



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

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0035312

(51)⁷ A61K 31/519; A61P 35/00; A61K 9/127 (13) B

- (21) 1-2019-02653 (22) 27/10/2017
(86) PCT/EP2017/077538 27/10/2017 (87) WO2018/078064 03/05/2018
(30) 16306415.7 28/10/2016 EP
(45) 25/04/2023 421 (43) 25/07/2019 376A
(73) 1. LES LABORATOIRES SERVIER (FR)
35 rue de Verdun, 92284 Suresnes, France
2. NOVARTIS AG (CH)
Lichtstrasse 35, 4056 Basel, Switzerland
(72) WESSELS, Peter (DE); TIEMESSEN, Henricus (NL); DE MARCO, Paolo (IT);
LARABI, Malika (FR); SCHIEDEL, Christiane (DE); GURINA, Marina (IL).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) CHẾ PHẨM CÔ ĐẶC HỮU CƠ, DƯỢC PHẨM CHỨA CHẾ PHẨM CÔ ĐẶC HỮU CƠ VÀ DƯỢC PHẨM LIPOSOM

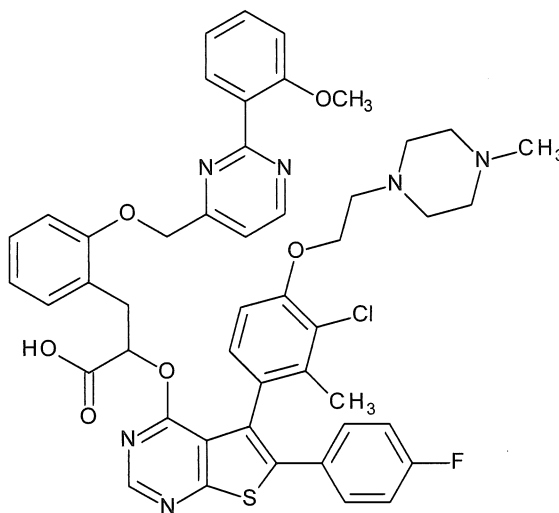
(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm liposom chứa axit 2- $\{[5-\{3\text{-clo-2-metyl-4-[2-(4\text{-metylpiperazin-1-yl)etoxy}]phenyl\}-6-(4\text{-flophenyl})thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy\}-3-(2-\{[2-(2\text{-metoxyphenyl})pyrimidin-4-yl]metoxy\}phenyl)propanoic}$, ở đây được gọi là ‘hợp chất A’, hoặc muối dược dụng của nó. Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến thể mang liposom, chế phẩm cô đặc hữu cơ chứa hợp chất A, và dược phẩm để dùng theo đường ngoài tiêu hóa chứa liposom và hợp chất A. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến tổ hợp bao gồm (i) dược phẩm và (ii) một hoặc nhiều tác nhân có hoạt tính điều trị, để sử dụng đồng thời, tuần tự hoặc riêng biệt; và bộ kit chứa (i) thể mang liposom, và (ii) chế phẩm cô đặc hữu cơ. Các chế phẩm này là hữu dụng để điều trị ung thư. ‘Hợp chất A’ như được sử dụng ở đây bao gồm tất cả các chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang, và chất đồng phân atrop của nó, hoặc các hỗn hợp của chúng, và cũng tùy ý chứa các muối dược dụng của chúng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến được phẩm liposom chứa axit 2-{[5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic, ở đây được gọi là ‘hợp chất A’, hoặc muối được dụng của hợp chất này, chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực, và chất ổn định chống lại sự gel hóa trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa này là polyme được chọn từ PEG300 và PEG400, hoặc chất điện giải mà là natri clorua. Sáng chế còn đề cập đến chế phẩm cô đặc hữu cơ chứa hợp chất A, chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực, và chất ổn định chống lại sự gel hóa trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa là polyme được chọn từ PEG300 và PEG400, hoặc chất điện giải mà là natri clorua, và được phẩm để dùng theo đường ngoài đường tiêu hóa chứa liposom và hợp chất A, chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực, và chất ổn định chống lại sự gel hóa trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa là polyme được chọn từ PEG300 và PEG400, hoặc chất điện giải mà là natri clorua. Các chế phẩm này là hữu dụng trong điều trị bệnh ung thư. ‘Hợp chất A’ như được sử dụng ở đây bao gồm tất cả các chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang, và chất đồng phân atrop của nó, hoặc các hỗn hợp của chúng, và cũng tùy ý bao gồm các muối được dụng của chúng.

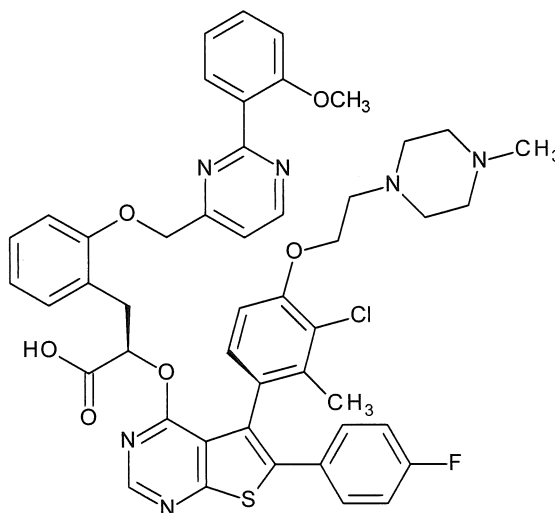
Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Công thức cấu trúc của hợp chất A là:



Axit 2-{{5-{{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metyl piperazin-1-yl)etoxy]phenyl}}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{{2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic.

Theo một phương án cụ thể, hợp chất A là:



Axit (2*R*)-2-{{[(5*S_a*)-5-{{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metyl piperazin-1-yl)etoxy]phenyl}}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{{2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic. Theo phương án khác, hợp chất A sử dụng trong chế phẩm mô tả ở đây là phân tử tự do (không phải muối của nó).

Việc điều chế hợp chất A, việc sử dụng hợp chất này làm chất ức chế Mcl-1 để điều trị ung thư và được phẩm phối chế của nó, được mô tả trong WO 2015/097123. Việc điều chế được bộc lộ cụ thể trong ví dụ 30 của WO 2015/097123.

Hợp chất A là hợp chất hoạt quang, có một tâm không đối xứng và trục không đối xứng. Nó có khả năng hòa tan trong nước hạn chế theo tất cả các độ pH, bao gồm cả các độ pH thích hợp về mặt sinh lý. Nhằm để cho phép sử dụng hợp chất A một cách an toàn và hiệu quả, và để tạo ra các tác dụng trị liệu mong muốn, hợp chất A cần phải được hòa tan.

Có các phương thức khác nhau để hòa tan các hợp chất hòa tan kém để dùng theo đường ngoài tiêu hóa. Các phương pháp điển hình đó là tối ưu hóa độ pH hoặc sử dụng các đồng dung môi (ví dụ, PEG300, PEG400, propylen glycol, hoặc etanol). Vì lý do bất kỳ, nếu các phương pháp này không khả thi, thì có thể cân nhắc việc sử dụng chất hoạt động bề mặt (ví dụ, Tween® 80 hoặc Cremophor EL®). Tuy nhiên, các kiểu chất hoạt động bề mặt này thường kéo theo các tác dụng bất lợi. Xyclodextrin được thiết lập làm tác nhân hòa tan an toàn, vẫn có hạn chế vì chúng không phải là các chất hòa tan hiệu quả đối với tất cả các hợp chất. Ngoài ra, các hợp chất với độ hòa tan cao trong các dầu tự nhiên (ví dụ, Propofol) có thể được hòa tan trong các nhũ tương béo ngoài đường tiêu hóa.

Khả năng khác để hòa tan các hợp chất hòa tan kém đó là sử dụng các phospholipit (van Hoogevest P., Xiangli L., and Alfred F. “Drug delivery strategies for poorly water-soluble drugs: the industrial perspective” Expert Opinion on Drug Delivery 2011, 8(11), 1481-1500). Do đó, bản thân các phospholipit có mặt như một công cụ bổ sung để hòa tan hợp chất hòa tan kém ngoài các phương pháp thông thường. Tuy nhiên, khả năng hòa tan của một số hợp chất hòa tan kém nhất định bởi các phospholipit là không thể dự đoán được.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế này là đề cập đến chế phẩm mà có thể sử dụng được một cách thuận tiện để hòa tan và phân phối hợp chất A theo đường ngoài tiêu hóa. Cụ thể, cần phải tạo ra được dược phẩm của hợp chất A mà dược phẩm này an toàn và hiệu quả. Mục đích khác là đề cập đến chế phẩm mà nó ổn định trong các điều kiện và đồ chứa thích hợp, và cho phép dùng một liều lượng hợp chất A thích hợp trong một thang thời gian hợp lý. Theo mục đích khác, chế phẩm cần phải có khả năng được sản xuất bằng một quy trình tin cậy và thiết thực.

Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa hợp chất A, chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực, và chất ổn định chống lại sự gel hóa trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa này là polyme được chọn từ PEG300 và PEG400, hoặc chất điện giải mà là natri clorua, thích hợp để dùng theo đường ngoài tiêu hóa cho bệnh nhân. Cụ thể, việc dùng như vậy là theo đường tiêm hoặc truyền tĩnh mạch. Sáng chế còn đề cập đến hai chế phẩm riêng biệt mà có thể được trộn kết hợp với nhau ngay trước khi dùng cho bệnh nhân, nhằm để tạo ra chế phẩm thích hợp để dùng. Một chế phẩm để trộn kết hợp là chế phẩm cô đặc hữu cơ chứa hợp chất A, chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực, và chất ổn định chống lại sự gel hóa trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa này là polyme được chọn từ PEG300 và PEG400, hoặc chất điện giải mà là natri clorua, và chế phẩm thứ hai để trộn là thể mang liposom. Khi hai chế phẩm riêng biệt được trộn kết hợp với nhau, hợp chất A được nạp vào trong các liposom bên trong thể mang liposom, cho phép hòa tan hợp chất A, và tạo ra dược phẩm liposom thích hợp để sử dụng trong lâm sàng.

Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa hợp chất A, chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực, và chất ổn định chống lại sự gel hóa trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa này là polyme được chọn từ PEG300 và PEG400, hoặc chất điện giải mà là natri clorua, mà duy trì được độ ổn định hóa học của hợp chất A. Ví dụ, sự tạo ra chất đồng phân atrop và/hoặc các sản phẩm oxy hóa và/hoặc các sản phẩm thoái biến, được hạn chế.

Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa hợp chất A, chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực, và chất ổn định chống lại sự gel hóa trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa này là polyme được chọn từ PEG300 và PEG400, hoặc chất điện giải mà là natri clorua, trong đó chế phẩm này có độ ổn định vật lý tối ưu, ví dụ, tránh được sự hình thành gel và/hoặc tránh được sự kết tủa của các thành phần. Một cách bất ngờ đã phát hiện ra rằng, các chế phẩm chứa hợp chất A có xu hướng gel hóa, bằng cách đó chế phẩm tạo thành gel. Quá trình gel hóa như vậy có thể hoặc không thể đảo ngược được. Quá trình gel hóa phức tạp hoặc ngăn chặn việc thao tác đối với chế phẩm chứa hợp chất A nhằm mục đích sử dụng được đề xuất của nó, và cần phải tránh.

Chế phẩm (chế phẩm cô đặc hữu cơ) chứa hợp chất A, chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực, và chất ổn định chống lại sự gel hóa trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa này là polyme được chọn từ PEG300 và PEG400, hoặc chất điện giải mà là natri clorua cần phải cho phép nạp hợp chất A một cách hiệu quả và tối ưu vào trong các liposom trong thể mang liposom, bằng cách kết hợp dễ dàng 2 chế phẩm với nhau, ngay trước khi dùng cho bệnh nhân.

Sáng chế đề cập đến được phẩm liposom chứa hợp chất A, chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực, và chất ổn định chống lại sự gel hóa trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa này là polyme được chọn từ PEG300 và PEG400, hoặc chất điện giải mà là natri clorua, trong đó được phẩm này cho phép giải phóng nhanh chóng hợp chất A từ các liposom sau khi dùng theo đường tĩnh mạch.

Nói chung, sáng chế mô tả ở đây cho phép dùng hiệu quả hợp chất A cho bệnh nhân, bất luận các đặc tính hóa học thách thức của hợp chất A, và các đặc tính vật lý thách thức của chế phẩm phối chế chứa hợp chất A.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 thể hiện hiệu quả và khả năng dung nạp của hợp chất A phối chế dạng liposom sau khi dùng 10 mg/kg mỗi tuần một lần ở chuột cái trụi lông mang khối u ghép ngoại lai AML MV4;11.

Fig. 2 thể hiện hiệu quả và khả năng dung nạp của hợp chất A phối chế dạng liposom sau khi dùng 30 mg/kg mỗi tuần một lần ở chuột cái trụi lông mang khối u ghép ngoại lai AML MV4;11.

Fig. 3 là giản đồ mô tả nguyên lý của thử nghiệm giải phóng dựa vào MLV cho phép giám sát sự giải phóng của hợp chất A từ các liposom vào MLV.

Fig. 4 thể hiện đặc tính giải phóng của hợp chất A từ SUV vào trong ePL 100% (phospholipit trứng) ở các tỷ lệ SUV:MLV khác nhau (thể tích/thể tích).

Mô tả chi tiết sáng chế

Liposom là bong hình cầu có ít nhất một lớp lipit kép. Liposom có thể được sử dụng làm thể mang để dùng các dưỡng chất và dược phẩm. Các liposom hầu hết thường được cấu thành từ các phospholipit, nhất là phosphatidylcholin, nhưng cũng có thể bao

gồm các lipit khác, như phosphatidyletanolamin của trứng, miễn là chúng tương thích với cấu trúc lớp lipit kép.

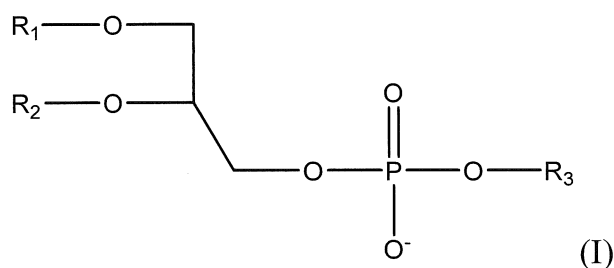
‘Thể mang liposom’ như được sử dụng ở đây nghĩa là dịch lỏng bao gồm các liposom, các liposom này chứa các phospholipit. Thể mang liposom nêu trên thích hợp để hòa tan hợp chất A trong môi trường nước sau khi kết hợp với hợp chất A, nhất là khi hợp chất A được cung cấp ở dạng cô đặc hữu cơ như được mô tả ở đây. Thể mang liposom nêu trên thích hợp để tải nạp hợp chất A, trước khi dùng cho bệnh nhân

Kích cỡ liposom như được bộc lộ ở đây đề cập đến kích cỡ như được xác định bằng quang phổ tương quan photon (photon correlation spectroscopy - PCS). Kích cỡ trung bình biểu diễn ở dạng đường kính trung bình Z và chỉ số đa phân tán được xác định sử dụng quang phổ tương quan photon theo tiêu chuẩn ISO 13321.

Cụ thể, dược phẩm mô tả ở đây là dược phẩm liposom. ‘Dược phẩm liposom’ nghĩa là chế phẩm chứa các liposom thích hợp để dùng ở dạng dược phẩm.

‘Gel hóa’ như được sử dụng ở đây có nghĩa là sự hình thành gel. Khi hình thành gel, chế phẩm trở nên nhớt hơn, ít chảy tự do hơn. Điều này khiến cho chế phẩm hoạt động khó khăn hơn hoặc không thể hoạt động cho mục đích dự định của nó.

Phospholipit sử dụng trong thể mang liposom ở đây bao gồm ít nhất một phospholipit có công thức:

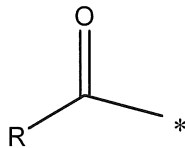


trong đó:

- R₁ là C₁₀-C₂₄axyl;
- R₂ là C₁₀-C₂₄axyl, hoặc theo cách khác, R₂ là hydro hoặc C₁₀-C₂₀axyl;
- R₃ là hydro, 2-trimetyl-amino-1-etyl, 2-amino-1-etyl, C₁-C₄alkyl, C₁-C₅alkyl được thế bằng carboxy, C₂-C₅alkyl được thế bằng carboxy và hydroxy, C₂-C₅alkyl được thế bằng carboxy và amino, nhóm inositol hoặc nhóm glyxeryl;

hoặc muối của hợp chất này.

