



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

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

(11)



1-0026820

(51)⁷ A61K 9/08; A61P 5/00; A61P 3/14;
A61K 38/08

(13) B

(21) 1-2016-00145

(22) 27/06/2014

(86) PCT/US2014/044622 27/06/2014

(87) WO2014/210489 31/12/2014

(30) 61/840,618 28/06/2013 US

(45) 25/12/2020 393

(43) 27/06/2016 339A

(73) AMGEN INC. (US)

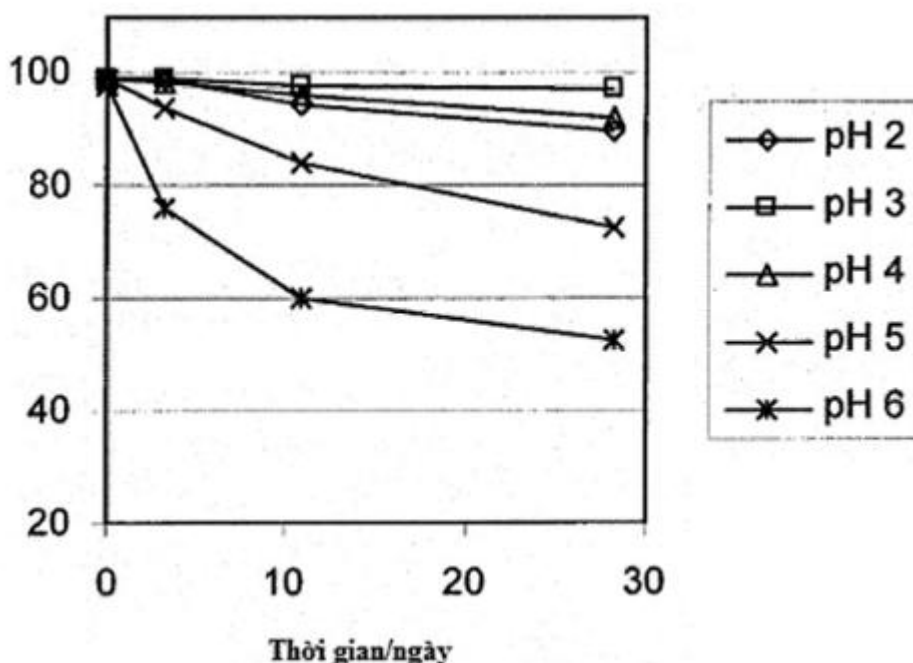
One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, California 91320, United States of America

(72) MACLEAN Derek (US); YIN Qun (CN).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) DƯỢC PHẨM ỔN ĐỊNH DẠNG LÔNG CHỨA ETELCALXETIT (AMG 416)

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm dạng lỏng chứa chất chủ vận peptit của thụ thể nhảy canxi (etelcalcetrit, còn được gọi là AMG 461), dung dịch đậm, chất điều chỉnh trương lực và phương pháp bào chế chúng.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

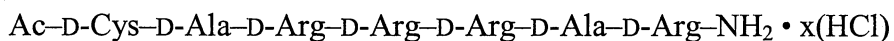
Sáng chế đề cập đến được phẩm dạng lỏng chứa chất chủ vận peptit của thụ thể nhạy canxi, đặc biệt là được phẩm vẫn ổn định sau khi bảo quản trong một khoảng thời gian dài. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp bào chế được phẩm này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Nhiều hợp chất có hoạt tính làm giảm nồng độ hormon tuyến cận giáp đã được mô tả. Xem WO 2011/014707. Theo một phương án, hợp chất này có thể có công thức sau:



Mạch chính có 7 axit amin, tất cả ở dạng cấu hình D và gốc xystein mạch bên ở dạng cấu hình L. Đầu cuối amino được axetyl hóa và đầu cuối carboxyl được amit hóa. Hợp chất này (“AMG-416”) có tính hữu dụng để điều trị bệnh cường tuyến cận giáp thứ phát (secondary hyperparathyroidism - SHPT) ở bệnh nhân thận tách máu. Được phẩm dạng lỏng chứa AMG-416 có thể cho đối tượng dùng theo đường tĩnh mạch. Muối hydroclorua của AMG-416 có thể có công thức sau:



Peptit trị liệu đặt ra một số thách thức đối với được phẩm chứa chúng. Peptit nói chung, và đặc biệt là các peptit chứa một liên kết disulfua, thường chỉ có độ ổn định trung bình hoặc kém trong dung dịch nước. Peptit dễ bị thủy phân liên kết amit ở cả độ pH thấp lẫn cao. Liên kết disulfua có thể không ổn định ngay cả trong các điều kiện khá nhẹ (gần với độ pH trung tính). Ngoài ra, peptit chứa disulfua không phải dạng vòng thường đặc biệt dễ tạo ra đime. Do đó, peptit trị liệu thường được cung cấp ở dạng đông khô nhanh, dưới dạng bột khô hoặc bánh, để hoàn nguyên sau. Được phẩm đông khô chứa peptit trị liệu có ưu điểm là có độ ổn định trong một khoảng thời gian dài, nhưng nó lại

không thuận tiện khi sử dụng vì nó đòi hỏi phải bổ sung một hoặc nhiều chất pha loãng và có nguy cơ tiềm ẩn xảy ra lỗi do việc sử dụng loại hoặc lượng chất pha loãng không đúng, cũng như nguy cơ nhiễm tạp. Ngoài ra, quá trình đông khô tiêu tốn nhiều thời gian và chi phí.

Do đó, có nhu cầu về dược phẩm dạng lỏng chứa chất chủ vận peptit của thụ thể nhạy canxi như AMG 416. Mong muốn có được phẩm dạng lỏng ổn định trong một khoảng thời gian dài trong điều kiện bảo quản thích hợp và thích hợp để dùng qua đường tiêm tĩnh mạch hoặc các đường dùng khác.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất được phẩm dạng lỏng chứa chất chủ vận peptit của thụ thể nhạy canxi, như etelcalxetit (AMG 416).

Theo một phương án, dược phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 2,0 đến 5,0. Theo một phương án khác, dược phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 2,5 đến 4,5. Theo một phương án khác, dược phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 2,5 đến 4,0. Theo một phương án khác, dược phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 3,0 đến 3,5. Theo một phương án khác, dược phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 3,0 đến 4,0. Theo một phương án khác, dược phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 2,8 đến 3,8.

Theo phương án khác, độ pH của dược phẩm này được duy trì bằng dung dịch đệm được dụng. Các dung dịch đệm như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dung dịch đệm succinat, dung dịch đệm axetat, dung dịch đệm xitrat và dung dịch đệm phosphat. Theo phương án khác, dung dịch đệm là dung dịch đệm succinat. Độ pH của dược phẩm này có thể được điều chỉnh, nếu cần, bằng axit hoặc bazơ như HCl hoặc NaOH.

Theo phương án khác, chất chủ vận peptit của thụ thể nhạy canxi có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1mg/mL đến 20mg/mL. Theo phương án khác, peptit có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mg/mL đến 15mg/mL. Theo phương án khác, peptit có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 2,5mg/mL đến 10mg/mL. Theo phương án khác, peptit có mặt ở nồng độ khoảng 1mg/mL, 5mg/mL hoặc 10mg/mL.

Theo phương án khác, AMG 416 có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1mg/mL đến 20mg/mL. Theo một phương án, AMG 416 có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mg/mL đến 15mg/mL. Theo phương án khác, AMG 416 có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 2,5mg/mL đến 10mg/mL. Theo phương án khác, AMG 416 có mặt ở nồng độ khoảng 1mg/mL, 2,5mg/mL, 5mg/mL hoặc 10mg/mL.

Theo phương án khác, AMG 416 có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1mg/mL đến 20mg/mL. Theo một phương án, AMG 416 có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mg/mL đến 15mg/mL. Theo phương án khác, AMG 416

có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 2,5mg/mL đến 10mg/mL. Theo phương án khác, AMG 416 có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mg/mL đến 5mg/mL. Theo phương án khác, AMG 416 có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 5mg/mL đến 10mg/mL. Theo phương án khác, AMG 416 có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5mg/mL, từ 2,0 đến 3,0mg/mL, từ 4,5 đến 5,5mg/mL hoặc từ 9,5 đến 10,5mg/mL

Theo phương án khác, dược phẩm này còn chứa chất điều chỉnh trương lực được dụng hoặc hỗn hợp chứa chất điều chỉnh trương lực được dụng. Theo phương án khác, chất điều chỉnh trương lực (hoặc hỗn hợp của chất điều chỉnh trương lực) có mặt ở nồng độ đủ để dược phẩm này có tính gần như đẳng trương với dịch cơ thể (ví dụ, máu người). Theo một khía cạnh khác, chất điều chỉnh trương lực là NaCl.

Theo phương án khác, dược phẩm này chứa lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị bệnh của chất chủ vận peptit của thụ thể nhạy canxi. Theo một phương án được ưu tiên, dược phẩm này chứa lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị bệnh của AMG 416.

Theo phương án khác, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 10% khi được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C trong thời gian đến 2 năm. Theo phương án khác, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 10% khi được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C trong thời gian đến 3 năm. Theo phương án khác, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 10% khi được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C trong thời gian đến 4 năm.

Theo phương án khác, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 8% khi được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C trong thời gian đến 2 năm. Theo phương án khác, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 8% khi được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C trong thời gian đến 3 năm. Theo phương án khác, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 8% khi được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C trong thời gian đến 4 năm.

Theo phương án khác, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 10% khi được bảo quản ở nhiệt độ trong phòng trong 3 tháng. Theo phương án khác, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 10% khi được bảo quản ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian đến 6 tháng. Theo phương án khác, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 10% khi được bảo quản ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian đến 1 năm.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa chất chủ vận peptit của thụ thể nhạy canxi (ví dụ, AMG 416) với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,5mg/mL đến 20mg/mL trong dung dịch nước, dung dịch đệm succinat duy trì dược phẩm này ở độ pH nằm trong khoảng từ 3,0 đến 3,5, và nồng độ natri clorua đủ để cho dược phẩm này gần đẳng trương với máu người.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là các đồ thị thể hiện độ tinh khiết (%) dưới dạng hàm theo thời gian (ngày) đối với dung dịch AMG 416 trong dung dịch nước muối đệm succinat (độ pH = 4,5) ở nhiệt độ trong phòng (RT). Fig.1A là đồ thị thể hiện độ ổn định của dung dịch AMG 416 có nồng độ AMG 416 là 200, 66, 20, 6,7, 2,2 và 0,67mg/mL. Trên Fig.1B, phạm vi được mở rộng để minh họa một cách rõ ràng hơn kiểu thoái biến ở nồng độ 20mg/mL và thấp hơn.

Fig.2 là đồ thị thể hiện độ tinh khiết (%) dưới dạng hàm theo thời gian (ngày) đối với dung dịch AMG 416 trong dung dịch nước muối đệm succinat (độ pH = 4,5) ở 40°C có nồng độ AMG 416 là khoảng 20, 6,7, 2,2 và 0,67mg/mL.

Fig.3 là các đồ thị thể hiện độ tinh khiết (%) dưới dạng hàm theo thời gian (ngày) đối với dung dịch AMG 416 trong dung dịch nước muối đệm succinat (độ pH = 2, 3, 4, 5 và 6) ở 40°C. Trên Fig.3A, nồng độ của AMG 416 là 10mg/mL và trên Fig.3B nồng độ của AMG 416 là 2,5mg/mL.

Fig.4 là các đồ thị thể hiện độ tinh khiết (%) ở 28 ngày dưới dạng hàm của độ pH là đối với dung dịch AMG 416 trong dung dịch nước muối đệm succinat ở nhiệt độ 2-8°C, RT và 40°C. Trên Fig.4A, nồng độ của AMG 416 là 10mg/mL và trên Fig.4B nồng độ của AMG 416 là 2,5mg/mL.

Fig.5 là các hình vẽ thể hiện hình ảnh sắc ký HPLC. Vết HPLC trên Fig.5A là đối với dung dịch AMG 416 (5mg/mL, độ pH = 2,25) được bảo quản trong 27 ngày ở 40°C (độ tinh khiết 87,8%). Trên Fig.5B, phạm vi được mở rộng để minh họa một cách rõ ràng hơn các đỉnh.

Fig.6 là các hình vẽ thể hiện hình ảnh sắc ký HPLC. Vết HPLC trên Fig.6A là đối với dung dịch AMG 416 (5mg/mL, độ pH = 3,5) được bảo quản trong 27 ngày ở 40°C (độ tinh khiết 91,7%). Trên Fig.6B, phạm vi được mở rộng để minh họa một cách rõ ràng hơn các đỉnh.

Fig.7 là đồ thị thể hiện độ tinh khiết (%) dưới dạng hàm theo thời gian (ngày) đối với một loạt dung dịch AMG 416 (5mg/mL) trong dung dịch nước muối đệm succinat (độ pH = 2,25, 2,5, 3,0 và 3,5) ở nhiệt độ 2-8°C.

Fig.8 là đồ thị thể hiện độ tinh khiết (%) dưới dạng hàm theo thời gian (ngày) đối với các dung dịch AMG 416 (5mg/mL) trong dung dịch nước muối đệm succinat (độ pH = 2,25, 2,5, 3,0 và 3,5) ở nhiệt độ trong phòng.

Fig.9 là đồ thị thể hiện độ tinh khiết (%) dưới dạng hàm theo thời gian (ngày) đối với các dung dịch AMG 416 (5mg/mL) trong dung dịch nước muối đệm succinat (độ pH = 2,25, 2,5, 3,0 và 3,5) ở 40°C.

Fig.10 là các đồ thị thể hiện mức thoái biến (%) dưới dạng hàm theo thời gian (ngày) đối với các dung dịch AMG 416 (5mg/mL) trong dung dịch nước muối đệm succinat (độ pH = 2,25, 2,5, 3,0 và 3,5). Diễn biến theo thời gian của quá trình khử amit đầu tận cùng C được thể hiện ở nhiệt độ 2-8°C

(Fig.10A), RT (Fig.10B) và ở 40°C (Fig.10C). Lưu ý rằng phạm vi của của trục y là khác nhau trong mỗi đồ thị.

Fig.11 là các đồ thị thể hiện mức thoái biến (%) dưới dạng hàm theo thời gian (ngày) đối với các dung dịch AMG 416 (5mg/mL) trong dung dịch nước muối đệm succinat (độ pH = 2,25, 2,5, 3,0 và 3,5). Khoảng thời gian tạo ra homodime được thể hiện ở nhiệt độ 2-8°C (Fig.11A), RT (Fig.11B) và ở 40°C (Fig.11C). Lưu ý rằng phạm vi của trục y của Fig.11C là khác với phạm vi của trục y của Fig.11A và 11B.

Fig.12 là các đồ thị thể hiện độ tinh khiết (%) dưới dạng hàm của độ pH (2,8-3,8), nồng độ AMG 416 (4-6mg/mL) và NaCl (0,7-1,0%) đối với các dung dịch trong dung dịch nước muối đệm succinat được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C (Fig.12A), 25°C (Fig.12B) và 40°C (Fig.12C).

Fig.13 là các đồ thị thể hiện độ tinh khiết (%) dưới dạng hàm theo thời gian (tháng) đối với các dung dịch AMG 416 (3,4mg/mL) trong dung dịch nước muối đệm succinat (độ pH = 2,5, 3,0, 3,5) được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C (Fig.13A), 25°C (Fig.13B) và 40°C (Fig.13C).

Mô tả chi tiết sáng chế

Các đề mục dùng trong bản mô tả này chỉ nhằm mục đích cấu trúc và không được hiểu là giới hạn đối tượng được mô tả.

Trừ khi có quy định khác trong bản mô tả, các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật được sử dụng liên quan đến đơn sáng chế sẽ có nghĩa như được hiểu thông thường bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ngoài ra, trừ khi có quy định khác trong bản mô tả, các thuật ngữ số ít sẽ bao hàm số nhiều và các thuật ngữ số nhiều sẽ bao hàm số ít.

Nói chung, các danh pháp được sử dụng liên quan đến, và các kỹ thuật về, sinh học phân tử và hóa học protein được mô tả trong bản mô tả này là các danh pháp đã biết và thường được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các phương pháp và kỹ thuật của đơn sáng chế thường được thực hiện theo các phương pháp thông thường đã biết trong lĩnh vực này và như được mô tả trong các tài liệu tham khảo chung và chuyên ngành khác nhau được đề cập và mô tả trong toàn bộ phần mô tả sáng chế, trừ khi có chỉ dẫn khác. Xem, ví dụ, Laszlo, *Peptide-Based Drug Design: Methods and Protocols*, Humana Press (2008); Benoiton, *Chemistry of Peptide Synthesis*, CRC Press (2005); Ausubel *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates (1992), được đưa vào trong bản mô tả này bằng cách viện dẫn nhằm mục đích bất kỳ. Phương pháp tinh chế được thực hiện theo thông số kỹ thuật của nhà sản xuất, như thường được thực hiện trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc như được mô tả trong bản mô tả này. Thuật ngữ được sử dụng liên quan đến, và các phương pháp và kỹ thuật thí nghiệm của, hóa học phân tích, hoá hữu cơ tổng hợp, và hóa dược và hóa y được mô tả trong bản mô tả này là các thuật ngữ đã biết và

thường được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các kỹ thuật chuẩn có thể được sử dụng để tổng hợp hóa học, phân tích hóa học, bào chế dược phẩm, pha chế, và phân phối, và điều trị bệnh nhân.

