



(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)



1-0051673

(51)^{2022.01} C07D 239/54; A61K 31/55; A61P 5/02 (13) B

(21) 1-2022-07378

(22) 20/05/2021

(86) PCT/CN2021/094748 20/05/2021

(87) WO 2021/213538 28/10/2021

(30) 202010311436.8 20/04/2020 CN

(45) 25/09/2025 450

(43) 25/05/2023 422A

(73) Shijiazhuang Yiling Pharmaceutical Co., Ltd. (CN)

No.238 Tianshan Street, High-Tech Area, Shijiazhuang Hebei Province, China

(72) LIU, Guoqiang (CN); LIU, Wei (CN); WANG, Yandong (CN).

(74) Công ty TNHH Sáng chế ACTIP (ACTIP PATENT LIMITED)

(54) HỢP CHẤT HOẶC MUỐI DƯỢC DỤNG, ĐỒNG PHÂN ĐỐI QUANG, DẠNG
ĐA HÌNH HOẶC SOLVAT CỦA CHÚNG, PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ HỢP
CHẤT NÀY VÀ CHẾ PHẨM THUỐC

(21) 1-2022-07378

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất hoặc muối được dụng, đồng phân, tiền chất, đa hình hoặc solvat của chúng, và phương pháp điều chế và sử dụng chúng. Hợp chất theo sáng chế có hoạt tính tương đương hoặc vượt trội với Elagolix như chất đối kháng GnRHR trong các thử nghiệm thông lượng canxi và có đặc tính dược động học tốt hơn. Sáng chế còn đề cập đến chế phẩm thuốc hợp chất hoặc muối được dụng, đồng phân, tiền chất, đa hình hoặc solvat của chúng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế liên quan đến lĩnh vực hóa học hữu cơ, cụ thể là đề cập đến hợp chất hoặc muối được dùng, đồng phân, tiền chất, đa hình hoặc solvat của chúng và phương pháp điều chế và sử dụng chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hormon giải phóng gonadotropin (Gonadotropin-releasing hormone: GnRH), còn được gọi là hormon giải phóng hormon hoàng thể (luteinizing hormone-releasing hormone: LHRH), là decapeptit được tiết ra bởi vùng dưới đồi. GnRH phát huy các tác dụng sinh học của nó bằng cách liên kết với thụ thể GnRH nằm ở thùy trước tuyến yên, có thể kích thích sinh tổng hợp và tiết hormon tạo hoàng thể (luteinizing hormone: LH) và hormon kích thích nang (follicle stimulating hormone: FSH). LH và FSH hoạt động hiệp đồng để kích thích sự phát triển của các tế bào mầm trong buồng trứng hoặc tinh hoàn và sản xuất và tiết ra các hormon tuyến sinh dục.

Các chất trị liệu nhằm vào thụ thể GnRH có thể ức chế chức năng trục dưới đồi-tuyến yên-tuyến sinh dục và đã được sử dụng rộng rãi để điều trị các bệnh phụ thuộc vào hormon tuyến sinh dục như ung thư tuyến tiền liệt, ung thư vú, lạc nội mạc tử cung, u quái, phì đại tuyến tiền liệt lành tính, điều trị hỗ trợ sinh sản và dậy thì sớm.

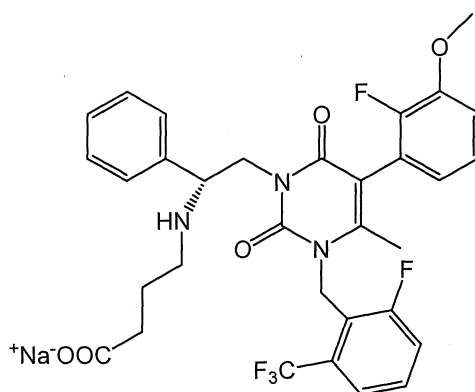
Các chất trị liệu hiện đang được sử dụng là các chất chủ vận hoặc chất đối kháng thụ thể GnRH. Các chất chủ vận thụ thể GnRH đã được phê duyệt để điều trị các bệnh phụ thuộc vào hormon sinh sản như ung thư tuyến tiền liệt, ung thư vú tiền mãn kinh, lạc nội mạc tử cung và xơ tử cung. Khi bắt đầu điều trị, các chất chủ vận thụ thể GnRH có thể kích thích tế bào tuyến yên, tăng tiết gonadotropin và gây ra hiệu ứng “bùng phát” kéo dài khoảng 1 đến 3 tuần. Ngược lại, sử dụng lâu dài có thể làm cạn kiệt gonadotropin và sau đó làm suy giảm thụ thể này, dẫn đến sau một thời gian ức chế của các gonadotropin và suy giảm tuần hoàn gonadotropin như estrogen, progesteron và testosterone, do đó có tác dụng điều trị đối với các bệnh phụ thuộc vào hormon.

Trái ngược với các chất chủ vận thụ thể GnRH, các chất đối kháng thụ thể GnRH ức chế trực tuyến yên-tuyến sinh dục trực tiếp và nhanh chóng bằng cách liên kết cạnh tranh với các thụ thể GnRH của tuyến yên, ức chế đỉnh hormon hoàng thể nội sinh và làm giảm các nồng độ estrogen. Các chất đối kháng thụ thể GnRH có tác dụng khởi phát nhanh chóng mà không có bất kỳ tác dụng chủ vận nào và không gây ra hiệu ứng “bùng phát”, và chức năng tuyến yên có thể được phục hồi sau 2-4 ngày sau khi ngừng thuốc. Có thể tránh được các phản ứng có hại của các chất chủ vận thụ thể GnRH do hiệu ứng “bùng phát” khi bắt đầu điều trị. Hơn nữa, thời gian dùng thuốc có thể được rút ngắn trên lâm sàng, tiết kiệm và thuận tiện hơn.

Một số chất đối kháng thụ thể GnRH peptit hiện đang được phê duyệt để thương mại hóa để hỗ trợ sinh sản trong vô sinh và điều trị ung thư tuyến tiền liệt giai đoạn cuối. Tuy nhiên, các chất tương tự peptit GnRH này đòi hỏi phải được sử dụng thông qua tiêm dưới da hoặc xịt mũi, hoặc tiêm các chất dự trữ có tác dụng kéo dài, không thể được sử dụng theo đường uống, và có những nhược điểm như kích thích phản ứng giải phóng histamin tại vị trí tiêm và chậm thanh thải sau khi ngừng sử dụng, điều này làm giới hạn việc sử dụng của chúng. Ngược lại, các chất đối kháng thụ thể GnRH không peptit có thể tránh đau nhức do tiêm và các phản ứng dị ứng do giải phóng histamin, và có thể dùng theo đường uống để cải thiện sự tuân thủ của bệnh nhân, do đó có nhiều ưu điểm hơn (Sarma, PKS et al, Expert Opinion on Therapeutic Patents 16(6):733-751, 2006).

Elagolix là chất đối kháng thụ thể GnRH không peptit theo đường uống đầu tiên được bán trên thị trường để điều trị lạc nội mạc tử cung và cũng đang được nghiên cứu về các bệnh phụ thuộc estrogen khác như u xơ tử cung. Elagolix thuộc về các hợp chất pyrimidin-2,4-diketon (Guo et al., đơn patent Trung Quốc số CN200480019502.3) và ngăn chặn kênh tín hiệu GnRH bằng cách liên kết cạnh tranh với các thụ thể GnRH trong tuyến yên, làm giảm có hồi phục sự tiết hormon tuyến sinh dục buồng trứng, estradiol và progesteron. Mặc dù Elagolix có thể hấp thu qua đường uống, nhưng nó chỉ có tính thấm tế bào từ thấp đến trung bình và sinh khả dụng qua đường uống thấp, với sinh khả dụng tuyệt đối qua đường uống lần lượt chỉ là 10%, 5,8% và 11% ở chuột nhắt, chuột cống và khỉ, (Chen, et al. Discovery of Sodium R-(+)-4-{2-[5-(2-Flo-3-methoxyphenyl)-3-(2-Flo-6-[triFlometyl]-benzyl)-4-methyl-2,6-dioxo-3,6-dihydro-2H-

pyrimidin-1-yl]-1-phenylethylamino}butyrat (Elagolix), a Potent and Orally Available Nonpeptide Antagonist of the Human Gonadotropin-Releasing Hormone Receptor, J. Med. Chem. 2008, 51, 7478–7485). Tuy nhiên, những con chuột được sử dụng theo đường uống Elagolix gần đồng vị phóng xạ bài tiết gần 50% tổng hoạt độ phóng xạ qua mật, cho thấy Elagolix có thể có tác dụng chuyển hóa lần đầu qua gan và hầu hết thuốc không đi vào vòng tuần hoàn để phát huy tác dụng. Điều này dẫn đến liều điều trị lâm sàng cao hơn (liều điều trị khuyến cáo của Elagolix là 150 mg, hàng ngày hoặc 200 mg, hai lần một ngày). Ngoài ra, tổng hoạt độ phóng xạ ở chuột sau khi sử dụng theo đường uống chủ yếu giới hạn ở đường tiêu hóa và gan. Elagolix cũng cho thấy thể tích phân bố biểu kiến cao (1674 L) trong cơ thể người, cả hai đều cho thấy cấu trúc phân bố mô cao. Phân bố quá nhiều ở gan có thể dẫn đến nguy cơ nhiễm độc gan Elagolix (tăng các transaminaza gan) và ảnh hưởng đến các enzym của thuốc ở gan (Elagolix là chất nền cho CYP3A, P-gp và OATP1B1, và là chất ức chế P-gp với cảm ứng từ yếu đến trung bình của P450 (CYP) 3A) (FDA, Orilissa (elagolix), 210450Orig1s000MultiD, 2018).



