



(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



1-0036235

(51)<sup>7</sup> A61K 38/26; A61K 47/00; A61M 5/142; (13) B  
A61K 47/26; A61K 9/00; A61K 9/08;  
A61K 38/00; A61K 47/20

- 
- (21) 1-2018-01710 (22) 25/09/2016  
(86) PCT/US2016/053628 25/09/2016 (87) WO 2017/053922 30/03/2017  
(30) 62/233,032 25/09/2015 US; 15/136,650 22/04/2016 US  
(45) 25/07/2023 424 (43) 25/09/2019 378A  
(73) XERIS PHARMACEUTICALS, INC. (US)  
180 N. LaSalle Street, Suite 1600, Chicago, IL 60601, United States of America.  
(72) PRESTRELSKI, Steven (US); DONOVAN, Martin (US); SANDOVAL, Michael (US).  
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)
- 

(54) CHẾ PHẨM GLUCAGON ỔN ĐỊNH VÀ PHƯƠNG PHÁP BẢO CHẾ PEPTIT  
GLUCAGON ỔN ĐỊNH

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa tác nhân điều trị bệnh, cũng như phương pháp tạo ra chế phẩm này, trong đó chế phẩm này chứa ít nhất một tác nhân điều trị bệnh được hòa tan trong hệ dung môi phân cực không proton chứa ít nhất một tá được ổn định ion hóa ở nồng độ đủ để tạo ra độ ổn định hóa học và vật lý cho tác nhân điều trị bệnh.

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập chung đến chế phẩm điều trị bệnh để sử dụng ngoài đường tiêu hóa. Cụ thể, sáng chế liên quan đến việc sử dụng các dung môi phân cực không proton để điều chế chế phẩm điều trị bệnh ổn định bằng cách hòa tan tác nhân điều trị bệnh (hoạt chất) trong hệ dung môi phân cực không proton mà không cần sấy khô peptit từ dung dịch đậm trong nước trước khi hòa tan trong hệ dung môi phân cực không proton. Ngoài hoạt chất này, (các) tá dược làm ổn định cũng có thể được chứa trong chế phẩm, cụ thể là tá dược ổn định ion hóa.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Peptit được hòa tan trong các dung môi phân cực không proton có thể thể hiện độ ổn định và độ hòa tan được tăng cường so với dung dịch chứa nước (xem US 2014/0005135 và US 8,697,644); tuy nhiên, việc hòa tan trực tiếp một số peptit trong dung môi phân cực không proton thường không phải là phương pháp có thể thực hiện được để điều chế chế phẩm điều trị bệnh và ổn định do không có độ ổn định khi bảo quản. Một ví dụ cụ thể là glucagon, hormon peptit gốc 29 axit amin được sử dụng để điều trị chứng giảm glucoza huyết. Glucagon có điểm đẳng điện bằng xấp xỉ 7,0, và phân tử này về cơ bản không hòa tan ở độ pH trung tính. Do đó, dung dịch chứa nước phải được tạo thành trong môi trường axit hoặc kiềm trước khi phân tử này có thể được hòa tan ở các nồng độ có liên quan đến điều trị bệnh. Tuy nhiên, dung dịch axit và kiềm thúc đẩy các con đường thoái biến glucagon, và phân tử glucagon thường xuyên có xu hướng tạo sợi nhỏ và tạo thành các khối kết tụ giống gel trong dung dịch axit loãng. Do đó, do sự không ổn định của phân tử glucagon, nên các chất trị liệu sẵn có hiện nay được bán dưới dạng bột đã làm khô lạnh mà phải được hoàn nguyên bằng cách sử dụng chất pha loãng ngay trước khi sử dụng. Ngược lại, phân tử glucagon có thể thể hiện độ ổn định và độ hòa tan được

tăng cường trong các dung môi phân cực không proton, như dimethyl sulfoxit (DMSO).

Ngoài các peptit và protein, các dung môi phân cực không proton cũng có thể tăng cường độ hòa tan và độ ổn định của thuốc phân tử nhỏ điều trị bệnh so với dung dịch chứa nước. Ví dụ, thuốc phân tử nhỏ diazepam có độ hòa tan vô cùng thấp trong nước ở độ pH trung tính ( $< 2$  mg/mL). Để tăng cường độ ổn định của diazepam, độ pH của dung dịch chứa nước là axit hoặc kiềm, lần lượt làm tăng tốc độ thủy phân và thoái biến. Ngược lại, diazepam hòa tan rất tốt trong các dung môi phân cực không proton dimethyl sulfoxit (DMSO) và *n*-methyl pyrrolidon (NMP), với độ hòa tan ít nhất ở mức cường độ lớn hơn trong DMSO và NMP so với nước trung tính ( $> 50$  mg/mL). Ngoài ra, khi không có mặt tá dược trong chế phẩm, phân tử diazepam có thể ổn định trong DMSO và NMP, thể hiện độ ổn định trong thời gian ít nhất 6 tháng trong các dung môi phân cực không proton trong các điều kiện bảo quản được tăng cường ( $40^{\circ}\text{C}$ , RH 75%) (xem patent Mỹ số 9,125,805).

Điều chế chế phẩm peptit không chứa nước thông qua sự hòa tan trực tiếp của peptit trong dung môi phân cực không proton đã được mô tả trong tình trạng kỹ thuật. Ví dụ, McMullen (Đơn yêu cầu cấp patent Anh số 2,119,248 A, dưới đây là McMullen '248) mô tả việc pha chế các dung dịch insulin bằng cách hòa tan trực tiếp các tinh thể insulin trong DMSO. Stevenson et al. (patent Mỹ số 5,932,547, dưới đây là Stevenson '547), bộc lộ các chế phẩm peptit được điều chế bằng cách hòa tan trực tiếp peptit trong dung môi phân cực không proton, như DMSO hoặc dimethylformamit (DMF). Các chế phẩm được mô tả bởi Stevenson '547 là các dung dịch được điều chế bằng cách hòa tan trực tiếp bột peptit nhận được từ nhà sản xuất hoặc nhà cung cấp trong dung môi không chứa nước, và không bao gồm việc sử dụng tá dược làm ổn định được bổ sung vào chế phẩm để thiết đặt profin ion hóa chấp nhận được để ngăn chặn sự thoái biến vật lý và/hoặc hóa học của phân tử điều trị bệnh. Trong khi hòa tan trực tiếp phân tử điều trị bệnh trong các dung môi phân cực không proton như DMSO có thể cải thiện độ hòa tan so với nước, phân tử này vẫn dễ bị ảnh hưởng bởi nhiều con đường thoái biến vật lý và hóa học. Do đó, việc hòa tan trực tiếp trong hệ dung môi phân cực không proton được tìm thấy không

phải là con đường thích hợp để điều chế các chế phẩm ổn định chứa nhiều phân tử điều trị bệnh. Là một ví dụ, ở các nồng độ có liên quan đến điều trị bệnh (ví dụ, 5 mg/mL, hoặc xấp xỉ 0,45% (trọng lượng/trọng lượng)), các dung dịch được pha chế bằng cách hòa tan trực tiếp bột glucagon trong DMSO ban đầu có thể tạo ra các chế phẩm một pha, trong, nhưng cuối cùng sẽ tạo ra các khối kết tụ không hòa tan trong thời gian 24 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Do đó, việc hòa tan trực tiếp một số peptit trong dung môi phân cực không proton không phải là phương pháp có thể thực hiện được để điều chế chế phẩm điều trị bệnh ổn định.

Các chế phẩm theo sáng chế cũng khác biệt với các chế phẩm được mô tả bởi Prestrelski et al. (patent Mỹ số 8,697,644, dưới đây là Prestrelski '644), bộc lộ các chế phẩm peptit được điều chế bằng cách sấy khô hoạt chất (ví dụ, peptit) từ dung dịch đậm trong nước, và sau đó hoàn nguyên bột peptit trong dung môi phân cực không proton. Theo phương pháp này, profin ion hóa mà phân tử này thu được trong dung dịch đậm trong nước mà nó được làm khô có thể được giữ lại cả trong bột và sau đó hòa tan trong hệ dung môi phân cực không proton. Khả năng của peptit để giữ lại profin ion hóa của nó ở trạng thái khô từ dung dịch chứa nước cuối cùng mà nó được làm khô được đề cập đến dưới dạng “ghi nhớ độ pH.” Tuy nhiên, hướng tiếp cận này cần đến bước sấy khô trước khi hoàn nguyên trong dung môi phân cực không proton, như sấy thăng hoa hoặc sấy phun, trong đó tá dược làm ổn định sẽ cần phải được bảo vệ phân tử khỏi các stress gặp phải trong khi sấy khô (ví dụ, stress do nhiệt, stress cơ học, stress bề mặt). Hơn nữa, ngoài bước sấy khô làm tăng chi phí đáng kể, cả về thời gian và phí tổn, đối với con đường phát triển sản phẩm, là các thông số vận hành và các thành phần của chế phẩm cần thiết để sấy khô phân tử thường phải được tối ưu đối với tác nhân điều trị bệnh cụ thể, trong khi chuyển từ việc sản xuất và xử lý trên quy mô phòng thí nghiệm sang quy mô lớn cần đến phương pháp phát triển và tối ưu khác.