Thuật ngữ axyl sử dụng nêu trên trong bản mô tả này là nhóm sau:



trong đó, * là điểm gắn kết của R_1 hoặc R_2 với phần còn lại của phân tử, và ví dụ, R là mạch alkyl không phân nhánh, mạch này có thể được bão hòa hoặc không bão hòa một phần.

Phospholipit có thể là trung tính hoặc nó có thể được tích điện. Nó có thể là chất lưỡng tính mạch kép hoặc mạch đơn. Ví dụ về các phospholipit trung tính có mạch kép là phosphatidylcholin (PC), phosphatidyletanolamin (PE) và sphingomyelin. Ví dụ về các phospholipit tích điện là axit phosphatidic (PA), phosphatidyl inositol (PI), và phosphatidylserin (PS) và phosphatidylglyxerol (PG). Mạch hydrocacbon có thể là không no hoặc no. Theo một phương án, nó có từ 14 đến 18 nguyên tử cacbon.

Đối với chế phẩm phối chế dùng theo đường ngoài tiêu hóa, phospholipit có thể là mạch kép và có thể chứa đoạn dưới 20% chất lưỡng tính mạch đơn. Đối với chế phẩm phối chế dùng theo đường ngoài tiêu hóa, phospholipit có thể là phosphatidylcholin (PC) và có thể chứa đoạn dưới 40% phospholipit tích điện.

Lipit mạch đơn là dẫn xuất monoaxyl của phospholipit trung tính hoặc tích điện, nhưng nó cũng có thể là (các) dẫn xuất monoaxyl của glycolipit và sphingolipit. Tuy nhiên, để sử dụng ngoài đường tiêu hóa, dẫn xuất monoaxyl là không được ưu tiên. Sự loại axyl có thể được thực hiện bằng phản ứng thủy phân enzym phospholipaza A2 hoặc bằng phương thức hóa học. Mạch hydrocacbon có thể là không no hoặc no và đặc biệt có thể có từ 14 đến 18, hoặc 14 đến 24 nguyên tử cacbon. Các lipit có thể thu được từ các nguồn thực vật tự nhiên, hoặc động vật hoặc vi khuẩn, tổng hợp hoặc tổng hợp một phần, bao gồm các monoaxyl phospholipit dẫn xuất từ polyetyleneglycol (PEG), ví dụ, monoaxyl phosphatidyl etanolamin được pegyl hóa.

Theo phương án ưu tiên, R_2 không phải là hydro.

Cụ thể, phospholipit sử dụng trong thể mang liposom mô tả ở đây được chọn từ lecithin trứng, lecithin đậu tương, hoặc các phospholipit tổng hợp. Ví dụ về các phospholipit tổng hợp để sử dụng ở đây là POPC (palmitoyl oleoyl phosphatidylcholin), DOPC (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), DMPC (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin) và DPPC (1,2-Dipalmitoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), đặc biệt là các phospholipit tổng hợp POPC (palmitoyl oleoyl phosphatidylcholin), DOPC (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), và DMPC (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), tốt hơn là POPC. Cụ thể hơn nữa, phospholipit sử dụng trong thể mang liposom được chọn từ lecithin trứng hoặc lecithin đậu tương bao gồm ít nhất 75% phosphatidylcholin, hoặc ít nhất 70% phosphatidylcholin. Theo phương án khác, lecithin trứng với 71,5% trọng lượng/trọng lượng ($\pm 7,5\%$ trọng lượng/trọng lượng) PC trứng (phosphatidylcholin) và 15% trọng lượng/trọng lượng ($\pm 3\%$ trọng lượng/trọng lượng) PE trứng (phosphatidyletanolamin) có thể được sử dụng. Theo một phương án cụ thể, phospholipit nêu trên được chọn từ Lipoid E 80 S và Lipoid E 80. Theo phương án ưu tiên, phospholipit nêu trên là Lipoid E 80 S. Trường hợp Lipoid E 80 được sử dụng, natri oleat tùy ý có thể được bao gồm trong các chế phẩm phối chế làm chất ổn định độ ổn định keo.

Theo các phương án ưu tiên, các phospholipit được chọn để thúc đẩy sự giải phóng hợp chất A nhanh hơn vào trong dòng máu.

‘Chế phẩm cô đặc hữu cơ’ như được sử dụng ở đây nghĩa là chế phẩm mà là dung dịch chứa các dung môi hữu cơ, trộn lẫn với nước chứa hợp chất A, chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực, và chất ổn định chống lại sự gel hóa trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa này là polyme được chọn từ PEG300 và PEG400, hoặc chất điện giải mà là natri clorua, trong đó chế phẩm cô đặc này là thích hợp để trộn kết hợp với thể mang liposom để cho phép tải nạp các liposom. Cụ thể, chế phẩm cô đặc hữu cơ nêu trên là thích hợp để kết hợp và tải nạp thể mang liposom như mô tả ở đây. Hỗn hợp thu được là thích hợp để dùng cho bệnh nhân.

‘Tải nạp’ nghĩa là sáp nhập hoặc chuyển hợp chất A vào trong các liposom từ chế phẩm cô đặc hữu cơ.

‘Chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực’ nghĩa là phospholipit bao gồm ít nhất một số lipit tích điện âm hoặc lipit phân cực. Cụ thể, chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực được chọn từ muối natri hoặc amoni của DMPG (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, hoặc dimyristoyl phosphatidylglyxerol), muối natri của POPG (1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri của DOPS (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphoserin), muối natri của DOPG (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri hoặc amoni của DPPG (1,2-Dipalmitoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri hoặc amoni của DSPG (1,2-Distearoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri của axit phosphatidic (PA) đậu tương, muối natri của axit phosphatidic (PA) của trứng, muối natri của phosphatidylserin (PS) đậu tương, muối natri của phosphatidylglyxerol (PG) của trứng, muối natri của phosphatidylglyxerol (PG) đậu tương, muối natri của phosphatidyl inositol (PI), Lipoid S 75, Lipoid E 80 S, và natri oleat. Cụ thể, chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực là muối natri hoặc amoni của 1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol hoặc Lipoid E 80 S, tốt hơn là muối natri của 1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol. ‘Chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực’ nêu trên tạo thuận lợi cho sự tải nạp hợp chất A vào trong các liposom.

‘Chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực’ cũng có thể là lecithin trứng hoặc lecithin đậu tương.

‘Chất điều chỉnh độ trương’ có nghĩa hợp chất được dụng mà nó có thể được bổ sung vào chế phẩm để làm cho chế phẩm trở nên đẳng trương với huyết tương của người. Chất điều chỉnh độ trương bao gồm, ví dụ, dextroza, glucoza, manitol, sucroza, lactoza, trehaloza, glyxerin và NaCl, đặc biệt là sucroza hoặc glyxerin, đặc biệt hơn là sucroza. Độ trương là ‘tính thẩm thấu hiệu quả’ và tương đương với tổng các nồng độ của các chất tan mà chúng có khả năng gây ra một lực thẩm thấu qua màng. Chế phẩm phối chế dùng theo đường ngoài tiêu hóa cần phải đẳng trương với huyết tương máu. Chất điều chỉnh độ trương cũng đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực.

Các dung môi thích hợp có thể được chọn bởi chuyên gia phối chế. Trong chế phẩm cô đặc hữu cơ ở đây, dung môi hoặc các dung môi có thể được chọn từ propylen

glycol, etanol, PEG300, Super-Refined® PEG300, PEG400, và Super-Refined® PEG400, đặc biệt là propylen glycol và etanol.

Super-Refined® để chỉ các cấp độ tinh khiết cao của PEG300 hoặc PEG400.

‘Chất đệm’ được sử dụng để ngăn chặn những thay đổi về độ pH của dung dịch và ví dụ thích hợp về chất đệm là đã biết đối với chuyên gia phối chế.

‘Đồ chứa’ nghĩa là ống nhỏ hoặc lọ nhỏ có nút cao su và nắp đậy, bơm tiêm một ngăn hoặc hai ngăn, túi truyền hoặc chai làm từ vật liệu polyme hoặc thủy tinh, thích hợp để chứa các chế phẩm để dùng theo đường ngoài tiêu hóa. Đồ chứa cũng bao gồm lọ bất kỳ để chứa dịch.

‘Phân tử tự do’ như được sử dụng ở đây, nghĩa là hợp chất không được sử dụng ở dạng muối, được tạo ra bởi các ion đối bên ngoài. Hợp chất A có thể ở dạng ion lưỡng tính, và thuật ngữ ‘phân tử tự do’ như được sử dụng ở đây bao gồm cả dạng ion lưỡng tính.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ ‘bao gồm’ nghĩa là ‘bao gồm cả’, và không dự định loại trừ sự có mặt của bất kỳ thành phần bổ sung nào, trừ khi ngữ cảnh gợi ý theo cách khác, ví dụ, khi các thành phần cùn nhau tạo thành tổng 100%.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ ‘để điều trị’, ‘điều trị’ hoặc ‘việc điều trị’ bệnh hoặc rối loạn bất kỳ, theo một phương án, đề cập đến sự cải thiện bệnh hoặc rối loạn (tức là, làm chậm hoặc làm ngừng hoặc làm giảm sự phát triển của bệnh hoặc ít nhất một trong các triệu chứng lâm sàng của nó). Theo phương án khác, ‘để điều trị’, ‘điều trị’ hoặc ‘việc điều trị’ để chỉ sự thuyên giảm hoặc cải thiện ít nhất một thông số thể chất bao gồm cả các thông số mà không thể nhận thấy được bởi bệnh nhân. Theo phương án khác nữa, ‘để điều trị’, ‘điều trị’ hoặc ‘việc điều trị’ để chỉ sự điều biến bệnh hoặc rối loạn, về thể chất (ví dụ, làm ổn định triệu chứng nhận thấy được), về sinh lý, (ví dụ, làm ổn định thông số thể chất), hoặc cả hai.

‘Chất ổn định chống lại sự gel hóa’ như được sử dụng ở đây, có nghĩa là chất ổn định chống lại sự gel hóa của chế phẩm chứa hợp chất A như được yêu cầu bảo hộ trong các điểm 10 hoặc 16. Định nghĩa này về chất ổn định bao gồm, ví dụ, các chất điện giải hoặc các polyme. Ví dụ về các chất điện giải thích hợp là natri clorua, kali clorua, natri

phosphat diaxit và monoaxit, amoni sulphat và arginin, tốt hơn là natri clorua. Nước có thể được bổ sung vào chế phẩm khi cần thiết, với chất điện giải. Ví dụ về các polyme thích hợp là PEG300 và PEG400, đặc biệt là PEG300. Độ ổn định đối với sự gel hóa có thể được kiểm tra bằng các kỹ thuật đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực, và cụ thể, các kỹ thuật mô tả ở đây có thể được sử dụng. Ví dụ 12 ở đây đưa ra các kỹ thuật mà có thể được sử dụng để thử nghiệm về sự gel hóa. Trường hợp khuynh hướng gel hóa của chế phẩm được chọn được hiểu rõ, chuyên gia phối chế có thể sử dụng thông tin để lựa chọn các điều kiện bảo quản tối ưu đối với các chế phẩm chứa hợp chất A.

Theo một phương án tùy chọn, PEG300 là Super-Refined® PEG300, nó là PEG300 độ tinh khiết cao.

Theo một phương án ưu tiên, chất ổn định được chọn, chất này ngăn chặn sự gel hóa của chế phẩm chứa hợp chất A, và chất này cũng làm giảm hoặc ngăn chặn sự kết tủa của các thành phần của chế phẩm chứa hợp chất A. Ví dụ, PEG300 là đặc biệt được quan tâm về mặt này. Theo một phương án tùy chọn, PEG300 là Super-Refined® PEG300, và nó cũng có thể giúp duy trì độ ổn định hóa học của hợp chất A.

Việc kết hợp ‘ngay trước khi dùng cho bệnh nhân’ nghĩa là tới ba ngày trước khi, cụ thể là 24 giờ trước khi, và ví dụ, tới 6 giờ trước khi dùng cho bệnh nhân.

‘Histidin’ như được sử dụng ở đây cụ thể nghĩa là ‘L-histidin’.

Một cách thuận lợi, theo một số phương án của sáng chế, nhờ kích thước hạt rất nhỏ của các liposom, chế phẩm phối chế trở nên trong suốt, cho phép kiểm tra trực quan sự hòa tan hoàn toàn của hợp chất A trước khi dùng. Theo phương án cụ thể, chế phẩm được dùng theo đường tĩnh mạch cho bệnh nhân.

Các phương án

Được mô tả dưới đây là các phương án E1 đến E52 của sáng chế mà không được yêu cầu bảo hộ.

E1. Chế phẩm cô đặc hữu cơ chứa hợp chất A mà hợp chất này là axit 2-{[5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-

yl]metoxy}phenyl)propanoic, hoặc muối được dùng của nó, và chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực.

E2. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án E1, bao gồm hợp chất A mà hợp chất này là axit (2*R*)-2-{\{[(5*S*_a)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpipezazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic, hoặc muối được dùng của hợp chất này, và chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực.

E3. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án E1 hoặc E2, trong đó hợp chất A là phân tử tự do.

E4. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E1 đến E3, trong đó chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực được chọn từ muối natri hoặc amoni của DMPG (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, hoặc dimyristoyl phosphatidylglyxerol), muối natri của POPG (1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri của DOPS (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphoserin), muối natri của DOPG (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri hoặc amoni của DPPG (1,2-Dipalmitoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri hoặc amoni của DSPG (1,2-Distearoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri của axit phosphatidic (PA) đậu tương, muối natri của axit phosphatidic (PA) trứng, muối natri của phosphatidylserin (PS) đậu tương, muối natri của phosphatidylglyxerol (PG) trứng, muối natri của phosphatidylglyxerol (PG) đậu tương, muối natri của phosphatidyl inositol (PI), Lipoid E 80 S, và natri oleat.

E5. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E1 đến E4, trong đó chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực là muối natri của dimyristoyl phosphatidylglyxerol (DMPG), hoặc Lipoid E 80 S.

E6. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án E5, trong đó chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực là 1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, muối natri.

E7. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E1 đến E6, còn bao gồm thêm một hoặc nhiều dung môi.

E8. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E1 đến E7, bao gồm ít nhất một dung môi được chọn từ propylen glycol, etanol, PEG300 và PEG400.

E9. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E1 đến E8, bao gồm ít nhất một dung môi được chọn từ:

- propylen glycol và etanol, hoặc
- propylen glycol, PEG300 và etanol.

E10. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E1 đến E9, bao gồm cả propylen glycol và etanol.

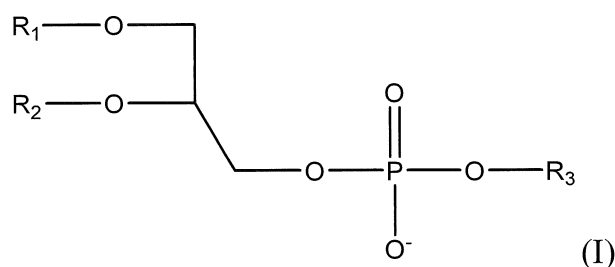
E11. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E1 đến E10, còn bao gồm thêm chất ổn định được chọn từ natri clorua, kali clorua, natri phosphat di- và monobazơ, amoni sulphat và arginin, tốt hơn là natri clorua.

E12. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E1 đến E11, còn bao gồm thêm nước.

E13. Thở mang liposom bao gồm phospholipit và chất điều chỉnh độ trương.

E14. Thở mang liposom theo phương án E13, bao gồm từ 5% trọng lượng/trọng lượng đến 20% trọng lượng/trọng lượng phospholipit, đặc biệt từ 7% trọng lượng/trọng lượng đến 13% trọng lượng/trọng lượng phospholipit.

E15. Thở mang liposom theo phương án E13 hoặc E14, trong đó phospholipit được chọn từ:



trong đó

- R₁ là C₁₀-C₂₄axyl;
- R₂ là C₁₀-C₂₄axyl, hoặc theo cách khác, R₂ là hydro hoặc C₁₀-C₂₀axyl;
- R₃ là hydro, 2-trimetyl-amino-1-etyl, 2-amino-1-etyl, C₁-C₄alkyl, C₁-C₅alkyl được thế bằng carboxy, C₂-C₅alkyl được thế bằng carboxy và hydroxy, C₂-C₅alkyl được thế bằng carboxy và amino, nhóm inositol hoặc nhóm glyxeryl;

hoặc muối của hợp chất này.

