



(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)



1-0028454

(51)⁷ A61K 38/08; A61P 35/00; A61K 9/19; (13) B
A61K 47/12; A61K 47/26

(21) 1-2014-04001

(22) 31/05/2013

(86) PCT/EP2013/061264 31/05/2013

(87) WO2013/178788 05/12/2013

(30) 12170454.8 01/06/2012 EP

(45) 25/05/2021 398

(43) 25/03/2015 324A

(73) FERRING B.V. (NL)

Polaris Avenue 144, NL-2132 JX Hoofddorp, the Netherlands

(72) SCHWACH, Grégoire (FR); NILSSON, Anders (SE); GOTTSCHALK BOEVING, Tine Elisabeth (DK); RASMUSSEN, Jon Holbech (DK); MÖRNSTAM, Birgitta (SE); TSIRK, Anders (SE); ANNBY, Ulf (SE); FOMSGAARD, Jens (DK).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) DƯỢC CHẤT DEGARELIX ĐÔNG KHÔ VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT
DƯỢC CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất thuốc degarelix chứa degarelix đông khô mà, khi hoàn nguyên với nước để tiêm với lượng 20mg/ml, thể hiện độ nhớt lên đến 15 mPas. Sáng chế cũng đề xuất dược chất degarelix đông khô mà thể hiện, khi hoà tan trong nước với lượng 20mg/ml, độ nhớt lên đến 3,2 mPas, và phương pháp sản xuất dược chất degarelix đông khô này.

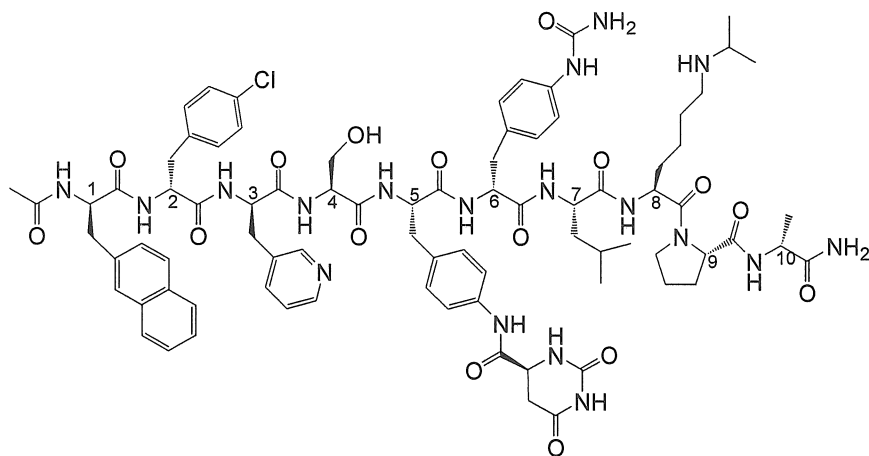
Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất để tạo ra degarelix đông khô.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh ung thư tuyến tiền liệt là nguyên nhân gây ra bệnh tật và tử vong hàng đầu đối với nam giới ở thế giới công nghiệp hoá. Degarelix, cũng đã được biết đến là FE200486, là chất đối kháng thụ thể hormon giải phóng gonadotropin thế hệ thứ ba (third generation gonadotropin releasing hormone-GnRH) (chất phong bế GnRH) mà đã được phát triển và được chấp thuận dùng cho người bệnh mắc bệnh ung thư tuyến tiền liệt cần liệu pháp điều trị cắt bỏ androgen (xem tài liệu: Doehn et al., Drugs 2006, vol. 9, No. 8, pp. 565-571; WO 09846634). Degarelix tác dụng bằng việc phong bế ngay và phong bế cạnh tranh thụ thể GnRH trong tuyến yên, và các chất đối kháng GnRH tương tự khác, không gây ra sự kích thích khởi đầu việc sản xuất hormon lutein hoá qua trục dưới đồi-tuyến yên-tuyến sinh dục và do đó không gây ra sự dâng trào testosterone hoặc phản ứng lâm sàng (xem tài liệu: Van Poppel, Cancer Management and Research, 2010:2 39-52; Van Poppel et al., Urology, 2008, 71(6), 1001-1006); James, E.F. et al., Drugs, 2009, 69(14), 1967-1976).

Degarelix là decapeptit tổng hợp mạch thẳng chứa bảy axit amin không tự nhiên, nằm trong số chúng là D-axit amin. Nó có mười tám không đối xứng trong khung chính của decapeptit. Gốc axit amin ở vị trí 5 trong trình tự có tám không đối xứng bổ sung trong việc thay thế chuỗi phụ thu được tổng cộng mười một tám không đối xứng. Số đăng ký CAS của nó là 214766-78-6 (bazo tự do) và có bán sẵn trên thị trường dưới nhãn hiệu hàng hoá Firmagon™. Dược chất được xác định về mặt hoá học như D-Alaninamit, N-axetyl-3-(2-naphthalenyl)-D-alanyl-4-clo-D-phenylalanyl-3-(3-pyridinyl)-D-alanyl-L-seryl-4-[[[(4S)-hexahydro-2,6-dioxo-4-pyrimidinyl]carbonyl]amino]-L-phenylalanyl-4-[(aminocarbonyl)amino]-D-phenylalanyl-L-leucyl-N6-(1-metyletyl)-L-lysyl-L-prolyl- và được biểu diễn bởi cấu trúc hoá học dưới đây (sau đây cũng được gọi là công thức I):



Cấu trúc của degarelix cũng có thể được biểu diễn là:

Ac-D-2Nal-D-4Cpa-D-3Pal-Ser-4Aph(L-Hor)-D-4Aph(Cbm)-Leu-Lys(iPr)-Pro-D-Ala-NH₂

trong đó, Ac là axetyl, 2Nal là 2-naphthylalanin, 4Cpa là 4-clophenylalanin, 3Pal là 3-pyridylalanin, Ser là serin, 4Aph là 4-aminophenylalanin, Hor là hydroorotyl, Cbm là carbamoyl, Leu là leuxin, Lys(iPr) là N6-isopropyllysin, Pro là prolin và Ala là alanin.

Đối với mục đích mô tả sáng chế, mỗi axit amin trong degarelix sẽ được đưa ra ký hiệu viết ngắn gọn như sau:

AA₁ là D-2Nal, AA₂ là D-4Cpa, AA₃ là D-3Pal, AA₄ là Ser, AA₅ là 4Aph(L-Hor), AA₆ là D-Aph(Cbm), AA₇ là Leu, AA₈ là Lys(iPr), AA₉ là Pro và AA₁₀ là D-Ala.

Do đó, degarelix có thể được biểu diễn là Ac-AA₁-AA₁₀-NH₂.

Degarelix đã được tạo ra trước bằng việc sử dụng phương pháp tổng hợp peptit pha rắn Boc (SPPS) như được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 98/46634 và tài liệu: Jiang et al., J. Med. Chem. 2001, 44, 453-467.

Công bố đơn quốc tế số WO2010/12835 và WO2011/066386 mô tả việc tạo ra degarelix sử dụng chiến lược Fmoc. Công bố đơn quốc tế số WO2012/055905 và WO2012/055903 mô tả quy trình tổng hợp pha lỏng của degarelix.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Việc mô tả đặc điểm hoá lý của degarelix đã thể hiện rằng decapeptit có khả năng tự kết hợp và cuối cùng là tạo ra gel trong dung dịch trong nước. Việc tự kết hợp làm cho hợp chất này tạo thành dạng giải phóng chậm (depot) tại chỗ khi được tiêm

dưới da hoặc trong cơ. Kho chứa degarelix đã được thể hiện tạo ra việc giải phóng duy trì hoạt chất qua nhiều tháng phụ thuộc vào liều dùng. Hiện tại, dược chất được dùng với các liều 120mg (40mg/ml) đối với lần tiêm thứ nhất và 80mg (20mg/ml) đối với việc giải phóng duy trì trong một tháng.

Ngạc nhiên là, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng độ nhớt và do đó các đặc tính giải phóng duy trì và mức sinh khả dụng, của thuốc được hoàn nguyên có thể được kiểm soát thông qua việc xử lý peptit thô (ví dụ thu được theo chiến lược Fmoc, tổng hợp pha lỏng hoặc đường khác) thành dược chất. Ngạc nhiên là, độ nhớt được kết hợp với dược chất tương quan với độ nhớt được kết hợp với thuốc, thậm chí sau khi hoàn nguyên và làm đông khô tiếp. Độ nhớt của thuốc phải được kiểm soát nằm trong khoảng đến tối đa 15 mPas, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 12 mPas, để thu được sự hình thành kho chứa mong muốn và do đó giải phóng duy trì. Sáng chế đề xuất các phương pháp mà cho phép việc sản xuất các thuốc mà thể hiện độ nhớt này, như được xác định khi hoàn nguyên với chất lỏng hoàn nguyên ở nồng độ 20mg degarelix/ml chất lỏng hoàn nguyên.

Do đó, theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất phương pháp kiểm soát độ nhớt của sản phẩm chứa degarelix không lớn hơn 15 mPas, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 12 mPas, như được xác định khi hoàn nguyên với nước để tiêm với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

1. Cung cấp dược chất degarelix đông khô mà thể hiện độ nhớt lên đến 3,2 mPas, như được xác định khi hoà tan trong nước chứa manitol (2,5% khối lượng/thể tích) với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml.
2. Hoà tan dược chất degarelix đông khô trong nước chứa manitol để thu được hỗn hợp degarelix-manitol trong nước;
3. Làm đông khô hỗn hợp degarelix-manitol trong nước để thu được thuốc degarelix.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất thuốc degarelix đông khô mà thể hiện độ nhớt lên đến 15 mPas, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 12 mPas, như được xác định khi hoàn nguyên với nước để tiêm với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

1. Cung cấp được chất degarelix đông khô mà thể hiện độ nhớt lên đến 3,2 mPas, như được xác định khi hoà tan trong nước chứa manitol (2,5% khối lượng/thể tích) với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml.
2. Hoà tan được chất degarelix đông khô trong nước chứa manitol để thu được hỗn hợp degarelix-manitol trong nước; và
3. Làm đông khô hỗn hợp degarelix-manitol trong nước để thu được thuốc degarelix.