Do đó, vẫn cần đến nền chế phẩm mà kết hợp độ ổn định và độ hòa tan được tạo ra bởi các hệ dung môi phân cực không proton, nhưng đơn giản hóa và/hoặc thúc đẩy con đường phát triển sản phẩm bằng cách loại bỏ yêu cầu làm khô phân tử

điều trị bệnh từ dung dịch chứa nước trước khi hoàn nguyên trong hệ dung môi phân cực không proton có khả năng tương thích sinh học.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Các phân tử điều trị bệnh thường cần đến profin ion hóa tối ưu hoặc có lợi để thể hiện độ ổn định kéo dài khi được hòa tan trong hệ dung môi phân cực không proton. Sáng chế hướng đến phát hiện bất ngờ rằng profin ion hóa tối ưu hoặc có lợi của phân tử điều trị bệnh có thể thu được bằng sự hòa tan trực tiếp tác nhân điều trị bệnh trong hệ dung môi phân cực không proton chứa nồng độ xác định của ít nhất một tá dược ổn định ion hóa. Các phương án nhất định của sáng chế đề cập đến các phương pháp điều chế chế phẩm ổn định chứa ít nhất một phân tử điều trị bệnh được hòa tan trong hệ dung môi phân cực không proton, mà không cần đến phân tử điều trị bệnh được sấy khô trước đó từ dung dịch đậm trong nước trước khi hoàn nguyên trong hệ dung môi phân cực không proton.

Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra giải pháp để khắc phục các vấn đề về độ ổn định hiệu quả và tính phức tạp của việc sản xuất bổ sung mà có thể xuất hiện khi tác nhân điều trị bệnh được hòa tan trực tiếp trong các dung môi phân cực không proton hoặc được sấy khô từ dung dịch chứa nước trước khi được hoàn nguyên trong dung môi phân cực không proton. Dung dịch này xuất hiện khi hòa tan trực tiếp tác nhân điều trị bệnh (ví dụ, bột thu được từ nhà sản xuất hoặc nhà cung cấp thương mại) cùng với một lượng hữu hiệu của tá dược ổn định ion hóa để thiết lập sự ion hóa thích hợp của tác nhân điều trị bệnh trong hệ dung môi phân cực không proton.

Cụ thể, khả năng loại bỏ bước sấy khô peptit từ dung dịch đậm trong nước, ví dụ thông qua bước đông khô, trước khi hoàn nguyên trong hệ dung môi phân cực không proton được thực hiện để tiết kiệm chi phí và thời gian đáng kể thông qua các giai đoạn mở rộng sản phẩm khác nhau. Đã biết rõ rằng việc phát triển phương pháp sấy khô là bước xử lý cần nhiều thời gian và đắt đỏ thường phải được biến đổi để phù hợp với mỗi phân tử điều trị bệnh. Hơn nữa, trong khi sản xuất, khả năng thiết kế quy mô lớn bước sấy khô được làm phức tạp bằng cách sử dụng thiết bị

và/hoặc dụng cụ khác đáng kể với các thiết bị và/hoặc dụng cụ được sử dụng ở quy mô phòng thí nghiệm, trong đó các bước xử lý ban đầu được nghiên cứu và tối ưu hóa. Do đó, khả năng điều chế chế phẩm peptit điều trị bệnh ổn định thông qua sự hòa tan trực tiếp hoạt chất trong hệ dung môi phân cực không proton, khi không có bước sấy khô này, sẽ tạo thuận lợi cho việc mở rộng quy mô và sản xuất bằng cách loại bỏ bước xử lý tốn thời gian và đắt tiền. Hơn nữa, trong khi sấy khô, tác nhân điều trị bệnh được tiếp xúc với nhiều stress hơn so với tác nhân có thể làm thoái biến phân tử, và làm ổn định các tá dược (ví dụ, các disacarit như trehaloza và sucroza) thường được bổ sung vào chế phẩm ban đầu để bảo vệ chống lại sự thoái biến của tác nhân hoạt hóa trong quy trình sấy khô. Việc sử dụng các tá dược làm ổn định bổ sung bằng cách loại bỏ bước sấy khô, cụ thể là các tá dược thường được bao gồm để tạo ra độ ổn định trong bước sấy khô, có thể được giảm thiểu, nhờ đó cho phép toàn bộ quy trình bào chế được đơn giản hóa.

Một phát hiện bổ sung bởi các tác giả sáng chế là việc có thể điều chế các dung dịch ổn định chứa (các) tác nhân điều trị bệnh được hòa tan trong các dung môi phân cực không proton không chứa nước (ví dụ, DMSO), bằng cách bổ sung lượng xác định của hợp chất, hoặc hỗn hợp của các hợp chất, mà có chức năng làm tá dược ổn định ion hóa. Không bị ràng buộc bởi lý thuyết, nên cho rằng tá dược ổn định ion hóa có thể đóng vai trò làm nguồn proton (ví dụ, phân tử có thể chuyển proton cho phân tử điều trị bệnh) trong hệ dung môi phân cực không proton mà có thể bổ sung proton vào các nhóm tạo ion trên phân tử điều trị bệnh sao cho phân tử điều trị bệnh mang profin ion hóa có độ ổn định vật lý và hóa học được cải thiện trong hệ dung môi phân cực không proton. Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất chế phẩm ổn định để tiêm ngoài đường tiêu hóa. Theo cách khác, sự phân phối qua da như thông qua việc ứng dụng khu trú trên da có thể được sử dụng.

Các phương án nhất định đề cập đến chế phẩm chứa tác nhân điều trị bệnh bao gồm tác nhân điều trị bệnh ở nồng độ ít nhất, hầu hết, hoặc khoảng 0,1, 1, 10, 50, hoặc 100 mg/mL đến 150, 200, 300, 400, hoặc 500 mg/ml hoặc lên đến giới hạn hòa tan của tác nhân điều trị bệnh trong hệ dung môi phân cực không proton bao gồm nồng độ của ít nhất một tá dược ổn định ion hóa mà cung cấp độ ổn định vật lý

và hóa học cho tác nhân điều trị bệnh. Theo các khía cạnh nhất định, tác nhân điều trị bệnh là peptit. Theo các khía cạnh khác, tác nhân điều trị bệnh là phân tử nhỏ. Chế phẩm này có thể bao gồm tá dược ổn định ion hóa ở nồng độ ít nhất, tối đa, hoặc khoảng 0,01, 0,1, 0,5, 1, 10, hoặc 50 mM đến 10, 50, 75, 100, 500, 1000 mM, hoặc lên đến giới hạn hòa tan của tá dược ổn định ion hóa trong hệ dung môi phân cực không proton. Theo các khía cạnh nhất định, tá dược làm ổn định nồng độ ion hóa nằm trong khoảng từ 0,1 mM đến 100 mM. Theo các phương án nhất định, tá dược ổn định ion hóa có thể là axit vô cơ thích hợp, như axit clohydric. Theo các khía cạnh nhất định, tá dược ổn định ion hóa có thể là axit hữu cơ, như axit amin, dẫn xuất axit amin, hoặc muối của axit amin hoặc dẫn xuất axit amin (các ví dụ bao gồm glyxin, trimetylglyxin (betain), glyxin hydroclorua, và trimetylglyxin (betain) hydroclorua). Theo một khía cạnh khác, axit amin có thể là glyxin hoặc dẫn xuất axit amin trimetylglyxin. Theo các khía cạnh nhất định, peptit có ít hơn 150, 100, 75, 50, hoặc 25 axit amin. Theo các khía cạnh khác, hệ dung môi không proton chứa DMSO. Dung môi không proton có thể được khử oxy, ví dụ, DMSO được khử oxy. Theo các phương án nhất định, chế phẩm có thể được điều chế bằng cách bổ sung trước hết tá dược ổn định ion hóa vào hệ dung môi phân cực không proton, sau đó bổ sung phân tử điều trị bệnh. Theo cách khác, phân tử điều trị bệnh có thể được hòa tan ban đầu trong hệ dung môi phân cực không proton sau đó bổ sung tá dược ổn định ion hóa. Theo một khía cạnh khác, tá dược ổn định ion hóa và phân tử điều trị bệnh có thể được hòa tan đồng thời trong hệ dung môi phân cực không proton. Theo các khía cạnh nhất định, tác nhân điều trị bệnh là glucagon hoặc muối của nó.

Các phương án khác của sáng chế đề cập đến các phương pháp bào chế ổn định tác nhân điều trị bệnh (ví dụ, peptit hoặc phân tử nhỏ) bao gồm các bước: (a) tính toán hoặc xác định tá dược ổn định ion hóa thích hợp hoặc nồng độ proton cần để đạt được profin ion hóa ổn định của tác nhân điều trị bệnh đích (ví dụ, (các) peptit hoặc (các) phân tử nhỏ) trong hệ dung môi phân cực không proton; (b) trộn ít nhất một tá dược ổn định ion hóa với hệ dung môi phân cực không proton để thu được môi trường ion hóa thích hợp mà tạo ra profin ion hóa được xác định trong