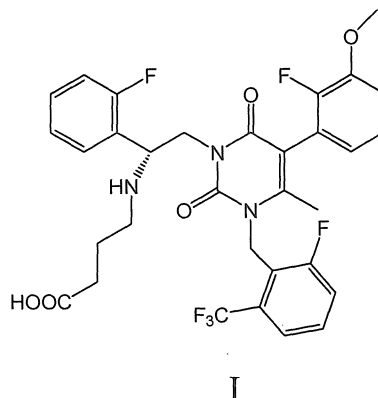
Elagolix

Mặc dù nghiên cứu có ý nghĩa đã được tiến hành trong lĩnh vực này, vẫn cần có các chất đối kháng thụ thể GnRH phân tử nhỏ hiệu quả với các đặc tính dược lý mong muốn hơn. Cũng cần có các chế phẩm được chứa chất đối kháng thụ thể GnRH này, và các phương pháp sử dụng nó để điều trị các tình trạng bệnh, chẳng hạn như các tình trạng liên quan đến hormon tuyến sinh dục.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

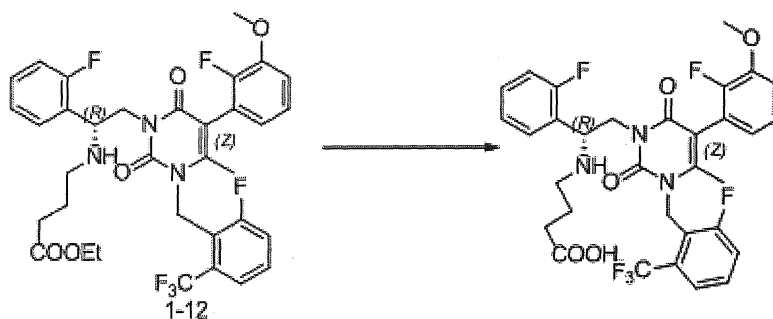
Sáng chế đề cập đến hợp chất hoặc muối được dụng, đồng phân, tiền chất, đa hình hoặc solvat của chúng, và phương pháp điều chế và sử dụng chúng.

Một khía cạnh của sáng chế là đề xuất hợp chất hoặc muối dược dụng, đồng phân, tiền chất, đa hình hoặc solvat của chúng. Công thức cấu tạo hóa học của hợp chất được thể hiện trong công thức I:



Theo một số phương án của sáng chế, đồng phân được chọn từ nhóm chỉ bao gồm đồng phân đối quang, đồng phân không đối quang, đồng phân cis-trans và đồng phân lập thể.

Khía cạnh khác của sáng chế là đề xuất phương pháp điều chế hợp chất trên bao gồm: thủy phân hợp chất có công thức 1-12 để điều chế và thu được hợp chất có công thức I, với phương trình phản ứng như sau.



Theo một số phương án của sáng chế, phản ứng thủy phân thường có thể được thực hiện khi có mặt bazơ.

Một khía cạnh khác của sáng chế là đề xuất việc sử dụng hợp chất hoặc muối dược dụng, đồng phân, tiền chất, đa hình hoặc solvat của chúng trong điều chế thuốc.

Theo một số phương án của sáng chế, thuốc là chất đối kháng thụ thể hormone giải phóng gonadotropin.

Theo một số phương án của sáng chế, thuốc là thuốc để điều trị bệnh liên quan đến hormone tuyến sinh dục.

Theo một số phương án của sáng chế, các bệnh liên quan đến hormon tuyến sinh dục được chọn từ nhóm bao gồm lạc nội mạc tử cung, mất kinh, kinh nguyệt không đều, hysteromyoma, u xơ tử cung, bệnh buồng trứng đa nang, lạc nội mạc tử cung, bệnh u xơ tử cung, lupus ban đỏ, rậm lông, dậy thì sớm, chứng thấp lùn, mụn trứng cá, rụng tóc, khối u phụ thuộc vào gonadotropin, u tuyến yên sản sinh gonadotropin, ngưng thở khi ngủ, hội chứng ruột kích thích, hội chứng tiền kinh nguyệt, tăng sản lành tính tuyến tiền liệt, ngừa thai và vô sinh, và bệnh Alzheimer.

Theo một số phương án của sáng chế, khối u phụ thuộc vào gonadotropin được chọn từ ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tử cung, ung thư vú, ung thư buồng trứng và u tuyến yên.

Khía cạnh khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm thuốc bao gồm hợp chất nêu trên hoặc muối được dụng, đồng phân, tiền chất, đa hình hoặc solvat của chúng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là biểu đồ minh họa đường cong nồng độ-thời gian trong huyết tương của G201/Elagolix được tiêm tĩnh mạch cho chuột Sprague Dawley (SD) trong ví dụ 3 của sáng chế;

Fig.2 là biểu đồ minh họa đường cong nồng độ-thời gian trong huyết tương của G201/Elagolix sử dụng theo đường uống ở chuột SD trong ví dụ 3 của sáng chế;

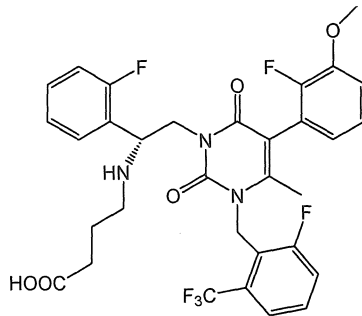
Fig.3 là biểu đồ minh họa đường cong nồng độ-thời gian trong huyết tương của G201 được tiêm vào tĩnh mạch và dùng theo đường uống ở chuột của Viện Nghiên cứu Ung thư (Institute of Cancer Research: ICR) trong ví dụ 4 của sáng chế; và

Fig.4 là biểu đồ minh họa xu hướng thay đổi của LH huyết thanh ở khỉ đuôi dài đã cắt tinh hoàn sau khi sử dụng theo đường uống G201/Elagolix trong ví dụ 6 của sáng chế (giá trị phần trăm của LH so với trước khi sử dụng, $N = 3$).

Mô tả chi tiết sáng chế

Để làm rõ hơn mục đích sáng chế, các giải pháp kỹ thuật và các hiệu quả kỹ thuật có lợi của sáng chế, phần mô tả chi tiết sau đây về sáng chế được kết hợp với các ví dụ, và người có hiểu biết trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật có thể dễ dàng hiểu được các ưu điểm và hiệu quả khác của sáng chế từ các nội dung được mô tả trong bản mô tả.

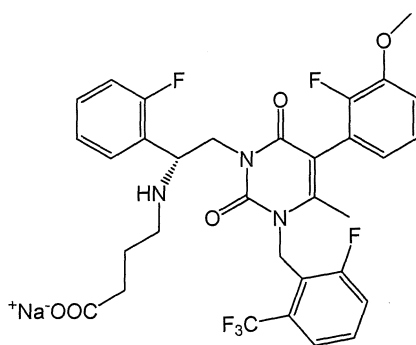
Khía cạnh thứ nhất của sáng chế là đề xuất hợp chất hoặc muối được dụng, đồng phân, tiền chất, đa hình hoặc solvat của chúng. Công thức cấu tạo hóa học của hợp chất được thể hiện trong Công thức I:



Trong sáng chế này, thuật ngữ “muối” được hiểu là bất kỳ dạng nào của hợp chất hoạt động được sử dụng trong sáng chế. Hợp chất có thể ở dạng ion hoặc tích điện hoặc kết hợp với ion trái dấu (cation hoặc anion) hoặc trong dung dịch. Định nghĩa này cũng có thể bao gồm muối amoni bậc bốn và phức hợp của các phân tử hoạt động với phân tử và ion khác, cụ thể là phức hợp được tạo thành thông qua tương tác ion. Cụ thể, định nghĩa này bao gồm muối được chấp nhận về mặt sinh lý, thuật ngữ có thể được hiểu là tương đương với “muối được chấp nhận về mặt dược lý”.