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất thuốc degarelix chứa được chất degarelix đông khô và chất lỏng để hoàn nguyên (chất lỏng hoàn nguyên) mà, khi hoàn nguyên với chất lỏng này với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml, thể hiện độ nhớt lên đến 15 mPas, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 12 mPas, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

1. Hoà tan được chất degarelix đông khô trong dung dịch trong nước chứa manitol để thu được hỗn hợp degarelix-manitol;
2. Làm đông khô hỗn hợp degarelix-manitol để thu được thuốc degarelix, trong đó chất làm giảm độ nhớt được bổ sung vào hỗn hợp degarelix-manitol trước khi đông khô.

Sáng chế cũng đề xuất được chất degarelix đông khô mà thể hiện, khi hoà tan trong nước chứa 2,5% khối lượng manitol với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml, độ nhớt lên đến 3,2 mPas, và phương pháp tạo ra được chất degarelix đông khô.

Hơn nữa, sáng chế còn đề xuất thuốc degarelix chứa được chất degarelix đông khô và chất lỏng hoàn nguyên mà, khi hoàn nguyên với chất lỏng hoàn nguyên với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml, thể hiện độ nhớt lên đến 15 mPas, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 12 mPas, và chứa chất làm giảm độ nhớt với lượng nằm trong khoảng từ 0,001 đến 5mg/ml.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện mối quan hệ giữa độ nhớt của dược chất và độ nhớt của thuốc.

Fig.2 và Fig.3 thể hiện mối quan hệ giữa độ nhớt động học của huyền phù phân liều degarelix (20mg/ml) và nồng độ trong huyết tương của degarelix (chuột) ở ngày 3 (Fig.2) và ngày 28 (Fig.3).

Mô tả chi tiết sáng chế

Phương pháp sản xuất thuốc degarelix đông khô theo khía cạnh thứ nhất và thứ hai bắt đầu với dược chất degarelix sẽ được mô tả chi tiết hơn.

Dược chất degarelix

Decapeptit degarelix có thể được tạo ra bằng quy trình tổng hợp peptit pha rắn, như được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO98/46634, WO2010/12835 và WO2011/066386, hoặc bằng quy trình tổng hợp peptit pha lỏng, như được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO2012/055905 hoặc WO2012/055903. Quy trình tổng hợp peptit này tạo ra degarelix thô mà còn được tinh chế tiếp và sau đó đông khô để thu được sản phẩm đông khô chứa degarelix, axit axetic, lượng nước dư và lượng nhỏ của tạp chất do quy trình sản xuất, nếu có. Sản phẩm này được gọi là dược chất degarelix hoặc chỉ đơn thuần là dược chất theo sáng chế. Tốt hơn là, dược chất degarelix đông khô chứa degarelix, từ 4,5 đến 10% khối lượng axit axetic (khối lượng/khối lượng) và đến 10% khối lượng nước (khối lượng/khối lượng).

Việc sản xuất dược chất có thể được chia thành bước thứ nhất (A) tạo ra degarelix được tinh chế trong dung dịch và bước thứ hai (B) tạo ra dược chất degarelix.

Bước (A): Tinh chế

Bước (A) bao gồm việc tinh chế degarelix thô theo một hoặc nhiều bước, tốt hơn là hai bước, tùy ý tiếp theo bước cô đặc cột và/hoặc trao đổi muối.

Degarelix thô, như thu được bằng LPPS hoặc SPPS, trước tiên được đem tinh chế. Tốt hơn là, việc tinh chế được thực hiện bằng cách cho dung dịch peptit thu được bằng SPPS hoặc LPPS vào cột với vật liệu pha đảo, mà tốt hơn là được làm cân bằng sơ bộ bằng chất đệm. Tốt hơn là, bước tinh chế thứ nhất tạo ra độ tinh khiết ít nhất 95%, như được xác định bằng HPLC.

Theo phương án được ưu tiên, việc sắc ký cột pha đảo được lặp lại để thu được sản phẩm có độ tinh khiết ít nhất 97,5%, như được xác định bằng HPLC.

Theo phương án được đặc biệt ưu tiên, dung dịch degarelix được tinh chế có độ tinh khiết ít nhất 95%, tốt hơn là ít nhất 97,5%, được đưa vào bước sắc ký cột tiếp để cô đặc sơ bộ dung dịch degarelix và/hoặc để trao đổi muối (tốt hơn nếu axit axetic được sử dụng để điều chỉnh độ pH của chất rửa giải trong bước tinh chế cuối cùng).

Tốt hơn là, bước cô đặc sơ bộ và/hoặc trao đổi muối này cũng được thực hiện trên cột pha đảo: dung dịch degarelix được tinh chế được pha loãng bằng nước (tốt hơn là từ 1,5 đến 2,5 lần) và được đưa vào cột, được làm cân bằng sơ bộ bằng chất đệm. Tốt hơn là, cột được rửa lần thứ nhất bằng etanol (nồng độ thấp, thường nhỏ hơn 20%) và amoni axetat trong nước và tiếp theo bằng etanol (nồng độ thấp, thường nhỏ hơn 20%)/axit axetic/nước. Sau đó, tách rửa cột, ví dụ bằng etanol (nồng độ cao, thường là từ 20 đến 60%)/axit axetic/nước để thu được dung dịch chứa degarelix đặc hơn so với dung dịch sau (các) bước tinh chế. Quy trình là không bị giới hạn ở etanol làm chất biến đổi hữu cơ trong chất rửa giải. Các dung môi khác như axetonitril cũng có thể được sử dụng.

Bước (A) tạo ra degarelix được tinh chế trong dung dịch.

Bước (B)

Việc xử lý tiếp theo của degarelix được tinh chế trong dung dịch để thu được được chất degarelix có thể được thực hiện theo các cách khác nhau. Tiếp theo, bốn cách được ưu tiên là được minh họa (các Bước (B1), (B2), (B3) và (B4)).

Bước (B1): Cô đặc-khử kết tụ-đông khô

Đầu tiên, degarelix được tinh chế trong dung dịch được đưa vào bước cô đặc trong đó etanol hoặc chất biến đổi hữu cơ khác như axetonitril được loại bỏ bằng cách bay hơi. Tốt hơn là, bước này được thực hiện bằng thiết bị bay hơi quay. Nhiệt độ tối đa được ưu tiên trong khi bay hơi là 40°C. Sản phẩm chứa degarelix nhớt được cô đặc ở mức cao thu được (sản phẩm được kết tụ thường ở dạng gel) sau đó được xử lý bằng axit axetic (bước khử kết tụ), tốt hơn là được lọc và đông khô.

Bước khử kết tụ là quan trọng để kiểm soát độ nhớt của dược chất. Do đó, tốt hơn là bước khử kết tụ được thực hiện với một hoặc nhiều, tốt nhất là tất cả các điều kiện trong số các điều kiện sau đây:

- Nồng độ axit axetic cuối cùng: từ 6 đến 40%, tốt hơn là từ 15 đến 35% (thể tích).
- Nhiệt độ từ 0 đến 35°C, tốt hơn là từ 2 đến 30°C, tốt nhất là từ 5 đến 15°C.
- Nồng độ degarelix (bazơ tự do) từ 5 đến 35g/l, tốt hơn là từ 10 đến 20g/l.
- Thời gian từ 1 đến 15 giờ.

Trong các giới hạn này, các tổ hợp thích hợp của các tham số của quy trình có thể phát hiện được bằng việc thử nghiệm đơn giản.

Tốt hơn là, bước đông khô được thực hiện ở độ dày đá lạnh từ 1,2 đến 2,4cm và thời gian làm khô thứ cấp là từ 1 đến 17 giờ. Nhiệt độ làm khô thứ cấp thường là khoảng 20°C (từ 15 đến 25°C).

Theo phương án được ưu tiên, bước (B1) tạo ra dược chất đông khô mà thể hiện độ nhớt nhỏ hơn 3,2 mPas, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1,15 đến 2 mPas (như dược chất xác định khi hoà tan với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do trong 1ml nước, chứa 2,5% (khối lượng/thể tích) manitol). Phương pháp đo độ nhớt được mô tả trong phần thử nghiệm. Dược chất đáp ứng hoàn toàn yêu cầu về độ nhớt này còn được gọi là dược chất (1), trong khi dược chất không đáp ứng hoàn toàn yêu cầu độ nhớt này còn được gọi là dược chất (2). Dược chất (2) có độ nhớt được ưu tiên là từ 3,2 đến 15 mPas, khi hoà tan với lượng 20mg trong 1ml nước. Dược chất (2) thậm chí có thể giống như gel, trong điều kiện lớn hơn 3,2 mPas một cách đáng kể, thậm chí mặc dù độ nhớt của nó không thể đo được một cách chính xác.

Theo khía cạnh này, cần được lưu ý rằng “khi hoà tan với lượng 20mg trong 1ml nước” chỉ đơn thuần đề cập đến các điều kiện đo độ nhớt và không có nghĩa rằng dược chất là có mặt trong dung dịch chứa 20mg/ml. Tốt nhất là, dược chất là có mặt ở dạng đông khô.

Dược chất, cụ thể là dược chất (1), tốt hơn là được đặc trưng bởi hàm lượng axit axetic nằm trong khoảng từ 4,5 đến 10,0% (khối lượng/khối lượng) và/hoặc hàm lượng nước bằng hoặc nhỏ hơn 10% (khối lượng/khối lượng). Ngoài ra, dược chất, cụ thể là

được chất (1), tốt hơn là thể hiện mật độ quang bằng 0,10 AU hoặc nhỏ hơn (ở nồng độ 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml trong 2,5% manitol (trong nước)). Phương pháp đo mật độ quang được mô tả trong phần thử nghiệm.

Do đó, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất được chất degarelix (1), trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

- a. Tinh chế degarelix như thu được bằng quy trình tổng hợp peptit pha lỏng hoặc rắn để thu được dung dịch degarelix có độ tinh khiết ít nhất 95%;
- b. Làm bay hơi dung môi để cô đặc dung dịch degarelix để thu được degarelix được kết tụ;
- c. Khử kết tụ degarelix được kết tụ bằng axit axetic; và
- d. Đông khô degarelix được khử kết tụ để thu được được chất degarelix.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp điều biến độ nhớt của degarelix, sao cho sau khi đông khô và hoàn nguyên với nước, độ nhớt của dung dịch degarelix 20mg/ml trong 2,5% khối lượng/thể tích manitol không lớn hơn 15 mPas, trong đó phương pháp bao gồm các bước:

xử lý degarelix được kết tụ bằng axit axetic; và
đông khô hỗn hợp gồm degarelix và axit axetic.

