



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0023365

(51)⁷ C07D 211/06; A61K 31/455

(13) B

(21) 1-2016-01330

(22) 15/09/2014

(86) PCT/US2014/055599 15/09/2014

(87) WO2015/039010 19/03/2015

(30) 61/878,286 16/09/2013 US

(45) 27/04/2020 385

(43) 26/09/2016 342A

(73) EMERGENT VIROLOGY LLC (US)

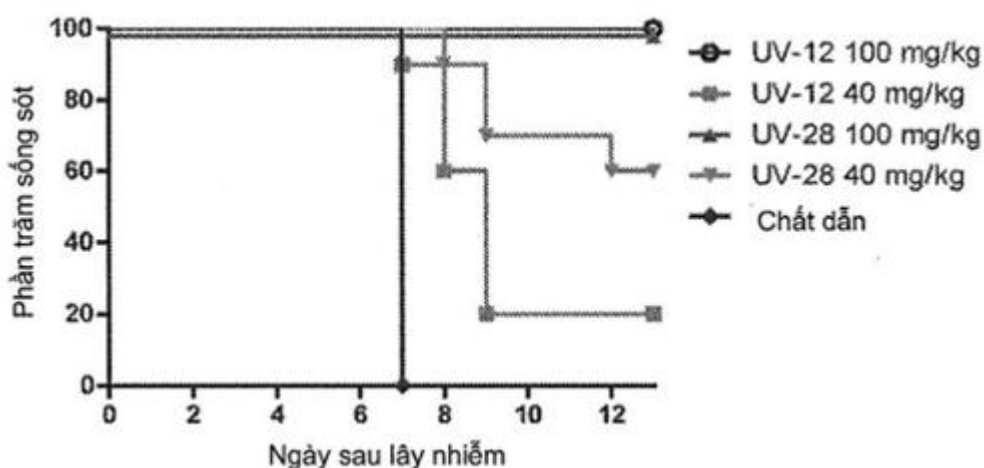
400 Professional Dr., Suite 400 Gaithersburg, MD 20879, United States of America

(72) RAMSTEDT, Urban (US); PENMASTA, Raju (US); BATRA, Hitesh (US);
NGUYEN, Tam (US)

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyền (INVENCO.,LTD)

(54) HỢP CHẤT DEOXYNOJIRIMYXIN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY
ĐỂ PHÒNG HOẶC ĐIỀU TRỊ BỆNH NHIỄM VIRUT DENGUE

(57) Sáng chế đề xuất hợp chất đường imino dùng để điều trị nhiễm virut, như nhiễm virut dengue và nhiễm virut cúm A. Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra các dẫn xuất deoxynojirimyxin nhất định có thể hữu hiệu chống lại một hoặc nhiều virut, mà có thể là, ví dụ, virut dengue và/hoặc virut thuộc họ orthomyxoviridae, như virut cúm A. Cụ thể là, các dẫn xuất deoxynojirimyxin này có thể hữu dụng để điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh do hoặc có liên quan đến một hoặc nhiều virut. Theo các phương án nhất định, các dẫn xuất deoxynojirimyxin có thể làm tăng tỷ lệ sống hoặc xác suất đối với đối tượng bị nhiễm một hoặc nhiều virut, mà có thể là, ví dụ, virut dengue và/hoặc virut thuộc họ orthomyxoviridae, như virut cúm A.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất đường imino và cụ thể là đề cập đến hợp chất deoxynojirimyxin được thế ở vị trí N để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh nhiễm virus.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các virus cúm gây đại dịch, lây truyền từ động vật sang người và theo mùa vẫn còn là một mối đe dọa toàn cầu lớn đối với sức khỏe con người. Sự biến đổi không ngừng của các virus cúm qua cả sự tiến triển và thay đổi về bộ gen của virus đã tạo ra thể hệ các chủng virus cúm mới mỗi năm và khả năng dẫn đến các đại dịch nguy hiểm do thiếu miễn dịch đối với các chủng virus khác nhau, mới nổi này. Hiện đã có một vài thuốc chống virus đã được FDA thông qua mà có thể dùng được cho cộng đồng, đáng chú ý là zanamivir và oseltamivir (TAMIFLU), cũng như là các dược chất cũ như amantadin và rimantadin. Do các quan ngại về hiệu quả và tính kháng thuốc, nên cần các nỗ lực để phát triển các thuốc mới để điều trị các bệnh nhiễm virus cúm.

Các nỗ lực tương tự để phát triển các hợp chất đường imino mới để điều trị virus Dengue đang được tiến hành. Virus Dengue thuộc chi *Flavivirus* của họ *Flaviviridae* và gây sốt xuất huyết Dengue (dengue hemorrhagic fever-DHF). Virus Dengue bao gồm bốn typ huyết thanh có quan hệ gần, thường được gọi là Dengue 1, Dengue 2, Dengue 3, và Dengue 4. Khả năng phục hồi sau khi bị nhiễm bởi một trong số các typ huyết thanh này tạo ra miễn dịch suốt đời chống lại typ huyết thanh đó nhưng chỉ tạo ra sự bảo vệ tạm thời và một phần chống lại sự lây nhiễm với ba typ huyết thanh còn lại. Bằng chứng này gợi ý rằng việc lây nhiễm liên tiếp các typ huyết thanh khác nhau của virus Dengue làm tăng nguy cơ mắc bệnh nặng hơn kể cả DHF.

Công bố đơn quốc tế số WO 2014/017915 A2 đã bộc lộ các dẫn xuất đường imino, cụ thể là các dẫn xuất ure và guanidinium của đường imino, muối của chúng, tautome, chất đồng phân đối ảnh và chất đồng phân lập thể. Tài liệu này cũng bộc lộ phương pháp điều chế các dẫn xuất này, quy trình tổng hợp các chất trung gian có liên quan, và các thioure nhất định. Ngoài ra, tài liệu này còn bộc lộ dược phẩm chứa dẫn xuất này và phương pháp ức chế hoặc cải biến hoạt tính của enzym glycosidaza.

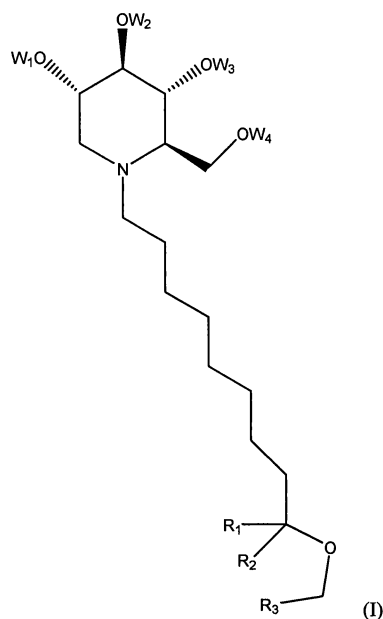
Công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US 2011/0189771 A1 mô tả dẫn xuất của đường imino, dược phẩm chứa hợp chất này và chất mang dược dụng. Tài liệu này cũng đề cập đến phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh nhiễm virus Dengue sử dụng hợp chất này hoặc muối dược dụng của chúng và phương pháp điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh do hoặc có liên quan đến virus thuộc họ Orthomyxoviridae sử dụng hợp chất này hoặc muối dược dụng của chúng.

Các đại dịch DHF xuất hiện làm gia tăng mối quan ngại ở châu Mỹ và châu Á, trong đó tất cả bốn typ virus dengue là phổ biến. DHF đã trở thành nguyên nhân chủ yếu dẫn đến việc nằm viện và tử vong ở trẻ em ở một vài nước. Virus Dengue được ước tính là lây nhiễm cho 390 triệu người trên toàn thế giới mỗi năm. Ví dụ, xem tài liệu, Bhatt, S. *et al.*, "The global distribution and burden of dengue," *Nature* 496:504-507 (2013).

Sốt Dengue được lan truyền chủ yếu qua muỗi *Aedes aegypti* và là bệnh do virus từ muỗi phổ biến nhất ở người. Nói chung, 2,5 tỷ người - 40% dân số trên thế giới - sống ở các khu vực ẩm áp nơi mà *Aedes aegypti* là phổ biến và sốt dengue có thể được lan truyền. Sự phát triển nhanh chóng của các thành phố nhiệt đới và quần thể muỗi và người ở các thành phố này đã khiến số người tiếp xúc với vật truyền này ngày càng tăng. Sự lây lan về mặt địa lý của cả các vật truyền từ muỗi và virus đã dẫn đến sự gia tăng toàn cầu bệnh sốt dengue bộc phát và sự nổi lên của bệnh sốt xuất huyết dengue (dengue hemorrhagic fever-DHF). Do đó rất cần đến các thuốc chống virus mới để điều trị bệnh nhiễm Dengue.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là nhằm đề xuất hợp chất có công thức (I):



hoặc muối được dụng của nó, trong đó mỗi W_{1-4} và R_{1-3} độc lập được chọn từ các nhóm hydro và C_{1-3} -alkyl và trong đó ít nhất một trong số R_{1-3} không phải là hydro.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó hợp chất này được dùng để điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh do hoặc có liên quan đến virus thuộc họ Orthomyxoviridae ở đối tượng cần điều trị.

Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó hợp chất này được dùng để điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh do hoặc có liên quan đến virus Dengue ở đối tượng cần điều trị.

Theo một phương án khác nữa, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) và chất mang được dụng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1: Thể hiện mức sống sót của nhóm chuột bị nhiễm khuẩn được điều trị. Các nhóm chuột ($n=10$) được điều trị TID bắt đầu 1 giờ trước khi bị nhiễm; chuột được lây nhiễm cúm qua đường trong mũi ở liều $\sim 1 LD_{90}$. Số liệu sống sót được vẽ đồ thị ở dạng phần trăm sống sót so với ngày sau khi bị nhiễm. Đồ thị thể hiện mức sống sót của các con chuột ở mỗi nhóm.

Fig.2: Thể hiện khối lượng của các con chuột bị nhiễm được điều trị. Các nhóm chuột ($n=10$) được điều trị TID bắt đầu 1 giờ trước khi bị nhiễm; chuột được lây nhiễm cúm qua đường trong mũi ở liều $\sim 1 LD_{90}$. Số liệu khối lượng được vẽ đồ thị ở dạng phần trăm của khối lượng ban đầu so với ngày sau khi lây nhiễm.

Fig.3: Thân nhiệt của chuột bị nhiễm được điều trị. Các nhóm chuột (n=10) được điều trị TID bắt đầu 1 giờ trước khi lây nhiễm; chuột được lây nhiễm cúm qua đường trong mũi ở liều $\sim 1 \text{ LD}_{90}$. Số liệu về thân nhiệt được vẽ đồ thị dưới dạng phần trăm của thân nhiệt ban đầu so với ngày sau khi lây nhiễm.

Fig.4: Chỉ số sức khỏe của chuột bị nhiễm được điều trị. Các nhóm chuột (n=10) được điều trị TID bắt đầu 1 giờ trước khi lây nhiễm; chuột được lây nhiễm cúm qua đường trong mũi ở liều $\sim 1 \text{ LD}_{90}$. Số liệu sức khỏe được vẽ đồ thị ở dạng chỉ số sức khỏe so với ngày sau lây nhiễm.

Fig.5: thể hiện đồ thị chứng minh hiệu quả *in vivo* của UV-12 chống lại virus dengue.

Fig.6: Sự sống sót của chuột được điều trị. Các nhóm chuột (n=10) nhận liều điều trị thứ nhất của hợp chất trong nước ở thời điểm 1 giờ trước khi được lây nhiễm chủng cúm A/Texas/36/91 (H1N1) qua đường trong mũi ở liều $\sim 1 \text{ LD}_{90}$. Số liệu sống sót được vẽ đồ thị ở dạng phần trăm sống sót so với ngày sau khi lây nhiễm. (A) Điều trị bằng 100mg/kg UV-4B, UV-8, UV-9, UV-10, UV-11, và UV-12; giả sử khối lượng ban đầu là $\sim 20\text{g}$ mỗi chuột. Đồ thị bao gồm đường cong sống sót của nhóm đối chứng chỉ sử dụng chất dẫn.

Fig.7: Phân tích thống kê sự sống sót của chuột bị nhiễm. Số liệu về mức sống sót được vẽ đồ thị trong Fig.6 được phân tích bằng cách sử dụng các kiểm định Mantel-Cox và Gehan-Breslow-Wilcoxon. (A) Phân tích thống kê được tiến hành bằng cách so sánh các nhóm được điều trị với nhóm đối chứng sử dụng chất dẫn là nước. Ý nghĩa thống kê được thể hiện bởi giá trị $p < 0,05$.

Fig.8A-F: Phân tích khối lượng. Chuột nhận liều thứ nhất của hợp chất trong nước ở thời điểm 1 giờ trước khi lây nhiễm qua đường trong mũi bằng $\sim 1 \text{ LD}_{90}$ chủng cúm A/Texas/36/91 (H1N1). Khối lượng trung bình của mỗi nhóm chuột được vẽ đồ thị ở dạng phần trăm khối lượng vào ngày 0 (thời điểm ban đầu) với độ lệch chuẩn. (A) Điều trị chuột bị nhiễm bằng UV-4B hoặc UV-8, (B) điều trị chuột bị nhiễm bằng UV-4B hoặc UV-9, (C) điều trị chuột bị nhiễm bằng UV-4B hoặc UV-10, (D) điều trị chuột bị nhiễm bằng UV-4B hoặc UV-11, (E) điều trị chuột bị nhiễm bằng UV-4B hoặc UV-12, và (F) điều trị chuột bị không bị nhiễm bằng UV-8, -9, -10, -11, hoặc -12, không có độ lệch chuẩn.

Fig.9: Phân tích thống kê số liệu khối lượng. Số liệu khối lượng của chuột bị nhiễm cúm được vẽ đồ thị trong Fig.8 được phân tích bằng cách sử dụng phân tích phương sai ANOVA hai chiều đối với các phép đo lặp lại (GraphPad Prism) so với nhóm đối chứng sử dụng chất dẫn. Số liệu chỉ được phân tích sau khi lây nhiễm 7 ngày (post-infection-p.i.) do một số chuột bị chết ở các thời điểm sau đó. Các hợp chất UV-9, UV-10, và UV-11 đều thu được mức sống sót 0% và MTD < 9 ngày và do đó không được phân tích thống kê tiếp theo. Ý nghĩa thống kê được thể hiện bởi giá trị p nhỏ hơn 0,05 ($p < 0,05$).

Fig.10: Phân tích thân nhiệt. Chuột được nhận liều thứ nhất của hợp chất trong H₂O ở thời điểm 1 giờ trước khi lây nhiễm qua đường trong mũi bằng ~ 1 LD₉₀ chủng cúm A/Texas/36/91 (H1N1). Thân nhiệt trung bình của mỗi nhóm được vẽ đồ thị ở dạng phần trăm của khối lượng vào ngày 0 (thời điểm ban đầu) với các độ lệch chuẩn. (A) Điều trị chuột bị nhiễm bằng UV-4B hoặc UV-8, (B) điều trị chuột bị nhiễm bằng UV-4B hoặc UV-9, (C) điều trị chuột bị nhiễm bằng UV-4B hoặc UV-10, (D) điều trị chuột bị nhiễm bằng UV-4B hoặc UV-11, (E) điều trị chuột bị nhiễm bằng UV-4B hoặc UV-12, và (F) điều trị chuột không bị nhiễm bằng UV-8, -9, -10, -11, hoặc -12, không có độ lệch chuẩn.

Fig.11: Phân tích thống kê số liệu thân nhiệt. Số liệu thân nhiệt của chuột bị nhiễm cúm được vẽ đồ thị trong Fig.10 được phân tích bằng cách sử dụng phân tích phương sai ANOVA hai chiều đối với các phép đo lặp (GraphPad Prism) so với mẫu đối chứng dùng chất dẫn. Số liệu chỉ được phân tích sau khi lây nhiễm (p.i.) 7 ngày do một số chuột bị chết ở các thời điểm sau đó. Các hợp chất UV-9, UV-10, và UV-11 đều thu được mức sống sót 0% và MTD < 9 ngày và do đó không được phân tích thống kê tiếp theo. Ý nghĩa thống kê được chỉ ra bởi giá trị p nhỏ hơn 0,05 ($p < 0,05$).

Fig.12 thể hiện các kết quả của nghiên cứu được thực hiện trong ví dụ 4. Nghiên cứu này xác định khả năng sống sót của chuột bị nhiễm virus dengue. Số liệu sống sót và thể trọng của chuột được vẽ đồ thị trong Fig.12. Tất cả các hợp chất được dùng trong nước qua đường miệng (3 lần mỗi ngày trong dạ dày qua miệng dạ dày - IG) trong tổng cộng 7 ngày sau khi bắt đầu dùng liều. Liều điều trị là 50mg/kg UV-4B, UV-8, UV-9, UV-10, UV-11, và UV-12. Các nhóm chuột nhận liều điều trị thứ nhất của hợp chất ở thời điểm 0,5 đến 1 giờ trước khi lây nhiễm virus dengue qua

đường tĩnh mạch ở liều $\sim 1 \text{ LD}_{90}$. Khả năng sống sót và thể trọng được đánh giá sau 3 ngày dùng liều.

Fig.13 thể hiện công thức hóa học của các hợp chất UV-8, UV-9, UV-10, UV-11 và UV-12.