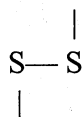
Cần phải hiểu rằng phần bộc lộ này không chỉ giới hạn ở phương pháp, quy trình, và chất phản ứng cụ thể, v.v, được mô tả trong bản mô tả này và phương pháp, quy trình, và chất phản ứng cụ thể có thể thay đổi. Thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả này chỉ nhằm mục đích mô tả các phương án cụ thể, và không được dự định để giới hạn phạm vi sáng chế, được xác định hoàn toàn bởi yêu cầu bảo hộ.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “khoảng” trong ngữ cảnh của giá trị hoặc khoảng đã cho dùng để chỉ giá trị hoặc khoảng nằm trong phạm vi 20%, tốt hơn là trong phạm vi 10%, và tốt hơn nữa là trong phạm vi 5% giá trị hoặc khoảng đã cho

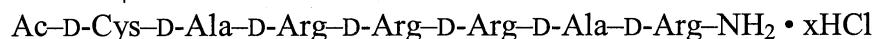
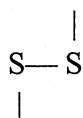
I. Định nghĩa chung

Theo quy tắc, khi được sử dụng trong bản mô tả này, “một” có nghĩa là “một hoặc nhiều”, trừ khi có chỉ dẫn khác.

Thuật ngữ “AMG 416” (còn được gọi là etelcalxetit, tên trước đây là velcalxetit) dùng để chỉ hợp chất có tên hóa học: *N*-axetyl-D-xysteiny-D-alanyl-D-arginyl-D-arginyl-D-arginyl-D-arginyl-D-alanyl-D-arginamit disulfua với L-xystein, có thể có công thức sau:



Các thuật ngữ “AMG 416 hydroclorua” hoặc “AMG 416 HCl” có thể được dùng thay đổi cho nhau và dùng để chỉ hợp chất có tên hóa học: *N*-axetyl-D-xysteiny-D-alanyl-D-arginyl-D-arginyl-D-arginyl-D-arginyl-D-alanyl-D-arginamit disulfua với L-xystein hydroclorua, có thể có công thức sau:



Trong bản mô tả này, các thuật ngữ “axit amin” và “gốc” có thể được dùng thay đổi cho nhau và, khi được sử dụng trong ngữ cảnh của peptit hoặc polypeptit, dùng để chỉ cả axit amin tự nhiên và tổng hợp cũng như các chất tương tự axit amin, chất bắt chước axit amin và axit amin không tự nhiên là tương tự về mặt hóa học với axit amin tự nhiên.

Thuật ngữ “điều trị” dùng để chỉ các dấu hiệu thành công bất kỳ trong điều trị hoặc cải thiện tổn thương, bệnh lý hoặc tình trạng bệnh lý, bao gồm các thông số chủ quan hoặc khách quan bất kỳ như thuyên giảm; miễn giảm; giảm bớt các dấu hiệu hoặc các triệu chứng hoặc làm cho tổn thương, bệnh lý hoặc tình trạng bệnh lý chịu được tốt hơn đối với người bệnh; làm chậm tốc độ thoái

biến hoặc suy yếu; làm cho điểm thoái biến cuối suy yếu ít hơn; cải thiện tinh thần và thể chất của người bệnh tốt hơn. Điều trị hoặc cải thiện các dấu hiệu hoặc các triệu chứng có thể dựa vào các thông số khách quan và chủ quan; bao gồm kết quả khám sức khỏe, ví dụ, điều trị SHPT bằng cách làm giảm mức gia tăng của hormon tuyến cận giáp (PTH).

Các thuật ngữ “liều lượng có tác dụng điều trị” và “lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị,” khi được sử dụng trong bản mô tả này, nghĩa là lượng tạo ra được đáp ứng thuốc hoặc đáp ứng sinh học trong hệ mô, động vật, hoặc người được tìm ra bởi nhà nghiên cứu, bác sỹ, hoặc bác sỹ lâm sàng khác, bao gồm làm thuyên giảm hoặc cải thiện các dấu hiệu hoặc các triệu chứng của bệnh lý hoặc rối loạn được điều trị, ví dụ, một lượng AMG 416 làm giảm được mức PTH gia tăng mong muốn.

Thuật ngữ “nhiệt độ trong phòng” khi được sử dụng trong bản mô tả này dùng để chỉ nhiệt độ khoảng 25°C. Việc bảo quản trong “điều kiện lạnh” khi được sử dụng trong bản mô tả này dùng để chỉ việc bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C.

Các thuật ngữ “peptit”, “polypeptit” và “protein” có thể được dùng thay đổi cho nhau và dùng để chỉ polyme của axit amin, thường được nối với nhau qua liên kết peptit hoặc disulfua. Các thuật ngữ này cũng áp dụng với polyme axit amin trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin là chất đồng phân hoặc chất bất chước của axit amin tự nhiên tương ứng, cũng như với polyme axit amin tự nhiên. Các thuật ngữ cũng có thể bao gồm polyme axit amin đã được cải biến, ví dụ, bằng cách bổ sung gốc hydratcacbon để tạo ra glycoprotein, hoặc phosphoryl hoá. Peptit, polypeptit và protein có thể được sản xuất bằng cách tổng hợp pha lỏng hoặc tổng hợp pha rắn hoặc bằng kỹ thuật di truyền hoặc tế bào tái tổ hợp.

“Biến thể” của peptit hoặc polypeptit bao gồm trình tự axit amin trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin được cài xen vào, được gây khuyết đoạn và/hoặc được thế vào trình tự axit amin so với trình tự polypeptit khác. Các biến thể bao gồm các protein dung hợp.

“Dẫn xuất” của peptit hoặc polypeptit là peptit hoặc polypeptit đã được cải biến về mặt hóa học theo một số cách khác với cài xen, gây khuyết đoạn, hoặc thay thế các biến thể, ví dụ, nhờ kết hợp với gốc hóa học khác. Cải biến như vậy có thể bao gồm bổ sung cộng hóa trị nhóm vào các đầu tận amino và/hoặc carboxy của peptit hoặc polypeptit, ví dụ, axetyl hóa đầu tận amino và/hoặc amit hóa đầu tận carboxy của peptit hoặc polypeptit.

Thuật ngữ “axit amin” bao gồm nghĩa bình thường của nó trong lĩnh vực kỹ thuật này. 20 axit amin tự nhiên và các từ viết tắt của chúng theo cách sử dụng thông thường. Xem, Immunology-A Synthesis, 2nd Edition, (E. S. Golub và D. R. Green, eds.), Sinauer Associates: Sunderland, Mass. (1991), được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn cho mục đích bất kỳ. Chất đồng phân lập

thể (ví dụ, D-axit amin) của 19 axit amin thông thường (ngoại trừ glyxin), axit amin không tự nhiên như axit amin được thể hai lần $[\alpha]$ -, $[\alpha]$, N-alkyl axit amin, và axit amin không thông thường khác cũng có thể là các hợp phần thích hợp cho polypeptit và bao hàm trong cụm từ “axit amin”. Ví dụ về axit amin không thông thường bao gồm: homoxystein, ornithin, 4-hydroxyprolin, $[\gamma]$ -carboxyglutamat, $[\epsilon]$ -N,N,N-trimetyllysin, $[\epsilon]$ -N-axetyllysin, O-phosphoserin, N-axetylserin, N-formylmetionin, 3-methylhistidin, 5-hydroxylysin, $[\sigma]$ -N-metylarginin, và axit amin tương tự khác và axit imino (ví dụ, 4-hydroxyprolin). Trong ký hiệu polypeptit được sử dụng trong bản mô tả này, đầu cuối amino nằm bên trái và đầu cuối carboxyl nằm bên phải, phù hợp theo việc sử dụng và quy tắc chuẩn.

“Đối tượng” hoặc “người bệnh” khi được sử dụng trong bản mô tả này có thể là động vật có vú bất kỳ. Theo phương án đại diện, đối tượng hoặc người bệnh là người.

“Dung dịch đệm” khi được sử dụng trong bản mô tả này dùng để chỉ chế phẩm, trong đó chế phẩm này chứa axit yếu và bazơ liên hợp của nó (thường là dưới dạng muối của bazơ liên hợp), bazơ yếu và axit liên hợp của nó, hoặc hỗn hợp của chúng. Người có hiểu biết trong lĩnh vực này dễ dàng hiểu rằng nhiều dung dịch đệm có thể được dùng trong dược phẩm theo sáng chế. Dung dịch đệm đại diện bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit yếu, bazơ yếu được dùng, hoặc hỗn hợp của chúng. Dung dịch đệm được dùng được lấy làm ví dụ bao gồm axetat (ví dụ, natri axetat), succinat (ví dụ, natri succinat).

Cụm từ “axit yếu” là axit hóa học không ion hóa hoàn toàn trong dung dịch nước; nghĩa là, nếu axit được đại diện bằng công thức chung HA, thì dung dịch nước A- tạo thành, nhưng lượng đáng kể của HA không phân ly vẫn còn. Hằng số phân ly axit (K_a) của axit yếu thay đổi trong khoảng từ $1,8 \times 10^{-16}$ đến 55,5.

Cụm từ “bazơ yếu” là bazơ hóa học không ion hóa hoàn toàn trong dung dịch nước; nghĩa là, nếu bazơ được đại diện bằng công thức chung B, thì dung dịch nước BH⁺ tạo thành, nhưng lượng đáng kể của B không proton hóa vẫn còn. Hằng số phân ly axit (K_a) của axit yếu ngẫu hợp thu được BH⁺ thay đổi trong khoảng từ $1,8 \times 10^{-16}$ đến 55,5.

Cụm từ “axit ngẫu hợp” là thành viên axit, HX⁺, của một cặp hai hợp chất (HX⁺, X) biến đổi vào nhau bằng cách nhận vào vào hoặc mất đi proton.

Cụm từ “bazơ ngẫu hợp” là thành viên bazơ, X⁻, của một cặp hai hợp chất (HX, X⁻) biến đổi vào nhau bằng cách nhận vào vào hoặc mất đi proton.

Cụm từ “muối của bazơ liên hợp” là muối ion chứa bazơ ngẫu hợp, X⁻, và được nạp ion dương.

Cụm từ “hệ dung dịch đậm” có nghĩa là hỗn hợp bao gồm ít nhất hai dung dịch đậm.

Thuật ngữ “q.s.” có nghĩa là bổ sung lượng vừa đủ để đạt được chức năng mong muốn, ví dụ, để đưa dung dịch đến thể tích mong muốn (tức là 100%).

Cụm từ “chất điều chỉnh trương lực” có nghĩa là chất trợ được dụng có thể được bổ sung vào được phẩm để điều chỉnh tính đẳng trương của được phẩm. Chất điều chỉnh trương lực thích hợp cho sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, natri clorua, kali clorua, manitol hoặc glyxerin và các chất điều chỉnh trương lực được dụng khác.

II. Phương án theo sáng chế

Sáng chế đề xuất được phẩm dạng lỏng chứa chất chủ vận peptit của thụ thể nhạy canxi, trong đó được phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 2,0 đến 5,0. Theo một phương án được ưu tiên, sáng chế đề xuất được phẩm dạng lỏng chứa AMG 416, trong đó được phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 2,0 đến 5,0. AMG 416 và quy trình điều chế nó được mô tả trong Công bố đơn quốc tế số WO 2011/014707. Ví dụ, AMG 416 có thể được điều chế bằng cách tổng hợp pha rắn từ axit amin D được bảo vệ Fmoc tương ứng. Sau khi phân tách ra khỏi nhựa, nguyên liệu có thể được xử lý bằng Boc-L-Cys(NPyS)-OH để tạo ra liên kết disulfua. Nhóm Boc sau đó có thể được loại bỏ bằng axit trifloaxetic (TFA) và sản phẩm thu được được tinh chế bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao pha đảo (HPLC) và được tách dưới dạng muối TFA bằng cách đông khô. Muối TFA này có thể được chuyển hoá thành muối được dụng bằng cách trao đổi muối sau đó. Các phương pháp như vậy là đã biết trong lĩnh vực này và bao gồm, ví dụ, phương pháp trao đổi ion, tùy ý tiếp đó là tinh chế sản phẩm thu được (ví dụ, bằng sắc ký lỏng pha đảo hoặc thẩm lọc đảo).

Được phẩm theo sáng chế được mô tả chủ yếu là về peptit trị liệu, AMG 416, dưới dạng hoạt chất. Tuy nhiên, người có hiểu biết trong lĩnh vực này sẽ dễ dàng hiểu rằng, sáng chế cũng mở rộng đến các biến thể và dẫn xuất của AMG 416.

Ví dụ, theo một phương án, được phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng với: *N*-axetyl-D-xysteinyl-D-alanyl-D-arginyl-D-arginyl-D-arginyl-D-alanyl-D-arginamit disulfua với D-xystein. Theo phương án khác, được phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng với *N*-axetyl-D-xysteinyl-D-alanyl-D-arginyl-D-arginyl-D-arginyl-D-alanyl-D-arginamit disulfua với *N*-axetyl-D-xystein. Theo phương án khác, được phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng với: *N*-axetyl-D-xysteinyl-D-alanyl-D-arginyl-D-arginyl-D-arginyl-D-alanyl-D-arginamit disulfua với *N*-axetyl-L-xystein.

Theo phương án khác, được phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng với: *N*-axetyl-L-xysteinyl-L-alanyl-L-arginyl-L-arginyl-L-arginyl-L-alanyl-L-arginamit disulfua với D-xystein. Theo phương án khác, được phẩm theo

sáng chế cũng có thể được sử dụng với: *N*-axetyl-L-xysteinyl-L-alanyl-L-arginyl-L-arginyl-L-arginyl-L-alanyl-L-arginamit đisulfua với L-xystein. Theo phương án khác, được phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng với: *N*-axetyl-L-xysteinyl-L-alanyl-L-arginyl-L-arginyl-L-arginyl-L-alanyl-L-arginamit đisulfua với N-axetyl-D-xystein. Theo phương án khác, được phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng với: *N*-axetyl-L-xysteinyl-L-alanyl-L-arginyl-L-arginyl-L-arginyl-L-alanyl-L-arginamit đisulfua với N-axetyl-L-xystein.

Theo phương án khác, được phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng với: *N*-axetyl-D-xysteinyl-D-arginyl-D-arginyl-D-alanyl-D-arginyl-D-alanyl-D-arginamit đisulfua với D-xystein. Theo phương án khác, được phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng với: *N*-axetyl-D-xysteinyl-D-arginyl-D-arginyl-D-alanyl-D-arginyl-D-alanyl-D-arginamit đisulfua với L-xystein. Theo phương án khác, được phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng với: *N*-axetyl-D-xysteinyl-D-arginyl-D-arginyl-D-alanyl-D-arginyl-D-alanyl-D-arginamit đisulfua với N-axetyl-D-xystein. Theo phương án khác, được phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng với: *N*-axetyl-D-xysteinyl-D-arginyl-D-arginyl-D-alanyl-D-arginyl-D-alanyl-D-arginamit đisulfua với N-axetyl-L-xystein.

Theo phương án khác, được phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng với: *N*-axetyl-L-xysteinyl-L-arginyl-L-arginyl-L-alanyl-L-arginyl-L-alanyl-L-arginamit đisulfua với D-xystein. Theo phương án khác, được phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng với: *N*-axetyl-L-xysteinyl-L-arginyl-L-arginyl-L-alanyl-L-arginyl-L-alanyl-L-arginamit đisulfua với L-xystein. Theo phương án khác, được phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng với: *N*-axetyl-L-xysteinyl-L-arginyl-L-arginyl-L-alanyl-L-arginyl-L-alanyl-L-arginamit đisulfua với N-axetyl-D-xystein. Theo phương án khác, được phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng với: *N*-axetyl-L-xysteinyl-L-arginyl-L-arginyl-L-alanyl-L-arginyl-L-alanyl-L-arginamit đisulfua với N-axetyl-L-xystein.

Theo phương án khác, được phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng với một hoặc nhiều hợp chất được nêu trong Bảng 1, Bảng 2, Bảng 3, Bảng 4, Bảng 5, Bảng 6, Bảng 7, Bảng 8, Bảng 9 và/hoặc Bảng 10 của Công bố đơn quốc tế số WO 2011/014707. Theo phương án khác, được phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng với một hoặc nhiều hợp chất được mô tả trong Công bố đơn quốc tế số WO 2011/014707.

Theo một số phương án, được phẩm chứa lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị bệnh của hoạt chất (ví dụ, AMG 416). Lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị bệnh của hoạt chất theo phương án đã cho bất kỳ của được phẩm theo sáng chế sẽ phụ thuộc vào thể tích của được phẩm được phân phối đến đối tượng đã

định, cũng như độ tuổi và thể trọng của đối tượng, và bản chất của bệnh lý hoặc rối loạn được điều trị. Tùy thuộc vào dạng liều lượng, trong một số trường hợp, lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị có thể được đề xuất cho người bệnh trong một lần dùng trong khi trong các trường hợp khác có thể đòi hỏi nhiều lần dùng.

Dược phẩm dạng lỏng theo sáng chế là dược phẩm thích hợp để dùng trong tĩnh mạch, trong động mạch, trong cơ, và dưới da. Theo một phương án được ưu tiên, dược phẩm dạng lỏng thích hợp để dùng qua tĩnh mạch hoặc đường dùng ngoài đường tiêu hóa khác. Tốt hơn, nếu dược phẩm dạng lỏng là dung dịch nước, vô trùng. Thông thường, dung môi là nước đạt tiêu chuẩn để tiêm hoặc hỗn hợp của nước và một hoặc nhiều dung môi có thể trộn lẫn nước khác như propylen glycol, polyetylen glycol, và etanol. Việc sử dụng nước vô trùng, đã khử ion làm dung môi là được ưu tiên. Tuy nhiên, các dung môi khác thích hợp và thông thường cho dược phẩm có thể cũng được sử dụng.