6

được khử hóa), ví dụ, muối được chấp nhận về mặt sinh lý có thể là muối được tạo thành từ anion và ít nhất một cation có thể dung nạp được về mặt sinh lý (tốt nhất là cation vô cơ). Theo sáng chế, muối được chấp nhận về mặt sinh lý có thể cụ thể bao gồm muối được tạo thành với kim loại kiềm và kiềm thổ, và muối được tạo thành với cation amoni (NH_4^+), và cụ thể có thể bao gồm nhưng không giới hạn ở muối được tạo thành với (mono-) hoặc (đi-) natri, (mono-) hoặc (đi-) kali, magie hoặc canxi. Muối được chấp nhận về mặt sinh lý còn có thể được tạo thành với anion hoặc axit, và theo sáng chế, cụ thể khi được sử dụng cho người và/hoặc động vật có vú, muối được chấp nhận về mặt sinh lý được hiểu là muối được tạo thành từ ít nhất một hợp chất được đề xuất theo sáng chế, thường được proton hóa (ví dụ, trên nitơ), ví dụ, muối được chấp nhận về mặt sinh lý có thể là muối được tạo thành từ cation và ít nhất một anion có thể dung nạp được về mặt sinh lý. Theo sáng chế, cụ thể, muối được chấp nhận về mặt sinh lý có thể bao gồm muối được tạo thành từ axit có thể dung nạp được về mặt sinh lý, tức là muối được tạo thành từ hoạt chất cụ thể và axit hữu cơ hoặc vô cơ có thể dung nạp được về mặt sinh lý, cụ thể, có thể bao gồm nhưng không giới hạn ở axit clohydric, axit hydrobromic, axit sulfuric, axit metanulfonic, axit formic, axit axetic, axit oxalic, axit suxinic, axit malic, axit tartaric, axit mandelic, axit fumaric, axit lactic hoặc axit xitric. Muối được dùng ví dụ của hợp chất có công thức I có công thức cấu tạo hóa học sau:



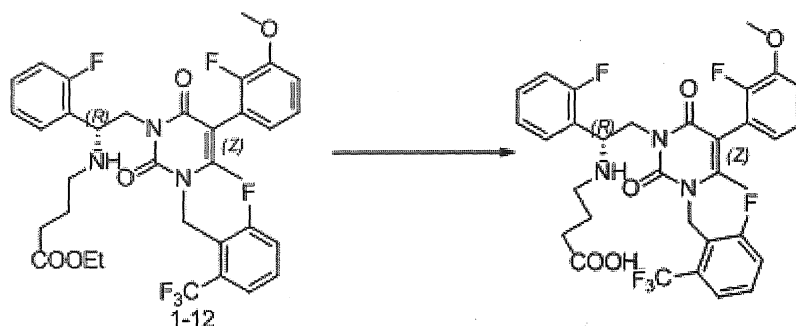
Công thức II

Hợp chất theo sáng chế được đại diện bởi Công thức I nêu trên có thể bao gồm đồng phân đối quang tùy thuộc vào tâm bất đối hiện có hoặc đồng phân tùy thuộc vào liên kết đôi hiện có (ví dụ, Z, E). Đồng phân đơn, đồng phân đối quang, đồng phân không đối quang hoặc đồng phân cis-trans và hỗn hợp của chúng đều thuộc phạm vi của sáng chế.

Thuật ngữ “tiền chất” trong sáng chế được sử dụng theo nghĩa rộng nhất và bao gồm các dẫn xuất có thể được chuyển đổi in vivo thành hợp chất theo sáng chế. Các phương pháp điều chế tiền chất của hoạt chất cụ thể là đã biết bởi những người có hiểu biết trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật, ví dụ, tài liệu liên quan trong, ví dụ, Krogsgaard-Larsen et al, “Textbook of Drug design and Discovery” Taylor & Francis (tháng 4 năm 2002).

Theo sáng chế, thuật ngữ “solvat” thường đề cập đến bất kỳ dạng nào của chất thu được bằng cách kết hợp hoạt chất theo sáng chế với phân tử khác (thường là dung môi phân cực) thông qua liên kết không cộng hóa trị, cụ thể, có thể bao gồm nhưng không giới hạn ở các hydrat và rượu, chẳng hạn như các metanol.

Khía cạnh thứ hai của sáng chế là đề xuất phương pháp điều chế hợp chất theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế bao gồm: thủy phân hợp chất có công thức 1-12 để điều chế và thu được hợp chất có công thức I, với phương trình phản ứng như sau:



Trong phương pháp điều chế theo sáng chế, phản ứng thủy phân thường có thể được thực hiện khi có mặt bazơ. Người có hiểu biết trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật có thể lựa chọn và sử dụng loại và lượng sử dụng bazơ phù hợp cho phản ứng thủy phân nêu trên. Ví dụ, bazơ có thể là hydroxit của kim loại kiềm, v.v., và cụ thể hơn, có thể là hydroxit lithi, v.v.. Trong một ví dụ khác, lượng sử dụng của bazơ thường về cơ bản là bằng hoặc quá mức đối với hợp chất có Công thức 1-12, cụ thể, tỷ lệ mol của hợp chất có công thức 1-12 với bazơ có thể là 1:1,4 đến 1,6.

Trong phương pháp điều chế được đề xuất trong sáng chế, phản ứng thủy phân thường có thể được thực hiện từ nhiệt độ phòng đến điểm sôi của dung môi phản ứng, và tốt hơn là có thể thực hiện ở nhiệt độ phòng. Người có hiểu biết trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật có thể điều chỉnh thời gian phản ứng của phản ứng thủy phân thích

hợp theo quá trình phản ứng. Phương pháp theo dõi quá trình phản ứng là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật, ví dụ, phương pháp có thể là sắc ký, cộng hưởng từ hạt nhân và các phương pháp phân tích khác, và thời gian phản ứng cụ thể có thể là, ví dụ, 0,5 đến 1 giờ, 1 đến 1,5 giờ, 1,5 đến 2 giờ, 2 đến 3 giờ, 3 đến 4 giờ hoặc lâu hơn.

Trong phương pháp điều chế được đề xuất theo sáng chế, phản ứng thủy phân thường được thực hiện với sự có mặt của dung môi, thường có thể là dung môi tốt cho nguyên liệu phản ứng và cần phải chứa nước, để nguyên liệu phản ứng có thể được phân tán đầy đủ và phản ứng có thể diễn ra thuận lợi. Loại và lượng sử dụng của dung môi phản ứng thích hợp là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ, dung môi phản ứng có thể chứa nước và cũng có thể chứa dung môi ete, v.v., cụ thể là tetrahydrofuran, v.v..

Trong phương pháp điều chế được đề xuất theo sáng chế, người có hiểu biết trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật có thể chọn phương pháp thích hợp để xử lý tiếp sản phẩm phản ứng, ví dụ, có thể bao gồm điều chế sắc ký hiệu năng cao, và đông khô.

Khía cạnh thứ ba của sáng chế là đề xuất việc sử dụng hợp chất theo khía cạnh thứ nhất hoặc muối được dùng, đồng phân, tiền chất, đa hình hoặc solvat của chúng để điều chế thuốc. Hợp chất theo sáng chế có thể ức chế hiệu quả thụ thể GnRH và do đó có thể hoạt động như chất đối kháng thụ thể hormon giải phóng gonadotropin và còn có thể được sử dụng để điều trị bệnh liên quan đến hormon tuyến sinh dục. Chất đối kháng thụ thể hormon giải phóng gonadotropin theo sáng chế có thể được áp dụng cho nhiều mục đích điều trị và có thể được sử dụng để điều trị các tình trạng bệnh liên quan đến hormon tuyến sinh dục khác nhau ở nam và nữ, cũng như ở động vật có vú nói chung (còn được gọi là “cá thể” trong sáng chế). Các bệnh liên quan đến hormon tuyến sinh dục cụ thể có thể là, ví dụ, lạc nội mạc tử cung, mất kinh, kinh nguyệt không đều, u xơ tử cung, u xơ lớn, bệnh buồng trứng đa nang, lạc nội mạc tử cung, u bạch cầu tử cung, lupus ban đỏ, rậm lông, dậy thì sớm, chứng thấp lùn, mụn trứng cá, rụng tóc, khối u phụ thuộc gonadotropin (ví dụ, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tử cung, ung thư vú, ung thư buồng trứng và u tuyến sinh dục tuyến yên), u tuyến yên sản sinh gonadotropin, ngưng thở khi ngủ, hội chứng ruột kích thích, hội chứng tiền kinh nguyệt, tăng sản lành tính tuyến tiền

liệt, ngừa thai và vô sinh, và bệnh Alzheimer.

Khía cạnh thứ tư của sáng chế là đề xuất chế phẩm thuốc bao gồm hợp chất theo khía cạnh thứ nhất hoặc muối dược dụng, đồng phân, tiền chất, đa hình hoặc solvat của chúng, và còn bao gồm ít nhất một chất mang dược dụng.

Theo sáng chế, chế phẩm có thể bao gồm một hoặc nhiều chất mang dược dụng để sử dụng các chất điều trị, chất mang không tự tạo ra kháng thể có hại cho cá thể nhận chế phẩm và không quá độc sau khi sử dụng. Ví dụ, những chất mang này là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật, như được mô tả trong Khoa học Dược phẩm của Remington (Mack Pub. Co., N. J. 1991) về các chất mang dược dụng. Cụ thể, chất mang có thể bao gồm nhưng không giới hạn ở một hoặc nhiều nước muối, dung dịch đệm, glucoza, nước, glyxerol, etanol, tá dược, v.v..