Fig.14 thể hiện công thức hóa học của UV-28.

Fig.15 thể hiện sơ đồ tổng hợp hợp chất UV-8.

Fig.16 thể hiện sơ đồ tổng hợp hợp chất UV-9.

Fig.17 thể hiện sơ đồ tổng hợp hợp chất UV-10.

Fig.18 thể hiện sơ đồ tổng hợp hợp chất UV-11.

Fig.19 thể hiện sơ đồ tổng hợp hợp chất UV-12.

Fig.20 thể hiện sơ đồ tổng hợp hợp chất UV-28.

Fig.21 thể hiện sơ đồ tổng hợp khác đối với hợp chất UV-28.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các tài liệu có liên quan

Các tài liệu patent dưới đây, mỗi tài liệu được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ, có thể hữu dụng để hiểu rõ hơn về sáng chế:

Các patent Mỹ số 6,545,021; 6,809,803; 6,689,759; 6,465,487; 5,622,972; 7,816,650; 7,256,005; 8,450,345; 7,612,093; và 8,426,445; Công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 20110184019; 20130150405; 20100222384; 20110065754; 20110065753; 20110065752; và 2007-0275998; và đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 13/870,341 được nộp ngày 25/4/2013.

Định nghĩa thuật ngữ

Trừ khi được quy định theo cách khác, thuật ngữ “một” có nghĩa là “một hoặc nhiều”.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "nhiễm virus" mô tả tình trạng bệnh, trong đó virus xâm nhập vào tế bào khỏe mạnh, sử dụng cơ chế sinh sản của tế bào để nhân lên hoặc sao chép và cuối cùng dung giải tế bào dẫn đến làm chết tế bào, giải phóng các hạt virus và các virus con mới được sinh sản sẽ lây nhiễm vào các tế bào khác. Sự lây nhiễm tiềm ẩn bởi các virus nhất định cũng là một kết quả của sự lây nhiễm virus có thể xảy ra.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "phòng hoặc điều trị nhiễm virus" có nghĩa là ức chế sự sao chép virus cụ thể, ức chế sự truyền virus, hoặc ngăn ngừa virus tự thiết

lập trong tế bào chủ, và cải thiện hoặc làm giảm các triệu chứng của bệnh do nhiễm virus gây ra. Phương pháp điều trị được coi là điều trị nếu giảm được tải lượng virus, giảm tỷ lệ chết và/hoặc bệnh suất.

IC₅₀ hoặc IC₉₀ (nồng độ ức chế 50 hoặc 90) là nồng độ của chất điều trị, như đường imino, được dùng để làm giảm 50% hoặc 90% tải lượng virus, tương ứng.

LD₉₀ viết tắt cho liều gây chết 90% là liều ước tính của một chất mà tại liều này 90% quần thể được cho là đã chết.

DENV viết tắt cho virus dengue.

INFLU viết tắt cho virus cúm.

IV viết tắt cho trong tĩnh mạch.

IG viết tắt cho trong dạ dày.

IP viết tắt cho trong màng bụng.

PFU viết tắt cho đơn vị tạo mảng.

PBS viết tắt cho dung dịch nước muối được đệm phosphat.

ANOVA viết tắt cho phân tích phương sai.

Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra các dẫn xuất deoxynojirimycin nhất định có thể hữu dụng chống lại một hoặc nhiều virus, mà có thể là, ví dụ, virus dengue và/hoặc virus thuộc họ Orthomyxoviridae, như virus cúm A.

Cụ thể là, các dẫn xuất deoxynojirimycin như vậy có thể hữu dụng để điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh do hoặc có liên quan đến một hoặc nhiều virus, mà có thể là, ví dụ, virus dengue và/hoặc virus thuộc họ Orthomyxoviridae, như virus cúm A. Theo các phương án nhất định, các dẫn xuất deoxynojirimycin có thể làm tăng tỷ lệ sống sót hoặc xác suất sống của đối tượng bị nhiễm một hoặc nhiều virus, mà có thể là, ví dụ, virus dengue và/hoặc virus thuộc họ Orthomyxoviridae, như virus cúm A.

Virus dengue

Virus dengue thuộc chi Flavivirus của họ Flaviridae và gây sốt xuất huyết dengue (dengue hemorrhagic fever-DHF). Virus dengue bao gồm bốn typ huyết thanh có quan hệ gần, thường được dùng để chỉ là Dengue 1, Dengue 2, Dengue 3 và Dengue 4. Việc phục hồi từ sự lây nhiễm bởi một typ huyết thanh tạo ra khả năng miễn dịch suốt đời chống lại typ huyết thanh đó nhưng chỉ tạo ra sự bảo vệ một phần và nhất thời chống lại sự lây nhiễm bởi ba chủng còn lại. Một bằng chứng rõ ràng cho thấy rằng sự lây nhiễm sau đó làm tăng nguy cơ bệnh nặng hơn, dẫn đến DHF. Dịch

bệnh DHF mới nổi đang làm tăng mối quan ngại ở châu Mỹ và châu Á, nơi mà tất cả bốn typ virus dengue đều phổ biến. DHF đã trở thành nguyên nhân hàng đầu dẫn đến việc nằm viện và tử vong ở trẻ em ở một vài nước. Năm 2007, có hơn 890.000 ca sốt dengue được báo cáo ở Mỹ, trong đó 26.000 ca là DHF.

Sốt dengue được lan truyền chủ yếu qua muỗi *Aedes aegypti* và là bệnh do virus từ muỗi phổ biến nhất ở người. Nói chung, 2,5 tỷ người - 40% dân số trên thế giới - sống ở các khu vực ẩm áp nơi mà *Aedes aegypti* là phổ biến và sốt dengue có thể được lan truyền. Sự phát triển nhanh chóng của các thành phố nhiệt đới và quần thể muỗi và người ở các thành phố này đã khiến số người tiếp xúc với vật truyền này ngày càng tăng. Sự lây lan rộng về mặt địa lý của cả các vật truyền từ muỗi và virus đã dẫn đến sự quay trở lại của bệnh sốt dengue lan tràn trên toàn cầu và sự nổi lên của bệnh sốt xuất huyết dengue (DHF).

Họ Orthomyxoviridae

Họ Orthomyxoviridae là một họ của virus ARN mà bao gồm năm chi: virus cúm A, virus cúm B, virus cúm C, isavirus và thogotovirus. Ba chi đầu bao gồm các virus mà có thể gây cúm ở động vật có xương sống, bao gồm chim, người và động vật có vú khác.

Chi virus cúm A bao gồm các loài đơn, mà có thể gây cúm ở chim và các động vật có vú nhất định, bao gồm người, lợn, mèo, chó và ngựa.

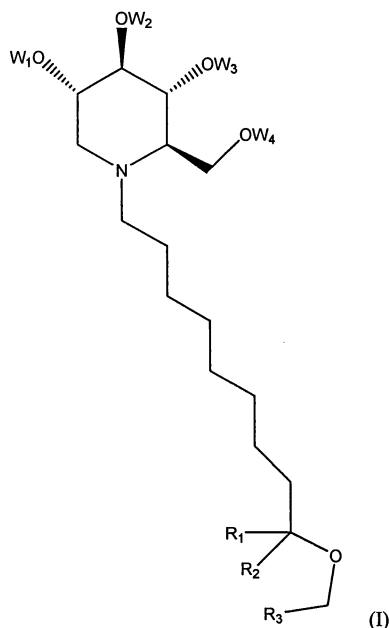
Virus cúm A là các virus ARN phân đoạn, mạch đơn, có nghĩa âm tính. Một vài typ phụ của virus cúm A tồn tại, được đánh dấu theo số H (đối với typ ngưng kết hồng cầu) và số N (đối với typ neuraminidaza). Hiện nay đã biết 16 kháng nguyên H khác nhau (H1 đến H16) và 9 kháng nguyên N khác nhau (N1 đến N9). Các typ huyết thanh và các typ phụ của cúm A bao gồm cúm A H1N1; cúm A H1N2; cúm A H2N2; cúm A H3N1; cúm A H3N2; cúm A H3N8; cúm A H5N1; cúm A H5N2; cúm A H5N3; cúm A H5N8; cúm A H5N9; cúm A H5N9; cúm A H7N1; cúm A H7N2; cúm A H7N3; cúm A H7N4; cúm A H7N7; cúm A H9N2; cúm A H10N7.

Chi virus cúm B bao gồm các loài đơn, mà có thể gây cúm ở người và hải cẩu.

Chi virus cúm C bao gồm các loài đơn, mà có thể gây cúm ở người và lợn.

Các dẫn xuất deoxynojirimyxin

Theo một vài phương án, các dẫn xuất deoxynojirimyxin có thể là một hợp chất thuộc nhóm được xác định bởi công thức (I):



sao cho mỗi W_{1-4} và R_{1-3} độc lập được chọn từ các nhóm hydro và C_{1-3} alkyl, trong đó ít nhất một trong số R_{1-3} không phải là hydro. Các nhóm C_{1-3} alkyl bao gồm metyl, etyl và propyl. Theo một vài phương án, R_2 và R_3 có thể là sao cho chúng cùng nhau tạo thành một trong số các nhóm sau: $-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-$ hoặc $-CH_2-CH_2-CH_2-$.

Hợp chất có công thức (I) trong đó mỗi trong số W_{1-4} và R_{1-3} là hydro là *N*-(9-Metoxynonyl) deoxynojirimyxin, mà cũng được biết đến là N9-DNJ hoặc UV-4. Các hợp chất thuộc nhóm nêu trên có thể được coi là các dẫn xuất của UV-4. Các hợp chất thuộc nhóm nêu trên, như các hợp chất UV-12 và UV-28 (xem Fig.13-14) có thể có một hoặc nhiều ưu điểm so với các dẫn xuất khác của UV-4, như, ví dụ, các hợp chất UV-8, UV-9, UV-10 và UV-11 (xem Fig.13). Ví dụ, các hợp chất thuộc nhóm nêu trên, như các hợp chất UV-12 và UV-28 có thể có hiệu quả hơn so với các dẫn xuất khác của UV-4, như các hợp chất UV-8, UV-9, UV-10 và UV-11, chống lại một hoặc nhiều virus, mà có thể là, ví dụ, virus dengue và/hoặc virus thuộc họ Orthomyxoviridae, như virus cúm A.

Các dẫn xuất UV-4, như UV-8, UV-9, UV-10, UV-11, UV-12 và UV-28, có thể được tổng hợp như được mô tả trong Fig.15-21.

Phương pháp tổng hợp các dẫn xuất deoxynojirimyxin cũng được mô tả, ví dụ trong patent Mỹ số 5,622,972, 5,200,523, 5,043,273, 4,994,572, 4,246,345, 4,266,025, 4,405,714, và 4,806,650 và công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2007/0275998, tất cả các tài liệu này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Theo một vài phương án, các dẫn xuất deoxynojirimyxin có thể ở dạng muối thu được từ axit hữu cơ hoặc vô cơ. Muối được dụng và phương pháp bào chế các dạng muối này được mô tả, ví dụ, trong tài liệu Berge et al. (*J. Pharm. Sci.* 66: 1-18, 1977). Ví dụ về các muối thích hợp bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở các muối sau: axetat, adipat, alginat, xitrat, aspartat, benzoat, benzensulfonat, bisulfat, butyrat, camphorat, camphorsulfonat, digluconat, xyclopentanpropionat, dodexylsulfat, etansulfonat, glucoheptanoat, glyxerophosphat, hemisulfat, heptanoat, hexanoat, fumarat, hydroclorua, hydrobromua, hydroiodua, 2-hydroxyetansulfonat, lactat, maleat, metansulfonat, nicotinat, 2-naphthalencnsulfonat, oxalat, palmoat, pectinat, persulfat, 3-phenylpropionat, picrat, pivalat, propionat, succinat, tartrat, thioxyanat, tosylat, mesylat, và undecanoat.

Theo một vài phương án, dẫn xuất deoxynojirimyxin cũng có thể được sử dụng ở dạng tiền dược chất. Các tiền dược chất của các dẫn xuất DNJ, như các dẫn xuất DNJ được phosphoryl hóa ở vị trí số 6, được bộc lộ trong patent Mỹ số 5,043,273 và 5,103,008.

Theo một vài phương án, dẫn xuất deoxynojirimyxin có thể được sử dụng làm một phần của chế phẩm, mà có thể chứa thêm chất mang dược dụng và/hoặc thành phần hữu dụng để phân phối chế phẩm này cho động vật. Nhiều chất mang dược dụng hữu dụng để phân phối các chế phẩm này cho người và các thành phần hữu dụng để phân phối chế phẩm này cho các động vật khác như gia súc là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Việc bổ sung các chất mang và thành phần như vậy vào chế phẩm theo sáng chế là đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Theo một vài phương án, dược phẩm về cơ bản có thể chứa deoxynojirimyxin được thế ở vị trí N, mà có nghĩa là deoxynojirimyxin được thế ở vị trí N là hoạt chất duy nhất trong dược phẩm này.

Cũng theo một vài phương án, deoxynojirimyxin được thế ở vị trí N có thể được sử dụng với một hoặc nhiều hợp chất kháng virut khác.

Theo một vài phương án, dẫn xuất deoxynojirimyxin có thể được sử dụng trong chế phẩm liposom, như các dẫn xuất được mô tả trong các công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2008/0138351, 2009/0252785 và 2010/0266678.

Dẫn xuất DNJ có thể được sử dụng cho tế bào hoặc động vật bị nhiễm virus. Dẫn xuất DNJ có thể ức chế sự tạo hình virus, hoặc nó có thể dùng để điều trị cá thể. Việc điều trị này có thể làm giảm, làm dịu hoặc giảm bớt tình trạng nhiễm virus ở động vật.

Theo một vài phương án, động vật có thể là động vật bị nhiễm virus Dengue mà có thể là động vật có xương sống, như động vật có vú, có thể là, ví dụ, loài gặm nhấm hoặc động vật linh trưởng, như người.

Theo một vài phương án, lượng dẫn xuất DNJ được sử dụng cho động vật hoặc cho tế bào động vật theo phương pháp theo sáng chế có thể là lượng hữu hiệu để ức chế sự tạo hình virus Dengue từ tế bào. Thuật ngữ "ức chế" như được sử dụng ở đây có thể được dùng để chỉ việc làm giảm và/hoặc loại bỏ đáng kể hoạt tính sinh học được biểu hiện khi không có mặt đường imino. Thuật ngữ "lượng hữu hiệu" có thể được dùng để chỉ lượng dẫn xuất DNJ cần để thu được tác dụng được chỉ định. Thuật ngữ "điều trị" như được sử dụng ở đây có thể được dùng để chỉ việc làm giảm hoặc làm dịu các triệu chứng ở đối tượng, ngăn ngừa các triệu chứng tiến triển hoặc xấu hơn, ức chế hoặc làm giảm tác nhân gây bệnh, hoặc phòng ngừa sự lây nhiễm hoặc bệnh có liên quan đến Virus dengue ở đối tượng chưa bị nhiễm.

Theo một vài phương án, động vật có thể là động vật bị nhiễm virus thuộc họ Orthomyxoviridae, mà có thể là động vật có xương sống, như chim hoặc động vật có vú, bao gồm động vật linh trưởng, như người; mèo; chó và ngựa.

Theo một vài phương án, lượng dẫn xuất DNJ được sử dụng cho động vật hoặc cho tế bào động vật theo phương pháp theo sáng chế có thể là lượng hữu hiệu để ức chế sự tạo hình của virus thuộc họ Orthomyxoviridae trong tế bào. Thuật ngữ "ức chế" như được sử dụng ở đây có thể được dùng để chỉ việc làm giảm và/hoặc loại trừ đáng kể hoạt tính sinh học được biểu hiện khi không có mặt dẫn xuất DNJ. Thuật ngữ "lượng hữu hiệu" có thể được dùng để chỉ lượng dẫn xuất DNJ cần để thu được hiệu quả được chỉ định. Thuật ngữ "điều trị" như được sử dụng có thể được dùng để chỉ việc làm giảm hoặc làm dịu các triệu chứng ở đối tượng, ngăn ngừa các triệu chứng tiến triển hoặc xấu hơn, ức chế hoặc loại trừ tác nhân gây bệnh, hoặc ngăn ngừa sự lây nhiễm hoặc bệnh có liên quan đến virus thuộc họ Orthomyxoviridae ở đối tượng mà chưa bị nhiễm.

Điều trị bệnh do hoặc có liên quan đến virus, mà có thể là, ví dụ, virus Dengue hoặc virus thuộc họ Orthomyxoviridae, như virus cúm A, có thể bao gồm tiêu diệt tác nhân lây nhiễm, ức chế hoặc can thiệp vào sự phát triển hoặc trưởng thành của virus, và trung hòa các tác dụng gây bệnh của nó. Tốt hơn nếu lượng dẫn xuất DNJ, được sử dụng cho tế bào hoặc động vật là lượng không gây ra tác dụng độc mà nổi trội hơn tác dụng chính khi sử dụng dẫn xuất này.

Liều dùng thực tế của hoạt chất trong dược phẩm có thể khác nhau sao cho sử dụng lượng (các) hoạt chất hữu hiệu để đạt được đáp ứng điều trị mong muốn đối với bệnh nhân cụ thể.

