



(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)



1-0024640

(51)⁷

C07F 9/6561; A61K 31/675; C07D
473/34

(13) **B**

(21) 1-2017-00528

(22) 09/07/2015

(86) PCT/KR2015/007130 09/07/2015

(87) WO2016/010305 21/01/2016

(30) 10-2014-0091262 18/07/2014 KR

(45) 27/07/2020 388

(43) 27/03/2017 348A

(73) JW PHARMACEUTICAL CORPORATION (KR)

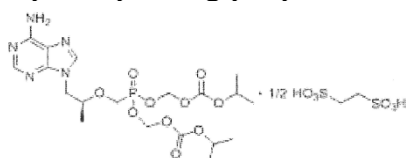
2477, Nambusunhwan-ro, Seocho-gu, Seoul 137-864, Republic of Korea

(72) PYUN, Do-Kuy (KR); LEE, Won-Kyoung (KR); PARK, Su-Ha (KR).

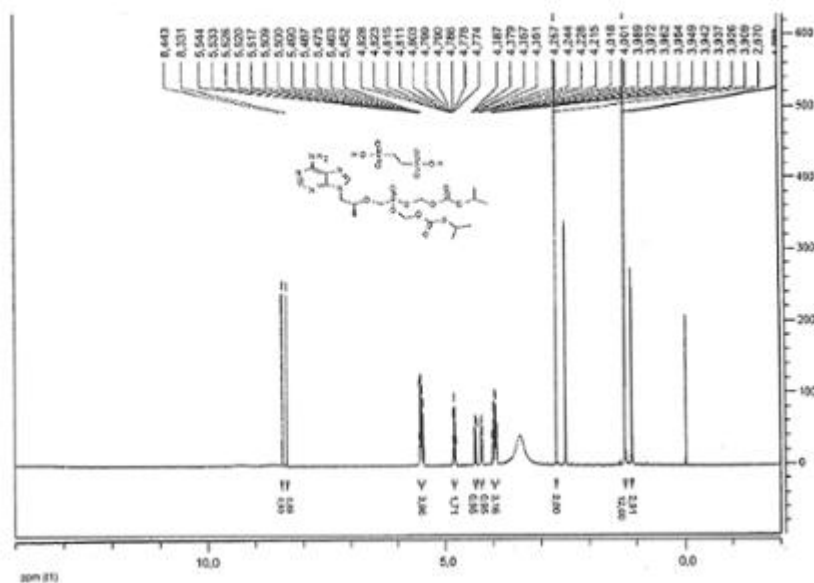
(74) Công ty Luật TNHH WINCO (WINCO LAW FIRM)

(54) MUỐI CỦA HỢP CHẤT TENOFOVIR DISOPROXIL, PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA MUỐI NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến muối tenofovir disoproxil edisylat có công thức hóa học 1. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp điều chế và dược phẩm chứa muối này.



(I)



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến muối mới của hợp chất tenofovir disoproxil. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp điều chế và dược phẩm chứa muối này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Muối tenofovir disoproxil fumarat (tenofovir disoproxil fumarate: TDF) là hợp chất có tên hóa học là 9-[2-(R)- [[bis[[isopropoxycarbonyl) oxy] metoxy] phosphinoyl] metoxy] propyl] adenin fumarat (1:1), là tiền dược chất cần được thủy phân khi hấp thu, và là chất tương tự phosphonometoxy nucleotit hữu ích trong việc điều trị bệnh nhiễm virus HIV-1 và bệnh viêm gan B mạn tính.

Cơ quan quản lý thực phẩm và dược phẩm Mỹ (Food and Drug Administration: FDA) đã cấp phép cho TDF làm chất dùng để điều trị hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải do virus HIV gây ra (Acquired Immuno Deficiency Syndrom: AIDS), và sau đó chất này đã được cấp phép làm chất dùng để điều trị bệnh viêm gan B. Tenofovir, là sản phẩm chuyển hóa có hoạt tính của TDF, có khả năng ức chế ở mức cao đối với ADN của virus viêm gan B ở các bệnh nhân kháng thuốc lamivudine (Zeffix), và là chất kháng virus thuộc danh mục thuốc sử dụng an toàn khi mang thai nhóm B (là các dược chất được phát hiện là không gây nguy cơ cho bào thai trong các nghiên cứu trên động vật) để đánh giá nguy cơ gây tổn thương bào thai do dược phẩm, như được phân loại bởi Cơ quan FDA của Mỹ.

Tuy nhiên, đã biết rằng khó đảm bảo tính ổn định hóa-lý của tenofovir. Như được thông báo trong các tài liệu đã công bố (Pharmaceutical Research, 2001, 18, 234-237; Pharmaceutical Research, 2000, 17, 1098-1103), tenofovir disoproxil bị thủy phân khi có mặt nước để tạo ra formaldehyt mà sau đó chất này tham gia phản ứng ngưng tụ với nhóm amin-N6 của tenofovir disoproxil dẫn đến sự tạo thành dime tenofovir disoproxil dưới dạng tạp chất.

Nói chung, để thu được hiệu quả ổn định của thuốc, cần bảo vệ lượng hoạt chất khỏi sự phân hủy không chỉ ngay sau khi sản xuất thuốc mà còn cả trong quá

trình bảo quản nó, và ngoài ra, cần ngăn ngừa sự tăng lượng tạp chất hoặc chất liên quan, là các sản phẩm phân rã của hoạt chất trong các quá trình này. Do đó, việc ngăn ngừa hiện tượng tạp chất lẫn vào thuốc được cho là rất quan trọng trong việc quản lý chất lượng thuốc.

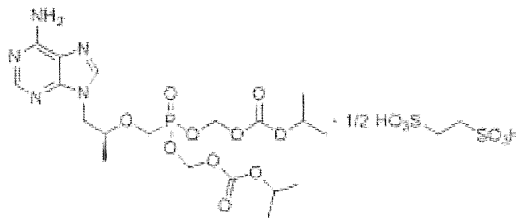
Đối với các quy định quốc gia của mỗi nước về việc thử nghiệm độ tinh khiết, Dược điển Hàn Quốc đã tách quy định đối với chất liên quan trong phần thử nghiệm độ tinh khiết và Dược điển Mỹ có quy định về “tạp chất thông thường”, trong đó tổng lượng các chất liên quan được điều chỉnh ở mức 2,0% hoặc nhỏ hơn, trừ khi được chỉ rõ theo cách khác, hoặc trong đó lượng các chất liên quan được điều chỉnh so với hợp chất liên quan và độ tinh khiết về mặt sắc ký trong mỗi điều khoản của dược phẩm. Ngoài ra, Dược điển châu Âu và Dược điển Anh quy định các chất liên quan, và Dược điển Nhật quy định các chất liên quan và lượng của chúng trong thử nghiệm độ tinh khiết.

Do đó, các tác giả sáng chế đã nghiên cứu muối mới có thể làm giảm đến mức tối thiểu sự tạo ra các chất liên quan ngay cả khi bảo quản trong thời gian dài và làm tăng tối đa độ tan trong khi vẫn có các tính chất hóa lý bằng hoặc cao hơn các tính chất này của muối tenofovir disoproxil fumarat thông thường, và đã tìm ra muối tenofovir disoproxil edisylat mới bằng cách sử dụng edisylat.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là tìm ra muối tenofovir disoproxil mới có các tính chất hóa lý bằng hoặc cao hơn các tính chất này của muối tenofovir disoproxil fumarat, có thể làm giảm đến mức tối thiểu sự tạo ra các chất liên quan ngay cả khi bảo quản trong thời gian dài, và có thể làm tăng tối đa độ tan.

Sáng chế đề xuất muối tenofovir disoproxil edisylat có công thức hóa học 1 dưới đây.



Công thức hóa học 1

9-[(R)-2-[[bis[[[isopropoxycarbonyl]oxy]methoxy]phosphinyl]methoxy]propyl]adenin hemiedisylat

Theo một phương án của sáng chế, hợp chất có công thức hóa học 1 có thể là muối hemi-edisylat trong đó tenofovir disoproxil và muối edisylat được liên kết với tỷ lệ mol bằng 1:0,5.

Theo phương án khác của sáng chế, hợp chất có công thức hóa học 1 có thể là muối tenofovir disoproxil edisylat có các đỉnh của phổ cộng hưởng từ hạt nhân nguyên tử hydro (^1H nuclear magnetic resonance: ^1H NMR) sau đây: ^1H NMR (500 MHz, DMSO) 8,44 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 5,54-5,45 (m, 4H), 4,82-4,77 (m, 2H), 4,38-4,35 (dd, 1H), 4,25-4,4,21 (dd, 1H), 4,01-3,90 (m, 3H), 2,67 (s, 2H), 1,23-1,22 (d, 12H), và 1,09-1,08 (d, 3H) ppm.

Theo phương án khác nữa của sáng chế, hợp chất có công thức hóa học 1 có thể có các giá trị của đỉnh nhiễu xạ bột tia X sau đây: $4,14^\circ$, $10,40^\circ$, $11,67^\circ$, $12,64^\circ$, $12,90^\circ$, $13,24^\circ$, $15,64^\circ$, $16,30^\circ$, $16,86^\circ$, $18,69^\circ$, $18,74^\circ$, $19,19^\circ$, $19,82^\circ$, $20,74^\circ$, $21,36^\circ$, $21,89^\circ$, $22,46^\circ$, $23,19^\circ$, $23,72^\circ$, $24,88^\circ$, $25,56^\circ$, $26,21^\circ$, và $27,04^\circ$.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất muối tenofovir disoproxil edisylat dạng tinh thể, có các giá trị của đỉnh nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.5: $3,32^\circ$, $4,18^\circ$, $5,13^\circ$, $7,31^\circ$, $8,59^\circ$, $10,01^\circ$, $10,42^\circ$, $10,97^\circ$, $11,56^\circ$, $12,64^\circ$, $12,95^\circ$, $13,25^\circ$, $14,67^\circ$, $15,53^\circ$, $16,39^\circ$, $17,33^\circ$, $18,15^\circ$, $18,75^\circ$, $19,28^\circ$, $19,93^\circ$, $20,44^\circ$, $20,81^\circ$, $21,37^\circ$, $22,03^\circ$, $22,49^\circ$, $22,84^\circ$, $23,28^\circ$, $23,75^\circ$, $24,66^\circ$, $25,00^\circ$, $25,65^\circ$, $26,36^\circ$, $27,1^\circ$, $27,76^\circ$, $28,16^\circ$, $28,79^\circ$, $30,31^\circ$, và $31,17^\circ$.