Trong chế phẩm thuốc theo sáng chế, hợp chất có thể hoạt động như thành phần hoạt tính riêng lẻ, hoặc có thể được kết hợp với các thành phần hoạt tính khác để tạo thành chế phẩm kết hợp. Các thành phần hoạt tính khác có thể là nhiều loại thuốc khác có thể được sử dụng để điều trị các bệnh liên quan đến hormon tuyến sinh dục. Hàm lượng của các thành phần hoạt tính trong chế phẩm thường là lượng an toàn và hiệu quả, và lượng an toàn và hiệu quả cần được điều chỉnh đối với người có hiểu biết trong cùng lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ, lượng ứng dụng của hợp chất và thành phần hoạt tính trong chế phẩm thuốc thường phụ thuộc vào cân nặng của bệnh nhân, chế độ dùng thuốc, tình trạng và mức độ nghiêm trọng của bệnh. Ví dụ, lượng ứng dụng của hợp chất đóng vai trò như thành phần hoạt tính thường có thể là 0,1 đến 10 mg/kg/ngày, 0,1 đến 0,5 mg/kg/ngày, 0,5 đến 1 mg/kg/ngày, 1 đến 2 mg/kg/ngày, 2 đến 3 mg/kg/ngày, 3 đến 4 mg/kg/ngày, 4 đến 5 mg/kg/ngày, 5 đến 6 mg/kg/ngày, 6 đến 8 mg/kg/ngày, 8 đến 10 mg/kg/ngày, tốt hơn là 0,5 đến 5 mg/kg/ngày.

Hợp chất theo sáng chế có thể áp dụng cho bất kỳ hình thức sử dụng nào, theo đường uống hoặc đường tiêm, ví dụ, bằng cách qua phổi, qua mũi, trực tràng và/hoặc tiêm tĩnh mạch, và tốt hơn là bằng cách tiêm trong da, dưới da, tiêm bắp, trong khớp, trong màng bụng, dùng qua phổi, qua miệng, ngâm dưới lưỡi, qua mũi, qua da, âm đạo, uống hoặc tiêm. Người có hiểu biết trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật có thể chọn dạng công thức phù hợp tùy thuộc vào phương thức sử dụng, ví dụ, dạng công thức thích

hợp để uống có thể bao gồm nhưng không giới hạn ở thuốc viên, viên nén, thuốc nhai, viên nang, hạt mịn, thuốc nhỏ, hoặc xi-rô, v.v., và sau đó, ví dụ, dạng công thức phù hợp để dùng ngoài đường tiêu hóa có thể bao gồm nhưng không giới hạn ở dung dịch, hỗn dịch, công thức khô có thể bù nước, hoặc thuốc xịt, v.v., và trong một ví dụ khác, dạng công thức phù hợp để sử dụng trong trực tràng thường có thể là thuốc đạn.

Khía cạnh thứ năm của sáng chế là đề xuất phương pháp điều trị, trong đó phương pháp bao gồm: sử dụng cho cá thể lượng hiệu quả điều trị của hợp chất theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, hoặc chế phẩm thuốc theo khía cạnh thứ tư của sáng chế.

Theo sáng chế, thuật ngữ “cá thể” thường bao gồm con người, và loài linh trưởng không phải con người như động vật có vú, chó, mèo, ngựa, cừu, lợn, bò, v.v., người có thể hưởng lợi từ việc điều trị bằng chế phẩm, bộ kit hoặc chế phẩm kết hợp.

Theo sáng chế, thuật ngữ “lượng hiệu quả điều trị” thường đề cập đến lượng mà sau một thời gian sử dụng thích hợp, có thể đạt được hiệu quả điều trị bệnh như đã mô tả ở trên.

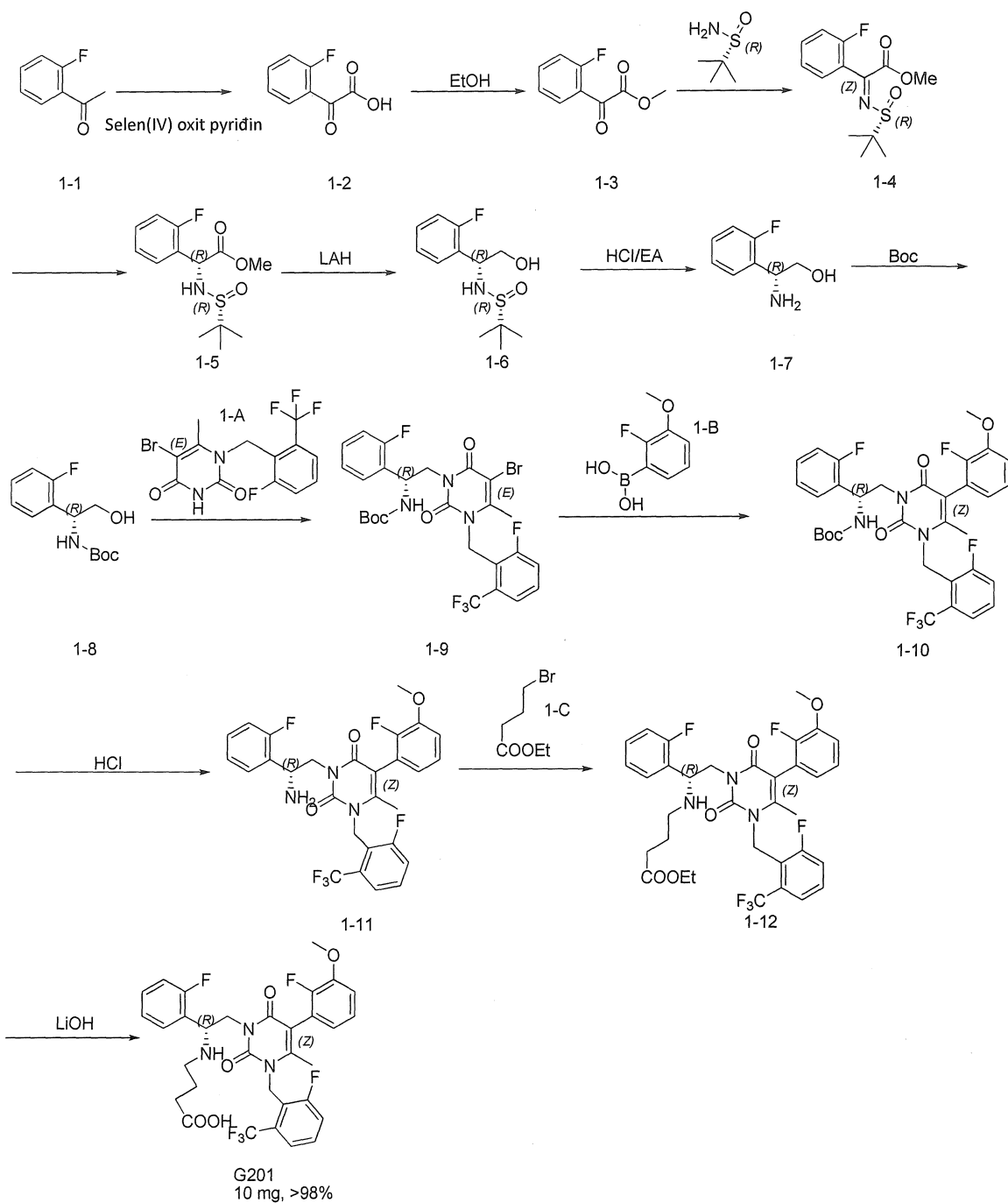
Hợp chất theo sáng chế có hoạt tính tương đương hoặc vượt trội với Elagolix như chất đối kháng GnRHR trong các thử nghiệm thông lượng canxi; trong các thử nghiệm dược động học, hợp chất theo sáng chế có sinh khả dụng tuyệt đối cao hơn đáng kể so với Elagolix; trong các thử nghiệm liên kết với protein huyết tương, hợp chất theo sáng chế có tỷ lệ liên kết với huyết tương của chuột SD và protein huyết tương của người khỏe mạnh cao hơn một chút so với Elagolix, và không có sự phụ thuộc nồng độ thuốc vào liên kết với protein. Như có thể thấy, hợp chất hoặc muối được dùng, đồng phân, tiền chất, đa hình hoặc solvat của chúng theo sáng chế có sinh khả dụng tốt hơn và các đặc tính dược động học mong muốn hơn so với các thuốc tương tự khác trong tài liệu kỹ thuật trước đó và có triển vọng công nghiệp tốt.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế còn được mô tả dưới đây bằng các ví dụ, tuy nhiên phạm vi bảo hộ của sáng chế không bị giới hạn ở đây.

Ví dụ 1

Hợp chất G201 trong ví dụ có quy trình điều chế cụ thể sau đây.



Hợp chất 1-1 (10 g, 72,4 mmol), pyridin (200 mL) và selen đioxit (16 g, 144,8 mmol) được thêm vào bình ba cổ. Hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 100°C trong 2 giờ dưới sự bảo vệ của nitơ. Sau khi kết thúc phản ứng, tiến hành lọc hút, quay khô dịch lọc, bổ sung 1 N axit clohydric, và tiến hành chiết bằng etyl axetat. Pha hữu cơ được rửa bằng dung dịch muối bão hòa, được sấy khô bằng natri sulfat khan, tiến hành lọc hút và quay khô để thu được chất rắn 1-2 (12 g) màu trắng đục.

Hợp chất 1-2 (12 g, 71,4 mmol) và metanol (200 mL) được bổ sung vào bình ba cổ. Bổ sung nhỏ giọt thionyl clorua (17 g, 142,8 mmol) ở nhiệt độ 0°C, và hỗn hợp được

khuấy qua đêm ở nhiệt độ phòng. Sau khi kết thúc phản ứng, metanol được quay khô, bổ sung dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước, và tiến hành chiết bằng cách sử dụng etyl axetat. Pha hữu cơ được rửa bằng dung dịch muối bão hòa, được sấy khô bằng natri sulfat khan, tiến hành lọc hút và quay khô để thu được chất dầu màu vàng nhạt 1-3 (9 g, 49,4 mmol).