bước (a); và (c) hòa tan (các) tác nhân điều trị bệnh đích trong dung môi không proton có môi trường thích hợp để làm ổn định vật lý và hóa học tác nhân điều trị bệnh. Theo khía cạnh không giới hạn nhất định, tác nhân điều trị bệnh là ổn định hóa học hoặc vật lý trong thời gian ít nhất hoặc khoảng 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 4, hoặc 5 năm ở nhiệt độ trong phòng. Theo các khía cạnh nhất định, việc hòa tan tác nhân điều trị bệnh và bổ sung tá dược ổn định ion hóa vào hệ dung môi phân cực không proton có thể được tiến hành theo thứ tự bất kỳ hoặc đồng thời, do đó tá dược ổn định ion hóa có thể được trộn trước sau khi hòa tan tác nhân điều trị bệnh, hoặc tác nhân điều trị bệnh có thể được hòa tan sau đó bổ sung tá dược ổn định ion hóa vào dung dịch, hoặc tá dược ổn định ion hóa và tác nhân điều trị bệnh có thể được bổ sung hoặc hòa tan trong hệ dung môi phân cực không proton đồng thời. Theo một khía cạnh khác, toàn bộ lượng thành phần (ví dụ, tác nhân điều trị bệnh hoặc tá dược ổn định ion hóa) không cần được trộn ở thời điểm cụ thể; tức là, phần của một hoặc nhiều thành phần có thể được trộn lần thứ nhất, lần thứ hai, hoặc đồng thời, và phần khác được trộn ở thời điểm khác, lần thứ nhất, lần thứ hai, hoặc đồng thời. Theo các khía cạnh nhất định, tác nhân điều trị bệnh có thể là peptit, và tá dược ổn định ion hóa có thể là axit vô cơ thích hợp, như axit clohydric, axit sulfuric, và/hoặc axit nitric. Theo các khía cạnh nhất định, (các) peptit có ít hơn 150, 100, 75, 50, hoặc 25 axit amin. Nồng độ của tác nhân điều trị bệnh và/hoặc tá dược ổn định ion hóa được bổ sung vào dung dịch có thể nằm trong khoảng 0,01, 0,1, 1, 10, 100, 1000 mM, hoặc lên đến giới hạn độ tan của nó, bao gồm tất cả các giá trị và các khoảng giá trị trong đó. Theo các khía cạnh nhất định, hệ dung môi phân cực không proton được khử oxy. Theo một khía cạnh khác, hệ dung môi phân cực không proton chứa, cơ bản gồm có, hoặc gồm có DMSO hoặc DMSO được khử oxy.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị hoặc ngăn chặn tình trạng bệnh lý, bệnh, rối loạn, v.v. bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng (các) chế phẩm theo sáng chế với lượng hữu hiệu để điều trị hoặc ngăn chặn tình trạng bệnh lý, bệnh, rối loạn, v.v.. Liều dùng thích hợp bất kỳ của tác nhân điều trị bệnh (ví dụ, protein, peptit, hoặc phân tử nhỏ) có thể được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế. Liều dùng được sử dụng, tất nhiên, sẽ thay

đòi phụ thuộc vào các yếu tố đã biết, như các đặc tính dược lý của hợp chất, muối, hoặc hỗn hợp cụ thể; độ tuổi, sức khỏe, hoặc cân nặng của đối tượng; bản chất và mức độ của các triệu chứng; các đặc tính chuyển hóa của thuốc và bệnh nhân, loại phương pháp điều trị đồng thời; tần suất điều trị; hoặc tác dụng mong muốn. Theo các khía cạnh nhất định, chứng giảm glucoza huyết có thể được điều trị bằng cách sử dụng chế phẩm được mô tả ở đây bao gồm một lượng hữu hiệu của glucagon.

Chế phẩm ổn định được mô tả ở đây là hữu ích để tiêm tác nhân điều trị bệnh bất kỳ (protein, peptit, và/hoặc phân tử nhỏ) ngoài đường tiêu hóa có độ ổn định hoặc độ hòa tan kém hoặc bị hạn chế trong môi trường nước. Theo các khía cạnh nhất định, chế phẩm như được mô tả ở đây được tạo ra trong chế phẩm có thể tiêm. Chế phẩm có thể tiêm này có thể được sử dụng trong lớp biểu bì, lớp da hoặc lớp dưới da của động vật. Theo các khía cạnh nhất định, các chế phẩm này được sử dụng trong da.

Do đó, theo một số phương án, tác nhân hoặc peptit điều trị bệnh hoặc muối của nó được chọn từ nhóm bao gồm glucagon, pramlintit, insulin, leuprolit, chất chủ vận LHRH, hormon parathyroid (PTH), amylin, độc tố botulinum, hematit, peptit dạng tinh bột, cholecystikinin, conotoxin, peptit ức chế dạ dày, nhân tố phát triển giống insulin, yếu tố giải phóng hormon sinh trưởng, yếu tố kháng khuẩn, glatirame, peptit-1 giống glucagon (GLP-1), chất chủ vận GLP-1, exenatit, các chất tương tự của chúng, và hỗn hợp của chúng. Theo một phương án được ưu tiên, peptit là glucagon hoặc chất tương tự glucagon hoặc chất giả peptit glucagon. Theo một phương án khác, peptit là hormon parathyroid. Theo một phương án khác nữa, peptit là leuprolit. Theo một phương án khác nữa, peptit là glatirame. Theo một phương án khác nữa, peptit thứ nhất là pramlintit và peptit thứ hai là insulin. Theo một phương án khác nữa, peptit thứ nhất là glucagon và peptit thứ hai là exenatit.

#### Các định nghĩa

Thuật ngữ “hòa tan” như được sử dụng trong bản mô tả dùng để chỉ quy trình mà (các) vật liệu ở trạng thái khí, rắn, hoặc lỏng trở thành (các) thành phần hòa tan, (các) thành phần được hòa tan, của dung môi, tạo thành dung dịch chứa khí, chất

lỏng, hoặc chất rắn trong dung môi. Theo các khía cạnh nhất định, tác nhân hoặc tá dược điều trị bệnh, ví dụ, tá dược ổn định ion hóa, có mặt với lượng so sánh được với độ tan được giới hạn của nó hoặc được hòa tan hoàn toàn. Thuật ngữ “hòa tan” dùng để chỉ khí, chất lỏng, hoặc chất rắn được kết hợp vào dung môi để tạo ra dung dịch.

Thuật ngữ “tá dược” như được sử dụng trong bản mô tả dùng để chỉ chất tự nhiên hoặc tổng hợp được bào chế cùng với hoạt chất hoặc thành phần điều trị bệnh (thành phần không phải là hoạt chất) của dược phẩm, được bao gồm nhằm mục đích làm ổn định, xếp thành khối, hoặc tạo ra sự tăng cường điều trị bệnh đối với hoạt chất ở dạng liều dùng cuối cùng, như tạo thuận lợi cho sự hấp thụ thuốc, làm giảm độ nhớt, tăng cường độ hòa tan, điều chỉnh tính trơ, làm giảm bớt sự khó chịu ở vị trí tiêm, làm giảm nhiệt độ kết đông, hoặc tăng cường độ ổn định. Các tá dược cũng có thể hữu ích trong quy trình sản xuất, để hỗ trợ việc xử lý chất có hoạt tính có liên quan như bằng cách hỗ trợ các đặc tính dễ chảy hoặc không dính của bột, ngoài việc hỗ trợ độ ổn định *in vitro* như ngăn chặn sự biến tính hoặc kết tụ trong thời gian sử dụng được mong đợi.

“Thuốc phân tử nhỏ” trong ngữ cảnh của sáng chế là các hợp chất có hoạt tính sinh học (và muối của chúng) mà có thể mang lại tác dụng mong muốn, có lợi, và/hoặc dược lý cho đối tượng. “Thuốc phân tử nhỏ” này là các hợp chất hữu cơ hoặc vô cơ. Do đó, thuốc phân tử nhỏ trong ngữ cảnh của sáng chế không phải là hợp chất polyme. Thông thường, thuốc phân tử nhỏ có trọng lượng phân tử nhỏ hơn khoảng 1000 Dalton. Thuốc phân tử nhỏ đã biết là “nhạy ẩm” trong đó chúng tăng lên không ổn định khi có mặt nước. Ngoài ra, muối có thể được sử dụng với thuốc phân tử nhỏ đã được biết bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm các muối với axit vô cơ, axit hữu cơ, bazơ vô cơ, hoặc bazơ hữu cơ.

Thuật ngữ “tác nhân điều trị bệnh” bao gồm các protein, peptit, thuốc phân tử nhỏ, và muối dược dụng của nó. Các muối hữu ích đã được biết bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm các muối với axit vô cơ, axit hữu cơ, bazơ vô cơ, hoặc bazơ hữu cơ. Tác nhân điều trị bệnh hữu ích theo sáng chế là các hợp chất protein, peptit, và phân tử nhỏ mà ảnh hưởng đến tác dụng mong

muôn, có lợi và thường là tác dụng dược lý khi sử dụng cho người hoặc động vật, một mình hoặc kết hợp với tá dược hoặc thành phần trợ khác.

Thuật ngữ “peptit” và “hợp chất peptit” dùng để chỉ axit amin hoặc polyme giống axit amin (các chất giả peptit) lên đến khoảng 200 gốc axit amin được liên kết cùng nhau bởi amit (CONH) hoặc các mối liên kết khác. Theo các khía cạnh nhất định, peptit có thể lên đến 150, 100, 80, 60, 40, 20, hoặc 10 axit amin. “Protein” và “hợp chất protein” dùng để chỉ polyme lớn hơn 200 gốc axit amin được liên kết cùng nhau bằng các mối liên kết amit. Các chất tương tự, các dẫn xuất, chất chủ vận, chất đối kháng, và các muối được dụng của các hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất peptit hoặc protein được bộc lộ ở đây được bao gồm trong các thuật ngữ này. Các thuật ngữ cũng bao gồm các hợp chất peptit, protein, hợp chất peptit, và protein mà có các D-axit amin, các axit amin được cải biến, được tạo dẫn xuất, hoặc có trong tự nhiên trong cấu hình D hoặc L và/hoặc các đơn vị giả peptit là một phần cấu trúc của chúng.

“Chất tương tự” và “chất giống,” dùng để chỉ peptit hoặc protein, dùng để chỉ peptit hoặc protein được cải biến trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin của peptit hoặc protein được thay thế bằng các gốc axit amin khác, hoặc trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin được xóa bỏ khỏi peptit hoặc protein, hoặc trong đó một hoặc nhiều gốc axit amin được bổ sung vào peptit hoặc protein, hoặc hỗn hợp bất kỳ của các cải biến này. Việc bổ sung, xóa bỏ, hoặc thay thế các gốc axit amin có thể diễn ra ở thời điểm bất kỳ, hoặc nhiều thời điểm, cùng với cấu trúc cơ bản bao gồm peptit, gồm đầu cuối N của peptit hoặc protein và/hoặc ở đầu cuối C của peptit hoặc protein.