Sáng chế đề xuất muối tenofovir disoproxil edisylat dạng tinh thể, có các giá trị của đỉnh nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.6.

Sáng chế đề xuất được phẩm dùng để phòng hoặc điều trị bệnh liên quan đến sự nhiễm virus, được phẩm này chứa lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị của muối

tenofovir disoproxil edisylat.

Theo một phương án của sáng chế, virus có thể bao gồm virus gây suy giảm miễn dịch ở người (human immunodeficiency virus: HIV), virus viêm gan B (hepatitis B virus: HBV), virus cự bào (cytomegalo virus: CMV), virus ecpet đơn hình typ 1 (herpes simplex virus type 1: HSV-1), virus ecpet đơn hình typ 2 (herpes simplex virus type 2: HSV-2), hoặc virus ecpet ở người.

Theo một phương án của sáng chế, dược phẩm có thể được tạo ra ở dạng liều dùng bao gồm viên nén, viên nang, bột, hạt, viên nhỏ giọt, thuốc bột, viên lớn duy nhất, cồn thuốc hoặc thuốc đắp.

Sáng chế mô tả phương pháp phòng hoặc điều trị bệnh nhiễm virus ở động vật có vú bao gồm bước cho động vật có vú cần điều trị sử dụng lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị của muối tenofovir disoproxil edisylat.

Theo một phương án của sáng chế, virus có thể bao gồm các virus HIV, HBV, CMV, HSV-1, HSV-2, hoặc virus ecpet ở người.

Hiệu quả có lợi của sáng chế

Theo sáng chế, muối tenofovir disoproxil edisylat có thể làm giảm đến mức tối thiểu sự tạo ra các chất liên quan theo thời gian so với tenofovir disoproxil fumarat, nhờ đó có thể giảm đáng kể sự tạo ra các tạp chất trong quá trình bảo quản sản phẩm chứa muối của sáng chế, và do đó làm tăng độ ổn định của dược chất và không cần tiến hành các nghiên cứu bổ sung về tác dụng gây độc. Muối theo sáng chế có thể có độ ổn định được cải thiện đáng kể mặc dù có sự thay đổi độ pH, tính chịu ẩm và độ tan và có thể có các tính chất hóa lý rất tốt, và do đó có thể được dùng làm hoạt chất của dược phẩm để điều trị bệnh nhiễm virus HIV-1 và bệnh viêm gan B mạn tính, cùng với chất mang dược dụng. Ngoài ra, muối theo sáng chế có độ tan rất cao ngay cả khi có sự thay đổi độ pH so với các muối tenofovir disoproxil khác (ví dụ, muối orotat, muối aspartat, muối hipurat và muối tương tự).

Hơn nữa, ngay cả khi muối tenofovir disoproxil edisylat của sáng chế được điều chế bằng cách sử dụng quy trình đơn giản, có thể thu được tenofovir disoproxil có thể độ tinh khiết cao hơn nhiều trong quá trình tổng hợp muối cộng axit.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1a thể hiện phổ ^1H NMR của tenofovir disoproxil hemi-edisylat;

Fig.1b thể hiện sự so sánh cấu trúc của muối tenofovir disoproxil hemi-edisylat theo sáng chế và muối tenofovir disoproxil mono-edisylat;

Fig.1c là đồ thị thể hiện kết quả đánh giá độ ổn định của muối tenofovir disoproxil hemi-edisylat và tenofovir disoproxil mono-edisylat;

Fig.2 là đồ thị thể hiện kết quả xác định độ ổn định của muối tenofovir disoproxil fumarat (TDF, Ví dụ so sánh 1) theo sự thay đổi độ pH;

Fig.3 là đồ thị thể hiện kết quả xác định độ ổn định của muối tenofovir disoproxil hemi-edisylat (TDE, Ví dụ 1) theo sự thay đổi độ pH;

Fig.4a thể hiện kết quả phân tích đồ thị nhiễu xạ tia X của muối tenofovir disoproxil;

Fig.4b thể hiện kết quả phân tích đồ thị nhiễu xạ tia X của muối tenofovir disoproxil mono-edisylat;

Fig.5 thể hiện kết quả phân tích đồ thị nhiễu xạ tia X của muối tenofovir disoproxil hemi-edisylat A;

Fig.6 thể hiện kết quả phân tích đồ thị nhiễu xạ tia X của muối tenofovir disoproxil hemi-edisylat B;

Fig.7a thể hiện nhiệt đồ đo nhiệt lượng bằng tia quét vi phân (differential scanning calorimetry: (DSC) của muối tenofovir disoproxil fumarat;

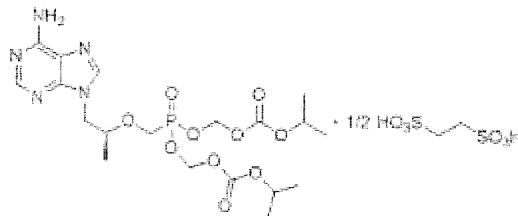
Fig.7b thể hiện nhiệt đồ DSC của muối tenofovir disoproxil mono-edisylat; và

Fig.8 thể hiện nhiệt đồ DSC của muối tenofovir disoproxil hemi-edisylat.

Mô tả chi tiết sáng chế

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

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất muối tenofovir disoproxil edisylat có công thức hóa học 1 dưới đây.



Công thức hóa học 1

9-[(R)-2-[[bis[[[(isopropoxycarbonyl) oxy]methoxy] phosphinyl] methoxy] propyl] adenine hemiedisylat

Theo một phương án của sáng chế, tốt hơn nếu hợp chất có công thức hóa học 1 là muối hemi-edisylat trong đó tenofovir disoproxil và muối edisylat được liên kết với tỷ lệ mol bằng 1:0,5.

Theo phương án khác của sáng chế, hợp chất có công thức hóa học 1 có thể là muối tenofovir disoproxil edisylat có các đỉnh ^1H NMR sau đây: ^1H NMR (500 MHz, DMSO) 8,44 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 5,54-5,45 (m, 4H), 4,82-4,77 (m, 2H), 4,38-4,35 (dd, 1H), 4,25-4,4,21 (dd, 1H), 4,01-3,90 (m, 3H), 2,67 (s, 2H), 1,23-1,22 (d, 12H), và 1,09-1,08 (d, 3H) ppm.

Theo phương án khác nữa của sáng chế, hợp chất có công thức hóa học 1 có thể có các giá trị của đỉnh nhiễu xạ bột tia X sau đây: $4,14^\circ$, $10,40^\circ$, $11,67^\circ$, $12,64^\circ$, $12,90^\circ$, $13,24^\circ$, $15,64^\circ$, $16,30^\circ$, $16,86^\circ$, $18,69^\circ$, $18,74^\circ$, $19,19^\circ$, $19,82^\circ$, $20,74^\circ$, $21,36^\circ$, $21,89^\circ$, $22,46^\circ$, $23,19^\circ$, $23,72^\circ$, $24,88^\circ$, $25,56^\circ$, $26,21^\circ$, và $27,04^\circ$.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất muối tenofovir disoproxil edisylat dạng tinh thể, có các giá trị của đỉnh nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.5: $3,32^\circ$, $4,18^\circ$, $5,13^\circ$, $7,31^\circ$, $8,59^\circ$, $10,01^\circ$, $10,42^\circ$, $10,97^\circ$, $11,56^\circ$, $12,64^\circ$, $12,95^\circ$, $13,25^\circ$, $14,67^\circ$, $15,53^\circ$, $16,39^\circ$, $17,33^\circ$, $18,15^\circ$, $18,75^\circ$, $19,28^\circ$, $19,93^\circ$, $20,44^\circ$, $20,81^\circ$, $21,37^\circ$, $22,03^\circ$, $22,49^\circ$, $22,84^\circ$, $23,28^\circ$, $23,75^\circ$, $24,66^\circ$, $25,00^\circ$, $25,65^\circ$, $26,36^\circ$, $27,1^\circ$, $27,76^\circ$, $28,16^\circ$, $28,79^\circ$, $30,31^\circ$, và $31,17^\circ$.

Sáng chế cũng đề xuất muối tenofovir disoproxil edisylat dạng tinh thể, có các giá trị của đỉnh nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.6.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm dùng để phòng hoặc điều trị bệnh liên quan đến sự nhiễm virus, dược phẩm này chứa lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị của muối tenofovir disoproxil edisylat.

Theo một phương án của sáng chế, virus có thể bao gồm các virus HIV, HBV, CMV, HSV-1, HSV-2 hoặc virus ecpet ở người, và được phẩm theo sáng chế có thể đặc biệt hữu ích trong việc điều trị bệnh nhiễm virus HIV-1 và bệnh viêm gan B mạn tính.