Mức liều được chọn có thể tùy thuộc vào hoạt tính của dẫn xuất DNJ, đường dùng, mức độ nặng của tình trạng bệnh được điều trị, và tình trạng bệnh và tiền sử của bệnh nhân được điều trị. Tuy nhiên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể bắt đầu sử dụng (các) hợp chất ở liều thấp hơn cần thiết để thu được tác dụng điều trị mong muốn và tăng dần liều dùng cho đến khi thu được tác dụng mong muốn. Nếu muốn, liều hữu hiệu hàng ngày có thể được chia thành nhiều liều theo mục đích sử dụng, ví dụ, hai đến bốn liều mỗi ngày. Tuy nhiên, cần hiểu rằng mức liều cụ thể cho bệnh nhân cụ thể bất kỳ có thể khác nhau tùy thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm thể trọng, tình trạng sức khỏe chung, chế độ ăn, thời gian và đường dùng và kết hợp với các chất điều trị khác và mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh hoặc bệnh được điều trị. Liều dùng hàng ngày của người lớn có thể nằm trong khoảng từ 1 microgam đến 1 gam, hoặc nằm trong khoảng từ 10mg đến 100mg dẫn xuất DNJ mỗi 10 kilogam thể trọng. Theo một vài phương án, tổng liều hàng ngày có thể nằm trong khoảng từ 0,1mg/kg thể trọng đến 100mg/kg thể trọng hoặc từ 1mg/kg thể trọng đến 60mg/kg thể trọng hoặc nằm trong khoảng từ 2mg/kg thể trọng đến 50mg/kg thể trọng hoặc nằm trong khoảng từ 3mg/kg thể trọng đến 30mg/kg thể trọng. Liều hàng ngày có thể được sử dụng một hoặc nhiều lần trong ngày. Ví dụ, theo một vài phương án, liều hàng ngày có thể được dùng hai lần một ngày, ba lần một ngày hoặc bốn lần một ngày. Theo các phương án nhất định, liều dùng một lần một ngày có thể nằm trong khoảng từ 1mg/kg thể trọng đến 10mg/kg thể trọng có thể được sử dụng hai lần một ngày hoặc ba lần một ngày cho người thu được tổng liều hàng ngày có thể nằm trong khoảng từ 2mg/kg thể trọng đến 20mg/kg thể trọng hoặc nằm trong khoảng từ 3mg/kg thể trọng đến 30mg/kg thể trọng. Dĩ nhiên, lượng dẫn xuất DNJ nên được sử dụng cho

tế bào hoặc động vật có thể tùy thuộc vào nhiều yếu tố đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, như khối lượng phân tử của dẫn xuất DNJ và đường dùng.

Các dược phẩm mà hữu dụng trong các phương pháp theo sáng chế có thể được sử dụng toàn thân trong các chế phẩm rắn sử dụng qua đường miệng, thuốc tra mắt, thuốc đạn, thuốc xịt, chế phẩm dùng khu trú hoặc chế phẩm tương tự khác. Ví dụ, dược phẩm này có thể ở dạng bột, viên nén, viên nang, viên ngậm, gel, dung dịch, hỗn dịch, siro, hoặc dạng tương tự. Ngoài dẫn xuất DNJ, các dược phẩm này có thể chứa chất mang dược dụng và các thành phần khác được biến đến là tăng cường và tạo điều kiện thuận lợi cho việc dùng thuốc. Các dược phẩm khả thi khác, như hạt nano, liposom, hồng cầu được giải phóng và hệ trên cơ sở miễn dịch cũng có thể được dùng để sử dụng dẫn xuất DNJ. Các dược phẩm này có thể được sử dụng qua một số đường. Thuật ngữ "ngoài đường tiêu hóa" được sử dụng ở đây bao gồm dưới da, trong tĩnh mạch, trong động mạch, nội tủy mạc, và các kỹ thuật tiêm và truyền, nhưng không chỉ giới hạn ở các đường dùng này. Bằng cách lấy ví dụ, dược phẩm có thể được dùng qua đường miệng, khu trú, ngoài đường tiêu hóa, toàn thân hoặc dùng qua phổi.

Các dược phẩm này có thể được dùng ở dạng liều đơn hoặc liều đa mà được sử dụng ở các thời điểm khác nhau. Do tác dụng ức chế của dược phẩm lên virus có thể vẫn còn, nên phác đồ dùng liều có thể được điều chỉnh sao cho sự nhân lên của virus được ức chế đồng thời tế bào chủ ít bị ảnh hưởng nhất. Bằng cách ví dụ, động vật có thể được sử dụng một liều dược phẩm theo sáng chế mỗi lần một tuần, nhờ đó sự nhân lên của virus được ức chế trong cả tuần, đồng thời các chức năng của tế bào chủ chỉ bị ức chế trong một khoảng thời gian ngắn một lần một tuần.

Các phương án được mô tả ở đây còn được minh họa bằng các ví dụ thực hiện sáng chế dưới đây, nhưng không chỉ giới hạn ở các ví dụ này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Hiệu quả của UV-12 và UV-28 chống lại chủng thử nghiệm INFLA

A/Texas/36/91 (H1N1) ở chuột

Tóm tắt nghiên cứu: Nghiên cứu này thử nghiệm khả năng của các đường imino UV-12 và UV-28 trong việc bảo vệ chuột khỏi sự lây nhiễm chủng cúm gây chết (~ 1 LD₅₀ chủng cúm A/Texas/36/91 (H1N1) được dùng qua đường trong mũi).

Các hợp chất được phân phối 30-60 phút trước khi thử virus qua đường miệng (IG) ở liều 100 hoặc 40mg/kg và tiếp tục ba lần mỗi ngày trong 10 ngày. Chuột được sử dụng là chuột cái BALB/c ~20 gam, 6-8 tuần tuổi trong nhóm gồm 10 con để thử hiệu quả của dược chất (tóm tắt các nhóm nghiên cứu được thể hiện trong bảng 1). Thân nhiệt và khối lượng được đo hằng ngày. Thời điểm kết thúc nghiên cứu là 14 ngày sau khi bị nhiễm, chết hoặc gây chết nhẹ nhàng. Chuột có biểu hiện ốm nặng được xác định là giảm >30% khối lượng, hôn mê sâu, hoặc bị liệt được gây chết nhẹ nhàng.

I. Giới thiệu

Mục đích: Nghiên cứu này nhằm xác định hiệu quả của các phân tử nhỏ UV-12 và UV-28 *in vivo* trong việc chống lại sự nhiễm chủng cúm A/Texas/36/91 (H1N1) gây chết.

II. Nguyên liệu và phương pháp

Nguyên liệu

Bảng 1: Chất thử

Tên	Lượng (mg)	Dung môi
UV-12	20 hoặc 8mg/ml	nước
UV-28	20 hoặc 8mg/ml	nước

Bảng 2: Các virus thử

Tên	Chủng	Hiệu giá gốc	Thông tin bổ sung
Virus cúm	A/Texas/36/91 (H1N1)	$2,6 \times 10^5$ PFU/ml	100ul dung dịch pha loãng virus theo tỷ lệ 1:500 được dùng cho chuột với lượng ~52 PFU/chuột

Bảng 3. Động vật được sử dụng

Loài	Giống	Tuổi	Giới tính	Nhà cung cấp	Thông tin bổ sung
Chuột	BALB/c	6-8 tuần	Cái	Charles River	n=10 mỗi nhóm

Bảng 4: Thiết bị

Mục thiết bị	Nhà cung cấp
Bơm tiêm	BD
Chuồng nhốt động vật	InnoVive
Chip dữ liệu sinh học và máy quét	Bio Medic Data Systems
Cân Ohaus	Ohaus

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu này thử nghiệm khả năng bảo vệ chuột khỏi nhiễm cúm gây chết của UV-12 và UV-28. Chuột được sử dụng là chuột cái BALB/c 6-8 tuần tuổi trong nhóm gồm 10 con (xem bảng 5 dưới đây). Chuột được điều trị với liều 100 hoặc 40mg/kg ba lần một ngày (TID) qua đường IG bắt đầu ở thời điểm gần 30-60 phút trước khi thử. Chuột được thử với liều ~1 LD₉₀ chủng cúm A/Texas/36/91 (H1N1) được dùng qua đường trong mũi (IN). Thời điểm kết thúc nghiên cứu là 14 ngày sau khi lây nhiễm, chết, hoặc chết nhẹ nhàng. Chuột có biểu hiện ốm nặng được xác định là giảm >30% khối lượng, hôn mê sâu hoặc bị liệt được gây chết nhẹ nhàng. Thân nhiệt và khối lượng của chuột được đo hằng ngày.

Bảng 5: Các nhóm chuột dùng trong nghiên cứu.

Thời điểm dùng liều ban đầu (thời điểm bắt đầu điều trị tương ứng với thời điểm bị nhiễm), phác đồ dùng liều và mức liều/đường dùng được thể hiện.

Nhóm (n=10)	Chất thử	Liều dùng, TID	Các kết quả thu được (sau khi dùng ~ 1 LD ₉₀ chủng cúm A/Texas/36/91 (H1N1) qua đường trong mũi)
1	Nước	Chỉ chất dẫn	Thời điểm kết thúc nghiên cứu là 14 ngày sau khi lây nhiễm, tình trạng bệnh nặng, chết, hoặc giảm >30% khối lượng.
2	UV-12	100mg/kg	
3		40mg/kg	Chuột có biểu hiện ốm nặng (như được xác định bởi giảm >30% khối lượng, hôn mê sâu, hoặc bị liệt) sẽ được gây chết nhẹ nhàng. Đánh giá tình trạng sức khỏe, cân nặng và thân nhiệt được tiến hành hằng ngày trong tổng cộng 15 ngày (các ngày 0-14 sau khi lây
4	UV-28	100mg/kg	
5		40mg/kg	

			nhiễm)
--	--	--	--------

Các quy trình chuẩn

Quy trình chuẩn để lây nhiễm chuột qua đường trong mũi

1. Chuột cái BALB/c 6-8 tuần tuổi được nhốt thành các nhóm gồm 5 con. Chuột được cách ly ở địa điểm nghiên cứu (Noble Life Sciences, Gaithersburg, MD) trong ít nhất 3 ngày trước khi bắt đầu nghiên cứu.
2. Thức ăn và nước được cung cấp tùy ý.
3. Các nhóm chuột được thử INFV được lây nhiễm bằng cách tiêm trong mũi (IN) $\sim 1 \times LD_{90}$ trong 100 μ L dung dịch pha loãng theo tỷ lệ 1:500 của INFV trong PBS trong điều kiện gây mê nhẹ (Isofluran).
4. Sau khi lây nhiễm, chuột được đưa trở lại chuồng để quan sát và cho dùng liều sau đó.

Quy trình phân phối chất thử nghiệm qua đường miệng dạ dày ở chuột

1. Chuột được điều trị bằng 100 hoặc 40mg/kg chất thử dùng qua đường IG trong 100 μ L nước (xem bảng 5 về phác đồ liều dùng) ba lần mỗi ngày trong 10 ngày.
2. Sau khi dùng liều, đưa chuột trở lại chuồng và theo dõi tình trạng kiệt sức bất kỳ có liên quan đến việc dùng liều.

Theo dõi chuột

1. Chuột được theo dõi trong 13 ngày sau khi lây nhiễm (tổng cộng 14 ngày, 0-13 ngày sau khi lây nhiễm).
2. Chuột được cân hằng ngày trên cân Ohaus và cân nặng của chuột được ghi lại.
3. Tất cả các con chuột được cấy chip ít nhất 3 ngày trước khi thử virus để theo dõi thân nhiệt. Thân nhiệt được ghi lại hằng ngày.
4. Khả năng sống sót và tình trạng sức khỏe của mỗi con chuột được đánh giá một lần một ngày bằng cách sử dụng thang điểm 1-7.

Bảng 6. Thang điểm

Điểm	Chữ viết tắt	Mô tả	Bề ngoài	Khả năng di chuyển	Mức độ
1	H	Khỏe mạnh	Bộ lông mượt, mắt sáng	nhẹ nhàng, phản kích, đào	Cảnh báo

				hang	
2	SR	Lông xù nhẹ	Bộ lông xù nhẹ (thường chỉ quanh đầu và cổ)	Nhanh nhẹn, phấn khích, đào hang	Cảnh báo
3	R	Lông xù	Bộ lông xù toàn thân. Bề ngoài “ấm”.	Nhanh nhẹn, phấn khích, đào hang	Cảnh báo
4	S	Ốm	Bộ lông rất xù. Mắt khép nhẹ, không di chuyển.	Đi lại, nhưng không phấn khích.	Hôn mê nhẹ
5	VS	Rất ốm	Bộ lông rất xù. Mắt nhắm, không di chuyển.	Di chuyển chậm đến không di chuyển. Sẽ trở lại vị trí thẳng đứng nếu đặt nằm nghiêng.	Hôn mê sâu
6	E	Gây chết nhẹ nhàng	--	--	--
7	FD	Được phát hiện thấy là đã chết	--	--	--

III. Kết quả

Khả năng sống sót

Chuột được lây nhiễm với ~1 LD₉₀ chủng cúm A/Texas/36/91 (H1N1) và được điều trị bằng 100 hoặc 40mg/kg UV-12 hoặc UV-28 ba lần mỗi ngày trong 10 ngày. Mức sống sót ở mỗi nhóm điều trị được lây nhiễm, được tính toán dưới dạng phần trăm mức sống sót so với ngày sau lây nhiễm, được thể hiện trong Fig.1 và bảng 7. Các nhóm được lây nhiễm mà được điều trị bằng 100mg/kg cả UV-12 và -28 đều có mức sống sót bằng 100%. Các nhóm được lây nhiễm mà được điều trị bằng 40mg/kg UV-12 và -28 có mức sống sót bằng 20 và 60%, tương ứng. Nhóm đối chứng không

được điều trị có mức sống sót bằng 0% và tất cả đều được nhận thấy là đã chết hoặc chết nhẹ nhàng sau 7 ngày lây nhiễm.

Fig.1 là biểu đồ thể hiện số liệu về mức sống sót của chuột được lây nhiễm trong nhóm được điều trị. Bảng 7 thể hiện các kết quả phân tích mức sống sót của chuột được lây nhiễm. Số liệu về mức sống sót được lập đồ thị trong Fig.1 được phân tích bằng cách sử dụng kiểm định Mantel-Cox (số hạng Logarit) trong GraphPad Prism.

Bảng 7

Nhóm	Mức sống sót trung bình (ngày)	% mức sống sót	Giá trị <i>P</i> so với đối chứng dùng nước
Nước	7	0	N/A
UV-12 100mg/kg	>13	100	<0,0001
UV-12 40mg/kg	9	20	<0,0001
UV-28 100mg/kg	>13	100	<0,0001
UV-28 40mg/kg	>13	60	<0,0001

Phân tích sinh trắc học

Trong suốt nghiên cứu này, khối lượng của từng cá thể, điểm số về sức khỏe, và thân nhiệt được kiểm tra hằng ngày đối với mỗi nhóm. Khối lượng trung bình của mỗi nhóm chuột được thể hiện trong Fig.2. Tất cả các con chuột được gắn chip để đo thân nhiệt hằng ngày bằng cách sử dụng máy quét BMDS; thân nhiệt trung bình được thể hiện trong Fig.3. Các điểm số về sức khỏe được thể hiện trong Fig.4.

Kết luận

Chuột bị nhiễm cúm được điều trị bằng 100 hoặc 40mg/kg UV-12 hoặc UV-28 qua đường miệng dạ dày ba lần một ngày trong 10 ngày. Cả hai nhóm mà được điều trị bằng 100mg/kg đều có mức sống sót bằng 100%, và các nhóm mà được điều trị bằng 40mg/kg có mức sống sót bằng 60 và 20% đối với UV-28 và UV-12, tương ứng. Trong khi đó UV-28 dường như có hiệu quả tốt hơn ở liều 40mg/kg, nhưng dường như lại độc hơn so với UV-12 (Fig.4). Trong khi chuột được điều trị bằng 100mg/kg

UV-12 phục hồi hoàn toàn sau khi bị nhiễm và trở lại bình thường, thì chuột được điều trị bằng 100mg/kg UV-28 chưa bao giờ phục hồi điểm số sức khỏe và vẫn 'bị xù lông' trong toàn bộ nghiên cứu. Kết hợp với điểm số sức khỏe cao hơn, cho biết bệnh suất, chuột được điều trị bằng UV-28 cũng không phục hồi được khối lượng, trong khi đó chuột được điều trị bằng UV-12 hầu như được phục hồi hoàn toàn. Chuột mà chỉ được điều trị bằng chất dẫn đầu bị chết do lây nhiễm sau 7 ngày lây nhiễm, có mức sống sót bằng 0%.