“Dẫn xuất,” liên quan đến peptit hoặc protein gốc, dùng để chỉ peptit hoặc protein gốc được cải biến về mặt hóa học hoặc chất tương tự của chúng, trong đó ít nhất một phần tử thể không có mặt trong peptit hoặc protein gốc hoặc chất tương tự của chúng. Một ví dụ không giới hạn này là peptit hoặc protein gốc được cải biến cộng hóa trị. Các cải biến điển hình là các amit, hydrat cacbon, nhóm alkyl, nhóm axyl, este, nhóm PEG hóa (pegylation) và các nhóm tương tự.

“Dung dịch một pha” dùng để chỉ dung dịch được điều chế từ tác nhân điều trị bệnh được hòa tan trong dung môi, hoặc hệ dung môi (ví dụ, hỗn hợp của hai hoặc nhiều dung môi), trong đó tác nhân điều trị bệnh được hòa tan hoàn toàn trong dung môi và không có chất tạo hạt có thể nhìn thấy được nữa, sao cho dung dịch có thể được mô tả là trong về mặt quang học. Dung dịch một pha cũng có thể được đề cập đến dưới dạng “hệ một pha,” và được phân biệt với “hệ hai pha” trong đó hệ hai pha bao gồm chất tạo hạt (ví dụ, bột) được tạo huyền phù trong chất lưu.

“Ức chế” hoặc “làm giảm” hoặc dạng ngữ pháp bất kỳ của các thuật ngữ này bao gồm việc ức chế hoàn toàn hoặc giảm có thể đo được để đạt được kết quả mong muốn.

“Hiệu quả” hoặc “điều trị” hoặc “ngăn chặn” hoặc dạng ngữ pháp bất kỳ của các thuật ngữ này thích hợp để đạt được kết quả mong muốn, được mong đợi, hoặc được dự định.

“Độ ổn định hóa học,” dùng để chỉ tác nhân điều trị bệnh, dùng để chỉ tỷ lệ phần trăm chấp nhận được của các sản phẩm thoái biến được tạo ra bằng các con đường hóa học như con đường oxy hóa và/hoặc thủy phân và/hoặc phân đoạn và/hoặc thoái biến hóa học khác. Cụ thể, chế phẩm được xem là ổn định về mặt hóa học nếu không có nhiều hơn khoảng 20% sản phẩm bị hỏng được tạo ra sau một năm bảo quản ở nhiệt độ bảo quản được dự định của sản phẩm (ví dụ, nhiệt độ trong phòng); hoặc bảo quản sản phẩm ở nhiệt độ 25°C/ độ ẩm tương đối 60% trong thời gian một năm; hoặc bảo quản sản phẩm ở nhiệt độ 40°C/độ ẩm tương đối 75% trong thời gian một tháng, và tốt hơn là ba tháng. Theo một số phương án, chế phẩm ổn định hóa học có ít hơn 30%, ít hơn 25%, ít hơn 20%, ít hơn 15%, ít hơn 10%, ít hơn 5%, ít hơn 4%, ít hơn 3%, ít hơn 2%, hoặc ít hơn 1% sản phẩm bị hỏng được tạo ra sau khoảng thời gian bảo quản kéo dài ở nhiệt độ bảo quản được dự định của sản phẩm.

“Độ ổn định vật lý,” dùng để chỉ tác nhân điều trị bệnh, dùng để chỉ tỷ lệ phần trăm có thể chấp nhận được của các khối kết tụ (ví dụ, dime, trime và các dạng lớn hơn) được tạo thành. Cụ thể, chế phẩm được xem là ổn định vật lý nếu không có

nhiều hơn khoảng 15% khối kết tụ được tạo ra sau thời gian một năm bảo quản ở nhiệt độ bảo quản được dự định của sản phẩm (ví dụ, nhiệt độ trong phòng); hoặc bảo quản sản phẩm ở nhiệt độ 25°C/độ ẩm tương đối 60% trong thời gian một năm; hoặc bảo quản sản phẩm ở nhiệt độ 40°C/độ ẩm tương đối 75% trong thời gian một tháng, và tốt hơn là ba tháng. Theo một số phương án, chế phẩm ổn định về mặt vật lý có ít hơn ít hơn 15%, ít hơn 10%, ít hơn 5%, ít hơn 4%, ít hơn 3%, ít hơn 2%, hoặc ít hơn 1% khối kết tụ được tạo ra sau khoảng thời gian bảo quản kéo dài ở nhiệt độ bảo quản được dự định của sản phẩm.

“Chế phẩm ổn định” dùng để chỉ chế phẩm trong đó ít nhất khoảng 65% tác nhân điều trị bệnh (ví dụ, peptit hoặc muối của chúng) ổn định hóa học và vật lý sau thời gian hai tháng bảo quản ở nhiệt độ trong phòng. Các chế phẩm được ưu tiên đặc biệt là các chế phẩm trong đó ít nhất khoảng 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, hoặc 99% tác nhân điều trị bệnh ổn định hóa học và vật lý giữ lại trong các điều kiện bảo quản này. Các chế phẩm ổn định được ưu tiên đặc biệt là các chế phẩm không thể hiện sự thoái biến sau khi bức xạ vô trùng (ví dụ, tia gama, beta, hoặc electron).

Như được sử dụng ở đây, “sử dụng ngoài đường tiêu hóa” dùng để chỉ việc sử dụng tác nhân điều trị bệnh cho bệnh nhân thông qua đường dùng khác với ống thức ăn - đường dùng không phải bằng đường tiêu hóa.

Như được sử dụng ở đây, “tiêm ngoài đường tiêu hóa” dùng để chỉ việc sử dụng tác nhân điều trị bệnh (ví dụ, peptit hoặc phân tử nhỏ) *thông qua* việc tiêm dưới hoặc qua một hoặc nhiều lớp da hoặc màng nhầy của động vật, như người. Việc tiêm ngoài đường tiêu hóa tiêu chuẩn được đưa vào vùng dưới da, trong cơ, hoặc trong da của động vật, ví dụ, người. Các vị trí sâu này được hướng đích do các mô mở rộng dễ dàng hơn so với vị trí da nông để cung cấp các thể tích tiêm cần thiết để phân phối tác nhân điều trị bệnh tốt nhất, ví dụ, từ 0,1 đến 3,0 cc (mL).

Thuật ngữ “trong da” bao gồm việc sử dụng trong lớp biểu bì, da hoặc dưới da.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “dung môi phân cực không proton” dùng để chỉ dung môi phân cực mà không chứa hydro axit và do đó không đóng vai trò làm chất cho liên kết hydro. Các dung môi không proton có cực gồm, nhưng không giới hạn ở dimethylsulfoxit (DMSO), dimethylformamit (DMF), etyl axetat, n-metylpyrrolidon (NMP), dimethylaxetamit (DMA), và propylen cacbonat.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “hệ dung môi phân cực không proton” dùng để chỉ dung dịch trong đó dung môi là một dung môi phân cực không proton (ví dụ, DMSO nguyên chất), hoặc hỗn hợp của hai hoặc nhiều dung môi phân cực không proton (ví dụ, hỗn hợp của DMSO và NMP).

Như được sử dụng ở đây, “hơi ẩm dư” có thể dùng để chỉ hơi ẩm dư trong bột thuốc sau khi bào chế bởi nhà sản xuất/nhà cung cấp. Bột điển hình thường có hàm lượng hơi ẩm dư lên đến 10% (trọng lượng/trọng lượng). Khi bột này được hòa tan trong hệ dung môi phân cực không proton, hơi ẩm dư trong bột được kết hợp vào chế phẩm. Ngoài ra, các dung môi phân cực không proton cũng có thể chứa mức độ nhất định của hơi ẩm dư. Ví dụ, bình được mở mới chứa DMSO mức USP có thể chứa lên đến hơi ẩm 0,1% (trọng lượng/trọng lượng). Hơi ẩm dư khác với “hơi ẩm bổ sung,” trong đó nước được bổ sung có chủ ý vào chế phẩm, ví dụ để thích hợp làm đồng dung môi, hoặc để làm giảm điểm kết đông của hệ dung môi phân cực không proton. Hơi ẩm cũng có thể được đưa vào chế phẩm trong khi bổ sung tá dược ổn định ion hóa (ví dụ, thông qua việc bổ sung axit khoáng từ dung dịch khối chứa nước (ví dụ, HCl 1N)). Hàm lượng ẩm tổng số (% trọng lượng/trọng lượng, trừ khi có quy định khác) trong chế phẩm ngay sau khi điều chế là do phần góp chung từ cả hơi ẩm dư và hơi ẩm bổ sung.

Thuật ngữ “khoảng” hoặc “xấp xỉ” hoặc “gần như không thay đổi” được định nghĩa như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này, và theo một phương án không giới hạn, các thuật ngữ được xác định là trong khoảng 10%, tốt hơn là trong khoảng 5%, tốt hơn nữa là trong khoảng 1%, và tốt nhất là trong khoảng 0,5%. Hơn nữa, “gần như không chứa nước” dùng để chỉ ít hơn 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, hoặc ít hơn về trọng lượng hoặc thể tích nước.

Phần hợp thành, tá dược hoặc thành phần “dược dụng” là một thành phần thích hợp để sử dụng cho người và/hoặc động vật mà không có tác dụng phụ bất lợi quá mức (như đặc tính độc, sự kích thích và phản ứng dị ứng) tương xứng với tỷ lệ có lợi/nguy hiểm hợp lý.