Ngoài lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị của tenofovir disoproxil edisylat, được phẩm theo sáng chế có thể chứa tá dược được dụng. Nếu cần, được phẩm này có thể còn chứa chất kháng virus bổ sung và thành phần điều trị hoặc thành phần phụ trợ bổ sung như chất kích thích miễn dịch, chất bảo vệ gan, và L-carnitin và các muối của nó.

Tá dược được dụng có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, một hoặc nhiều chất bất kỳ được chọn trong số chất kết dính, chất pha loãng, chất gây rã, chất bảo quản, chất phân tán, chất gây trượt (chất giải phóng), và chất làm trơn.

Thông thường, được phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng qua đường miệng, trong trực tràng, trong âm đạo, trong mũi, đường khu trú (ví dụ, đường trong mắt, trong miệng, và dưới lưỡi) hoặc ngoài đường tiêu hóa (ví dụ, đường dưới da, trong cơ, trong tĩnh mạch, trong chân bì, trong cột sống hoặc ngoài màng cứng). Việc sử dụng qua đường miệng là được ưu tiên.

Tốt hơn, nếu được phẩm theo sáng chế có thể được tạo ra ở dạng liều dùng gồm viên nén, viên nang, bột, hạt, viên nhỏ giọt, thuốc bột, viên lớn duy nhất, cồn thuốc hoặc thuốc đắp. Tốt hơn, nếu viên nén được tạo ra ở dạng viên nén thông thường, viên nén được bao, viên nén phân tán được, và viên nén dạng sủi, viên nén giải phóng duy trì, viên nén giải phóng có kiểm soát, hoặc viên nén được bao lớp bao tan trong ruột. Tốt hơn, nếu viên nang được tạo ra ở dạng viên nang thông thường, viên nang giải phóng duy trì, viên nang giải phóng có kiểm soát, hoặc viên nang được bao lớp bao tan trong ruột.

Khi được phẩm theo sáng chế là viên nén hoặc viên nang, lượng muối tenofovir disoproxil edisylat, dùng làm hoạt chất trong dạng liều đơn vị có thể thay đổi theo nhiều yếu tố như triệu chứng và độ tuổi. Nói chung, khi được sử dụng qua đường miệng, liều đơn của hoạt chất nằm trong khoảng từ 5mg đến 300mg, và tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5mg đến 150mg. Ngoài ra, viên nén hoặc viên nang có thể còn chứa chất độn như tinh bột, sucroza, lactoza, v.v., chất kết dính như nước,

rượu, polyvinyl pyrrolidon, tinh bột gelatin hóa sơ bộ, v.v, chất gây rã như xenluloza vi tinh thể, croscarmelloza natri, polyvinyl pyrrolidon được tạo liên kết ngang, v.v., và chất làm trơn như magie stearat, bột talc, silic oxit, v.v..

Khi được phẩm theo sáng chế là viên nén hoặc viên nang, tốt hơn nếu được phẩm này chứa chất mang được dụng có tính bazơ, bao gồm cacbonat bazơ và hydroxit bazơ. Các ví dụ được ưu tiên về cacbonat bazơ là canxi cacbonat, magie cacbonat, kẽm cacbonat, sắt (II) cacbonat hoặc nhôm cacbonat. Các ví dụ được ưu tiên về hydroxit bazơ là magie hydroxit, canxi hydroxit, nhôm hydroxit, hoặc sắt (II) hydroxit.

Khi được phẩm theo sáng chế là viên nén phân tán được, chất gây rã được chọn có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 60% để tạo ra sự phân rã nhanh.

Dạng liều dùng của được phẩm theo sáng chế có thể là bột vô trùng dùng để tiêm hoặc dung dịch tiêm. Dạng liều dùng này có thể được sử dụng bằng cách tiêm.

Sáng chế cũng mô tả ở đây phương pháp phòng hoặc điều trị bệnh nhiễm virus ở động vật có vú, bao gồm bước cho động vật có vú cần điều trị sử dụng lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị của muối tenofovir disoproxil edisylat.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất muối tenofovir disoproxil edisylat dùng để sản xuất thuốc dùng để phòng hoặc điều trị bệnh liên quan đến sự nhiễm virus.

Theo sáng chế, virus bao gồm các virus HIV, HBV, CMV, HSV-1, HSV-2 và virus ecpet ở người, và tốt hơn là bao gồm virus HIV hoặc HBV. Muối tenofovir disoproxil edisylat theo sáng chế đặc biệt hữu ích trong việc điều trị bệnh nhiễm virus HIV-1 và bệnh viêm gan B mạn tính.

Theo sáng chế, muối tenofovir disoproxil edisylat, dạng tinh thể, hỗn hợp tinh thể, và tốt hơn nếu được phẩm thích hợp để sử dụng cho động vật máu nóng, và tốt hơn nữa nếu là người.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều chế muối tenofovir disoproxil edisylat bao gồm bước cho tenofovir disoproxil phản ứng với edisylat dihydrat. Tốt hơn, nếu tenofovir disoproxil và edisylat dihydrat được cho phản ứng với tỷ lệ mol nằm trong khoảng từ 1:0,5 đến 1,5. Tốt hơn nữa nếu phương pháp điều chế muối tenofovir disoproxil edisylat bao gồm bước cho tenofovir disoproxil phản ứng với

edisylat dihydrat với tỷ lệ mol nằm trong khoảng từ 1:0,5 đến 0,6.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế có thể được hiểu rõ hơn qua các ví dụ sau đây, các ví dụ này được đưa ra chỉ nhằm mục đích minh họa mà không được hiểu là giới hạn phạm vi của sáng chế và người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể cải biến và thay đổi các ví dụ nêu trên một cách thích hợp mà vẫn nằm trong phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1- Điều chế muối tenofovir disoproxil hemi-edisylat

Cho 200ml etanol khan, 10,0g tenofovir disoproxil, và 1,98g 1,1-etan disulfon dihydrat vào bình phản ứng có dung tích 500ml, khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 30°C trong 1 giờ, làm lạnh đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 5°C, khuấy trong 0,5 giờ, lọc, rửa bằng 20ml etanol khan, và làm khô dưới áp suất giảm ở nhiệt độ 40°C trong 4 giờ, để thu được 11,2g hợp chất tenofovir disoproxil hemi-edisylat màu trắng (độ tinh khiết 99,68%).

^1H NMR (500 MHz, DMSO) 8,44 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 5,54-5,45 (m, 4H), 4,82-4,77 (m, 2H), 4,38-4,35 (dd, 1H), 4,25-4,4,21 (dd, 1H), 4,01-3,90 (m, 3H), 2,67 (s, 2H), 1,23-1,22 (d, 12H), 1,09-1,08 (d, 3H) ppm

Fig.1a thể hiện phổ ^1H NMR của hợp chất tenofovir disoproxil hemi-edisylat.

Ví dụ so sánh 1- Điều chế hợp chất tenofovir disoproxil fumarat

Hợp chất tenofovir disoproxil fumarat được điều chế từ API được mua từ Trung Quốc.

Ví dụ so sánh 2- Điều chế hợp chất tenofovir disoproxil mono-edisylat

Hợp chất tenofovir disoproxil mono-edisylat được điều chế như sau.

Cho 30ml nước đã khử ion, 3,0g tenofovir disoproxil, và 1,2g (1,1 đương lượng) của hợp chất 1,1-etan disulfon dihydrat vào bình phản ứng có dung tích 100ml và khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 30°C trong thời gian 1 giờ. Sau khi phản ứng kết thúc, cô sản phẩm của phản ứng để loại bỏ nước đã khử ion, cho thêm 30ml toluen vào, và cô tiếp hỗn hợp để loại bỏ lượng nước đã khử ion còn lại.

Hòa tan phần cặn cô được trong 6ml metanol ở nhiệt độ trong phòng, khuấy trong 30 phút cùng với 6ml ete isopropyl, làm kết tinh, lọc, và làm khô dưới áp suất giảm ở nhiệt độ 40°C trong 4 giờ, thu được 3,4g hợp chất tenofovir disoproxil mono-edisylat màu trắng (độ tinh khiết 97,51%).

Fig.1b thể hiện cấu trúc của hợp chất tenofovir disoproxil hemi-edisylat theo sáng chế và tenofovir disoproxil mono-edisylat.

Ví dụ thử nghiệm 1- Đánh giá độ ổn định (trong điều kiện chịu stress) theo mức độ tạo ra các chất liên quan

(1) So sánh với muối tenofovir disoproxil fumarat

Để đánh giá độ ổn định (trong điều kiện chịu stress), theo hướng dẫn của Hội nghị quốc tế về sự hài hòa các yêu cầu kỹ thuật đối với việc đăng ký dược phẩm sử dụng trên người (ICH), hợp chất tenofovir disoproxil edisylat theo sáng chế (Ví dụ 1: TDE) và hợp chất tenofovir disoproxil fumarat (Ví dụ so sánh 1: TDF) làm nhóm đối chứng được sử dụng và phân tích bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký lỏng có hiệu năng cao (high-performance liquid chromatography: HPLC) như được nêu trong Dược điển Mỹ (U.S. Pharmacopeia: USP). Các kết quả được thể hiện trong Bảng 1 dưới đây (điều kiện chịu stress: 60±2°C).