Theo một số phương án, các điều kiện dùng cho việc bổ sung axit axetic và đông khô là như được mô tả trên đây. Theo các phương án cụ thể, hàm lượng axit axetic sau khi đông khô nằm trong khoảng từ 4,5 đến 10,0% (khối lượng/khối lượng).

Bước (B2): Cô đặc cột – Đông khô

Dung dịch degarelix thu được trong bước A (tốt hơn là sau phương pháp tinh chế một hoặc hai bước, ví dụ không cần cô đặc sơ bộ/trao đổi muối) được nạp vào cột sắc ký, việc trao đổi ion được thực hiện và cột được rửa nhẹ (rửa) bằng axit axetic được pha loãng (khoảng 1%). Degarelix được tách rửa ra khỏi cột bằng việc sử dụng axit axetic trong nước ở nồng độ AcOH từ 20 đến 50% khối lượng, tốt hơn là từ 23 đến 37% khối lượng, tốt hơn là từ 23 đến 27% khối lượng, tốt hơn là từ 27 đến 37% khối lượng, tốt hơn là từ 33 đến 37% khối lượng, tốt hơn là 35% khối lượng, và tiếp theo được pha loãng tùy ý đến nồng độ AcOH thích hợp, lọc. Sau đó, dung dịch AcOH/nước chứa degarelix được đông khô. Pha tĩnh trong cột có thể thuộc các loại khác nhau. Pha tĩnh có thể chứa các nhóm chức như các hydrocacbon (béo và thơm),

ruợu, nitril, các nhóm có các đặc tính axit/bazơ thích hợp và các nhóm trao đổi ion nhưng không bị giới hạn ở loại nhóm này. Quy trình này tạo ra được chất, tốt hơn là được chất (1).

Do đó, sáng chế cũng đề xuất phương pháp sản xuất được chất degarelix, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

- a. Tinh chế degarelix như thu được bằng quy trình tổng hợp peptit pha lỏng hoặc rắn để thu được dung dịch degarelix có độ tinh khiết ít nhất 95%;
- b. Nạp dung dịch degarelix vào cột sắc ký;
- c. Tách rửa degarelix ra khỏi cột bằng axit axetic để tạo ra degarelix được tách rửa;
- d. Đông khô degarelix được tách rửa để thu được được chất degarelix đông khô.

Bước (B3): Phân tách qua việc đông khô-hoàn nguyên trong quy trình đông khô AcOH/nước

Degarelix được tinh chế trong dung dịch thu được sau Bước A được phân tách qua việc đông khô; sản phẩm đông khô thu được được hoà tan ở nồng độ nằm trong khoảng từ 10 đến 20g/l trong 2% axit axetic và được đông khô lại lần nữa để thu được được chất degarelix (1).

Bước (B4): Sấy phun

Degarelix được tinh chế trong dung dịch (EtOH/nước chứa AcOH hoặc ACN/nước chứa AcOH thu được sau Bước A, hoặc như được mô tả trong Bước B1 ngoại trừ để làm đông khô hoặc B2 ngoại trừ để làm đông khô) được phân tách qua việc sấy phun để thu được được chất degarelix (1).

Theo phương án được ưu tiên, dung dịch degarelix được tinh chế như thu được trong bước A được trực tiếp đưa vào quy trình sấy phun. Nồng độ AcOH của dung dịch degarelix trong nước được đem sấy phun được điều chỉnh đến từ 6 đến 40% (thể tích/thể tích), tốt hơn là từ 15 đến 35% (thể tích/thể tích).

Sau khi đã mô tả việc sản xuất được chất, chúng tôi sẽ mô tả việc sản xuất thuốc degarelix. Thuốc degarelix đông khô bao gồm được chất degarelix và manitol, nghĩa là

nó bao gồm (và tốt hơn là gồm có) degarelix, axit axetic, manitol, lượng nước dư và lượng nhỏ tạp chất do quy trình sản xuất, nếu có.

Phương pháp A sản xuất thuốc degarelix

Phương pháp sản xuất A là khía cạnh thứ nhất của sáng chế được nêu trên đây, nghĩa là phương pháp sản xuất thuốc degarelix mà, khi hoàn nguyên với nước để tiêm với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml, thể hiện độ nhớt lên đến 15 mPas, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 12 mPas, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

- a. Tạo ra dược chất degarelix đông khô, tốt hơn là dược chất degarelix (1);
- b. Hoà tan dược chất degarelix đông khô trong nước chứa manitol để thu được hỗn hợp degarelix-manitol trong nước;
- c. Đông khô hỗn hợp degarelix-manitol trong nước để thu được thuốc degarelix.

Theo sáng chế, “khi hoàn nguyên với nước để tiêm với lượng 20mg/ml” là để chỉ các điều kiện đo độ nhớt và không có nghĩa là thuốc có mặt trong dung dịch 20mg/ml. Tốt nhất là, thuốc có mặt ở dạng đông khô, tùy ý kết hợp với chất lỏng hoàn nguyên. Lượng dược ưu tiên/lọ là nằm trong khoảng từ 60 đến 300mg (như 120mg, 80mg và 240mg). Theo cách khác, có thể được tạo ra dưới dạng thuốc đã được hoàn nguyên, với các nồng độ dược ưu tiên nằm trong khoảng từ 2 đến 100mg/ml, tốt hơn là từ 10 đến 70mg/ml (như 40mg/ml, 20mg/ml và 60mg/ml).

Bước b cũng có thể được gọi là bước tạo hỗn hợp. Theo phương án được ưu tiên, việc lọc và nạp vào lọ được thực hiện sau khi tạo hỗn hợp và trước khi đông khô sao cho toàn bộ phương pháp sản xuất A được ưu tiên bao gồm các bước:

- tạo hỗn hợp để thu được thuốc dạng khối không được lọc
- lọc (vô trùng)
- nạp vào lọ
- đông khô/làm khô lạnh.

Tạo hỗn hợp để thu được thuốc dạng khối

Dược chất đưa vào bước tạo hỗn hợp, mà thường được thực hiện như sau:

Để sản xuất thuốc dạng khối không được lọc, dược chất và manitol được hoà tan trong nước (nước tinh khiết; thường là nước Milli-Q) với lượng từ 10 đến 60g/1000g cỡ mẻ. Lượng thông thường là từ 20 đến 50g dược chất (như hàm lượng degarelix dạng bazơ tự do như được xác định bởi HPLC và từ 10 đến 50g manitol/1000g. Lượng thực tế phụ thuộc vào nồng độ cuối cùng của degarelix trong thuốc và thể tích của chất lỏng hoàn nguyên (tốt hơn là, manitol được bổ sung vào sao cho thu được dung dịch đẳng trương có nồng độ osmol là 300mOsm +/- 30mOsm sau khi hoàn nguyên).

Để sản xuất, nước (thường khoảng 80% tổng lượng nước) được bổ sung vào bình tạo hỗn hợp. Manitol được bổ sung vào và hoà tan bằng cách khuấy. Sau đó, dược chất được bổ sung vào dung dịch manitol được khuấy và khối (mẻ) được phối chế được đưa đến khối lượng cuối cùng của nó bằng cách bổ sung nước còn lại. Việc tạo hỗn hợp này được thực hiện theo cách sao cho tránh được việc gia tăng độ nhớt đáng kể. Do đó, tốt hơn là độ nhớt của thuốc dạng khối vẫn nhỏ hơn 5 mPas, tốt hơn là nhỏ hơn 3,2 mPas trong bước tạo hỗn hợp (độ nhớt được xác định sau khi lọc khi hoà tan với lượng 20mg trong 1ml dung dịch manitol 2,5% (khối lượng/thể tích) trong nước). Điều này có thể đạt được bằng cách làm ướt peptit ở tốc độ khuấy cao trong khoảng thời gian tương đối ngắn (đến 30 phút) và sau đó hoà tan peptit ở tốc độ khuấy giảm để tránh việc tạo bọt và kết tụ (thường trong khoảng từ 30 đến 90 phút). Nhiệt độ thường được giữ trong khoảng từ 6 đến 15°C. Tốt hơn là, thiết bị khuấy là thiết bị mà tạo ra việc trộn hỗn loạn mà không cần xoáy trộn.

Lọc

Thuốc dạng khối tốt hơn là sau đó được lọc vô trùng, ví dụ qua hai bộ lọc loại vô trùng được đặt theo dãy, bằng cách điều áp khối được phối chế bằng nitơ.

Nạp

Lọ vô trùng được nạp thuốc dạng khối được lọc và được đóng nút một nửa (vị trí đông khô) trong các điều kiện vô trùng.

Đông khô

Thiết bị đông khô tốt hơn là được khử trùng bằng hơi nước trước khi sử dụng. Lọ được đặt vào giá đỡ của thiết bị đông khô. Tốt hơn là, quy trình đông khô tiếp theo bao gồm các bước làm lạnh, làm khô chính (sự thăng hoa) và làm khô thứ cấp. Các điều kiện được ưu tiên là như sau:

Tốt hơn là, quy trình đông khô bao gồm hoặc thậm chí chỉ bao gồm, ba bước chính, tức là bước làm lạnh, làm khô chính (thăng hoa) và làm khô thứ cấp.

- Bước làm lạnh

Lọ được nạp vào giá làm lạnh được duy trì ở nhiệt độ từ 2 đến 10°C, như 5°C.

Các giá được làm lạnh, ví dụ từ 5°C đến -30 đến -40°C, như -35°C. Nhiệt độ giá được duy trì, ví dụ ở -35°C trong tối thiểu hai giờ để bảo đảm việc làm lạnh hoàn toàn toàn bộ mẻ trước khi bắt đầu bước làm khô chính.

- Bước làm khô chính (thăng hoa)

Bước làm khô chính được thực hiện bằng cách làm giảm áp suất khoang chứa (tốt hơn là đến 0,100mBar hoặc nhỏ hơn) và làm tăng nhiệt độ giá (tốt hơn là từ 10 đến 20°C, như +17°C).

Thời gian làm khô chính xảy ra trong ít nhất 15 giờ.