E16. Thở mang liposom theo phương án E13 hoặc E14, trong đó phospholipit được chọn từ lecithin trứng, lecithin đậu tương, hoặc các phospholipit tổng hợp.

E17. Thở mang liposom theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E13 đến E16, trong đó phospholipit được chọn từ lecithin trứng, lecithin đậu tương, POPC (palmitoyl oleoyl phosphatidylcholin), DOPC (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), và DMPC (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), đặc biệt là POPC (palmitoyl oleoyl phosphatidylcholin), DOPC (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), và DMPC (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), cụ thể là POPC.

E18. Thở mang liposom theo phương án bất kỳ trong số các phương án E13, E14, E16 hoặc E17, trong đó phospholipit được chọn từ lecithin trứng hoặc lecithin đậu tương bao gồm ít nhất 75% phosphatidylcholin, hoặc ít nhất 70% phosphatidylcholin.

E19. Thở mang liposom theo phương án bất kỳ trong số các phương án E13, E14, E16, E17 hoặc E18, trong đó phospholipit là Lipoid E 80 S.

E20. Thở mang liposom theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E13 đến E19, trong đó chất điều chỉnh độ trương được chọn từ dextroza, glucoza, manitol, sucroza, lactoza, trehaloza, glyxerin và NaCl.

E21. Thở mang liposom theo phương án E20, trong đó chất điều chỉnh độ trương là sucroza hoặc glyxerin, cụ thể là sucroza.

E22. Thở mang liposom theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E13 đến E21, còn bao gồm thêm chế độ.

E23. Thở mang liposom theo phương án E22, trong đó chất đệm là histidin.

E24. Thẻ mang liposom theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E13 đến E23, còn bao gồm thêm nước.

E25. Thẻ mang liposom theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E13 đến E24, trong đó các liposom có mặt trong thẻ mang liposom có kích cỡ trung bình từ 20 nm đến 300 nm, tốt hơn từ 20 nm đến 100 nm.

E26. Thẻ mang liposom theo phương án E25, trong đó các liposom có kích cỡ trung bình từ 20 nm đến 80 nm, tốt hơn từ 40 nm đến 70 nm.

E27. Dược phẩm chứa phospholipit và hợp chất A mà hợp chất này là axit 2-{[5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic, hoặc muối được dụng của hợp chất này.

E28. Dược phẩm liposom chứa:

a. phospholipit như được mô tả theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E15 đến E19, và

b. hợp chất A mà hợp chất này là axit 2-{[5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl) thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl) propanoic, hoặc muối được dụng của hợp chất này.

E29. Dược phẩm theo phương án E27, trong đó hợp chất A là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic hoặc muối của hợp chất này, tốt hơn là phân tử tự do.

E30. Dược phẩm liposom theo phương án E28, trong đó hợp chất A là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl) propanoic hoặc muối của hợp chất này, tốt hơn là phân tử tự do.

E31. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E27 đến E30, để truyền hoặc tiêm trong tĩnh mạch.

E32. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E27 đến E31, bao gồm từ 5% trọng lượng/trọng lượng đến 20% trọng lượng/trọng lượng phospholipit, tốt nhất từ 7% trọng lượng/trọng lượng đến 13% trọng lượng/trọng lượng phospholipit.

E33. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E27 đến E32, trong đó phospholipit được chọn từ các loại được mô tả trong các phương án từ E15 đến E19, cụ thể là phương án E18 hoặc E19.

E34. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E27 đến E33, còn bao gồm thêm chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực.

E35. Dược phẩm theo phương án E34, trong đó chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực được chọn từ muối natri hoặc amoni của DMPG (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, hoặc dimyristoyl phosphatidylglyxerol), muối natri của POPG (1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri của DOPS (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphoserin), muối natri của DOPG (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri hoặc amoni của DPPG (1,2-Dipalmitoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri hoặc amoni của DSPG (1,2-Distearoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri của axit phosphatidic (PA) đậu tương, muối natri của axit phosphatidic (PA) trứng, muối natri của phosphatidylserin (PS) đậu tương, muối natri của phosphatidylglyxerol (PG) trứng, muối natri của phosphatidylglyxerol (PG) đậu tương, muối natri của phosphatidyl inositol (PI), Lipoid E 80 S, và natri oleat, tốt hơn là muối natri của dimyristoyl phosphatidylglyxerol (DMPG), muối natri của 1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, và Lipoid E 80 S.

E36. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E27 đến E35, còn bao gồm thêm một hoặc nhiều dung môi, tốt hơn là các dung môi được mô tả theo phương án bất kỳ trong số các phương án E8, E9 hoặc E10.

E37. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E27 đến E36, còn bao gồm thêm chất ổn định được chọn từ natri clorua, kali clorua, natri phosphat di- và monobazơ, amoni sulphat và arginin, tốt hơn là natri clorua.

E38. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E27 đến E37, còn bao gồm thêm chất điều chỉnh độ trương.

E39. Dược phẩm theo phương án E38, trong đó chất điều chỉnh độ trương được chọn từ dextroza, glucoza, manitol, sucroza, lactoza, trehaloza, glyxerin và NaCl, tốt hơn là sucroza và/hoặc glyxerin, tốt hơn nữa là sucroza.

E40. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E27 đến E39, còn bao gồm thêm chất đệm, tốt hơn là histidine.

E41. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E27 đến E40, bao gồm các liposom.

E42. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E27 đến E41, trong đó tỷ lệ phospholipit (từ thể mang liposom) trên hợp chất A ở dạng phân tử tự do, là từ 100:1 đến 4,5:1 phần theo trọng lượng.

E43. Dược phẩm theo phương án E42, trong đó tỷ lệ của phospholipit từ thể mang liposom trên hợp chất A ở dạng phân tử tự do, là từ 50:1 đến 6:1 phần theo trọng lượng, tốt hơn từ 20:1 đến 9:1 phần theo trọng lượng.

E44. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E27 đến E43, trong đó các liposom nạp có kích cỡ trung bình từ 20 nm đến 100 nm, tốt hơn từ 50 nm đến 90 nm, tốt hơn nữa từ 50 nm đến 80 nm.

E45. Dược phẩm để truyền hoặc tiêm trong tĩnh mạch bao gồm hỗn hợp của thể mang liposom theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E13 đến E26, và chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E1 đến E12.

E46. Dược phẩm để truyền theo phương án E45, còn bao gồm thêm glucoza để truyền.

E47. Chế phẩm cô đặc hữu cơ bao gồm:

- a. hợp chất A mà hợp chất này là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic,
- b. chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực, và
- c. ít nhất một dung môi được chọn từ propylen glycol, etanol, PEG300 và PEG400.

E48. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án E47, bao gồm propylen glycol, etanol và PEG300, tốt hơn cả propylen glycol và etanol.

E49. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án E47 hoặc E48, còn bao gồm thêm chất ổn định được chọn từ natri clorua, kali clorua, natri phosphat di- và monobazơ, amoni sulphat và arginin, tốt hơn là natri clorua.

E50. Dược phẩm để truyền hoặc tiêm trong tĩnh mạch bao gồm:

- a. phospholipit được chọn từ các hợp chất được mô tả theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E15 đến E19,
- b. hợp chất A mà hợp chất này là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic, và
- c. chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực được chọn từ các hợp chất được mô tả theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E4 đến E6.

E51. Dược phẩm theo phương án E50, còn bao gồm thêm chất ổn định được chọn từ natri clorua, kali clorua, natri phosphat di- và monobazơ, amoni sulphat và arginin, tốt hơn là natri clorua.

E52. Dược phẩm theo phương án E50 hoặc E51, còn bao gồm thêm cả propylen glycol và etanol.

Dược mô tả dưới đây là các phương án E53 đến E79 của sáng chế mà được yêu cầu bảo hộ.

E53. Bộ kit bao gồm:

- a. thể mang liposom, và

b. chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E55 đến E64, hoặc từ E78.

E54. Bộ kit theo phương án E53, trong đó thành phần a. và b. được dự định trộn kết hợp với nhau ngay trước khi dùng cho bệnh nhân.

E55. Chế phẩm cô đặc hữu cơ bao gồm:

a. hợp chất A mà hợp chất này là axit 2- $\{[5-\{3\text{-clo-2-metyl-4-[2-(4-metyl)piperazin-1-yl]etoxy]phenyl}\}-6-(4\text{-flophenyl})\text{thieno}[2,3\text{-}d]\text{pyrimidin-4-yl}\}\text{oxy}\}-3-(2-\{[2-(2\text{-metoxyphenyl})\text{pyrimidin-4-yl}]\text{metoxy}\}\text{phenyl})\text{propanoic}$, hoặc muối được dùng của hợp chất này,

b. chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực, và

c. chất ổn định chống lại sự gel hóa trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa này là polyme được chọn từ PEG300 và PEG400, hoặc chất điện giải mà là natri clorua.

E56. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án E55, bao gồm hợp chất A mà hợp chất này là axit $(2R)\text{-}2\text{-}\{[(5S_a)\text{-}5\text{-}\{3\text{-clo-2-metyl-4-[2-(4-metyl)piperazin-1-yl]etoxy]phenyl}\}-6-(4\text{-flophenyl})\text{thieno}[2,3\text{-}d]\text{pyrimidin-4-yl}\}\text{oxy}\}-3-(2-\{[2-(2\text{-metoxyphenyl})\text{pyrimidin-4-yl}]\text{metoxy}\}\text{phenyl})\text{propanoic}$, hoặc muối được dùng của hợp chất này.

E57. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án E55 hoặc E56, trong đó hợp chất A là phân tử tự do.

E58. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E55 đến E57, trong đó chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực được chọn từ muối natri hoặc amoni của DMPG (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, hoặc dimyristoyl phosphatidylglyxerol), muối natri của POPG (1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri của DOPS (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphoserin), muối natri của DOPG (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri hoặc amoni của DPPG (1,2-Dipalmitoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri hoặc amoni của DSPG (1,2-Distearoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri của axit phosphatidic (PA) đậu tương, muối natri của axit phosphatidic (PA) trứng, muối natri của phosphatidylserin (PS) đậu

tương, muối natri của phosphatidylglycerol (PG) trứng, muối natri của phosphatidylglycerol (PG) đậu tương, muối natri của phosphatidyl inositol (PI), lecithin trứng (ví dụ, Lipoid E 80 S), lecithin đậu tương (ví dụ, Lipoid S 75), và natri oleat, tốt hơn là muối natri của DMPG.

E59. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E55 đến E58, trong đó chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực là 1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, muối natri hoặc amoni, lecithin trứng (ví dụ, Lipoid E 80 S), lecithin đậu tương (ví dụ, Lipoid S 75), hoặc tốt hơn là 1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, muối natri.

E60. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E55 đến E59, trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa là natri clorua.

E61. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E55 đến E59, trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa là PEG300.

E62. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án E61, trong đó PEG300 có mặt với lượng từ 5% trọng lượng/trọng lượng đến 30% trọng lượng/trọng lượng của chế phẩm cô đặc, tốt hơn từ 15% trọng lượng/trọng lượng đến 20% trọng lượng/trọng lượng, tốt hơn nữa là 15% trọng lượng/trọng lượng.

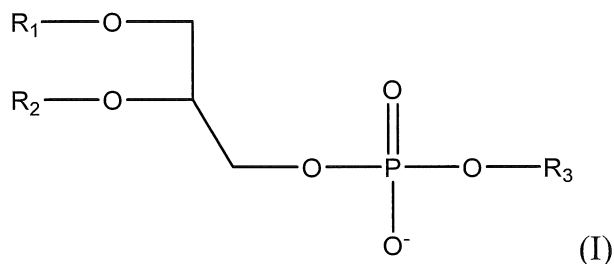
E63. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E55 đến E62, còn bao gồm thêm dung môi.

E64. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E55 đến E63, còn bao gồm thêm dung môi được chọn từ propylen glycol và etanol, và tốt hơn bao gồm cả propylen glycol và etanol.

E65. Dược phẩm xuất phát từ hỗn hợp của chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E55 đến E64, và thể mang liposom, trong đó thể mang liposom nêu trên bao gồm phospholipit và chất điều chỉnh độ trương, tốt hơn trong đó chất điều chỉnh độ trương nêu trên được chọn từ dextroza, glucoza, manitol, sucroza, lactoza, trehaloza, glyxerin và NaCl.

E66. Dược phẩm theo phương án E65, trong đó phospholipit được chọn từ lecithin trứng, lecithin đậu tương, hoặc các phospholipit tổng hợp.

E67. Dược phẩm theo phương án E65 hoặc E66, trong đó phospholipit có công thức



trong đó

- R₁ là C₁₀-C₂₄axyl;
- R₂ là C₁₀-C₂₄axyl, hoặc theo cách khác, R₂ là hydro hoặc C₁₀-C₂₀axyl;
- R₃ là hydro, 2-trimethylamino-1-etyl, 2-amino-1-etyl, C₁-C₄alkyl, C₁-C₅alkyl được thế bằng carboxy, C₂-C₅alkyl được thế bằng carboxy và hydroxy, C₂-C₅alkyl được thế bằng carboxy và amino, nhóm inositol hoặc nhóm glyxeryl;

hoặc muối của hợp chất này.

E68. Dược phẩm theo các phương án từ E65 đến E67, trong đó phospholipit được chọn từ lecithin trứng, lecithin đậu tương, POPC (palmitoyl oleoyl phosphatidylcholin), DOPC (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), DMPC (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin) và DPPC (1,2-Dipalmitoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), especially POPC (palmitoyl oleoyl phosphatidylcholin), DOPC (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), và DMPC (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), tốt hơn là POPC.

E69. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án E65, E66 hoặc E68, trong đó phospholipit được chọn từ lecithin trứng hoặc lecithin đậu tương bao gồm ít nhất 70% phosphatidylcholin, và tốt hơn được chọn từ Lipoid E 80 S.

E70. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E65 đến E69, trong đó chất điều chỉnh độ trương được chọn từ sucroza hoặc glyxerin.

E71. Dược phẩm liposom bao gồm, ngoài các liposom:

- hợp chất A mà hợp chất này là axit 2-{[5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpipezazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-

metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic, hoặc muối được dụng của hợp chất này; và

b. chất ổn định chống lại sự gel hóa, trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa này là polyme được chọn từ PEG300 và PEG400, hoặc chất điện giải mà là natri clorua; và

c. chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực.

E72. Dược phẩm liposom theo phương án E71, bao gồm:

a. hợp chất A như được mô tả theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E56 đến E57, và

b. chất ổn định chống lại sự gel hóa, như được mô tả theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E60 đến E61.

E73. Dược phẩm liposom theo phương án E71, trong đó chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực nêu trên là như được mô tả trong các phương án E58 hoặc E59.

E74. Dược phẩm liposom theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E71 đến E73, còn bao gồm thêm dung môi.

E75. Dược phẩm liposom theo phương án E74, trong đó dung môi nêu trên được chọn từ propylen glycol và etanol, hoặc tốt hơn bao gồm cả propylen glycol và etanol.

E76. Dược phẩm liposom theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E71 đến E75, bao gồm phospholipit như được mô tả theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E66 đến E69.

E77. Dược phẩm liposom theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E71 đến E76, còn bao gồm thêm chất điều chỉnh độ trương được chọn từ dextroza, glucoza, manitol, sucroza, lactoza, trehaloza, glyxerin và NaCl.

E78. Chế phẩm cô đặc hữu cơ bao gồm:

a. hợp chất A mà hợp chất này là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxypheyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic,

b. chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực, ví dụ, được chọn từ muối natri hoặc amoni của DMPG (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, hoặc dimyristoyl phosphatidylglyxerol), muối natri của POPG (1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri của DOPS (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphoserin), muối natri của DOPG (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri hoặc amoni của DPPG (1,2-Dipalmitoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri hoặc amoni của DSPG (1,2-Distearoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri của axit phosphatidic (PA) đậu tương, muối natri của axit phosphatidic (PA) trứng, muối natri của phosphatidylserin (PS) đậu tương, muối natri của phosphatidylglyxerol (PG) trứng, muối natri của phosphatidylglyxerol (PG) đậu tương, muối natri của phosphatidyl inositol (PI), lecithin trứng (ví dụ, Lipoid E 80 S), lecithin đậu tương (ví dụ, Lipoid E75), và natri oleat, especially DMPG natri; và

c. chất ổn định chống lại sự gel hóa, ví dụ, được chọn từ

- polyme, trong đó polyme này là PEG300 hoặc PEG400, và
- chất điện giải, trong đó chất điện giải này là natri clorua.