Bảng 1

Các chất liên quan	Thời gian duy trì tương đối	TDF				TDE			
		Ban đầu	7 ngày	14 ngày	21 ngày	Ban đầu	7 ngày	14 ngày	21 ngày
Adenin	0,17	0,01	0,01	0,01	0,01	-	-	-	-
Tenofovir isoproxil monoeste	0,25	0,42	0,79	1,26	1,81	0,26	0,27	0,30	0,37
Tạp chất không xác định -1	0,49	-	0,01	0,05	-	-	-	-	-
Tạp chất không xác định -2	0,58	0,03	0,09	0,27	0,18	-	-	-	-
Tạp chất không xác định -3	0,64	0,02	0,03	0,04	0,03	-	-	-	-

Tenofovir disoproxil etyl este	0,81	-	-	-	-	0,01	0,02	0,01	0,02
Tenofovir isopropyl isoproxil	0,82	-	-	-	-	0,04	0,04	0,04	0,04
Tạp chất không xác định -4	1,10	-	-	0,04	-	-	-	-	-
Tạp chất không xác định -5	1,24	0,05	0,21	0,63	0,21	-	-	-	-
Tạp chất không xác định -6	1,30	-	-	0,07	-	-	-	-	-
Tạp chất không xác định -7	1,71	-	-	0,42	-	-	-	-	-

Như thấy rõ từ Bảng 1, hợp chất tenofovir disoproxil hemi-edisylat của sáng chế rất ổn định trong các điều kiện chịu stress so với hợp chất disoproxil fumarat. Cụ thể, các chất liên quan, được tạo ra từ hợp chất tenofovir disoproxil fumarat, rất hiếm khi được tạo ra trong hợp chất tenofovir disoproxil hemi-edisylat của sáng chế, do đó có thể kết luận rằng hợp chất tenofovir disoproxil hemi-edisylat của sáng chế duy trì độ tinh khiết cao. Trong số các chất liên quan xuất hiện trong giai đoạn ban đầu, chỉ lượng tenofovir isoproxil monoeste tăng lên và lượng các chất liên quan khác rất hiếm khi tăng lên. Ngoài ra, hợp chất tenofovir disoproxil hemi-edisylat có trong sản phẩm phân rã chính, đó là tenofovir isoproxil monoeste, với lượng 0,37%, do đó cải thiện đáng kể độ ổn định.

(2) Hợp chất tenofovir disoproxil mono-edisylat

Hợp chất tenofovir disoproxil hemi-edisylat theo sáng chế (Ví dụ 1: TDE (nửa muối)), dùng làm nhóm thử nghiệm, và hợp chất tenofovir disoproxil mono-edisylat (Ví dụ so sánh 2: TDE (muối đơn)), dùng làm nhóm đối chứng, được đánh giá về độ ổn định trong 3 tuần theo phương pháp giống như phương pháp nêu trong phần (1) trên đây. Các kết quả được thể hiện trên Fig.1c.

Như được thể hiện trên Fig.1c, hợp chất tenofovir disoproxil hemi-edisylat theo sáng chế rất ổn định trong điều kiện chịu stress so với hợp chất tenofovir

disoproxil mono-edisylat. Cụ thể, hợp chất tenofovir disoproxil hemi-edisylat theo sáng chế gần như không có các chất liên quan theo thời gian và do đó duy trì được độ tinh khiết cao của nó, và các chất liên quan được tạo ra với lượng rất nhỏ bằng 0,37 ở tuần thứ 3, do đó có độ ổn định gấp ít nhất 15 lần so với độ ổn định của tenofovir disoproxil mono-edisylat, trong đó quan sát được lượng chất liên quan bằng 5,62 trong cùng giai đoạn.

Do đó, hợp chất tenofovir disoproxil hemi-edisylat theo sáng chế có thể được khẳng định là dược chất có thể làm giảm đến mức tối thiểu sự tạo ra lượng chất liên quan để cho phép bảo quản trong các điều kiện tạo thuận lợi cho sự tăng lượng chất liên quan, và còn cho phép bảo quản trong thời gian dài.

Ví dụ thử nghiệm 2- đánh giá độ tan

Độ tan được cho là yếu tố quan trọng trong việc sản xuất dược chất. Trong trường hợp dược chất có hiệu quả cao nhưng có độ tan thấp, có thể khó phát triển sản phẩm. Nếu dược chất có độ tan thấp, nó có thể bị kết tủa và do đó sự hấp thu qua đường miệng có thể bị giảm đáng kể.

Độ tan bão hòa của hợp chất tenofovir disoproxil hemi-edisylat theo sáng chế (Ví dụ 1) và muối tenofovir disoproxil fumarat (Ví dụ so sánh 1) làm nhóm đối chứng được đánh giá. Các kết quả được thể hiện trong Bảng 2 dưới đây.

Bảng 2

Tenofovir disoproxil	DW (nước đã khử ion)	độ pH = 1,2	độ pH = 4,0	độ pH = 6,8
Fumarat (mg/ml)	13,5	39,2	13,2	9,4
Hemi-edisylat (mg/ml)	2200	2680	2280	2400

Ví dụ thử nghiệm 3 - đánh giá độ ổn định theo sự thay đổi độ pH

Khi dược chất được sử dụng qua đường miệng, dược chất này được hấp thu *in vivo* qua dạ dày, tá tràng, ruột non, v.v.. Do đó, độ ổn định theo sự thay đổi độ pH có ảnh hưởng đáng kể đến tốc độ giải phóng dược chất. Theo sáng chế, độ ổn định được xác định bằng cách sử dụng nước đã khử ion và ba dung dịch đệm có độ pH khác nhau (với độ pH = 1,2, 4,0, và 6,8) để thử nghiệm sự giải phóng dược chất. Phương

pháp thử nghiệm được thực hiện theo cách trong đó 5mg của mỗi hợp chất tenofovir disoproxil hemi-edisylat theo sáng chế và tenofovir disoproxil fumarat làm nhóm đối chứng được cân chính xác, hòa tan hoàn toàn trong 1ml hỗn hợp chứa axetonitril và nước (1:19), và sau đó cho thêm 9ml của mỗi dung dịch đệm có độ pH khác nhau nêu trên. Lấy các mẫu riêng biệt và cho vào buồng ở nhiệt độ 30°C và sự thay đổi lượng của chúng theo thời gian được định lượng bằng cách sử dụng phương pháp HPLC.

Fig.2 và Fig.3 thể hiện kết quả về độ ổn định theo sự thay đổi độ pH của hợp chất tenofovir disoproxil hemi-edisylat (Ví dụ 1: TDE) và tenofovir disoproxil fumarat (Ví dụ so sánh 1: TDF). Như được thể hiện trên Fig.2 và Fig.3, hợp chất tenofovir disoproxil hemi-edisylat theo sáng chế có độ ổn định bằng độ ổn định của sản phẩm tenofovir disoproxil fumarat thông thường.

Ví dụ thử nghiệm 4-phân tích đồ thị nhiễu xạ bột tia X (Powder X-ray diffraction: PXRD) (nhiễu xạ bột tia X, phân tích đồ thị nhiễu xạ tia X)

Đối với phương pháp nhiễu xạ bột tia X, đồ thị nhiễu xạ thay đổi khi cấu trúc tinh thể và dạng hợp chất của nguyên liệu là khác nhau. Các kết quả của chúng được so sánh với kết quả của nguyên liệu chuẩn để khẳng định cấu trúc tinh thể của nguyên liệu. Hợp chất tenofovir disoproxil hemi-edisylat theo sáng chế và các nhóm đối chứng, cụ thể là tenofovir disoproxil fumarat và tenofovir disoproxil mono-edisylat, được phân tích bằng cách sử dụng thiết bị Rigaku MiniFlex 600.

Muối tenofovir disoproxil hemi-edisylat A theo sáng chế có các giá trị của đỉnh nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.5, với các giá trị là 4,14°, 10,40°, 11,67°, 12,64°, 12,90°, 13,24°, 15,64°, 16,30°, 16,86°, 18,69°, 18,74°, 19,19°, 19,82°, 20,74°, 21,36°, 21,89°, 22,46°, 23,19°, 23,72°, 24,88°, 25,56°, 26,21°, và 27,04°.

Muối tenofovir disoproxil hemi-edisylat B theo sáng chế có các giá trị của đỉnh nhiễu xạ bột tia X đặc trưng được thể hiện trên Fig.6, với các giá trị là 3,32°, 4,18°, 5,13°, 7,31°, 8,59°, 10,01°, 10,42°, 10,97°, 11,56°, 12,64°, 12,95°, 13,25°, 14,67°, 15,53°, 16,39°, 17,33°, 18,15°, 18,75°, 19,28°, 19,93°, 20,44°, 20,81°, 21,37°, 22,03°, 22,49°, 22,84°, 23,28°, 23,75°, 24,66°, 25,00°, 25,65°, 26,36°, 27,1°,

27,76°, 28,16°, 28,79°, 30,31°, và 31,17°. Đã phát hiện được là có các dạng tinh thể khác với dạng tinh thể của hợp chất tenofovir disoproxil fumarat (US 5935946) và tenofovir disoproxil mono-edisylat.

Fig.4a thể hiện kết quả phân tích đồ thị nhiễu xạ tia X của muối tenofovir disoproxil fumarat.

Fig.4b thể hiện kết quả phân tích đồ thị nhiễu xạ tia X của muối tenofovir disoproxil mono-edisylat.

Fig.5 thể hiện kết quả phân tích đồ thị nhiễu xạ tia X của muối tenofovir disoproxil hemi-edisylat A.

Fig.6 thể hiện kết quả phân tích đồ thị nhiễu xạ tia X của muối tenofovir disoproxil hemi-edisylat B.