Dược phẩm thường chứa trong khoảng từ 0,1mg/mL đến 100mg/mL hoạt chất (ví dụ, AMG 416), từ 0,1mg/mL đến 20mg/mL hoạt chất, từ 0,5mg/mL đến 15mg/mL hoạt chất, từ 1mg/mL đến 10mg/mL hoạt chất, hoặc từ 2mg/mL đến 5mg/mL hoạt chất. Theo một số phương án, dược phẩm chứa khoảng 1mg/mL hoạt chất, khoảng 2mg/mL hoạt chất, khoảng 2,5mg/mL hoạt chất, khoảng 5mg/mL hoạt chất, khoảng 10mg/mL hoạt chất hoặc khoảng 20mg/mL hoạt chất. Theo phương án khác, dược phẩm chứa trong khoảng từ 0,1mg/mL đến 100mg/mL hoạt chất, từ 0,1mg/mL đến 20mg/mL hoạt chất, từ 0,5mg/mL đến 15mg/mL hoạt chất, hoặc từ 1mg/mL đến 10mg/mL hoạt chất, hoặc từ 2mg/mL đến 5mg/mL hoạt chất. Theo một phương án được ưu tiên, dược phẩm chứa trong khoảng từ 1mg/mL đến 10mg/mL hoạt chất. Theo một phương án được ưu tiên khác, dược phẩm chứa trong khoảng từ 2mg/mL đến 5mg/mL hoạt chất.

Dược phẩm thường có độ pH nằm trong khoảng từ 2,0 đến 5,0, từ 2,5 đến 4,5, từ 2,5 đến 4,0, từ 3,0 đến 3,5 hoặc từ 3,0 đến 3,6. Theo một số phương án, dược phẩm này có độ pH là khoảng 2, khoảng 2,5, khoảng 3,0, khoảng 3,3, khoảng 3,5 hoặc khoảng 4,0. Theo một số phương án, dược phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 2,0 đến 5,0, từ 2,5 đến 4,5, từ 2,5 đến 4,0, từ 3,0 đến 3,5 hoặc từ 3,0 đến 3,6.

Như được mô tả một cách đầy đủ hơn trong phần Ví dụ, độ ổn định của AMG 416 tùy thuộc vào độ pH của dung dịch. Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng hai chất thoái biến chính là kết quả của quá trình khử amit đầu tận cùng C và quá trình tạo ra homodime. Ngoài ra, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng diễn biến theo thời gian của mức thoái biến bởi các con đường này là hàm của độ pH. Xem Ví dụ 6. Ở độ pH thấp, mức thoái biến do quá trình khử amit đầu tận cùng C chiếm ưu thế (xem Fig.10) trong khi ở độ pH

cao hơn, mức thoái biến do quá trình tạo ra homodime chiếm ưu thế (xem Fig.11). Do vậy, sự tạo thành hai chất thoái biến chính có mối quan hệ đối nghịch giữa độ pH và mức thoái biến. Xu hướng đối nghịch này là cơ sở cho toàn bộ dữ liệu về độ ổn định trên toàn khoảng giá trị pH và hỗ trợ nhận biết trong khoảng pH từ 3,0 đến 3,5 là độ pH cho dung dịch AMG 416 đạt độ ổn định tối đa.

Thông thường, dược phẩm chứa dung dịch đệm dùng được trong cơ thể duy trì độ pH của dược phẩm trong khoảng mong muốn. Theo một phương án, dung dịch đệm duy trì độ pH nằm trong khoảng từ 2,0 đến 5,0, từ 2,5 đến 4,5, từ 2,5 đến 4,0, từ 3,0 đến 3,5 hoặc từ 3,0 đến 3,6. Theo một số phương án, dung dịch đệm duy trì độ pH là khoảng 2, khoảng 2,5, khoảng 3,0, khoảng 3,3, khoảng 3,5 hoặc khoảng 4,0. Theo một số phương án, dung dịch đệm duy trì độ pH nằm trong khoảng từ 2,0 đến 5,0, từ 2,5 đến 4,5, từ 2,5 đến 4,0, từ 3,0 đến 3,5 hoặc từ 3,0 đến 3,6.

Dung dịch đệm bất kỳ có khả năng duy trì độ pH của dược phẩm ở giá trị bất kỳ hoặc trong khoảng bất kỳ nêu trên là thích hợp để sử dụng trong dược phẩm theo sáng chế, với điều kiện nó không phản ứng với các hợp phần khác của dược phẩm để tạo thành kết tủa nhìn thấy được, hoặc bằng cách khác làm cho hoạt chất trở nên mất ổn định về mặt hóa học. Dung dịch đệm được sử dụng trong dược phẩm theo sáng chế thường bao gồm hợp phần được chọn từ nhóm bao gồm succinat, xitrat, malat, edentat, histidin, axetat, adipat, aconitat, ascorbat, benzoat, cacbonat, bicarbonat, maleat, glutamat, lactat, phosphat, và tartarat, hoặc hỗn hợp của các dung dịch đệm này. Theo một phương án được ưu tiên, dung dịch đệm là dung dịch succinat, ví dụ, natri succinat.

Nồng độ của dung dịch đệm được chọn sao cho tạo ra được độ ổn định pH cũng như đủ khả năng đệm. Theo một phương án, dung dịch đệm có mặt trong dược phẩm này ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 100mmol/L, từ 0,75 đến 50mmol/L, từ 1 đến 20mmol/L, hoặc từ 10 đến 20mmol/L. Theo các phương án khác, dung dịch đệm có mặt ở khoảng 5mmol/L, ở khoảng 10mmol/L, ở khoảng 15mmol/L hoặc khoảng 20mmol/L. Theo các phương án khác, dung dịch đệm có mặt trong dược phẩm này ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 100mmol/L, từ 0,75 đến 50mmol/L, từ 1 đến 20mmol/L, hoặc từ 10 đến 20mmol/L. Theo một phương án được ưu tiên, dung dịch đệm có mặt là khoảng 10mmol/L. Theo một phương án được ưu tiên khác, dung dịch đệm là dung dịch succinat có mặt là khoảng 10mmol/L.

Xét theo độ tương hợp của dược phẩm dạng lỏng với việc dùng qua tĩnh mạch, mong muốn độ pH của dược phẩm dạng lỏng gần nhất có thể với độ pH của cơ thể. Dược phẩm dạng lỏng có độ pH xa với độ pH của cơ thể hoặc đệm mạnh có thể gây đau hoặc không thoải mái khi dùng. Như đã được mô tả, dược phẩm dạng lỏng chứa AMG 416 ở độ pH của cơ thể hoặc cao hơn sẽ không duy

trì ổn định trong một khoảng thời gian dài. Vì vậy, theo một phương án được ưu tiên, dược phẩm dạng lỏng theo sáng chế đệm yếu sao cho lượng được tiêm được trung hoà một cách nhanh chóng bằng dịch lỏng sinh lý của cơ thể của đối tượng. Điều bất ngờ là, duy trì được độ ổn định tốt và sự kiểm soát tốt độ pH ở nồng độ dung dịch đệm thấp. Theo một phương án được ưu tiên, muối HCl của AMG 416 được sử dụng trong bào chế dược phẩm dạng lỏng để làm giảm đến mức tối thiểu khả năng đệm. Do HCl là axit mạnh, nó không đóng vai trò làm dung dịch đệm. Điều này tạo ra lợi ích so với việc sử dụng axit yếu như axit axetic. Việc sử dụng muối axetat của AMG 416, ví dụ, sẽ tự tạo ra một số khả năng đệm và làm cho việc thiết lập khả năng đệm của dược phẩm trở nên kém linh hoạt và có thể dẫn đến việc dược phẩm bền hơn với sự trung hòa trong cơ thể và vì vậy được dung nạp kém hơn. Do AMG 416 là peptit đa cation, hiệu quả sẽ được gia tăng so với hầu hết peptit có đặc điểm trung tính hơn.

Dược phẩm được dùng qua tĩnh mạch hoặc con đường ngoài đường tiêu hóa khác là đẳng trương với dịch cơ thể là điều thường mong muốn. Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế chứa chất điều chỉnh trương lực dùng được trong cơ thể. Chất điều chỉnh trương lực hữu ích theo sáng chế có thể là natri clorua, manitol, sucroza, đextroza, sorbitol, kali clorua, hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một phương án được ưu tiên, chất đẳng trương là natri clorua.

Khi chất trương lực có mặt, tốt hơn là nó có mặt với lượng đủ để tạo ra dược phẩm dạng lỏng có tính gần như đẳng trương với dịch cơ thể (tức là nằm trong khoảng từ 270 đến 300mOsm/L) và thích hợp để tiêm ngoài đường tiêu hóa vào động vật có vú, như đối tượng người, vào da, dưới da, hoặc các mô trong cơ hoặc IV. Tính đẳng trương có thể đo được bằng cách, ví dụ, sử dụng hơi áp suất hoặc thẩm thấu kế dạng làm lạnh bằng nước đá. Tùy thuộc vào nồng độ của các hợp phần khác trong dược phẩm, natri clorua có mặt trong dược phẩm này ở nồng độ nằm trong khoảng từ 7,0 đến 10mg/mL, từ 7,5 đến 9,5mg/mL, hoặc từ 8,0 đến 9,0mg/mL. Theo một phương án, natri clorua có mặt trong dược phẩm này ở nồng độ khoảng 8,5mg/mL. Theo các phương án khác, natri clorua có mặt trong dược phẩm này ở nồng độ nằm trong khoảng từ 7,0 đến 10mg/mL, từ 7,5 đến 9,5mg/mL, hoặc từ 8,0 đến 9,0mg/mL.

Dược phẩm theo sáng chế có thể chứa các chất mang, tá dược hoặc chất bổ trợ được dùng thông thường khác. Ví dụ, dược phẩm theo sáng chế có thể chứa chất làm ổn định (ví dụ, EDTA và/hoặc natri thiosulfat) hoặc chất bảo quản (ví dụ, rượu benzylic). Ngoài ra, dược phẩm theo sáng chế có thể chứa thuốc hoặc dược chất khác nữa. Ví dụ, trong phương pháp điều trị SHPT ở bệnh nhân thẩm tách máu bằng CKD-MBD, AMG 416 có thể được dùng cùng với một hoặc nhiều hoạt chất được dùng trong chứng loạn dưỡng xương thận

như điều trị bằng vitamin D (ví dụ, paricalcitol) là phương pháp điều trị đã được sử dụng cho SHPT.

Theo một phương án, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 5% khi được bảo quản ở khoảng 2-8°C trong 1 năm. Theo phương án khác, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 5% khi được bảo quản ở nhiệt độ trong phòng trong 1 năm. Theo phương án khác, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 10% khi được bảo quản ở khoảng 2-8°C trong 1 năm. Theo phương án khác, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 10% khi được bảo quản ở nhiệt độ trong phòng trong 1 năm. Theo phương án khác, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 5% khi được bảo quản ở khoảng 2-8°C trong 2 năm. Theo phương án khác, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 5% khi được bảo quản ở nhiệt độ trong phòng trong 2 năm. Theo phương án khác, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 10% khi được bảo quản ở khoảng 2-8°C trong 2 năm. Theo phương án khác, dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 10% khi được bảo quản ở nhiệt độ trong phòng trong 2 năm.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất dược phẩm dạng lỏng chứa từ 0,1mg/mL đến 20mg/mL peptit trị liệu, dung dịch đệm duy trì dược phẩm này ở độ pH nằm trong khoảng từ 2,0 đến 5,0, và nồng độ natri clorua đủ để cho dược phẩm này có tính gần như đẳng trương. Theo phương án khác, sáng chế đề xuất dược phẩm dạng lỏng chứa từ 1mg/mL đến 15mg/mL peptit trị liệu, dung dịch đệm duy trì dược phẩm này ở độ pH nằm trong khoảng từ 2,5 đến 4,5, và nồng độ natri clorua đủ để cho dược phẩm này có tính gần như đẳng trương. Theo phương án khác, sáng chế đề xuất dược phẩm dạng lỏng chứa từ 2,5mg/mL đến 10mg/mL peptit trị liệu, dung dịch đệm duy trì dược phẩm này ở độ pH nằm trong khoảng từ 2,5 đến 4,0, và nồng độ natri clorua đủ để cho dược phẩm này có tính gần như đẳng trương. Theo phương án khác, sáng chế đề xuất dược phẩm dạng lỏng chứa từ 2,5mg/mL đến 5mg/mL peptit trị liệu, dung dịch đệm duy trì dược phẩm này ở độ pH nằm trong khoảng từ 2,5 đến 3,5, và nồng độ natri clorua đủ để cho dược phẩm này có tính gần như đẳng trương. Theo phương án khác, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa từ 2mg/mL đến 20mg/mL peptit trị liệu trong dung dịch nước, dung dịch đệm succinat duy trì dược phẩm này ở độ pH nằm trong khoảng từ 3,0 đến 3,5, và nồng độ natri clorua đủ để cho dược phẩm này có tính gần như đẳng trương.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất dược phẩm dạng lỏng chứa từ 0,1mg/mL đến 20mg/mL AMG 416, dung dịch đệm duy trì dược phẩm này ở độ pH nằm trong khoảng từ 2,0 đến 5,0, và nồng độ natri clorua đủ để cho dược phẩm này có tính gần như đẳng trương. Theo phương án khác, sáng chế đề xuất dược phẩm dạng lỏng chứa 1mg/mL đến 15mg/mL AMG 416, dung dịch đệm duy trì dược phẩm này ở độ pH nằm trong khoảng từ 2,5 đến 4,5, và nồng độ natri clorua đủ để cho dược phẩm này có tính gần như đẳng trương. Theo

phương án khác, sáng chế đề xuất được phẩm dạng lỏng chứa từ 2,5mg/mL đến 10mg/mL AMG 416, dung dịch đệm duy trì được phẩm này ở độ pH nằm trong khoảng từ 2,5 đến 4,0, và nồng độ natri clorua đủ để cho được phẩm này có tính gần như đẳng trương. Theo phương án khác, sáng chế đề xuất được phẩm dạng lỏng chứa từ 2,5mg/mL đến 5mg/mL AMG 416, dung dịch đệm duy trì được phẩm này ở độ pH nằm trong khoảng từ 2,5 đến 3,5, và nồng độ natri clorua đủ để cho được phẩm này có tính gần như đẳng trương. Theo phương án khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa từ 2mg/mL đến 20mg/mL AMG 416 trong dung dịch nước, dung dịch đệm succinat duy trì được phẩm này ở độ pH nằm trong khoảng từ 3,0 đến 3,5, và nồng độ natri clorua đủ để cho được phẩm này có tính gần như đẳng trương.

Theo một phương án được ưu tiên, được phẩm theo sáng chế được bào chế bằng cách đưa một lượng dung dịch đệm đã tính toán để tạo ra độ pH mong muốn vào lọ thích hợp và hòa tan nó bằng nước để tiêm (WFI), bổ sung một lượng nguyên liệu (ví dụ, muối hydroclorua của AMG 416) đủ để đạt được nồng độ mong muốn của hoạt chất (ví dụ, AMG 416), bổ sung một lượng chất điều chỉnh trương lực (hoặc hỗn hợp của chất điều chỉnh trương lực) đã tính toán để tạo ra tính đẳng trương của được phẩm thu được với dịch cơ thể, và bổ sung lượng WFI cần thiết để đưa tổng thể tích đến nồng độ mong muốn. Sau khi các thành phần được trộn, độ pH được điều chỉnh đến giá trị nằm trong khoảng từ 3,0 đến 3,5, và các hợp phần được trộn lại.

Nếu cần điều chỉnh để đạt được khoảng giá trị pH mong muốn, giá trị pH có thể được điều chỉnh bằng dung dịch thích hợp; với dung dịch axit nếu cần giảm giá trị pH và với dung dịch kiềm nếu cần tăng giá trị pH. Ví dụ không giới hạn phạm vi của sáng chế về dung dịch axit thích hợp là, ví dụ, axit clohydric, axit phosphoric, axit xitric và natri hoặc kali hydro phosphat. Ví dụ không giới hạn phạm vi của sáng chế về dung dịch kiềm thích hợp là hydroxit kiềm và kiềm thổ, kiềm cacbonat, kiềm axetat, kiềm xitrat và hai lần kiềm hydro phosphat, ví dụ, natri hydroxit, natri axetat, natri cacbonat, natri xitrat, đinatri hoặc đikali hydro phosphat, hoặc amoniac.

Quy trình thường được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2-8°C đến 50°C, và ở áp suất khí quyển. Được phẩm thu được sau đó có thể được chuyển vào đồ chứa liều đơn vị hoặc đa liều (như chai, lọ, ống thuốc tiêm hoặc ống thuốc tiêm đóng sẵn) để bảo quản trước khi sử dụng.

Được phẩm có thể được bào chế và được dùng như nêu trên. Theo cách khác, được phẩm có thể được dùng sau khi hòa tan, phân tán, v.v. được phẩm (được bào chế như nêu trên) trong chất mang như, ví dụ, dịch truyền hoặc trong máu/dịch lỏng được đưa trở lại vào cơ thể người bệnh trong quá trình thẩm tách máu (ví dụ, trong quá trình rinse-back).