Ví dụ 2

Phân tích hiệu quả của UV-12 đến sự sống sót ở mẫu A129 ADE

Mục đích: Nghiên cứu này xác định hiệu quả của UV-12 trong việc thúc đẩy sự sống sót của chuột được thử virus dengue. Hợp chất được sử dụng bằng đường miệng (3 lần một ngày trong dạ dày qua miệng dạ dày - IG) trong tổng cộng 7 ngày sau khi bắt đầu dùng liều. Thử nghiệm này sử dụng mẫu lây nhiễm A129 ADE. (Prestwood TR, Morar MM, Zellweger RM, Miller R, May MM, Yauch LE, Lada SM, Shresta S. Gamma interferon (IFN- γ) receptor restricts systemic dengue virus replication and prevents paralysis in IFN- α/β receptor-deficient mice. J Virol. 2012 Dec;86(23): 12561-70.) Chuột nhận liều thử virus ~ 1 LD₅₀ vào ngày 0. Liều đầu tiên được sử dụng ở thời điểm từ 0,5 đến 1 giờ trước khi thử virus. Mức sống sót được đánh giá sau khi lây nhiễm 30 ngày.

Chất dự tuyển đường imino: UV-12.

Thiết kế thử nghiệm cho nghiên cứu:

Đối chứng, H₂O DENV (S221) [10 con chuột]

UV-12, (100mg/kg/liều) + DENV (S221) [10 con chuột]

Chuột: A129 5-6 tuần tuổi phù hợp giới tính (thụ thể 129/SV IFN- α , - β ^{-/-})

Đường dùng:

Đường imino: 3 lần một ngày qua đường miệng, (dạ dày (IG)) mỗi 8 giờ

Kháng thể: IP

Virus: IV

Kháng thể và hợp chất đường imino được dùng đồng thời, sau đó thử virus trong vòng 30 phút.

Kháng thể: 100 μ g 2H2 (IgG2a kháng-DENV1-4 prM) do ATCC cung cấp, ngày 0 và ngày 1 trong 40ul

Virut: DENV2 chủng S221 (v512) (Zellweger RM, Prestwood TR, Shrestha S. Enhanced infection of liver sinusoidal endothelial cells in a mouse model of antibody-induced severe dengue disease. Cell Host Microbe, 2010 Feb 18;7(2): 128-39)

Liều: 1E11 GE (đương lượng gen) mỗi con

Số liệu thu được:

Mức sống sót của chuột. Chuột có biểu hiện bệnh nặng (như được xác định bởi giảm 20% khối lượng, hôn mê sâu, bộ lông xù, hoặc bị liệt) được gây chết nhẹ nhàng.

Nguồn:

Chuột A129, kháng thể 2H2, và virut S221 được cung cấp bởi Sujana Shrestha, viện dị ứng và miễn dịch La Jolla

Được cung cấp bởi Unither Virology: UV-12

Fig.5 thể hiện các kết quả của nghiên cứu này. Chuột được điều trị bằng UV-12 được pha loãng trong 50uL nước dùng qua đường miệng, ba lần mỗi ngày trong tổng cộng 7 ngày. Thời điểm bắt đầu điều trị là 1 giờ trước khi thử virut trong tĩnh mạch. Chuột A129 được điều trị bằng UV-12 biểu hiện mức sống sót cao hơn so với chuột đối chứng chỉ sử dụng 50uL nước ba lần một ngày qua đường miệng.

Ví dụ 3

Hiệu quả của các hợp chất đường imino đã chọn ở chuột: thử chủng cúm

A/Texas/36/91 (H1N1)

Tóm tắt nghiên cứu: Nghiên cứu này phân tích tính độc và hiệu quả của UV-8, UV-9, UV-10, UV-11, và UV-12 ở chuột trong suốt thời gian nhiễm cúm H1N1. Trước đây, các nghiên cứu mà được tiến hành với việc phân phối UV-4B qua đường miệng ba lần một ngày (*ter in die*-TID) ở liều 100mg/kg đã thu được hiệu quả chống lại H1N1 và không thể hiện dấu hiệu rõ ràng về tính độc. Trong nghiên cứu này, các tác giả sáng chế đã kiểm tra các liều phân phối của UV-4B, UV-8, UV-9, UV-10, UV-11, và UV-12 ở liều 100mg/kg, được phân phối ba lần một ngày bằng đường miệng (trong dạ dày qua miệng dạ dày hoặc IG). Các nhóm nhỏ (n=3) mà được bao gồm để kiểm tra toàn bộ tính độc được dùng 100mg/kg đường imino nhưng không được thử virut. UV-4B, UV-8, UV-9, UV-10, UV-11, hoặc UV-12 được phân phối cho các con chuột bắt đầu ở thời điểm 1 giờ trước khi lây nhiễm trong mũi (IN) với liều ~1 LD₉₀ chủng cúm A/Texas/36/91 (H1N1). Sau đó, các con chuột được điều trị TID trong tổng cộng 10 ngày (các ngày 0-9 sau khi lây nhiễm). Hiệu quả được đánh giá bằng

cách so sánh mức sống sót, sự thay đổi thân nhiệt, và tăng/giảm khối lượng so với nhóm đối chứng không được điều trị bị nhiễm. Chuột được dùng UV-8, -9, -10, hoặc -11 không thấy có sự cải thiện mức sống sót so với nhóm đối chứng không được điều trị, trong khi đó nhóm được dùng UV-12 và nhóm đối chứng dương được dùng UV-4B đều thấy mức sống sót tăng đáng kể.

I. Giới thiệu

Nghiên cứu này nhằm xác định hiệu quả của UV-8, UV-9, UV-10, UV-11, và UV-12 khi sử dụng qua đường miệng ở liều 100mg/kg TID chống lại sự nhiễm chủng cúm A/Texas/36/91 (H1N1) qua đường trong mũi gây chết ở mẫu chuột BALB/c. Ngoài nhóm nghiên cứu hiệu quả, mỗi đường imino được thử nghiệm ở một nhóm chuột nhỏ với cùng một phác đồ điều trị (100mg/kg, miệng dạ dày, TID) khi không nhiễm virus để kiểm tra toàn bộ tính độc của mỗi chất tương tự (đánh giá tình trạng sức khỏe chung, khối lượng, thân nhiệt, và tỷ lệ tử vong).

II. Nguyên liệu và phương pháp

Nguyên liệu

Bảng 8. Các chất thử nghiệm

Tên	Nồng độ	Dung môi	Thông tin bổ sung
UV-4B	100mg/kg (2mg/liều)	H ₂ O	Muối HCl
UV-8	100mg/kg (2mg/liều)		
UV-9	100mg/kg (2mg/liều)		
UV-10	100mg/kg (2mg/liều)		
UV-11	100mg/kg (2mg/liều)		
UV-12	100mg/kg (2mg/liều)		

Bảng 9. Các chủng virus để thử

Tên	Chủng	Hiệu giá gốc
Virus cúm A	A/Texas/36/91 (H1N1)	$2,8 \times 10^5$ PFU/mL

Bảng 10. Động vật được sử dụng

Loài	Giống	Tuổi	Giới	Nhà cung cấp	Thông tin bổ sung
------	-------	------	------	--------------	-------------------

Chuột	BALB/c	4-6 tuần	F	Charles River	7 nhóm n=10 5 nhóm n=3
-------	--------	----------	---	---------------	---------------------------

Bảng 11: Thiết bị

Danh mục	Nhà cung cấp
Bơm tiêm	BD
Chuồng nhốt	Inno Vive
Ổng cho ăn bằng nhựa	Instech Solomon
Chip dữ liệu sinh học và máy quét	Bio Medic Data Systems
Cân Ohaus	Ohaus

Thiết kế nghiên cứu

UV-8, -9, -10, -11, -12, và UV-4B được bảo chế trong nước H₂O ở nồng độ 20mg/ml đối với liều phân phối bằng 100mg/kg, giả sử chuột ~20g sử dụng 0,1mL hợp chất. Các nhóm chuột BALB/c được điều trị ở thời điểm 1 giờ trước khi (-1 giờ) gây nhiễm INFV A/Texas/36/91 (H1N1) với liều ~1 LD₉₀ qua đường trong mũi và sau đó các hợp chất được sử dụng ba lần mỗi ngày trong tổng cộng 10 ngày (xem bảng 12 thể hiện tóm tắt thiết kế nghiên cứu). Khối lượng, thân nhiệt, và mức sống sót được kiểm tra và được dùng để đánh giá hiệu quả bảo vệ và tính độc của mỗi chất tương tự.

Bảng 12: Các nhóm chuột dùng trong nghiên cứu. Thời điểm bắt đầu dùng liều (bắt đầu điều trị so với thời điểm lây nhiễm), phác đồ dùng liều và mức liều/đường dùng được thể hiện. Chuột được dùng liều một lần một ngày hoặc hai lần một ngày trong tổng cộng 10 ngày.

Nhóm	Giống chuột	N	Chất điều trị	Đường phân phối/tần suất vào các ngày 0-9 (tổng cộng 10 ngày bắt đầu ở thời điểm 1 giờ trước khi lây nhiễm)	Thử	Số liệu thu được
1	BALB/C cái 4-6 tuần tuổi	10	Chất dẫn	IG 100ul,	1 LD ₉₀ chủng cúm A/Texas/36/91 (H1N1)	Thời điểm kết thúc nghiên cứu là ngày 14, chết, hoặc giảm >30% khối lượng. Chuột có biểu hiện ốm nặng (như được xác định bởi giảm >30% khối lượng, hôn mê sâu, hoặc bị liệt) sẽ được gây chết nhẹ nhàng. Thân nhiệt và cân nặng được đo hằng ngày trong 14 ngày.
2		10	100mg/kg UV-4B	TID		
3		10	100mg/kg UV-8			
4		10	100mg/kg UV-9			
5		10	100mg/kg UV-10			
6		10	100mg/kg UV-11			
7		10	100mg/kg UV-12			
8		3	100mg/kg UV-8	Không thử (Đánh giá tính độc)		
9		3	100mg/kg UV-9			
10		3	100mg/kg UV-10			
11		3	100mg/kg UV-11			

Nhóm	Giống chuột	N	Chất điều trị	Đường phân phối/tần suất vào các ngày 0-9 (tổng cộng 10 ngày bắt đầu ở thời điểm 1 giờ trước khi lây nhiễm)	Thử	Số liệu thu được
12		3	100mg/kg UV-12			

Các quy trình chuẩn

Quy trình chuẩn lây nhiễm chuột qua đường trong mũi

- Chuột cái BALB/c 4-6 tuần tuổi được nhốt thành nhóm gồm 3-5 con chuột. Chuột được cách ly ở vị trí nghiên cứu (Noble Life Sciences, Gaithersburg, MD) trong ít nhất 3 ngày trước khi bắt đầu nghiên cứu.
- Thức ăn và nước được cung cấp tùy ý.
- Các nhóm chuột đã thử cúm được gây mê bằng 5% Isofluren và được duy trì ở 2,5% trước khi tiêm trong mũi INFV với liều 1 LD₉₀ trong 100µl PBS.
- Sau khi lây nhiễm chuột được đưa trở lại chuồng để quan sát và dùng liều.

Quy trình phân phối hợp chất ở chuột qua miệng dạ dày hoặc tiêm

- Chuột được điều trị bắt đầu ở thời điểm 1 giờ trước khi lây nhiễm bằng 100µL hợp chất trong H₂O (xem bảng 12 thể hiện các phác đồ liều dùng) ba lần một ngày trong tổng cộng 10 ngày bằng 100mg/kg hợp chất UV-4B, UV-8, UV-9, UV-10, UV-11, hoặc UV-12 được dùng bằng đường miệng (trong dạ dày qua miệng dạ dày).
- Sau khi dùng liều, chuột được đưa trở lại chuồng và kiểm tra tình trạng kiệt sức có liên quan đến liều dùng.

Quan sát chuột

1. Chuột được quan sát suốt 13 ngày sau khi lây nhiễm (tổng cộng 14 ngày, 0-13 ngày sau khi lây nhiễm).
2. Chuột được cân hằng ngày trên cân Ohaus và khối lượng được ghi lại.
3. Tất cả các con chuột được cấy chip để kiểm tra thân nhiệt. Thân nhiệt được ghi lại hằng ngày.
4. Mức sống sót và tình trạng sức khỏe của mỗi con chuột được đánh giá ba lần một ngày bằng cách sử dụng thang điểm 1-7.
5. Chuột được gây chết nhẹ nhàng nếu có điểm số bằng 5 hoặc cao hơn (rất ốm; bộ lông rất xù; mắt không di chuyển, nhắm; di chuyển chậm đến không di chuyển; sẽ trở lại vị trí thẳng đứng nếu đặt nằm nghiêng, hôn mê sâu).

III. Kết quả

Khả năng sống sót

Chuột được lây nhiễm chủng virus cúm A/Texas/36/91 (H1N1) với liều ~1 LD₅₀ ở thời điểm 1 giờ sau khi dùng liều thứ nhất của các chất tương tự UV-4B hoặc UV-4, như nêu trên đây. Các bảng thể hiện mức sống sót, được tính toán dưới dạng phần trăm mức sống sót so với ngày sau lây nhiễm, được thể hiện trong Fig.6. Nếu muốn dựa trên các nghiên cứu trước, các nhóm mà được dùng liều qua đường miệng TID với UV-4B ở liều 100mg/kg có tỷ lệ sống sót bằng 100% và MTD >13 ngày (Fig.7). Chuột được dùng liều qua đường miệng với UV-12 ở liều 100mg/kg có tỷ lệ sống sót bằng 90%, và MTD > 13 ngày (Fig.6, 7). Chuột được điều trị bằng UV-8, UV-9, UV-10, hoặc UV-11 có MTD bằng 10, 5, 7, 7,5, và 8 ngày, tương ứng, và tỷ lệ sống sót bằng 0% ngoại trừ UV-8 (30%) (Fig.6, 7). Chuột đối chứng âm tính được dùng chất dẫn (H₂O) có mức sống sót bằng 30% và MTD bằng 9 ngày (Fig.6, 7).

Chuột dùng UV-8, -9, -10, -11, hoặc -12 ở liều 100mg/kg mà không được thử virus để kiểm tra toàn bộ tính độc có tỷ lệ sống sót bằng 100% (số liệu không được thể hiện).

Phân tích sinh trắc học

Trong suốt nghiên cứu này, khối lượng và thân nhiệt của từng con được kiểm tra hằng ngày đối với mỗi nhóm. Khối lượng trung bình của mỗi nhóm chuột được thể hiện trong Fig.8 bằng phân tích thống kê được thể hiện trong Fig.9. Thân nhiệt trung bình được thể hiện trong Fig.10 bằng phân tích thống kê được thể hiện trong Fig.11.

Thân nhiệt của chuột được đánh giá làm các thông số sinh trắc học thứ hai. Mỗi con được gắn chip để tiến hành đo thân nhiệt hằng ngày sử dụng máy quét. Đồ thị nêu trong Fig.10 thể hiện thân nhiệt của mỗi nhóm thử nghiệm. Mức ý nghĩa được thể hiện so với đối chứng dùng chất dẫn được chỉ ra ở Fig.11.

Kết luận

Nhóm chuột bị nhiễm dùng 100mg/kg UV-4B qua đường miệng TID có mức sống sót bằng 100%, trong đó các nhóm mà được dùng 100mg/kg UV-9, UV-10, và UV-11 qua đường miệng có mức sống sót bằng 0%. Phân tích thống kê khối lượng và thân nhiệt của các nhóm này không được tiến hành do tỷ lệ sống sót và MTD thấp hơn so với nhóm đối chứng sử dụng chất dẫn. Chuột dùng UV-8 qua đường miệng có mức sống sót bằng 30%, và do đó không có sự chênh lệch đáng kể so với nhóm đối chứng dùng chất dẫn. Chuột dùng 100mg/kg UV-12 qua đường miệng có mức sống sót bằng 90%, cũng như là có thân nhiệt và cân nặng tăng đáng kể. UV-12 cũng có tính độc nhẹ với mức giảm cân đều ở nhóm không bị nhiễm, nhưng chuột không bị nhiễm dùng UV-12 không giảm quá 10% tổng cân nặng và có thể phục hồi hoàn toàn sau khi phác đồ dùng liều kết thúc. Phân tích thống kê không được tiến hành trên thông số bất kỳ trong số các thông số được kiểm tra ở nhóm chuột không bị nhiễm (toàn bộ tính độc) vì số chuột mỗi nhóm bị giới hạn (n=3) nên không có nhóm chuột đối chứng không được dùng liều, không bị nhiễm để so sánh.

Ví dụ 4

Phân tích hiệu quả của UV-4 và UV-12 đến mức sống sót ở mẫu ADE

Mục đích: Nghiên cứu này xác định hiệu quả của UV-4 và UV-12 trong việc thúc đẩy sự sống sót ở chuột được thử virus dengue. Tất cả các hợp chất được dùng qua đường miệng (3 lần mỗi ngày trong dạ dày qua miệng dạ dày - IG) trong tổng cộng 7 ngày sau khi bắt đầu dùng liều. Thử nghiệm này sử dụng mẫu lây nhiễm ADE được thực hiện trong phòng thí nghiệm (Zellweger *et al.* CellHostMicrob 7; pp1-12 (2010)). Các con chuột được thử virus với liều ~1 LD₉₀ vào ngày 0. Liều thứ nhất được dùng trước khi thử virus ở thời điểm từ 0,5 đến 1 giờ. Đánh giá mức sống sót 3 ngày sau khi kết thúc dùng liều. Muối UV-4 HCl được sử dụng trong nghiên cứu này, mà tương đương với "UV-4B".