Ví dụ thử nghiệm 5- đo nhiệt lượng bằng tia quét vi phân (Differential scanning calorimetry: DSC)

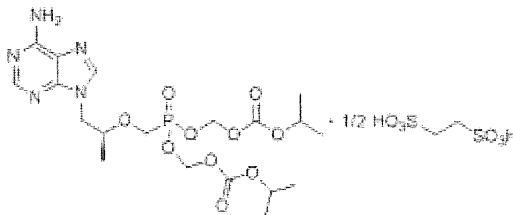
Phương pháp DSC được sử dụng rộng rãi để xác định sự thay đổi của dòng nhiệt với nhiệt độ, có liên quan đến sự truyền nhiệt của nguyên liệu. Muối tenofovir disoproxil hemi-edisylat theo sáng chế và các nhóm đối chứng, cụ thể là tenofovir disoproxil fumarat và tenofovir disoproxil mono-edisylat được xác định với tốc độ gia nhiệt là 20°C/phút trong môi trường nitơ bằng cách sử dụng thiết bị SCINCO DSC N650. Fig.7a thể hiện giá trị DSC xác định được của muối tenofovir disoproxil fumarat, Fig.7b thể hiện giá trị DSC xác định được của muối tenofovir disoproxil mono-edisylat, và Fig.8 thể hiện giá trị DSC xác định được của muối tenofovir disoproxil hemi-edisylat.

Khả năng ứng dụng trong công nghiệp

Theo sáng chế, muối tenofovir disoproxil edisylat có thể làm giảm đến mức tối thiểu sự tạo ra các chất liên quan theo thời gian so với muối tenofovir disoproxil fumarat, nhờ đó sự tạo ra tạp chất có thể được giảm đáng kể trong quá trình bảo quản các sản phẩm chứa muối theo sáng chế, nhờ đó làm tăng độ ổn định của dược chất và không cần thực hiện các nghiên cứu thêm về tác dụng gây độc.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Muối tenofovir disoproxil edisylat có công thức hóa học 1 dưới đây:



công thức hóa học 1.

2. Muối tenofovir disoproxil edisylat theo điểm 1, trong đó hợp chất có công thức hóa học 1 là muối hemi-edisylat và trong đó tenofovir disoproxil và muối edisylat được liên kết với tỷ lệ mol bằng 1:0,5.

3. Muối tenofovir disoproxil edisylat theo điểm 1, trong đó hợp chất có công thức hóa học 1 có các đỉnh của phổ cộng hưởng từ hạt nhân nguyên tử hydro (^1H nuclear magnetic resonance: ^1H NMR) sau đây:

^1H NMR (500 MHz, DMSO) 8,44 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 5,54-5,45 (m, 4H), 4,82-4,77 (m, 2H), 4,38-4,35 (dd, 1H), 4,25-4,4,21 (dd, 1H), 4,01-3,90 (m, 3H), 2,67 (s, 2H), 1,23-1,22 (d, 12H), và 1,09-1,08(d, 3H) ppm.

4. Muối tenofovir disoproxil edisylat theo điểm 1, trong đó hợp chất có công thức hóa học 1 có các giá trị của đỉnh nhiễu xạ bột tia X nêu trong mục (i) hoặc (ii) dưới đây:

(i) tenofovir disoproxil edisylat A:

4,14°, 10,40°, 11,67°, 12,64°, 12,90°, 13,24°, 15,64°, 16,30°, 16,86°, 18,69°, 18,74°, 19,19°, 19,82°, 20,74°, 21,36°, 21,89°, 22,46°, 23,19°, 23,72°, 24,88°, 25,56°, 26,21°, và 27,04°; hoặc

(ii) tenofovir disoproxil edisylat B:

3,32°, 4,18°, 5,13°, 7,31°, 8,59°, 10,01°, 10,42°, 10,97°, 11,56°, 12,64°, 12,95°, 13,25°, 14,67°, 15,53°, 16,39°, 17,33°, 18,15°, 18,75°, 19,28°, 19,93°,

20,44°, 20,81°, 21,37°, 22,03°, 22,49°, 22,84°, 23,28°, 23,75°, 24,66°, 25,00°, 25,65°, 26,36°, 27,1°, 27,76°, 28,16°, 28,79°, 30,31°, và 31,17°.

5. Muối tenofovir disoproxil edisylat dạng tinh thể, trong đó muối này có các giá trị của đỉnh nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.5.

6. Muối tenofovir disoproxil edisylat dạng tinh thể, trong đó muối này có các giá trị của đỉnh nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.6.

7. Dược phẩm chứa lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị của muối tenofovir disoproxil edisylat theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4.

8. Dược phẩm theo điểm 7, trong đó dược phẩm này được bào chế ở dạng liều dùng bao gồm viên nén, viên nang, bột, hạt, viên nhỏ giọt, thuốc bột, viên lớn duy nhất, cồn thuốc, hoặc thuốc đắp.

9. Phương pháp điều chế muối tenofovir disoproxil edisylat, bao gồm bước cho hợp chất tenofovir disoproxil phản ứng với edisylat dihydrat.

10. Phương pháp theo điểm 9, khác biệt ở chỗ, tenofovir disoproxil và edisylat dihydrat được cho phản ứng với tỷ lệ mol nằm trong khoảng từ 1:0,5 đến 1,5.

11. Phương pháp theo điểm 10, khác biệt ở chỗ, tenofovir disoproxil và edisylat dihydrat được cho phản ứng với tỷ lệ mol nằm trong khoảng từ 1:0,5 đến 0,6.