Phương pháp bào chế dược phẩm dạng lỏng theo sáng chế là đã biết, hoặc sẽ là hiển nhiên, đối với người có hiểu biết trong lĩnh vực này, ví dụ, xem: *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Company, Easton, PA, 17th edition, 1985.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau, bao gồm các thử nghiệm đã tiến hành và các kết quả đạt được, được đưa ra chỉ nhằm mục đích minh họa và không được hiểu là giới hạn phạm vi của yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Ví dụ 1

Khả năng hoà tan của AMG 416 trong nước muối đệm succinat

Trong nghiên cứu này, khả năng hoà tan của AMG 416 trong nước muối đệm succinat được nghiên cứu. AMG 416 HCl (103mg bột, 80mg peptit) được hoà tan trong 200 μ L nước muối đệm natri succinat (25mM succinat, nước muối 0,9%, độ pH = 4,5). Sau khi xoáy sơ bộ, dung dịch trong thu được với nồng độ không đáng kể 400mg/mL. Do mức mở rộng của thể tích dung dịch không xác định được, khả năng hoà tan của AMG 416 có thể được đánh giá là ít nhất 200mg/mL. Mặc dù khả năng hoà tan tối đa không xác định được trong thử nghiệm này, AMG 416 hòa tan trong nước muối đệm succinat pH = 4,5 đến nồng độ ít nhất là 200mg/mL.

Ví dụ 2

Nghiên cứu về độ ổn định phụ thuộc nồng độ

Trong nghiên cứu này, độ ổn định của AMG 416 trong các khoảng nồng độ của dung dịch nước muối đệm succinat (độ pH = 4,5) được nghiên cứu. Dung dịch chứa 200mg/mL AMG 416 từ Ví dụ 1 nêu trên được pha loãng tiếp bằng 200 μ L nước muối đệm succinat (độ pH = 4,5) đến nồng độ không đáng kể 200mg/mL, được pha loãng theo chuỗi bằng nước muối đệm succinat (độ pH = 4,5) đến nồng độ 66, 20, 6,7, 2,2 và 0,67mg/mL. Các mẫu được giữ ở nhiệt độ trong phòng (tức là khoảng 25°C) và một lượng nhỏ được phân tích bằng HPLC trong khoảng thời gian đến 29 ngày. Chuỗi mẫu AMG 416 thứ hai chứa nồng độ trong khoảng từ 20 đến 0,67mg/mL được ủ ở 40°C và được phân tích theo cách giống như vậy.

Độ tinh khiết ở thời điểm 29 ngày đối với các mẫu ở nhiệt độ trong phòng và 40°C được thể hiện lần lượt trong các Bảng 1 và 2. Kết quả cho thấy profin độ ổn định của AMG 416 dưới dạng hàm của nồng độ và nhiệt độ.

Bảng 1

Độ ổn định ở nhiệt độ trong phòng của AMG 416 trong 25mM nước muối đệm succinat (độ pH = 4,5)

Nồng độ (mg/ml)	Độ tinh khiết theo thời gian (ngày)					
	0	1	2	5	13	29

200	99,8	99,6	98,4	96,4	89,0	63,8
66	99,6	99,4	99,0	98,1	97,7	91,5
20	99,6	99,7	99,7	99,6	99,3	98,7
6,7	99,4	99,6	99,5	99,5	99,3	98,9
2,2	99,3	99,2	99,3	99,4	99,3	99,1
0,67	99,4	99,5	99,5	99,7	99,5	99,3

Bảng 2

Độ ổn định ở 40°C của AMG 416 trong 25mM nước muối đệm succinat
(độ pH = 4,5)

Nồng độ (mg/ml)	Độ tinh khiết theo thời gian (ngày)					
	0	1	2	5	13	29
20	99,6	99,1	98,1	n.d	90,5	72,9
6,7	99,4	99,1	98,7	n.d	95,2	90,0
2,2	99,3	99,3	99,0	98,4	97,0	94,3
0,67	99,4	99,4	99,3	99,0	97,2	94,4

Diễn biến theo thời gian của mức thoái biến AMG 416 dưới dạng hàm của nồng độ ở nhiệt độ trong phòng được thể hiện trên Fig.1A. Trên Fig.1B, phạm vi được mở rộng để minh họa một cách rõ ràng hơn kiểu thoái biến ở nồng độ thuốc là 20mg/mL và thấp hơn. Diễn biến theo thời gian của mức thoái biến AMG 416 dưới dạng hàm của nồng độ ở 40°C được thể hiện trên Fig. 2. Dữ liệu này đã cho thấy độ ổn định của dung dịch AMG 416 liên quan đến nồng độ trong khoảng nghiên cứu từ 0,67mg/mL đến 200mg/mL. Dữ liệu này cũng cho thấy độ ổn định của dung dịch AMG 416 liên quan đến nhiệt độ ủ.

Bảng 3 cho thấy các dự đoán về mức thoái biến đối với dung dịch chứa AMG 416 ở các nồng độ khác nhau ở nhiệt độ trong phòng, dựa vào mức thoái biến ở 29 ngày, bảo quản ở nhiệt độ trong phòng ở độ pH = 4,5 SBS. Dữ liệu 29 ngày ở nhiệt độ trong phòng từ Bảng 1 được suy luận cho khoảng thời gian đã nêu bằng cách giả định tuyến tính động học của mức thoái biến. Dữ liệu ở nhiệt độ trong phòng được suy luận cho nhiệt độ 5°C. Giả định sự sai khác 20°C là tương đương với tốc độ thoái biến giảm 4 lần. Các suy luận được thực hiện bằng cách ứng dụng đơn giản phương trình Arrhenius, trong đó nhiệt độ tăng 10°C thì tốc độ phản ứng tăng 2 lần, giả định rằng cơ chế phản ứng là như nhau và năng lượng hoạt hóa cho mỗi phản ứng liên quan là khoảng 50 kJ/mol.

Các giá trị đánh bóng chỉ ra các điều kiện nồng độ/bảo quản có mức thoái biến thấp hơn 10%, có thể tốt hơn là đối với dược phẩm dạng lỏng.

Bảng 3

Dự đoán độ ổn định đối với dung dịch Velcalcetide (tên trước đây là
velcalxetit)

Nồng độ (mg/mL)	Mức thoái biến dự đoán ở thời điểm			
	2 năm ở nhiệt độ trong phòng	1 năm ở nhiệt độ trong phòng	2 năm ở nhiệt độ 5°C	1 năm ở nhiệt độ 5°C
66	>100	>100	50,1	25,0
20	20,9	10,4	5,2	2,6
6,7	13,9	7,0	3,5	1,7
2,2	5,2	2,6	1,3	0,7
0,67	2,7	1,4	0,7	0,3

So sánh dữ liệu được thể hiện trong các Bảng 1 và 2 cho phép đánh giá mức tăng nhiệt độ là công cụ để dự đoán độ ổn định lâu dài của dung dịch AMG 416. Dữ liệu nằm trong khoảng từ 0,67 đến 20mg/mL được thể hiện trong Bảng 4 dưới đây và cho thấy sự tăng tốc của mức thoái biến ở 40°C là cao hơn đáng kể so với sự tăng tốc được dự đoán bởi Arrhenius (với giả định đã nêu trên đây). Điều này cho thấy dữ liệu về độ ổn định tăng tốc sẽ dự đoán mức thoái biến lớn hơn so với mức thoái biến quan sát được ở nhiệt độ bảo quản thực tế.

Bảng 4

Sự phụ thuộc của mức thoái biến AMG 416 ở độ pH = 4,5 của dung dịch vào nhiệt độ và nồng độ

Nồng độ (mg/mL)	Mức độ suy biến ở thời điểm 29 ngày, nhiệt độ trong phòng (%)	Mức độ suy biến ở thời điểm 29 ngày, 40°C (%)	Mức tăng tốc ở RT->40°C (lần)	Mức tăng tốc dự đoán (lần)
20	0,9	26,7	29,7	4
6,7	0,5	9,4	18,8	4
2,2	0,2	5,0	25,0	4
0,67	0,1	5,0	50,0	4

Ví dụ 3

Độ ổn định của dược phẩm dạng lỏng chứa AMG 416 trong khoảng giá trị pH

Trong nghiên cứu này, độ ổn định của dược phẩm dạng lỏng chứa AMG 416, ở nồng độ khoảng 10mg/mL được xác định trong khoảng giá trị pH trong dung dịch nước muối đệm succinat. AMG 416 HCl (257mg bột) được hoà tan trong 20mL nước muối đệm succinat ở độ pH = 4,5 để thu được nồng độ peptit là 10,0mg/mL (được điều chỉnh theo lượng bột peptit). Dung dịch này được chia đều thành 5 phần 4ml được điều chỉnh lần lượt đến độ pH 2, 3, 4, 5 và 6 bằng NaOH và HCl khi cần. Ba dung dịch 1mL được chia nhỏ từ mỗi phần và được ủ ở lần lượt nhiệt độ 2-8°C, nhiệt độ trong phòng (khoảng 25°C), và 40°C. 1mL dung dịch còn lại trong mỗi lượng nhỏ này được pha loãng bằng nước muối đệm succinat có độ pH = 4,5 đến 4mL peptit có nồng độ 2,5mg/mL,

độ pH được điều chỉnh, và được ủ theo cách giống như vậy. Các mẫu được lấy ra theo phác đồ và pha loãng bằng nước khử ion đến 1,0mg/mL để phân tích HPLC.

Độ tinh khiết ở thời điểm 28 ngày đối với tất cả các mẫu thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 5 (Lưu ý: giá trị độ tinh khiết ban đầu là 99,3% cho nghiên cứu này). Kết quả cho thấy profin độ ổn định dưới dạng hàm của độ pH, nhiệt độ và nồng độ.

Bảng 5

Độ tinh khiết của dung dịch AMG 416 ở thời điểm 28 ngày.

	10mg/mL			2,5mg/mL		
	2-8°C	RT	40°C	2-8°C	RT	40°C
pH 2	99,1	98,7	94,0	98,9	98,7	89,8
pH 3	99,4	99,1	98,2	99,1	99,0	97,2
pH 4	99,4	98,6	85,0	99,2	98,9	92,2
pH 5	99,0	93,8	64,4	98,9	96,1	73,0
pH 6	96,9	71,8	53,6	97,0	80,0	52,9

Diễn biến theo thời gian của mức thoái biến AMG 416 dưới dạng hàm của độ pH được thể hiện trên Fig.3. Trong cả dung dịch 10mg/mL (Fig.3A) lẫn dung dịch 2,5mg/mL (Fig.3B), quan sát được mức thoái biến thấp nhất ở độ pH = 3. Trong cả hai dung dịch này, mức thoái biến ở độ pH 6 tiến triển nhanh nhất với độ tinh khiết gần 50% ở thời điểm 29 ngày. Phân tích HPLC đã cho thấy chất thoái biến chính ở độ pH 2 khác với chất thoái biến quan sát được ở độ pH lớn hơn 3. Ở độ pH thấp hơn, mức thoái biến chủ yếu là do quá trình khử amit bằng thủy phân và ở độ pH cao hơn thì mức thoái biến chủ yếu là do quá trình tạo ra homodimer.

Profin độ ổn định dưới dạng hàm của độ pH ở thời điểm 28 ngày được thể hiện trên Fig.4. Có thể thấy một lần nữa trong cả dung dịch 10mg/mL (Fig.4A) lẫn dung dịch 2,5mg/mL (Fig.4B) trong nhóm thử nghiệm này, độ pH ở mức thoái biến thấp nhất là khoảng 3,0. Ngoài ra, quan sát được mức suy giảm độ tinh khiết liên quan đến nhiệt độ ở tất cả các mức pH, và mức thoái biến thấp nhất trong các mẫu được ủ ở nhiệt độ 2-8°C, và quan sát được mức thoái biến nhất trong các mẫu được ủ ở 40°C.

Dựa vào mức thoái biến ở 28 ngày, các dự đoán về mức thoái biến được tính toán như mô tả trên đây. Các dự đoán đối với dung dịch 10mg/mL được thể hiện trong Bảng 6 và các dự đoán đối với dung dịch 2,5mg/mL được thể hiện trong Bảng 7. Các giá trị đánh bóng chỉ ra các điều kiện có mức thoái biến thấp hơn 10%, và có thể được ưu tiên đối với dược phẩm dạng lỏng. Các điều kiện trong đó mẫu ở 28 ngày có độ tinh khiết cao hơn một chút so với dữ liệu ban đầu được thể hiện là 0,0% trong tất cả các phép chiếu.

Các suy luận này cho thấy mức thoái biến là thấp hơn 10% sau 2 năm ở nhiệt độ trong phòng đối với dung dịch 2,5 hoặc dung dịch 10mg/mL ở độ pH = 3. Nói chung, dữ liệu ở nhiệt độ cao hơn dự đoán mức thoái biến cao hơn so với dữ liệu ở nhiệt độ thấp hơn sau 2 năm. Do vậy, đối với các nghiên cứu với dung dịch 10mg/mL (Bảng 6), trong khi độ pH = 3 được dự đoán là mức thoái biến thấp hơn 10% từ dữ liệu ở tất cả các nhiệt độ, dữ liệu ở nhiệt độ 2-8°C dự đoán mức thoái biến thấp hơn so với ở các nhiệt độ cao hơn, và thực tế là ở nhiệt độ 2-8°C, dữ liệu ở độ pH 4 cũng cho thấy mức thoái biến thấp hơn 10%. Tương tự, ở 2,5mg/mL, khoảng pH từ 2-4 được dự đoán có mức thoái biến thấp hơn 10% trong 2 năm ở nhiệt độ trong phòng khi được suy luận từ dữ liệu ở nhiệt độ 2-8°C.

Bảng 6

Dự đoán độ ổn định của dung dịch chứa AMG 416 10mg/mL dựa vào mức thoái biến ở 28 ngày.

2-8°C	Mức thoái biến quan sát được ở thời điểm 28 ngày (%)	Mức thoái biến tính toán			
		Ở thời điểm 360 ngày (%)	Ở thời điểm 1 năm, RT (%)	Ở thời điểm 2 năm, 5°C (%)	Ở thời điểm 2 năm, RT (%)
pH = 2	0,3	3,8	15,4	7,7	30,7
pH = 3	-0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
pH = 4	-0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
pH = 5	0,3	3,5	13,8	6,9	27,6
pH = 6	1,9	23,9	95,7	47,8	>100

RT	Mức thoái biến quan sát được ở thời điểm 28 ngày (%)	Mức thoái biến tính toán			
		Ở thời điểm 360 ngày (%)	Ở thời điểm 1 năm, RT (%)	Ở thời điểm 2 năm, 5°C (%)	Ở thời điểm 2 năm, RT (%)
pH = 2	0,6	8,1	8,1	4,0	16,1
pH = 3	0,2	2,6	2,6	1,3	5,1
pH = 4	0,7	8,6	8,6	4,3	17,1
pH = 5	5,6	71,4	71,4	35,7	>100
pH = 6	26,9	>100	>100	>100	>100

40°C	Mức thoái biến quan sát được ở thời điểm 28 ngày (%)	Mức thoái biến tính toán			
		Ở thời điểm 360 ngày (%)	Ở thời điểm 1 năm, RT (%)	Ở thời điểm 2 năm, 5°C (%)	Ở thời điểm 2 năm, RT (%)
pH = 2	5,3	68,4	17,1	8,6	34,2
pH = 3	1,1	14,1	3,5	1,8	7,0

pH = 4	14,3	>100	45,8	22,9	91,7
pH = 5	34,9	>100	>100	55,9	>100
pH = 6	45,1	>100	>100	72,2	>100

Bảng 7

Dự đoán độ ổn định của dung dịch AMG 416 2,5mg/mL dựa vào mức thoái biến ở 28 ngày.

2-8°C	Mức thoái biến quan sát được ở thời điểm 28 ngày (%)	Mức thoái biến tính toán (%)			
		1 năm, 2-8°C	1 năm, RT	2 năm, 2-8°C	2 năm, RT
pH = 2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH = 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH = 4	-0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
pH = 5	0,2	2,9	11,8	5,9	23,5
pH = 6	0,8	10,7	43,0	21,5	86,0

RT	Mức thoái biến quan sát được ở thời điểm 28 ngày (%)	Mức thoái biến tính toán (%)			
		1 năm	1 năm, RT	2 năm, 2-8°C	2 năm, RT
pH = 2	0,6	7,9	7,9	4,0	15,9
pH = 3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH = 4	0,3	3,6	3,6	1,8	7,2
pH = 5	2,9	37,7	37,7	18,9	75,5
pH = 6	18,1	231,0	231,0	115,5	462,1

40°C	Mức thoái biến quan sát được ở thời điểm 28 ngày (%)	Mức thoái biến tính toán (%)			
		1 năm	1 năm, RT	2 năm, 2-8°C	2 năm, RT
pH = 2	9,1	116,5	29,1	14,6	58,3
pH = 3	1,8	22,5	5,6	2,8	11,3
pH = 4	6,9	88,7	22,2	11,1	44,3
pH = 5	26,1	333,6	83,4	41,7	166,8
pH = 6	45,0	575,7	143,9	72,0	287,8

Bảng 8 thể hiện tác dụng của sự tăng tốc nhiệt độ đối với các dữ liệu này theo cách tương tự với Bảng 4 nêu trên. Điều này chỉ lại ra rằng việc gia tăng nhiệt độ có xu hướng làm cho mức thoái biến tăng tốc cao hơn so với mức tăng tốc dự tính bằng cách suy luận dựa vào việc ứng dụng đơn giản nguyên lý Arrhenius.

Bảng 8

Sự tăng tốc nhiệt độ dưới dạng hàm của độ pH.