“Chất mang dược dụng” dùng để chỉ dung môi dược dụng, tác nhân tạo hỗn dịch, hoặc chất dẫn thuốc để phân phối hợp chất thuốc theo sáng chế cho động vật có vú như người.

Như được sử dụng ở đây, “tá dược ổn định ion hóa” là tá dược mà thiết lập và/hoặc duy trì trạng thái ion hóa đặc biệt cho tác nhân điều trị bệnh. Theo các khía cạnh nhất định, tá dược ổn định ion hóa có thể, hoặc gồm, phân tử mà chuyển ít nhất một proton trong các điều kiện thích hợp hoặc là nguồn proton. Theo định nghĩa của Bronsted-Lowry, axit là phân tử có thể chuyển proton cho một phân tử khác, bằng cách nhận proton proton được chuyển có thể được phân loại thành bazơ. Như được sử dụng trong sáng chế, và sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình, thuật ngữ “proton” dùng để chỉ ion hydro, cation hydro, hoặc  $H^+$ . Ion hydro không có các electron và bao gồm các nhân thường chỉ gồm proton (đối với chất đồng vị hydro phổ biến nhất, protii). Cụ thể, phân tử có thể chuyển proton cho tác nhân điều trị bệnh được xem là nguồn axit hoặc proton, không kể đến việc xem xét xem liệu nó có được ion hóa hoàn toàn, hầu như được ion hóa, ion hóa một phần, hầu như không được ion hóa, hoặc không được ion hóa hoàn toàn trong dung môi phân cực không proton hay không.

Như được sử dụng ở đây “axit khoáng” là axit thu được từ một hoặc nhiều hợp chất vô cơ. Do đó, axit khoáng cũng có thể được đề cập đến dưới dạng “axit vô cơ.” Axit khoáng có thể là monoaxit hoặc đa axit (ví dụ, diaxit, triaxit, v.v..). Các ví dụ về các axit khoáng gồm axit clohydric (HCl), axit nitric (HNO<sub>3</sub>), axit sulfuric (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), và axit phosphoric (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>).

Như được sử dụng ở đây “axit hữu cơ” là hợp chất hữu cơ với các tính chất axit (tức là có thể có chức năng làm nguồn proton). Axit carboxylic, như axit axetic hoặc axit xitric, là một ví dụ về axit hữu cơ. Các ví dụ về axit hữu cơ đã biết khác

gồm, nhưng không giới hạn ở, rượu, thiol, enol, phenol, và axit sulfonic. Axit hữu cơ có thể là monoaxit hoặc đa axit (ví dụ, diaxit, triaxit, v.v.).

“Profin tích điện,” “trạng thái tích điện,” “sự ion hóa,” “trạng thái ion hóa,” và “profin ion hóa” có thể được sử dụng thay thế cho nhau và dùng để chỉ trạng thái ion hóa do sự bổ sung proton và/hoặc loại bỏ proton của nhóm tạo ion của peptit.

Như được sử dụng ở đây, “đồng chế phẩm” là chế phẩm chứa hai hoặc nhiều tác nhân điều trị bệnh hòa tan trong hệ dung môi phân cực không proton. Tác nhân điều trị bệnh có thể thuộc cùng một nhóm (ví dụ, đồng chế phẩm chứa hai hoặc nhiều peptit trị liệu, như insulin và pramlintit), hoặc tác nhân điều trị bệnh có thể thuộc các nhóm khác nhau (ví dụ, đồng chế phẩm chứa một hoặc nhiều phân tử nhỏ điều trị bệnh và một hoặc nhiều phân tử peptit điều trị bệnh, như GLP-1 và lisofylin).

Việc sử dụng dạng số ít khi được sử dụng kết hợp với thuật ngữ “chứa” trong các điểm yêu cầu bảo hộ và/hoặc bản mô tả có thể dùng để chỉ một, nhưng cũng phù hợp với nghĩa “một hoặc nhiều,” “ít nhất một,” và “một hoặc nhiều hơn một.”

Các từ “bao gồm” (và dạng ngữ pháp bất kỳ của nó), “có” (và dạng ngữ pháp bất kỳ của nó), “gồm” (và dạng ngữ pháp bất kỳ của nó) hoặc “chứa” (và dạng ngữ pháp bất kỳ của nó) là bao gồm hoặc được kết thúc mở và không loại trừ các yếu tố hoặc các bước của phương pháp bổ sung, không được trích dẫn.

Các đối tượng, dấu hiệu và ưu điểm khác của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng từ phần mô tả chi tiết dưới đây. Tuy nhiên, nên được hiểu rằng phần mô tả chi tiết và các ví dụ, trong khi chỉ rõ các phương án của sáng chế, được đưa ra chỉ bằng cách minh họa. Ngoài ra, được dự tính rằng các thay đổi và các cải biến trong phạm vi của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này từ phần mô tả chi tiết này.

### **Mô tả vắn tắt các hình vẽ**

Các hình vẽ sau đây tạo ra một phần của sáng chế và được bao gồm để chứng minh các khía cạnh đã biết của sáng chế. Sáng chế có thể được hiểu rõ hơn bằng

cách tham khảo một hoặc nhiều hình vẽ này kết hợp với phần mô tả chi tiết về các phương án của bản mô tả được thể hiện ở đây.

FIG. 1 (ảnh bên trái) thể hiện sự tạo thành các hạt không hòa tan khi glucagon được hòa tan trực tiếp trong DMSO ở 5 mg/mL (như được mô tả bởi Stevenson) sau thời gian 24 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Ảnh trên phía bên phải thể hiện chế phẩm được điều chế bằng cách hòa tan glucagon trong DMSO (ở nồng độ 5 mg/mL) với glyxin hydroclorua 5 mM, vẫn trong sau thời gian bảo quản ít nhất sáu tuần ở nhiệt độ 40°C.

FIG. 2 thể hiện tác dụng của nồng độ HCl đối với độ ổn định của pramlintit khi được hòa tan trong DMSO.

### **Mô tả chi tiết sáng chế**

Khi được điều chế dưới dạng dung dịch chứa nước, các phân tử nhỏ, peptit, và protein tiêu chuẩn có thể dễ bị ảnh hưởng bởi các con đường thoái biến hóa học và vật lý. Đối với nhiều phân tử trong số các phân tử điều trị bệnh này, các con đường thoái biến cần nước (ví dụ, thủy phân, raxemic hóa, loại nhóm amit) không thể tránh được và do đó phân tử này không được làm ổn định một cách thích hợp. Do đó, nhiều tác nhân điều trị bệnh không thể được điều chế dưới dạng dung dịch ổn định để tiêm ngoài đường tiêu hóa, và thay vì đó được điều chế dưới dạng bột mà được hoàn nguyên ngay trước khi sử dụng.

Để khắc phục tính không ổn định mà nhiều phân tử điều trị bệnh thể hiện trong nước, các chế phẩm có thể được điều chế trong đó tác nhân điều trị bệnh được hòa tan trong chất lỏng không chứa nước có khả năng tương thích sinh học, như dung môi phân cực không proton. Các ví dụ từ phần tình trạng kỹ thuật được mô tả ở trên, cụ thể là Stevenson '547 bộc lộ các chế phẩm được điều chế bằng cách hòa tan trực tiếp bột peptit trong dung môi phân cực không proton, và Prestrelski '644 mà bộc lộ bước làm khô bột peptit từ dung dịch đậm trong nước trước khi hòa tan trong DMSO.

Việc sử dụng các dung môi phân cực không proton để điều chế chế phẩm điều trị bệnh không chứa nước để ức chế nhiều con đường thoái biến phổ biến, cụ thể là

các con đường cần có nước, có thể cải thiện đáng kể độ ổn định của (các) phân tử điều trị bệnh được hòa tan hoặc được làm hòa tan. Tuy nhiên, các vấn đề sẽ tồn tại với các chế phẩm và phương pháp được bộc lộ trong tình trạng kỹ thuật. Cụ thể, việc hòa tan trực tiếp phân tử điều trị bệnh trong dung môi phân cực không proton không phải là hướng tiếp cận thích hợp để điều chế các chế phẩm ổn định của hầu hết các phân tử điều trị bệnh; việc hòa tan leuprolit được mô tả trong Stevenson '547 là một ngoại lệ. Như được lưu ý ở phần trước, và sẽ được mô tả chi tiết hơn trong các ví dụ dưới đây, khi được hòa tan trực tiếp trong DMSO ở nồng độ bằng 5 mg/mL, glucagon hormon peptit sẽ tạo ra các khối kết tụ không hòa tan trong một ngày bảo quản ở nhiệt độ trong phòng. Đối với chế phẩm chỉ chứa glucagon và DMSO, 5 mg/mL tương ứng với xấp xỉ 0,45% (trọng lượng/trọng lượng) hợp chất peptit, chỉ ra rằng ngay cả ở các nồng độ tương đối thấp, việc hòa tan trực tiếp trong hệ dung môi phân cực không proton không thể tự ngăn chặn sự kết tụ và/hoặc gelatin hóa vật lý của phân tử điều trị bệnh. Hơn nữa, các phân tử điều trị bệnh có thể không tạo ra các khối kết tụ không hòa tan trong hệ dung môi phân cực không proton có thể thiên về sự thoái biến hóa học khi được hòa tan trực tiếp trong hệ dung môi phân cực không proton.