Các đường imino dự tuyển:

1. N-9-metoxynonyl-deoxynojirimyxin (UV-4) (muối HCl), UV-4B

2. UV-12

3. Đối chứng, H₂O

Thiết kế thử nghiệm cho nghiên cứu

1. Đối chứng, H₂O + DENV (S221) [7 con chuột]

2. UV-4, 1mg (50mg/kg/liều) + DENV (S221) [5 con chuột]

3. UV-12, 1mg (50mg/kg/liều) + DENV (S221) [5 con chuột]

Chuột: 5-6 tuần tuổi phù hợp giới tính

AG129 (thụ thể 129/SV IFN- α , β , và γ -/-) được cấy ở LIAI bởi Sujana Shrestha (cũng sản có bởi The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine)

Đường dùng:

Đường imino: dùng qua đường miệng 3 lần một ngày, (dạ dày (IG)) mỗi 8 giờ

Kháng thể: IP (trong màng bụng)

Virut: IV

Kháng thể và hợp chất được dùng đồng thời, sau đó là virut trong vòng 30 phút

Thử virut:

Kháng thể: 5 μ g 2112 (kháng prM) sản có từ ATCC

Virut: DENV2 chủng S221 (v476) (Zellweger R M, Prestwood TR, Shrestha S.

Enhanced infection of liver sinusoidal endothelial cells in a mouse model of antibody-induced severe dengue disease. Cell Host Microbe, 2010 Feb 18;7(2): 128-39)

Liều: 1E9 GE (đương lượng gen) mỗi con

Kết quả thu được:

Mức sống sót của chuột. Chuột có biểu hiện ốm nặng (như được xác định bởi giảm 20% khối lượng, hôn mê sâu, bộ lông xù, hoặc bị liệt) được gây chết nhẹ nhàng.

Fig.12 thể hiện các kết quả của nghiên cứu này. Tất cả các nhóm được điều trị bằng cùng một liều hợp chất:

Thiết kế thử nghiệm cho nghiên cứu

1. Đối chứng, H₂O + DENV (S221) [7 con]

2. UV-4, 1mg (50mg/kg/liều) + DENV (S221) [5 con]

3. UV-8, 1mg (50mg/kg/liều) + DENV (S221) [5 con]

4. UV-9, 1mg (50mg/kg/liều) + DENV (S221) [5 con]

5. UV-10, 1mg (50mg/kg/liều) + DENV (S221) [5 con]

6. UV-11, 1mg (50mg/kg/liều) + DENV (S221) [5 con]

7. UV-12, 1mg (50mg/kg/liều) + DENV (S221) [5 con]

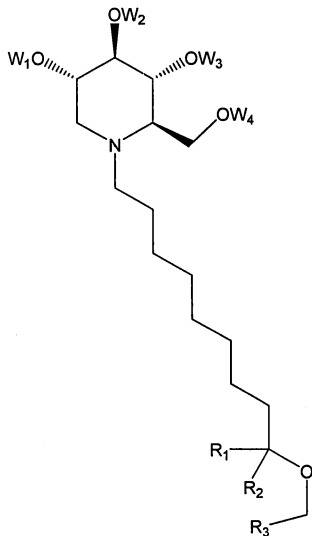
Nghiên cứu này nhằm xác định hiệu quả của UV-4 và các chất tương tự của nó trong việc thúc đẩy sự sống sót của chuột được thử virus dengue. Tất cả các hợp chất được dùng bằng đường miệng (3 lần mỗi ngày trong dạ dày qua miệng dạ dày - IG) trong tổng cộng 7 ngày sau khi bắt đầu dùng liều. Thử nghiệm sử dụng mẫu lây nhiễm ADE (Zellweger *et al.* CellHostMicrob 7; pp1-12 (2010)). Các con chuột được thử virus với liều ~ 1 LD₉₀ vào ngày 0. Liều hợp chất thứ nhất bắt đầu ở thời điểm 0,5 đến 1 giờ trước khi thử virus. Mức sống sót được đánh giá sau khi dùng liều 3 ngày.

Mặc dù phần mô tả trên đây đề cập đến có liên quan đến các phương án được ưu tiên cụ thể, nhưng cần hiểu rằng sáng chế không vì thế mà bị giới hạn. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể tiến hành nhiều thay đổi khác nhau cho các phương án được mô tả và các thay đổi này được dự định là thuộc phạm vi của sáng chế.

Tất cả các công bố, đơn yêu cầu cấp patent và patent được viện dẫn trong bản mô tả này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Yêu cầu bảo hộ

1. Hợp chất có công thức (I):



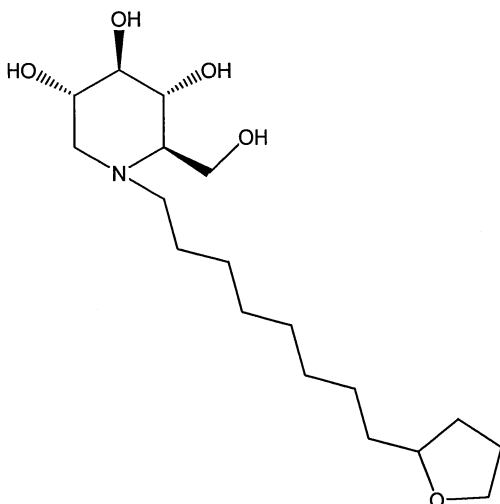
hoặc muối được dụng của nó,

trong đó mỗi W_{1-4} và R_{1-3} độc lập được chọn từ các nhóm hydro và C_{1-3} alkyl và trong đó ít nhất một trong số các nhóm R_1 hoặc R_2 không phải là hydro

hoặc trong đó mỗi W_{1-4} và R_1 độc lập được chọn từ các nhóm hydro và C_{1-3} alkyl và trong đó R_2 và R_3 , nếu cùng nhau kết hợp là $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, hoặc $-CH_2-CH_2-CH_2-$.

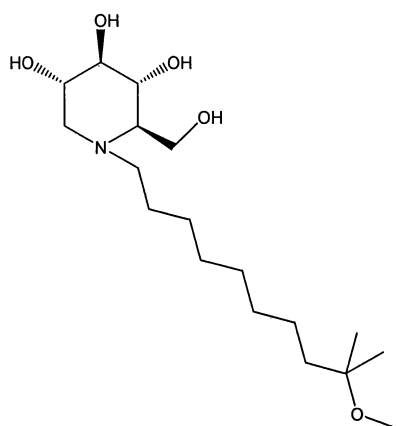
2. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó mỗi W_{1-4} là hydro.

3. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:



hoặc muối được dụng của nó.

4. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1 trong đó hợp chất này là:



hoặc muối dược dụng của nó.

5. Dược phẩm chứa a) lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có công thức (I) theo điểm 1 và b) chất mang dược dụng.

1/19

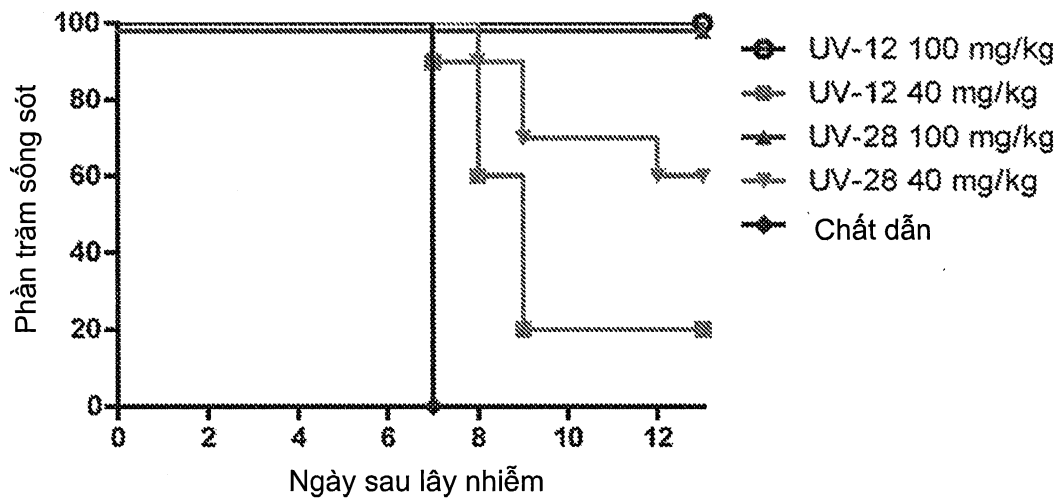


Fig.1

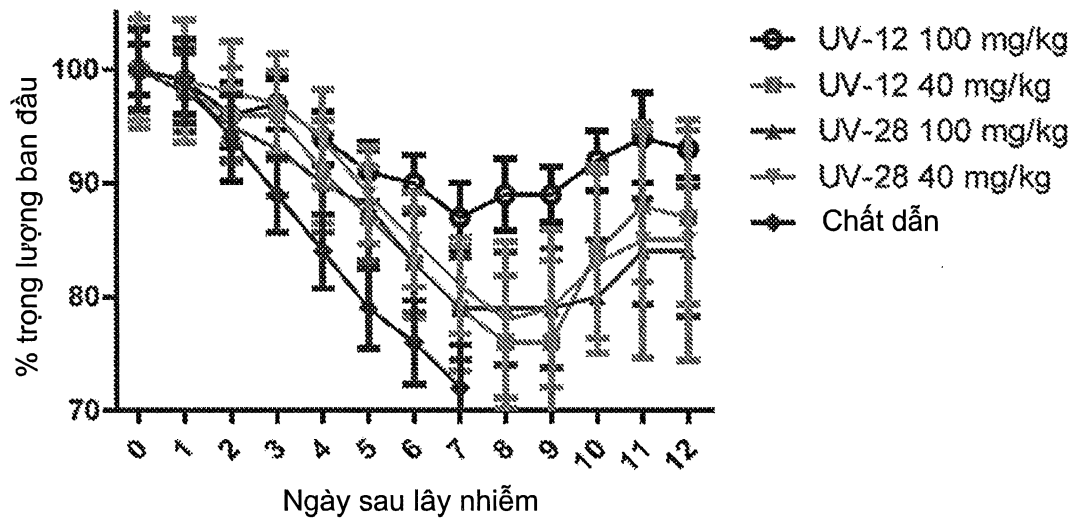


Fig.2

2/19

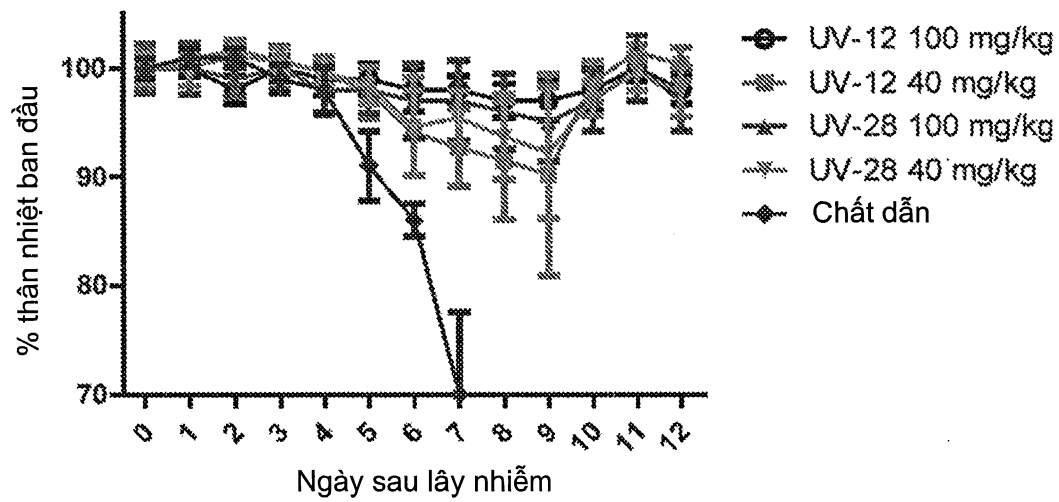


Fig.3

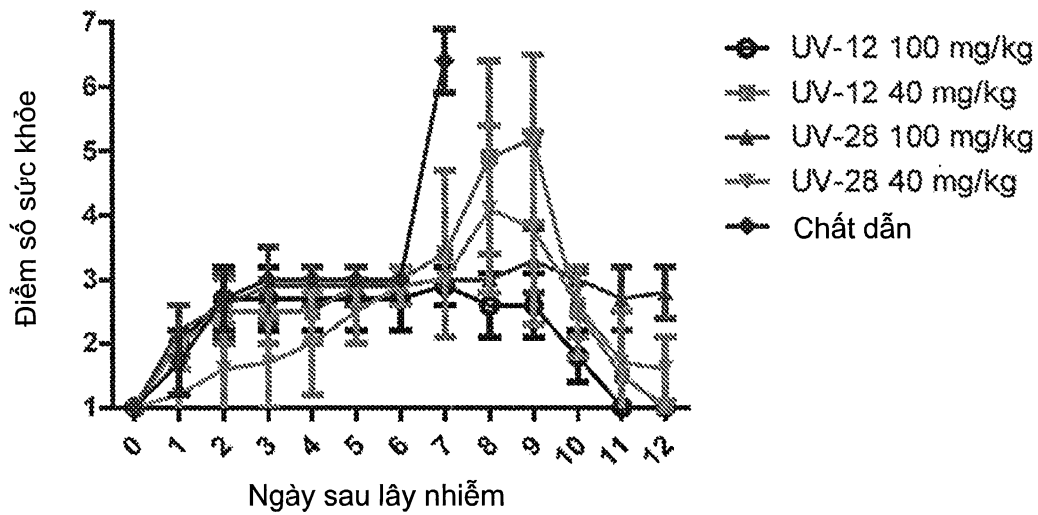


Fig.4

3/19

Hiệu quả invivo chống lại virus Dengue-
UV-12: Phân phối qua đường miệng, TID, 7 ngày

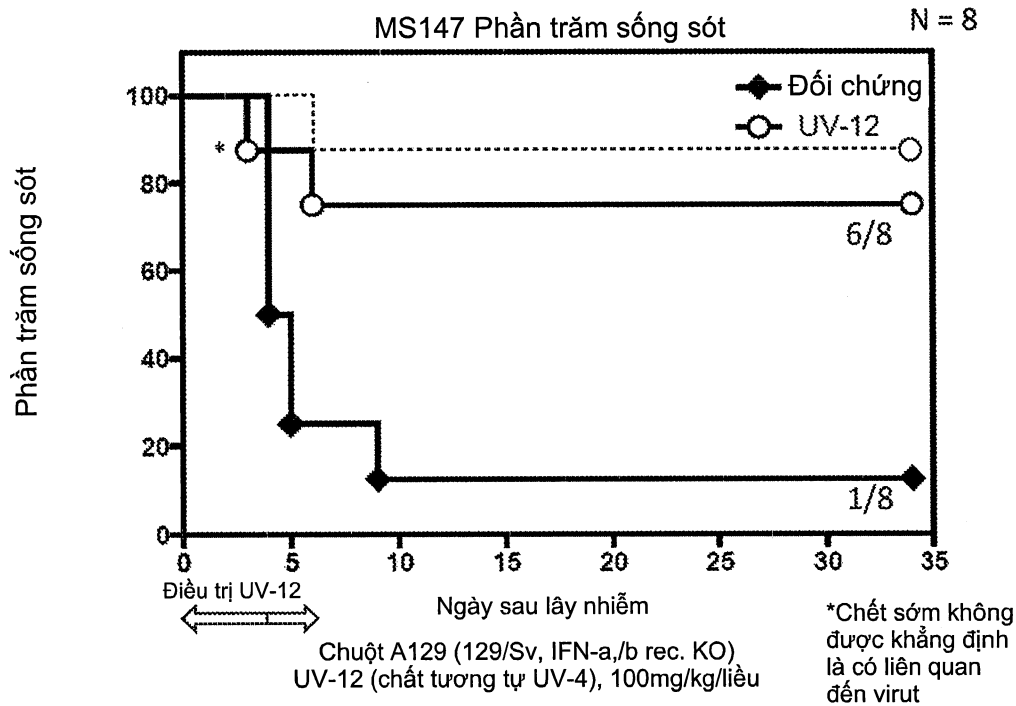


Fig.5

Mức sống sót của chuột bị nhiễm được điều trị qua đường miệng bằng 100mg/kg UV-4B, UV-8, UV-9, UV-10, UV-11 và UV-12. Lây nhiễm bằng INFV A/Texas/36/91 (H1N1)

