



(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)



1-0027976

(51)⁷ A61K 38/24; A61P 15/08; A61K 9/70; (13) B
A61K 47/10; A61K 47/18

(21) 1-2017-01774

(22) 19/10/2015

(86) PCT/JP2015/079462 19/10/2015

(87) WO 2016/067956 A1 06/05/2016

(30) 2014-218549 27/10/2014 JP

(45) 25/04/2021 397

(43) 25/09/2017 354A

(73) HISAMITSU PHARMACEUTICAL CO., INC. (JP)

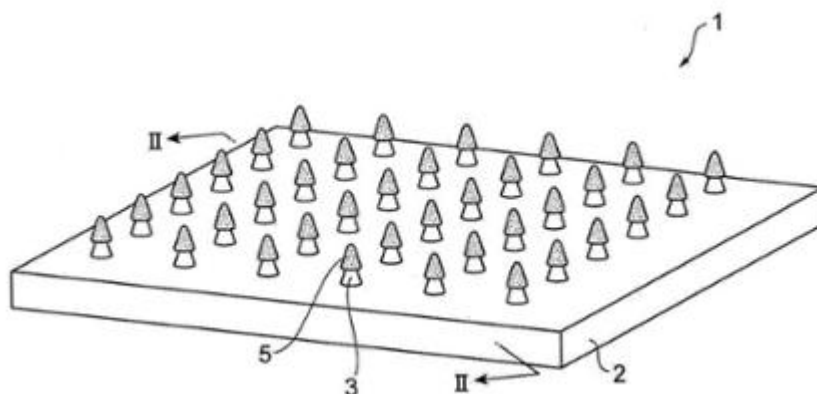
408, Tashirodaikan-machi, Tosu-shi, Saga 841-0017 Japan

(72) NISHIMURA Shinpei (JP); TOKUMOTO Seiji (JP); ITO Takeshi (JP); ASADA Hajime (JP).

(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

(54) DỤNG CỤ VI KIM, PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT DỤNG CỤ VI KIM VÀ TÁC NHÂN PHỦ DÙNG CHO CÁC VI KIM

(57) Sáng chế đề cập đến dụng cụ vi kim (1) bao gồm: đế vi kim (2), vi kim (3) được bố trí trên đế vi kim (2), và lớp phủ (5) được tạo ra trên vi kim (3); trong đó lớp phủ (5) chứa hormon kích thích nang tái tổ hợp, arginin và glycerin, trong lớp phủ (5), khối lượng arginin nằm trong khoảng từ 0,07 đến 0,75 phần khối lượng hormon kích thích nang tái tổ hợp và khối lượng glycerin nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2,75 phần khối lượng hormon kích thích nang tái tổ hợp. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp sản xuất dụng cụ vi kim này và tác nhân phủ dùng cho các vi kim.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến dụng cụ vi kim chứa hormon kích thích nang tái tổ hợp.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Dụng cụ vi kim được biết đến như một trong số những dụng cụ để cung cấp hoạt chất sinh lý vào trong da. Dụng cụ vi kim có nhiều vi kim trên bề mặt đế của nó. Theo một khía cạnh cụ thể về dụng cụ này, ví dụ, có vi kim mà có lớp phủ chứa hoạt chất sinh lý được tạo ra trên đó và vi kim tự hòa tan chứa hoạt chất sinh lý (ví dụ, các tài liệu sáng chế 1 và 2).

Danh sách tài liệu trích dẫn

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: JP 2008-528509 A

Tài liệu sáng chế 2: JP 2014-507473 A

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Các tác giả đã phát hiện ra rằng trong trường hợp mà vi kim được phủ và hormon kích thích nang tái tổ hợp được sử dụng làm hoạt chất sinh lý, thì độ đồng đều về hàm lượng của hormon kích thích nang tái tổ hợp trong quá trình xử lý phủ là thấp, và hormon kích thích nang tái tổ hợp có xu hướng kết tụ lại trong suốt quá trình lưu trữ dụng cụ vi kim.

Khi độ đồng đều về hàm lượng của hoạt chất sinh lý trong quá trình xử lý phủ là thấp, thì độ hấp thụ của hormon kích thích nang tái tổ hợp là không ổn định trong suốt quá trình sử dụng dụng cụ vi kim. Kết quả là, có thể không đạt được hiệu quả điều trị đầy đủ.

Do đó, mục đích của sáng chế là đề xuất dụng cụ vi kim có lớp phủ mà được phủ bởi hormon kích thích nang tái tổ hợp để hầu như không kết tụ lại

trong lớp phủ và phân tán đồng đều.

Cách thức giải quyết vấn đề

Sáng chế đề xuất dụng cụ vi kim bao gồm: đế vi kim; vi kim được bố trí trên đế vi kim; và lớp phủ được tạo ra trên vi kim; trong đó lớp phủ chứa hormon kích thích nang tái tổ hợp (sau đây, cũng được gọi đơn giản là “FSH”), arginin và glyxerin, trong đó, trong lớp phủ, khối lượng của arginin gấp từ 0,07 đến 0,75 lần, tốt hơn là gấp từ 0,07 đến 0,6 lần khối lượng của FSH và khối lượng glyxerin gấp từ 0,1 đến 2,75 lần khối lượng của FSH.

Khi lớp phủ chứa FSH, arginin, và glyxerin, thì một lượng hữu hiệu của FSH có thể được cung cấp liên tục cho người sử dụng, độ đồng đều về hàm lượng và độ hòa tan của FSH cũng tuyệt vời, và sự rò rỉ nhỏ giọt của lớp phủ ít có khả năng xảy ra.

Tốt hơn là lớp phủ chứa axit được lựa chọn từ nhóm bao gồm axit xitric, axit phosphoric, axit boric, axit tartric và axit lactic.

Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất phương pháp sản xuất dụng cụ vi kim bao gồm các bước: sản xuất mảng vi kim có đế vi kim và vi kim; trộn FSH, arginin, và glyxerin để tạo ra chế phẩm phủ; phủ vi kim bằng chế phẩm phủ; và làm khô chế phẩm phủ để tạo ra lớp phủ trên vi kim.

Trong trường hợp của chế phẩm phủ trong phương pháp sản xuất, khối lượng arginin gấp từ 0,07 đến 0,75 lần và tốt hơn là gấp từ 0,07 đến 0,6 lần khối lượng của FSH, và khối lượng glyxerin tốt hơn là gấp từ 1 đến 3 lần khối lượng của FSH.

Được ưu tiên là, chế phẩm phủ còn chứa axit được lựa chọn từ nhóm bao gồm axit xitric, axit phosphoric, axit boric, axit tartric và axit lactic.

Bước làm khô được ưu tiên thực hiện đến khi, trong lớp phủ, khối lượng arginin đạt đến mức gấp từ 0,07 đến 0,75 lần và tốt hơn là gấp từ 0,07 đến 0,6 lần khối lượng của FSH, và khối lượng glyxerin đạt đến mức gấp từ 0,1 đến 2,75 lần khối lượng của FSH.

Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất tác nhân phủ cho các vi kim mà chứa

FSH, arginin, và glyxerin và trong đó, trong tác nhân phủ, hàm lượng arginin gấp từ 0,07 đến 0,75 lần và tốt hơn là gấp từ 0,07 đến 0,6 lần khối lượng của FSH và hàm lượng glyxerin gấp từ 1 đến 3 lần khối lượng của FSH.

Tác nhân phủ được ưu tiên chứa axit được lựa chọn từ nhóm bao gồm axit xitric, axit phosphoric, axit boric, axit tartric và axit lactic.

Hiệu quả của sáng chế

Theo dụng cụ vi kim của sáng chế, khi lớp phủ chứa FSH, arginin, và glyxerin, thì một lượng hữu hiệu của FSH có thể được cung cấp liên tục cho người sử dụng, độ đồng đều về hàm lượng và độ hòa tan của FSH cũng là tuyệt vời, và sự rò rỉ nhỏ giọt của lớp phủ hiếm khi xảy ra.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là hình chiếu phối cảnh thể hiện một phương án của dụng cụ vi kim.

Fig.2 là hình chiếu bề mặt bên mặt cắt ngang của Fig.1 dọc theo đường II-II.

Các Fig. 3(a) đến 3(c) là các sơ đồ mô hình thể hiện một phương án của phương pháp sản xuất dụng cụ vi kim.

Fig.4 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ FSH trong lớp phủ của dụng cụ vi kim theo một phương án.

Mô tả chi tiết sáng chế

Dưới đây, các phương án được ưu tiên sẽ được giải thích với hình vẽ tham khảo. Lưu ý rằng trong sự giải thích bằng hình vẽ, các thành phần giống nhau được thể hiện bởi cùng một ký hiệu và phần giải thích lại sẽ được bỏ qua. Ngoài ra, trong các hình vẽ, một số phần được phóng đại để làm cho dễ hiểu, và vì vậy kích thước và tỷ lệ không nhất thiết phải phù hợp với phần mô tả.