Không bị ràng buộc bởi lý thuyết, nên cho rằng để thể hiện độ hòa tan hoặc độ ổn định tối ưu hoặc được tăng cường khi được bào chế trong hệ dung môi phân cực không proton, phân tử điều trị bệnh có thể cần đến profin ion hóa riêng. Profin ion hóa là trạng thái tích điện thu được thông qua việc bổ sung proton và/hoặc loại bỏ proton của các nhóm tạo ion của phân tử điều trị bệnh. Ví dụ, việc bổ sung proton của gốc axit amin sinh ion (ví dụ, arginin, lysin) bao gồm peptit trị liệu sẽ mang toàn bộ điện tích dương trên các phân tử trong dung dịch. Các lực đẩy tĩnh điện trong khoảng thời gian tương đối dài giữa các phân tử tích điện dương có thể ức chế các tương tác kỵ nước trong khoảng thời gian ngắn mà có thể dẫn đến sự kết tụ và/hoặc gelatin hóa vật lý. Do đó, khi không bổ sung proton đầy đủ (tức là, profin ion hóa tối ưu hoặc có lợi), các phân tử điều trị bệnh được hòa tan trong hệ dung môi phân cực không proton có thể không ổn định về mặt vật lý và dẫn đến sự tạo thành các khối kết tụ hòa tan và/hoặc không hòa tan. Do đó, có thể cần thiết để gồm

ít nhất một tá dược với nồng độ đủ để đóng vai trò làm tác nhân làm ổn định ion hóa có khả năng ảnh hưởng đến profin ion hóa đối với độ ổn định vật lý và/hoặc hóa học được cải thiện với hoạt chất trong hệ dung môi phân cực không proton. Như sẽ được giải thích trong các phần sau đây, và được minh họa bằng các ví dụ khác nhau, nồng độ thích hợp của (các) tá dược ổn định ion hóa phải được bổ sung vào dung dịch phụ thuộc vào các yếu tố khác nhau gồm, nhưng không giới hạn ở, cấu trúc hóa học của tá dược ổn định ion hóa, cấu trúc hóa học của (các) hoạt chất, nồng độ của (các) hoạt chất, hệ dung môi được sử dụng, sự có mặt của các dung môi, và sự có mặt của các tá dược hoặc thành phần chế phẩm bổ sung và các nồng độ tương ứng của chúng.

Các chế phẩm và phương pháp được bộc lộ bởi Prestrelski '644 được chỉ định để thiết đặt profin ion hóa tối ưu đối với các phân tử điều trị bệnh trước khi chúng được hòa tan trong hệ dung môi phân cực không proton. Như được bộc lộ bởi Prestrelski '644, bột peptit từ nhà cung cấp/nhà sản xuất được hòa tan ban đầu trong dung dịch đệm trong nước, trong đó độ pH của dung dịch peptit chứa nước được tạo đệm được cài đặt đối với dung dịch có độ ổn định và độ hòa tan tối ưu đối với peptit cụ thể. Peptit sau đó được sấy khô (ví dụ, thông qua kỹ thuật sấy đông khô hoặc sấy phun) thành bột từ dung dịch chứa nước để cho profin ion hóa của phân tử peptit trong bột có thể bằng với profin ion hóa của phân tử peptit trong dung dịch chứa nước được sấy khô từ đó. Khi bột peptit sau đó được hòa tan trong hệ dung môi phân cực không proton, profin ion hóa của phân tử peptit có thể gần bằng với profin ion hóa của phân tử peptit trong bột. Do đó, profin ion hóa của phân tử peptit trong hệ dung môi phân cực không proton gần bằng với profin ion hóa của phân tử peptit trong dung dịch đệm trong nước.

Phương pháp bào chế được bộc lộ bởi Prestrelski '644 (được gọi là “bộ nhớ pH” trong patent '644) có thể khắc phục các vấn đề về độ ổn định (tức là, sự thoái biến vật lý và hóa học) gặp phải khi phân tử điều trị bệnh được hòa tan trực tiếp trong hệ dung môi phân cực không proton. Tuy nhiên, nhu cầu của việc làm khô phân tử điều trị bệnh từ dung dịch đệm trong nước để tối ưu hóa profin ion hóa của phân tử và truyền bộ nhớ pH trước khi nó được hòa tan trong dung môi phân cực

không proton phải chịu các chi phí bổ sung đáng kể, cả về thời gian và phí tổn, đối với con đường phát triển của chế phẩm. Cụ thể, quy trình sấy khô đã biết để mang các stress khác nhau đối với phân tử điều trị bệnh, và các tá dược bổ sung (ví dụ, chất bảo vệ đông lạnh như trehalose và sucrose, và/hoặc các chất hoạt động bề mặt như polysorbate 80) phải được bao gồm trong dung dịch chứa nước với lượng đủ để bảo vệ phân tử điều trị bệnh, nhờ đó làm tăng chi phí và tính phức tạp của chế phẩm. Hơn nữa, quy trình sấy khô (ví dụ, sấy phun, sấy thăng hoa) thường phải được tối ưu hóa đối với phân tử điều trị bệnh đã cho, cả ở quy mô phòng thí nghiệm trong khi nghiên cứu và phát triển ban đầu, trong đó quy trình này được phát triển ban đầu, và sau đó trong quy mô sản xuất là quy trình được mở rộng quy mô và được chuyển vào các thiết bị và phương tiện có khả năng sản xuất các mẻ có quy mô thương mại. Do đó, sự kết hợp của sự phát triển và tối ưu hóa ban đầu quy trình sấy khô đối với phân tử điều trị bệnh đã cho, được kết hợp với thời gian và chi phí có liên quan đến cả việc chuyển phương pháp và kết hợp bước bổ sung trong quy trình sản xuất có thể là rất đắt. Do đó, cần có phương pháp tạo ra (các) phân tử điều trị bệnh với profin ion hóa thích hợp trong hệ dung môi phân cực không proton mà không cần sấy khô phân tử từ dung dịch đậm trong nước trong đó độ pH của dung dịch chứa nước được điều chỉnh để tạo ra profin ion hóa thích hợp đối với phân tử.

Các tác giả sáng chế đã cung cấp dung dịch mà tạo ra độ ổn định và độ hòa tan tăng được thể hiện bằng nhiều phân tử điều trị bệnh trong các dung môi phân cực không proton khi chúng mang profin ion hóa thích hợp hoặc tối ưu, nhưng không phải sấy khô bột từ dung dịch chứa nước trước khi hòa tan trong hệ dung môi phân cực không proton. Dung dịch này vẫn hòa tan ion hóa (các) tá dược làm ổn định trực tiếp trong dung môi phân cực không proton, được kết hợp với việc hòa tan phân tử peptit hoặc phân tử nhỏ trực tiếp trong dung môi phân cực không proton. Không bị ràng buộc bởi lý thuyết, nên cho rằng bằng cách tạo ra lượng đủ của tá dược ổn định ion hóa để đạt được profin ion hóa thích hợp hoặc tối ưu của phân tử điều trị bệnh, lực đẩy tĩnh điện giữa các phân tử điều trị bệnh mang cùng tính phân cực tích điện (tức là tích điện âm hoặc dương) có thể là đủ độ lớn để ngăn chặn sự thoái biến vật lý (ví dụ, thông qua sự tương tác kỵ nước trong khoảng gần giữa các

phân tử mà dẫn đến sự kết tụ). Điều này đặc biệt quan trọng đối với các phân tử mà thể hiện xu hướng kết tụ trong dung dịch, cụ thể là nồng độ của phân tử trong dung dịch tăng lên. Hơn nữa, bằng cách kiểm soát và tối ưu mức độ ion hóa (tức là, bổ sung proton hoặc loại bỏ proton) của tác nhân điều trị bệnh, sự thoái biến hóa học có thể bị giảm thiểu, như, ví dụ, sự dư thừa của bổ sung proton có thể thúc đẩy tính không ổn định thông qua các phản ứng thoái biến như oxy hóa (ví dụ, oxy hóa các gốc methionin) và phân đoạn (ví dụ, sự phân cắt của khung peptit). Do đó, đối với một số phân tử điều trị bệnh, có thể là profin ion hóa tối ưu hoặc có lợi đạt được thông qua việc bổ sung proton để cho các phản ứng thoái biến vật lý và/hoặc hóa học được giảm thiểu. Đối với peptit trị liệu, mức độ bổ sung proton cần thiết để làm ổn định, và do đó lượng tá dược ổn định ion hóa cần đến trong dung dịch, sẽ phụ thuộc vào, trong số các yếu tố khác, cấu trúc cơ bản (tức là, trình tự axit amin) và nồng độ của peptit trong dung dịch.

Mỗi phân tử mà có chức năng làm tá dược ổn định ion hóa sẽ thể hiện xu hướng nhất định để chuyển các proton vào (các) phân tử điều trị bệnh trong hệ dung môi đã cho; xu hướng để chuyển proton này có thể được đề cập đến dưới dạng nồng độ axit tương ứng của phân tử. Đối với nồng độ cố định của phân tử chuyển proton, (và để đơn giản hóa, nên cho rằng chỉ các phân tử monoaxit trong ví dụ này) có nồng độ axit hơn đậm đặc hơn sẽ bổ sung proton vào phân tử điều trị bệnh đến mức độ lớn hơn so với axit yếu. Do đó, nồng độ của phân tử chuyển proton đã cho (tá dược ổn định ion hóa) cần để đạt được profin ion hóa thích hợp hoặc tối ưu đối với các phân tử điều trị bệnh sẽ tỷ lệ nghịch với nồng độ axit của nó. Các khía cạnh không giới hạn này và các khía cạnh khác của sáng chế được thảo luận ở đây.