E79. Dược phẩm chứa:

a. phospholipit được chọn từ lecithin trứng, lecithin đậu tương, POPC (palmitoyl oleoyl phosphatidylcholin), DOPC (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), DMPC (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin) và DPPC (1,2-Dipalmitoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), tốt hơn là POPC (palmitoyl oleoyl phosphatidylcholin), DOPC (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), và DMPC (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), đặc biệt là POPC,

hoặc trong đó phospholipit được chọn từ lecithin trứng hoặc lecithin đậu tương bao gồm ít nhất 70% phosphatidylcholin;

b. hợp chất A mà hợp chất này là axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxypheyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic hoặc muối của hợp chất này, tốt hơn là phân tử tự do,

c. chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực, ví dụ, muối natri hoặc amoni của DMPG (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, hoặc dimyristoyl phosphatidylglyxerol), muối natri của POPG (1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri của DOPS (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphoserin), muối natri của DOPG (1,2-Dioleoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri hoặc amoni của DPPG (1,2-Dipalmitoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri hoặc amoni của DSPG (1,2-Distearoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri của axit phosphatidic (PA) đậu tương, muối natri của axit phosphatidic (PA) trứng, muối natri của phosphatidylserin (PS) đậu tương, muối natri của phosphatidylglyxerol (PG) trứng, muối natri của phosphatidylglyxerol (PG) đậu tương, muối natri của phosphatidyl inositol (PI), Lipoid E 80 S, và natri oleat, tốt hơn là 1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, muối natri hoặc amoni, lecithin trứng hoặc Lipoid E 80 S, tốt hơn là 1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, muối natri; và

d. chất ổn định chống lại sự gel hóa, ví dụ, được chọn từ

- polyme, trong đó polyme này là PEG300 hoặc PEG400, và
- chất điện giải, trong đó chất điện giải này là natri clorua.

Được mô tả dưới đây là các phương án E80 đến E88 của sáng chế mà không được yêu cầu bảo hộ

E80. Quy trình để hòa tan hợp chất A, như được mô tả theo phương án bất kỳ trong số các phương án E1, E2 hoặc E3, trong môi trường nước, bao gồm bước trộn kết hợp:

- a. thể mang liposom theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E13 đến E26, và
- b. chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E1 đến E12, hoặc từ E47 đến E49, hoặc từ E55 đến E64 hoặc E78.

E81. Quy trình điều chế chế phẩm chứa hợp chất A thích hợp để dùng theo đường ngoài tiêu hóa, bao gồm bước trộn kết hợp:

a. thể mang liposom theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E13 đến E26, và

b. chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E1 đến E12 hoặc từ E47 đến E49, hoặc từ E55 đến E64 hoặc E78.

E82. Quy trình theo phương án E80 hoặc E81, trong đó bước trộn kết hợp diễn ra ngay trước khi dùng cho bệnh nhân.

E83. Quy trình theo phương án bất kỳ trong số các phương án E80, E81 hoặc E82, trong đó bước trộn kết hợp và nạp liposom được tiến hành bằng cách lộn ngược lặp đi lặp lại, tốt hơn là lắc mạnh bằng cách lộn ngược đồ chứa.

E84. Quy trình theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E80 đến E83, trong đó bước trộn kết hợp và nạp liposom được thực hiện bằng cách lộn ngược đồ chứa có chứa cả hai thành phần a. và b, tốt hơn là lặp đi lặp lại, hoặc lắc mạnh bằng cách lộn ngược, cho tới khi hỗn hợp không còn các phần tử nhìn thấy được.

E85. Phương pháp điều biến hoạt tính thụ thể Mcl-1 ở đối tượng, trong đó phương pháp bao gồm bước dùng cho đối tượng một lượng có tác dụng điều trị của chế phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E27 đến E46, hoặc từ E50 đến E52, hoặc từ E65 đến E77, hoặc E79.

E86. Phương pháp điều trị ung thư, bao gồm bước dùng cho đối tượng một lượng có tác dụng điều trị của chế phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E27 đến E46, hoặc từ E50 đến E52, hoặc từ E65 đến E77, hoặc E79.

E87. Phương pháp như được bộc lộ trong mục E86, trong đó ung thư được chọn từ các ung thư bàng quang, não, vú và tử cung, bệnh bạch cầu lympho mãn tính, ung thư đại tràng, thực quản và gan, bệnh bạch cầu lympho bào, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, u lympho, ví dụ, u lympho tế bào B không Hodgkin và u lympho tế bào B lớn lan tỏa, u hắc sắc tố, bệnh máu ác tính, ví dụ, hội chứng rối loạn sinh tủy, u tủy, ví dụ, đa u tủy, ung thư buồng trứng, ung thư phổi không phải tế bào nhỏ, ung thư tiền liệt tuyến, ung thư tụy và ung thư phổi tế bào nhỏ.

E88. Phương pháp như được bộc lộ trong mục E87, trong đó ung thư được chọn từ u lympho tế bào B không Hodgkin, u lympho tế bào B lớn lan tỏa, đa u tủy, hội chứng rối loạn sinh tủy, bệnh bạch cầu lympho mãn tính và bệnh bạch cầu cấp dòng tủy.

Các phương án E89 đến E95 của sáng chế được mô tả dưới đây.

E89. Dược phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E65 đến E77, hoặc E79, để sử dụng làm thuốc.

E90. Dược phẩm để sử dụng theo phương án E89, trong đó việc sử dụng nêu trên là để điều trị ung thư, tốt hơn trong đó ung thư được chọn từ các ung thư bàng quang, não, vú và tử cung, bệnh bạch cầu lympho mãn tính, ung thư đại tràng, thực quản và gan, bệnh bạch cầu lympho bào, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, u lympho, ví dụ, u lympho tế bào B không Hodgkin và u lympho tế bào B lớn lan tỏa, u hắc sắc tố, bệnh máu ác tính, ví dụ, hội chứng rối loạn sinh tủy, u tủy, ví dụ, đa u tủy, ung thư buồng trứng, ung thư phổi không phải tế bào nhỏ, ung thư tiền liệt tuyến, ung thư tụy và ung thư phổi tế bào nhỏ.

E91. Dược phẩm để sử dụng theo phương án E90, trong đó ung thư nêu trên được chọn từ u lympho tế bào B không Hodgkin, u lympho tế bào B lớn lan tỏa, đa u tủy, hội chứng rối loạn sinh tủy, bệnh bạch cầu lympho mãn tính và bệnh bạch cầu cấp dòng tủy.

E92. Sử dụng chế phẩm cô đặc hữu cơ theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E55 đến E64, hoặc E78, để bào chế thuốc để điều trị ung thư.

E93. Sử dụng theo phương án E92, để bào chế thuốc liposom để điều trị ung thư.

E94. Sử dụng theo phương án E92 hoặc E93, trong đó ung thư được chọn từ các ung thư bàng quang, não, vú và tử cung, bệnh bạch cầu lympho mãn tính, ung thư đại tràng, thực quản và gan, bệnh bạch cầu lympho bào, bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính, u lympho, ví dụ, u lympho tế bào B không Hodgkin và u lympho tế bào B lớn lan tỏa, u hắc sắc tố, bệnh máu ác tính, ví dụ, hội chứng rối loạn sinh tủy, u tủy, ví dụ, đa u tủy, ung thư buồng trứng, ung thư phổi không phải tế bào nhỏ, ung thư tiền liệt tuyến, ung thư tụy và ung thư phổi tế bào nhỏ, in particular u lympho tế bào B không Hodgkin, u lympho tế bào B lớn lan tỏa, đa u tủy, hội chứng rối loạn sinh tủy, bệnh bạch cầu lympho mãn tính và bệnh bạch cầu cấp dòng tủy.

E95. Tổ hợp bao gồm:

- được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ E65 đến E79, hoặc E79, và
- một hoặc nhiều tác nhân có hoạt tính điều trị, để sử dụng đồng thời, tuần tự hoặc riêng biệt.

Được mô tả dưới đây là phương án của sáng chế mà không được yêu cầu bảo hộ.

E96. Chế phẩm bao gồm hợp chất A, như được xác định trong E1, E2 hoặc E3, và chất ổn định chống lại sự gel hóa.

Theo một phương án, bệnh nhân được chọn, ví dụ, theo các tiêu chuẩn sau:

Các tiêu chuẩn lựa chọn chính:

- Tuổi ≥ 18 tuổi

Đối với các bệnh nhân bị đa u tủy:

- U lympho được khẳng định về mặt mô học hoặc đa u tủy được khẳng định. Theo phương án cụ thể đối với các bệnh nhân bị đa u tủy, đa u tủy tái phát và/hoặc không đáp ứng với phác đồ điều trị chuẩn
- Bất thường về nhiễm sắc thể xác định rõ
- Bệnh có thể xác định được:
 - M-protein huyết thanh $\geq 0,5$ g/dl
 - M-protein nước tiểu ≥ 200 mg/24 giờ hoặc
 - Mức chuỗi nhẹ tự do huyết thanh (FLC) ≥ 100 mg/L của FLC liên quan.

Đối với các bệnh nhân bị DLBCL khẳng định về mặt mô học:

- Dương tính MYC dẫn chứng được xác định bằng huỳnh quang trong kỹ thuật lai tại chỗ (FISH) hoặc kỹ thuật hóa mô miễn dịch (IHC)

- Bệnh có thể xác định được (theo tiêu chuẩn trong tài liệu Recommendations for Initial Evaluation, Staging, and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin U lympho)

Các tiêu chuẩn loại trừ chính

1. Tiền sử bệnh gan mãn tính đã biết bao gồm

- nhiễm trùng viêm gan B hoặc C hoạt động
- xơ gan mật tiên phát
- xơ gan, hoặc
- tăng áp lực tĩnh mạch cửa

2. Tiền sử viêm tụy mãn

3. Bệnh nhân có nguy cơ cao bị hội chứng tiêu khối u (TLS)

4. Tiền sử hoặc chẩn đoán viêm phổi, bệnh phổi kẽ hoặc bệnh ruột viêm.

5. Suy chức năng tim hoặc các bệnh tim rõ ràng về mặt lâm sàng, bao gồm bệnh bất kỳ trong số các bệnh sau:

- Phân suất tổng máu thất trái (LVEF) < 50% khi được xác định bằng kỹ thuật quét phóng xạ hạt nhân tim (multiple gated acquisition scan: MUGA) hoặc siêu âm tim (ECHO)
- Khoảng QT được hiệu chỉnh theo công thức Fredericia (QTcF) > 450 ms (các bệnh nhân nam), >460 ms (các bệnh nhân nữ)

6. Các tình trạng bệnh nặng và/hoặc không được kiểm soát mà theo quan điểm của nhà điều tra có thể ảnh hưởng tới độ an toàn của cá thể hoặc ảnh hưởng tới sự đánh giá kết quả nghiên cứu.

7. Điều trị trước đó bằng thuốc ức chế Mcl-1.

8. Điều trị trước đó bằng thuốc ức chế Bcl-2 (đối với các bệnh nhân được chọn lựa vào nhóm mở rộng liều lượng).

9. Các bệnh nhân bị khối u CNS tiên phát hoặc liên quan đến khối u CNS.

Thể mang liposom mô tả ở đây có thể được tạo ra bằng phương pháp sản xuất bất kỳ tạo ra các liposom có cỡ hạt trung bình tới 1000 nm, tốt hơn tới 300 nm, tốt nhất tới 100 nm. Kích cỡ liposom như mô tả ở đây để chỉ đường kính trung bình Z sử dụng quang phổ tương quan photon theo tiêu chuẩn ISO 13321 mà nó mô tả cỡ hạt trung bình đạt được và chỉ số đa phân tán. Phương pháp sản xuất điển hình bao gồm các bước phân tán, trộn cắt tốc độ cao và đồng hóa áp lực cao sau đó và các phương pháp như vậy đã được biết rõ đối với người có kỹ năng trong lĩnh vực.

Chế phẩm cô đặc hữu cơ được tạo ra bằng cách trộn kết hợp các thành phần cho tới khi thu được dung dịch đồng hóa mà hợp chất A được hòa tan trong đó.

Để tạo ra chế phẩm để dùng, chế phẩm cô đặc được bổ sung vào thể mang liposom, sau đó được kết hợp ngay, ví dụ, bằng cách lộn ngược lặp đi lặp lại, hoặc lắc mạnh. Theo cách khác, chế phẩm cô đặc có thể được bổ sung vào thể mang trong khi nhào xoáy.

Một phương án của sáng chế mà không được bảo hộ, đề xuất thể mang liposom mà có thể được trộn kết hợp với hợp chất A ngay trước khi dùng để tạo ra chế phẩm trong suốt. Cụ thể, phương án này đạt được bằng việc kết hợp thể mang liposom với chế phẩm cô đặc hữu cơ bao gồm hợp chất A như được mô tả ở đây. Tính trong suốt là mong muốn để kiểm tra xem liệu hợp chất A có được hòa tan trước khi dùng hay không. Sự hòa tan này có thể được đánh giá bằng cách kiểm tra bằng mắt hoặc độ trong được xác định tại bước sóng thích hợp nhất tùy thuộc vào nồng độ lipit, ví dụ, 660 nm hoặc sử dụng cuvet hoặc ngăn dẫn truyền 1 cm. Theo một khía cạnh của sáng chế mà không được yêu cầu bảo hộ, được phẩm để dùng (các liposom được nạp bằng hợp chất A) không làm giảm sự dẫn truyền so với thể mang liposom tới hơn 30%, tốt hơn không nhiều hơn 20%, tốt nhất không nhiều hơn 10%.

Theo một phương án của sáng chế mà không được yêu cầu bảo hộ, thể mang liposom, khi được kết hợp với hợp chất A, cho phép sự tải nạp tối đa hợp chất A vào trong các liposom, tốt hơn là khi hợp chất A có mặt ở dạng chế phẩm cô đặc hữu cơ mô tả ở đây.

Trong phần ví dụ dưới đây, 'hợp chất A' nghĩa là axit (2*R*)-2-[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metyl)piperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-

d]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic (không phải muối).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Chế phẩm cô đặc hữu cơ bao gồm hợp chất A và natri clorua

Thành phần	Thành phần trên mL [mg]	Chức năng tá dược
Hợp chất A	61,75	
DMPG-Na (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, muối natri)	3,83	chất ổn định
Etanol, khan	94,39	dung môi
Natri clorua	4,00	chất ổn định
Nước để tiêm	9,58	dung môi
Propylen glycol	851,41	dung môi

Điều chế dung môi lượng lớn:

Nước để tiêm sau đó là etanol khan, sau đó DMPG-Na được nạp vào bình và được khuấy để làm ẩm bột DMPG-Na. Sau đó, bổ sung gần ¼ số propylen glycol vào đó, và hỗn hợp được khuấy và làm ẩm. Tiếp tục khuấy và nhiệt độ được duy trì trong thời gian 90 phút hoặc cho tới khi hòa tan hoàn toàn DMPG-Na. Sau khi hòa tan hoàn toàn, sau đó làm mát hỗn hợp xuống nhiệt độ trong phòng, phần propylen glycol còn lại được bổ sung và khuấy hỗn hợp cho tới khi hỗn hợp trở nên đồng nhất. Sau đó, bổ sung natri clorua, và làm ẩm hỗn hợp trong thời gian 90 phút hoặc cho tới khi hòa tan hoàn toàn natri clorua. Làm mát dung dịch thu được xuống nhiệt độ trong phòng.

Điều chế thuốc cô đặc hữu cơ:

Dung môi lượng lớn được điều chế như mô tả ở trên được nạp vào bình, bổ sung hợp chất A và khuấy hỗn hợp để làm ẩm bột hợp chất A. Tiếp tục khuấy trong 60 phút

hoặc cho tới khi hòa tan hoàn toàn hợp chất A. Lọc dịch cô đặc qua màng lọc vô khuẩn 0,2 μm Pall flodyne® II DFL Membrane trong hệ lọc Kleenpak™ Capsules KA3DFLP1G hoặc KA3DFLP1. Sau khi lọc, sản phẩm thuốc cô đặc hữu cơ thu được (61,75 mg/ml) được chuyển vào các lọ nhỏ vô khuẩn đã được loại bỏ yếu tố gây sốt.