Một phương án của sáng chế là đề xuất dụng cụ vi kim bao gồm: đế vi kim; vi kim được bố trí trên đế vi kim; và lớp phủ được tạo ra trên vi kim; trong đó lớp phủ chứa FSH, arginin, và glyxerin.

Fig.1 là hình chiếu phối cảnh thể hiện một phương án của dụng cụ vi kim. Dụng cụ vi kim 1 thể hiện trong Fig.1 có đế vi kim 2, nhiều vi kim 3 mà được sắp xếp hai chiều trên đế vi kim 2, và lớp phủ 5 được tạo ra trên mỗi vi kim 3. Lớp phủ 5 chứa FSH, arginin, và glyxerin.

Đế vi kim 2 là nền tảng để hỗ trợ các vi kim 3. Diện tích của đế vi kim 2 nằm trong khoảng được ưu tiên là từ 0,5 đến 10cm², khoảng được ưu tiên hơn là từ 1 đến 5cm², và khoảng được ưu tiên hơn nữa là từ 1 đến 3cm². Đế vi kim có kích thước mong muốn có thể được tạo kết cấu bằng cách liên kết nhiều đế vi kim 2.

Mỗi vi kim 3 có cấu trúc nhỏ, và độ cao (độ dài) của chúng nằm trong khoảng được ưu tiên là từ 50 đến 600µm. Lúc này, độ dài của các vi kim 3 được thiết lập tại 50µm hoặc lớn hơn, qua đó đảm bảo sự cung cấp FSH chứa trong lớp phủ. Ngoài ra, độ dài của các vi kim 3 được thiết lập ở 600µm hoặc nhỏ hơn, qua đó tránh được rằng các vi kim tiếp xúc các dây thần kinh để giảm khả năng gây đau đớn và tránh khả năng làm chảy máu. Ngoài ra, khi độ dài của các vi kim 3 là 500µm hoặc nhỏ hơn, thì lượng FSH đi vào da có thể được cung cấp một cách hiệu quả, và trong các trường hợp nhất định, thì việc cung cấp mà không xuyên qua màng nề cũng có thể xảy ra. Độ dài của các vi kim 3 nằm trong khoảng ưu tiên đặc biệt là từ 300 đến 500µm.

Lúc này, vi kim 3 có cấu trúc nhô bao gồm, theo nghĩa rộng là, hình dạng kim hoặc cấu trúc bao gồm hình dạng kim. Tuy nhiên, vi kim không bị giới hạn bởi cấu trúc là hình dạng kim có mũi nhọn, và cũng có thể là cấu trúc mũi thon. Khi mỗi vi kim 3 có cấu trúc hình nón, thì đường kính của bề mặt gốc của nó nằm trong khoảng được ưu tiên là từ 50 đến 200µm. Mặc dù mỗi vi kim 3 có dạng hình nón theo phương án thực hiện sáng chế, nhưng các vi kim còn có thể có dạng hình chóp đa giác như hình chóp vuông hoặc hình dạng khác.

Mỗi vi kim 3 thường được bố trí nằm cách nhau để có mật độ nằm trong khoảng xấp xỉ 1 đến 10 kim trên 1mm trong một hàng kim. Thông thường, các

hàng liền kề nằm cách nhau một khoảng bằng khoảng cách giữa các kim trong một hàng, và các vi kim 3 có mật độ kim nằm trong khoảng từ 100 đến 10000 kim trên 1cm^2 . Khi mật độ kim là 100 kim hoặc lớn hơn được tạo ra, thì các vi kim có thể đi xuyên qua da một cách đầy đủ. Trong khi đó, mật độ kim là lớn hơn 10000 kim khiến khó có thể duy trì độ bền của các vi kim 3. Mật độ của các vi kim 3 nằm trong khoảng được ưu tiên là từ 200 đến 5000 kim, khoảng được ưu tiên hơn là từ 300 đến 2000 kim, và khoảng được ưu tiên hơn nữa là từ 400 đến 850 kim.

Các ví dụ về vật liệu của đế vi kim 2 hoặc các vi kim 3 bao gồm silic, silic dioxit, gốm, kim loại (như thép không gỉ, titan, niken, molipden, crôm, và coban) và các vật liệu nhựa tự nhiên hoặc nhựa tổng hợp. Trong việc xem xét tính kháng nguyên của các vi kim và đơn giá của vật liệu, thì đặc biệt ưu tiên sử dụng polyme có thể phân hủy sinh học được như axit polylactic, polyglycolit, axit polylactic-co-polyglycolit, pululan, caprolacton, polyuretan, và polyanhydrit, và vật liệu nhựa tự nhiên hoặc tổng hợp như polycarbonat, axit polymetacrylic, etylenvinyl axetat, polytetrafloetylen, và polyoxymetylen, là các polyme không phân hủy. Ngoài ra, các polysacarit như axit hyaluronic, natri hyaluronat, pululan, dextran, dextrin, và chondroitin sulfat cũng phù hợp.

Các ví dụ về phương pháp sản xuất đế vi kim 2 hoặc các vi kim 3 bao gồm quá trình khắc mòn ướt hoặc quá trình khắc mòn khô bằng cách sử dụng đế silic, gia công chính xác bằng cách sử dụng kim loại hoặc các nhựa (như phương pháp phóng điện, xử lý laze, xử lý cắt nhỏ, xử lý dập nổi nhiệt độ cao, và xử lý đúc nhồi), và xử lý cắt bằng máy. Bằng những phương pháp xử lý này, đế vi kim 2 và các vi kim 3 được đúc tích hợp. Các ví dụ về phương pháp làm rỗng các vi kim 3 bao gồm phương pháp mà trong đó xử lý thứ hai như xử lý laze được áp dụng sau khi tạo ra các vi kim 3.

Mặc dù dụng cụ vi kim 1 có lớp phủ 5 trên mỗi vi kim 3, lớp phủ 5 được tạo ra bằng cách phủ bằng chế phẩm phủ. Các ví dụ về phương pháp phủ bao gồm phủ phun và phủ nhúng, và ưu tiên sử dụng phương pháp phủ nhúng.

Về vấn đề này, mặc dù lớp phủ 5 được tạo ra trên tất cả các vi kim 3 trong Fig.1, nhưng lớp phủ 5 có thể được tạo ra trên chỉ một số các vi kim 3. Mặc dù lớp phủ 5 được tạo ra trên chỉ phần mũi của vi kim 3 trong Fig.1, lớp phủ có thể được tạo ra để phủ trên toàn bộ vi kim 3. Ngoài ra, lớp phủ 5 có thể được tạo ra trên đế vi kim 2.

Fig.2 là hình vẽ bề mặt bên mặt cắt ngang của Fig.1 dọc theo đường II-II. Như thể hiện trong Fig.2, dụng cụ vi kim 1 có đế vi kim 2, các vi kim 3 được bố trí trên đế vi kim 2, và lớp phủ 5 được tạo ra trên mỗi vi kim 3. Lớp phủ 5 được tạo ra trên mỗi vi kim chứa FSH, arginin, và glyxerin.

Khối lượng arginin có trong lớp phủ nằm trong khoảng tốt hơn là gấp từ 0,07 đến 0,75 lần, tốt hơn nữa là gấp từ 0,07 đến 0,6 lần, vẫn tốt hơn nữa là gấp từ 0,07 đến 0,3 lần, và tốt nhất là gấp từ 0,08 đến 0,15 lần khối lượng của FSH.

Giới hạn dưới của khối lượng glyxerin chứa trong lớp phủ tốt hơn là gấp 0,1 lần, tốt hơn nữa là gấp 0,25 lần, và vẫn tốt hơn nữa là gấp 0,5 lần khối lượng của FSH. Ngoài ra, giới hạn trên của khối lượng glyxerin chứa trong lớp phủ tốt hơn là gấp 2,75 lần, tốt hơn nữa là gấp 1,6 lần, và vẫn tốt hơn nữa là gấp 1 lần khối lượng của FSH.

Ngoài ra, ưu tiên trường hợp mà trong đó hàm lượng glyxerin là 40% tính theo khối lượng hoặc nhỏ hơn dựa vào tổng khối lượng của lớp phủ, bởi vì sự rò rỉ nhỏ giọt ít có khả năng xảy ra.

Lớp phủ có thể được tạo ra bằng cách sử dụng, ví dụ, chế phẩm phủ chứa FSH, arginin, và glyxerin. Lớp phủ chứa FSH, arginin, và glyxerin để có thể ngăn chặn sự suy giảm theo thời gian của lớp phủ khi áp dụng chế phẩm phủ hoặc lưu trữ dụng cụ vi kim.