Theo các khía cạnh nhất định, dung môi phân cực không proton có thể được khử oxy trước khi điều chế chế phẩm. Nhiều kỹ thuật khác nhau có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế để khử oxy hoặc loại bỏ oxy khỏi các dung môi phân cực không proton (khử khí hoặc khử oxy). Ví dụ, được dự tính rằng việc khử oxy có thể, nhưng không giới hạn ở, loại bỏ oxy mà được hòa tan trong dung môi phân cực không proton lỏng bằng một mình chất lỏng, bằng chất lỏng và các phân tử chất tan khác (ví dụ, mixen, xyclodextrin, v.v.), hoặc bằng một mình các phân tử

chất tan khác. Các ví dụ không giới hạn về các kỹ thuật khử oxy gồm việc đặt dung môi phân cực không proton trong điều kiện áp suất giảm và/hoặc gia nhiệt chất lỏng để làm giảm độ hòa tan của khí hòa tan, chưng cất phân đoạn, khử khí màng, thay thế bằng khí trơ, sử dụng chất khử, chu kỳ đóng băng-bơm-tan băng, hoặc bảo quản trong thời gian dài trong vật chứa bằng chốt gió. Theo một phương án, dung môi phân cực không proton được khử oxy bằng khử khí chân không. Theo một phương án khác dung môi phân cực không proton được khử oxy bằng cách sử dụng bộ khử khí. Trong một trường hợp, bộ khử khí là dạng khay hoặc bộ khử khí dạng tầng. Trong một trường hợp khác, bộ khử khí là bộ khử khí dạng phun. Theo một phương án khác nữa, dung môi phân cực không proton được khử oxy bằng cách sử dụng màng tách khí-lỏng. Trong một trường hợp, dung môi phân cực không proton được khử khí bằng cách sử dụng màng tách khí-lỏng và áp suất giảm. Theo một phương án, khí không phải oxy (ví dụ,  $N_2$ ) được sục qua chất lỏng để thay thế hoặc làm giảm oxy trong dung môi phân cực không proton. Trong một trường hợp, khí được sục qua dung môi phân cực không proton là argon, heli, nitơ, khí trơ, và/hoặc khí hydro, tốt hơn là khí nitơ. Trong một trường hợp khác, khí được sục qua dung môi phân cực không proton sử dụng cột cất khí. Theo một phương án khác nữa, dung môi phân cực không proton được khử oxy bằng một hoặc nhiều (chất) khử. Các ví dụ không giới hạn về các chất khử gồm amoni sulfit, khí hydro, kim loại khử oxy hoạt hóa, đồng, thiếc, cadimi, hợp kim kim loại Wood (50% bitmut, 25% chì, 12,5% thiếc, và 12,5% cadimi), v.v.. Theo một phương án khác nữa, dung môi phân cực không proton được khử khí bằng chu kỳ đóng băng-bơm-tan băng (ví dụ, ít nhất 1, 2, 3, hoặc nhiều chu kỳ có thể được sử dụng). Trong một trường hợp, chu kỳ đóng băng-bơm-tan băng bao gồm bước đóng băng dung môi phân cực không proton dưới nitơ lỏng, đặt trong chân không, và sau đó làm tan dung môi trong nước ấm. Theo một phương án, dung môi phân cực không proton được khử oxy bằng cách bảo quản trong thời gian dài trong vật chứa thép, thủy tinh, hoặc gỗ. Theo một phương án khác, dung môi phân cực không proton được nghiền bằng sóng âm, được nghiền bằng sóng siêu âm, hoặc được khuấy trong khi khử oxy.

Ngay khi được xử lý hoặc được khử oxy, các dung môi phân cực không proton có thể có ít hơn 0,1 mM oxy hòa tan, tốt hơn là ít hơn 0,05 mM oxy hòa tan. Các phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể được sử dụng để xác định lượng oxy hòa tan trong dung môi phân cực không proton nhất định (ví dụ, dụng cụ đo oxy hòa tan hoặc thiết bị dò có thể được sử dụng như đầu dò oxy hòa tan có bán trên thị trường bởi Vernier (Beaverton, Oregon, USA)).

Theo các khía cạnh nhất định, các chế phẩm được bọc lộ trong sáng chế có thể được điều chế và/hoặc được bịt kín dưới khí trơ. Các phương pháp thông thường bao gồm bước lắp đầy lại hệ thống đóng kín vật chứa chính (ví dụ, các lọ nhỏ) để tạo ra khoảng cách để chứa thêm khí trơ (ví dụ, nitơ, argon). Hệ thống đóng kín vật chứa phụ (ví dụ, các túi nhỏ bằng lá kim loại được bịt kín) cũng có thể được bịt kín trong môi trường khí trơ.

#### I. Tác nhân điều trị bệnh

Tác nhân điều trị bệnh trong ngữ cảnh của sáng chế bao gồm peptit hoặc hợp chất protein, thuốc phân tử nhỏ, và muối được dụng của nó. Khi tác nhân điều trị bệnh có mặt trong dung môi phân cực không proton được khử oxy, độ ổn định của tác nhân điều trị bệnh có thể còn được tăng cường so với cùng tác nhân điều trị bệnh có trong dung môi phân cực không proton không được xử lý. Độ ổn định tăng có thể được cho là do, ít nhất một phần, sự giảm sự thoái biến oxy hóa của tác nhân điều trị bệnh hoặc sự thoái biến oxy hóa của dung môi phân cực không proton, hoặc cả hai. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này nhận thấy rằng tác nhân điều trị bệnh là thích hợp để điều trị các bệnh hoặc tình trạng bệnh lý nhất định và sẽ có khả năng sử dụng các lượng hữu hiệu của tác nhân điều trị bệnh trong chế phẩm như được mô tả ở đây để điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh lý.

Các ví dụ không giới hạn về peptit và protein (và muối của chúng) có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế gồm, nhưng không giới hạn ở, glucagon, pramlintit, insulin, leuprolit, chất chủ vận hormon giải phóng nội tiết tố (LHRH), hormon parathyroid (PTH), amylin, angiotensin(1-7), độc tố botulinum, hematit,

peptit dạng tinh bột, peptit ức chế dạ dày, nhân tố phát triển giống insulin, yếu tố giải phóng hormon sinh trưởng, yếu tố kháng khuẩn, glatirame, peptit-1 giống glucagon (GLP-1), chất chủ vận GLP-1, exenatit, các chất tương tự của chúng, chất tương tự amylin (pramlintit), và hỗn hợp của chúng. Theo một số khía cạnh được ưu tiên, tác nhân điều trị bệnh là glucagon, insulin và/hoặc pramlintit.

Các ví dụ không giới hạn về thuốc phân tử nhỏ (và muối của chúng) mà có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế gồm, nhưng không giới hạn ở, epinephrin, benzodiazepin, catecholemin, “triptan,” sumatriptan, novantron, các phân tử nhỏ hóa trị (ví dụ, mitoxantron), các phân tử nhỏ corticosteroid (ví dụ, methylprednisolon, beclomethason dipropionat), các phân tử nhỏ ức chế miễn dịch (ví dụ, azathioprin, cladribin, cyclophosphamid monohydrat, methotrexat), các phân tử nhỏ chống viêm (ví dụ, axit salicylic, axit acetylsalicylic, lisofylin, diflunisal, cholin magie trisalixylat, salixylat, benorylat, axit flufenamic, axit mefenamic, axit meclofenamic, axit triflumic, diclofenac, fenclofenac, alclofenac, fentiazac, ibuprofen, flurbiprofen, ketoprofen, naproxen, fenoprofen, fenbufen, suprofen, indoprofen, axit tiaprofenic, benoxaprofen, piroprofen, tolmetin, zomepirac, clopinac, indomethacin, sulindac, phenylbutazon, oxyphenbutazon, azapropazon, feprazon, piroxicam, isoxicam), các phân tử nhỏ được sử dụng để điều trị các rối loạn của hệ thần kinh (ví dụ, ximetidin, ranitidin, famotidin, nizatidin, tacrin, 21inblastin, metrifonat, rivastigmin, selegilen, imipramin, fluoxetin, olanzapin, sertindol, risperidon, valproat semisodi, gabapentin, carbamazepin, topiramát, phenytoin), các phân tử nhỏ được sử dụng để điều trị bệnh ung thư (ví dụ, vincristin, 21inblastin, paclitaxel, docetaxel, xisplatin, irinotecan, topotecan, gemxitabin, temozolomit, imatinib, bortezomib), statin (ví dụ, atorvastatin, amlodipin, rosuvastatin, sitagliptin, simvastatin, fluvastatin, pitavastatin, lovastatin, pravastatin, simvastatin), và các dẫn xuất của taxan khác, các phân tử nhỏ được sử dụng để điều trị vi khuẩn lao tuberculosis (ví dụ, rifampixin), phân tử nhỏ các chất kháng nấm (ví dụ, fluconazol), các tác nhân chống lo âu phân tử nhỏ và các tác nhân chống co giật phân tử nhỏ (ví dụ, lorazepam), các tác nhân chống cholinergic phân tử nhỏ (ví dụ, atropin), các thuốc chất chủ vận  $\beta$  phân tử nhỏ (ví dụ, albuterol

sulfat), các chất ổn định dưỡng bào phân tử nhỏ và các tác nhân phân tử nhỏ được sử dụng để điều trị bệnh dị ứng (ví dụ, cromolyn natri), phân tử nhỏ tác nhân gây mê và tác nhân chống loạn nhịp tim phân tử nhỏ (ví dụ, lidocain), phân tử nhỏ các chất kháng sinh (ví dụ, tobramycin, xiprofloxacin), các chất chống chứng đau nửa đầu phân tử nhỏ (ví dụ, sumatriptan), và các thuốc kháng histamin phân tử nhỏ (ví dụ, diphenhydramin). Theo các phương án được ưu tiên, phân tử nhỏ là epinephrin.