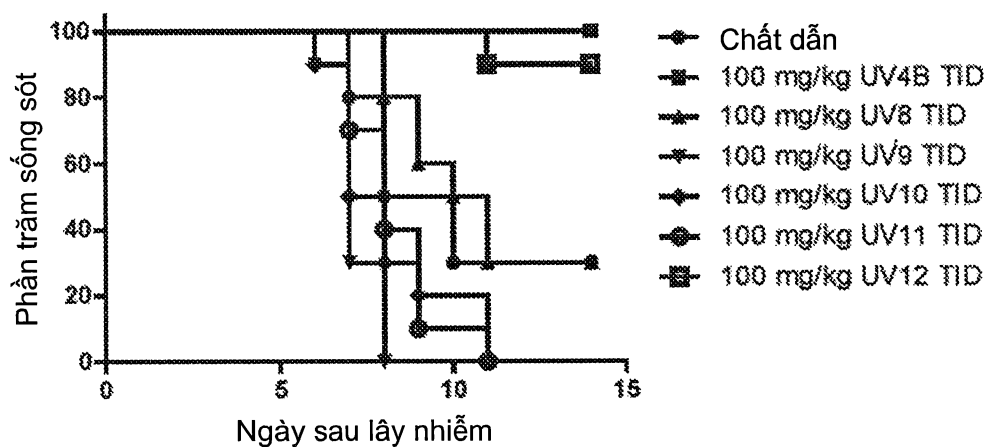


Fig.6

Các mẫu điều trị so với nhóm đối chứng dùng H ₂ O						
	100 mg/kg UV-4B	100 mg/kg UV-8	100 mg/kg UV-9	100 mg/kg UV-10	100 mg/kg UV-11	100 mg/kg UV-12
Kiểm định hạng logarit (Mantel-Cox)						
Chi bình phương	9,429	0,2812	8,043	2,924	2,66	8,272
df	1	1	1	1	1	1
Giá trị p	0,0021	0,5959	0,0046	0,0873	0,1029	0,004
Tổng kết giá trị P	**	ns	**	ns	ns	**
Có ý nghĩa?	Có	Không	Có	Không	Không	Có
Kiểm định Gehan-Breslow-Wilcoxon						
Chi bình phương	8,978	0,9379	7,335	2,41	1,261	8,565
df	1	1	1	1	1	1
Giá trị p	0,0027	0,3328	0,0068	0,1206	0,2614	0,0034
Tổng kết giá trị P	**	ns	**	ns	ns	**
Có ý nghĩa?	Có	Không	Có	Không	Không	Có
Mức sống sót trung bình						
Đối chứng + H ₂ O	9	9	9	9	9	9
Nhóm điều trị	Không xác định	10,5	7	7,5	8	không xác định
Tỷ lệ nguy cơ						
Tỷ lệ	11,79	1,369	0,1389	0,3758	0,3845	8,977
95% CI của tỷ lệ	2,441 đến 56,96	0,4286 đến 4,373	0,03550 đến 0,5435	0,1224 đến 1,154	0,1219 đến 1,213	2,012 đến 40,05

Fig.7

5/19

Sự phát triển trọng lượng của chuột bị nhiễm được điều trị bằng 100mg/kg UV-4B hoặc UV-8

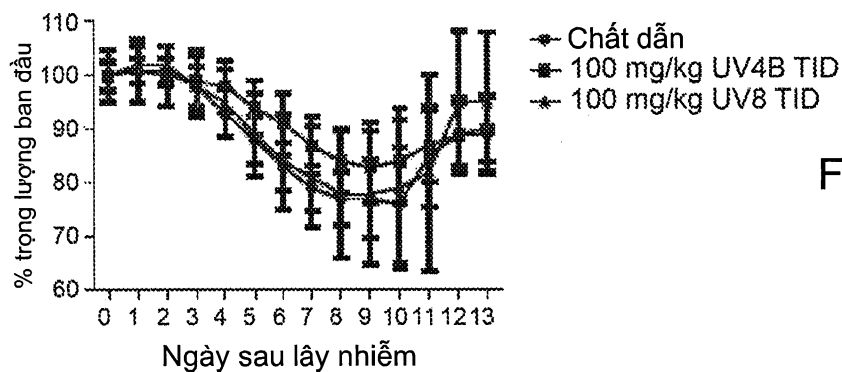


Fig.8A

Sự phát triển trọng lượng của chuột được điều trị bằng 100mg/kg UV-4B hoặc UV-9

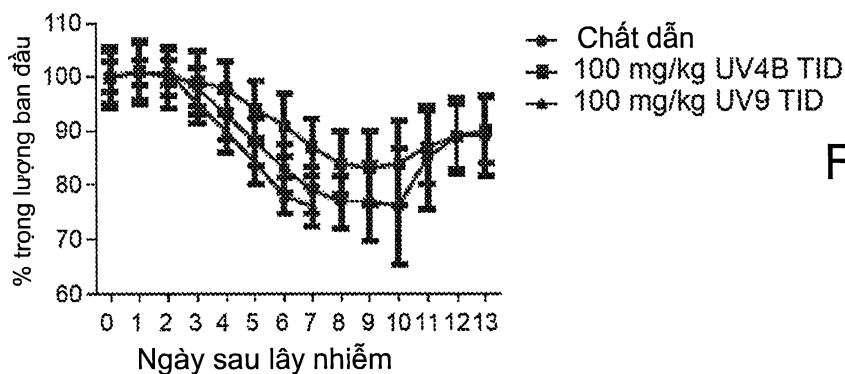


Fig.8B

Sự phát triển trọng lượng của chuột bị nhiễm được điều trị bằng 100mg/kg UV-4B hoặc UV-10

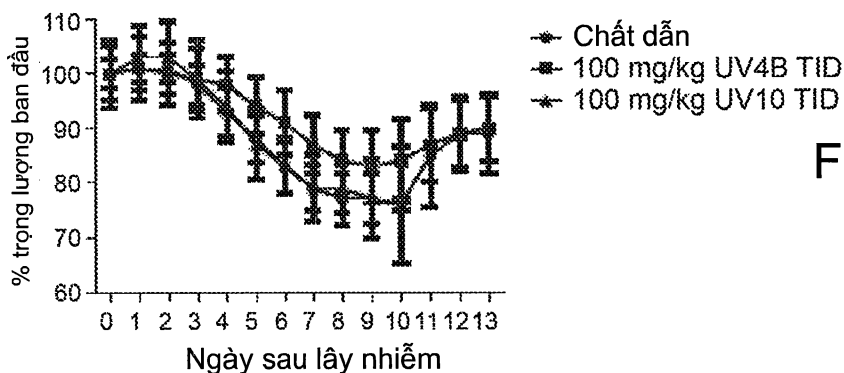


Fig.8C

6/19

Sự phát triển trọng lượng của chuột bị nhiễm được điều trị
bằng 100mg/kg UV-4B hoặc UV-11

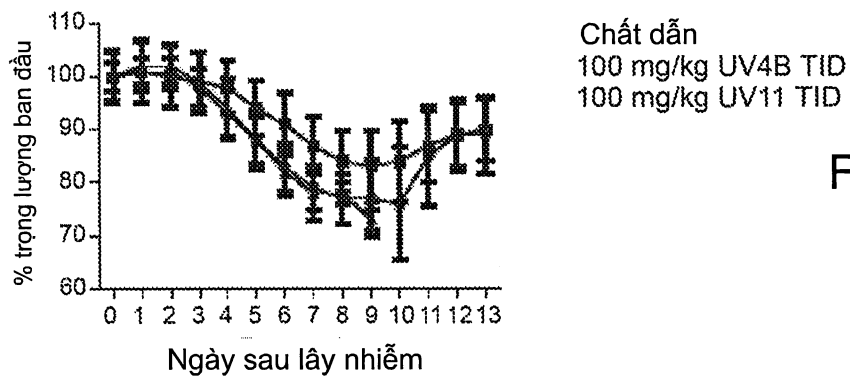


Fig.8E

Sự phát triển trọng lượng của chuột bị nhiễm được điều
trị bằng 100mg/kg UV-4B hoặc UV-12

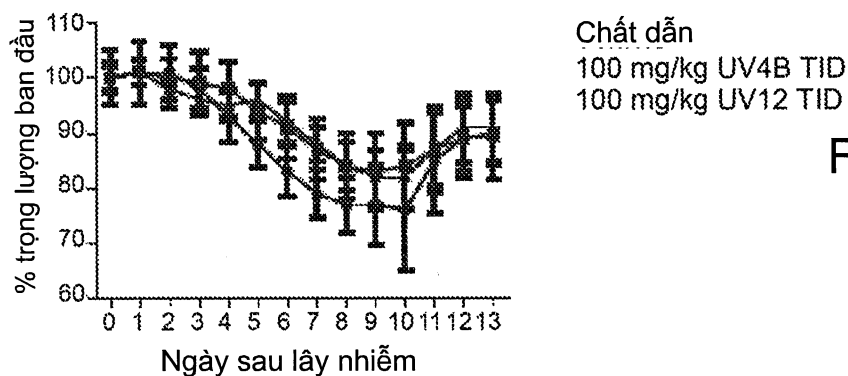


Fig.8E

Sự phát triển trọng lượng của chuột không bị nhiễm được
điều trị bằng UV-8, 9, 10, 11, hoặc 12

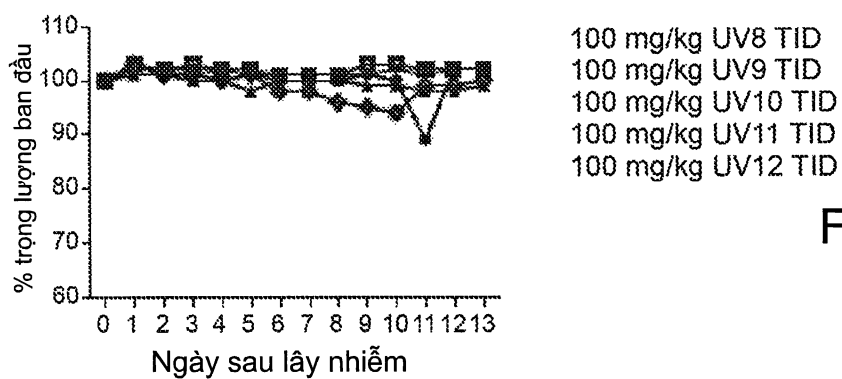


Fig.8F

7/19

100 mg/kg UV-4B		
nguồn biến thiên	% tổng biến thiên	Giá trị P
Tương tác	5,9	< 0,0001
Thời gian	77,65	< 0,0001
Điều trị	5,16	0,0008
Đối tượng (phù hợp)	5,7963	< 0,0001

100 mg/kg UV-8		
Nguồn biến thiên	% tổng biến thiên	Giá trị P
Tương tác	0,19	0,8896
Thời gian	81,29	< 0,0001
Điều trị	0,26	0,502
Đối tượng (phù hợp)	10,1209	< 0,0001

100 mg/kg UV-12		
Nguồn biến thiên	% tổng biến thiên	Giá trị P
Tương tác	12,31	< 0,0001
Thời gian	71,47	< 0,0001
Điều trị	5,25	0,0004
Đối tượng (phù hợp)	5,1095	< 0,0001

Fig.9

8/19

Sự phát triển thân nhiệt của chuột bị nhiễm được điều trị bằng
100mg/kg UV-4B hoặc UV-8

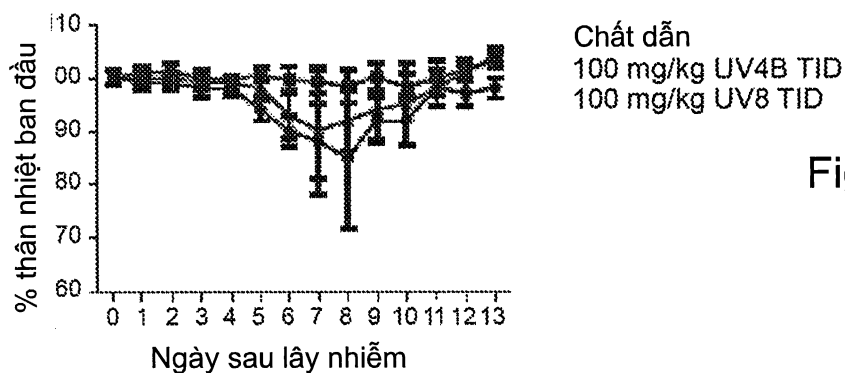


Fig.10A

Sự phát triển thân nhiệt của chuột bị nhiễm được điều trị bằng
100mg/kg UV-4B hoặc UV-9

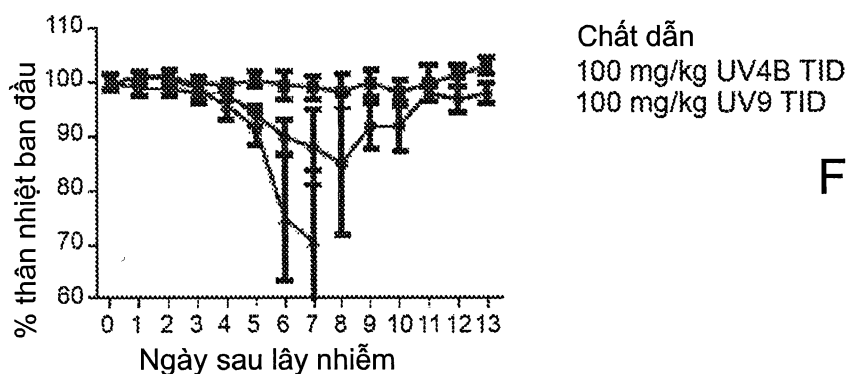


Fig.10B

Sự phát triển nhiệt độ của chuột bị nhiễm được điều trị bằng
100mg/kg UV-4B hoặc UV-10

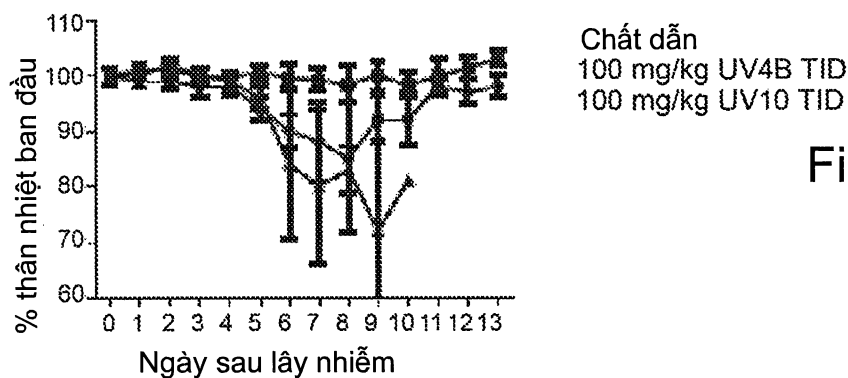


Fig.10C

9/19

Sự phát triển thân nhiệt của chuột bị nhiễm được điều trị bằng
100mg/kg UV-4B hoặc UV-11

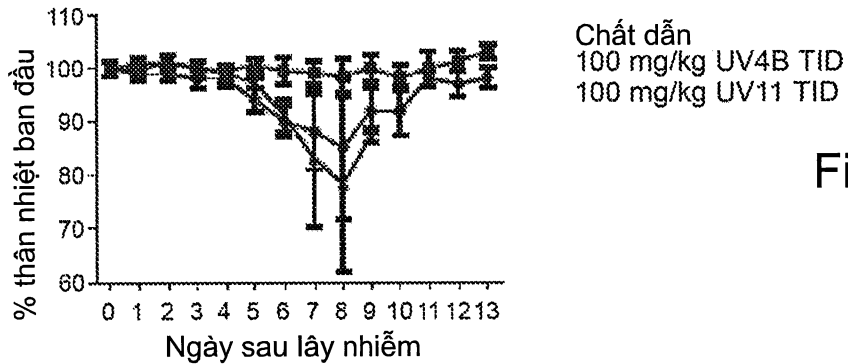


Fig.10D

Sự phát triển thân nhiệt của chuột bị nhiễm được điều trị bằng
100mg/kg UV-4B hoặc UV-12

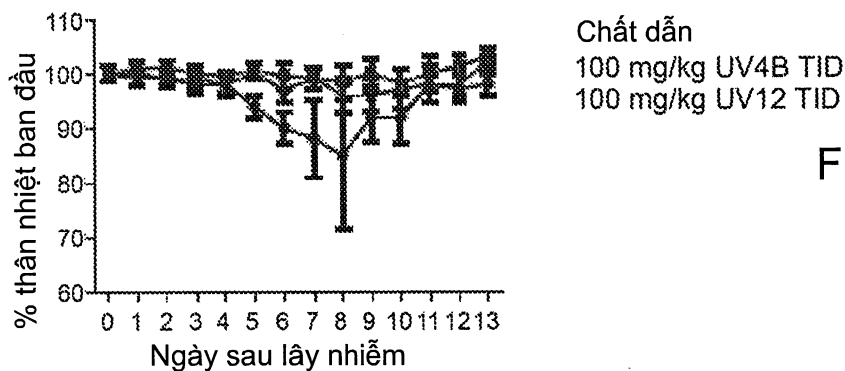


Fig.10E

Sự phát triển trọng lượng của chuột không bị nhiễm được
điều trị bằng UV-8, 9, 10, 11 hoặc 12