Hormon kích thích nang tái tổ hợp của sáng chế là glycoprotein được tạo ra bằng gonadotroph (tế bào sinh dục) thùy trước tuyến yên, và là một loại tái tổ hợp của hormon kích thích nang là một loại hormon kích sinh dục (gonadotropin). Ở nam giới, FSH thúc đẩy sự phát triển tiểu quản sinh tinh trong tinh hoàn và duy trì sự hình thành tinh trùng. Ở nữ giới, FSH thúc đẩy sự

phát triển nang trong buồng trứng.

Tương tự với hormon kích thích nang tự nhiên, cấu trúc của FSH là heterodime glycoprotein gồm có các chuỗi α và β được liên kết bởi liên kết không đồng hóa trị, và mỗi chuỗi α và β được đường hóa, cụ thể là, glycosyl hóa. Cấu trúc siêu phân tử α gồm có 92 gốc axit amin, cấu trúc siêu phân tử β gồm có 111 gốc axit amin, và các cấu trúc siêu phân tử có hai vị trí glycosyl hóa được liên kết với các asparagin.

FSH có thể được tạo ra bằng cách, ví dụ, nuôi cấy các tế bào tạo FSH tái tổ hợp ở người được tạo ra bằng cách chuyển đổi vật truyền biểu hiện có FSH α -chuỗi ADN bổ trợ ở người kết hợp trong đó và vật truyền biểu hiện có FSH β -chuỗi ADN bổ trợ ở người kết hợp trong đó với tế bào động vật có vú trong môi trường không có huyết thanh để cho phép FSH tiết ra trong môi trường nuôi cấy, và rửa sạch FSH từ môi trường nuôi cấy.

Sau khi loại bỏ các tế bào sản xuất FSH tái tổ hợp ở người khỏi môi trường nuôi cấy, thì FSH được rửa sạch bằng cách thu lấy các phân chiết hoạt tính FSH bằng cách kết hợp sử dụng sắc ký cột trao đổi cation, sắc ký cột nhuộm ái lực, sắc ký cột pha đảo, sắc ký cột phenyl-sepharosa hoặc sắc ký cột lọc gel. Vì vậy, FSH có độ tinh khiết cao có thể thu được (ví dụ, JP 2523843 B và JP 2001-323000 A và JP 2009-273427 A). FSH thu được là rất hữu ích do các tế bào sản xuất FSH tái tổ hợp ở người được nuôi cấy trong môi trường không có huyết thanh, nhờ đó ngăn chặn được sự lây nhiễm của virus.

FSH được rửa sạch được đưa đi điện di SDS-PAGE dưới các điều kiện không khử và không gia nhiệt, sau đó đưa đi nhuộm gel thu được bằng coomassie. Sau đó, dải duy nhất được quan sát thấy ở trọng lượng phân tử khoảng 45kDa. Dải này được nhuộm bằng phương pháp thấm Western sử dụng kháng thể kháng FSH ở người.

Ngoài ra, FSH được rửa sạch được phân tích bằng cách điện di tập trung đẳng điện và một loạt các dải tại các điểm đẳng điện (pIs – isoelectric points) nằm trong khoảng từ 3,5 đến 5,5 được quan sát thấy.

Các kết quả cung cấp FSH trong việc kích thích rụng trứng khi không rụng trứng hoặc ít rụng trứng liên quan đến chứng suy nhược dưới đồi tuyến yên hoặc hội chứng buồng trứng đa nang. Do đó, việc sử dụng dụng cụ vi kim theo sáng chế là hiệu quả trong việc điều trị chứng không rụng trứng, ít rụng trứng hoặc vô sinh liên quan đến suy nhược dưới đồi tuyến yên hoặc hội chứng buồng trứng đa nang.

Hàm lượng FSH trong chế phẩm phủ tốt hơn là nằm trong khoảng từ 21 đến 39% khối lượng, tốt hơn nữa là từ 29 đến 37% khối lượng, và vẫn tốt hơn nữa là từ 30 đến 35% khối lượng tính theo tổng khối lượng của chế phẩm phủ. Khi hàm lượng FSH là 21% khối lượng hoặc lớn hơn, thì hoạt tính được lý của FSH đạt được đầy đủ, qua đó dễ dàng tạo ra hiệu quả điều trị mong muốn.

Ngoài ra, chế phẩm phủ còn chứa arginin, mà làm cho FSH ít có khả năng kết tụ lại trong chế phẩm phủ được ứng dụng. Sự hình thành khối kết tụ FSH gây ra sự giảm lượng FSH mà có thể ảnh hưởng đến sự điều trị, qua đó khó có thể thu được hiệu quả điều trị mong muốn.

Hàm lượng arginin trong chế phẩm phủ tốt hơn là gấp từ 0,07 đến 0,75 lần, tốt hơn nữa là gấp từ 0,07 đến 0,6 lần, vẫn tốt hơn nữa là gấp từ 0,07 đến 0,3 lần, và tốt nhất là gấp từ 0,08 đến 0,15 lần khối lượng của FSH có trong chế phẩm phủ. Khi hàm lượng arginin gấp 0,07 lần hoặc lớn hơn so với khối lượng FSH, thì khối kết tụ FSH khó được tạo ra trong chế phẩm phủ hoặc lớp phủ. Ngoài ra, hàm lượng arginin gấp 0,75 lần hoặc nhỏ hơn (đặc biệt là, 0,6 lần hoặc nhỏ hơn), nhờ đó tiếp tục cải thiện độ hòa tan của FSH trong chế phẩm phủ.

Chế phẩm phủ chứa glycerin để sao cho độ đồng đều về hàm lượng của FSH được cải thiện khi các vi kim được phủ bằng chế phẩm phủ. Độ đồng đều về hàm lượng của FSH được cải thiện, mà qua đó FSH được giải phóng một cách ổn định khỏi lớp phủ trong suốt quá trình sử dụng dụng cụ vi kim và hiệu quả điều trị mong muốn có thể thu được liên tục. Ngoài ra, do glycerin có độ hòa tan FSH cao, nên phù hợp làm một thành phần của chế phẩm phủ.

Hàm lượng glyxerin trong chế phẩm phủ tốt hơn là gấp từ 1 đến 3 lần, tốt hơn nữa là gấp từ 1 đến 2,75 lần, vẫn tốt hơn nữa là gấp từ 1 đến 1,8 lần, và tốt nhất là gấp từ 1 đến 1,2 phần khối lượng của FSH có trong chế phẩm phủ. Trường hợp được ưu tiên hơn là trong đó hàm lượng glyxerin gấp 1 lần hoặc lớn hơn so với khối lượng FSH, bởi vì độ đồng đều về hàm lượng và độ hòa tan của FSH trong lớp phủ là tuyệt vời và sự rò rỉ nhỏ giọt ít có khả năng xảy ra khi được áp dụng cho các vi kim.

Ngoài ra, chế phẩm phủ khoảng được ưu tiên là từ chứa axit được lựa chọn từ nhóm bao gồm axit xitric, axit phosphoric, axit boric, axit tartric và axit lactic. Cụ thể là, chế phẩm phủ chứa axit xitric là được ưu tiên hơn. Chế phẩm phủ chứa axit cụ thể sao cho sự hình thành khối kết tụ FSH có xu hướng được ngăn chặn hơn nữa.

Trong trường hợp chế phẩm phủ chứa axit xitric, axit phosphoric, axit boric, axit tartric hoặc axit lactic, sự hình thành khối kết tụ FSH có xu hướng được ngăn chặn hơn nữa, so với trường hợp chế phẩm phủ chứa axit clohydric, axit sulfuric hoặc axit axetic.

Hàm lượng axit tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1 đến 6% khối lượng, tốt hơn là từ 1 đến 3,5% khối lượng, và vẫn tốt hơn nữa là từ 1 đến 2% khối lượng tính theo tổng khối lượng của chế phẩm phủ.

Hàm lượng axit tốt hơn là gấp từ 0,2 đến 0,6 lần, tốt hơn nữa là gấp từ 0,3 đến 0,6 lần, và vẫn tốt hơn nữa là gấp từ 0,3 đến 0,4 lần khối lượng của arginin có trong chế phẩm phủ.

Chế phẩm phủ có thể còn chứa dung môi, chất mang polyme (tác nhân làm dày), chất hỗ trợ hòa tan, chất thúc đẩy hấp thụ, chất làm ổn định, chất chống oxy hóa, chất nhũ hóa, chất hoạt động bề mặt, và các thành phần khác như các muối, nếu cần. Các ví dụ về dung môi bao gồm nước như nước tinh khiết và nước cất; và các rượu như metanol và etanol. Chế phẩm phủ chứa dung môi để sao cho các đặc tính xử lý khi ứng dụng cho các vi kim có thể được cải thiện và dung môi có thể dễ dàng được loại bỏ bằng bước làm khô.

Khi chế phẩm phủ chứa dung môi, dung môi được loại bỏ trong bước làm khô. Do đó, tỷ lệ thành phần của các thành phần trong chế phẩm phủ không nhất thiết phải được phản ánh trong lớp phủ.