- Bước làm khô thứ cấp

Sau khi kết thúc quy trình làm khô chính, áp suất khoang chứa được giảm (tốt hơn là đến 0,01mBar hoặc nhỏ hơn) và nhiệt độ giá được gia tăng (tốt hơn là đến từ 20 đến 30°C, như 25°C). Bước làm khô thứ cấp thường được hoàn thành trong vòng 7 giờ.

Sau đó, thuốc đông khô được dán nhãn, đóng gói và kết hợp với lượng thích hợp của chất lỏng hoàn nguyên.

Chất lỏng hoàn nguyên được chọn phụ thuộc vào độ nhớt của dược chất. Nếu dược chất (1) được sử dụng làm vật liệu khởi đầu đối với phương pháp sản xuất A, nghĩa là dược chất đông khô mà thể hiện độ nhớt nhỏ hơn 3,2 mPas, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1,15 đến 2 mPas (khi hoà tan với lượng 20mg trong 1ml dung dịch manitol 2,5% (khối lượng/thể tích) trong nước), thuốc đông khô thu được tốt hơn là được kết hợp với nước để tiêm (water for injection: WFI) làm chất lỏng hoàn nguyên.

Nếu thuốc đông khô được hoàn nguyên với WFI, thì độ nhớt thường nằm trong khoảng từ 2 đến 15 mPas (như được đo khi hoà tan 20mg degarelix (bazơ tự do) trong 1ml WFI). Thuốc có độ nhớt nằm trong khoảng này được phát hiện là tạo ra sự giải phóng đủ chậm của degarelix *in vivo*.

Phương pháp B sản xuất thuốc degarelix

Phương pháp sản xuất B là phương pháp sản xuất thuốc degarelix chứa được chất degarelix đông khô và chất lỏng dùng để hoàn nguyên (chất lỏng hoàn nguyên) mà, khi hoàn nguyên với chất lỏng này với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml, thể hiện độ nhớt lên đến 15 mPas, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 12 mPas, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

- a. hoà tan được chất degarelix đông khô trong dung dịch trong nước chứa manitol để thu được hỗn hợp degarelix-manitol;
- b. đông khô hỗn hợp degarelix-manitol để thu được thuốc degarelix,

trong đó chất làm giảm độ nhớt được bổ sung vào hỗn hợp degarelix-manitol trước khi đông khô.

Bước a cũng có thể được gọi là bước tạo hỗn hợp. Theo phương án được ưu tiên, việc lọc và nạp vào lọ được thực hiện sau khi tạo hỗn hợp và đông khô sao cho toàn bộ phương pháp sản xuất B được ưu tiên bao gồm các bước:

- tạo hỗn hợp để thu được thuốc dạng khối không được lọc
- lọc (vô trùng)
- nạp vào lọ
- đông khô/làm khô lạnh.

Phương pháp sản xuất B là giống với phương pháp sản xuất A, với việc ngoại trừ trong bước tạo hỗn hợp, chất làm giảm độ nhớt, tốt hơn là chất hoạt động bề mặt không ion được bổ sung vào trước khi đông khô. Tốt hơn là, chất hoạt động bề mặt không ion được bổ sung với lượng từ 0,0003 đến 1,5mg/ml vào dung dịch dạng khối, tương ứng với lượng từ 0,001 đến 5mg/ml, tốt hơn nữa là từ 0,1 đến 1mg/ml, trong thuốc được hoàn nguyên (ví dụ khi được hoàn nguyên đến nồng độ degarelix là 60mg degarelix dạng bazơ tự do/ml). Các chất hoạt động bề mặt không ion được ưu tiên là

các chất có chuỗi alkyl mạch thẳng có ít nhất 8 nguyên tử cacbon (tốt hơn là không có các liên kết đôi) và gốc carbohydrat. Được ưu tiên một cách đặc biệt là các chất mà được chấp thuận để tiêm dưới da, như Tween 20 (polysorbat 20). Các chất hoạt động bề mặt không ion thích hợp khác bao gồm tocopheryl-polyetylen-glycol-1000-suxinat (TPGS) và các Tween khác.

Đối với vật liệu khởi đầu dùng cho phương pháp sản xuất B, dược chất (2) tốt hơn là được sử dụng, nghĩa là dược chất đông khô mà thể hiện độ nhớt ít nhất 3,2 mPas (khi hoà tan với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do trong 1ml dung dịch manitol 2,5% khối lượng trong nước). Thông thường, thuốc đông khô được kết hợp với WFI làm chất lỏng hoàn nguyên. Nếu thuốc đông khô được hoàn nguyên với WFI, thì độ nhớt thường nằm trong khoảng từ 2 đến 15 mPas (như được đo khi hoà tan 20mg degarelix dạng bazơ tự do trong 1ml WFI). Thuốc có độ nhớt nằm trong khoảng này được phát hiện là tạo ra dạng giải phóng chậm đủ để giải phóng chậm degarelix *in vivo*.

Phương pháp sản xuất B là được đặc biệt ưu tiên đối với thuốc degarelix mà có nồng độ degarelix tương đối cao khi hoàn nguyên, như 50mg degarelix dạng bazơ tự do/ml hoặc nhiều hơn, ví dụ 60mg degarelix dạng bazơ tự do/ml (thuốc 240mg).

Thuốc degarelix mới

Phương pháp sản xuất B tạo ra thuốc degarelix khác với thuốc đã được biết đến ở chỗ thuốc được hoàn nguyên chứa chất làm giảm độ nhớt. Chất làm giảm độ nhớt là chất được sử dụng trong bước B, tốt hơn là chất hoạt động bề mặt không ion.

Do đó, sáng chế đề xuất thuốc degarelix chứa dược chất degarelix đông khô và chất lỏng để hoàn nguyên mà, khi hoàn nguyên với chất lỏng này với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml, thể hiện độ nhớt lên đến 15 mPas, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 12 mPas, và chứa chất làm giảm độ nhớt với lượng từ 0,001 đến 5mg/ml, tốt hơn nữa là từ 0,1 đến 1mg/ml.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Tinh chế, khử kết tụ và đông khô

Degarelix thô được tổng hợp như được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO2012/055905 A1, đến Bước 12 trong Ví dụ 5. Bước 13 như được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO2012/055905 A1 được thay thế bằng các bước sau đây. Tóm lại, quy trình tinh chế được chất degarelix thô, thu được sau bước khử bảo vệ cuối cùng, gồm có ba bước sắc ký pha đảo điều chế (RPC), trong đó bước RPC thứ ba chủ yếu là bước khử muối.

Bước 13 (bước tinh chế):

Dung dịch degarelix thô từ bước 12 trong công bố đơn quốc tế số WO2012/055905A1 được đưa vào cột được nhồi vật liệu pha đảo, được làm cân bằng sơ bộ bằng chất đệm (90% của 0,12% TFA và 10% EtOH). Nạp: $\leq 30\text{g/l}$ thể tích cột. Cột được rửa và tách rửa bằng gradient: chất đệm (EtOH 29% đến 50% và 0,12% TFA (nước) từ 71% đến 50%). Các phân đoạn thu được được phân tích và được thu gom theo cách sao cho độ tinh khiết của phần gom chính hoàn toàn đáp ứng các tiêu chuẩn kiểm soát quy trình được chấp nhận.

Kiểm tra sản phẩm tách rửa bằng phương pháp HPLC thấy độ tinh khiết $\geq 95\%$.

Bước 14 (bước tinh chế):

Phần gom chính thu được ở bước 13 được pha loãng hai lần bằng nước và được đưa vào cột được nhồi vật liệu pha đảo, được làm cân bằng sơ bộ bằng chất đệm (90% AcOH 1% và 10% EtOH). Nạp: $\leq 25\text{g/l}$ thể tích cột. Cột thứ nhất được rửa bằng chất đệm thứ nhất (10% EtOH và 90% AcONH₄ 0,5mol/l) và sau đó bằng chất đệm thứ hai (90% AcOH 1% và 10% EtOH).

Sau đó, cột được tách rửa bằng hỗn hợp gồm chất đệm và etanol (76% AcOH 1% và 24% EtOH). Các phân đoạn thu được được phân tích và được kết hợp theo cách mà độ tinh khiết trong phần gom chính hoàn toàn đáp ứng các tiêu chuẩn kiểm soát quy trình được chấp nhận.

Kiểm tra sản phẩm tách rửa bằng “phương pháp HPLC” thấy độ tinh khiết $\geq 97,5\%$.

Bước 15 (cô đặc sơ bộ/trao đổi muối):

Phần gom chính thu được ở bước 14 được pha loãng hai lần bằng nước và được đưa vào cột được nhồi vật liệu pha đảo, được làm cân bằng sơ bộ bằng chất đệm (90%

AcOH 1% và 10% EtOH). Nạp: $\leq 18\text{g/l}$ thể tích cột. Cột thứ nhất được rửa bằng chất đệm thứ nhất (10% EtOH và 90% AcONH₄ 0,5mol/l) và sau đó rửa bằng chất đệm thứ hai (90% AcOH 1% và 10% EtOH). Sau đó, cột được tách rửa bằng hỗn hợp gồm chất đệm và etanol (50% AcOH 1% và 50% EtOH).

Theo cách khác, degarelix có thể được tách rửa bằng dung dịch chứa AcOH/MeCN/nước, như 12% AcOH và 22% MeCN trong nước.

Bước 16 (Cô đặc-khử kết tụ-đông khô):

Trước khi đông khô, phần gom chứa dung dịch degarelix tinh khiết từ bước 15 được cô đặc dưới 40°C. Axit axetic trong nước và nước được bổ sung vào dung dịch cô đặc để thu được nồng độ nhỏ hơn 15g/l, và nồng độ axit axetic bằng 30%. Sau đó, dung dịch này được lọc và đông khô để thu được chất degarelix.

Áp suất: $\leq 0,5\text{mbar}$ trong bước làm khô chính và thứ cấp

Nhiệt độ: nhiệt độ làm lạnh cuối cùng: $\leq -30^\circ\text{C}$

nhiệt độ làm khô chính cuối cùng: 20°C

nhiệt độ làm khô thứ cấp cuối cùng: 20°C

Thời gian: 5 ngày

Kết quả

Độ nhớt của dược chất thu được bằng trình tự các bước là nhỏ hơn 2,5 mPas, như được xác định ở nồng độ 20mg/ml trong dung dịch mannitol 2,5% (khối lượng/thể tích) .