	Mức thoái biến ở thời điểm 28 ngày 10mg/mL			Mức tăng tốc: dữ liệu 10mg/mL					
	2-8°C	RT	40°C	RT/2- 8	Dự đoán	40C/2- 8	Dự đoán	40C/RT	Dự đoán
pH2	0,2	0,6	5,3	3	4	28	16	9	4
pH3	-0,1	0,2	1,1	>2	4	>10	16	6	4
pH4	-0,1	0,7	14,3	>7	4	>100	16	22	4
pH5	0,3	5,6	34,9	19	4	116	16	6	4
pH5	2,4	27,5	45,7	12	4	19	16	2	4

Ở mỗi giá trị pH, dữ liệu mức thoái biến ở từng nhiệt độ trong số ba nhiệt độ được so sánh với dữ liệu từ hai nhiệt độ khác để tính toán sự tăng tốc quan sát được. Sự tăng tốc dự đoán dựa vào việc ứng dụng đơn giản nguyên lý Arrhenius nêu trên. Như mô tả dưới đây, phân tích HPLC cho thấy cơ chế thoái biến chiếm ưu thế ở độ pH nhỏ hơn 3 là khác so với cơ chế thoái biến quan sát được ở độ pH lớn hơn 3.

Ví dụ 4

Tác dụng của tá dược tạo tính đẳng trương đối với độ ổn định

Trong nghiên cứu này, tác dụng của tá dược được dụng khác nhau đối với độ ổn định của AMG 416 trong dược phẩm dạng lỏng được xác định. Dung dịch chứa 10mg/mL AMG 416 và dung dịch gốc chứa manitol, glyxin, arginin, NaCl và Na₂SO₄ ở 2x nồng độ đẳng trương được chuẩn bị. Độ pH của dung dịch AMG 416 và năm dung dịch tá dược và nước khử ion được điều chỉnh riêng rẽ đến độ pH = 3,5 bằng cách sử dụng HCl/NaOH. Một lượng nhỏ 500µL của mỗi dung dịch trong số sáu dung dịch này được bổ sung vào các lọ thủy tinh và 500µL dung dịch AMG 416 cũng được bổ sung vào các lọ này và trộn kỹ. Quá trình này được thực hiện ba lần để thu được mười tám lọ mẫu, mỗi lọ chứa 5mg/mL AMG 416 và nồng độ tương lực của tá dược (hoặc nước khử ion). Quá trình này được thực hiện lặp lại với nhóm dung dịch được điều chỉnh đến độ pH = 4,5 để thu được mười tám lọ mẫu khác nữa. Các mẫu này được ủ và lấy ra để phân tích HPLC ở các thời điểm liên quan.

Dữ liệu độ ổn định ở thời điểm 56 ngày được thể hiện trên Bảng 9. Quan sát được khoảng đặc tính độ ổn định dưới dạng hàm của tá dược. Trong hầu hết các điều kiện thử nghiệm, đã cho thấy dược phẩm NaCl có mức thoái biến thấp nhất. Ngoại trừ là đối với dữ liệu ở nhiệt độ 2-8°C ở độ pH = 3,5 và 4,5. Quan sát được sự thay đổi nhiều hơn đối với các tá dược khác, mặc dù đã cho thấy arginin là độc ở mẫu có nhiệt độ 40°C và ở mẫu có độ pH = 4,5 ở nhiệt độ

trong phòng (khoảng 25°C), và đã cho thấy natri sulfat là độc ở mẫu có độ pH = 4,5 ở nhiệt độ trong phòng và ở 40°C.

Bảng 9

Mức thoái biến (%) ở 56 ngày đối với dung dịch chứa 5mg/mL AMG 416

Nhiệt độ	2-8°C		RT		40°C	
pH	3,5	4,5	3,5	4,5	3,5	4,5
Nước khử ion	0,0	0,7	1,0	3,6	8,2	24
Mannitol	0,0	0,5	0,5	2,2	4,9	23
Gly	0,0	0,6	0,6	6,4	17	28
Arg	0,0	0,5	0,6	29	28	67
NaCl	0,1	1,1	0,3	1,8	3,0	18
Na ₂ SO ₄	0,0	0,4	0,4	51	9,4	30

Bảng 10 suy luận dữ liệu cho 2 năm trong điều kiện bảo quản ở nhiệt độ trong phòng, và quan sát được xu hướng tương tự như được mô tả trên đây, trong đó bảo quản nhiệt độ càng cao thì thường dự đoán mức thoái biến càng nhanh hơn so với mức thoái biến dự tính bằng ứng dụng đơn giản nguyên lý Arrhenius.

Bảng 10

Mức thoái biến dự đoán (%) đối với dung dịch chứa 5mg/mL AMG 416 sau 2 năm bảo quản ở nhiệt độ trong phòng.

Nhiệt độ	2-8°C		RT		40°C	
pH	3,5	4,5	3,5	4,5	3,5	4,5
Nước khử ion	1	35	13	47	27	77
Mannitol	0	28	7	28	16	75
Gly	3	31	8	83	55	90
Arg	2	27	7	>100	90	>100
NaCl	4	56	4	24	10	58
Na ₂ SO ₄	2	22	5	>100	31	98

Dữ liệu cho thấy natri clorua có thể là chất điều chỉnh trương lực thích hợp cho được phẩm chứa dung dịch AMG 416.

Ví dụ 5

Độ ổn định dung dịch trong dung dịch đệm khác nhau

Trong nghiên cứu này, độ ổn định của dược phẩm dạng lỏng chứa AMG 416 được đánh giá trong 4 dung dịch đệm khác nhau trong 9 ngày. Dung dịch nước muối đệm được điều chế ở nồng độ 25mM, độ pH = 4,5, 4 dung dịch đệm anion khác nhau ở dạng muối natri là: axetat, xitrat, lactat và succinat. AMG 416 HCl (bột) được hoà tan trong từng dung dịch đệm để thu được 2,5mg/mL dung dịch và độ pH được điều chỉnh đến 4,5 bằng HCl/NaOH. Dung dịch này

được pha loãng tiếp bằng dung dịch đệm pH = 4,5 đến 1,0mg/mL và 0,25mg/mL. Mỗi dung dịch thu được được chia vào hai lọ thủy tinh HPLC, một lọ được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C và một lọ được bảo quản ở nhiệt độ trong phòng (khoảng 25°C). Phân tích HPLC được tiến hành ở 0, 4 và 9 ngày để xác định hiệu lực và độ tinh khiết.

Độ tinh khiết của AMG 416 trong hầu hết các mẫu ở tất cả các thời điểm là 100%, với ngoại trừ một vài đỉnh nhỏ đối với mẫu xitrat ở 9 ngày có thể là do sự biến thiên cơ bản. Trong tất cả các dung dịch đệm được thử nghiệm, đã cho thấy độ ổn định của AMG 416 tốt trong quá trình nghiên cứu 9 ngày.

Ví dụ 6

Độ ổn định của dược phẩm trong dung dịch đệm ở độ pH = 2,25, 2,5 3,0 và 3,5

Trong nghiên cứu này, độ ổn định của dược phẩm dạng lỏng chứa AMG 416 trong điều kiện pH thấp được nghiên cứu. Nước muối đệm succinat (10mM, độ pH = 3,5) được điều chế bằng cách hoà tan 59mg axit succinic trong 45mL nước đã được xử lý trong phòng thí nghiệm (đã được khử ion) và điều chỉnh độ pH đến 3,5 bằng cách sử dụng HCl 1N và NaOH 1N khi cần, và bổ sung vừa đủ đến 50mL. Theo cách tương tự như vậy điều chế được dung dịch đệm natri lactat (56 mg/50mL) 10mM ở độ pH = 3,5.

AMG 416 HCl (128 mg bột) được hoà tan trong 20mL dung dịch đệm succinat để thu được dung dịch chứa 5mg/mL AMG 416 được chia thành hai phần 10mL bằng nhau. NaCl (90 mg) được bổ sung vào một phần và manitol (500 mg) được bổ sung vào phần kia. Mỗi phần 10mL được chia tiếp thành hai phần 5mL bằng nhau và độ pH được điều chỉnh lần lượt đến 2,25 và 3,5, bằng HCl 1N và NaOH 1N. Theo cách tương tự như vậy, điều chế được bốn dung dịch 5mL bằng cách sử dụng dung dịch đệm lactat. 1,0mL mỗi dung dịch trong số các (tám) dung dịch thu được được bổ sung vào 3 lọ mẫu huyết thanh. Ngoài ra, dung dịch AMG 416 đệm succinat ở độ pH = 2,25 còn lại chứa NaCl được điều chỉnh đến độ pH 2,5 và các lượng nhỏ 0,5mL được bổ sung vào 3 lọ mẫu huyết thanh và dung dịch đệm succinat ở độ pH = 3,5 còn lại với NaCl được điều chỉnh đến độ pH = 3,0 và các lượng nhỏ 0,5mL được bổ sung vào 3 lọ mẫu huyết thanh. Xem Bảng 11.

Ở mỗi thời điểm (0, 2, 8, 12 và 24 tuần) tất cả 30 mẫu được lấy ra khỏi điều kiện bảo quản, được làm cân bằng với nhiệt độ trong phòng (khoảng 25°C), và lượng nhỏ 100µL được pha loãng đến 0,5mg/mL bằng nước để phân tích RP-HPLC. Các mẫu còn lại được đậy kín lại và đưa trở lại các điều kiện bảo quản tương ứng của chúng.

Bảng 11

Mô tả số mẫu

pH	2,25				3,5				2,5	3,0
Dung dịch đậm	Lactat		Sucxinat		Lactat		Sucxinat		Sucxinat	
Tá dược	NaCl	Mann	NaCl	Mann	NaCl	Mann	NaCl	Mann	NaCl	NaCl
2-8°C	1	2	3	4	5	6	7	8	25	28
RT	9	10	11	12	13	14	15	16	26	29
40°C	17	18	19	20	21	22	23	24	27	30

Dữ liệu HPLC đại diện cho nghiên cứu này được thể hiện trong các Fig.5 và 6. Vết HPLC được thể hiện Trên Fig.5 là mẫu ở độ pH = 2,25 được bảo quản trong 67 ngày ở 40°C (5mg/mL, độ tinh khiết 87,8%). Fig.5B cho thấy khoảng khác nhau nhìn thấy ở các tạp chất. Fig.6 minh họa mức độ ảnh hưởng của việc tăng độ pH đến 3,5 đối với dược phẩm tương đương khác (độ pH = 3,5, 40°C, 5mg/mL, 67 ngày, độ tinh khiết 91,7%). Fig.6B cho thấy khoảng khác nhau nhìn thấy ở các tạp chất. Như trong nghiên cứu trước, quan sát được sự sai khác đáng kể ở profin chất thoái biến khi độ pH thay đổi.

Độ tinh khiết của AMG 416 dưới dạng hàm theo thời gian được thể hiện trong Bảng 12 (nồng độ dung dịch đậm 10 mM: L = lactat; S = sucxinat. Chất điều chỉnh trương lực: N = NaCl 0,9%; M = manitol 5%). Lưu ý rằng lô được sử dụng chứa 3,4% đime ở thời điểm 0. Thời điểm 14 ngày đối với mẫu 26 bị bỏ sót do sai sót trong quá trình điều chế mẫu.

Các xu hướng dữ liệu được chọn được thể hiện dưới dạng đồ thị trong các Fig.7-9.

Bảng 12

Độ ổn định của dung dịch AMG 416 ở 5mg/mL đến 67 ngày trong dung dịch đậm

Mẫu	pH	Nhiệt độ	Dung dịch đậm	Tính trương lực	Độ tinh khiết (%) ở thời điểm (ngày)				
					0	14	27	49	67
1	2,25	5	L	N	96,8	96,4	97,0	95,7	95,7
2	2,25	5	L	M	96,8	96,4	95,9	96,0	95,7
3	2,25	5	S	N	95,6	95,1	95,1	94,6	93,8
4	2,25	5	S	M	95,4	95,1	95,4	94,0	94,0
5	3,5	5	L	N	96,9	96,6	96,4	95,8	96,2
6	3,5	5	L	M	96,8	96,9	96,9	96,0	94,5
7	3,5	5	S	N	95,3	95,7	95,5	95,0	95,0
8	3,5	5	S	M	95,4	95,2	95,1	95,1	94,4
9	2,25	25	L	N	96,9	96,4	95,2	94,0	92,8
10	2,25	25	L	M	96,9	96,6	95,6	93,2	94,9
11	2,25	25	S	N	95,3	94,2	93,9	91,7	90,6
12	2,25	25	S	M	95,6	94,5	94,1	92,5	92,1

13	3,5	25	L	N	96,6	96,3	96,3	94,7	95,2
14	3,5	25	L	M	96,5	96,2	95,3	94,8	93,3
15	3,5	25	S	N	95,3	95,1	94,8	93,4	93,3
16	3,5	25	S	M	95,8	95,3	94,7	93,5	93,6
17	2,25	40	L	N	96,7	91,9	87,8	83,5	79,4
18	2,25	40	L	M	96,5	93,8	89,5	86,6	83,0
19	2,25	40	S	N	95,3	89,9	86,9	80,4	76,3
20	2,25	40	S	M	95,4	91,8	89,6	85,3	82,9
21	3,5	40	L	N	96,7	94,3	91,7	89,5	86,2
22	3,5	40	L	M	96,6	92,2	85,9	79,5	77,3
23	3,5	40	S	N	95,3	92,3	89,3	86,8	84,2
24	3,5	40	S	M	95,6	91,6	88,5	84,2	80,3
25	2,5	5	S	N	95,4	94,9	95,2	94,8	94,4
26	2,5	25	S	N	95,2	ND	94,5	93,2	93,2
27	2,5	40	S	N	95,3	92,3	90,3	85,0	82,4
28	3,0	5	S	N	95,4	95,4	94,9	94,7	94,9
29	3,0	25	S	N	95,6	94,9	95,0	93,9	94,2
30	3,0	40	S	N	95,3	92,5	90,0	86,9	85,2

Fig.7 cho thấy độ ổn định của dung dịch chứa AMG 416 (5mg/mL) trong dung dịch nước muối đệm succinat dưới dạng hàm của độ pH trong điều kiện lạnh (2-8°C). Fig.8 cho thấy độ ổn định của dung dịch chứa AMG 416 (5mg/mL) trong dung dịch nước muối đệm succinat dưới dạng hàm của độ pH sau khi bảo quản ở nhiệt độ trong phòng. Fig.9 cho thấy độ ổn định của dung dịch chứa AMG 416 (5mg/mL) trong dung dịch nước muối đệm succinat dưới dạng hàm của độ pH sau khi bảo quản ở 40°C.

Profin chất thoái biến ở thời điểm muộn nhất được thể hiện trong Bảng 13, và diễn biến theo thời gian về bề ngoài của hai chất thoái biến chính (do quá trình khử amit đầu tận cùng C và quá trình tạo ra homodime) được thể hiện trên các Bảng 14 và 15. Các Fig.10 và 11 thể hiện diễn biến theo thời gian của mức thoái biến đối với các sản phẩm riêng rẽ này (lần lượt quá trình khử amit đầu tận cùng C và quá trình tạo ra homodime) dưới dạng hàm của độ pH đối với dược phẩm đã chọn (là các dược phẩm mà nhóm đầy đủ các điều kiện pH là sẵn có, nghĩa là chúng chứa NaCl và succinat, chứ không phải là lactat hoặc mannitol).

Fig.10 cho thấy sự phụ thuộc độ pH rõ rệt đối với quá trình khử amit, với mức thoái biến cao hơn đáng kể bởi con đường này ở độ pH = 2,25 so với ở độ pH cao hơn, và sự tương ứng trực tiếp giữa độ pH và lượng khử amit. Trái lại, quá trình tạo ra homodime được thể hiện Trên Fig.11 cho thấy mối quan hệ đối nghịch giữa pH và mức thoái biến. Các xu hướng đối nghịch này làm cơ sở cho toàn bộ dữ liệu về độ ổn định được thể hiện trong các Fig.7-9, và độ ổn

định tối đa đối với dung dịch AMG 416 trong nhóm thử nghiệm này quan sát được ở độ pH = $3,0 \pm 0,5$.

Mối tương quan giữa độ ổn định và thành phần tá dược là không rõ ràng. Liên quan đến việc chọn lựa dung dịch đệm (sucxinat và lactat), xem xét dữ liệu trong các Bảng 12-14 cho thấy không có kiểu ưu tiên rõ ràng cho dung dịch đệm đối với chất thoái biến bất kỳ trong số các chất thoái biến chính ở độ pH = 2,25 hoặc 3,5. Tất cả các mẫu có dung dịch đệm sucxinat đã cho thấy độ tinh khiết thấp hơn ở thời điểm 0 so với các mẫu đệm lactat tương ứng, do sự hợp nhất lớn hơn của đỉnh homodime. Lý do cho điều này là không rõ ràng, nhưng có thể chỉ ra sự thay đổi về độ hấp phụ tương đối đối với dime gốc và dime dưới dạng hàm của dung dịch đệm. Tuy nhiên, như nêu trên, việc ủ sau đó tạo ra tốc độ thoái biến về cơ bản giống nhau với sự có mặt của cả hai dung dịch đệm. Đối với việc lựa chọn chất điều chỉnh trương lực (NaCl hoặc manitol), natri clorua dường như làm tăng tốc độ khử amit ở độ pH = 2,25 (Xem Bảng 13, các mẫu 9-12 ở 25°C và đặc biệt là các mẫu 17-20 ở 40°C). Tuy nhiên, NaCl dường như làm ức chế (so với manitol) mức thoái biến đối với homodime ở độ pH = 3,5 (Bảng 14, các mẫu 13-16 ở 25°C và đặc biệt là các mẫu 21-24 ở 40°C).