Vì vậy, lớp phủ được tạo ra bằng cách làm khô chế phẩm phủ ứng dụng cho các vi kim khi dụng cụ vi kim được tạo ra. Trong bước làm khô, dung môi chứa trong chế phẩm phủ được loại bỏ và glycerin bay hơi, kết quả là hàm lượng glycerin có thể cũng giảm. Glycerin không tự chuyển đổi thành dạng rắn bằng cách, ví dụ, làm khô dưới áp suất giảm ở nhiệt độ thông thường.

Các ví dụ về chất mang polyme bao gồm polyetylen oxit, polyhydroxymetylxenluloza, hydroxypropylxenluloza, polyhydroxypropylmetylxenluloza, polymetylxenluloza, dextran, polyetylen glycol, rượu polyvinyl, polyvinylpyrrolidon, pululan, carmelozơ natri, chondroitin sulfat, axit hyaluronic, dextran, và gôm arabic. Trọng lượng phân tử trung bình của polyetylen glycol được sử dụng làm chất mang polyme tốt hơn là lớn hơn 600 nhưng bằng hoặc nhỏ hơn 500000. Để làm chất mang polyme, chất mang có độ tương thích cao (có tính chất trộn đều) với hoạt chất sinh lý là được ưu tiên. Đặc biệt ưu tiên là hydroxypropylxenluloza, dextran, rượu polyvinyl, pululan, và các chất tương tự.

Hàm lượng chất mang polyme trong chế phẩm phủ 10 nằm trong khoảng từ 0,005 đến 30% khối lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,01 đến 20% khối lượng, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,05 đến 10% khối lượng tính theo tổng khối lượng của chế phẩm phủ 10. Chất mang polyme có thể cần phải có mức độ nhớt cụ thể mà không gây ra sự rò rỉ nhỏ giọt và độ nhớt này tốt hơn là nằm trong khoảng từ 100 đến 100000 mPa·s ở nhiệt độ trong phòng (25°C). Độ nhớt được ưu tiên hơn là từ 500 đến 60000 mPa·s.

Ngoài các chất nêu trên, propylen carbonat, crotamiton, L-mentol, tinh dầu bạc hà, limonen, diisopropyl adipat, và các chất tương tự có thể được bổ sung vào chế phẩm phủ 10 dưới dạng chất hỗ trợ hòa tan hoặc chất thúc đẩy hấp thụ, và metyl salixylat, glycol salixylat, L-mentol, thymol, tinh dầu bạc hà,

axit vanilylamit nonylic, dịch chiết ớt, và các chất tương tự có thể được bổ sung làm chất hỗ trợ hiệu lực nếu cần.

Chất hoạt động bề mặt có thể là chất hoạt động bề mặt không ion hoặc chất hoạt động bề mặt ion (cation, anion, và lưỡng tính); tuy nhiên, theo khía cạnh an toàn, chất hoạt động bề mặt không ion, mà thường được sử dụng cho chất nền dược phẩm, là được mong muốn. Các ví dụ về các hợp chất này bao gồm este axit béo rượu đường như este axit béo sucroza, este axit béo propylen glycol, este axit béo polyoxyetylen sorbitan, este axit béo polyoxyetylen glyxerin, este axit béo polyetylen glycol, dầu thầu dầu polyoxyetylen, và dầu thầu dầu hydro hóa polyoxyetylen.

Phương pháp sản xuất dụng cụ vi kim bao gồm các bước: tạo mảng vi kim mà có để vi kim và vi kim; trộn FSH, arginin, và glyxerin để tạo ra chế phẩm phủ; phủ vi kim bằng chế phẩm phủ; và làm khô chế phẩm phủ để tạo ra lớp phủ trên vi kim.

Về điều kiện làm khô để tạo ra lớp phủ, bước làm khô được thực hiện cho đến khi khối lượng của arginin đạt đến mức gấp từ 0,07 đến 0,75 lần và tốt hơn là gấp từ 0,07 đến 0,6 lần khối lượng của FSH, và khối lượng của glyxerin đạt đến mức gấp từ 0,1 đến 2,75 lần khối lượng của FSH, trong lớp phủ. Liên quan đến vấn đề này, giới hạn dưới của khối lượng glyxerin trong lớp phủ nằm tốt hơn là gấp 0,1 lần, tốt hơn nữa là gấp 0,25 lần, và vẫn tốt hơn nữa là gấp 0,5 lần khối lượng của FSH. Giới hạn trên của khối lượng glyxerin trong lớp phủ tốt hơn là gấp 2,75 lần, tốt hơn nữa là gấp 1,6 lần, và vẫn tốt hơn nữa là gấp 1 lần khối lượng của FSH.

Dưới điều kiện làm khô, mức giảm áp, nhiệt độ, và thời gian có thể được điều chỉnh một cách phù hợp, và ưu tiên thực hiện sự điều chỉnh để khối lượng arginin và khối lượng glyxerin nằm trong phạm vi nêu trên. Bước làm khô có thể được thực hiện, ví dụ, dưới các điều kiện làm khô dưới đây: mức giảm áp nằm trong khoảng từ 1 đến 100 Pa, nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 40°C, và thời gian nằm trong khoảng từ 1 giờ đến 100 giờ. Bước làm khô được

ưu tiên thực hiện ở mức giảm áp nằm trong khoảng từ 5 đến 20 Pa và nhiệt độ trong phòng trong 10 đến 50 giờ. Cụ thể hơn, ví dụ, các điều kiện làm khô là như sau: nhiệt độ trong phòng và 10 Pa.

Sau đây, phương pháp sản xuất dụng cụ vi kim sẽ được giải thích qua các Fig. 3(a) đến 3(c). Về vấn đề này, phương pháp sản xuất thể hiện trong các Fig. 3(a) đến 3(c) còn được gọi là “phương pháp nhúng sử dụng tấm mặt nạ”.

Các Fig. 3(a) đến 3(c) là các sơ đồ mô hình thể hiện một phương án của phương pháp sản xuất dụng cụ vi kim. Theo phương pháp này, thứ nhất, như thể hiện trong Fig.3(a), chế phẩm phủ 10 được quét bằng bay 12 theo hướng mũi tên A trên tấm mặt nạ 11. Bằng cách làm như vậy, các khe hở 13 được điền đầy bằng chế phẩm phủ 10. Sau đây, như thể hiện trong Fig.3(b), các vi kim 3 được tiêm vào các khe hở 13 của tấm mặt nạ 11. Sau đó, như thể hiện trong Fig.3(c), các vi kim 3 được kéo ra từ các khe hở 13 của tấm mặt nạ 11. Bằng cách làm như vậy, chế phẩm phủ 10 dính vào các vi kim 3. Về vấn đề này, chế phẩm phủ 10 có thể dính vào đế vi kim 2. Chất dễ bay hơi trong chế phẩm phủ 10 trên các vi kim 3 được loại bỏ bằng phương pháp như làm khô bằng không khí, làm khô bằng chân không, hoặc kết hợp các phương pháp này. Bằng cách xử lý như trên, lớp phủ 5 dính chặt vào mỗi vi kim 3, và về cơ bản là trở nên trong suốt hoặc đặc, mà qua đó dụng cụ vi kim 1 được tạo ra. Hàm lượng nước trong lớp phủ 5 thường là 55% khối lượng hoặc nhỏ hơn, tốt hơn là bằng 30% khối lượng hoặc nhỏ hơn, và tốt hơn nữa là bằng 10% khối lượng hoặc nhỏ hơn tính theo tổng lượng lớp phủ 5. Bằng phương pháp nêu trên, sự rò rỉ nhỏ giọt của chế phẩm phủ 10 sau khi phủ được ngăn chặn. Sự rò rỉ nhỏ giọt nghĩa là sự rò rỉ nhỏ giọt của chế phẩm phủ từ các mũi kim và có nghĩa là phần H trên Fig.3(c) kéo dài.