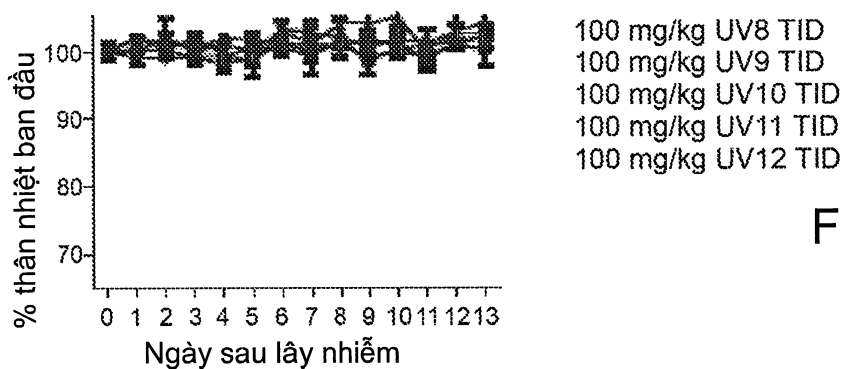


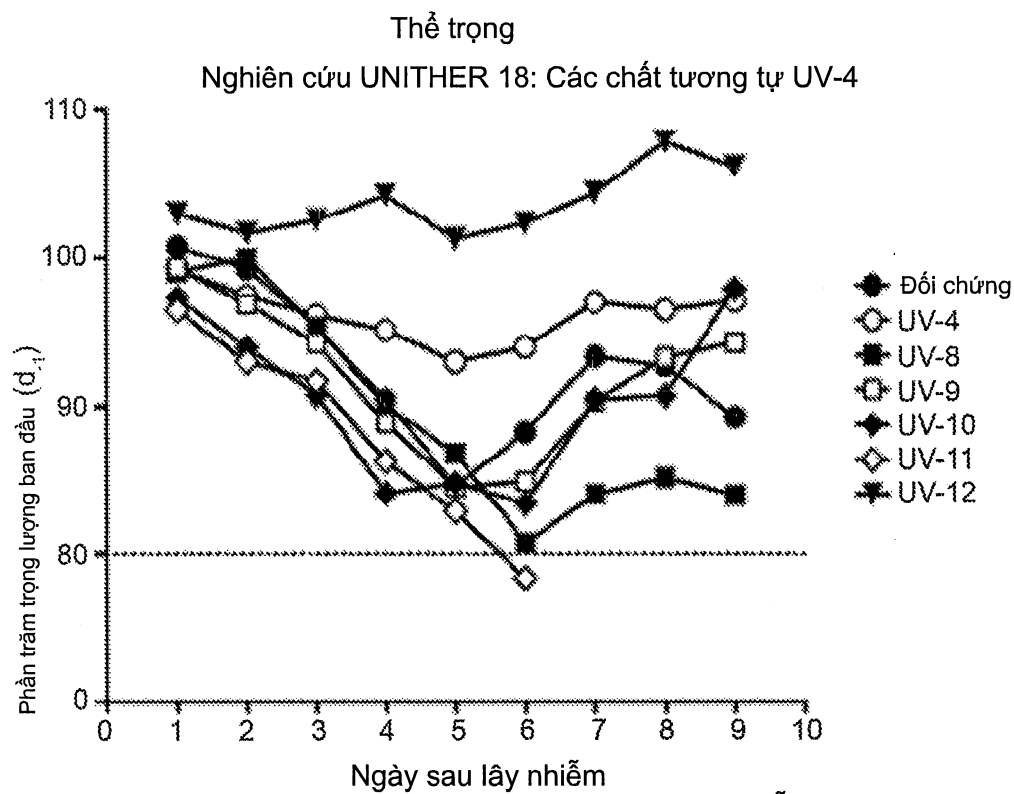
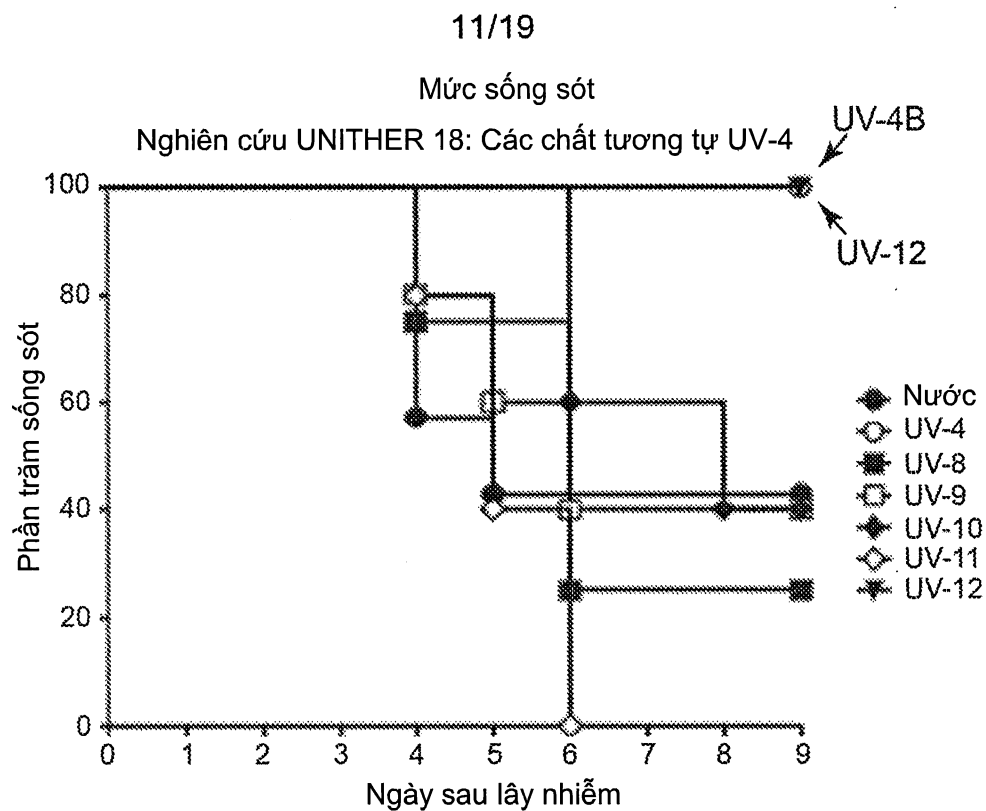
Fig.10F

100 mg/kg UV-4B		
Nguồn biến thiên	% tổng biến thiên	Giá trị P
Tương tác	19,46	< 0,0001
Thời gian	29,22	< 0,0001
Điều trị	22,78	< 0,0001
Đối tượng (phù hợp)	7,9206	< 0,0001

100 mg/kg UV-8		
Nguồn biến thiên	% tổng biến thiên	Giá trị P
tương tác	0,77	0,9137
Thời gian	47,47	< 0,0001
Điều trị	1,74	0,145
Đối tượng (phù hợp)	13,5295	0,001

100 mg/kg UV-12		
Nguồn biến thiên	% tổng biến thiên	Giá trị p
Sự tương tác	23,23	< 0,0001
Thời gian	32,8	< 0,0001
Điều trị	13,33	< 0,0001
Đối tượng (phù hợp)	5,2539	0,1205

Fig.11



Mẫu AG129 DENVADE

Fig.12

12/19

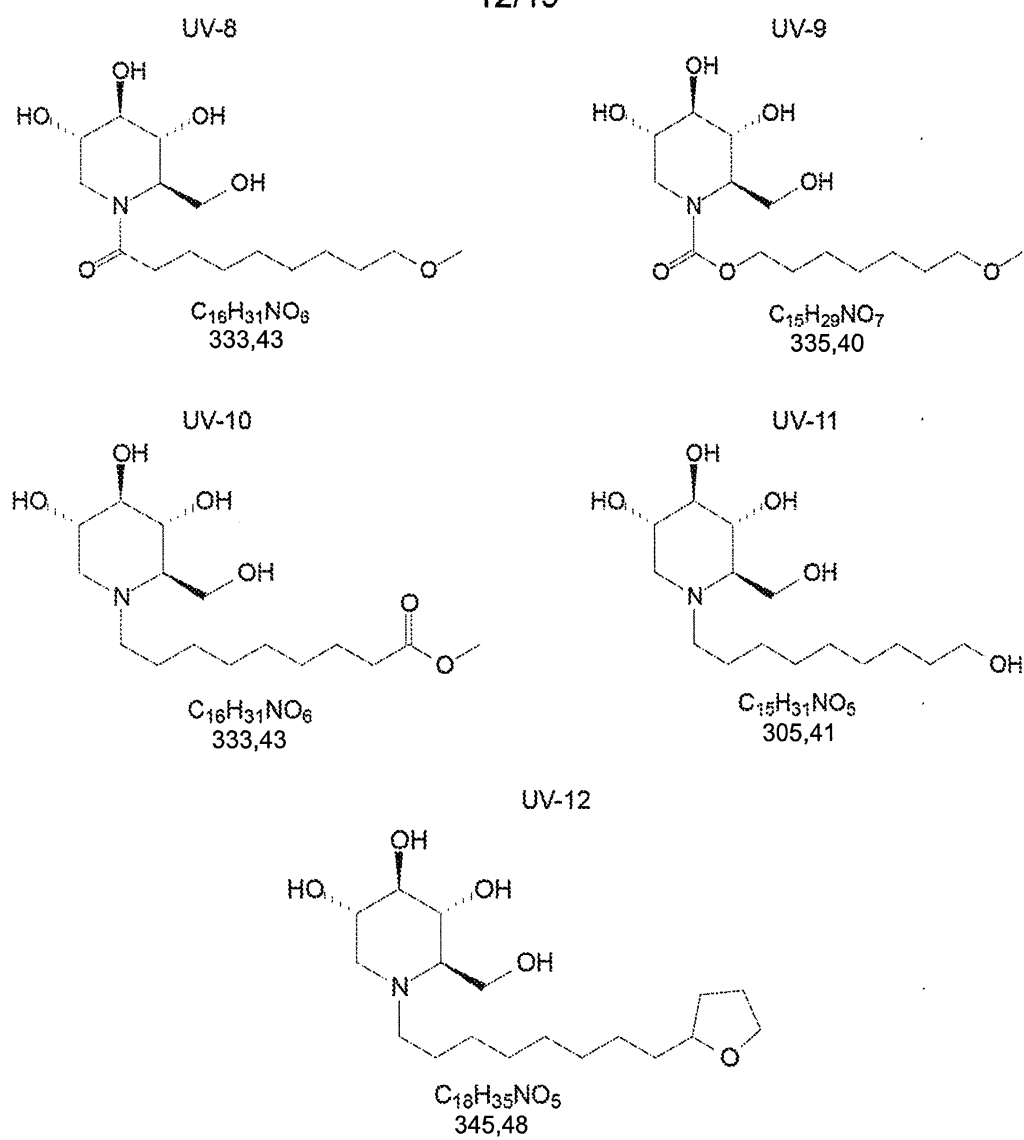


Fig.13

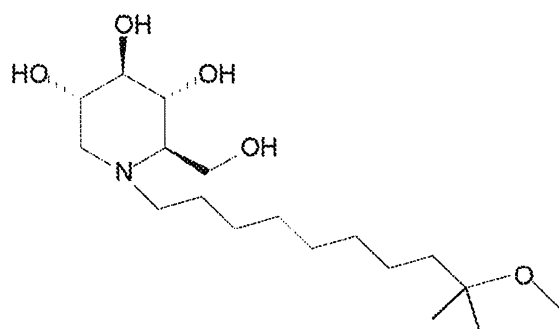


Fig.14

UV-8: C₁₆H₃₁NO₆ (khối lượng phân tử 333,43)

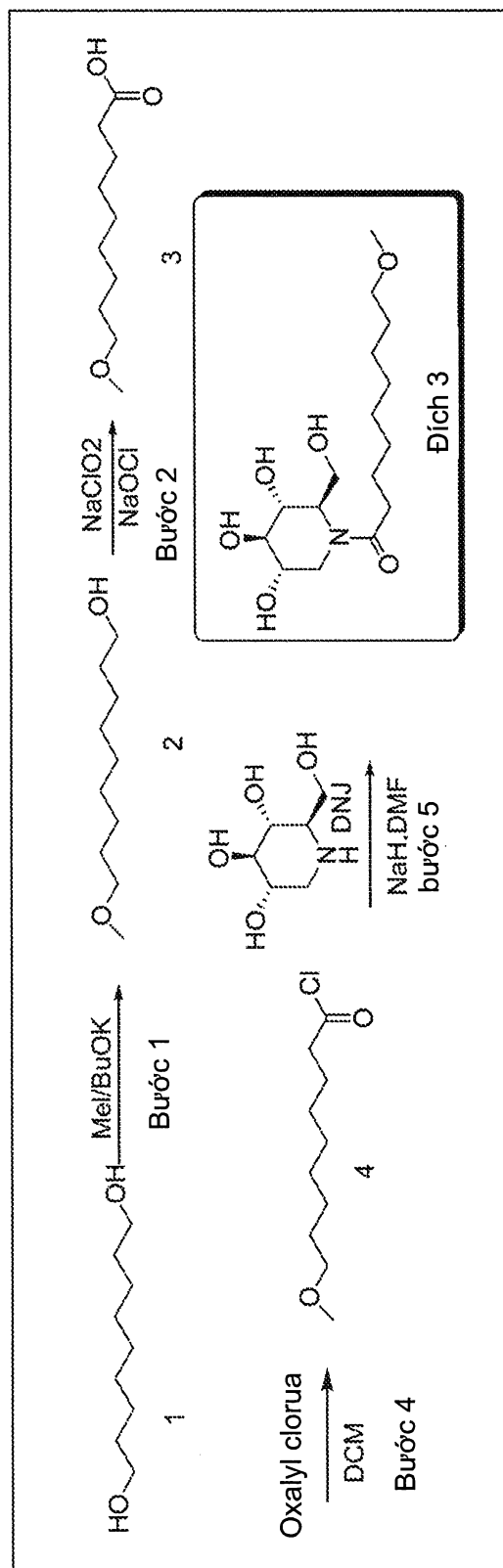


Fig.15

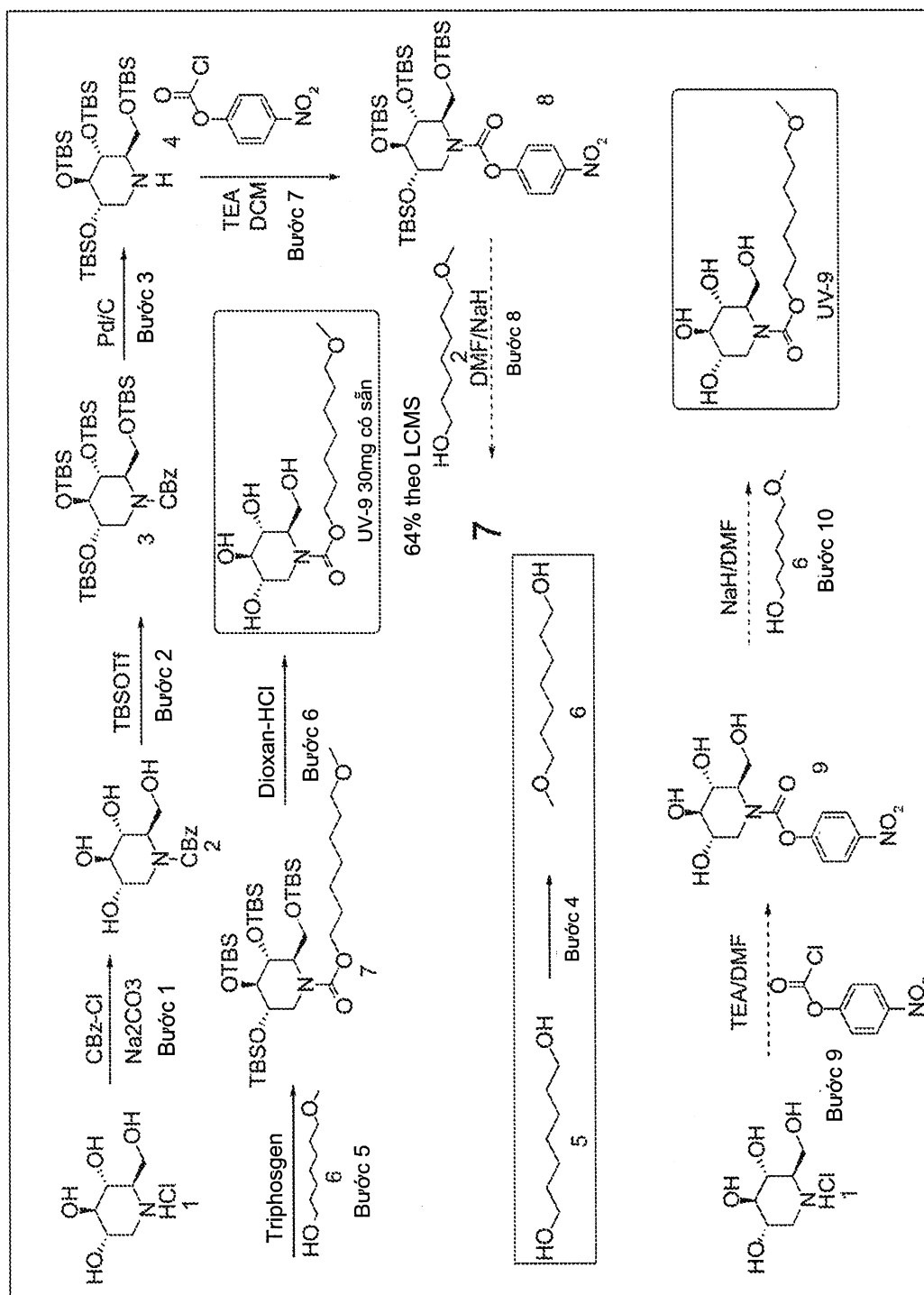
UV-9 : C₁₅H₂₉NO₇ (khối lượng phân tử 335,40)