Bảng 13

Profin chất thoái biến đối với dung dịch AMG 416 (5mg/mL) sau 67 ngày

t=67 ngày				Tạp chất chính (% tổng diện tích)				
				Axit	Dime	Dime Trisulfua	Deaxetyl	Trisulfua
pH	Nhiệt độ	Dung dịch đệm	Tính trương lực	8,1 phút	9,3 phút	9,5	7,4 phút	8,2 phút
2,25	5	L	N	0,8	0,4			
2,25	5	L	M	0,5	0,6			
2,25	5	S	N	0,8	0,8			
2,25	5	S	M	1,1	0,1			
3,5	5	L	N		0,1			
3,5	5	L	M	1,2	1,6			
3,5	5	S	N	0,2	0,1			
3,5	5	S	M	0,7	-0,1			
2,25	25	L	N	2,5	0,3		0,3	0,9
2,25	25	L	M	1,2	0,4		0,3	
2,25	25	S	N	3,1	0,4		0,4	
2,25	25	S	M	1,6	0,9			
3,5	25	L	N		1,4			
3,5	25	L	M		3,1			
3,5	25	S	N	0,2	1,8			
3,5	25	S	M		2,1		0,1	

2,25	40	L	N	13,9	0,4	0,7	2,9	
2,25	40	L	M	8,7	1,6	0,6	2,0	0,3
2,25	40	S	N	14,2	0,0	0,2	3,1	
2,25	40	S	M	8,9	2,4	0,6	2,5	0,3
3,5	40	L	N	1,4	7,4	1,0		0,7
3,5	40	L	M	0,5	17,0	0,5		1,0
3,5	40	S	N	1,0	8,1	0,6	0,1	0,6
3,5	40	S	M	1,0	11,7	0,7		1,3
2,5	5	S	N	0,5	0,5			
2,5	25	S	N	1,5	0,2		0,4	
2,5	40	S	N	8,4	1,1	0,4	1,9	
3,0	5	S	N		0,2		0,4	
3,0	25	S	N		1,3		0,1	
3,0	40	S	N	2,4	5,5	0,6	0,6	0,5

Nồng độ dung dịch đậm 10 mM: L = Lactat; S = succinat. Chất điều chỉnh trương lực: N = NaCl 0,9%; M = manitol 5%). Giá trị đối với % đime phản ánh mức tăng chất thoái biến sau khi trừ đi giá trị ban đầu.

Bảng 14

Quá trình khử amit trong dung dịch AMG 416 (5mg/mL) ở thời điểm lên đến 67 ngày

Mẫu	pH	Nhiệt độ	Dung dịch đậm	Tính trương lực	% mức thoái biến ở thời điểm (ngày)				
					0	14	27	49	67
1	2,25	5	L	N	0,1			0,7	0,8
2	2,25	5	L	M			0,9	0,8	0,5
3	2,25	5	S	N			0,4	0,8	0,8
4	2,25	5	S	M				0,3	1,1
5	3,5	5	L	N			0,3	0,4	
6	3,5	5	L	M					1,2
7	3,5	5	S	N					0,2
8	3,5	5	S	M					0,7
9	2,25	25	L	N			1,3	1,6	2,5
10	2,25	25	L	M			1,2	1,2	1,2
11	2,25	25	S	N		1,1	1,4	2,0	3,1
12	2,25	25	S	M		0,7	1,0	1,3	1,6
13	3,5	25	L	N					
14	3,5	25	L	M					
15	3,5	25	S	N					0,2
16	3,5	25	S	M					
17	2,25	40	L	N		3,4	6,6	10,2	13,9
18	2,25	40	L	M		2,5	4,8	7,0	8,7

19	2,25	40	S	N		3,9	6,6	11,0	14,2
20	2,25	40	S	M		2,3	4,2	6,4	8,9
21	3,5	40	L	N			0,9	0,9	1,4
22	3,5	40	L	M			0,5	0,6	0,5
23	3,5	40	S	N			1,0	1,0	1,0
24	3,5	40	S	M			0,4	0,3	1,0
25	2,5	5	S	N					0,5
26	2,5	25	S	N			0,7	1,3	1,5
27	2,5	40	S	N		2,0	3,3	6,7	8,4
28	3,0	5	S	N					
29	3,0	25	S	N				0,3	
30	3,0	40	S	N		1,0		2,2	2,4

Nồng độ dung dịch đậm 10 mM: L = Lactat; S = succinat. Chất điều chỉnh trương lực: N = NaCl 0,9%; M = manitol 5%).

Quan sát được độ ổn định tối đa đối với dung dịch AMG 416 trong nhóm thử nghiệm này ở độ pH = 3,0 ± 0,5. Tốc độ thoái biến tổng ở độ pH 2,5 và 3,5 là tương tự, nhưng profin chất thoái biến là khác nhau. Độ ổn định ở độ pH = 2,25 là kém do số lần khử amit quan sát được lớn hơn. Trong khi một số tác dụng của tá dược có thể quan sát được đối với profin độ ổn định, dữ liệu này không chỉ ra toàn bộ các ưu tiên trong số các hệ tá dược được nghiên cứu, khi được điều chế ở độ pH = 3,0.

Bảng 15

Mức thoái biến AMG 416 do homodime trong dung dịch 5mg/mL ở thời điểm lên đến 67 ngày

Mẫu	pH	Nhiệt độ	Dung dịch đậm	Tính trương lực	Đime (% mức gia tăng)				
					0	14	27	49	67
1	2,25	5	L	N	0,0	0,5	-0,1	0,5	0,4
2	2,25	5	L	M	0,0	0,4	0,0	0,0	0,6
3	2,25	5	S	N	0,0	0,5	0,1	0,1	0,8
4	2,25	5	S	M	0,0	0,3	0,0	0,2	0,1
5	3,5	5	L	N	0,0	0,2	0,1	0,2	0,1
6	3,5	5	L	M	0,0	-0,1	0,0	0,2	1,6
7	3,5	5	S	N	0,0	-0,4	-0,2	0,0	0,1
8	3,5	5	S	M	0,0	0,2	0,1	-0,1	-0,1
9	2,25	25	L	N	0,0	0,5	0,4	0,5	0,3
10	2,25	25	L	M	0,0	0,3	0,1	0,5	0,4
11	2,25	25	S	N	0,0	-0,1	0,0	0,0	0,4
12	2,25	25	S	M	0,0	0,5	0,5	0,2	0,9
13	3,5	25	L	N	0,0	0,3	0,3	0,9	1,4
14	3,5	25	L	M	0,0	0,4	0,3	1,5	3,1
15	3,5	25	S	N	0,0	0,2	0,5	1,1	1,8

16	3,5	25	S	M	0,0	0,5	1,0	1,4	2,1
17	2,25	40	L	N	0,0	0,6	0,8	0,5	0,4
18	2,25	40	L	M	0,0	0,0	0,3	0,6	1,6
19	2,25	40	S	N	0,0	0,5	0,4	0,8	0,0
20	2,25	40	S	M	0,0	0,6	0,6	1,3	2,4
21	3,5	40	L	N	0,0	2,4	3,7	5,5	7,4
22	3,5	40	L	M	0,0	4,1	9,5	15,0	17,0
23	3,5	40	S	N	0,0	2,8	4,6	6,3	8,1
24	3,5	40	S	M	0,0	3,7	6,6	9,0	11,7
25	2,5	5	S	N	0,0	0,4	0,2	0,0	0,5
26	2,5	25	S	N	0,0		0,1	0,5	0,2
27	2,5	40	S	N	0,0	0,6	0,6	1,5	1,1
28	3,0	5	S	N	0,0	0,0	0,5	0,2	0,2
29	3,0	25	S	N	0,0	0,6	0,6	0,9	1,3
30	3,0	40	S	N	0,0	1,6	3,2	4,8	5,5

(Nồng độ dung dịch đậm 10 mM: L = Lactat; S = succinat. Chất điều chỉnh trương lực: N = NaCl 0,9%; M = manitol 5%). Lưu ý rằng mức thoái biến được biểu hiện dưới dạng mức tăng hàm lượng đime (không phải đime tổng) là API được sử dụng cho thử nghiệm chứa lượng đime đáng kể.

Độ ổn định tối đa đối với dung dịch AMG 416 trong nhóm thử nghiệm này quan sát được ở độ pH = $3,0 \pm 0,5$. Phân tích dung dịch được điều chế ở độ pH 2,5 hoặc 3,5 cho thấy profin thoái biến khác nhau, với thủy phân amit đầu tận cùng C là chất thoái biến lớn nhất ở độ pH thấp trong khi đó quá trình tạo ra homodime là lớn hơn ở độ pH cao hơn. Dược phẩm dạng lỏng ở độ pH = 3,0 được dự đoán có tổng mức thoái biến là 2-4% trong 2 năm trong điều kiện lạnh.

Ví dụ 7

Nghiên cứu độ cứng

Trong nghiên cứu này, độ ổn định của dược phẩm dạng lỏng chứa AMG 416 trong các điều kiện sản xuất và phân tích khác nhau được nghiên cứu. Mười bốn nhóm thử nghiệm dược phẩm được chuẩn bị, mỗi nhóm này có sự kết hợp khác nhau của pH (2,7, 3,3 hoặc 3,9), nồng độ peptit (4, 5 hoặc 6mg/mL) và nồng độ muối (0,7, 0,85 hoặc 1,0%). Độ thẩm thấu của mỗi dược phẩm được giữ giống nhau (succinat 10 mM). Xem Bảng 16.

Bảng 16

Nhóm thử nghiệm dược phẩm

Mẫu	pH	Succinat (mM)	Peptit (mg/mL)	NaCl (%)
1	3,3	10	5	0,85
2	3,9	10	4	1,0
3	2,7	10	4	0,85
4	3,9	10	6	0,7
5	3,3	10	4	0,7

6	3,9	10	6	1,0
7	3,3	10	5	1,0
8	3,3	10	5	0,85
9	3,9	10	5	0,85
10	3,3	10	6	0,85
11	2,7	10	6	0,85
12	2,7	10	5	1,0
13	2,7	10	5	0,7
14	3,9	10	4	0,7

Các mẫu (2,1mL) của mỗi nhóm thử nghiệm được phẩm được phân tán vào các lọ thủy tinh 3mL loại 1B (Schott, Germany) và đậy kín (nắp đậy bằng cao su). Bộ lọ được bảo quản ở tư thế thẳng đứng trong 3 tháng ở các nhiệt độ 4°C, 25°C hoặc 40°C. Sự thay đổi về độ pH, độ thẩm thấu, phần trăm AMG 416, và chất thoái biến được đánh giá trong 3 tháng.

Bề mặt đáp ứng phụ thuộc thời gian được xác định bằng 3 yếu tố (pH, % peptit và % NaCl) được ước tính bằng cách làm phù hợp mô hình thống kê mô tả bề mặt này với dữ liệu cho mỗi đáp ứng HPLC và ở mỗi nhiệt độ (phần mềm phát hiện thống kê JMP®, SAS). Phương pháp mô phỏng Monte Carlo được sử dụng để tạo ra các phân bố của các đáp ứng HPLC dự đoán ở điểm đặt (độ pH = 3,3, peptit = 5% và NaCl = 8,5%) dưới dạng hàm của biến thiên ngẫu nhiên của các yếu tố quanh điểm đặt và nhiễu ngẫu nhiên.

Không có sự thay đổi đáng kể về độ pH và độ thẩm thấu theo thời gian được ghi nhận. Ở nhiệt độ 4°C và 25°C, độ tinh khiết duy trì là 92% hoặc cao hơn, mức khử amit là 4% hoặc thấp hơn và quá trình tạo ra homodime là 4% hoặc thấp hơn trong toàn bộ thời gian nghiên cứu. Ở 40°C, quan sát được độ tinh khiết, quá trình khử amit và tạo ra homodime bắt đầu ở thời điểm 1 tháng. Tuy nhiên, quá trình khử amit và tạo ra homodime giảm khi khoảng giá trị pH được thu hẹp quanh 3,3, cho thấy độ pH có tác động đáng kể đến sự tạo thành các chất thoái biến này.

Dựa vào dữ liệu này, có thể đưa ra dự đoán về profin độ tinh khiết trong khoảng giá trị độ pH từ 2,8 đến 3,8. Như được thể hiện Trên Fig.12, độ tinh khiết ở mỗi nhiệt độ phụ thuộc mạnh vào độ pH, và ít phụ thuộc vào nồng độ peptit và NaCl trong khoảng được thử nghiệm. Trong điều kiện lạnh, mức độ ảnh hưởng của pH là thấp hơn đáng kể ở các giá trị pH trên 3,3, nhưng ở nhiệt độ trong phòng (khoảng 25°C), giá trị pH càng cao thì mức thoái biến càng nhanh hơn. Dược phẩm cho mục đích điều trị có thể là đối tượng phải bảo quản trong điều kiện lạnh trong thời gian dài. Ngoài ra, cũng xem xét đến việc tiếp xúc tiềm ẩn của dược phẩm với các nhiệt độ cao hơn trong quá trình sản xuất, đóng gói, dán nhãn và sử dụng lâm sàng. Do vậy, trong nhóm thử nghiệm này,

đã quan sát thấy rằng giá trị pH trong khoảng được thử nghiệm từ 2,8 đến 3,8 ($3,3 \pm 0,5$) sẽ là thích hợp đối với dược phẩm chứa AMG 416.

Ví dụ 8

Độ ổn định lâu dài của dược phẩm dạng lỏng chứa AMG 416 trong khoảng giá trị pH.

Trong nghiên cứu này, độ ổn định lâu dài của dược phẩm dạng lỏng chứa AMG 416, ở nồng độ là 3,4mg/mL, được xác định trong khoảng giá trị pH trong dung dịch nước muối đệm succinat. Nước được tinh chế USP (1200mL) được phân tán vào cốc thủy tinh. Natri succinat (4,05g) và natri clorua (13,5g) được bổ sung và khuấy để hòa tan. Độ pH được điều chỉnh đến 2,5 bằng NaOH 1N và/hoặc HCl 1N theo yêu cầu. AMG 416 HCl (khối lượng bột 5,5g) được bổ sung, được khuấy để hòa tan, và bổ sung vừa đủ đến 1500mL bằng nước tinh khiết để thu được 3,4mg/mL dung dịch (AMG 416). Dung dịch này được chia thành ba phần và độ pH của mỗi phần được điều chỉnh lần lượt đến 2,5, 3,0 và 3,5. Mỗi dung dịch này được lọc riêng rẽ qua thiết bị lọc PVDF có đường kính lỗ 0,22 micron và phân tán 2mL vào các lọ 5cc. Sau khi đậy kín, niêm phong, và dán nhãn, các lọ được đặt trong buồng ổn định được chỉ định ở nhiệt độ $5^{\circ}\text{C} \pm 3$, $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, và $40^{\circ}\text{C} \pm 2$. Các mẫu được lấy ra theo phác đồ và pha loãng bằng nước khử ion đến 1,0mg/mL để phân tích HPLC. Độ tinh khiết ở thời điểm các tháng 0, 1, 2, 3, 5, 12 và 24 được thể hiện trong Bảng 17 (Lưu ý: giá trị độ tinh khiết ban đầu là 99,2% đối với nghiên cứu này). Các kết quả cho thấy profin độ ổn định trong thời gian dài của 3,4mg/mL dược phẩm dạng lỏng chứa AMG 416 dưới dạng hàm của độ pH và nhiệt độ.

Bảng 17

Độ tinh khiết ở thời điểm lên đến 24 tháng của dung dịch AMG 416.

pH	Nhiệt độ (°C)	Độ tinh khiết (%) ở thời điểm (tháng)							Mức thoái biến ở thời điểm 2 năm
		0	1	2	3	5	12	24	
2,5	5	99,2	99,0	98,8	98,8	98,1	96,8	94,8	4,4
	25	99,2	96,9	95,2	93,4	89,3	80,9	68,5	30,7
	40	99,2	88,8	81,9	75,3	60,9	39,1	20,4	78,8
3	5	99,2	99,1	99,1	99,2	98,7	98,3	97,7	1,5
	25	99,2	98,2	97,5	96,7	95,0	91,1	84,6	14,6
	40	99,2	93,7	90,2	86,4	78,9	61,6	39,2	60,0
3,5	5	99,2	99,2	99,2	99,2	98,8	98,6	98,3	0,9
	25	99,2	98,6	98,1	97,6	96,2	93,4	89,2	10,0
	40	99,2	94,6	91,5	88,7	83,1	67,5	46,1	53,1

Diễn biến theo thời gian về độ tinh khiết của dược phẩm chứa AMG 416 lỏng ở mỗi mức pH được thể hiện trên Fig.13. Ở tất cả các nhiệt độ, quan sát được độ tinh khiết cao nhất ở độ pH = 3,5 trong khi mức thoái biến nhất quan sát được ở độ pH 2,5. Hơn nữa, ở tất cả các nhiệt độ, độ tinh khiết ở độ pH = 3,0 và 3,5 là cao hơn đáng kể độ tinh khiết ở độ pH 2,5. Do vậy, ví dụ, đối với các mẫu được để lạnh, độ tinh khiết ở 24 tháng là 98,3 và 97,7 đối với dung dịch lần lượt ở độ pH = 3,5 và 3,0, nhưng chỉ là 94,8 đối với dung dịch ở độ pH 2,5. Ngoài ra, đã thấy rằng việc giảm độ tinh khiết liên quan đến nhiệt độ ở tất cả các mức pH, với mức thoái biến thấp nhất quan sát được trong các mẫu được ủ ở nhiệt độ 2-8°C và mức thoái biến nhất quan sát được trong các mẫu được ủ ở 40°C. Chất thoái biến chính quan sát được ở độ pH 2,5 là sản phẩm được khử amit và homodime quan sát được ở độ pH = 3,5.

Các dữ liệu này xác nhận rằng dược phẩm theo sáng chế có khả năng duy trì độ ổn định thỏa đáng của AMG 416 trong ít nhất thời hạn sử dụng hai năm trong điều kiện lạnh. Mức thoái biến quan sát được là tuyến tính trong tất cả các trường hợp và hỗ trợ các kết luận dựa vào dữ liệu được suy luận từ các thử nghiệm trước. Từ dữ liệu này, độ pH tối ưu nằm trong khoảng từ 3,0 đến 3,5 dựa vào sự cân bằng giữa các đường thoái biến khác nhau.