Ví dụ 2: Phương pháp đo độ nhớt đối với dược chất và thuốc

Việc xác định độ nhớt của dược chất và dung dịch thuốc được dựa trên phiên bản hiện tại của quy trình Ph. Eur. và USP sử dụng nhớt kế quay được trang bị hệ thống đo tấm-hình nón với $D = 60\text{mm}$ và 1° . Tốc độ dịch chuyển được gia tăng từ 0 đến 500 s^{-1} trong 20 bước, bằng cách sử dụng chương trình bước quay tốc độ kiểm soát (CR) ở nhiệt độ cố định là $20 \pm 0,2^\circ\text{C}$, làm cho hệ thống này đạt đến sự cân bằng nhất định trước khi độ nhớt được ghi chép ở tốc độ dịch chuyển bằng 500s^{-1} .

Ví dụ 3: Phương pháp đo mật độ quang đối với dược chất và thuốc

Thiết bị và vật liệu:

- quang phổ kế tia cực tím
- cuvet truyền ánh sáng tia cực tím, đường truyền 10mm.
- nắp cuvet
- nước dùng để tiêm (được sử dụng cho việc hoàn nguyên thuốc degarelix và trong ngăn tham chiếu).

Hiệu suất phân tích:

Trong quá trình hoàn nguyên và đo, các mẫu được hoàn nguyên phải được giữ ở $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Lọ chứa dược chất được hoàn nguyên với dung dịch nước manitol 2,5% trong nước (khối lượng/thể tích). Lọ chứa thuốc được hoàn nguyên với nước để tiêm. Phân phối dung môi vào lọ và xoáy trộn lọ cho đến khi việc hoàn nguyên hoàn thành hoặc sử dụng thiết bị xoáy trộn trong hai giây. Chất lỏng được nhìn thấy là trong và không có bột hoặc hạt không được hoà tan nào có thể nhìn thấy. Giữ lọ thẳng đứng và không lắc. Mẫu được đo ở 350nm, 120 phút sau khi bổ sung dung môi.

Bốn phút trước khi đo, mẫu phải được làm đồng nhất bằng cách quay nhẹ cuvet năm lần ra phía sau và trước qua khoảng 180° . Độ trễ bốn phút cho phép bọt khí bất kỳ phân tán trước khi đọc.

Sự hấp thụ gây ra bởi cuvet và bởi nước để tiêm phải được trừ ra khỏi số liệu đọc mẫu.

Ví dụ 4: Sấy phun

Điều chế nguyên liệu

Trong việc điều chế nguyên liệu, lượng degarelix đã xác định khối lượng, được thể hiện trong bảng dưới đây, được hoà tan bằng cách sử dụng thiết bị khuấy từ tính. Các dung dịch nguyên liệu khác nhau, W-VI và AI-IV được tạo ra bằng việc bổ sung nước Milli-Q hoặc axit axetic băng tinh khiết (99,9%) theo cách sau đây:

a. Mê W-IV: thể tích thích hợp của nước được bổ sung vào lượng degarelix đã xác định khối lượng.

b. Mê từ A-I đến A-III: đối với mỗi thử nghiệm, dung dịch axit axetic được tạo ra bằng cách pha loãng 99,0% axit axetic bằng với nước Milli-Q dẫn đến dung dịch 30, 5, 2 phần trăm, mà được bổ sung lượng degarelix đã xác định khối lượng.

Trước khi tất cả trong số các bước sấy phun thực hiện, peptit được hoàn nguyên được lọc vào bình đo qua bộ lọc Sartorius Ministar 0,20µm trước khi sấy phun.

Sấy phun

Trước khi sấy phun, nhiệt độ lối vào và tốc độ nạp nguyên liệu được điều chỉnh. Hệ thống ống bơm được bố trí trong dung dịch nguyên liệu và việc sấy được bắt đầu. Khi công đoạn sấy hoàn thành, nhiệt độ lối vào được cho phép giảm đến 700°C trước khi xyclon và bình gom được tháo dỡ để gom bột. Bột được gom bằng chổi vào đĩa Petri, đĩa này được cân trước và sau khi gom để xác định hiệu suất.

Mô tả chung về việc các thông số cài đặt được áp dụng để sấy phun

Thông số				
	W-IV	A-I	A-II	A-III
Nhiệt độ lối vào, °C	120	120	120	120
Nhiệt độ lối ra, °C	85	85	85	85
Phun dòng không khí, L/giờ	600	600	600	600
Tốc độ nạp nguyên liệu lỏng, ml/phút.	3	3	3	3
Tốc độ hút,	30	30	30	30

m ³ /giờ				
Dung môi	nước	30% AcOH trong nước	5% AcOH trong nước	2% AcOH trong nước
Thể tích dung dịch, ml	25	25	25	25
Lượng degarelix	1	1	1	1
Nồng độ nguyên liệu, %	4	4	4	4

Độ nhớt của degarelix được hoàn nguyên được sấy phun từ dung dịch axit axetic có bốn nồng độ khác nhau (từ A-I đến A-III) được so với một mẻ degarelix được sấy phun từ nước (W-IV)

Mẻ số	W-IV	A-I	A-II	A-III
Độ nhớt, mPas*S	2,40	1,68	2,11	2,10

Ví dụ 5: Cô đặc cột – đông khô

Phần gom từ bước 14 của Ví dụ 1 được pha loãng bằng nước và được đưa vào cột được nhồi vật liệu pha đảo. Sau khi rửa nhẹ cột bằng 1% AcOH trong nước, degarelix được tách rửa bằng 35% AcOH trong nước. Các phân đoạn được điều chỉnh để chứa 35g degarelix/l, 27% AcOH (mẫu 1) và 15g degarelix/l, 30% AcOH (mẫu 2). Các phân đoạn được điều chỉnh được làm đông khô và phân tích. Kết quả: xem bảng dưới đây:

Phân tích đối với dược chất	Mẫu 1	Mẫu 2
Nước (khối lượng/khối lượng)	2,1%	2,5%

AcOH còn lại (khối lượng)	7,2%	7,0%
OD 20mg/ml (15 phút/6 giờ)	<0,02 AU/0,02 AU	<0,02 AU/0,02 AU
Độ nhớt 20mg/ml	1,88mPas	1,94mPas

Ví dụ 6: Sản xuất dược chất degarelix và thử nghiệm khử kết tụ

○ Vật liệu

Các thử nghiệm khử kết tụ của dược chất thô được tinh chế:

- Degarelix thô được tinh chế được cung cấp ở nồng độ 57,4mg/ml
- Axit axetic 100% được cung cấp bởi Merck
- Thiết bị khử kết tụ:
 - Bình tạo hỗn hợp: bình thủy tinh có thành kép dung tích 300ml
 - Chai nắp xanh, dung tích 50 hoặc 100ml
 - Nam châm
 - Thiết bị khuấy từ tĩnh
- Đóng gói chính:
 - Lọ thủy tinh không màu 20R. Lọ được rửa và làm khô trong khoang gia nhiệt.
 - Nút đông khô 20mm loại I theo Ph. Eur / USP 20mm nút nhôm gắn nhựa

Sản xuất thuốc sử dụng dược chất được khử kết tụ:

- Hai dược chất thử nghiệm được sử dụng. Làm đối chứng, dược chất thương mại được sử dụng.
- Manitol: D (-) manitol (PF-05-0232)
- Đóng gói chính:
 - Lọ thủy tinh không màu 10R (theo DIN ISO 8362). Lọ được rửa và làm khô trong khoang gia nhiệt.

- Nút đông khô 20mm loại I theo Ph. Eur / USP (loại 1319, cao su W4416/50/màu xám, The West Company)
- Nút nhôm gắn nhựa 20mm (The West Company)

o Phương pháp

Các thử nghiệm khử kết tụ sử dụng dung dịch gốc chứa được chất

Nhiệt độ trong các thử nghiệm:

Trong các thử nghiệm khử kết tụ, nhiệt độ được đặt là 5, 20, 25 hoặc 35°C.

Nồng độ của dược chất degarelix trong dung dịch gốc trong các thử nghiệm:

Nồng độ của dược chất degarelix bằng 5, 15, 25 hoặc 35mg/ml.

Nồng độ của axit axetic trong các thử nghiệm:

Nồng độ của axit axetic bằng 13, 15, 18, 20, 22, 26, 30, 35 hoặc 40%.

Phương pháp phân tích được thực hiện trong các thử nghiệm:

Độ nhớt: khoảng 1,2ml ở T = 1, 60, 120 và 240 phút.

Nếu việc lấy mẫu ở thời điểm khác nhau là phù hợp hơn với lịch trình, thì việc này có thể được thực hiện với điều kiện thời gian đúng được viết vào hồ sơ phối chế. Tuy nhiên, điểm lấy mẫu ở T=1 phút sẽ được giữ nguyên.

Mật độ quang (OD): mẫu (khoảng 1ml) sẽ được lấy khi kết thúc mỗi thử nghiệm để đo mật độ quang cuối cùng.

Phương thức thử nghiệm khử kết tụ, tổng thể tích 20 hoặc 69ml:

1. Cân lượng dung dịch gốc cần thiết vào cốc. Làm cân bằng đến nhiệt độ mong muốn
2. Cân lượng axit axetic (100%) cần thiết vào cốc
3. Trộn axit axetic (100%) với 3 hoặc 10ml nước milli-Q và làm cân bằng đến nhiệt độ mong muốn
4. Trộn dung dịch gốc chứa degarelix với dung dịch axit axetic/nước milli-Q
5. Nạp nước milli-Q đến 20 hoặc 69ml
6. Trộn kỹ

7. Lấy mẫu để đo độ nhớt và mật độ quang như được mô tả trên đây. Cần lưu ý hình thức bên ngoài của dung dịch trong quá trình thử nghiệm.

Các thông số cài đặt đối với việc khử kết tụ của hai dung dịch gốc dung tích 69ml chứa degarelix:

Nồng độ dược chất degarelix 25mg/ml trong cả hai thử nghiệm

Axit axetic: 10% hoặc 13%

Nhiệt độ: 5°C

Nạp hai dược chất được khử kết tụ thử nghiệm (69ml) vào các lọ và làm đông khô:

Dung dịch được khử kết tụ được nạp ngay vào lọ 20R. 5ml được nạp vào mỗi lọ. Lọ và khối dung dịch sẽ được giữ lạnh trong quá trình nạp (tốt hơn là từ 5 đến 10°C). Ngay sau khi các lọ được nạp, chúng được đem đi làm đông khô và chương trình được bắt đầu.