Fig.1a

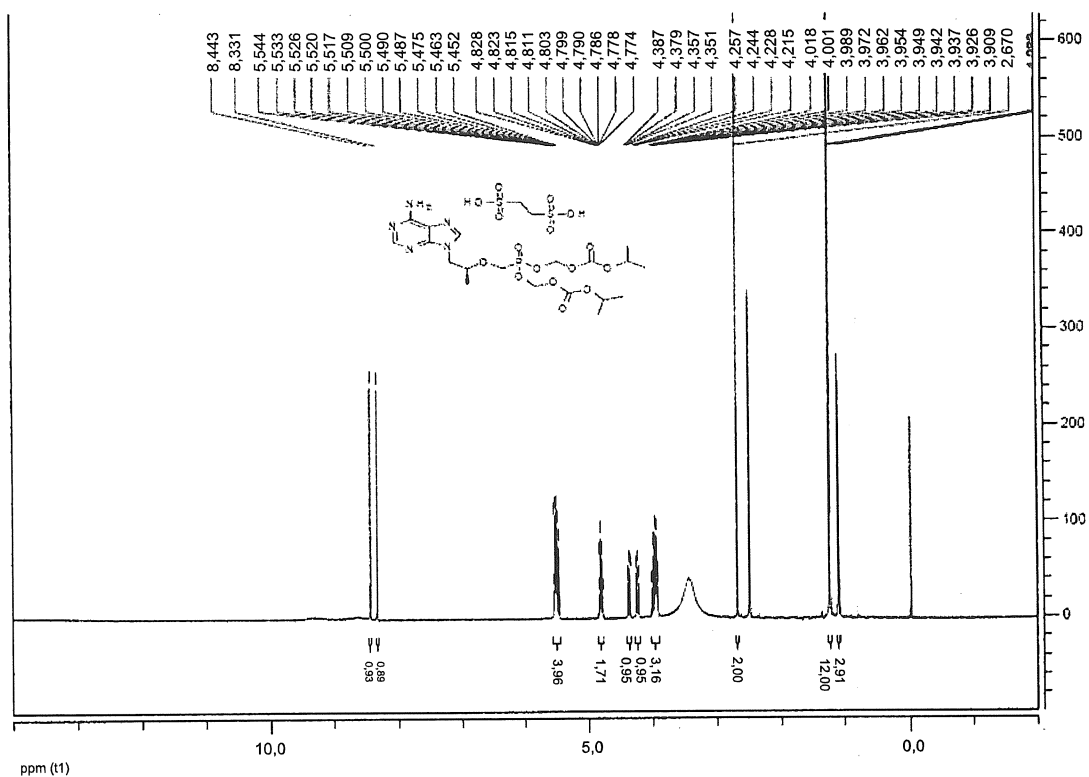


Fig.1b

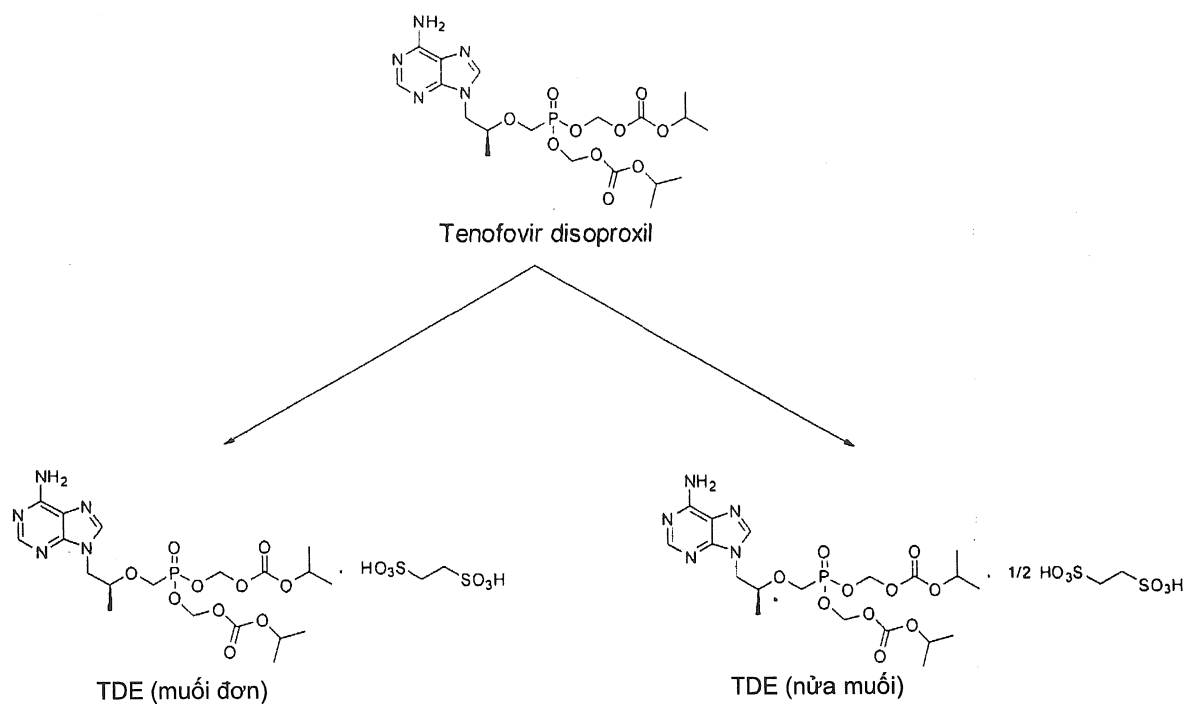


Fig.1c

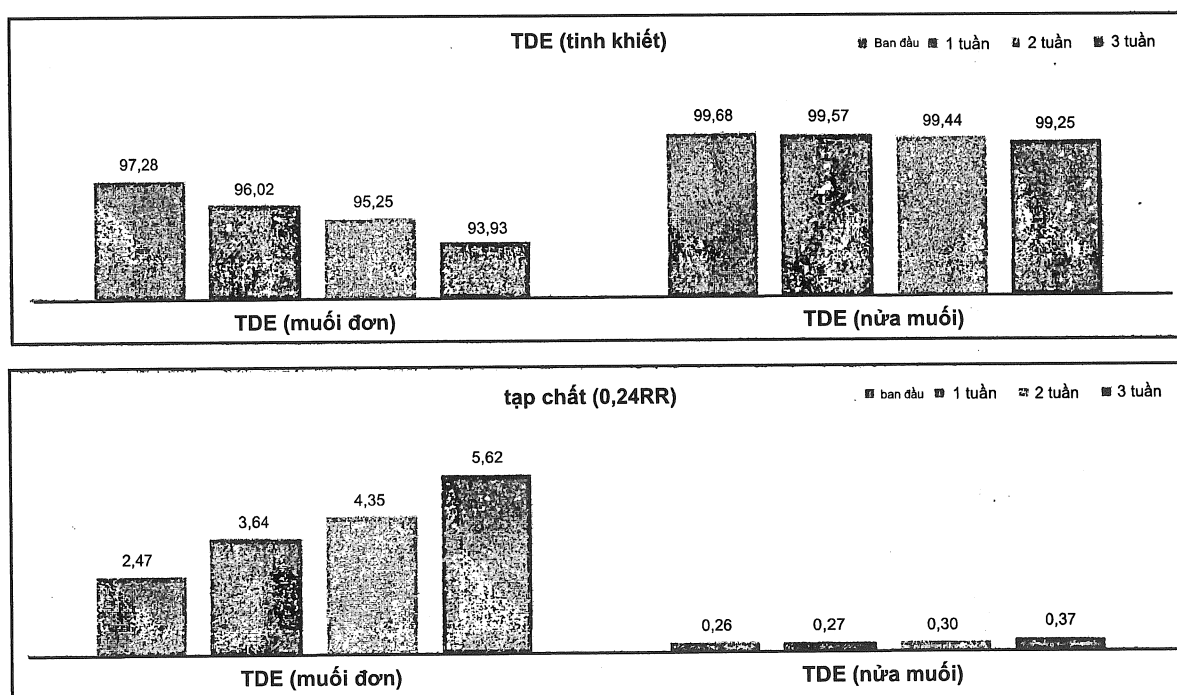


Fig.2

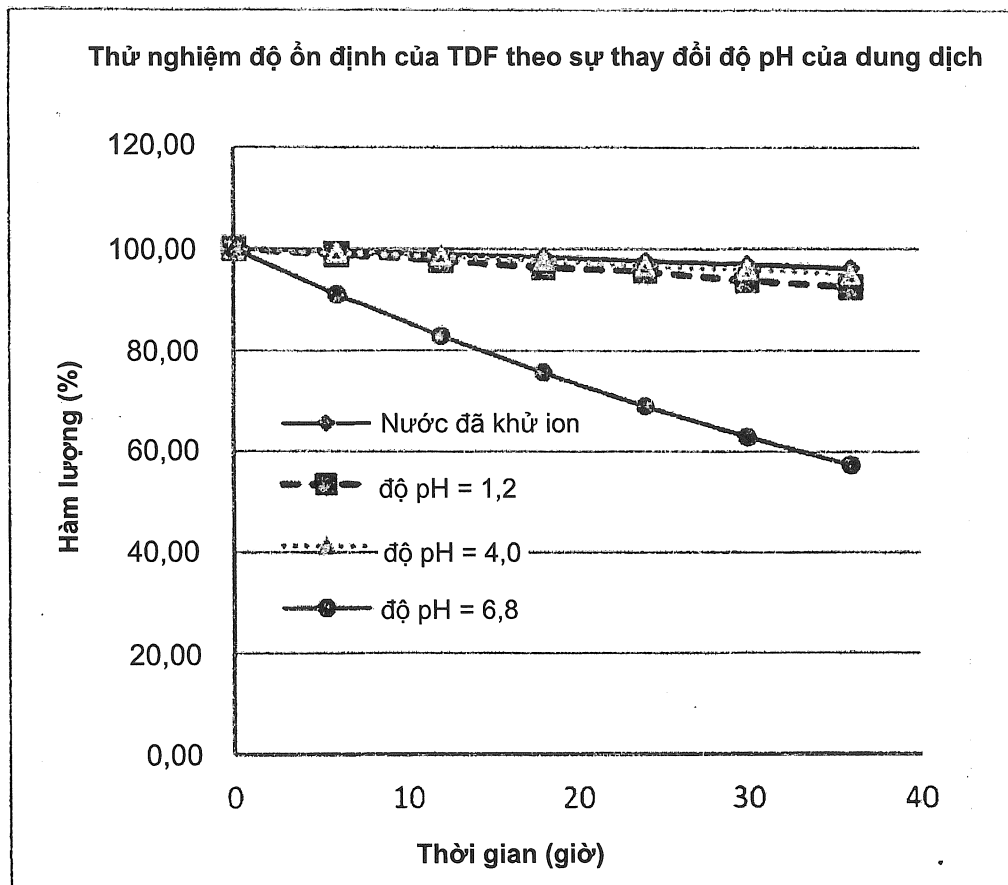


Fig.3

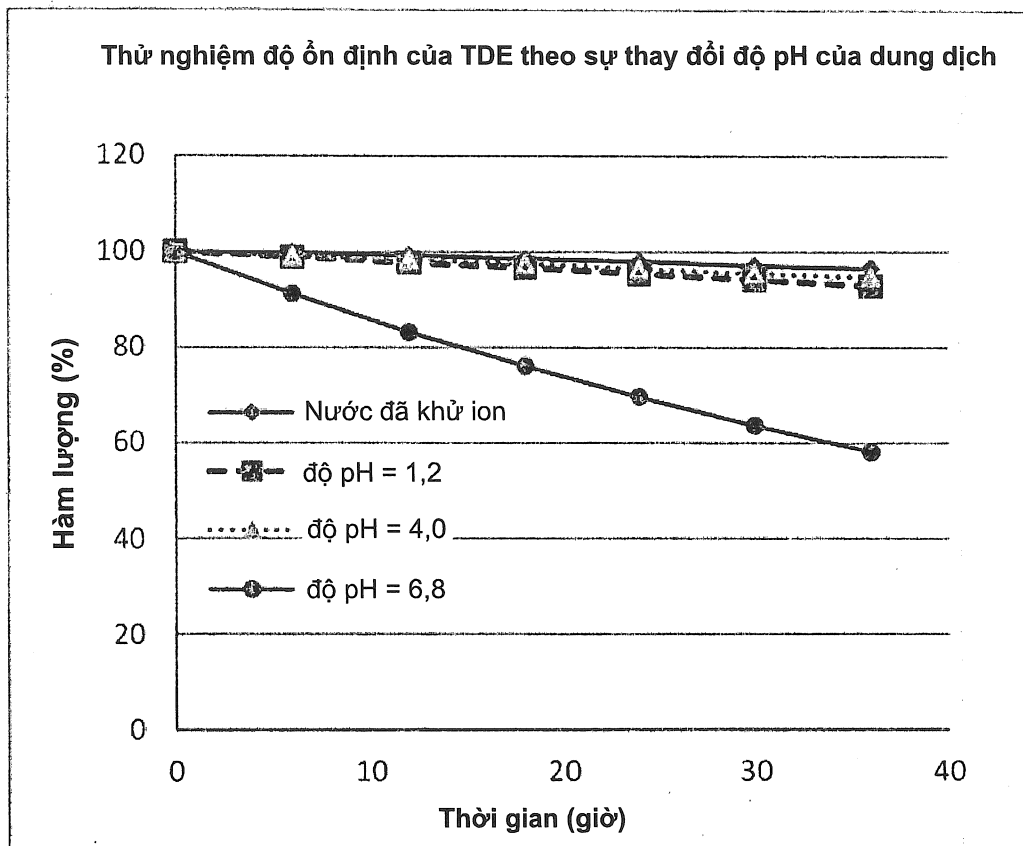


Fig.4a

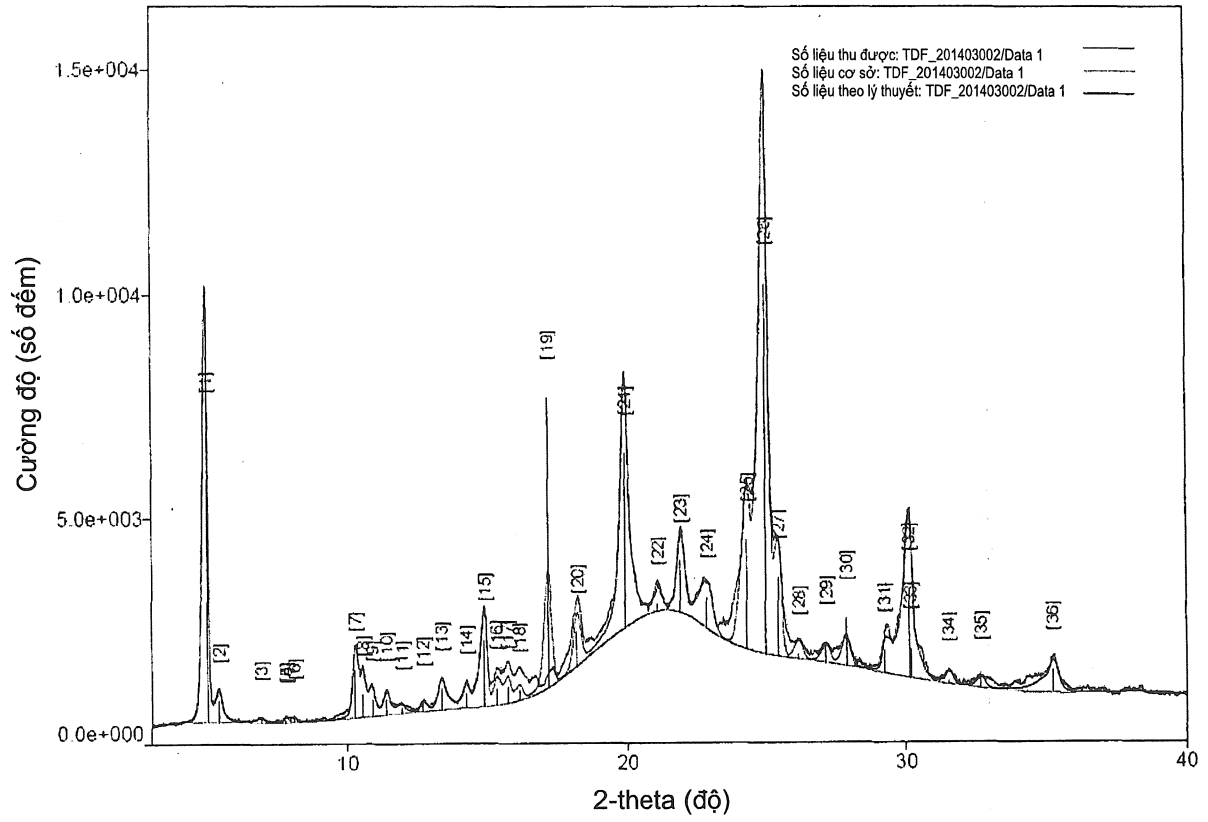


Fig.4b

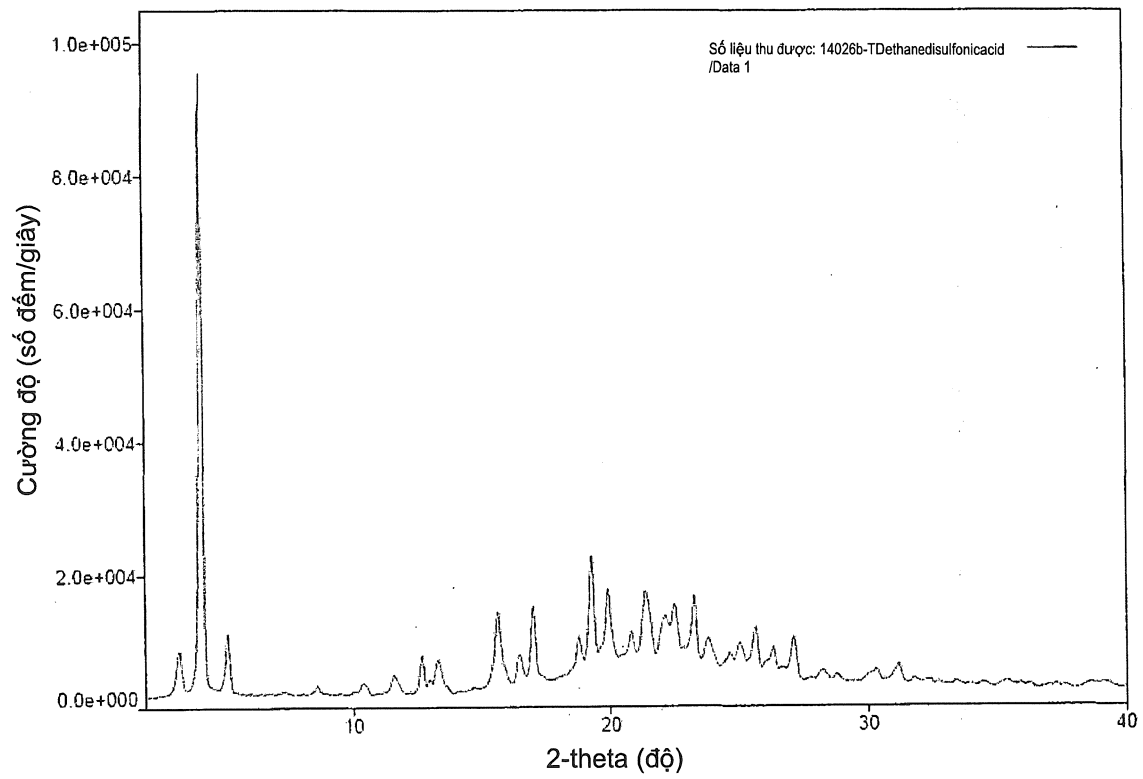


Fig.5