Tất cả các ấn phẩm, bằng độc quyền sáng chế và đơn yêu cầu cấp bằng độc quyền sáng chế đã trích dẫn được đưa vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn. Mặc dù sáng chế được mô tả một cách chi tiết bằng cách minh họa và ví dụ để nhằm hiểu rõ hơn sáng chế, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này dễ dàng hiểu rằng trong phạm vi sáng chế các thay đổi và cải biến nhất định có thể được thực hiện mà không nằm ngoài phạm vi hoặc nội dung của yêu cầu bảo hộ kèm theo.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm chứa etelcalcetrit (AMG 416) trong dung dịch nước, trong đó dược phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 2,0 đến 5,0.
2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 2,5 đến 4,5.
3. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 2,5 đến 4,0.
4. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 3,0 đến 3,5.
5. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó độ pH được duy trì bằng dung dịch đệm được dùng.
6. Dược phẩm theo điểm 5, trong đó dung dịch đệm là dung dịch succinat.
7. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó AMG 416 có mặt trong dược phẩm này ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1mg/mL đến 20mg/mL
8. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó AMG 416 có mặt trong dược phẩm này ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mg/mL đến 15mg/mL.
9. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó AMG 416 có mặt trong dược phẩm này ở nồng độ nằm trong khoảng từ 2,5mg/mL đến 10mg/mL.
10. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này còn chứa chất điều chỉnh trương lực được dùng.
11. Dược phẩm theo điểm 10, trong đó chất điều chỉnh trương lực có mặt trong dược phẩm này ở nồng độ đủ để cho dược phẩm này có tính gần như đẳng trương.
12. Dược phẩm theo điểm 10, trong đó chất điều chỉnh trương lực là NaCl.
13. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 10% khi được bảo quản ở 2-8°C trong 2 năm.
14. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này có mức thoái biến thấp hơn 10% khi được bảo quản ở nhiệt độ trong phòng trong 2 năm.
15. Dược phẩm chứa 2mg/mL đến 20mg/mL AMG 416 trong dung dịch nước, dung dịch đệm succinat duy trì dược phẩm này ở độ pH nằm trong khoảng từ 3,0 đến 3,5, và nồng độ natri clorua đủ để cho dược phẩm này có tính gần như đẳng trương.

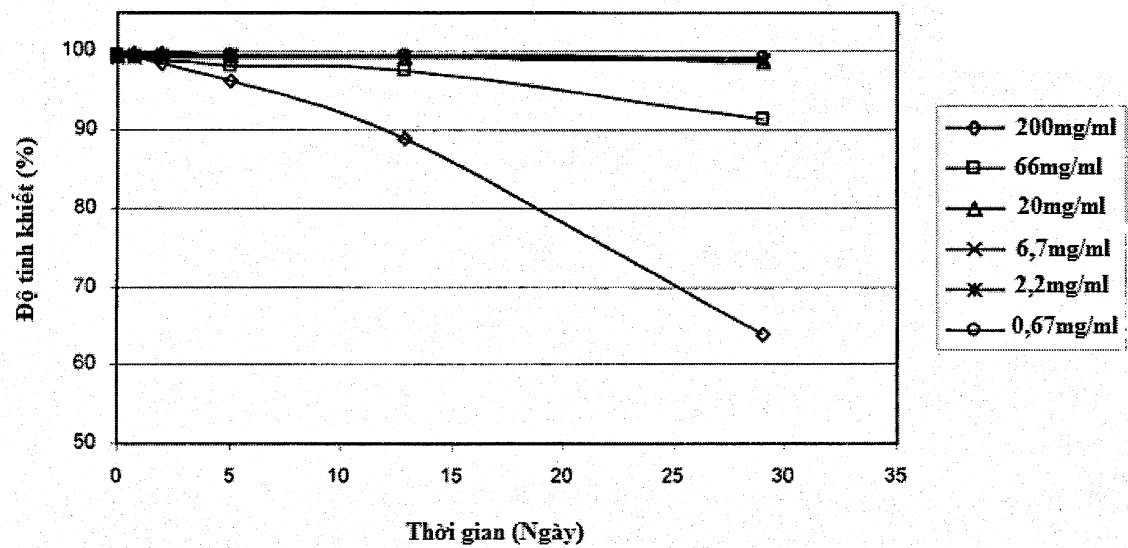


FIG. 1A

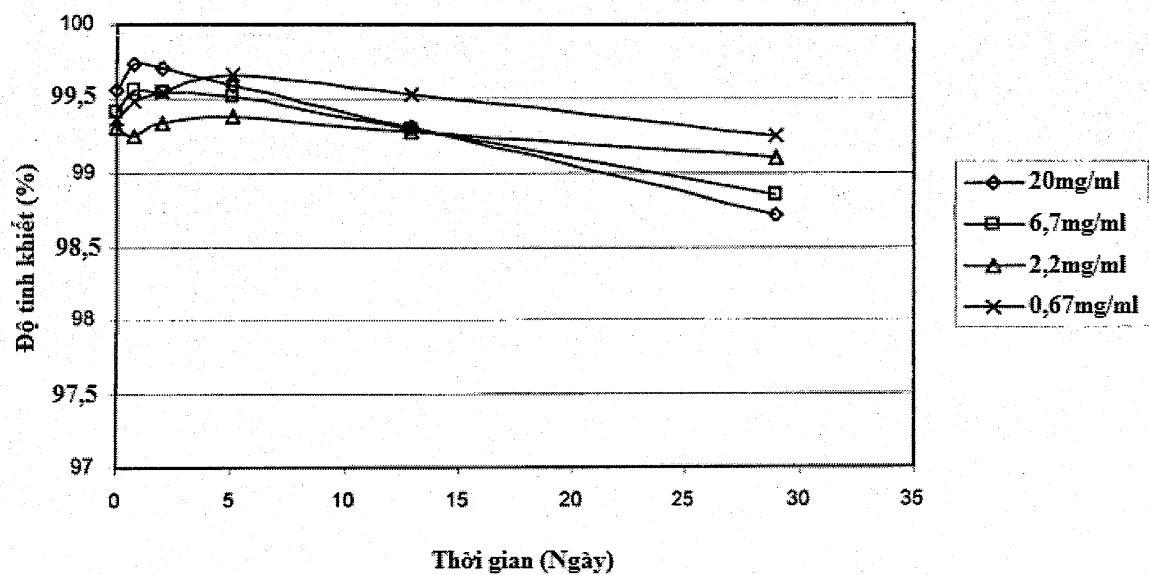


FIG. 1B

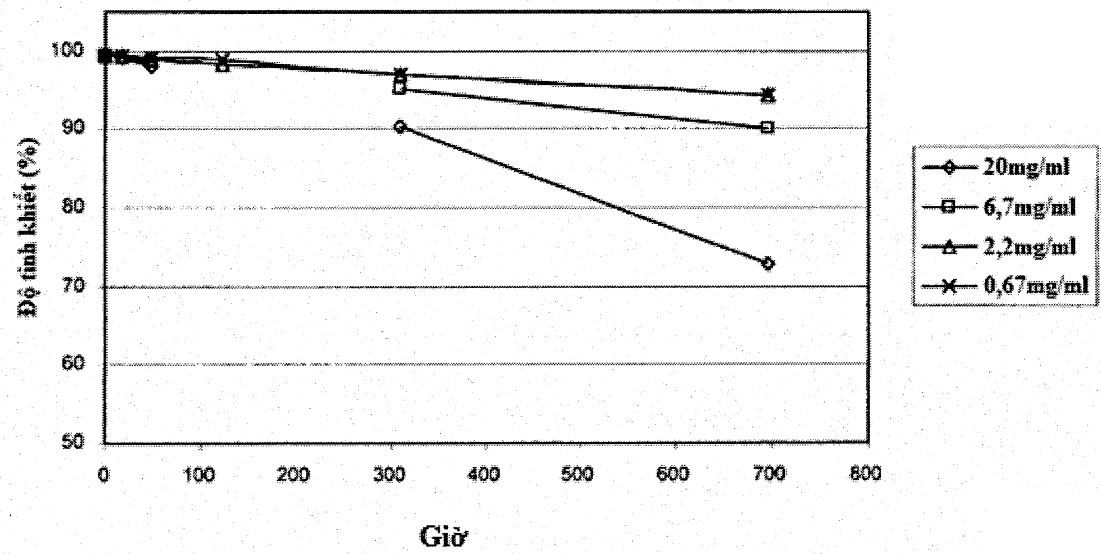


FIG. 2

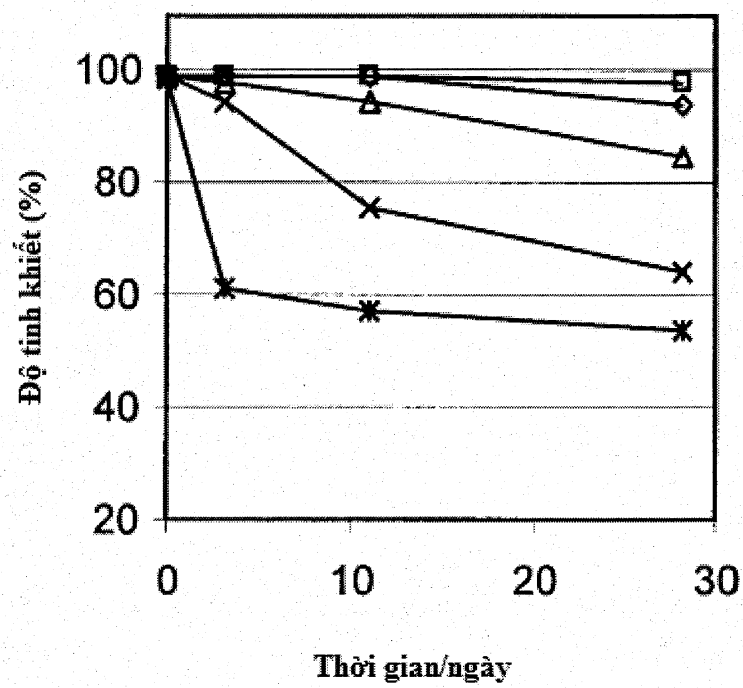


FIG. 3A

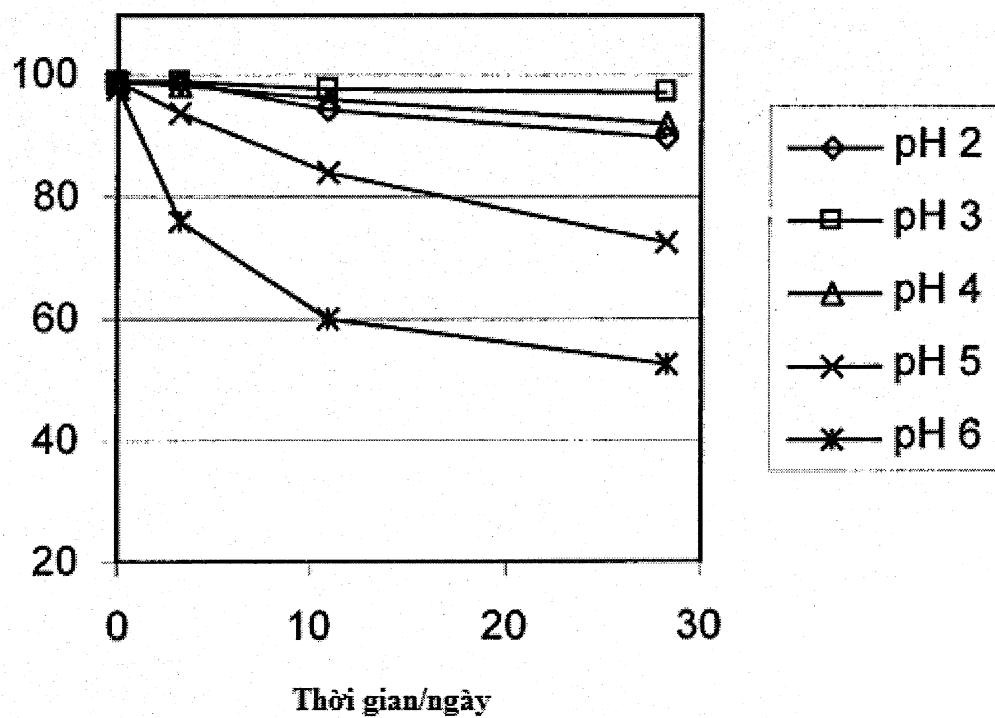


FIG. 3B

FIG. 3

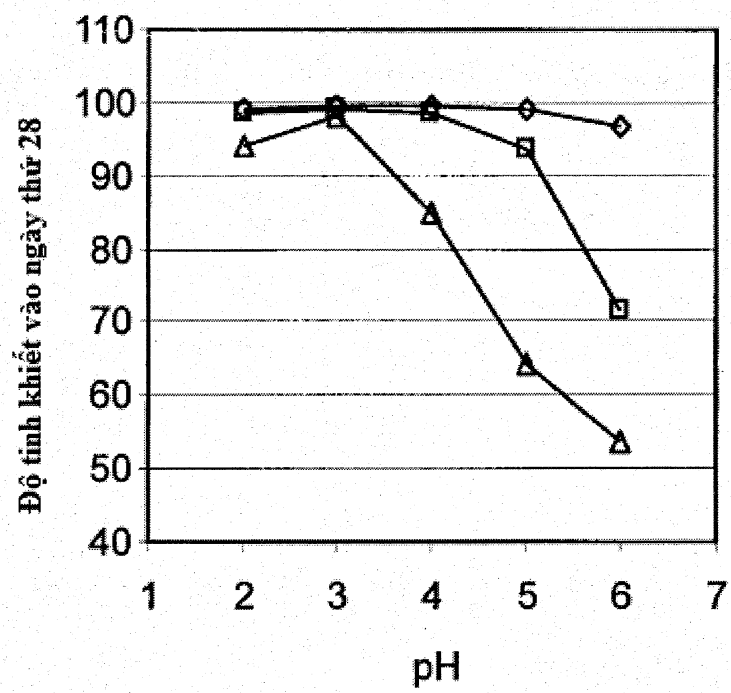


FIG. 4A

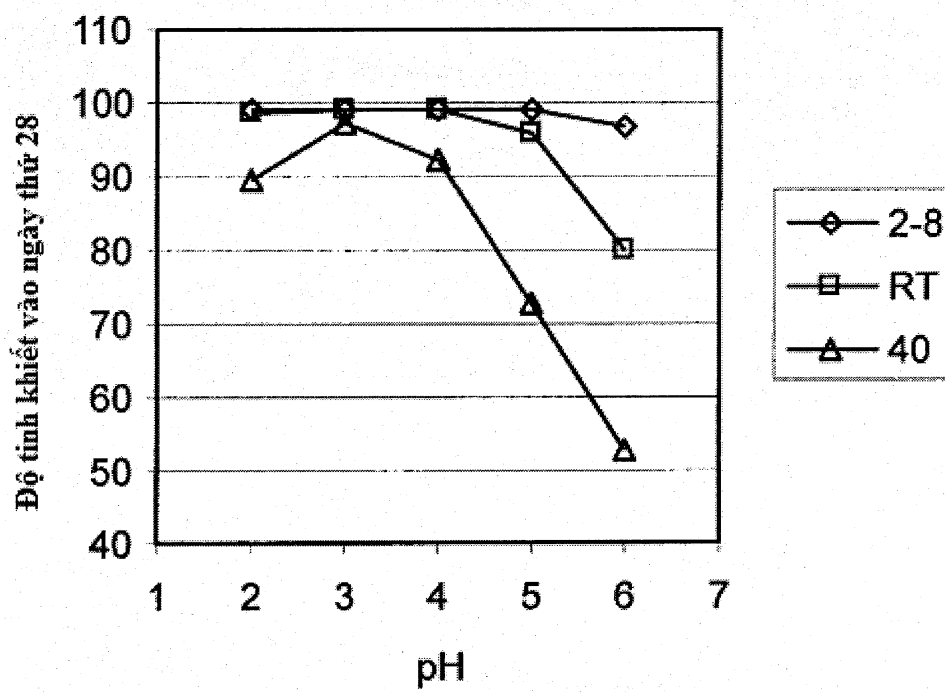
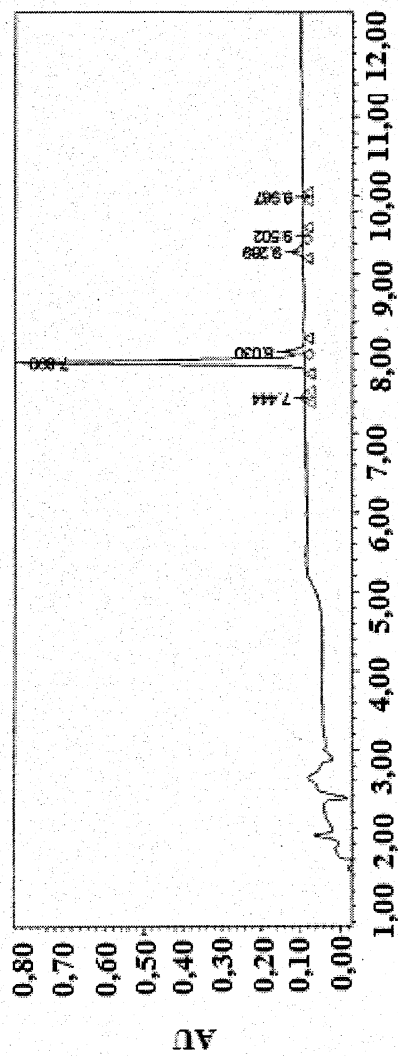
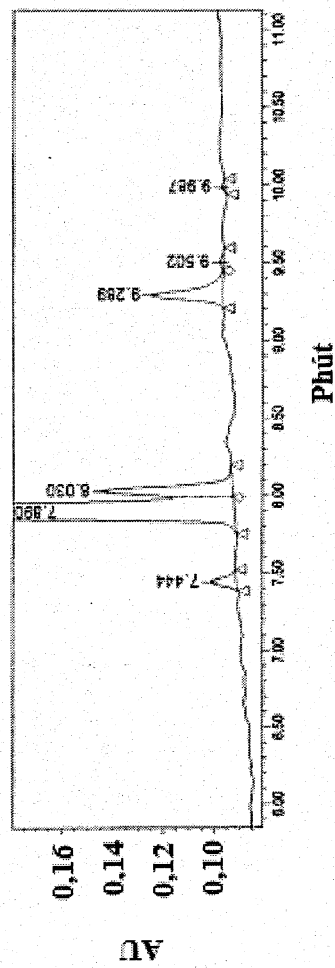