Sau khi đông khô và đóng kín lọ, lọ được bảo quản trong thiết bị đông khô ở 5°C cho đến khi tháo dỡ.

Hai dược chất được đông khô được đem đi thực hiện các phân tích sau đây:

Độ nhớt được đo đối với các mẫu 20mg/ml bazơ tự do

Mật độ quang được đo đối với các mẫu 20mg/ml

Hàm lượng degarelix

Hàm lượng axetat

○ Kết quả

Nhiệt độ (°C)	Nồng độ degarelix mg/ml	Nồng độ AcOH (%)	Độ nhớt ở 500mPa*s Thời gian = 240 phút	Mật độ quang Thời gian = 240 phút
5	5	40	1,9	0,00
5	25	13	2,3	0,10

5	25	15	1,9	0,09
5	25	20	1,7	0,06
5	35	26	1,9	0,08
20	15	30	1,8	0,03
25	25	20	2,0	0,10
35	25	15	7,2	0,86
35	25	18	2,1	0,07
35	25	20	1,7	0,05
35	35	22	2,1	0,13
35	35	26	1,9	0,10
35	35	30	2,0	0,07
35	35	35	2,1	0,08

Ví dụ 7: Sản xuất được chất mà không cần chất làm giảm độ nhớt

Tạo hỗn hợp các mẻ thuốc trên quy mô phòng thí nghiệm sử dụng hai dược chất được khử kết tụ

Các tá dược được liệt kê dưới đây trong bảng 1 được sử dụng trong tất cả các thử nghiệm tạo hỗn hợp.

Tá dược

Manitol

Nước Milli-Q

Thiết bị tạo hỗn hợp:

Bình tạo hỗn hợp: bình thủy tinh có thành kép dung tích 300ml

Chai nắp xanh, dung tích 100ml

Nam châm

Thiết bị khuấy từ tĩnh

Đóng gói chính:

- Lọ thủy tinh không màu 10R. Các lọ được rửa và được làm khô trong khoang gia nhiệt.
- Nút đông khô 20mm loại I
- Nút nhôm gắn nhựa 20mm

Mô tả thử nghiệm

Dung dịch dạng khối chứa degarelix chứa 20mg/g degarelix và 25mg/g manitol được tạo hỗn hợp bằng việc sử dụng các mẻ dược chất khác nhau và các thông số nhiệt độ khác nhau.

Độ nhớt của dung dịch dạng khối được đo trong quá trình/sau khi tạo hỗn hợp đối với hai trường hợp (sau khi hoà tan và ở $t = 120$ phút).

Chế phẩm dạng khối:

Cỡ mẻ và chế phẩm chứa hai dung dịch dạng khối được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1: kích cỡ mẻ và chế phẩm chứa dung dịch dạng khối

Cỡ mẻ (g)	50
Dược chất (g)	1,000g/hàm lượng dược chất degarelix dạng bazơ tự do
Manitol (g)	1,25
Nước Milli-Q – Tổng số (g)	vừa đủ 50

Thiết kế thử nghiệm:

Các thông số tạo hỗn hợp được đưa ra dưới đây trong bảng 2.

Bảng 2: Các thông số tạo hỗn hợp

Thời gian	Thông số
Dược chất	Mê dược chất thử nghiệm
Nhiệt độ	15°C
Tốc độ khuấy	50 vòng/phút
Nước, thể tích ban đầu	80%

Tạo hỗn hợp:

Việc tạo hỗn hợp được thực hiện bằng thiết bị khuấy được định vị ở tâm. Trước khi bắt đầu thử nghiệm, vị trí tâm sẽ được cố định.

1. Cân các thành phần cần thiết:

- 40g nước Milli-Q vào bình tạo hỗn hợp.
- 1,25g manitol vào vật chứa thích hợp.
- cân lượng chính xác của dược chất degarelix (xem bảng 2) vào vật chứa thích hợp.
- cân lượng còn lại của nước Milli-Q vào vật chứa thích hợp.

2. Nối bình tạo hỗn hợp có thành kép chứa nước Milli-Q vào thiết bị tuần hoàn làm mát. Nối bình có thành kép thứ hai theo dây. Vật chứa chứa nước còn lại được đặt vào bình có thành kép thứ hai theo thứ tự mà nó sẽ cân bằng với nhiệt độ chính xác trước khi được bổ sung vào khối (bước 9).

3. Đặt một cách cẩn thận nam châm khuấy vào bình tạo hỗn hợp. Thiết lập tốc độ khuấy đến 50 vòng/phút sử dụng máy đo tốc độ.

4. Thiết lập thiết bị làm mát đến nhiệt độ đúng, bắt đầu khuấy và bổ sung manitol vào bình tạo hỗn hợp. Khuấy cho đến khi manitol được hoà tan.

5. Cho phép hệ thống cân bằng đến nhiệt độ được thiết lập.

6. Đo nhiệt độ trong dung dịch manitol.
7. Loại bỏ thiết bị khuấy. Khởi động thiết bị đo giờ và bổ sung ngay được chất vào. Sau đó, lại lồng vào thiết bị khuấy.
8. Ở $t = 5$ phút, thêm phần còn lại của nước Milli-Q vào, ngang bằng qua bề mặt được chất sử dụng pipet Pasteur thuỷ tinh.
9. Khi chỉ một vài mẫu còn lại, rửa được chất từ các phía bình chứa bằng môi trường hoà tan.
10. Khi được chất được hoà tan một cách hoàn toàn thì ghi lại thời gian và đo nhiệt độ. Lấy mẫu để đo độ nhớt của khối.
11. Tiếp tục thử nghiệm cho đến khi $t = 120$ phút. Lấy mẫu để đo độ nhớt của khối.

Lọc

Các khối sẽ không được lọc bởi vì cho rằng ít nhất một trong số các mẻ sẽ bị kết tụ ở mức cao và do đó rất khó để lọc. Ngoài ra, các mẻ sẽ không được sử dụng với mục đích mà đòi hỏi sự vô trùng.

Nạp

Nạp 6,40g khối vào các lọ 10R. Các lọ và khối sẽ được giữ lạnh trong quá trình nạp (tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5 đến 10°C). Ngay sau khi lọ được nạp thì chúng sẽ được đem làm đông khô và chương trình sẽ được bắt đầu. Mỗi khối sẽ tương ứng với khoảng từ 6 đến 7 lọ.

○ Kết quả

18 mẻ được chất khác nhau, với các độ nhớt khác nhau như được nêu trong bảng dưới đây, được xử lý như được mô tả trên đây. Độ nhớt của các thuốc tương ứng được xác định như sau:

Mẻ	Độ nhớt DS (20mg/ml) mPas	Độ nhớt DP (20 mg/ml) mPas
1	2,3	5,8

2	2,3	7,81
3	2,1	4,75
4	2,3	8,62
5	2,1	7,85
6	2,1	7,09
7	2,3	7,76
8	2,1	7,69
9	2,1	7,96
10	2,3	8,1
11	1,8	7,82
12	1,7	4,14
13	2,3	8,46
14	2,3	9,57
15	2,3	10,96
16	2,3	8,47
17	2,5	8,05
18	2,5	10,4

Các kết quả này được minh hoạ bằng đồ thị trên Fig.1. Fig.1 thể hiện mối tương quan giữa độ nhớt dược chất và độ nhớt thuốc.

Ví dụ 8: Sản xuất sản thuốc với chất làm giảm độ nhớt

Thử nghiệm 1: Chất hoạt động bề mặt được thử nghiệm (hoàn nguyên bằng cách sử dụng dung dịch WFI/chất hoạt động bề mặt)

Quy trình:

- Mê degarelix được hoàn nguyên bằng cách sử dụng WFI (làm đối chứng) và sử dụng WFI chứa chất hoạt động bề mặt. Các lọ được hoàn nguyên đến 60mg/ml degarelix. Mê thuốc được sử dụng đối với các thử nghiệm này có độ nhớt khối khoảng 3,8mPas.
- TPGS và Tween 20 được tạo thành các dung dịch chứa 1mg/ml (dung dịch 0,1%)
- OD (độ hấp thụ) được đo ở 350nm
- Độ hấp thụ được ghi lại sau 30 phút, 60 phút, 120 phút và 24 giờ

Kết quả:

TPCG và Tween 20 làm giảm mật độ quang đến mức nhỏ hơn đối chứng.

Thử nghiệm 2: Sự hoàn nguyên của lọ chứa degarelix với [WFI + Tween 20] không làm thay đổi biên dạng giải phóng in-vitro (thử nghiệm IVD) ở nồng độ degarelix 40mg/ml

Nồng độ Tween 20 được thử nghiệm:

1mg/ml; 0,5mg/ml; 0,25mg/ml;

Đối chứng: WFI

Kết quả: biên dạng giải phóng *in-vitro* là không bị thay đổi bằng việc bổ sung Tween-20.

Ví dụ 9: Độ nhớt của thuốc và sinh khả dụng

Tóm tắt

Phương pháp phân tích dữ liệu đa đại lượng ngẫu nhiên được thực hiện với bộ dữ liệu từ 38 mê (n=38) thuốc degarelix, bao gồm dữ liệu được động học *in vivo* (mô hình chuột).

Mối quan hệ giữa các đặc tính vật lý-hoá học và được động học *in vivo* ở mô hình chuột được thiết lập. Thử nghiệm này cho biết rằng độ nhớt của thuốc degarelix được hoàn nguyên thể hiện là chiếm ưu thế và là thông số duy nhất có khả năng nhất định dự đoán hiệu suất *in vivo* của dạng giải phóng chậm.

o Giới thiệu

Thuốc degarelix được sản xuất dưới dạng sản phẩm được đông khô chứa manitol. Các sản phẩm này được sử dụng làm các sản phẩm thuốc nghiên cứu trong các thử nghiệm lâm sàng. Một vài chế phẩm được tạo ra, chứa các lượng khác nhau của degarelix/lọ, cụ thể là 10mg, 20mg, 40mg, 88mg, 128mg, 120mg (40mg/ml), 180mg (60mg/ml) và 240mg (60mg/ml) và các tỷ lệ degarelix/mannitol khác nhau.

o Vật liệu

Khoảng 40 mê degarelix khác nhau đã được tạo ra với các mê được chất degarelix và chế phẩm khác nhau. Nồng độ degarelix tiêu chuẩn trong khối bằng 20g/l trừ phi được quy định khác.

o Phương pháp

▪ Phương pháp vật lý-hoá học

Các phương pháp khác nhau để mô tả đặc điểm kết tụ được chọn từ phép phân tích dữ liệu đa đại lượng ngẫu nhiên. Các dữ liệu từ 38 mê được tập hợp. Tuy nhiên, tập hợp nhỏ hơn được sử dụng đối với một số phương pháp mà chỉ được thực hiện với một số chế phẩm (ví dụ các phép đo ở 40mg/ml không được thực hiện với chế phẩm 20mg).