Ví dụ 2: Thể mang liposom để pha loãng

Tá dược	Lượng thành phần trên mL [mg]	Chức năng tá dược
Sucroza	90	chất điều chỉnh độ trương
ePL, Lipoid E 80 S (phospholipit trứng)	100	chất hòa tan
L-Histidin	1,5	chất đệm
Axit clohydric	Nếu cần tới độ pH 6,5	chất điều chỉnh độ pH
Natri hydroxit	Nếu cần tới độ pH 6,5	chất điều chỉnh độ pH
Nước để tiêm	Lượng vừa đủ 1 mL	dung môi

Điều chế thể mang liposom để pha loãng

Vì lecithin (ePL) có xu hướng bị oxy hóa, oxy được loại bỏ bất kỳ nơi nào có thể về mặt kỹ thuật và vật liệu tốt hơn được bảo vệ bằng lớp phủ nitơ.

Nước để tiêm, sau đó là L-Histidin, được nạp vào bình và khuấy cho tới khi L-Histidin được hòa tan hoàn toàn. Sucroza được nạp vào đó và khuấy hỗn hợp cho tới khi sucroza được hòa tan hoàn toàn. Độ pH được kiểm tra và điều chỉnh tới $6,5 \pm 0,2$ bằng cách bổ sung axit clohydric 1N hoặc dung dịch natri hydroxit 1N, sau đó dung dịch được khuấy cho tới khi đồng nhất. Sau đó, bổ sung Lipoid E 80 S vào bình. Khuấy hỗn hợp cho tới khi thu được thể phân tán đồng nhất.

Kết hợp trực tiếp

Thể phân tán thu được ở trên được khuấy và chuyển vào bình khác thông qua dụng cụ đồng nhất hóa trực tiếp (Kinematic MEGATRON MT-SV 1-45 M), được điều chỉnh tới tốc độ dòng 2-5 L/phút. Việc kết hợp trực tiếp được tiếp tục cho tới khi không còn gì trong bình nguồn.

Đồng nhất hóa cao áp

Bình chứa thể phân tán lecithin thu được ở trên được nối với dụng cụ đồng nhất hóa cao áp (Avestin Emulsiflex C160) trong vòng tuần hoàn khép kín, và làm lạnh thể phân tán xuống nhiệt độ 2-8°C trong khi khuấy ở tốc độ 300 vòng/phút. Sau khi nén bình tới áp suất 0,5 bar, bơm được hiệu chỉnh ở tốc độ tối đa và dụng cụ đồng nhất hóa cao áp được mở bơm bằng van mở để loại bỏ không khí trong hệ thống. Bơm đồng nhất hóa cao áp sau đó được điều chỉnh tới 60 Hz, tốc độ dòng là 130-140 L/giờ và áp lực nằm trong khoảng từ 950 đến 1050 bar, và quá trình đồng nhất hóa cao áp được tiến hành 19 hành trình (khoảng 7,5-8 giờ), sau đó ở hành trình thứ 20, lượng chứa trong bình được chuyển sang bình khác thông qua dụng cụ đồng nhất hóa cao áp.

Thao tác lọc sơ bộ được tiến hành bằng màng lọc PVDF (màng lọc polyvinyliden diflorua) kích thước lỗ 0,2 μm , và dịch lọc được bảo quản ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, dung dịch được lọc vô khuẩn qua màng lọc loại vô khuẩn PVDF và sau đó, được chuyển sang các lọ nhỏ vô khuẩn được loại bỏ tác nhân gây sốt bằng phương thức xử lý nhiệt khô.

Chế phẩm dạng lỏng này có thể được tiêm hoặc truyền ở dạng nguyên như vậy hoặc được pha loãng bằng các dung dịch truyền (ví dụ, glucoza 5%) trước khi truyền.

Ví dụ 3A: Chế phẩm để truyền

Chế phẩm cô đặc hữu cơ từ ví dụ 1 được kết hợp với thể mang liposom từ ví dụ 2 như sau. Thể mang liposom từ ví dụ 2 được cho làm ấm lên nhiệt độ trong phòng (tức là nhiệt độ từ 20 đến 25°C) bằng cách lấy nó ra khỏi tủ lạnh ít nhất 30 phút trước khi kết hợp. Tổng thể tích của thể mang liposom hoạt tính mà sẽ được dùng cho bệnh nhân có thể được xác định như được chỉ ra trong bảng 3A.1 dưới đây. Thể mang liposom chứa các liposom nhỏ bé và được sử dụng làm thể mang hòa tan, có khả năng hòa tan hợp

chất A trong môi trường nước sau khi kết hợp với chế phẩm cô đặc hữu cơ bao gồm hợp chất A.

Bảng 3A.1:

Liều lượng cần thiết của hợp chất A	Số lượng lọ cần có của sản phẩm thuốc (chế phẩm cô đặc hợp chất A để truyền) và thể mang liposom để pha loãng (LV)	Tổng thể tích của thể mang liposom hoạt tính (nồng độ hợp chất A là 7,5 mg/ml) cần được chuyển vào túi glucoza	Cỡ bơm tiêm / thang tỷ lệ	Nồng độ hợp chất A trong túi 250 mL sẵn sàng để truyền (Lưu ý: lượng tràn túi không xem xét)
mg	Số lượng	ml		mg/ml
30	1	4,0	5 mL / 0,2 mL	0,12
45	1	6,0	10 mL / 0,5 mL	0,18
180	1	24,0	30 mL / 0,5 mL	0,72
360	2	48,0	30 mL / 0,5 mL	1,44
540	3	72,0	30 mL / 0,5 mL	2,16
720	4	96,0	30 mL / 0,5 mL	2,88
900	5,0	120,0	30 mL / 0,5 mL	3,60
1080	6	144,0	30 mL / 0,5 mL	4,32
1260	7	168,0	30 mL / 0,5 mL	5,04
1400	8	186,7	30 mL / 0,5 mL	5,60
X [mg]	Được xác định dựa vào liều lượng cần dùng và hàm lượng danh định của hợp chất A là 180 mg/lọ của sản phẩm thuốc (chế	$= X [mg] / 7,5$ mg/ml	Xem ở trên. Lựa chọn cỡ bơm tiêm / thang tỷ lệ sát nhất với giá trị tổng thể tích của thể mang liposom hoạt	$= X [mg] / 250$ ml

phẩm cô đặc hợp
chất A để truyền)

tính được xác
định trong bảng

Một lọ chứa chế phẩm cô đặc hữu cơ của hợp chất A (185,25 mg [bao gồm cả phần dư] hợp chất A trong 3 mL) được kết hợp với một lọ thể mang liposom (2,1 gam Lipoid E 80 S trong 21 mL), để thu được thể tích có thể rút ra được là 24 mL thể mang liposom hoạt tính bao gồm hợp chất A chứa tổng cộng 180 mg hợp chất A). Đối với một bệnh nhân, có thể cần phải chuẩn bị nhiều lọ. Cần phải chuẩn bị số lượng lọ thể mang liposom hoạt tính thích hợp đủ để phân liều cho bệnh nhân.

Chế phẩm cô đặc hữu cơ của hợp chất A (3 mL) được rút theo cách vô trùng và chính xác và được bơm nhanh vào một lọ chứa thể mang liposom và được kết hợp ngay bằng cách quay lộn ngược lọ ≥ 40 lần. Trạng thái vẩn đục ban đầu sẽ biến mất. Chế phẩm thể mang liposom hoạt tính thu được sẽ đục hơn một chút so với thể mang liposom để pha loãng. Chế phẩm này phải không chứa các phần tử nhìn thấy được sau khi kết hợp. Nếu nhiều hơn 180 mg hợp chất A cần được dùng cho bệnh nhân, bước bổ sung và kết hợp được lặp lại nếu cần thiết.

Tổng thể tích của dung dịch glucoza cần được lấy ra khỏi túi truyền khi đó được tính toán (ví dụ, sử dụng glucoza 5% Ecobag, hoặc glucoza 5% Ecoflac). Thể tích này là tương tự như thể tích của thể mang liposom hoạt tính được xác định trong bảng 3A.1. Thể tích tính toán của dung dịch glucoza được rút theo cách vô trùng và chính xác từ túi truyền (và loại bỏ).

Thể tích tính toán của thể mang liposom hoạt tính (bao gồm hợp chất A) được rút theo cách vô trùng và chính xác từ một hoặc nhiều lọ và được bơm vào túi glucoza chuẩn bị ở trên, và được kết hợp đều bằng cách lộn ngược túi ít nhất 10 lần. Nếu cần ít hơn 180 mg hợp chất A, thì phần còn lại trong các lọ cần được loại bỏ.

Túi truyền chuẩn bị sẵn sàng để truyền cần phải được kiểm tra bằng mắt đối với chất dạng hạt. Lượng chứa trong túi có thể xuất hiện màu trắng đục hoặc hơi đục tùy thuộc vào nồng độ hợp chất A. Nếu các hạt nhìn thấy được, cần phải loại bỏ túi này và chuẩn bị túi truyền mới.

Hợp chất A hơi nhạy với ánh sáng, do đó túi truyền được bảo vệ tránh ánh sáng.

Một ví dụ về phương thức như sau. Túi truyền vừa mới chuẩn bị được bảo quản tới 5 giờ ở nhiệt độ trong phòng (tức là nhiệt độ từ 20 đến 25°C) cộng thêm tới 8 giờ trong điều kiện tủ lạnh (từ 2 đến 8 °C) bao gồm cả thời gian truyền thực tiễn. Nếu giữ ở nhiệt độ trong phòng từ 20 đến 25°C, dung dịch pha loãng để truyền trong túi truyền có thể được chuẩn bị và việc truyền được bắt đầu trong vòng 2 giờ sau khi chuẩn bị và được dùng ở nhiệt độ trong phòng có kiểm soát. Nếu dung dịch truyền tĩnh mạch không được dùng ngay, thì dung dịch có thể được làm lạnh ở nhiệt độ từ 2 đến 8°C trong thời gian chỉ dưới 8 giờ. Nếu dung dịch chuẩn bị được làm lạnh trước khi dùng, túi có thể được nâng lên nhiệt độ trong phòng trước khi dùng. Chế phẩm truyền chứa nồng độ cần thiết của sản phẩm thuốc của hợp chất A có thể được truyền qua dây truyền và bộ lọc trực tiếp kích cỡ 1,2 µm sau túi truyền, được đặt sát với ống thông (catheter) nhất có thể.

Ví dụ 3B: Chế phẩm để truyền

Sử dụng phương thức tương tự như trong ví dụ 3A, thể mang liposom từ ví dụ 2 được kết hợp với dung dịch hữu cơ chứa thành phần sau:

Mô tả	Thành phần trên ml [mg]	Chức năng tá dược
Hợp chất A	100	
Lipoid E 80 S	18,54	chất ổn định
Propylen glycol	410,73	dung môi
Etanol	410,73	dung môi

Các tỷ lệ kết hợp sau đây có thể được sử dụng:

Nồng độ cần thiết của hợp chất A (mg/mL)	Thể tích cần thiết của chế phẩm liposom hoạt tính (mL)	Thể tích của dung dịch hữu cơ (mL)	Thể tích của thể mang liposom (mL)
0,00	80	0,00	80,00

0,30	65	0,20	64,80
0,60	83,5	0,50	83,00
0,75	80	0,60	79,40
1,50	80	1,20	78,80
2,50	80	2,00	78,00
3,00	80	2,40	77,60
3,75	80	3,00	77,00
5,00	80	4,00	76,00
7,50	80	6,00	74,00

Ví dụ 4: Hiệu quả của chế phẩm liposom của hợp chất A trong mẫu ghép ngoại lai bạch cầu cấp dòng tủy MV4;11 ở chuột trụi lông sử dụng phác đồ dùng theo đường tĩnh mạch mỗi tuần một lần

Phương pháp

Bảng 4.1: Chế phẩm dung môi hữu cơ được sử dụng để điều chế dung dịch định liều cho nhóm thể mang:

Thành phần	Lượng thành phần trên mL [mg]
Lecithin trứng Lipoid E 80 S	20
Propylen glycol	443,0
Etanol	443,0

Bảng 4.2: Chế phẩm của thể mang liposom được sử dụng để điều chế dung dịch định liều cho nhóm thể mang:

Thành phần	Lượng thành phần trên mL [mg]
Lecithin trứng Lipoid E 80 S	100

Sucroza	90
L-Histidin	1,552
Nước để tiêm	lượng vừa đủ cho 1,00 mL

Thẻ mang liposom thu được sử dụng các thành phần trong bảng 4.2 và các phương pháp mô tả ở đây trong ví dụ 2. Dung dịch hữu cơ (bảng 4.1) được kết hợp với thẻ mang liposom theo tỷ lệ 1:32,33 (thể tích/thể tích) và được sử dụng để định liều nhóm thẻ mang với lượng 10 mL/kg.

Nghiên cứu này đánh giá hoạt tính chống khối u và khả năng dung nạp của hợp chất A trong chế phẩm dựa vào liposom sau khi truyền tĩnh mạch ở mẫu chuột trụi lông mang khối u MV4;11. Các thực nghiệm được thực hiện ở chuột cái trụi lông Crl:NIH-Foxn1^{rmu} (Charles River).

Dòng tế bào bạch cầu cấp dòng tủy (AML) người MV4;11 lúc được thiết lập từ các tế bào gốc MV4;11 mà chúng thu được từ bệnh nhân. Tế bào gốc MV4;11 thu được từ ngân hàng tế bào DSMZ. Tế bào MV4;11 lúc được sử dụng cho tất cả các nghiên cứu *in vivo* và được nuôi cấy trong môi trường RPMI-1640 (BioConcept Ltd. Amimed, # 1-41F01-I) có bổ sung 10% FCS (GE health care life sciences, # H30071.03) 4mM L-glutamin (BioConcept Ltd. Amimed, # 5-10K00-H), 0,6mg/ml geneticin (Life Technologies, # 10131-027) ở nhiệt độ 37°C trong khí quyển chứa 5% CO₂ trong không khí. Các tế bào được duy trì ở mật độ giữa 0,2 và 1,1 x 10⁶ tế bào/mL. Để thiết lập các mẫu ghép ngoại lai MV4;11 lúc, tế bào được thu hoạch và tái tạo huyền phù trong HBSS (Gibco, # 14175) và được kết hợp với Matrigel (BD Bioscience, #354234) (1:1 thể tích/thể tích) trước khi tiêm 200μL chứa 1 x 10⁷ tế bào theo đường dưới da vào cạnh sườn phải các động vật đã được gây mê bằng isoflurane. 24 giờ trước khi chủng tế bào, tất cả động vật được chiếu xạ bằng 5 Gy trong 2 phút sử dụng máy chiếu xạ γ.

Sự phát triển khối u được theo dõi đều đặn sau khi chủng tế bào và động vật được phân ngẫu nhiên vào các nhóm điều trị khi khối u của chúng đạt tới thể tích thích hợp. Kích thước khối u, tính bằng mm³, được tính toán từ: $(L \times W^2 \times \pi/6)$ trong đó W = chiều rộng và L = chiều dài của khối u.

Động vật mang khối u được tuyển chọn vào các nhóm điều trị ($n = 5$) với thể tích khối u trung bình vào khoảng 450 mm^3 . Sau đó, các động vật được điều trị bằng thể mang hoặc chế phẩm hợp chất A ở mức liều lượng 10 và 30 mg/kg.

Hợp chất A được phối chế trong chế phẩm dựa vào liposom sử dụng sản phẩm thuốc cô đặc hữu cơ (được mô tả trong ví dụ 1) và thể mang (được mô tả trong ví dụ 2 ở đây). Các dung dịch định liều được tạo ra bằng cách kết hợp sản phẩm của các ví dụ 1 và 2 theo tỷ lệ 1:7,236 (thể tích/thể tích), sau đó pha loãng thêm hỗn hợp này bằng cách bổ sung glucoza 5% theo tỷ lệ 1:6,50 (thể tích/thể tích) đối với liều lượng 10 mg/kg và tỷ lệ 1:1,50 (thể tích/thể tích) đối với liều lượng 30 mg/kg.