FIG. 4B

FIG. 4



Phút
FIG. 5A



Phút
FIG. 5B

FIG. 5

FIG. 5

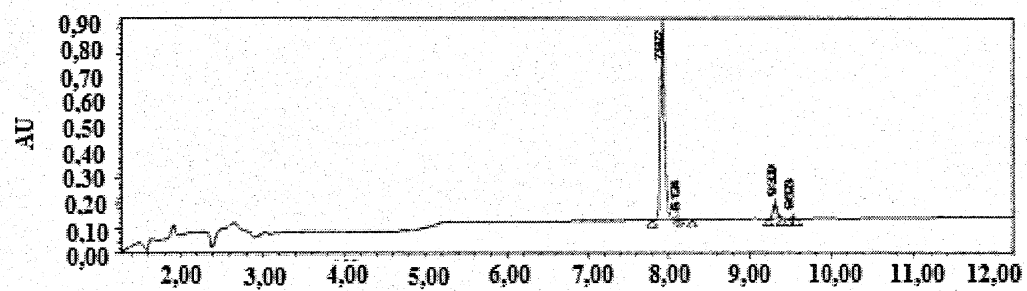


FIG. 6A

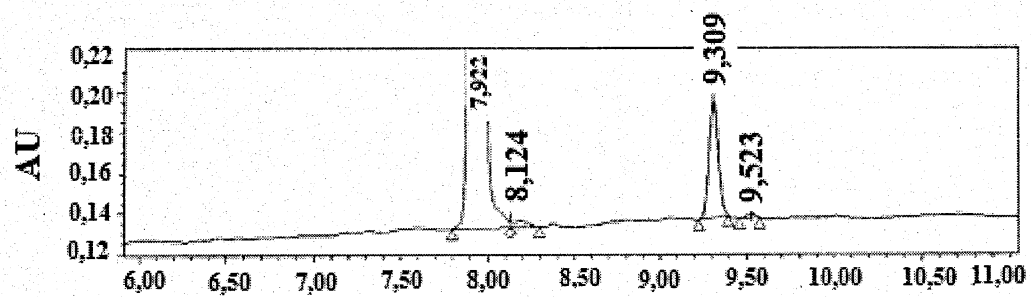


FIG. 6B

FIG. 6

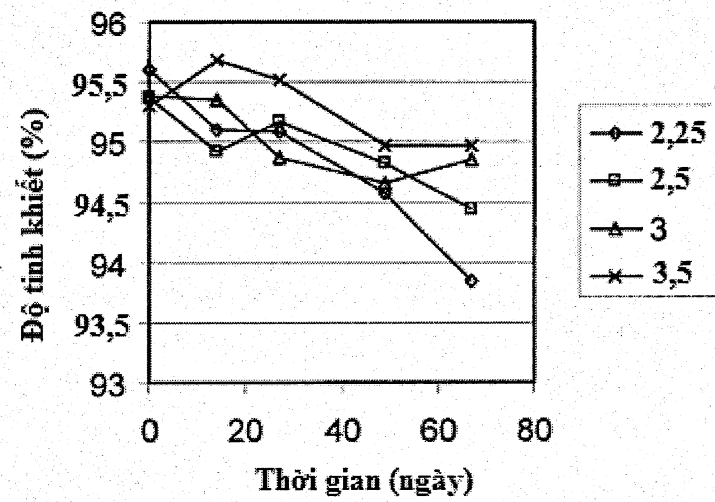


FIG. 7

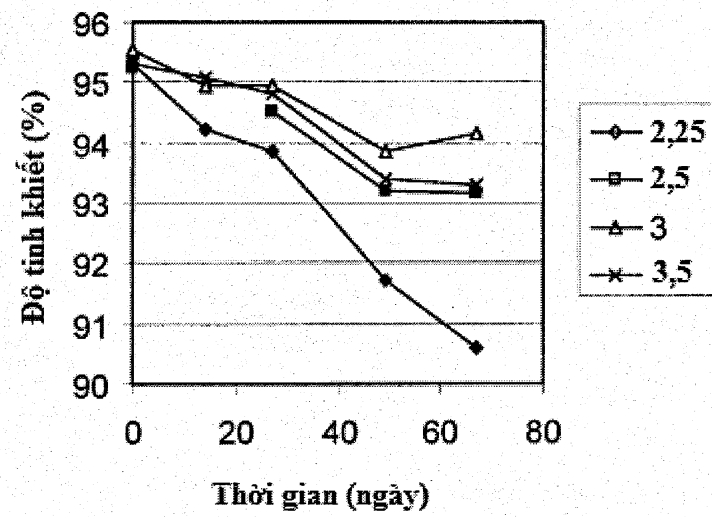


FIG. 8

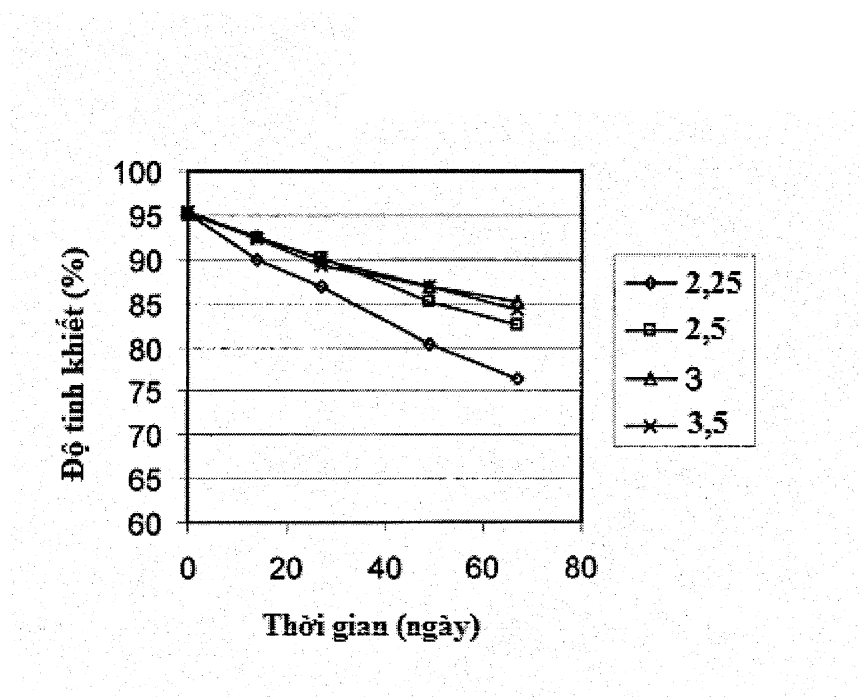


FIG. 9

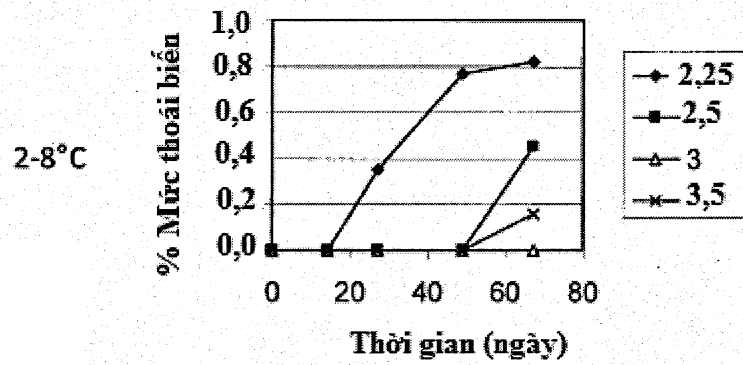


FIG. 10A

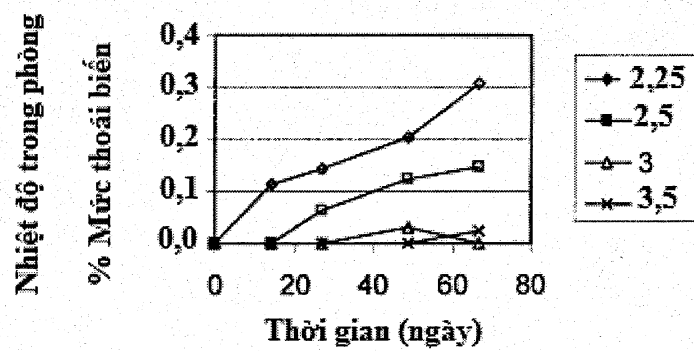


FIG. 10B

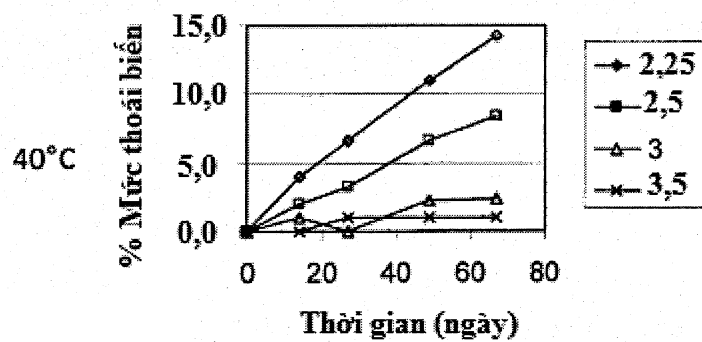


FIG. 10C

FIG. 10

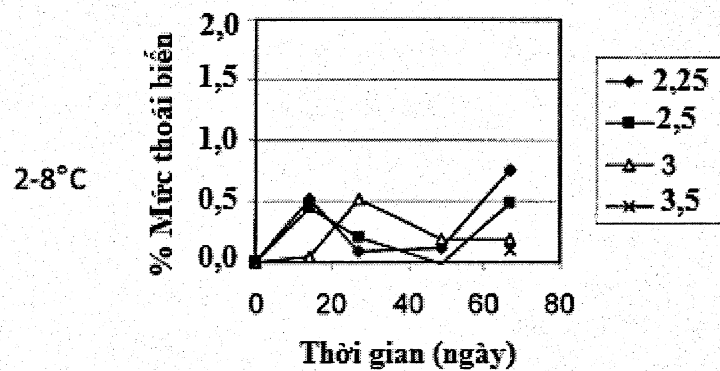


FIG. 11A

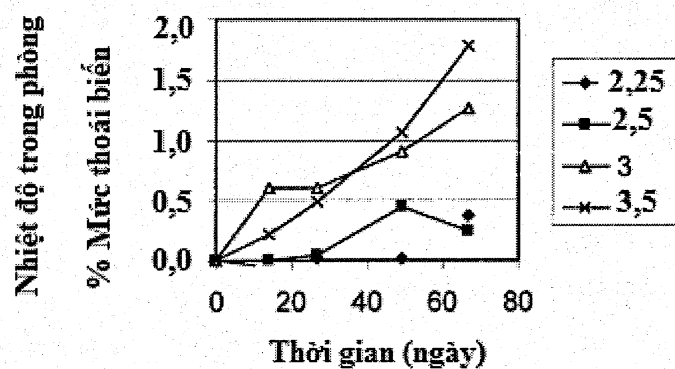


FIG. 11B

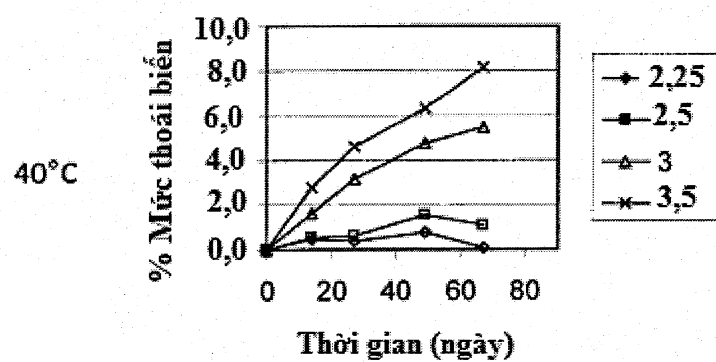


FIG. 11C

FIG. 11

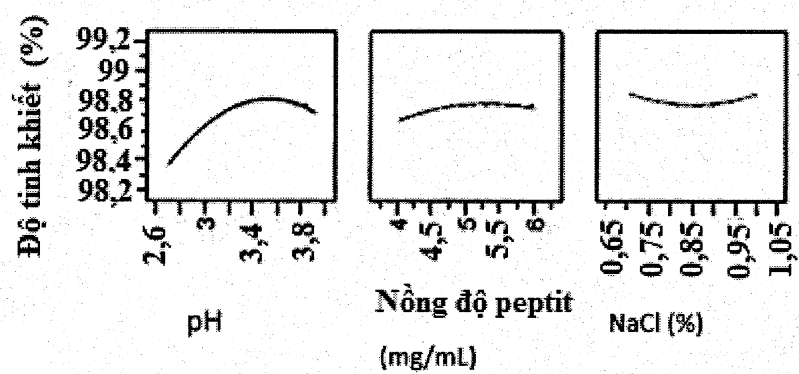


FIG. 12A

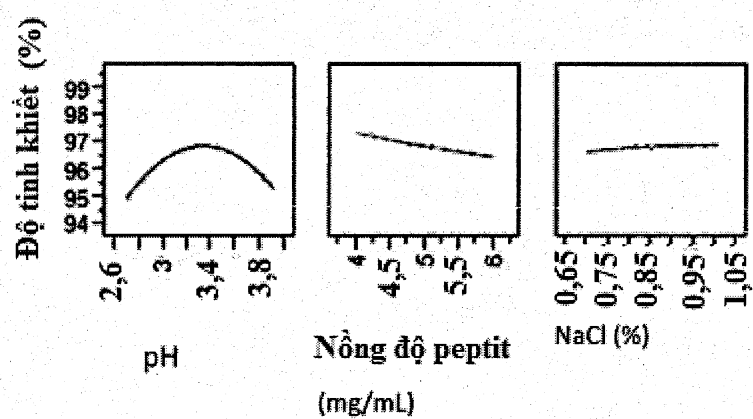


FIG. 12B

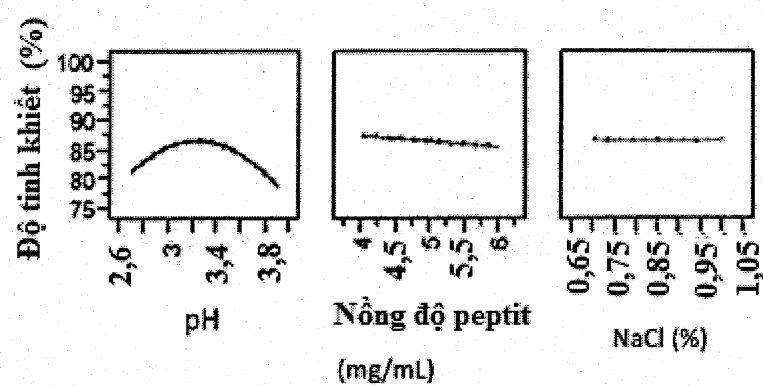


FIG. 12C

FIG. 12

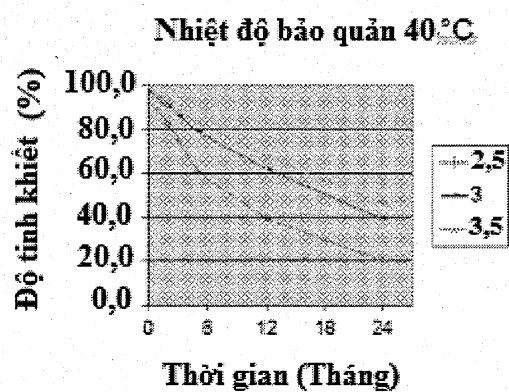
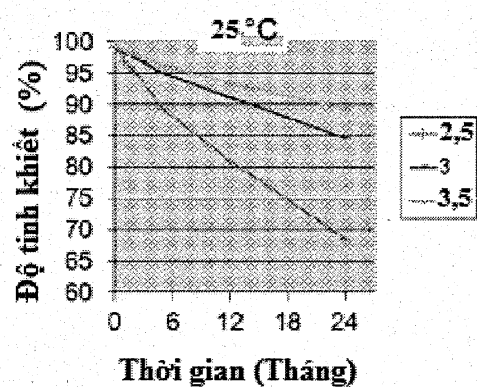
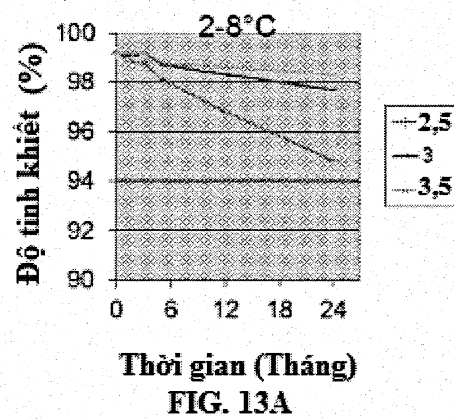


FIG. 13