▪ Thử nghiệm sinh học ở chuột

Sử dụng thử nghiệm ở chuột được tiêu chuẩn hoá bao gồm biên dạng được động học của degarelix trong 28 ngày như dưới đây. Để tránh các tác dụng phụ cục bộ, chuột được cho dùng degarelix dưới dạng huyền phù 20mg/ml với thể tích tiêm 100µl.

Các nhóm gồm $n=8$ con chuột được sử dụng, tất cả được điều trị bằng huyền phù được hoàn nguyên thu được từ một lọ đơn lẻ. Nồng độ trong huyết tương được đo ban đầu ở 2 giờ, 1 ngày, 7 ngày và 28 ngày và AUC riêng phần được tính dưới dạng AUC từ 0 đến 7 ngày và AUC từ 7 đến 28 ngày. Sau đó, việc thiết kế được thay đổi với việc đo nồng độ của huyết tương (Cp)-2 giờ được bỏ qua và được thay thế bằng Cp-3 ngày. Tương tự, AUC từ 0 đến 7 ngày được thay thế bằng AUC từ 1 đến 7 ngày. Điều này giải thích tính không liên tục về kích cỡ tập hợp của một số trong số các tham biến *in vivo*.

- Phân tích dữ liệu đa đại lượng ngẫu nhiên

Với kích cỡ của bộ dữ liệu nhất định, phương pháp theo phép phân tích dữ liệu đa đại lượng ngẫu nhiên (PCA và PLS) với Simca-P, phần mềm phiên bản 10 (Umetrics AB, SE-Umeå) được thực hiện. Các dữ liệu được xử lý như trên đây, bao gồm tạo thang phong bế mềm (1/4 nghiệm), tạo thang với tham biến đơn vị (UV) và định tâm. Các dữ liệu hỗn tạp được biến đổi log để cải thiện sự phân bố dữ liệu. Dữ liệu Cp *in vivo* cũng được biến đổi log để làm ổn định tham biến.

Mối quan hệ giữa tính chất vật lý-hoá học của thuốc và khả năng *in vivo* ở mô hình chuột

- Mối quan hệ giữa tính chất vật lý-hoá học và khả năng *in vivo*

Mô hình thứ nhất được tính toán dựa trên hai thành phần. Mức phù hợp ($R^2=0,58$) là tương đối thấp đưa ra khả năng biến thiên ở mức cao của dữ liệu sinh học (từ 20 đến 30%), nhưng mức dự đoán ($Q^2=0,35$) là thoả mãn (R^2-Q^2 sẽ nằm trong khoảng từ 0,2 đến 0,3). Có thể nhìn thấy dựa vào đồ thị phân tán tải nạp (không được thể hiện) rằng các tham biến như dữ liệu hỗn tạp được đo ở hàm lượng 20mg/ml và axetat không có ảnh hưởng.

Do đó, mô hình mới được tạo ra ngoại trừ 3 tham biến (2 tham biến hỗn tạp được đo ở 20mg/ml và axetat), dựa vào hai thành phần đáng kể và thu được phần mô tả dữ liệu tương tự ($R^2=0,53$) nhưng khả năng dự đoán được cải thiện ($Q^2=0,42$). Các tham biến của chuột được giải thích và được dự đoán là các nồng độ trong huyết tương ở 3 ngày và 28 ngày (Cp-3d, Cp-28d), và diện tích dưới đường cong giữa ngày 1 và ngày 7 (AUC từ 1 đến 7 ngày).

Đồ thị tổng thể về hệ số thể hiện rằng tác động lớn hơn là do dữ liệu độ nhót lần lượt ở 20mg/ml và sau đó ở 40mg/ml, tất cả mức ý nghĩa ở độ tin cậy bằng 0,95 đối với tất cả các tham biến sinh học. Diện tích bề mặt đặc hiệu và dữ liệu hỗn tạp rõ ràng là ảnh hưởng ít hơn và là không đáng kể, thậm chí ở độ tin cậy bằng 0,90.

Mối quan hệ giữa độ nhót động học được đo ở 20mg/ml và các tham biến sinh học thích hợp nhất được thể hiện trong các hình vẽ Fig.2 và 3.

- Kết luận

Mối quan hệ chặt chẽ ($R^2=0,53$) được thiết lập giữa độ nhót của sản phẩm được hoàn nguyên và khả năng *in vivo* như được thử nghiệm trong mô hình chuột. Trong cả hai trường hợp, độ nhót cao hơn tạo ra sự giải phóng giảm ra khỏi dạng giải phóng chậm. Các tham biến vật lý-hóa học khác là không có liên quan ngoại trừ hàm lượng axetat để hoà tan *in vitro*.

Do đó, độ nhót của sản phẩm chứa degarelix được hoàn nguyên thể hiện là tham số chiếm ưu thế có khả năng nhất định dự đoán sự giải phóng *in vitro* và khả năng của dạng giải phóng chậm *in vivo*.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược chất degarelix đông khô chứa degarelix, axit axetic với lượng nằm trong khoảng từ 4,5 đến 10,0% (khối lượng/khối lượng), lượng nước dư, và tạp chất do quy trình sản xuất, nếu có, dược chất này, khi hoà tan trong nước với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml nước chứa 2,5% khối lượng manitol, thể hiện độ nhớt lên đến 3,2 mPas.
2. Dược chất degarelix đông khô theo điểm 1, mà khi hoà tan trong nước với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml nước chứa 2,5% khối lượng manitol, thể hiện độ nhớt nằm trong khoảng từ 1,15 đến 2,0 mPas.
3. Dược chất degarelix đông khô theo điểm 1 hoặc 2, trong đó dược chất này có hàm lượng nước bằng hoặc nhỏ hơn 10% (khối lượng/khối lượng).
4. Phương pháp sản xuất dược chất degarelix theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:
 - a. tinh chế degarelix thu được bằng quy trình tổng hợp peptit pha lỏng hoặc rắn để thu được dung dịch degarelix có độ tinh khiết ít nhất 95%;
 - b. làm bay hơi dung môi để cô đặc dung dịch degarelix để thu được degarelix dạng kết tụ;
 - c. khử kết tụ degarelix dạng kết tụ bằng axit axetic; và
 - d. đông khô degarelix được khử kết tụ để thu được dược chất degarelix.
5. Phương pháp theo điểm 4, trong đó nồng độ axit axetic khi kết thúc bước c nằm trong khoảng từ 15 đến 35% (thể tích/thể tích).
6. Phương pháp theo điểm 4 hoặc 5, trong đó nhiệt độ ở bước c nằm trong khoảng từ -5 đến 30°C.
7. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 4 đến 6, trong đó nồng độ degarelix (bazơ tự do) nằm trong khoảng từ 10 đến 35g/l.
8. Phương pháp sản xuất dược chất degarelix theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:
 - a. tinh chế degarelix thu được bằng quy trình tổng hợp peptit pha lỏng hoặc rắn để thu được dung dịch degarelix có độ tinh khiết ít nhất 95%;

- b. nạp dung dịch degarelix vào cột sắc ký;
 - c. tách rửa degarelix ra khỏi cột bằng axit axetic để thu được degarelix được tách rửa; và
 - d. đông khô degarelix được tách rửa để thu được được chất degarelix.
9. Phương pháp theo điểm 8, trong đó nồng độ axit axetic ở bước c nằm trong khoảng từ 27 đến 37% khối lượng.
10. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 8 đến 9, trong đó degarelix được tách rửa được lọc trước khi đông khô.
11. Phương pháp sản xuất được chất degarelix theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:
- a. tinh chế degarelix thu được bằng quy trình tổng hợp peptit pha lỏng hoặc rắn để thu được dung dịch degarelix có độ tinh khiết ít nhất 95%;
 - b. điều chỉnh nồng độ axit axetic của dung dịch degarelix được tinh chế nằm trong khoảng từ 6 đến 40% (khối lượng/khối lượng), nếu cần;
 - c. sấy phun dung dịch degarelix để thu được được chất degarelix.
12. Phương pháp sản xuất thuốc degarelix chứa được chất degarelix và manitol mà, khi hoàn nguyên với nước để tiêm với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml, thể hiện độ nhớt lên đến 15 mPas, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:
- a. tạo ra được chất degarelix đông khô theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3;
 - b. hoà tan được chất degarelix đông khô trong nước chứa manitol để thu được hỗn hợp degarelix-manitol trong nước chứa 10g đến 60g degarelix và 10g đến 60g manitol trên 1000g nước; và
 - c. làm đông khô hỗn hợp degarelix-manitol trong nước để thu được thuốc degarelix.
13. Phương pháp theo điểm 12, trong đó thuốc degarelix thể hiện, khi hoàn nguyên với nước để tiêm với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml, độ nhớt nằm trong khoảng từ 2 đến 12 mPas.

14. Phương pháp theo điểm 12, trong đó bước hoà tan được thực hiện sao cho độ nhớt của hỗn hợp degarelix-manitol trong nước được giữ ở 3,2 mPas hoặc nhỏ hơn.

15. Phương pháp kiểm soát độ nhớt của thuốc degarelix đông khô không lớn hơn 15 mPas, như được xác định khi hoàn nguyên với nước để tiêm với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

- a. tạo ra dược chất degarelix đông khô theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3;
- b. hoà tan dược chất degarelix đông khô trong nước chứa manitol để thu được hỗn hợp degarelix-manitol trong nước chứa 10g đến 60g degarelix và 10g đến 60g manitol trên 1000g nước; và
- c. làm đông khô hỗn hợp degarelix-manitol trong nước để thu được thuốc degarelix.