Thể mang và hợp chất A được dùng mỗi tuần một lần (QW) bằng cách truyền tĩnh mạch 15 phút theo tĩnh mạch đuôi bên với liều 10 mL/kg. Động vật được gây mê bằng isoflurane/ O_2 trong thời gian khoảng 20 phút để tiến hành truyền. Tiến hành đo thể tích khối u sử dụng thước kẹp 2 đến 3 lần mỗi tuần. Cân động vật 2-3 lần mỗi tuần và kiểm tra thường xuyên các dấu hiệu hiển nhiên về bất kỳ tác dụng bất lợi nào.

Dữ liệu về thay đổi khối u và thể trọng được phân tích theo cách thống kê sử dụng phần mềm GraphPad Prism 7.00 (GraphPad Software). Nếu như các thay đổi về dữ liệu được phân bố thông thường, dữ liệu được phân tích sử dụng phương thức ANOVA một chiều với kiểm định Dunnett hậu kiểm để so sánh nhóm điều trị với nhóm đối chứng. Kiểm định Tukey hậu kiểm được sử dụng để so sánh trong nội nhóm. Theo cách khác, kiểm định Dunn hậu kiểm được phân loại Kruskal-Wallis được sử dụng. Trường hợp có thể, các kết quả được trình bày ở dạng trung bình $\pm$ SEM.

Để đánh giá hiệu quả, trị số %T/C được tính toán khi kết thúc thực nghiệm theo:

$$(\Delta \text{thể tích khối u}^{\text{điều trị}} / \Delta \text{thể tích khối u}^{\text{đối chứng}}) * 100$$

Sự thoái triển khối u được tính toán theo:

$$-(\Delta \text{thể tích khối u}^{\text{điều trị}} / \text{thể tích khối u}^{\text{điều trị lúc bắt đầu}}) * 100$$

trong đó, Δ thể tích khối u là thể tích khối u trung bình vào ngày đánh giá trừ đi thể tích khối u trung bình khi bắt đầu thực nghiệm.

Kết quả: Hiệu quả và khả năng dung nạp

Chế phẩm hợp chất A dựa vào liposom thể hiện hiệu quả liên quan liều lượng mạnh sau khi dùng theo đường truyền. Liều lượng truyền 10 mg/kg mỗi tuần một lần gây ra đáp ứng chống khối u tối đa sau liều lượng đầu tiên (thoái triển 61% vào ngày thứ 3 sau khi khởi đầu điều trị) và đáp ứng giảm xuống trong mỗi một liều lượng sau đó, dẫn đến sự gia tăng dần dần về thể tích khối u theo thời gian. Vào ngày thứ 24 (ngày cuối cùng đo thể tích khối u ở nhóm thể mang), sự thoái triển là 6% sau khi dùng liều 10 mg/kg mỗi tuần một lần ($p < 0,05$ so với nhóm thể mang). Sau khi truyền 30 mg/kg chế phẩm liposom của hợp chất A mỗi tuần một lần trong 2 tuần, sự thoái triển hoàn toàn (CR) đạt được ở tất cả các mẫu ghép ngoại lai MV4;11 vào ngày 13 sau khi khởi đầu điều trị. Sự thoái triển hoàn toàn được duy trì ở tất cả các động vật cho tới ngày 21, sau đó sự tái phát triển khối u được quan sát thấy ở 3 động vật và 2 động vật không thể hiện sự phát triển khối u trong 60 nữa sau khi đạt tới sự thoái triển hoàn toàn. Vào ngày 25 sau khi khởi đầu điều trị bằng 30 mg/kg, thể tích khối u trung bình cho thấy sự thoái triển 92% ($p < 0,05$ so với nhóm thể mang). Dựa vào những thay đổi về thể trọng, cả hai phác độ định liều của chế phẩm liposom đều được dung nạp tốt. Kết quả được thể hiện trên các Fig. 1 và 2.

Ví dụ 5: Dữ liệu về độ ổn định đối với chế phẩm trong ví dụ 1

Độ ổn định của chế phẩm trong ví dụ 1, hợp chất A 185,25 mg trong 3,0 mL được khảo sát, bằng cách thử nghiệm về các giai đoạn bảo quản tới 3 tháng, và độ ổn định đối với ánh sáng.

5.1. Thử nghiệm ở điều kiện 5°C/độ ẩm tương đối môi trường xung quanh (độ ẩm tương đối)

Trong thời gian bảo quản 3 tháng trong các lọ ở các điều kiện 5°C/độ ẩm tương đối môi trường xung quanh, chế phẩm của ví dụ 1, hợp chất A 185,25mg/3,0mL được quan sát ổn định về vật lý và hóa học. Không quan sát thấy sự thay đổi đáng kể nào về các đặc tính vật lý hoặc hóa học.

5.2. Thử nghiệm ở điều kiện 25°C/độ ẩm tương đối 60%

Trong thời gian bảo quản 3 tháng trong các lọ ở các điều kiện 25°C/độ ẩm tương đối 60%, chế phẩm của ví dụ 1, hợp chất A 185,25mg/3,0mL được quan sát ổn định về

mặt vật lý. Không quan sát thấy sự thay đổi đáng kể nào trong 3 tháng. Các mức gia tăng về chất đồng phân atrop không mong muốn được quan sát thấy. Toàn bộ kết quả giữ nguyên trong mức giới hạn quy định.

5.3. Thử nghiệm ở điều kiện 40°C/độ ẩm tương đối 75%

Trong thời gian bảo quản 3 tháng trong các lọ ở các điều kiện 40°C/độ ẩm tương đối 75%, chế phẩm của ví dụ 1, hợp chất A 185,25mg/3,0mL được quan sát ổn định về mặt vật lý. Không quan sát thấy sự thay đổi đáng kể nào trong 3 tháng, ngoại trừ các mức gia tăng về chất đồng phân atrop không mong muốn theo thời gian. Toàn bộ kết quả vẫn ở trong mức giới hạn quy định sau thời gian 1,5 tháng.

5.4. Độ ổn định đối với ánh sáng

Trong thời gian thử nghiệm về độ ổn định đối với ánh sáng trong các lọ, chế phẩm của ví dụ 1, hợp chất A 185,25mg/3,0mL được quan sát không ổn định về mặt hóa học hoặc vật lý. Toàn bộ kết quả của mẫu được bảo vệ tránh tiếp xúc ánh sáng được quan sát thấy trong mức các giới hạn quy định.

Kết luận:

Dữ liệu về độ ổn định thỏa mãn đã đạt được trong thời gian 3 tháng ở các điều kiện 5°C/độ ẩm tương đối môi trường xung quanh và 25°C/độ ẩm tương đối 60% và 1,5 tháng ở điều kiện 40°C/độ ẩm tương đối 75%. Dữ liệu về độ ổn định có được cho thấy độ ổn định thỏa mãn của chế phẩm của ví dụ 1, hợp chất A 185,25mg/3,0mL. Việc bảo vệ tránh ánh sáng là cần thiết.

Ví dụ 6: Dữ liệu về độ ổn định của chế phẩm của ví dụ 2

Độ ổn định của chế phẩm thể mang ví dụ 2 (21,7mL) được khảo sát, bằng cách thử nghiệm các giai đoạn bảo quản tới 3 tháng, và độ ổn định đối với ánh sáng

6.1. Thử nghiệm ở điều kiện 5°C/độ ẩm tương đối môi trường xung quanh

Không quan sát thấy sự thay đổi nào về hình dáng của đồ chứa, vẻ ngoài của lượng chứa bên trong và lượng các phospholipit tới 3 tháng bảo quản ở nhiệt độ 5°C, khi so sánh với các kết quả ban đầu. Không quan sát thấy sự thay đổi đáng kể nào về độ pH, cũng như không có sự thay đổi nào về kích thước hạt.

6.2. Thử nghiệm ở điều kiện 25°C/độ ẩm tương đối 60%

Không quan sát thấy sự thay đổi nào về vẻ ngoài của đồ chứa và vẻ ngoài của lượng chứa tới 3 tháng bảo quản ở nhiệt độ 25°C, khi so sánh với các kết quả ban đầu. Độ pH 6,6 ban đầu giảm xuống pH 6,3 trong 3 tháng tương ứng. Không quan sát thấy sự thay đổi đáng kể nào về kích thước hạt bằng quang phổ tương quan photon và lượng các phospholipit tới 3 tháng. Chất hạt không thể quan sát bằng mắt thường gia tăng, tuy nhiên các trị số vẫn nằm trong khoảng chấp nhận được.

6.3. Thử nghiệm ở điều kiện 40°C/độ ẩm tương đối 75%

Không quan sát thấy sự thay đổi nào về vẻ ngoài của đồ chứa và vẻ ngoài của lượng chứa tới 3 tháng bảo quản ở nhiệt độ 40°C, khi so sánh với các kết quả ban đầu. Quan sát thấy sự thay đổi chút ít về độ pH, giảm chút ít từ độ pH 6,6 ban đầu, xuống 6,3 sau thời gian 3 tháng bảo quản ở nhiệt độ 40°C.

Không quan sát thấy sự thay đổi đáng kể nào về kích thước hạt bằng quang phổ tương quan photon và lượng các phospholipit tới 3 tháng bảo quản ở nhiệt độ 40°C. Những sự khác nhau đáng kể được quan sát thấy trong thử nghiệm chất dạng hạt khó nhìn thấy bằng mắt. Tuy nhiên, những điều kiện này được xem là các điều kiện kích ứng khi so sánh với điều kiện bảo quản lâu dài ở nhiệt độ 5°C.

6.4. Độ ổn định đối với ánh sáng

Thử nghiệm độ ổn định đối với ánh sáng được tiến hành với sản phẩm trong lọ thủy tinh và so sánh với lọ được bảo vệ tránh ánh sáng trong hộp các-tông. Trong nghiên cứu về độ ổn định đối với ánh sáng, không quan sát thấy sự thay đổi đáng kể nào về các thông số về vẻ ngoài của đồ chứa, vẻ ngoài của lượng chứa, độ pH của dung dịch, chất dạng hạt nhìn thấy được và lượng các phospholipit sau khi bảo quản.

Kết luận:

Dữ liệu về độ ổn định thỏa mãn được chứng minh trong các điều kiện lâu dài ở nhiệt độ 5°C và các điều kiện thúc đẩy nhanh ở nhiệt độ 25°C/độ ẩm tương đối 60% lên tới 3 tháng. Dữ liệu về độ ổn định thỏa mãn được chứng minh đối với các điều kiện thúc đẩy nhanh ở nhiệt độ 40°C/độ ẩm tương đối 75% lên tới 1,5 tháng, bị giới hạn bởi các chất dạng hạt khó nhìn thấy bằng mắt sinh ra. Đối với vẻ ngoài của đồ chứa, vẻ ngoài

của lượng chứa và kích thước hạt, không quan sát thấy sự thay đổi nào trong tất cả các điều kiện bảo quản lên tới 3 tháng. Các giá trị về độ pH là ổn định và nằm trong khoảng quy định đối với tất cả các điều kiện bảo quản. Dữ liệu về độ ổn định thỏa mãn được chứng minh ở các điều kiện lâu dài ở nhiệt độ 5°C/độ ẩm tương đối môi trường xung quanh. Thử nghiệm được xem là ổn định với ánh sáng.

Ví dụ 7: Thử nghiệm giải phóng *in vitro*, hợp chất A: sự giải phóng hợp chất A từ các liposom nhỏ vào thể tiếp nhận bao gồm các lipid dư có mặt ở dạng các bong đa lớp lớn (MLV)

Mục đích của thử nghiệm này là để khảo sát về tỷ lệ giải phóng hợp chất A từ các bong đơn lớp nhỏ (SUV; ở đây sử dụng làm hệ mang thuốc, xem trong ví dụ 3A) vào các bong đa lớp lớn (MLV) bao gồm phospholipit trứng, và được sử dụng làm thể tiếp nhận ưa béo đối với thuốc được giải phóng (xem trong Shabbits J. A., Chiu G. N. and Mayer L. D. “Development of an *in vitro* drug release assay that accurately predicts *in vivo* drug retention for liposom-based delivery systems” *Journal of Controlled Release* 2002, 84(3), 161-170).

Chuẩn bị và tiến hành nghiên cứu về sự giải phóng sử dụng bong đa lớp làm thể tiếp nhận

Điều chế và mô tả đặc trưng về các bong đa lớp (MLV)

Bong đa lớp được điều chế sử dụng phương pháp hydrat hóa màng. Một cách tóm tắt, phospholipit trứng (Lipoid E 80 S) được cân lên và hòa tan hoàn toàn trong dung môi hữu cơ (EtOH/DCM theo tỷ lệ 4:1 thể tích/thể tích) để bảo đảm hỗn hợp đồng nhất gồm tất cả các thành phần.

Tiếp theo, dung môi hữu cơ được loại bỏ sử dụng kỹ thuật bay hơi kiểu quay (bước thứ nhất: 200 mbar, 50°C, 2 giờ; bước thứ hai: 30 mbar, 50°C, 45 phút) để tạo ra màng lipid đồng nhất. Để đảm bảo loại bỏ hoàn toàn dung môi hữu cơ, bình thốt cổ được xả bằng khí nitơ. Tiếp theo, màng được tái hydrat hóa sử dụng nước muối đệm phosphat (PBS, pH 7,4) tạo ra các bong đa lớp và khi tái hydrat hóa hoàn toàn, các bong đa lớp được tiếp xúc với siêu âm trong 15 phút.

Để có các bọt đa lớp được tái tạo huyền phù trong cùng hệ đệm như các bọt đơn lớp, huyền phù được ly tâm trong 10 phút ở tốc độ 14000 g, lớp nổi trên bề mặt (PBS) được loại bỏ, và được thay thế bằng hệ đệm sucroza histidin. Sau cùng, hỗn hợp được tạo xoáy kỹ để bảo đảm sự tái phân tán hoàn toàn của các bọt đa lớp trong môi trường mới trước khi bắt đầu thử nghiệm giải phóng.

Các chế phẩm bọt đa lớp được mô tả đặc trưng dựa vào kích thước của chúng nhờ phương pháp nhiễu xạ laze sử dụng hệ HELOS KR (SympaTec) sau khi pha loãng theo tỷ lệ 1:5000 sử dụng PBS thu được các giá trị x_{10} , x_{50} , và x_{90} .

x_{10} = kích thước hạt tương ứng với 10% sự phân bố dưới kích thước tích lũy, x_{50} = kích thước hạt trung bình (tức là, 50% hạt là nhỏ hơn và 50% hạt là lớn hơn), và x_{90} = kích thước hạt tương đương 90% sự phân bố dưới kích thước tích lũy.

Bảng 7.1: Sự phân bố kích thước của các bọt đa lớp

Chế phẩm	Kích thước (μm)		
	x_{10}	x_{50}	x_{90}
Bọt đa lớp được nạp PBS (100% ePL) trong PBS	2,98	5,79	11,56

Nghiên cứu về sự giải phóng sử dụng bọt đa lớp

Đối với nghiên cứu về sự giải phóng sử dụng các bọt đa lớp, sự thiết lập dưới đây được sử dụng cho tất cả các thực nghiệm:

Bọt đơn lớp nhỏ (SUV) (thể cho) được kết hợp với các bọt đa lớp (MLV) (thể nhận) trong bình thót cổ Erlenmeyer thể tích 25 ml có nút trong khi khuấy (500 vòng/phút) với các tỷ lệ khác nhau (1:40, 1:100, 1:200, 1:500; SUV:MLV thể tích/thể tích). Các mẫu 1 ml được lấy tại các thời điểm khác nhau và được ly tâm ngay (14000 vòng/phút, 10 phút) để tách riêng các bọt đa lớp khỏi các bọt đơn lớp nhỏ để xử lý thêm. Hình vẽ trên Fig. 3 ở đây là hình vẽ mô tả hệ thống về nguyên lý của thử nghiệm giải phóng dựa vào bọt đa lớp.

Tiếp theo, phần bọt đa lớp được lấy ra bằng cách hút và 50 μl phần bọt đơn lớp nhỏ được kết hợp với 450 μl ACN:H₂O để điều chế mẫu HPLC. Sau đó, mẫu được

ly tâm (14000 vòng/phút, 10 phút), lớp nổi trên bề mặt được lọc sử dụng màng lọc cỡ 0,22 µm và được bơm vào hệ HPLC để phân tích.

