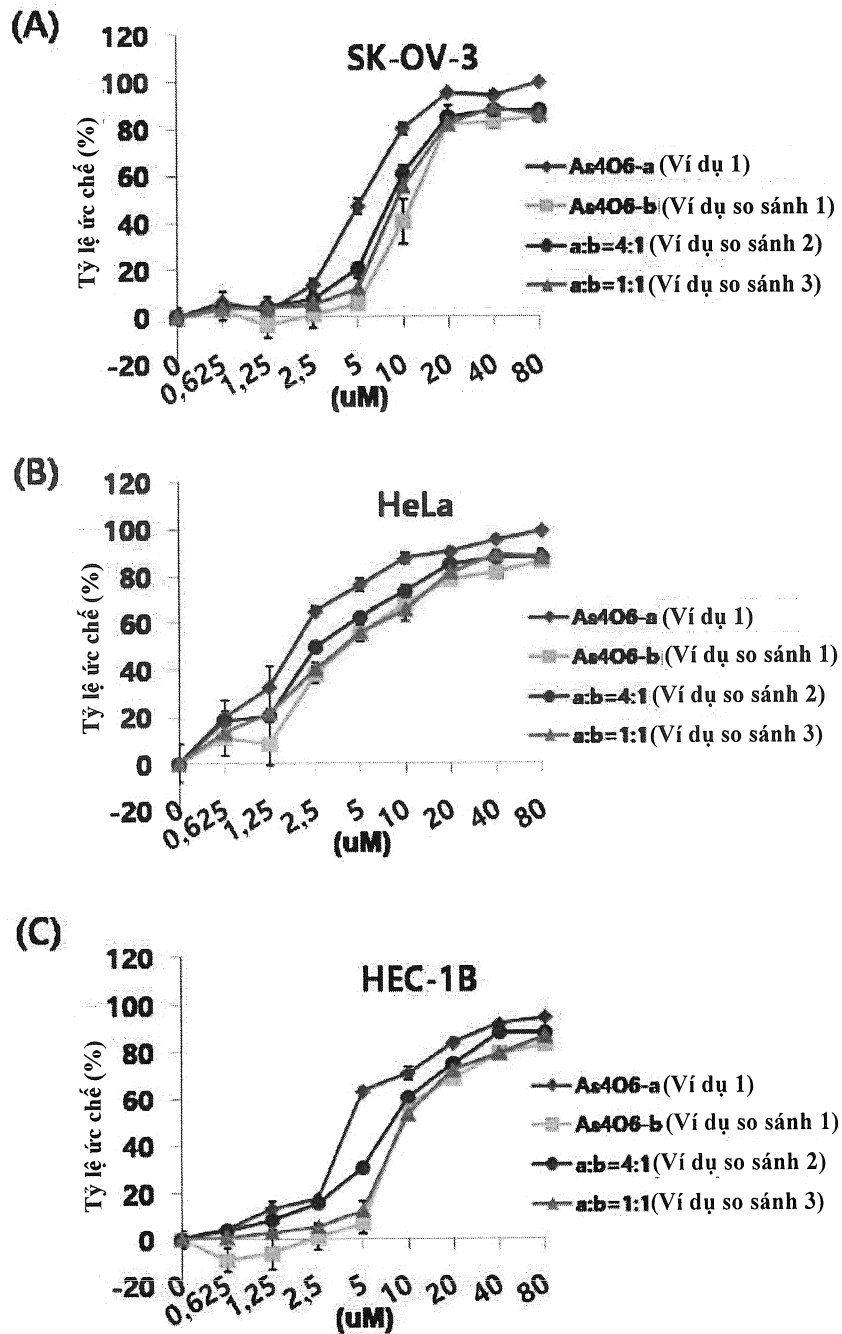


FIG. 9

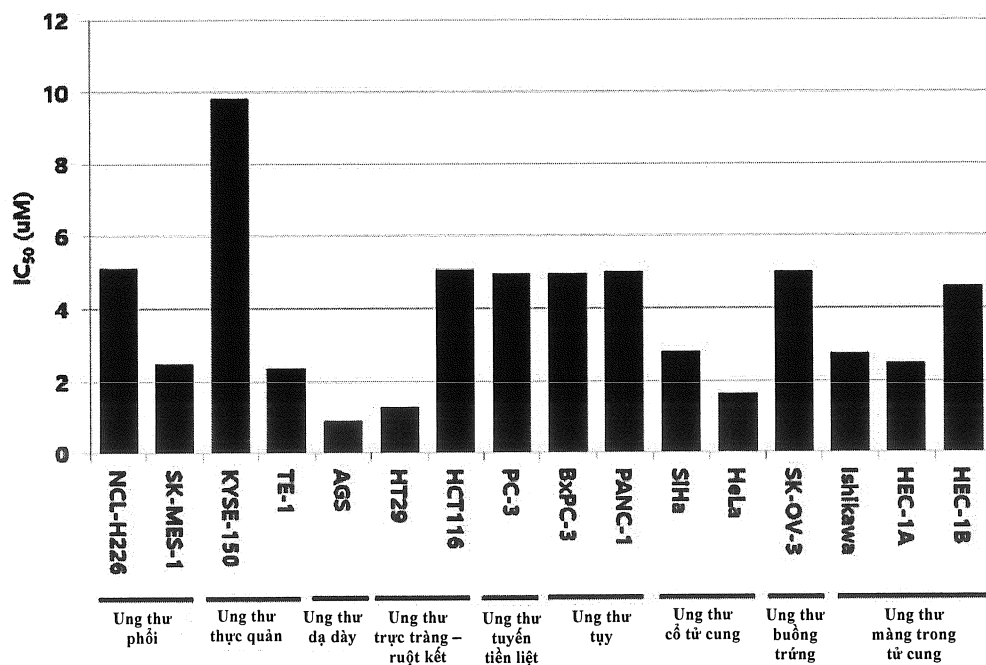


FIG. 10