16. Phương pháp theo điểm 15, trong đó phương pháp này kiểm soát độ nhớt của thuốc degarelix đông khô nằm trong khoảng từ 2 đến 12 mPas.

17. Phương pháp sản xuất thuốc degarelix gồm dược chất degarelix đông khô, chứa dược chất degarelix và manitol, và chất lỏng để hoàn nguyên mà, khi hoàn nguyên với chất lỏng này với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml, thể hiện độ nhớt lên đến 15 mPas, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

- a. hoà tan dược chất degarelix đông khô trong dung dịch nước chứa manitol để thu được hỗn hợp degarelix-manitol;
- b. làm đông khô hỗn hợp degarelix-manitol để thu được thuốc degarelix, trong đó chất hoạt động bề mặt không ion được bổ sung vào hỗn hợp degarelix-manitol trước khi làm đông khô.

18. Phương pháp theo điểm 17, trong đó thuốc degarelix chứa dược chất degarelix thể hiện, khi hoàn nguyên với chất lỏng với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml, độ nhớt nằm trong khoảng từ 2 đến 12 mPas.

19. Phương pháp theo điểm 17, trong đó chất hoạt động bề mặt không ion là polysorbat 20 hoặc tocopheryl-polyetylen-glycol-1000-suxinat.

20. Phương pháp theo điểm 17 hoặc 19, trong đó chất hoạt động bề mặt không ion được sử dụng với lượng sao cho nồng độ của nó trong thuốc được hoàn nguyên nằm trong khoảng từ 0,1 đến 5 mg/ml.
21. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 17 đến 20, trong đó dược chất degarelix đông khô, khi hoà tan với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml trong nước chứa manitol (2,5% khối lượng), thể hiện độ nhớt lớn hơn 3,2 mPas.
22. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 12 đến 21, trong đó bước hoà tan được tiếp theo bằng bước lọc và bước nạp trước bước đông khô.
23. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 12 đến 22, trong đó bước đông khô bao gồm bước thăng hoa dưới nhiệt độ sụt giảm.
24. Thuốc degarelix chứa dược chất degarelix đông khô và chất lỏng để hoàn nguyên mà, khi hoàn nguyên với chất lỏng này với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml, thể hiện độ nhớt lên đến 15 mPas, và chứa chất hoạt động bề mặt không ion với lượng nằm trong khoảng từ 0,001 đến 5 mg/ml.
25. Thuốc degarelix chứa dược chất degarelix theo điểm 24, trong đó thuốc này thể hiện, khi hoàn nguyên với chất lỏng với lượng 20mg degarelix dạng bazơ tự do/ml, độ nhớt nằm trong khoảng từ 2 đến 12 mPas.

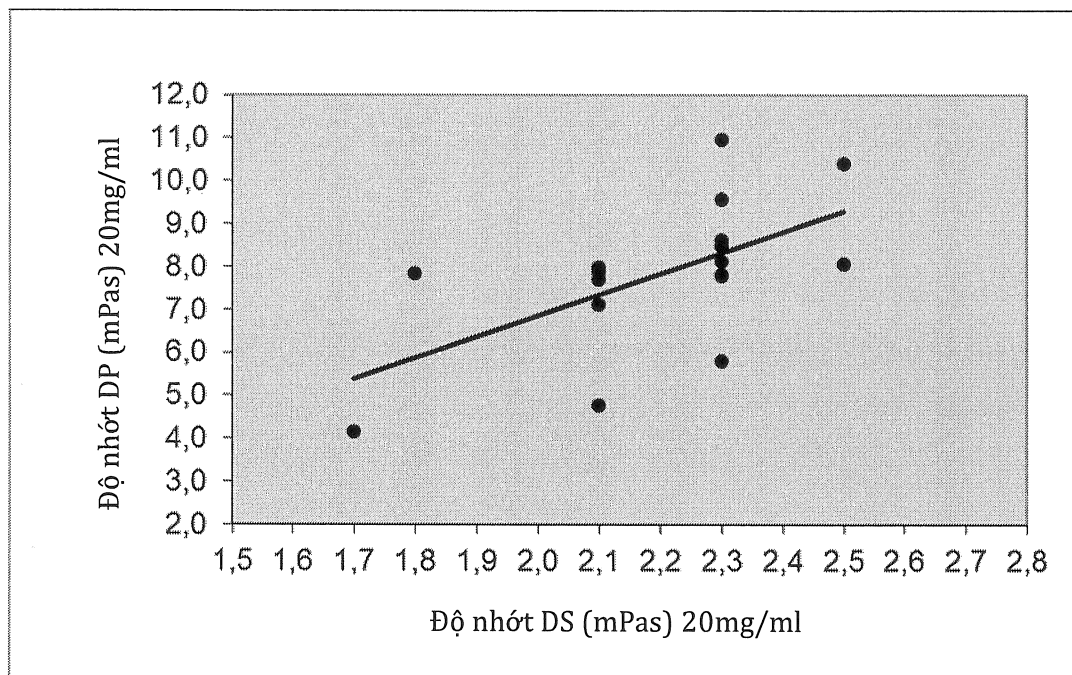


Fig. 1

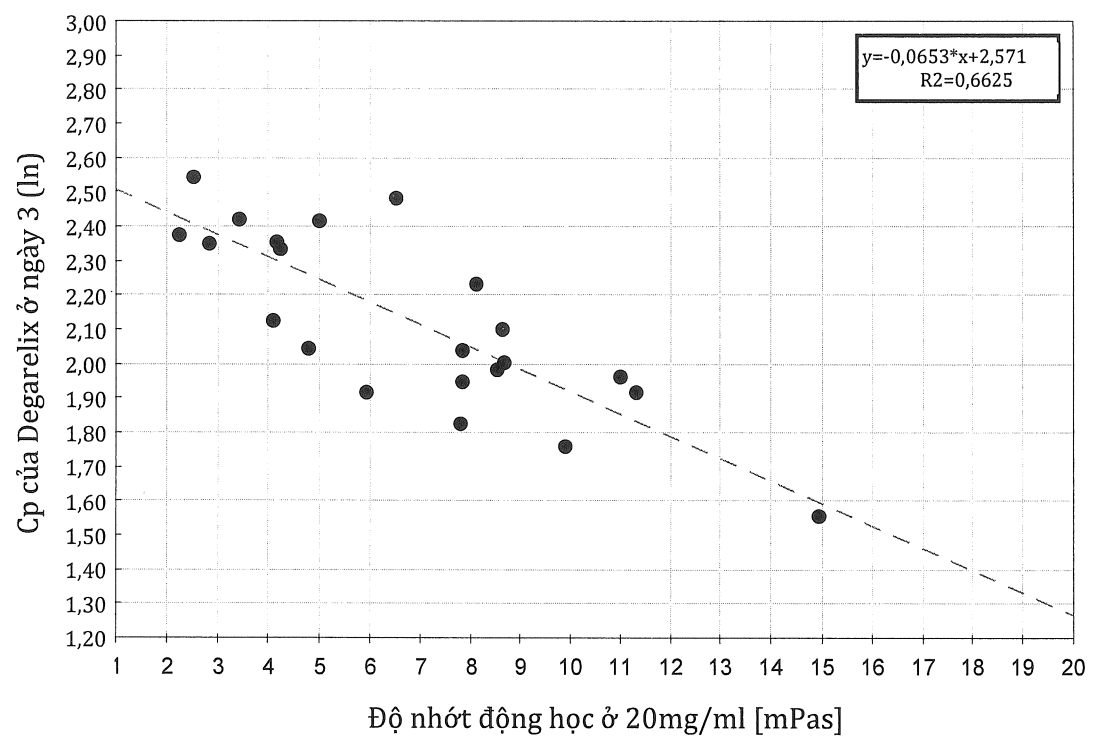


Fig. 2

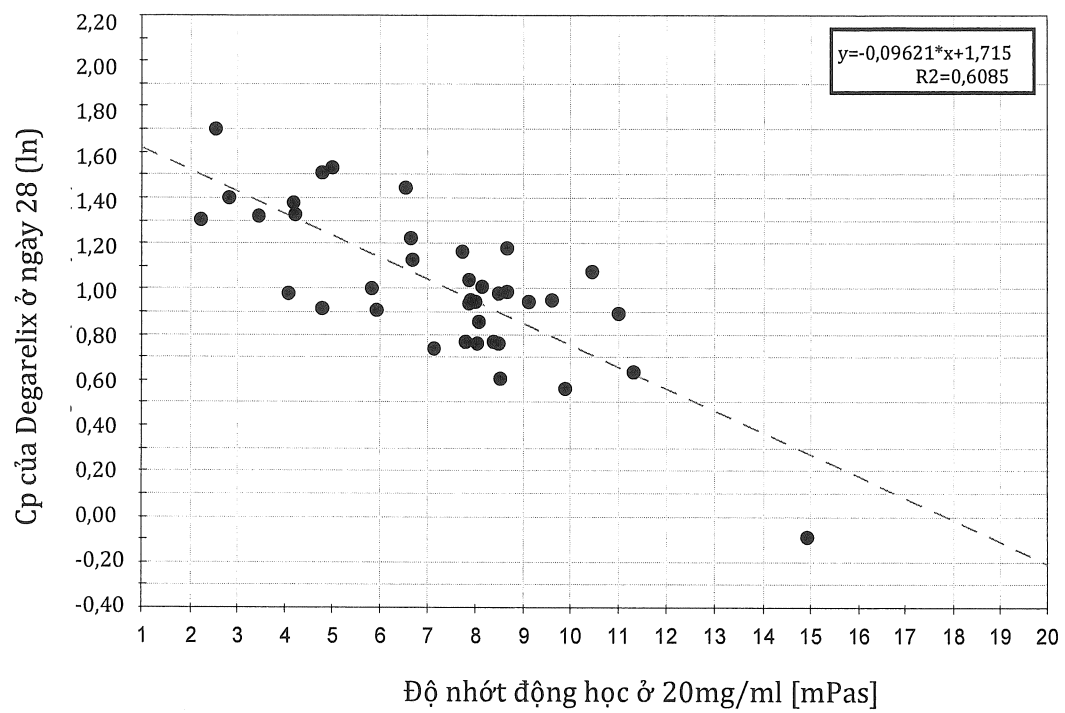


Fig. 3