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao đối với hợp chất A

Hệ sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) có bộ dò UV bao gồm các trang thiết bị và các hệ dung môi dưới đây được sử dụng:

Dụng cụ	Shimadzu LC2010C HT
Cột	Waters Symmetry Shield, RP18, 3,5 µm, 3 x 150 mm
Điều kiện cột	45°C
Pha di động	A) ACN:H ₂ O:FA:NH ₄ OH (20:80:1:0,4) B) ACN:H ₂ O:FA:NH ₄ OH (80:20:1:0,4)
Gradient dung môi	Gradient đa bậc
Lưu lượng dung môi	1,0 mL/phút
Áp suất	Tối đa 270 bar
Lấy mẫu tự động	Các mẫu được bơm sử dụng bộ lấy mẫu tự động
Bộ dò UV	Bộ dò HPLC-UV thiết đặt tại 210 nm và 245 nm

Gradient dung môi của HPLC

Duy trì (phút)	Lưu lượng (ml/phút)	% A	% B
0,000	1	40,0	60
0,000	1	40,0	60
1	1	40,0	60
4	1	100	0,000
4,1	1	40,0	60
5,0	1	40,0	60

Thử nghiệm giải phóng hợp chất A sử dụng bọt đa lớp (MLV)

Sự giải phóng hợp chất A được xác định sử dụng các bọt đa lớp làm khoang tiếp nhận. Ở đây, các bọt đơn lớp nạp hợp chất A (7,5 mg/ml) được bổ sung vào các bọt đa lớp này theo các tỷ lệ khác nhau (thể tích/thể tích). Hình vẽ trên Fig. 4 thể hiện sự giải phóng hợp chất A từ bọt đơn lớp nhỏ vào trong ePL 100% với các tỷ lệ SUV:MLV (thể tích/thể tích) khác nhau.

Lưu ý: Đối với tất cả các thực nghiệm giải phóng MLV, nồng độ tối đa ($\text{maxC} = 100\%$) thu được bằng cách pha loãng các bọt đơn lớp nạp 7,5 mg/ml theo tỷ lệ từ 1 thành 40, từ 1 thành 100, từ 1 thành 200, hoặc từ 1 thành 500 (thể tích/thể tích) trong hệ đệm sucroza Histidin thay cho các bọt đa lớp.

Sử dụng kiểu thiết lập thực nghiệm này, sự giải phóng hợp chất A rất nhanh từ bọt đơn lớp nhỏ vào các bọt đa lớp tiếp nhận được quan sát thấy. Ở đây, để pha loãng tỷ lệ 1 thành 40, chỉ khoảng 44 % lượng hợp chất A ban đầu áp dụng có thể phát hiện được trong phần bọt đơn lớp của mẫu chỉ sau 2 phút. Do đó, ~60% đã được giải phóng hoặc được chuyển sang phần bọt đa lớp tiếp nhận tại điểm này. Ngoài ra, việc gia tăng hệ số pha loãng (1:100, 1:200, 1:500 SUV:MLV thể tích/thể tích) chỉ thúc đẩy nhanh và gia tăng giải phóng thuốc, khi $t = 2$ phút, tỷ lệ pha loãng 1 thành 100 đã chứng minh sự giải phóng ~70 %, tỷ lệ pha loãng 1 thành 200 là ~80 %, và đối với tỷ lệ pha loãng 1 thành 500 là gần 90% tổng lượng thuốc không thể phát hiện được nữa trong các bọt đơn lớp nhỏ khi $t = 2$ phút và do đó, được giải phóng vào khoang tiếp nhận.

Kết luận

Sự giải phóng nhanh của hợp chất A được chứng minh lên tới 90% hoạt chất thuốc được giải phóng chỉ sau 2 phút. Dữ liệu chứng minh rằng, các liposom theo tự nhiên không giữ lại hợp chất A đã bao nang khi có mặt của lượng dư lipid, trừ phi có sự tái phân bố nhanh chóng hợp chất A trên toàn bộ các lipid có mặt trong quá trình ủ. *In vivo*, kỳ vọng có được tập tính có thể so sánh được. Chế phẩm tạo ra sự cân bằng đặc biệt thuận lợi về sự hòa tan hiệu quả hợp chất A, với đặc tính giải phóng nhanh mong muốn của hợp chất A.

Ví dụ 8: Chế phẩm cô đặc hữu cơ bao gồm hợp chất A và PEG300, biến thể 1

Thành phần	Lượng thành phần trên mL [mg]	Chức năng tá dược
Hợp chất A	60	
DMPG-Na (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, muối natri)	4	chất ổn định
Etanol	94	dung môi
PEG300	224	dung môi, chất ổn định
propylen glycol	728	dung môi

Chế phẩm có thể được tạo ra sử dụng phương pháp tương tự như trong ví dụ 1, hoặc sử dụng các phương pháp đã biết đối với người có kỹ năng trong lĩnh vực.

Ví dụ 9: Chế phẩm cô đặc hữu cơ bao gồm hợp chất A và PEG300, biến thể 2

Thành phần	Lượng thành phần trên mL [mg]	Chức năng tá dược
Hợp chất A	60	
DMPG-Na (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, muối natri)	4	chất ổn định
Etanol	79	dung môi
PEG300	224	dung môi, chất ổn định
propylen glycol	792	dung môi

Chế phẩm có thể được tạo ra bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như trong ví dụ 1, hoặc sử dụng các phương pháp đã biết đối với người có kỹ năng trong lĩnh vực.

Ví dụ 10: Chế phẩm cô đặc hữu cơ bao gồm hợp chất A và PEG300, biến thể 3

Thành phần	Lượng thành phần trên mL [mg]	Chức năng tá dược
Hợp chất A	60	
DMPG-Na (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, muối natri)	2	chất ổn định
Etanol	94	dung môi
PEG300	224	dung môi, chất ổn định
propylen glycol	851	dung môi

Chế phẩm có thể được tạo ra sử dụng phương pháp tương tự như trong ví dụ 1, hoặc sử dụng các phương pháp đã biết đối với người có kỹ năng trong lĩnh vực.

Ví dụ tham chiếu 11: Chế phẩm cô đặc hữu cơ bao gồm hợp chất A, không có chất ổn định chống lại sự gel hóa

Thành phần	Lượng thành phần trên mL [mg]	Chức năng tá dược
Hợp chất A	60	
DMPG-Na (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, muối natri)	4	chất ổn định
Etanol	94	dung môi

propylen glycol	851	dung môi
-----------------	-----	----------

Chế phẩm có thể được tạo ra bằng cách sử dụng phương pháp tương tự như trong ví dụ 1, hoặc sử dụng các phương pháp đã biết đối với người có kỹ năng trong lĩnh vực.

Ví dụ 12: Khảo sát độ ổn định vật lý của chế phẩm cô đặc hữu cơ trong các ví dụ 1, 8 đến 10

Việc khảo sát độ ổn định vật lý được đánh giá sử dụng hai phương pháp riêng biệt: a) tính kháng với sự tạo mầm và b) độ ổn định tìm kiếm trong điều kiện khuấy liên tục với tốc độ 250 vòng/phút ở nhiệt độ 2°C.

a. Thử nghiệm tạo mầm được tiến hành bằng cách bổ sung ~ 1 µL chế phẩm gel hóa (hợp chất A: 60 mg/ml, DMPG: 4,0 mg/ml, propylen glycol 851 mg/ml, etanol: 94 mg/ml: dung dịch này được gel hóa khi được bảo quản trong điều kiện khuấy ở nhiệt độ 2°C) thành chế phẩm cô đặc trong suốt của các ví dụ 1, 8 và 9. Các mẫu được tạo xoáy trong 10 giây và được bảo quản trong tủ lạnh qua đêm ở nhiệt độ 2-8°C. Các chế phẩm trong ví dụ 1, 8 và 9 không thể hiện sự gel hóa hợp chất A khi tạo mầm.

b. Các thực nghiệm về độ ổn định tìm kiếm trong điều kiện khuấy liên tục được thực hiện bằng cách đưa 2 ml của mỗi một chế phẩm cô đặc hữu cơ vào trong ống thủy tinh, và khuấy đều với tốc độ 250 vòng/phút ở nhiệt độ 2°C. Như được thể hiện trong bảng dưới đây, sự gel hóa không xuất hiện đối với các chế phẩm được mô tả trong các ví dụ 1, 8 đến 10, trong thời gian 10 ngày. Sau 13 ngày, chế phẩm trong ví dụ 1 đã gel hóa, nhưng các chế phẩm mô tả trong các ví dụ 8 đến 10 vẫn ổn định, tức là các dung dịch trong suốt.

	Ví dụ 1	Ví dụ 8	Ví dụ 9	Ví dụ 10	Ví dụ tham chiếu 11
--	---------	---------	---------	----------	---------------------

48 giờ	Dung dịch trong suốt	Dung dịch trong suốt	Dung dịch trong suốt	Dung dịch trong suốt	Gel màu trắng không thể đảo ngược
1 tuần	Dung dịch trong suốt	Dung dịch trong suốt	Dung dịch trong suốt	Dung dịch trong suốt	Gel màu trắng không thể đảo ngược
10 ngày	Dung dịch trong suốt	Dung dịch trong suốt	Dung dịch trong suốt	Dung dịch trong suốt	-
13 ngày	Gel màu trắng có thể đảo ngược	Dung dịch trong suốt	Dung dịch trong suốt	Dung dịch trong suốt	-

Một cách thuận lợi, chế phẩm bao gồm PEG300 chống lại sự gel hóa trong thử nghiệm khuấy mô tả ở trên cùng với tính kháng sự tạo mầm. Sự gel hóa chế phẩm trong ví dụ 1 có thể được quản lý bằng cách lựa chọn nhiệt độ bảo quản thích hợp, ví dụ, bằng cách bảo quản ở nhiệt độ trong phòng.

Ví dụ 13: Nạp liposom sử dụng chế phẩm cô đặc trong các ví dụ 1, 8 đến 10

Sự nạp của các liposom được thử nghiệm ở mức 23,7 mL, sử dụng phương thức tương tự như được mô tả ở trong ví dụ 3A.

Chế phẩm cô đặc hữu cơ trong các ví dụ 8 đến 10 thể hiện các đặc tính tải nạp liposom có thể so sánh được với chế phẩm trong ví dụ 1. Các ví dụ 8 đến 10 tạo ra các chế phẩm liposom có độ đục có thể so sánh được với các chế phẩm tạo ra từ ví dụ 1.

	Chế phẩm liposom từ chế phẩm cô đặc trong ví dụ 1	Chế phẩm liposom từ chế phẩm cô đặc trong ví dụ 8	Chế phẩm liposom từ chế phẩm cô đặc trong ví dụ 9	Chế phẩm liposom từ chế phẩm cô đặc trong ví dụ 10
Kích thước, nm	54,3	58,3	54	62,6
PDI	0,287	0,298	0,283	0,282

Độ trong suốt, %	71,2	72,9	72,2	70,7
------------------	------	------	------	------

Kích thước, nm, được tính toán như mô tả ở đây; PDI: Chỉ số đa phân tán

Để tạo thuận lợi cho sự nạp liposom trong ví dụ 8 và ví dụ 9, việc nạp bằng kim 19 G được kiểm tra và so sánh với kim 21 G. Việc sử dụng kim 19 G sinh ra các hạt kích thước nhỏ hơn chút ít và độ đục thấp hơn chút ít so với việc bơm bằng kim 21 G.

Ví dụ 14: Độ ổn định vật lý của chế phẩm cô đặc hữu cơ giả

Các chế phẩm giả (không có hợp chất A) được thử nghiệm ở nhiệt độ -20°C; điều kiện khắc nghiệt mà có thể thúc đẩy nhanh sự kết tủa có thể các thành phần phối chế. Độ ổn định vật lý của chế phẩm cô đặc hữu cơ giả mô tả dưới đây được kiểm tra cho tới 17 ngày.

Thành phần mg/ml	Giả dược của ví dụ 1	Giả dược của ví dụ 8	Giả dược của ví dụ 10
Propylen glycol	851	728	728
Etanol	94	94	94
DMPG-Na (1,2-Dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, muối natri)	4	4	2
PEG300	0	224	224
NaCl	4	0	0
Nước	10	0	0

Quan sát	Giả dược của ví dụ 1	Giả dược của ví dụ 8	Giả dược của ví dụ 10
48 giờ	đục	trong suốt	trong suốt
6 ngày	kết tủa	trong suốt	trong suốt

10 ngày	kết tủa	trong suốt	trong suốt
17 ngày	kết tủa	trong suốt	trong suốt

Sự kết tủa được quan sát thấy trong chế phẩm giả dược của ví dụ 1. Chế phẩm giả dược của các ví dụ 8 và 10 giữ nguyên trong suốt và không quan sát thấy kết tủa trong thực nghiệm.

Ví dụ 15: Độ ổn định hóa học của các chế phẩm cô đặc hữu cơ hoạt tính của các ví dụ 1, 8 và 9

Độ ổn định hóa học của hợp chất hoạt tính trong các chế phẩm của ví dụ 1, 8 và 9 được thử nghiệm, đặc biệt nhằm mục đích khảo sát các mức tạp chất xuất phát từ sự phân hủy oxy hóa, và sự hình thành chất đồng phân atrop không mong muốn.

Nhận dạng, thử nghiệm phân tích và các sản phẩm phân hủy bằng phương pháp HPLC

Nguyên lý	Phương pháp RP HPLC với sự ghép cặp ion và phát hiện UV
Các chất phản ứng	
<i>Axetonitril</i>	loại gradient, ví dụ, Merck LiChrosolv No. 100030
<i>Etanol</i>	loại LC, ví dụ Merck 1.00983
<i>Axit formic</i>	loại LC, ví dụ Prolabo No. 84865.260
<i>Amoni hydroxit 25%</i>	Loại phân tích, ví dụ Sigma No. 09860
<i>H₂O₂ 30%</i>	Loại phân tích, ví dụ Sigma No. 95313
<i>Nước</i>	loại MilliQ hoặc HPLC
<i>Amoni hydroxit loãng</i>	Trong bình thót cổ thể tích 50,0mL, đưa vào 2,5mL amoni hydroxit 25% và bổ sung đầy đủ thể tích bằng nước cất.
<i>Chất pha loãng</i>	Etanol

Vật liệu

Đồ thủy tinh

Thủy tinh hồ phách sẽ được sử dụng

Thiết bị

Thiết bị

Hệ HPLC với sự rửa giải theo gradient và bộ phát hiện UV, ví dụ, Agilent 1290 với bộ phát hiện UV hoặc tương đương

Cột

Acquity BEH C18

Chiều dài: 100mm, đường kính bên trong: 2,1mm

Cỡ hạt: 1,7 μ m

Trang bị bổ sung

Bể siêu âm, cân phân tích, cân vi lượng

Các điều kiện sắc ký

Phương thức tách

Gradient

Pha di động A

Nước + axetonitril + axit formic, 95 + 5 + 0,02 (thể tích/thể tích/thể tích)

phần nước có độ pH = 4,9, được điều chỉnh bằng amoni hydroxit.

Bổ sung 200 μ L axit formic vào 950 mL nước. Điều chỉnh độ pH tới 4,9 sử dụng amoni hydroxit loãng. Bổ sung 50mL axetonitril.

Pha di động B

Nước + axetonitril + axit formic, 5 + 95 + 0,02 (thể tích/thể tích/thể tích), phần nước có độ pH = 4,9, được điều chỉnh bằng amoni hydroxit.

Bổ sung 200 μ L axit formic vào 50mL nước. Điều chỉnh độ pH tới 4,9 sử dụng amoni hydroxit loãng. Bổ sung 950mL axetonitril.

Các thể tích khác có thể được sử dụng miễn là tỷ lệ thể tích vẫn giữ nguyên.