Hợp chất 1-3 (4 g, 20,4 mmol), tetrahydrofuran khan (60 mL) và (R) -tert-butylsulfinamit (2,47 g, 20,4 mmol) được bổ sung vào bình ba cổ. Tetraisopropyl titanat (11,6 g, 40,8 mmol) được bổ sung vào dưới điều kiện bảo vệ nitơ, và khuấy hồi lưu được thực hiện trong 6 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, nước được thêm vào để dập tắt phản ứng, etyl axetat được bổ sung vào để pha loãng, và tiến hành lọc hút. Dịch lọc được tách ra, và pha nước được tách chiết bằng etyl axetat. Pha hữu cơ được kết hợp và rửa bằng dung dịch muối bão hòa, được làm khô bằng natri sulfat khan, tiến hành lọc hút và quay khô để thu được chất dầu màu vàng 1-4 (6 g, 19,2 mmol).

Hợp chất 1-4 (6 g, 19,2 mmol) và metanol (60 mL) được bổ sung vào bình ba cổ. Natri borohydrit (1,1 g, 28,7 mmol) được thêm vào các mẻ ở nhiệt độ 0°C, và hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, nước được thêm vào để dập tắt phản ứng và tiến hành chiết bằng etyl axetat. Pha hữu cơ được rửa bằng dung dịch muối bão hòa, được làm khô bằng natri sulfat khan, tiến hành lọc hút, quay khô và tinh chế bằng sắc ký cột (ete dầu hỏa/etyl axetat = 10:1 đến 5:1) để thu được chất dầu màu vàng 1-5 (3 g, 9,5 mmol).

Hợp chất 1-5 (3 g, 9,5 mmol) và tetrahydrofuran khan (40 mL) được bổ sung vào bình ba cổ. Lithi nhôm hydrua (0,43 g, 11,4 mmol) được bổ sung vào các mẻ ở nhiệt độ 0°C, và hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, nước được bổ sung vào để dập tắt phản ứng, và tiến hành chiết bằng etyl axetat. Pha hữu cơ được rửa bằng dung dịch muối bão hòa, được làm khô bằng natri sulfat khan, tiến hành lọc hút, quay khô và tinh chế bằng sắc ký cột (ete dầu hỏa/etyl axetat = 10:1 đến 3:1) để thu được chất dầu màu vàng 1-6 (1,5 g, 5,8 mmol).

Hợp chất 1-6 (1,5 g, 5,8 mmol), etyl axetat (10 mL) và hydro clorua/etyl axetat (10 mL) được bổ sung vào bình đơn cổ. Hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, hỗn hợp được quay khô để thu được chất rắn màu vàng 1-7

(1,5 g), được đưa trực tiếp vào bước tiếp theo.

Hợp chất 1-7 (1,5 g), diclometan (20 mL), triethylamin (2,9 g, 28,9 mmol) và di-tert-butyl dicacbonat (1,5 g, 6,9 mmol) được bổ sung vào bình đơn cổ. Hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, hỗn hợp được quay khô và tinh chế bằng sắc ký cột (ete dầu hỏa/ethyl axetat = 15:1 đến 10:1) để thu được chất rắn màu vàng 1-8 (1,3 g, 5,1 mmol).

Hợp chất 1-8 (1,3 g, 5,1 mmol), hợp chất 1-A (1,9 g, 5,1 mmol), triphenylphosphin (2,0 g, 7,6 mmol), tetrahydrofuran khan (30 mL) và diethyl azodicarboxylat (1,5 g, 7,6 mmol) được bổ sung vào bình ba cổ. Phản ứng hồi lưu được thực hiện trong 16 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, hỗn hợp được quay khô và tinh chế bằng sắc ký cột (ete dầu hỏa/ethyl axetat = 10:1 đến 5:1) để thu được chất rắn màu trắng 1-9 (2,1 g, 3,4 mmol).

Hợp chất 1-9 (2,1 g, 3,4 mmol), hợp chất 1-B (0,7 g, 4,1 mmol), natri cacbonat (1,4 g, 13,6 mmol), đioxan (27 mL), nước (9 mL) và tetrakis (triphenylphosphin) paladi (0,4 g, 0,34 mmol) được bổ sung vào bình ba cổ. Hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 90°C trong 16 giờ dưới sự bảo vệ của nitơ. Sau khi kết thúc phản ứng, tiến hành lọc hút, và dịch lọc được quay khô và tinh chế bằng sắc ký cột (ete dầu hỏa/ethyl axetat = 15:1 đến 5:1) để thu được chất rắn màu vàng nhạt 1-10 (1,35 g, 2,0 mmol).

Hợp chất 1-10 (250 mg, 0,38 mmol), diclometan (2 mL) và axit trifloaxetic (2 mL) được bổ sung vào bình đơn cổ, và hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, hỗn hợp được quay khô để thu được chất rắn màu vàng 1-11 (210 mg).

Hợp chất thô 1-11 (210 mg), axetonitril (3 mL), hợp chất 1-C (220 mg, 1,13 mmol) và kali cacbonat (156 mg, 1,13 mmol) được bổ sung vào bình đơn cổ, và hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 80°C trong 16 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, hỗn hợp được quay khô, và bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng điều chế (ete dầu hỏa/ethyl axetat = 1,5/1), thu được chất dầu không màu 1-12 (210 mg, 0,31 mmol).

Hợp chất 1-12 (210 mg, 0,31 mmol), tetrahydrofuran (3 mL), nước (2 mL) và lithi hydroxit (20 mg, 0,47 mmol) được bổ sung vào bình đơn cổ, và hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, hỗn hợp được quay khô, tiến

hành điều chế ở áp suất cao (axetonitril 10 đến 55/7 phút), và tiến hành đông khô để thu được chất rắn màu trắng G201 (20 mg). ¹HNMR CD₃OD δ: 7,62-7,64 (m, 1H), 7,39-7,57 (m, 4H), 7,11-7,23 (m, 4H), 6,65-6,80 (m, 1H), 5,38-5,49 (m, 2H), 4,81 (q, 1H), 4,46-4,53 (m, 2H), 3,90 (s, 3H), 2,81-2,84 (m, 2H), 2,37-2,40 (m, 2H), 2,12 (d, 3H), 1,79-1,83 (m, 2H). LC-MS: m/z = 649,8 (M + 1)., độ tinh khiết LCMS > 98%.

Ví dụ 2

Thử nghiệm thông lượng canxi:

Sự thay đổi canxi nội bào của dòng tế bào CHO-K1/GNRHR/Gα15 ổn định của thụ thể hormon giải phóng gonadotropin tái tổ hợp ở người (GnRHR) được đo bằng cách sử dụng bộ kit thử nghiệm thông lượng canxi FLIPR (bộ kit thử nghiệm Canxi 4). GnRHR là thụ thể kết hợp với protein G (G protein-coupled receptor: GPCRs), và tín hiệu GPCRs cho phép giải phóng canxi nội bào thông qua con đường Gq. Do đó, những thay đổi chức năng của GnRHR, thực hiện truyền tín hiệu qua con đường Gq, có thể được phát hiện bằng cách phát hiện sự giải phóng canxi nội bào bằng đầu dò huỳnh quang nhạy cảm với canxi. Các bước thử nghiệm như sau:

1. Tế bào được cấy trong các đĩa 384 giếng (Corning, Cat #: 3764) với mật độ 10.000 tế bào/giếng với môi trường F12 + 10% FBS (20 μl/giếng) và nuôi cấy qua đêm (18 giờ).

2. Dung dịch hoạt động nhuộm được điều chế từ dung dịch gốc probenecid (500 mM) và dung dịch gốc canxi 4 được trộn theo tỷ lệ 1:100. Mẫu cần thử nghiệm G201 và Elagolix (2 mM trong DMSO) được pha loãng với dung dịch đệm thử nghiệm, cụ thể, 5 μl của 2 mM dung dịch gốc được lấy và pha loãng thành 200 μl (50 μM) để thu được 5X dung dịch hoạt động mẫu có nồng độ thứ nhất. 20 μl của 5X dung dịch hoạt động mẫu được lấy và pha loãng thành 200 μl, và sau khi trộn đều, thu được dung dịch hoạt động mẫu có nồng độ thứ hai. Tổng cộng có tám dung dịch pha loãng gradient của các dung dịch hoạt động mẫu được điều chế tương ứng. Sau khi bổ sung 20 μl/giếng dung dịch hoạt động nhuộm và 10 μl/giếng dung dịch hoạt động mẫu vào các tế bào được nuôi cấy qua đêm, các tế bào tiếp tục được ủ trong tủ ấm tế bào trong 45 phút và cân bằng tránh ánh sáng trong 15 phút ở nhiệt độ phòng.

3. Dung dịch hoạt động chủ vận 5X EC80 được điều chế, cụ thể, 5 μ l của 1 mM dung dịch gốc Buserelin được lấy và pha loãng thành 200 μ l (25 μ M), sau đó 71 μ l của 25 μ M dung dịch hoạt động Buserelin được lấy và pha loãng thành 10 ml (0,179 μ M) với chất đệm thử nghiệm.