Độ cao H của lớp phủ 5 được tạo ra trên mỗi vi kim 3 được điều chỉnh bởi khoảng trống (khe) C thể hiện trong Fig.3(b). Khoảng trống C được định nghĩa là khoảng trống giữa bề mặt gốc của các vi kim 3 và bề mặt của tấm mặt nạ 11 (độ dày của đế vi kim 2 là không liên quan), và được thiết lập theo độ

căng của tấm mặt nạ 11 và độ dài của các vi kim 3. Phạm vi khoảng cách của khoảng trống C nằm trong khoảng được ưu tiên là từ 0 đến 500 μm . Khi khoảng cách của khoảng trống C bằng 0, thì có nghĩa là chế phẩm phủ 10 được ứng dụng cho toàn bộ vi kim 3. Mặc dù độ cao H của chế phẩm phủ 10 được tạo ra trên các vi kim 3 thay đổi phụ thuộc vào độ cao H của các vi kim 3, độ cao H thường nằm trong khoảng từ 10 đến 500 μm , khoảng được ưu tiên là từ 30 đến 300 μm , và khoảng được ưu tiên hơn là từ 40 đến 250 μm . Để cung cấp FSH một cách hiệu quả trong chế phẩm phủ 10 vào da, tốt hơn là chất thuốc được tập trung ở một phần của vi kim 3 (ví dụ, phần mũi vi kim 3). Theo quan điểm sự kích thích da và sự truyền FSH một cách hiệu quả vào da, thì FSH được bố trí đều, tốt hơn là lên đến 200 μm , tốt hơn nữa là đến 150 μm , và vẫn tốt hơn nữa là đến 120 μm tính từ mũi vi kim 3. Khi chế phẩm phủ 10 có độ nhớt cao, lớp phủ 5 được tạo ra dễ dàng trên một phần của vi kim. Nhờ phương pháp này, chế phẩm phủ 10 dính vào các vi kim 3 sau khi loại bỏ các thành phần dễ bay hơi của nó có thể ưu tiên tạo thành lớp phủ 5 có dạng giọt hoặc dạng gần giống hình cầu ở phần mũi vi kim 3. Sau đó, chế phẩm phủ được tiêm vào da ở cùng thời điểm khi các vi kim 3 xuyên qua da.

Độ dày của lớp phủ 5 được làm khô tốt hơn là nhỏ hơn 50 μm , tốt hơn nữa là nhỏ hơn 40 μm , và vẫn tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 1 đến 30 μm . Thông thường, độ dày của lớp phủ 5 là để chỉ độ dày trung bình được đo trên bề mặt vi kim 3 sau khi làm khô. Độ dày của lớp phủ 5 có thể được gia tăng tùy ý bằng cách áp dụng nhiều màng chế phẩm phủ 10, cụ thể là, bằng cách thực hiện lặp lại bước phủ bằng chế phẩm phủ 10.

Khi vi kim 3 được phủ bằng chế phẩm phủ 10, thì nhiệt độ và độ ẩm trong môi trường lắp đặt dụng cụ tốt hơn là được cung cấp ở mức độ không thay đổi. Khi chế phẩm phủ 10 chứa nước, môi trường có thể được nạp đầy nước, nếu cần. Bằng cách làm như vậy, sự bay hơi nước trong chế phẩm phủ 10 có thể được ngăn chặn đến mức nhiều nhất có thể.

Sự hình thành khối kết tụ có thể được giảm thiểu nhờ chế phẩm phủ theo

phương án của sáng chế. Trong quá trình đánh giá về tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ, thì chế phẩm phủ được tách bằng cách sử dụng sắc ký và tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ có thể được tính toán từ diện tích đỉnh. Phương pháp đánh giá tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ là, ví dụ, phương pháp bao gồm các bước: chiết xuất khối kết tụ từ chế phẩm phủ ứng dụng cho các vi kim bằng cách sử dụng chất đệm phosphat chứa 0,01% polysorbat 80; tách dịch chiết thu được bằng cách sử dụng sắc ký loại trừ kích thước; và đánh giá protein dưới dạng khối kết tụ có trong các phần chiết mà thời gian duy trì của nó ngắn hơn so với FSH.

Phương pháp sử dụng dụng cụ vi kim của sáng chế trong quá trình điều trị là, ví dụ, phương pháp cho phép dụng cụ vi kim tiếp xúc với hoặc bám dính vào bề mặt da của người sử dụng bằng cách sử dụng dụng cụ được mô tả trong WO 2014/097837. Cụ thể, ít nhất là một phần của mũi vi kim được tiêm vào da, và FSH tái tổ hợp có thể được hấp thụ vào cơ thể của người sử dụng từ lớp phủ ở phần mà vi kim được đâm vào trong đó. Sau khi duy trì tình trạng mà ở đó FSH tái tổ hợp có thể được hấp thụ vào cơ thể của người sử dụng, dụng cụ vi kim được lấy ra khỏi bề mặt da. Thời gian (thời gian xuyên qua da) được yêu cầu để duy trì tình trạng với vi kim được xuyên vào trong da có thể là trong 10 phút, 1 phút, 30 giây hoặc 10 giây, hoặc có thể là 0,5 giây hoặc lâu hơn.

Theo quan điểm giảm gánh nặng cho người sử dụng, ưu tiên thời gian xuyên qua da ngắn hơn. Khi thời gian xuyên qua da trở nên lâu hơn, có nguy cơ gia tăng sự phá hủy các mô da hoặc gây chảy máu một lượng nhỏ ở da.

Ví dụ, sáng chế đề xuất phương pháp cung cấp FSH tái tổ hợp bao gồm bước ứng dụng dụng cụ vi kim mà gồm lớp phủ được tạo ra bằng cách phủ mũi vi kim bằng chế phẩm chứa FSH tái tổ hợp (30 đến 600 IU) vào da của người sử dụng bằng phương pháp nêu trên (thời gian xuyên vào da, ví dụ, 0,5 giây đến 1 phút). Thời gian (Tmax) cần thiết cho đến khi nồng độ của FSH trong huyết tương đạt tới mức tối đa sau khi sử dụng dụng cụ vi kim nằm trong khoảng, ví dụ, từ 3 đến 8 giờ. Xét thấy rằng hormon nội sinh được giải phóng sinh lý trong

các mạch, giả sử rằng khi Tmax nằm trong phạm vi nêu trên, thì dụng cụ vi kim dễ dàng đạt được hiệu lực thuốc mong đợi và ít xuất hiện các tác dụng phụ.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Dưới đây, sáng chế sẽ được mô tả cụ thể qua các ví dụ.

(1) Thử nghiệm độ đồng đều hàm lượng 1

Tác nhân phủ của các ví dụ tham khảo 1 đến 3 được điều chế theo phần mô tả trong bảng 1 được ứng dụng cho các vi kim. Mỗi số trong bảng 1 có nghĩa là phần trăm khối lượng tương ứng với toàn bộ tác nhân phủ.

Sau đây, tác nhân phủ của các ví dụ tham khảo 1 và 2 được ứng dụng cho 10 tấm tại RH (độ ẩm tương đối) khoảng 40%, và tác nhân phủ của ví dụ tham khảo 3 được ứng dụng cho 20 tấm tại RH 90%. Tác nhân phủ ứng dụng cho các vi kim được thu hồi riêng. Hàm lượng hormon kích thích nang tái tổ hợp (sau đây, được gọi đơn giản là “FSH”) trong mỗi tác nhân phủ được đo. Trung bình, độ lệch chuẩn (SD), và hệ số biến thiên (CV) của hàm lượng FSH thu được được tính toán. Về vấn đề này, hệ số biến thiên (CV) là giá trị thu được bằng cách chia độ lệch chuẩn cho trung bình.

Bảng 1

		Ví dụ tham khảo 1	Ví dụ tham khảo 2	Ví dụ tham khảo 3
FSH		40	40	40
Vật liệu nền	Glyxerin	60	-	-
	Propylen glycol	-	60	-
	Pululan	-	-	15
	Nước	-	-	55
Tổng cộng		100	100	100

Kết quả được thể hiện trong bảng 2. Tác nhân phủ của ví dụ tham khảo 1 chứa glyxerin có hệ số biến thiên là 7,2 và có sự thay đổi nhỏ về hàm lượng, so với tác nhân phủ của ví dụ tham khảo 2 chứa propylen glycol và tác nhân phủ của ví dụ tham khảo 3 chứa pululan.

Bảng 2

	Ví dụ tham khảo 1	Ví dụ tham khảo 2	Ví dụ tham khảo 3
Độ ẩm môi trường để phủ	40% RH	40% RH	90% RH
Trung bình [μg]	58,2	78,1	21,9
Độ lệch chuẩn (SD) [μg]	4,2	23,1	4,5
Hệ số biến thiên (CV) [%]	7,2	29,6	20,5

(2) Thử nghiệm kết tụ 1

Tác nhân phủ của các ví dụ tham khảo 4 đến 7 và ví dụ 1 được điều chế theo phần mô tả trong bảng 3. Mỗi chế phẩm phủ thu được được phủ vào mũi của mỗi vi kim trong mảng vi kim bằng phương pháp nhúng sử dụng tấm mặt nạ, và mảng vi kim được làm khô dưới áp suất giảm. Sau đây, dụng cụ vi kim thu được được bao gói và lưu trữ ở nhiệt độ 40°C trong hai tuần. Sau đó, tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ được đánh giá theo cách dưới đây. Về vấn đề này, không có protein được chứa trong phần chiết mà có thời gian duy trì lâu hơn thời gian duy trì của FSH.

Phương pháp đánh giá tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ

Việc chiết xuất được thực hiện từ chế phẩm phủ áp dụng cho các vi kim bằng cách sử dụng chất đệm phosphat chứa 0,01% polysorbat 80. Dịch chiết thu được được tách bằng cách sử dụng sắc ký loại trừ kích thước, sau đó đánh giá protein (dưới dạng khối kết tụ) chứa trong các phần chiết mà thời gian duy trì của nó là ngắn hơn của FSH.