Bảng gradien

Thời gian [phút]	Pha A [%]	Pha B [%]
0,0	100	0,000
2,0	100	0,000
3,0	60	40,0
11,0	52	48
14,0	10	90
14,3	100	0,000
16,0	100	0,000

Tốc độ dòng 0,6 mL/phút

Phát hiện UV 210 nm

Nhiệt độ cột 40°C

Nhiệt độ bộ tự lấy mẫu 2-8°C

Dung môi rửa bơm Etanol sử dụng của xả với tối thiểu 10 giây

Thể tích bơm 5µl dung dịch thử nghiệm và dung dịch tham chiếu, tương đương khoảng 1,0µg chất thuốc trong dung dịch tham chiếu

Chế phẩm	Thời điểm (tuần)	Nhiệt độ °C	Đồng phân atrop không mong muốn, %	Ox1· %	Ox2· %	SUM DP
Ví dụ 8	6	5,0	<0,1	<0,1	<0,1 (0,06*)	<0,1
		40,0	3,78	<0,1 (0,04*)	0,13	0,13
Ví dụ 8	8	5,0	<0,1	<0,1	<0,1 (0,05*)	<0,1
		40,0	4,86	<0,1	0,18	0,28
Ví dụ 9	6	5,0	<0,1	<0,1	<0,1 (0,07*)	<0,1
		40,0	3,53	<0,1 (0,02*)	0,11	0,11
Ví dụ 9	8	5,0	<0,1	<0,1	<0,1 (0,04*)	<0,1
		40,0	4,42	<0,1	0,14	0,14
Ví dụ 1	6	5,0	1,54	<0,1	<0,1 (0,05*)	<0,1
		40,0	4,63	<0,1	<0,1 (0,04*)	<0,1
Ví dụ 1	8	5,0	1,62	<0,1	<0,1 (0,04*)	<0,1
		40,0	6,06	<0,1	<0,1 (0,05*)	<0,1
Ví dụ 1, vừa điều chế	5,0	5,0	<0,1	<0,1	<0,1 (0,04*)	<0,1
		40,0	2,82	<0,1	<0,1 (0,06*)	<0,1
	7	5,0	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1

Ví dụ 1, vừa điều chế					(0,03*)
	40,0	3,58	<0,1	<0,1	(0,05*)

*Dưới mức thông báo; % được biểu diễn là % diện tích đỉnh; Ox1 và Ox2 là hai sản phẩm phân hủy oxy hóa. Sum DP là tổng của các sản phẩm phân hủy, với việc loại trừ các chất đồng phân atrop, trên mức thông báo. Chế phẩm trong ‘ví dụ 1’ được điều chế 8 tháng trước khi nghiên cứu, được bảo quản ở nhiệt độ 25°C tới khi bắt đầu nghiên cứu. Chế phẩm ‘vừa điều chế trong ví dụ 1’ được điều chế ngay trước khi bắt đầu nghiên cứu và được để ngay ở nhiệt độ lần lượt là 5°C và 40°C.

Các sản phẩm phân hủy oxy hóa là thấp đối với tất cả các biến thể phối chế ở trên. Sự gia tăng về chất đồng phân atrop không mong muốn phát hiện được có liên quan đến nhiệt độ và thời gian, nhưng không bị thay đổi bởi các biến thể phối chế được thử nghiệm.

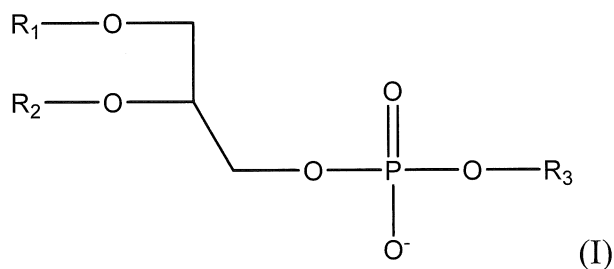
Kiểm tra bằng mắt không thấy sự thay đổi nào về màu sắc của chế phẩm cô đặc trong bất kỳ chế phẩm phối chế nào được thử nghiệm ở trên.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm cô đặc hữu cơ chứa:
 - a. hợp chất A mà hợp chất này là axit 2- $\{[5-\{3\text{-clo-2-metyl-4-[2-(4-metyl)piperazin-1-yl]etoxy]phenyl}\}-6-(4\text{-flophenyl})\text{thieno}[2,3\text{-}d]\text{pyrimidin-4-yl]oxy}\}-3-(2-\{[2-(2\text{-metoxyphenyl})\text{pyrimidin-4-yl]metoxy}\}phenyl)\text{propanoic}$, hoặc muối được dụng của nó,
 - b. chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực, và
 - c. chất ổn định chống lại sự gel hóa, trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa này là polyme được chọn từ PEG300 và PEG400, hoặc chất điện giải mà là natri clorua.
2. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo điểm 1, chứa hợp chất A mà hợp chất này là axit (2*R*)-2- $\{[(5S_a)-5-\{3\text{-clo-2-metyl-4-[2-(4-metyl)piperazin-1-yl]etoxy]phenyl}\}-6-(4\text{-flophenyl})\text{thieno}[2,3\text{-}d]\text{pyrimidin-4-yl]oxy}\}-3-(2-\{[2-(2\text{-metoxyphenyl})\text{pyrimidin-4-yl]metoxy}\}phenyl)\text{propanoic}$, hoặc muối được dụng của nó.
3. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo điểm 1 hoặc 2, trong đó hợp chất A là phân tử tự do.
4. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực được chọn từ muối natri hoặc amoni của DMPG (1,2-dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, hoặc dimyristoyl phosphatidylglyxerol), muối natri của POPG (1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glyxero-3[phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri của DOPS (1,2-dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphoserin), muối natri của DOPG (1,2-dioleoyl-sn-glyxero-3[Phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri hoặc amoni của DPPG (1,2-dipalmitoyl-sn-glyxero-3[phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri hoặc amoni của DSPG (1,2-distearoyl-sn-glyxero-3[phospho-rac-(1-glyxerol)]), muối natri của axit phosphatidic (PA) đậu tương, muối natri của axit phosphatidic (PA) của trứng, muối natri của phosphatidylserin (PS) đậu tương, muối natri của phosphatidylglyxerol (PG) của trứng, muối natri của phosphatidylglyxerol (PG) đậu tương, muối natri của phosphatidyl inositol (PI), lecithin trứng (ví dụ Lipoid E 80 S), lecithin đậu tương

(ví dụ Lipoid S 75), và natri oleat.

5. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực là muối natri hoặc amoni của 1,2-dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol, lecithin trứng (ví dụ Lipoid E 80 S), lecithin đậu tương (ví dụ Lipoid S 75), tốt hơn là muối natri của 1,2-dimyristoyl-sn-glyxero-3-phospho-rac-glyxerol.
6. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa là natri clorua.
7. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa là PEG300.
8. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó chế phẩm này còn chứa dung môi.
9. Chế phẩm cô đặc hữu cơ theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó chế phẩm này còn chứa dung môi được chọn từ propylen glycol và etanol, hoặc đặc biệt là chứa cả propylen glycol và etanol.
10. Dược phẩm thu được từ hỗn hợp của chế phẩm cô đặc hữu cơ theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, và thể mang liposom, trong đó thể mang liposom này chứa phospholipit và chất điều chỉnh độ trương được chọn từ dextroza, glucoza, manitol, sucroza, lactoza, trehaloza, glyxerin và NaCl.
11. Dược phẩm theo điểm 10, trong đó phospholipit được chọn từ lecithin trứng, lecithin đậu tương, hoặc các phospholipit tổng hợp.
12. Dược phẩm theo điểm 10 hoặc 11, trong đó phospholipit có công thức:



trong đó:

- R_1 là C_{10} - C_{24} axyl;
- R_2 là C_{10} - C_{24} axyl;
- R_3 là hydro, 2-trimetyl-amino-1-etyl, 2-amino-1-etyl, C_1 - C_4 alkyl, C_1 - C_5 alkyl được thế bằng carboxy, C_2 - C_5 alkyl được thế bằng carboxy và hydroxy, C_2 - C_5 alkyl được thế bằng carboxy và amino, nhóm inositol hoặc nhóm glyxeryl;

hoặc muối của hợp chất này.

13. Được phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 10 đến 12, trong đó phospholipit được chọn từ lecithin trứng, lecithin đậu tương, POPC (palmitoyl oleoyl phosphatidylcholin), DOPC (1,2-dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), và DMPC (1,2-dimyristoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), đặc biệt là POPC (palmitoyl oleoyl phosphatidylcholin), DOPC (1,2-dioleoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), và DMPC (1,2-dimyristoyl-sn-glyxero-3-phosphocholin), đặc biệt là POPC.

14. Được phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm 10, 11 hoặc 13, trong đó phospholipit được chọn từ lecithin trứng hoặc lecithin đậu tương chứa ít nhất 70% phosphatidylcholin, và đặc biệt là được chọn từ Lipoid E 80 S.

15. Được phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 10 đến 14, trong đó chất điều chỉnh độ trương được chọn từ sucroza hoặc glyxerin.

16. Được phẩm liposom chứa, ngoài các liposom:

a. hợp chất A mà hợp chất này là axit 2-{[5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpipezazin-

1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic, hoặc muối được dụng của nó;

b. chất ổn định chống lại sự gel hóa, trong đó chất ổn định chống lại sự gel hóa này là polyme được chọn từ PEG300 và PEG400, hoặc chất điện giải mà là natri clorua; và

c. chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực.

17. Dược phẩm liposom theo điểm 16, chứa:

a. hợp chất A như được mô tả trong các điểm 2 hoặc 3, và

b. chất ổn định chống lại sự gel hóa, như được mô tả trong điểm bất kỳ trong số các điểm 6 hoặc 7.

18. Dược phẩm liposom theo điểm 16, trong đó chất ổn định phospholipit tích điện âm hoặc phân cực đã nêu là như được mô tả trong các điểm 4 hoặc 5.

19. Dược phẩm liposom theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 16 đến 18, trong đó dược phẩm này còn chứa dung môi.

20. Dược phẩm liposom theo điểm 19, trong đó dung môi này được chọn từ propylen glycol và etanol, hoặc đặc biệt là chứa cả propylen glycol và etanol.

21. Dược phẩm liposom theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 16 đến 20, trong đó dược phẩm này chứa phospholipit như được mô tả trong điểm bất kỳ trong số các điểm từ 11 đến 14.

22. Dược phẩm liposom theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 16 đến 21, trong đó dược phẩm này còn chứa chất điều chỉnh độ trương được chọn từ dextroza, glucoza, manitol, sucroza, lactoza, trehaloza, glyxerin và NaCl.

23. Tổ hợp chứa:

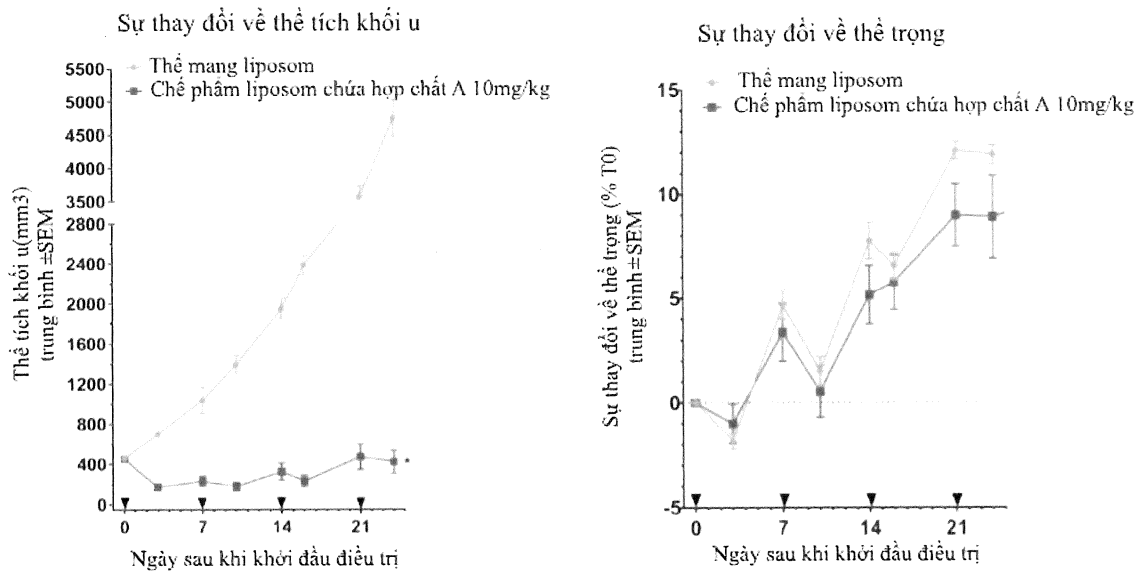
- a. được phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 10 đến 22, và
- b. một hoặc nhiều tác nhân có hoạt tính điều trị, để sử dụng đồng thời, tuần tự hoặc riêng biệt.

24. Bộ kit chứa:

- a. thể mang liposom và
- b. chế phẩm cô đặc hữu cơ theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9.

FIG. 1

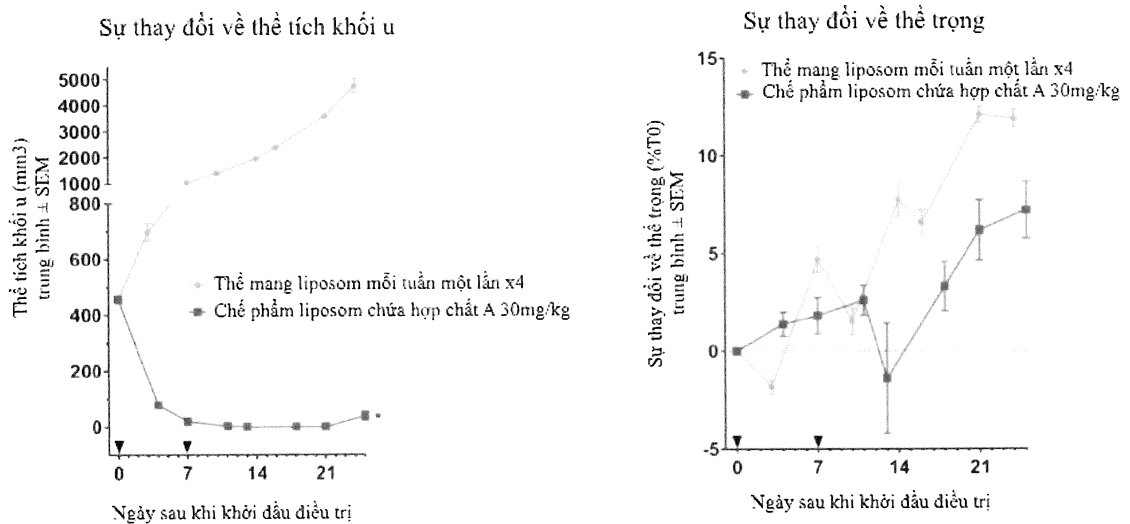
Hiệu quả và khả năng dung nạp của hợp chất A phối chế dạng liposom sau khi dùng 10 mg/kg mỗi tuần một lần ở chuột cái trụi lông mang khối u ghép ngoại lai AML MV4;11



* $p < 0,05$, so với nhóm thế mang (ANOVA một chiều với kiểm định Dunnett hậu kiểm).

FIG. 2

Hiệu quả và khả năng dung nạp của hợp chất A phối chế dạng liposom sau khi dùng 30 mg/kg mỗi tuần một lần ở chuột cái trụi lông mang khối u ghép ngoại lai AML MV4;11



* $p < 0,05$, so với nhóm thử nghiệm (ANOVA một chiều với kiểm định Dunnett hậu kiểm).

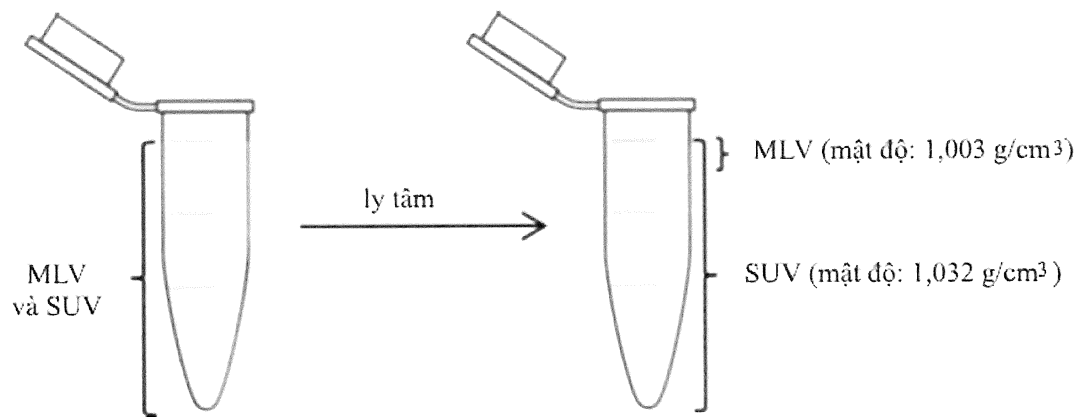
FIG. 3

FIG. 4

Sự giải phóng hợp chất A từ SUV vào 100% ePC MLV theo các tỷ lệ SUV:MLV (thể tích/thể tích) khác nhau