4. Tương ứng với vị trí của các tế bào trong đĩa 384 giếng, dung dịch hoạt động đồng vận được bổ sung vào đĩa mẫu ở 40 μ l/giếng, và thử nghiệm FLIPR được thực hiện.

Kết quả thử nghiệm: G201 có thể ức chế giải phóng canxi nội bào tùy thuộc vào liều lượng từ các tế bào CHO-K1/GNRHR/G α 15 với EC₅₀ 37,59 nM, và EC₅₀ của Elagolix là 45,73 nM. Cho thấy rằng G201 là chất đối kháng GnRHR có hoạt tính tương đương hoặc vượt trội so với Elagolix.

Ví dụ 3

Thử nghiệm được động học trên chuột:

12 con chuột SD cái được chia thành 4 nhóm, mỗi nhóm 3 con, được tiêm G201 (hòa tan trong nước muối chứa 5% N, N-đimetylaxetamit và 5% cremophor ELL) và Elagolix Natri (hòa tan trực tiếp trong nước muối) qua đường tĩnh mạch và định lượng ở liều lượng tương ứng là 25 mg/kg và 50 mg/kg. Chuột được nhịn ăn qua đêm trước khi sử dụng thuốc và có thể ăn sau khi tiêm 4 giờ, chỉ uống nước trong suốt thời gian thử nghiệm. Máu được lấy từ đám rối tĩnh mạch sau ổ mắt và sau 5, 15, 30 phút, 1, 2, 4, 6, 8, 24 giờ sau khi tiêm, và thể tích máu thu được khoảng 0,2 mL. Mẫu máu toàn phần được ly tâm ở tốc độ 4000 vòng/phút trong 10 phút trong vòng 1 giờ kể từ khi thu thập. Lớp huyết tương phía trên được tách ra và bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ -20°C trong vòng 1 giờ cho đến khi phân tích. Sau khi mẫu huyết tương được kết tủa bằng protein metanolic ở tỷ lệ 1:8, các nồng độ G201 và Elagolix trong huyết tương được đo bằng phương pháp LC-MS/MS, và các thông số được động học chính được tính toán bằng cách sử dụng phần mềm DAS3.2.7.

Kết quả cho thấy rằng G201 tiêm tĩnh mạch có CL trung bình là 1,62 L/giờ/kg, t_{1/2} trung bình là 0,79 giờ, và Vz trung bình là 1,82 L/kg. Ngược lại, CL và Vz trung bình của Elagolix Natri lần lượt là 2,48 L/giờ/kg và 8,46 L/kg. Khối lượng phân phối rõ ràng

của G201 thấp hơn đáng kể so với Elagolix, cho thấy sự phân bố mô giảm.

G201 được hấp thu nhanh hơn sau khi cho chuột uống, với $T_{\max}$ là 0,42 giờ, và $AUC_{0-\infty}$ trung bình là 16.351,7 giờ*ng/mL, gấp ba lần so với Elagolix Natri. Sinh khả dụng tuyệt đối của G201 sử dụng theo đường uống là 51,92%, cao hơn đáng kể so với sinh khả dụng tuyệt đối của Elagolix Natri (23,65%). Đường cong nồng độ-thời gian trong huyết tương của G201/Elagolix được tiêm tĩnh mạch được thể hiện trên Fig.1, đường cong nồng độ-thời gian trong huyết tương khi sử dụng theo đường uống được thể hiện trên Fig.2, và các thông số dược động học được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1. Các thông số dược động học của G201 và Elagolix ở chuột SD (giá trị trung bình, n = 3)

Thông số	Đơn vị	Ống thông dạ dày (50 mg/kg)		Tiêm tĩnh mạch (25 mg/kg)	
		G201	Elagolix Natri	G201	Elagolix Natri
$AUC_{0-24\text{ h}}$	giờ*ng/mL	16325,1	4829,3	15722,0	10207,8
$AUC_{0-\infty}$	giờ*ng/mL	16351,7	4874,6	15740,9	10213,2
$t_{1/2z}$	giờ	4,70	4,53	0,79	2,16
$T_{\max}$	giờ	0,42	0,42	0,08	0,08
V_z	L/kg	—	—	1,82	8,46
CL_z	L/h/kg	—	—	1,62	2,48
$C_{\max}$	ng/mL	17009,2	4659,1	27201,7	15604,3
F	%	51,9	23,7	—	—

AUC: diện tích dưới đường cong nồng độ-thời gian trong huyết tương (area under the plasma concentration-time curve); $t_{1/2z}$: chu kỳ bán rã sinh học; $T_{\max}$: thời gian đến đỉnh; V_z : khối lượng phân phối rõ ràng; CL_z : tỷ lệ thanh thải; $C_{\max}$: nồng độ thuốc cao nhất trong huyết tương; và F: sinh khả dụng tuyệt đối, được mô tả dưới đây.

Ví dụ 4

Thử nghiệm dược động học trên chuột:

10 con chuột ICR cái được chia thành hai nhóm, mỗi nhóm 5 con, được tiêm G201 bằng đường tĩnh mạch và ống thông dạ dày, tương ứng với liều lượng 10 mg/kg. Máu được thu từ đám rối tĩnh mạch sau ổ mắt sau 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 giờ sau khi tiêm, và thể tích máu thu được khoảng 0,1 mL. Mẫu máu được ly tâm với tốc độ 4000

vòng/phút trong 10 phút trong vòng 1 giờ. Lốp huyết tương phía trên được tách ra và bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ -80°C trong vòng 1 giờ để đo. Các động vật thử nghiệm được nhịn ăn ít nhất 12 giờ trước khi lấy máu và không được nhịn nước. Chúng không được cho ăn và uống nước trong quá trình lấy máu và được ăn uống bình thường sau 2 giờ sử dụng thuốc. Nồng độ G201 trong huyết tương ở chuột ICR được đo bằng phương pháp LC-MS/MS, và các thông số dược động học chính được tính bằng cách áp dụng phần mềm dược động học DAS 3.2.7 và bao gồm AUC_{0-t} , $\text{AUC}_{0-\infty}$, $C_{\max}$, $t_{1/2}$, v.v..

Kết quả cho thấy G201 được tiêm tĩnh mạch ở chuột có CL trung bình là 3,18 L/giờ/kg, $t_{1/2}$ trung bình là 0,26 giờ, và Vz trung bình là 1,17 L/kg. G201 được hấp thu nhanh hơn sau khi cho chuột uống, với $T_{\max}$ là 0,27 giờ, $\text{AUC}_{0-\infty}$ trung bình là 1.266,3 giờ*ng/mL, và sinh khả dụng tuyệt đối là 38,9%, cao hơn đáng kể so với sinh khả dụng tuyệt đối của Elagolix (tài liệu báo cáo rằng sinh khả dụng tuyệt đối của Elagolix trên chuột ở liều 10 mg/kg là 10%). Đường cong nồng độ-thời gian trong huyết tương đối với việc tiêm tĩnh mạch và sử dụng theo đường uống G201 ở chuột ICR được thể hiện trên Fig.3, và các thông số dược động học được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2. Các thông số dược động học của G201 trên chuột ICR sau khi uống và tiêm tĩnh mạch (giá trị trung bình, n = 10)

Thông số	Đơn vị	Sử dụng theo đường uống (10 mg/kg)	Tiêm tĩnh mạch (10 mg/kg)
AUC_{0-t}	h*ng/mL	1013,7	3239,9
$\text{AUC}_{0-\infty}$	h*ng/mL	1266,3	3253,6
$t_{1/2z}$	h	0,43	0,26
$T_{\max}$	h	0,27	—
Vz	L/kg	—	1,17
CLz	L/h/kg	—	3,18
$C_{\max}$	ng/mL	2004,2	—
F	%	38,9	—

Ví dụ 5

Thử nghiệm liên kết protein huyết tương:

Huyết tương của chuột SD đã được ủ trước (5 con đực và 5 con cái) hoặc huyết tương của người khỏe mạnh được lấy và trộn kỹ với các dung dịch hoạt động, tương

ứng, các dung dịch hoạt động chứa các nồng độ khác nhau của các đối tượng (các đối tượng là G201 (1, 10, 100 μM) và Elagolix (10 μM)) và các đối chứng (warfarin natri (10 μM)). Sau đó, 50 μL mẫu huyết tương chứa thuốc được bổ sung vào thể tích tương đương của chất đệm trắng như mẫu chưa lọc, và 350 μL mẫu huyết tương chứa thuốc khác được chuyển vào thiết bị siêu lọc (ống bên trong của ống siêu lọc) để ly tâm (10000 $\text{g} \times 3$ phút) ở nhiệt độ 37°C. Sau khi ly tâm, 50 μL huyết tương trắng được bổ sung vào mẫu đã loại bỏ ống bên ngoài (mẫu dịch lọc), và cùng một thể tích chất đệm trắng được bổ sung vào mẫu lấy ra từ ống bên trong (mẫu còn lại đã lọc). Sau khi trộn trong 2 phút, dung dịch nội chuẩn được bổ sung vào. Tất cả các mẫu được lắc rung trong 10 phút, các protein được kết tủa bằng cách ly tâm, và phần nổi phía trên được tách chiết. Các nồng độ của các đối tượng và đối chứng được đo bằng phương pháp LC-MS/MS. Tỷ lệ phần trăm tự do (tỷ lệ phần trăm tự do = (nồng độ thuốc của mẫu dịch lọc/nồng độ thuốc của huyết tương chưa lọc) $\times 100\%$) và tỷ lệ phần trăm liên kết (tỷ lệ phần trăm liên kết = $100\% - \text{phần trăm tự do}$) được tính. Độ thu hồi (%) = (nồng độ thuốc của mẫu lọc $\times$ thể tích + nồng độ thuốc của mẫu còn lại đã lọc $\times$ thể tích)/nồng độ thuốc của huyết tương chưa lọc $\times$ tổng thể tích $\times 100$.