Bảng 3

	Ví dụ tham khảo 4	Ví dụ tham khảo 5	Ví dụ tham khảo 6	Ví dụ tham khảo 7	Ví dụ 1
FSH	33,3	31	31	31	31
Glyxerin	53,3	49,7	49,7	49,7	49,7
Trehalosa	-	5,5	-	-	-
Glucosa	-	-	5,5	-	-
Maltoza	-	-	-	5,5	-
Arginin/axit xitric	-	-	-	-	5,5
Nước tinh khiết	13,3	13,8	13,8	13,8	13,8
Tổng cộng	99,9	100	100	100	100

Kết quả được thể hiện trong Fig.4. Như thể hiện trong Fig.4, chế phẩm

phủ của ví dụ 1 được tạo ra bằng cách sử dụng arginin và axit xitric là tuyệt vời trong việc ngăn chặn sự hình thành khối kết tụ FSH.

(3) Thử nghiệm kết tụ 2

FSH, glyxerin, arginin, axit, và nước tinh khiết được trộn theo phần mô tả trong bảng 4 để điều chế chế phẩm phủ có pH là 8. Axit clohydric 5N, axit phosphoric, axit sulfuric 5N, axit boric, axit xitric, axit tartaric, axit axetic, và axit lactic được sử dụng làm các axit. Mỗi chế phẩm phủ thu được được ứng dụng cho mũi của mỗi vi kim trong mảng vi kim bằng phương pháp nhúng sử dụng tấm mặt nạ, và mảng vi kim được làm khô dưới áp suất giảm. Sau đây, dụng cụ vi kim thu được được bao gói và lưu giữ ở nhiệt độ 40°C trong hai tuần. Sau đó, tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ được đánh giá. Về vấn đề này, tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ được đánh giá theo cách giống như trong thử nghiệm kết tụ 1.

Bảng 4

		Ví dụ 2	Ví dụ 3	Ví dụ 4	Ví dụ 5
FSH		33,6	33,6	33,6	33,6
Glyxerin		38,6	40,3	37,3	40,2
Arginin		4,5	4,5	4,5	4,5
Axit	axit clohydric 5N	4	-	-	-
	axit phosphoric	-	1,4	-	-
	axit sulfuric 5N	-	-	6	-
	axit boric	-	-	-	1,6
	axit xitric	-	-	-	-
	axit tatric	-	-	-	-
	axit axetic	-	-	-	-
	axit lactic	-	-	-	-
Nước tinh khiết		19,3	20,2	18,6	20,1
Tổng cộng		100	100	100	100
		Ví dụ 6	Ví dụ 7	Ví dụ 8	Ví dụ 9
FSH		33,6	33,6	33,6	33,6
Glyxerin		40,3	40,2	40,6	39,5
Arginin		4,5	4,5	4,5	4,5
Axit	axit clohydric 5N	-	-	-	-
	axit phosphoric	-	-	-	-
	axit sulfuric 5N	-	-	-	-
	axit boric	-	-	-	-
	axit xitric	1,5	-	-	-
	axit tatric	-	1,6	-	-
	axit axetic	-	-	1	-
	axit lactic	-	-	-	2,6
Nước tinh khiết		20,1	20,1	20,3	19,8
Tổng cộng		100	100	100	100

Kết quả được thể hiện trong bảng 5. Trong chế phẩm phủ của ví dụ 2 đến 9, một lượng nhỏ của khối kết tụ FSH được tạo ra trong chế phẩm phủ của ví dụ 2, 4, và 8 chứa axit clohydric 5N, axit sulfuric 5N hoặc axit axetic. Tuy nhiên, không có khối kết tụ FSH được tạo ra trong ví dụ 3, 5 đến 7 và 9.

Bảng 5

	Tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ [%]
Ví dụ 2	11,5
Ví dụ 3	0
Ví dụ 4	2
Ví dụ 5	0
Ví dụ 6	0
Ví dụ 7	0
Ví dụ 8	0,3
Ví dụ 9	0

(4) Thử nghiệm đặc tính 1

Chế phẩm phủ của các ví dụ 10 đến 13 và các ví dụ tham khảo 10 đến 12 chứa FSH, glyxerin, arginin, axit xitric, và nước tinh khiết được điều chế theo phần mô tả trong bảng 6. Mỗi chế phẩm phủ thu được được ứng dụng cho mũi của mỗi vi kim trong mảng vi kim bằng phương pháp nhúng sử dụng tấm mặt nạ, và mảng vi kim được làm khô dưới áp suất giảm. Sau đây, dụng cụ vi kim thu được được bao gói và lưu giữ ở nhiệt độ 40°C trong hai tuần. Sau đó, độ hòa tan của FSH trong lớp phủ cũng như là tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ FSH được tính toán. Về vấn đề này, tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ được đánh giá theo cách tương tự như trong thử nghiệm kết tụ 1.

Bảng 6

	FSH	Glyxerin	Arginin	Axit xitric	Nước tinh khiết
Ví dụ 10	100	120	7,5	2,5	30
Ví dụ 11	100	120	15	5	30
Ví dụ 12	100	120	30	10	30
Ví dụ 13	100	120	60	20	30
Ví dụ tham khảo 10	100	120	3	1	30
Ví dụ tham khảo 11	100	120	90	30	30
Ví dụ tham khảo 12	100	120	120	40	30

Kết quả được thể hiện trong bảng 7. Trong trường hợp của dụng cụ vi

kim sử dụng chế phẩm phủ của các ví dụ 10 đến 13, độ hòa tan của FSH trong lớp phủ là tuyệt vời và sự hình thành khối kết tụ FSH cũng được ngăn chặn. Trong khi đó, trong trường hợp sử dụng chế phẩm phủ của ví dụ tham khảo 10, khối kết tụ FSH vẫn có trong đó. Trong trường hợp sử dụng chế phẩm phủ các ví dụ tham khảo 11 và 12, độ hòa tan của FSH bị giảm.

Bảng 7

	Độ hòa tan	Tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ [%]
Ví dụ 10	O	0
Ví dụ 11	O	0
Ví dụ 12	O	0
Ví dụ 13	O	0
Ví dụ tham khảo 10	O	0,4
Ví dụ tham khảo 11	X	
Ví dụ tham khảo 12	X	

(5) Thử nghiệm ngăn chặn rò rỉ nhỏ giọt

Theo phần mô tả trong bảng 8, FSH, glycerin, arginin, axit xitric, và nước tinh khiết được trộn để điều chế chế phẩm phủ của các ví dụ 14 đến 16 và ví dụ tham khảo 13. Sự có mặt hay không có mặt chất không hòa tan trong chế phẩm phủ thu được được quan sát trực quan. Sự không có mặt chất không hòa tan được kí hiệu là “O”, trong khi sự có mặt chất không hòa tan được kí hiệu là “X”.

Mỗi chế phẩm phủ thu được được ứng dụng cho mũi của mỗi vi kim trong mảng vi kim bằng phương pháp nhúng sử dụng tấm mặt nạ, và mảng vi kim được làm khô dưới áp suất giảm để sản xuất dụng cụ vi kim. Sau đó, đặc tính của lớp phủ trên dụng cụ vi kim thu được (xảy ra hoặc không xảy ra sự rò rỉ nhỏ giọt) được quan sát bằng cách sử dụng kính hiển vi kỹ thuật số (được sản xuất bởi KEYENCE CORPORATION.). Trường hợp quan sát thấy sự rò rỉ nhỏ giọt được kí hiệu là “A”, trường hợp không quan sát thấy sự rò rỉ nhỏ giọt được kí hiệu là “B”.

Bảng 8

	FSH	Glyxerin	Arginin	Axit xitric	Nước tinh khiết
Ví dụ 14	100	275	13,4	4,5	69
Ví dụ 15	100	177	13,4	4,5	44
Ví dụ 16	100	118	13,4	4,5	29
Ví dụ tham khảo 13	100	471	13,4	4,5	118

Kết quả được thể hiện trong bảng 9. Trong trường hợp dụng cụ vi kim sử dụng chế phẩm phủ của các ví dụ 14 đến 16, FSH được hòa tan hoàn toàn. Trong khi đó, sự rò rỉ nhỏ giọt được quan sát thấy trong dụng cụ vi kim sử dụng chế phẩm phủ của ví dụ tham khảo 13.