Fig.16

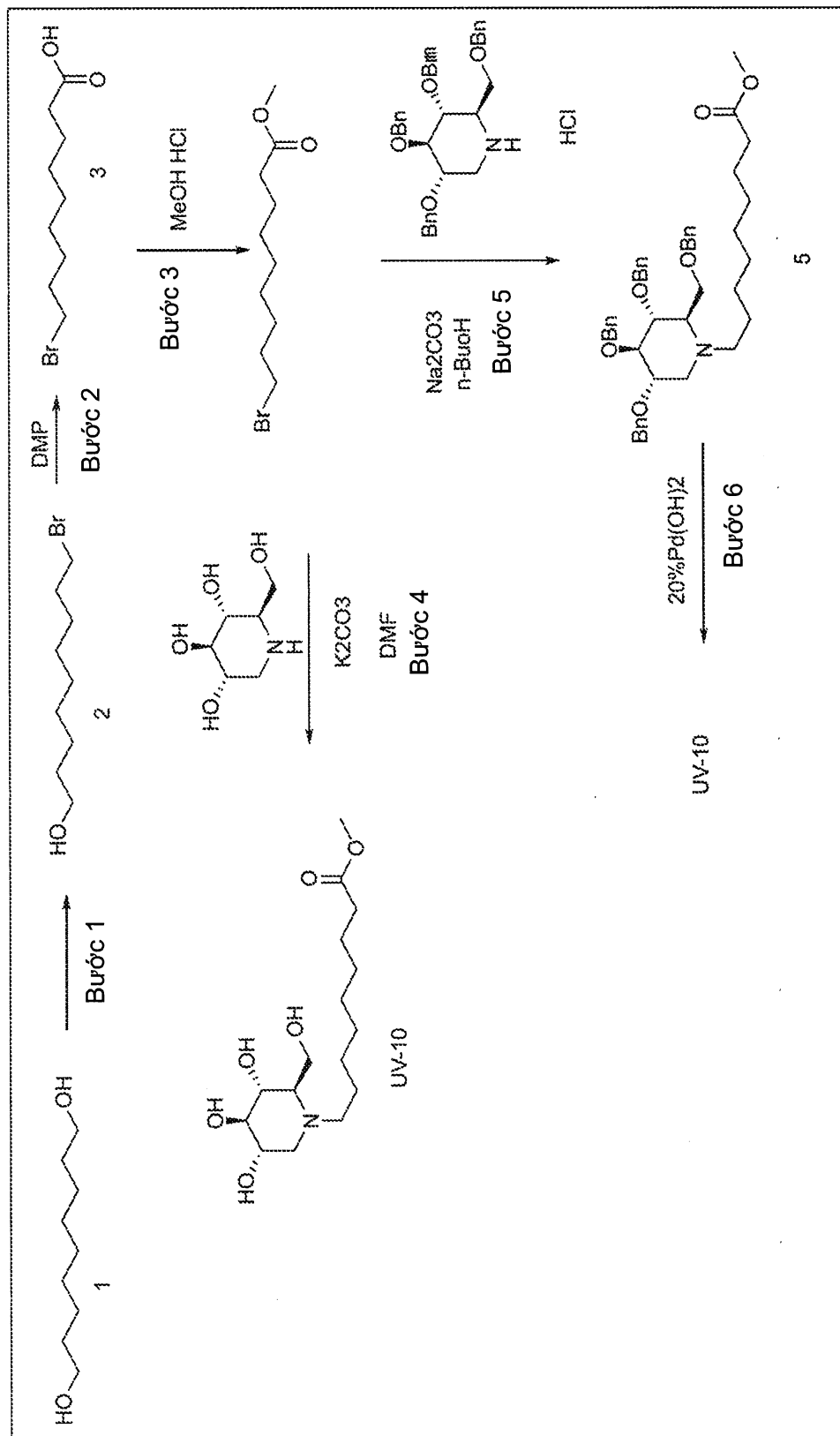
UV-10: C₁₆H₃₁NO₆ (khối lượng phân tử 333,43)

Fig.17

UV-11; C₁₅H₃₁NO₅ (khối lượng phân tử 305,41)

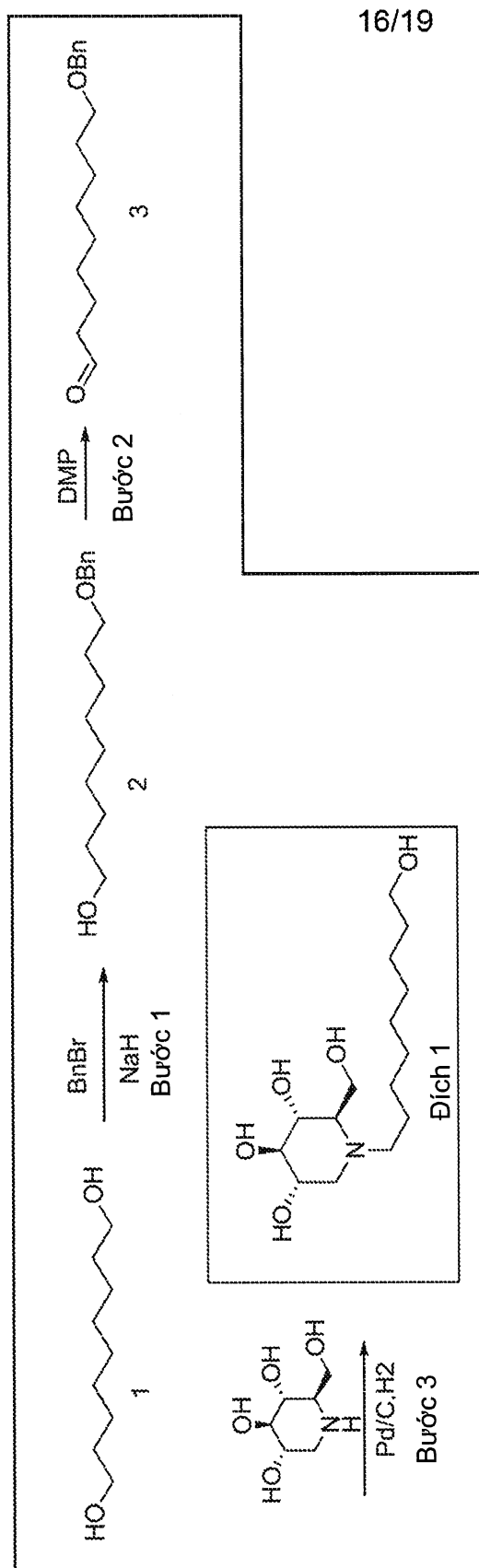


Fig.18

UV-12: C18H35NO5 (khối lượng phân tử 345,48)

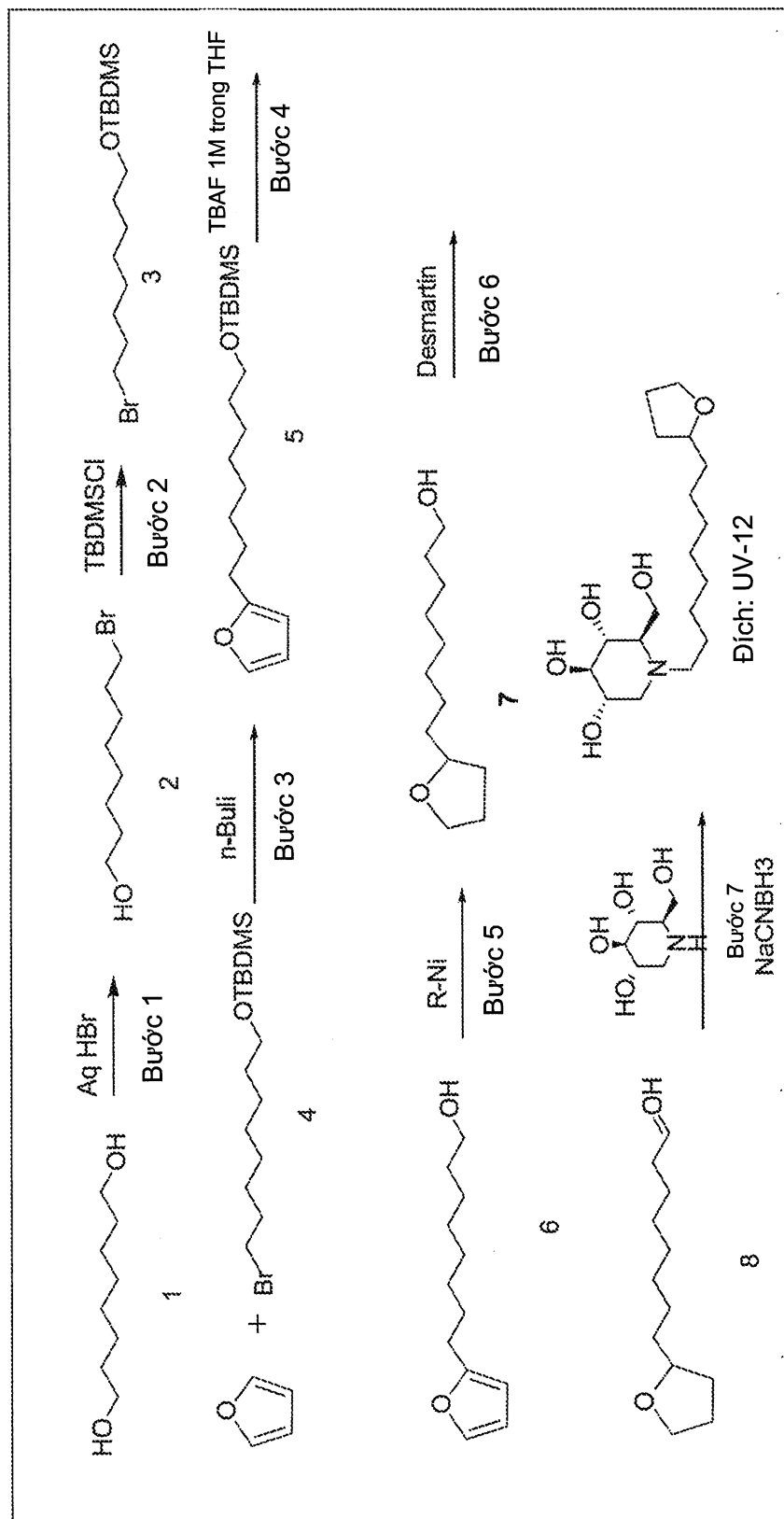


Fig.19

Sơ đồ tổng hợp UV-28

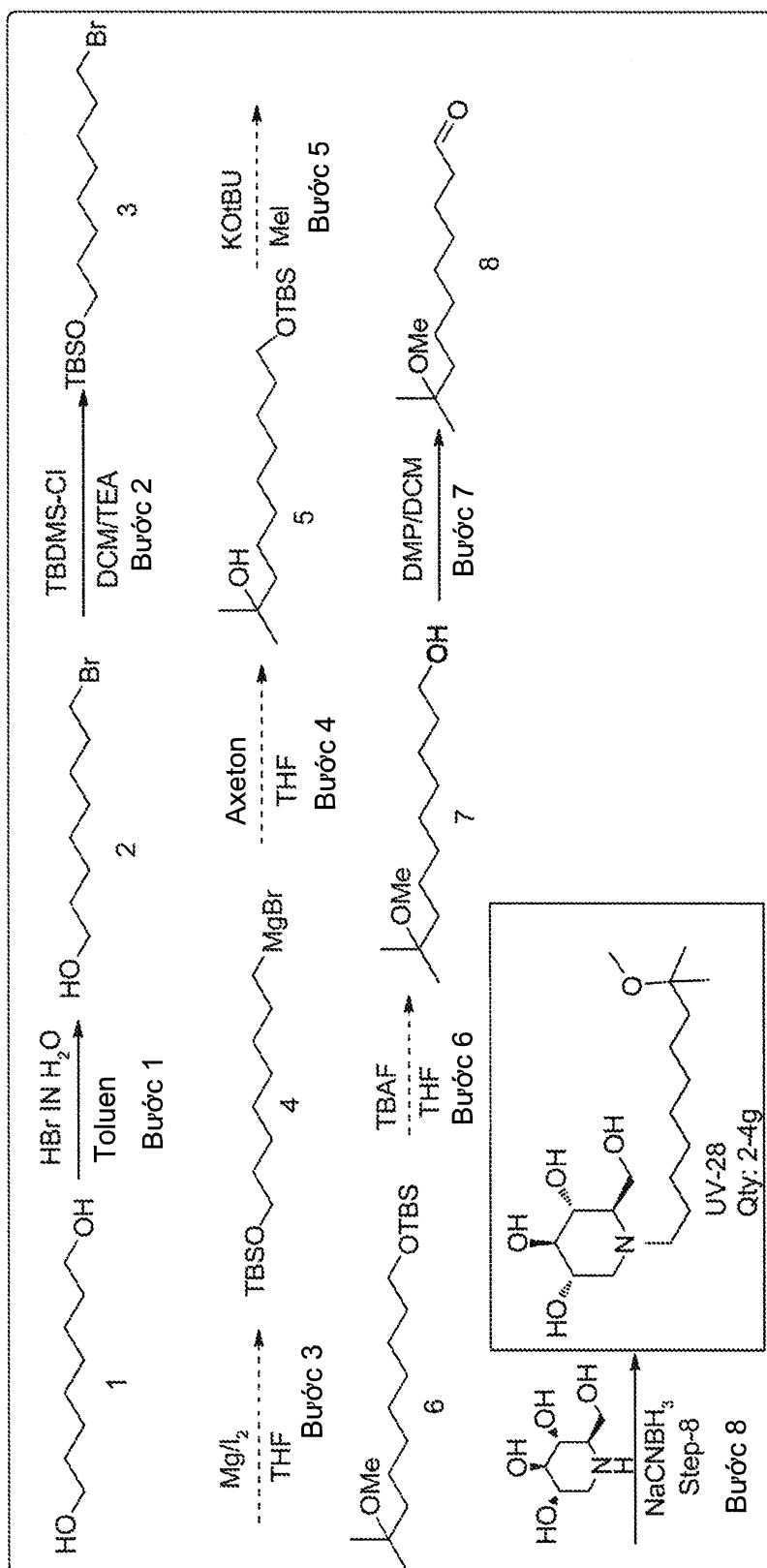


Fig.20

Sơ đồ tổng hợp UV-28 khác

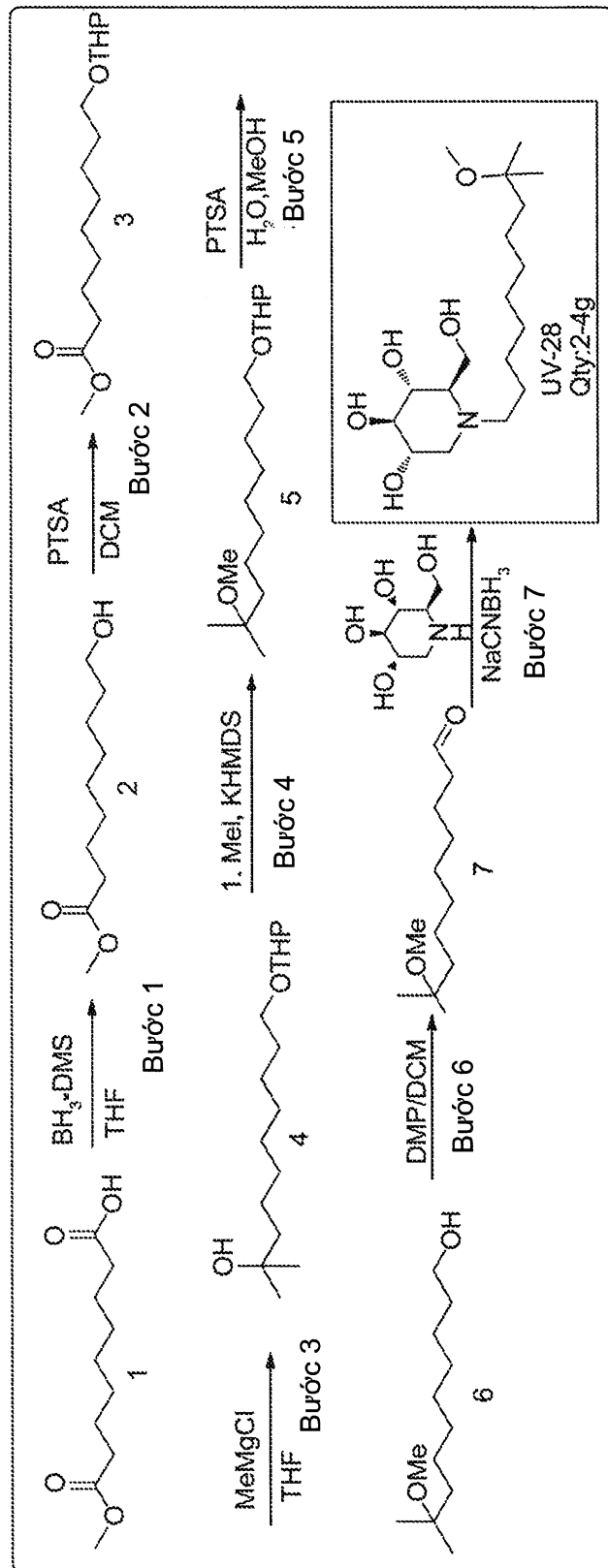


Fig.21