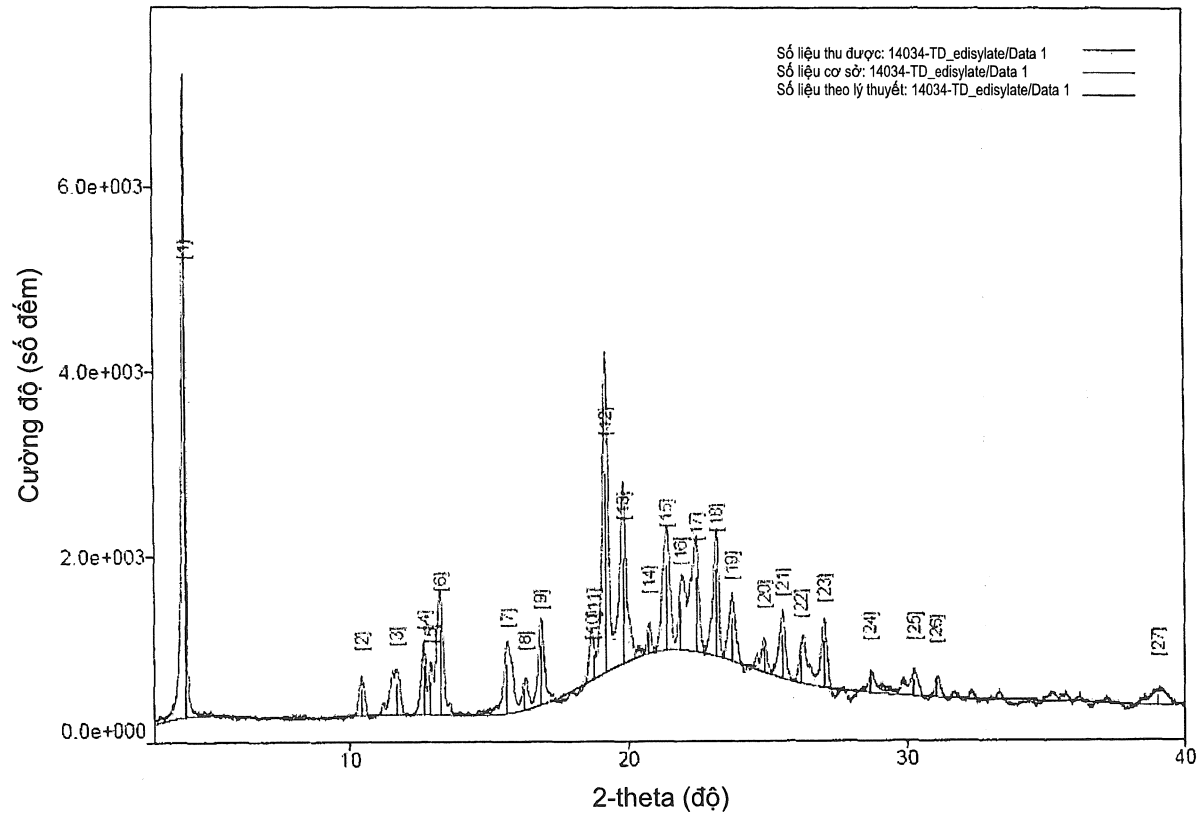


Fig.6

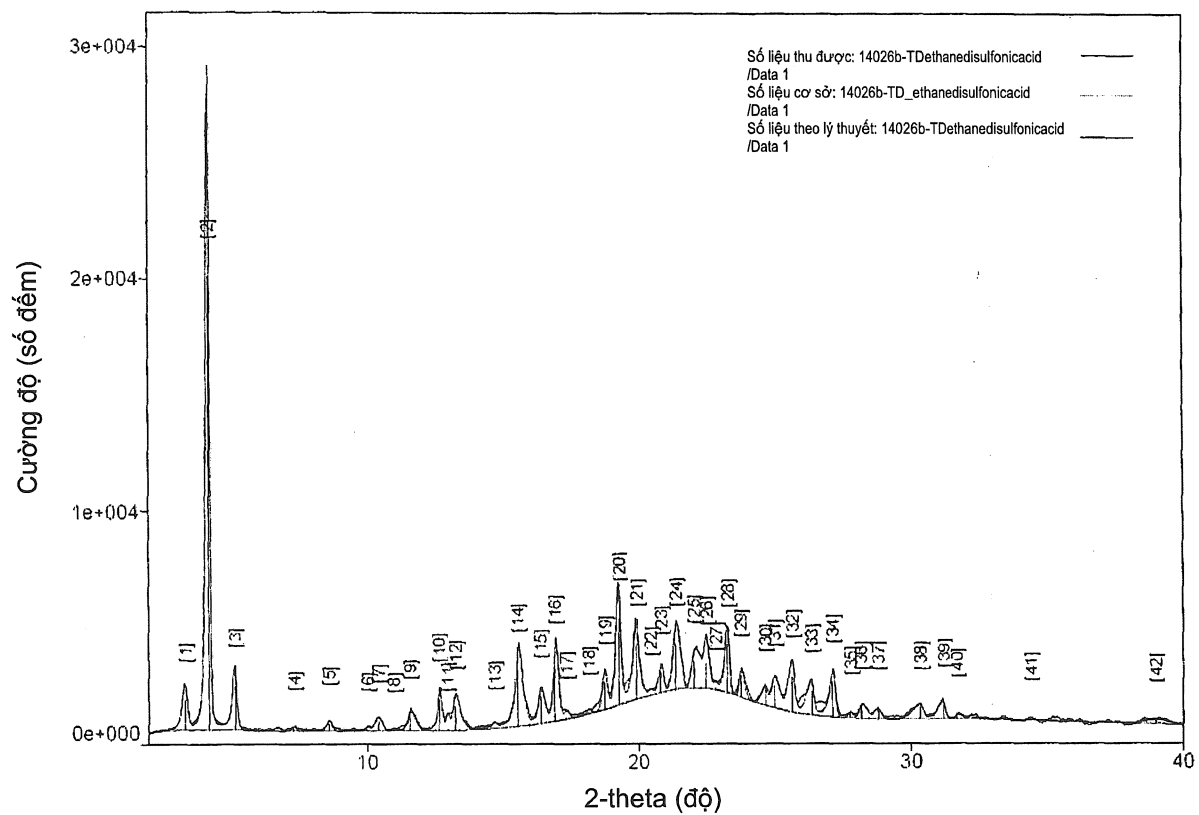


Fig.7a

Tên file: 14001-TDF.DSC
 Trọng lượng (mg): 1,00
 Mô tả 1: 14001-TDF
 Mô tả 2:

Người thực hiện:
 Ngày: 03/12/2014
 Thời gian: 11:39:43
 Thiết bị: DSC N 650

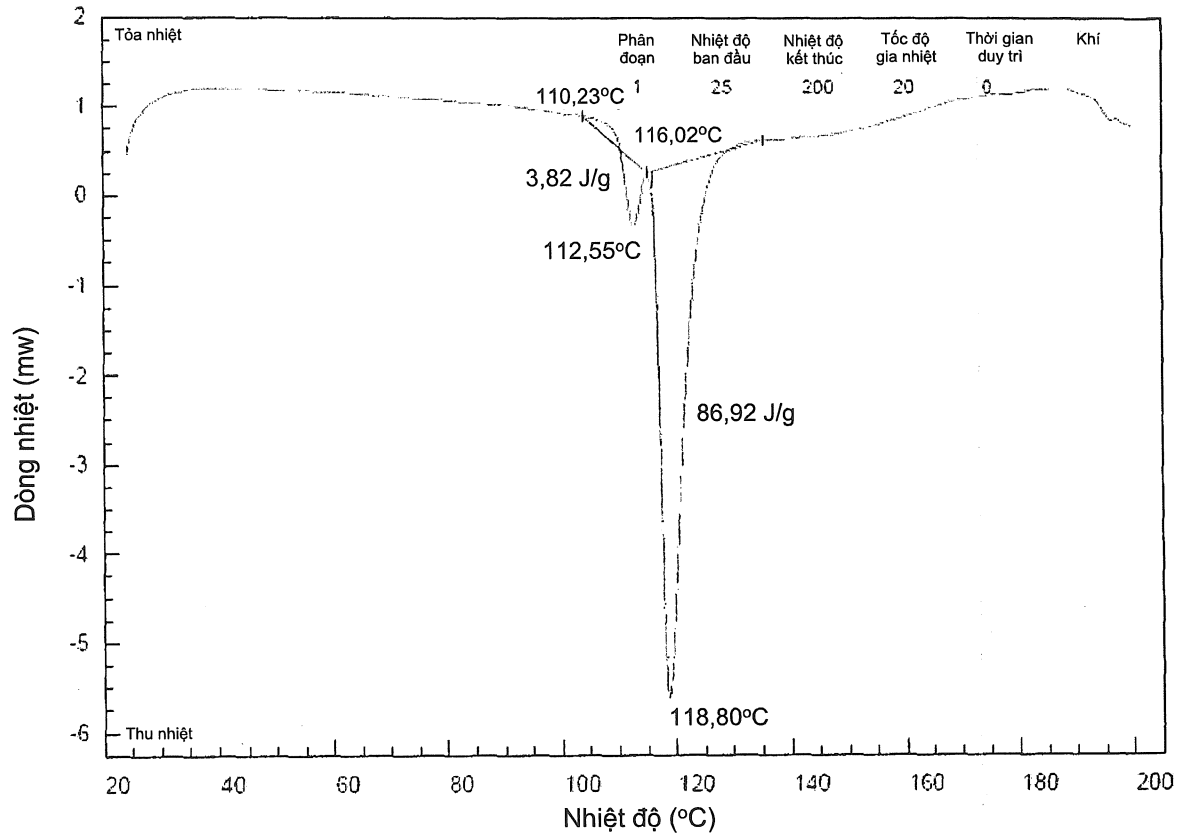


Fig.7b

JWP

Tên file: 14026b-TD_1.2 ethanedisulfonic acid MeOH IPE r1.DSC
 Trọng lượng (mg): 2,10