Bảng 9

	Độ hòa tan	Đặc tính
Ví dụ 14	O	A
Ví dụ 15	O	A
Ví dụ 16	O	A
Ví dụ tham khảo 13	O	B

(6) Ảnh hưởng của sự làm khô

Sau khi phủ các vi kim bằng chế phẩm phủ của ví dụ 17, hàm lượng FSH, arginin, glyxerin, và axit xitric trong chế phẩm phủ trước khi làm khô dưới áp suất giảm được đo bằng cách sắc ký khí. Sau đây, bước làm khô dưới áp suất giảm được thực hiện ở nhiệt độ trong phòng và 10 Pa. Tương tự, hàm lượng FSH, arginin, glyxerin, và axit xitric trong lớp phủ được đo bằng sắc ký khí. Chế phẩm phủ của ví dụ 17 được tạo ra bằng cách trộn FSH, glyxerin, arginin, axit xitric, và nước theo tỷ lệ phần trăm trước khi làm khô dưới áp suất giảm được thể hiện trong bảng 10.

Kết quả được thể hiện trong bảng 10. Tỷ lệ hàm lượng của mỗi thành phần trong chế phẩm phủ trước khi làm khô dưới áp suất giảm gần giống tỷ lệ pha trộn của mỗi thành phần khi chế phẩm phủ được điều chế. Trong khi đó, trong lớp phủ sau khi làm khô dưới áp suất giảm, không chỉ tỷ lệ hàm lượng của nước mà còn tỷ lệ hàm lượng của glyxerin được làm giảm. Vì vậy, glyxerin được làm bay hơi cùng với nước, kết quả là độ đồng đều về hàm lượng của

FSH là tuyệt vời và sự rò rỉ nhỏ giọt cũng được ngăn chặn. Tỷ lệ hàm lượng của glycerin tiếp tục giảm bằng cách kéo dài thời gian làm khô dưới áp suất giảm.

Bảng 10

	Tỷ lệ hàm lượng [%]			
	Trước khi làm khô dưới áp suất giảm	Thời gian làm khô (15 giờ)	Thời gian làm khô (30 giờ)	Thời gian làm khô (50 giờ)
FSH	37,8	53,6	67,7	74,4
Glycerin	45,5	36,8	20	12,3
Arginin	5,1	7,2	9,2	10
Axit xitric	1,7	2,4	3,1	3,3
Nước	10	0	0	0
Tỷ lệ khối lượng (glycerin/FSH)	1,2	0,69	0,3	0,165

(7) Thử nghiệm độ đồng đều hàm lượng 2

Các vi kim được phủ bằng tác nhân phủ của các ví dụ 18 và 19 được điều chế theo phần mô tả trong bảng 11. Mỗi số trong bảng 11 có nghĩa là phần trăm khối lượng tương ứng với toàn bộ chế phẩm phủ.

Sau đây, các tác nhân phủ của các ví dụ 18 và 19 được ứng dụng cho 20 tấm tại RH (độ ẩm tương đối) khoảng 40%. Tác nhân phủ ứng dụng cho các vi kim được thu hồi tương ứng. Hàm lượng hormon kích thích nang tái tổ hợp (sau đây, được gọi đơn giản là “FSH”) trong mỗi tác nhân phủ được đo. Độ lệch chuẩn trung bình (SD), và hệ số biến thiên (CV) của hàm lượng FSH thu được được tính toán. Về vấn đề này, hệ số biến thiên (CV) là giá trị thu được bằng cách chia trung bình độ lệch chuẩn.

Bảng 11

	Ví dụ 18	Ví dụ 19
FSH	35,0	21,6
Glycerin	40,0	59,5
Arginin	5,0	2,9
Axit xitric	-	1,0
Nước tinh khiết	20,0	15,0
Tổng	100	100

Kết quả được thể hiện trong bảng 12. Tác nhân phủ của các ví dụ 18 và 19 có sự thay đổi nhỏ trong hàm lượng.

Bảng 12

	Ví dụ 18	Ví dụ 19
Độ ẩm môi trường để phủ	40% RH	40% RH
Trung bình [μg]	17,4	4,6
Độ lệch chuẩn (SD) [μg]	0,7	0,3
Hệ số biến thiên (CV) [%]	3,8	6,3

(8) Thử nghiệm kết tụ 3

Tác nhân phủ của ví dụ 20 được điều chế theo phần mô tả trong bảng 13. Tác nhân phủ thu được được ứng dụng cho mũi của mỗi vi kim trong mảng vi kim bằng phương pháp nhúng sử dụng tấm mặt nạ, và mảng vi kim được làm khô dưới áp suất giảm. Sau đây, dụng cụ vi kim thu được được bao gói và lưu giữ ở nhiệt độ 40°C trong hai tuần. Sau đó, tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ được đánh giá trong một cách dưới đây. Về vấn đề này, tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ được đánh giá theo cách tương tự như trong thử nghiệm kết tụ 1. Không có protein nào được chứa trong phần chiết mà có thời gian duy trì lâu hơn so với FSH.

Bảng 13

	Ví dụ 20
FSH	35,0
Glyxerin	40,0
Arginin	5,0
Axit xitric	-
Nước tinh khiết	20,0
Tổng	100

Tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ trong tác nhân phủ của ví dụ 20 là 3,8% thậm chí sau khi được lưu giữ ở nhiệt độ 40°C trong hai tuần.

(9) Thử nghiệm đặc tính 2

Các tác nhân phủ của các ví dụ 21 và 22 chứa FSH, glyxerin, arginin, axit xitric, và nước tinh khiết được điều chế theo phần mô tả trong bảng 14. Mỗi tác nhân phủ thu được được ứng dụng cho mũi của mỗi vi kim trong mảng vi kim bằng phương pháp nhúng sử dụng tấm mặt nạ, và mảng vi kim được làm khô dưới áp suất giảm. Sau đây, dụng cụ vi kim thu được được bao gói và lưu giữ ở nhiệt độ 40°C trong hai tuần. Sau đó, độ hòa tan của FSH trong lớp phủ

cũng như tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ FSH được đánh giá. Về vấn đề này, tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ được đánh giá theo cách tương tự như trong thử nghiệm kết tụ 1.

Bảng 14

	Ví dụ 21	Ví dụ 22
FSH	100	100
Glyxerin	120	120
Arginin	6	75
Axit xitric	2	25
Nước tinh khiết	30	30

Kết quả được thể hiện trong bảng 15. Trong trường hợp dụng cụ vi kim sử dụng tác nhân phủ của các ví dụ 21 và 22, độ hòa tan của FSH trong lớp phủ là tuyệt vời và sự hình thành khối kết tụ FSH cũng được ngăn chặn.

Bảng 15

	Độ hòa tan	Tỷ lệ hàm lượng của khối kết tụ [%]
Ví dụ 21	O	0,2
Ví dụ 22	O	0

(10) Ứng dụng của dụng cụ vi kim

Mũi vi kim được phủ bằng tác nhân phủ được điều chế bằng cách trộn 100 phần khối lượng của glyxerin, 10 phần khối lượng của arginin, và 100 phần khối lượng của các thành phần khác tương ứng với 100 phần khối lượng của FSH, sau đó làm khô để thu dụng cụ vi kim. Dụng cụ ứng dụng được sử dụng để ứng dụng dụng cụ vi kim thu được cho da của người sử dụng. Ở thời điểm này, thời gian xuyên qua da được thiết lập là 10 giây. Máu của người sử dụng được thu thập cùng với thời gian và nồng độ của FSH trong huyết tương được đo.

Thời gian (Tmax) cần thiết cho đến khi nồng độ của FSH trong huyết tương đạt đến mức tối đa là khoảng 8 giờ.

Danh sách số chỉ dẫn

1 ... Dụng cụ vi kim, 2 ... Đế vi kim, 3 ... Vi kim, 5 ... Lớp phủ, 10 ... Chế phẩm phủ, 11 ... Tấm mặt nạ, 12 ... Bay, 13 ... Khe hở.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dụng cụ vi kim bao gồm:

 đế vi kim;

 vi kim được bố trí trên đế vi kim; và

 lớp phủ được tạo ra trên vi kim;

 trong đó lớp phủ này chứa hormon kích thích nang tái tổ hợp, arginin, và glyxerin,

 trong đó trong lớp phủ, khối lượng của arginin gấp từ 0,07 đến 0,75 lần khối lượng của hormon kích thích nang tái tổ hợp và khối lượng của glyxerin gấp từ 0,1 đến 2,75 lần khối lượng của hormon kích thích nang tái tổ hợp, và

 trong đó lớp phủ này còn chứa axit được chọn từ nhóm bao gồm axit xitric, axit phosphoric, axit boric, axit tartaric và axit lactic.

2. Dụng cụ vi kim theo điểm 1, trong đó trong lớp phủ, khối lượng của arginin gấp từ 0,07 đến 0,6 lần khối lượng của hormon kích thích nang tái tổ hợp.