Kết quả cho thấy các tỷ lệ liên kết protein của Elagolix ở nồng độ thuốc 10 μM với huyết tương chuột SD và huyết tương của người khỏe mạnh tương ứng là 87,71% và 87,25%, phù hợp với các báo cáo tài liệu. Tỷ lệ liên kết protein của G201 với huyết tương chuột SD và huyết tương người khỏe mạnh tương ứng là 89,79% và 89,94%, cao hơn một chút so với tỷ lệ liên kết protein của Elagolix, và không có sự phụ thuộc nồng độ thuốc vào liên kết protein trong khoảng từ 1 đến 100 μM .

Bảng 3. Tỷ lệ liên kết protein của G201 và Elagolix với bệnh bạch cầu ở chuột và người

	Huyết tương chuột SD			Huyết tương người khỏe mạnh		
	G201	Elagolix	Warfarin Natri	G201	Elagolix	Warfarin Natri
% liên kết	89,79	87,71	99,08	89,94	87,25	98,76
% tự do	10,21	12,29	0,92	10,06	12,75	1,24
% thu hồi	102,54	106,44	95,36	99,23	96,98	113,78

Ví dụ 6

Thử nghiệm được lực học trên khi đuôi dài đực:

Ba con khi đực đuôi dài (mua từ Guangxi Guidong Quadrumana Development & Laboratory Co., Ltd.) từ 3 đến 5 tuổi (trọng lượng 3,8 đến 4,0 kg), được nhin ăn qua đêm và được phẫu thuật cắt tinh hoàn hai bên trong điều kiện gây mê. Hormon hoàng thể hóa huyết thanh (luteinizing hormone: LH) được đo ở khi đuôi dài từ 3 đến 7 tuần sau khi cắt tinh hoàn bằng phương pháp kỹ thuật miễn dịch phóng xạ (radioimmunoassay). Các kết quả thể hiện LH huyết thanh ở khi đực đuôi dài tăng đáng kể (khoảng 10 lần) 3 tuần sau khi cắt tinh hoàn cho đến 7 tuần sau khi cắt tinh hoàn khi nồng độ LH về cơ bản ổn định.

Sau khi mô hình phẫu thuật cắt tinh hoàn thành công, G201 và Elagolix Natri (dung môi: 0,5% CMC-Na) được đưa ra trong 2 chu kỳ sử dụng bằng ống thông dạ dày riêng lẻ với liều tương ứng 10 mg/kg và 30 mg/kg, cả hai đều có thể tích 10 mL/kg. Mỗi chu kỳ sử dụng được cách nhau bởi khoảng thời gian rửa giải khoảng 2 tuần. Đối với mỗi chu kỳ sử dụng, máu được lấy trước đó và sau 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 6, 8 và 24 giờ tương ứng sau khi dùng, và huyết thanh được tách ra để thử nghiệm hormon LH tuyến sinh dục.

Các kết quả thể hiện huyết thanh LH giảm đáng kể sau khi sử dụng theo đường uống G201 và Elagolix Natri ở khi đuôi dài đã cắt tinh hoàn, cả hai đều đạt mức tối thiểu ở 3 giờ sau khi uống và sau đó tăng trở lại. Huyết thanh LH ở động vật được dùng liều lượng 30 mg/kg Elagolix Natri trở lại mức trước khi dùng sau 24 giờ sau khi dùng. Huyết thanh LH ở động vật được dùng ở liều lượng 10 mg/kg G201 có mức độ thay đổi cao hơn một chút sau khi sử dụng so với huyết thanh LH ở động vật được dùng ở liều lượng 30 mg/kg Elagolix Natri. Trong suốt thời gian khảo nghiệm, tất cả các động vật nói chung ở tình trạng tốt và có trọng lượng ổn định, và không có bất thường liên quan đến đối tượng đã quan sát.

Có thể thấy, G201 có thể làm giảm đáng kể nồng độ LH trong huyết thanh ở khi đuôi dài đực bằng đường uống riêng lẻ, và tác dụng ức chế của nó ở liều lượng 10 mg/kg tương đương hoặc cao hơn so với tác dụng ức chế của Elagolix Sodium ở liều lượng 30 mg/kg.

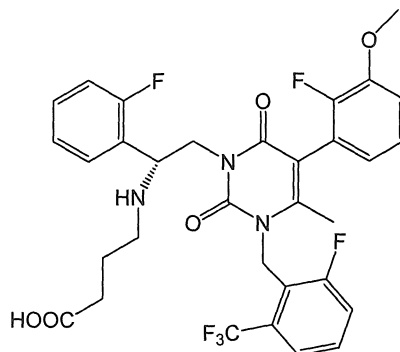
Tóm lại, sáng chế này đã khắc phục hiệu quả những nhược điểm trong tài liệu kỹ

thuật trước và có giá trị sử dụng công nghiệp cao.

Các ví dụ trên chỉ là minh họa cho các nguyên lý của sáng chế và tính hiệu quả của nó, và không nhằm giới hạn sáng chế. Bất kỳ ai trong số những người có hiểu biết trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật có thể sửa đổi hoặc thay đổi các ví dụ trên mà không rời khỏi nguyên lý kỹ thuật và phạm vi của sáng chế. Do đó, tất cả các sửa đổi hoặc thay đổi tương đương được thực hiện bởi người có hiểu biết trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật mà không rời khỏi nguyên lý kỹ thuật và ý tưởng kỹ thuật được mô tả trong sáng chế này sẽ thuộc phạm vi bảo hộ của các điểm yêu cầu bảo hộ của sáng chế.

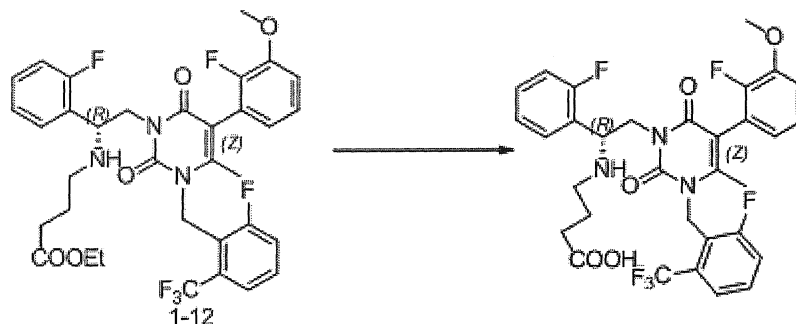
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất hoặc muối dược dụng, đồng phân đối quang, dạng đa hình hoặc solvat của chúng, trong đó công thức cấu tạo hóa học của hợp chất được thể hiện trong Công thức I:



I.

2. Phương pháp điều chế hợp chất theo điểm 1, bao gồm: hydro hóa hợp chất có công thức 1-12 để điều chế và thu được hợp chất có công thức I, với phương trình phản ứng như sau:



3. Phương pháp theo điểm 2, trong đó quá trình hydro hóa được thực hiện khi có mặt của bazơ.

4. Chế phẩm thuốc chứa hợp chất hoặc muối dược dụng, đồng phân đối quang, dạng đa hình hoặc solvat của chúng theo điểm 1.