 Mô tả 1: 14026b-TD_1.2 ethanedisulfonic acid MeOH IPE dry
 Mô tả 2:

Người thực hiện:
 Ngày: 05/26/2014
 Thời gian: 17:04:46
 Thiết bị: DSC N 650

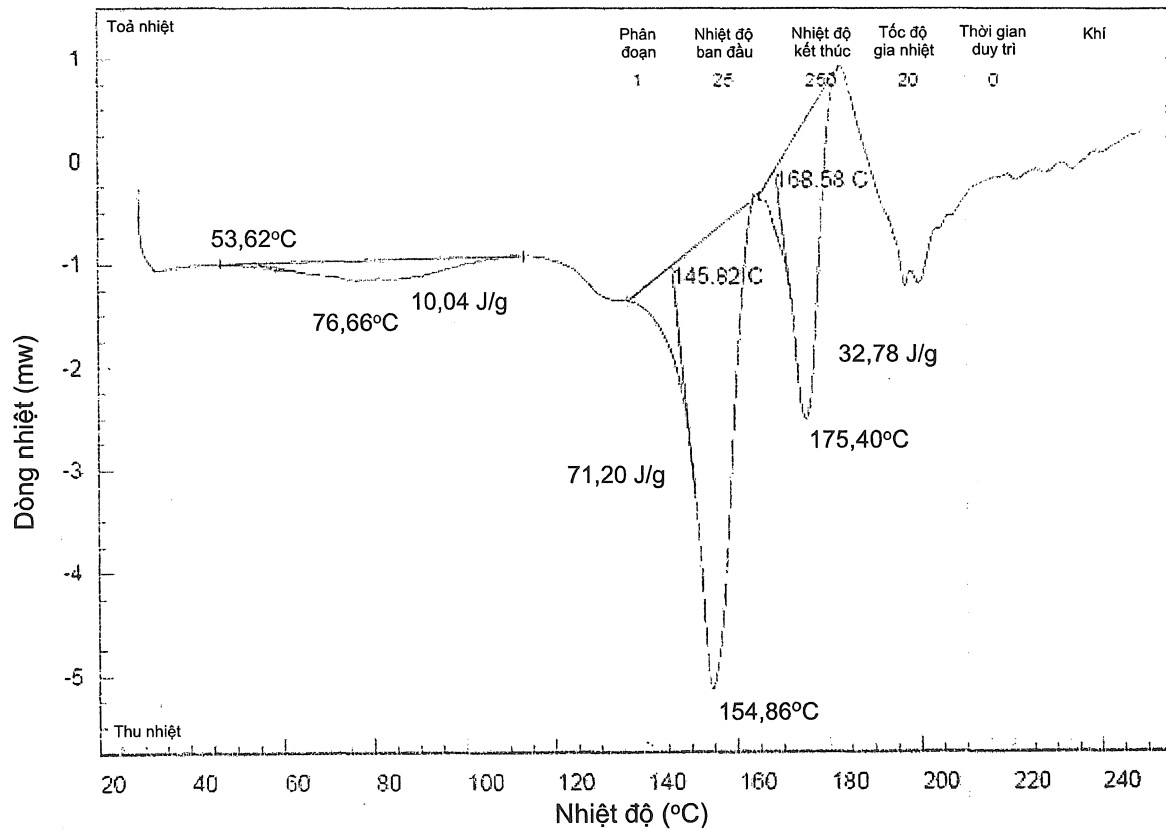


Fig.8

Tên file: 14034-TD_edisylate.DSC
 Trọng lượng (mg): 1,44
 Mô tả 1: 14034-TD_edisylate
 Mô tả 2:

Người thực hiện:
 Ngày: 07/08/2014
 Thời gian: 17:12:25
 Thiết bị: DSC N 650