3. Phương pháp sản xuất dụng cụ vi kim bao gồm các bước:

 tạo mảng vi kim có đế vi kim và vi kim;

 trộn hormon kích thích nang tái tổ hợp, arginin, glyxerin, và axit được chọn từ nhóm bao gồm axit xitric, axit phosphoric, axit boric, axit tartaric và axit lactic để tạo thành chế phẩm phủ;

 phủ vi kim bằng chế phẩm phủ; và

 làm khô chế phẩm phủ để tạo ra lớp phủ trên vi kim;

 trong đó trong lớp phủ, bước làm khô được tiến hành cho đến khi khối lượng của arginin đạt đến mức gấp từ 0,07 đến 0,75 lần khối lượng của hormon kích thích nang tái tổ hợp và khối lượng của glyxerin đạt đến mức gấp từ 0,1 đến 2,75 lần khối lượng của hormon kích thích nang tái tổ hợp.

4. Phương pháp sản xuất dụng cụ vi kim theo điểm 3, trong đó bước làm khô được tiến hành cho đến khi, trong lớp phủ, khối lượng của arginin đạt đến mức gấp từ 0,07 đến 0,6 lần khối lượng của hormon kích thích nang tái tổ hợp và

khối lượng của glycerin đạt đến mức gấp từ 0,1 đến 2,75 lần khối lượng của hormon kích thích nang tái tổ hợp.

5. Phương pháp sản xuất dụng cụ vi kim theo điểm 3 hoặc 4, trong đó trong chế phẩm phủ, khối lượng của arginin gấp từ 0,07 đến 0,75 lần khối lượng của hormon kích thích nang tái tổ hợp và khối lượng của glycerin gấp từ 1 đến 3 lần khối lượng của hormon kích thích nang tái tổ hợp.

6. Phương pháp sản xuất dụng cụ vi kim theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 5, trong đó trong chế phẩm phủ, khối lượng của arginin gấp từ 0,07 đến 0,6 lần khối lượng của hormon kích thích nang tái tổ hợp.

7. Tác nhân phủ dùng cho các vi kim bao gồm:

hormon kích thích nang tái tổ hợp, arginin và glycerin;

trong đó hàm lượng của arginin gấp từ 0,07 đến 0,75 lần khối lượng của hormon kích thích nang tái tổ hợp và hàm lượng của glycerin gấp từ 1 đến 3 lần khối lượng của hormon kích thích nang tái tổ hợp, và

trong đó lớp phủ chứa axit được chọn từ nhóm bao gồm axit xitric, axit phosphoric, axit boric, axit tartric và axit lactic.

8. Tác nhân phủ dùng cho các vi kim theo điểm 7, trong đó tác nhân phủ này bao gồm:

hormon kích thích nang tái tổ hợp, arginin và glycerin;

trong đó hàm lượng của arginin gấp từ 0,07 đến 0,6 lần khối lượng của hormon kích thích nang tái tổ hợp.

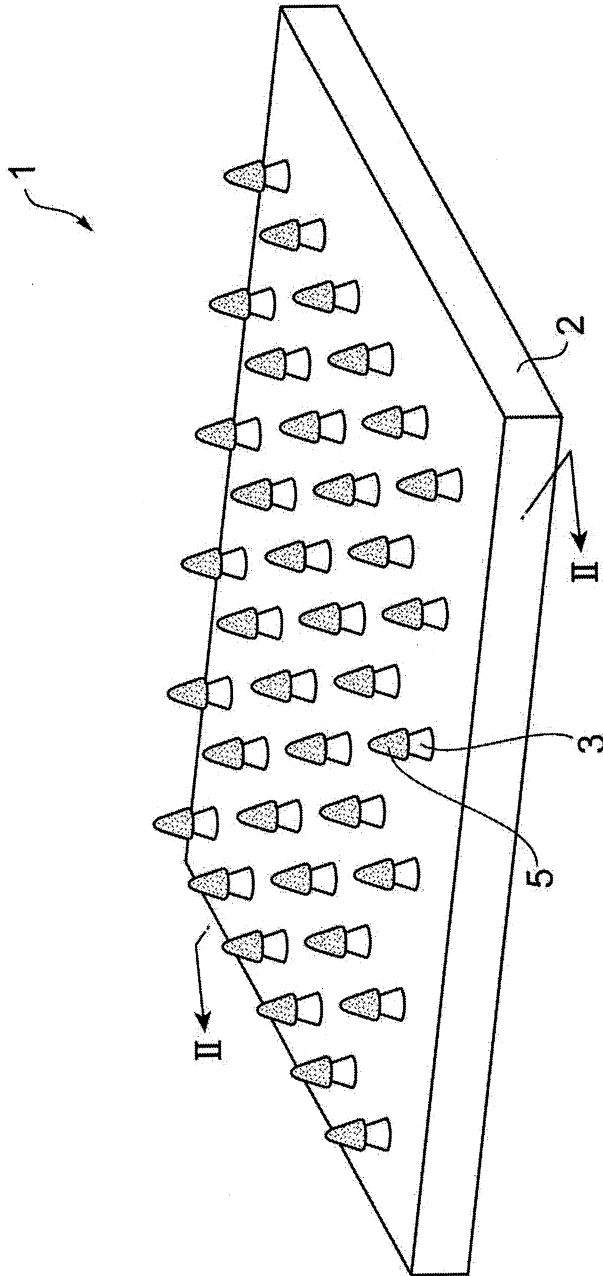
Fig.1

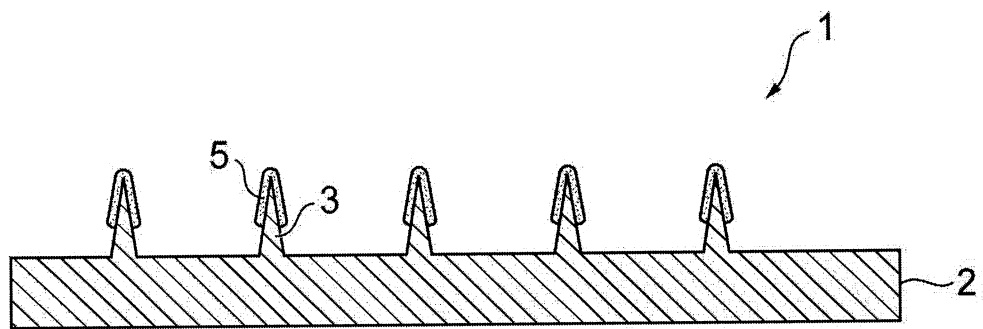
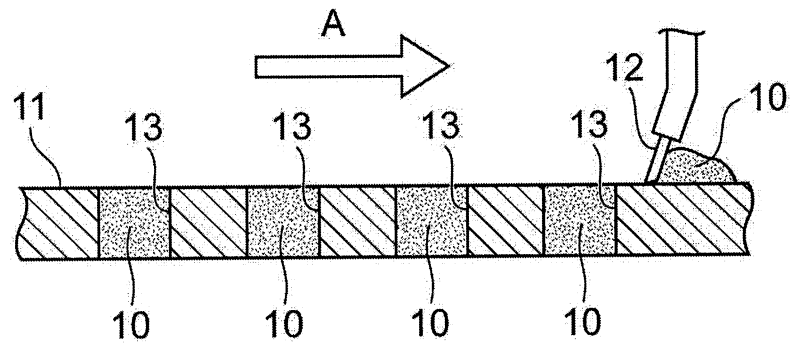
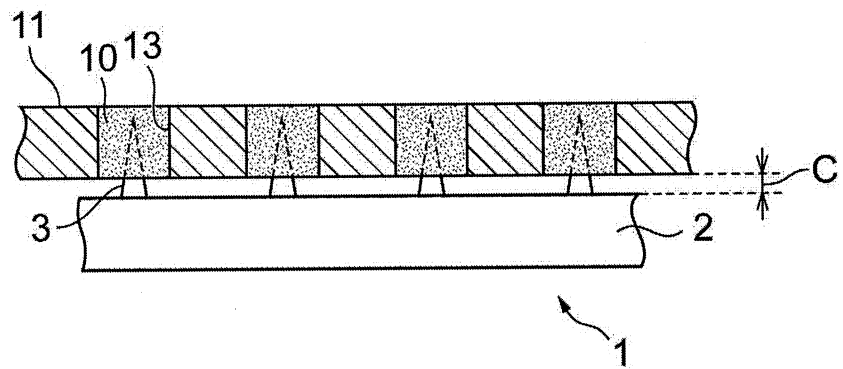
Fig.2

Fig.3

(a)



(b)



(c)

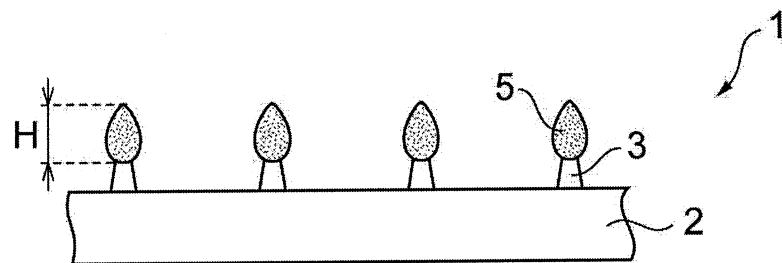


Fig.4