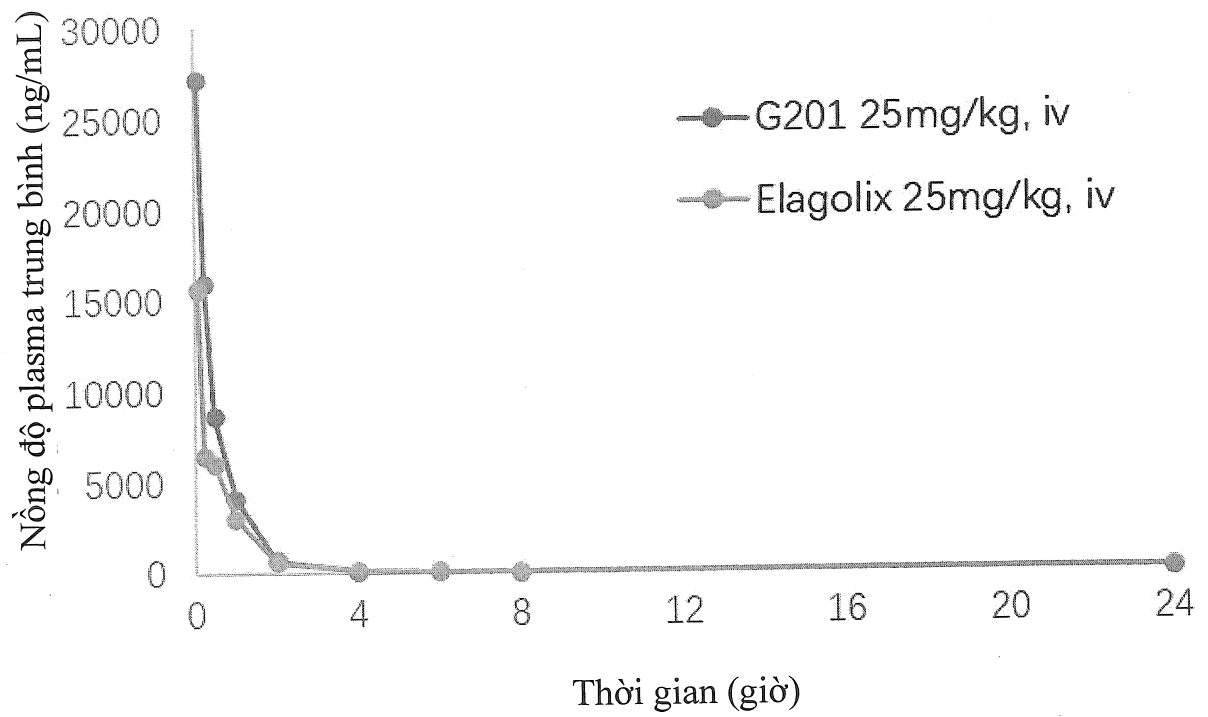


Fig.1

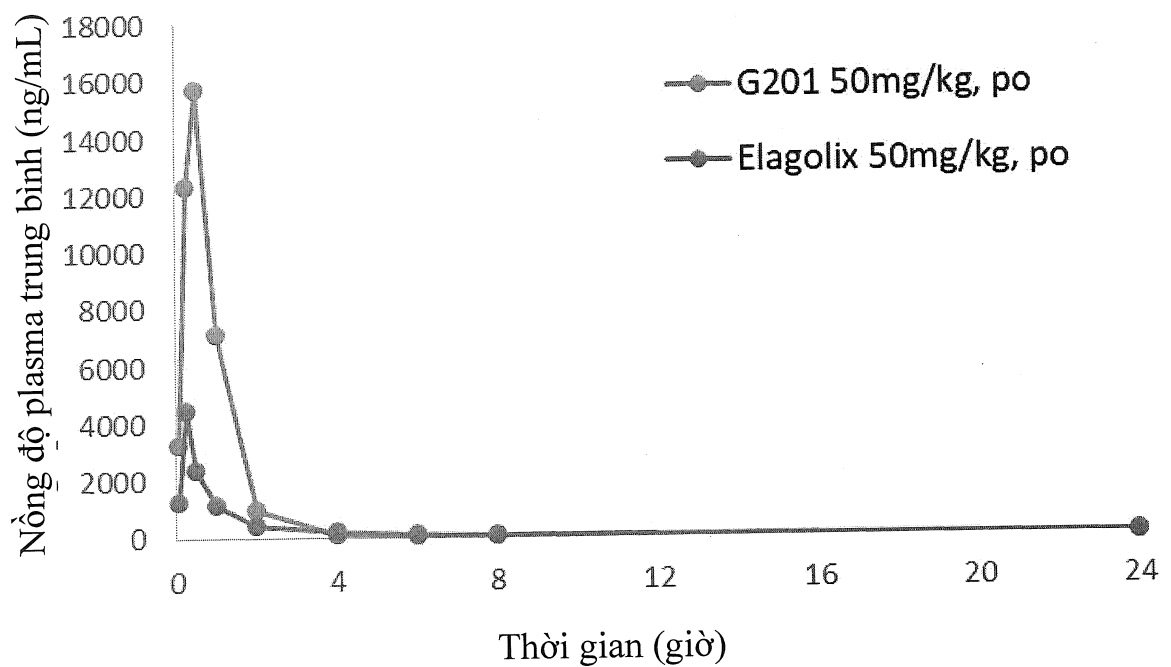


Fig.2

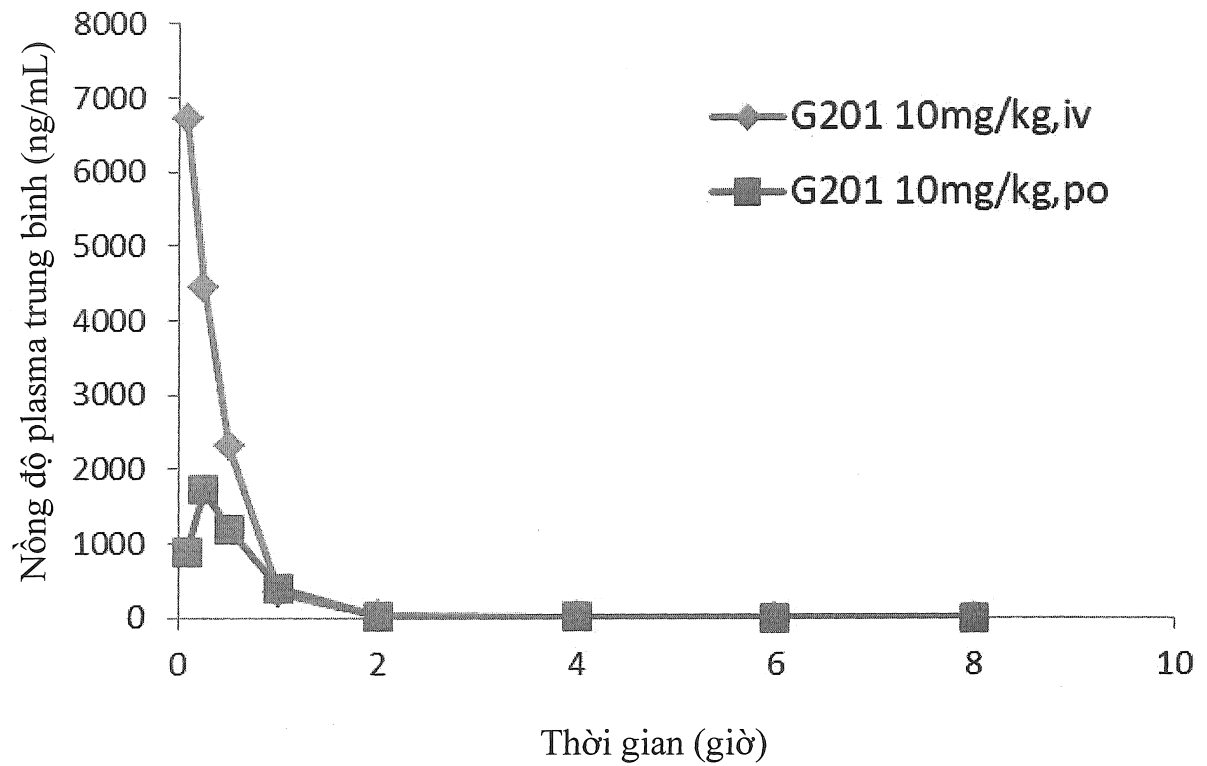


Fig.3

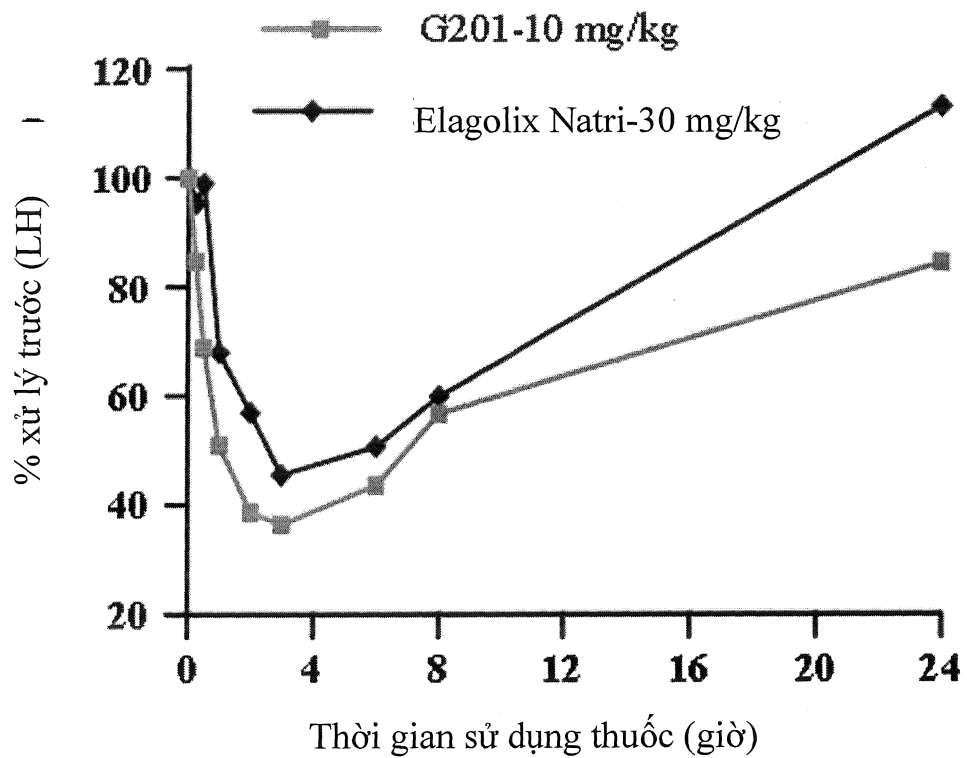


Fig.4