Tác nhân điều trị bệnh theo sáng chế có thể được sử dụng trong da để ngăn chặn, chẩn đoán, làm giảm bớt, điều trị, hoặc chữa bệnh. Các ví dụ về các protein và các hợp chất có protein mà có thể được bào chế và được sử dụng trong hệ thống phân phối theo sáng chế bao gồm các protein có hoạt tính sinh học hoặc có thể được sử dụng để điều trị bệnh hoặc các tình trạng bệnh lý khác.

Mỗi trong số các peptit, protein, và thuốc phân tử nhỏ đã đề cập ở trên đã được biết và có bán trên thị trường từ các nhà sản xuất và nguồn khác nhau. Hơn nữa, lượng peptit, protein, hoặc thuốc phân tử nhỏ trong các chế phẩm liều lượng có thể thay đổi phụ thuộc vào lượng chấp nhận được hiện tại, nhu cầu của đối tượng/bệnh nhân (ví dụ, độ tuổi, sức khỏe, trọng lượng, bản chất và mức độ của triệu chứng), và các yếu tố tương tự.

Tác nhân điều trị bệnh được cung cấp bởi nhà sản xuất hoặc nguồn thương mại thường được tạo ra dưới dạng bột để hòa tan vào chế phẩm như được mô tả ở đây. Nhiều kỹ thuật đã biết có thể được sử dụng để tạo ra tác nhân dạng bột để hòa tan.

Liều dùng thích hợp bất kỳ của peptit hoặc các peptit có thể được bào chế trong các chế phẩm ổn định theo sáng chế. Nhìn chung, peptit (hoặc, theo các phương án bao gồm hai hoặc nhiều peptit, mỗi trong số các peptit) có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 0,5 mg/mL đến khoảng 100 mg/mL. Theo một số phương án, peptit có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 10 mg/mL đến khoảng 60 mg/mL. Theo các phương án khác, peptit có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 20 mg/mL đến khoảng 50 mg/mL. Theo các phương án khác nữa, peptit có mặt trong chế phẩm với lượng

nằm trong khoảng từ khoảng 5 mg/mL đến khoảng 15 mg/mL. Theo các phương án khác nữa, peptit có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 0,5 mg/mL đến khoảng 2 mg/mL. Theo các phương án khác nữa, peptit có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 1 mg/mL đến khoảng 50 mg/mL. Ngoài ra, sẽ rõ ràng với người có hiểu biết trung bình rằng liều lượng của peptit có thể thay đổi phụ thuộc vào peptit được sử dụng và bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý được điều trị.

Theo một số phương án, các chế phẩm theo sáng chế còn chứa chất chống oxy hóa. Theo các phương án khác, các chế phẩm này còn chứa chất tạo chelat. Theo các phương án khác nữa, các chế phẩm theo sáng chế còn chứa chất bảo quản.

## II. Chế phẩm

Các chế phẩm theo sáng chế gồm tác nhân điều trị bệnh có trong hệ dung môi phân cực không proton chứa ít nhất một tá dược ổn định ion hóa. Tác nhân điều trị bệnh có thể được hòa tan (ví dụ, được hòa tan một phần hoặc toàn bộ) hoặc được tạo hỗn dịch (hoàn toàn hoặc một phần) trong hệ dung môi phân cực không proton. Hơn nữa, chế phẩm có thể được tạo cấu trúc dưới dạng dung dịch một pha, bột nhão hoặc huyền phù đặc, gel, nhũ tương, hoặc hỗn dịch.

Theo một số phương án, tác nhân điều trị bệnh có mặt trong dung môi phân cực không proton tức là “nguyên chất,” tức là, không chứa đồng dung môi. Theo các phương án khác, tác nhân điều trị bệnh có mặt trong hệ dung môi là hỗn hợp của hai hoặc nhiều dung môi phân cực không proton (tức là, hệ dung môi phân cực không proton). Một ví dụ là hỗn hợp 75/25 (% thể tích/thể tích) của hỗn hợp chứa DMSO và NMP. Theo một số phương án, tuy nhiên, đồng dung môi có thể được sử dụng, trong đó trong một hoặc nhiều dung môi phân cực không proton có thể được trộn với đồng dung môi. Các ví dụ không giới hạn về các đồng dung môi gồm nước, etanol, propylen glycol (PG), glyxerol, và hỗn hợp của chúng. Theo các khía cạnh nhất định, nước có thể được loại trừ hoặc giới hạn cụ thể dưới dạng đồng dung môi, tức là đồng dung môi này có thể là đồng dung môi không chứa nước. Đồng dung môi có thể có trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 0,5% (trọng

lượng/thể tích) đến khoảng 50% (trọng lượng/thể tích), ví dụ, khoảng 1%, khoảng 5%, khoảng 10%, khoảng 15%, khoảng 20%, khoảng 25%, khoảng 30%, khoảng 35%, hoặc khoảng 40% (trọng lượng/thể tích). Theo một số phương án, đồng dung môi có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 10% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 50% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 10% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 40% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 10% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 30% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 10% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 25% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 15% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 50% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 15% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 40% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 15% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 30% (trọng lượng/thể tích), hoặc từ khoảng 15% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 25% (trọng lượng/thể tích).

Hơn nữa, các chế phẩm theo sáng chế có thể gồm một hoặc nhiều các tá dược khác ngoài tá dược ổn định ion hóa. Theo một số phương án, các tá dược khác được chọn từ đường, tinh bột, rượu đường, chất chống oxy hóa, chất tạo chelat, và chất bảo quản. Các ví dụ về các tá dược đường thích hợp gồm, nhưng không giới hạn ở trehaloza, glucoza, sucroza, v.v... Các ví dụ về tinh bột thích hợp để làm ổn định tá dược gồm, nhưng không giới hạn ở, tinh bột hydroxyethyl (HES). Các ví dụ về rượu đường thích hợp (cũng được đề cập đến dưới dạng rượu polyhydric) để làm ổn định tá dược gồm, nhưng không giới hạn ở, manitol và sorbitol. Các ví dụ về chất chống oxy hóa thích hợp gồm, nhưng không giới hạn ở, axit ascorbic, xystein, methionin, monothioglyxerol, natri thiosulphat, sulfít, BHT, BHA, ascorbyl palmitat, propyl galat, N-axetyl-L-xystein (NAC), và Vitamin E. Các ví dụ về các chất tạo chelat thích hợp gồm, nhưng không giới hạn ở, EDTA, muối dinatri EDTA (edetat dinatri), axit tartaric và muối của chúng, glyxerin, và axit xitric và muối của chúng. Các ví dụ về các muối vô cơ thích hợp gồm natri clorua, kali clorua, canxi clorua, magie clorua, canxi sulfat, và magie sulfat. Các ví dụ về chất bảo quản thích hợp gồm, nhưng không giới hạn ở, rượu benzyl, metyl paraben, propyl paraben, và hỗn hợp của chúng. Các thành phần chế phẩm bổ sung gồm thuốc gây tê cục bộ, lidocain hoặc procain như vậy. Theo một số phương án, tá dược làm ổn định bổ

sung có mặt trong chế phẩm với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 0.1% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 60% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 1% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 50% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 1% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 40% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 1% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 30% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 1% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 20% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 5% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 60% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 5% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 50% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 5% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 40% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 5% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 30% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 5% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 20% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 10% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 60% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 10% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 50% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 10% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 40% (trọng lượng/thể tích), từ khoảng 10% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 30% (trọng lượng/thể tích), hoặc từ khoảng 10% (trọng lượng/thể tích) đến khoảng 20% (trọng lượng/thể tích). Theo một số phương án, tá được làm ổn định bổ sung có mặt trong chế phẩm với lượng là khoảng, tối đa, hoặc ít nhất là 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, hoặc 60% (trọng lượng/thể tích).

### III. Phương pháp điều trị bệnh

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh, tình trạng bệnh lý, hoặc rối loạn bằng cách cho đối tượng sử dụng tác nhân điều trị bệnh để điều trị bệnh, tình trạng bệnh lý, hoặc rối loạn trong chế phẩm ổn định như được mô tả ở đây với lượng hữu hiệu để điều trị, làm giảm bớt, hoặc ngăn ngừa bệnh, tình trạng bệnh lý, hoặc rối loạn.

Theo một số phương án, phương pháp điều trị bệnh theo sáng chế bao gồm bước điều trị chứng giảm glucoza huyết bằng cách cho đối tượng bị giảm glucoza huyết sử dụng tác nhân điều trị bệnh để làm giảm glucoza huyết trong chế phẩm ổn định như được mô tả ở đây với lượng hữu hiệu để điều trị chứng giảm glucoza huyết. Theo một số phương án, đối tượng tự được cho sử dụng chế phẩm ổn định

chứa glucagon. Theo các khía cạnh nhất định, chứng giảm glucoza huyết có thể được gây ra bởi bệnh đái đường hoặc bệnh không liên quan đến bệnh đái đường, tình trạng bệnh lý, và rối loạn.

Như được mô tả bởi Workgroup of the American Diabetes Association and the Endocrine Society, (Seaquist, et al, (2013), *Diabetes Care*, Vol 36, các trang 1384 - 1395) về giá trị một ngưỡng của chứng giảm glucoza huyết đối với nồng độ glucoza trong huyết tương mà định rõ chứng giảm glucoza huyết ở bệnh đái đường thường không được chỉ định do ngưỡng glyxemic đối với các triệu chứng của chứng giảm glucoza huyết (trong số các đáp ứng khác) thay đổi để làm giảm nồng độ glucoza trong huyết tương sau chứng giảm glucoza huyết ngay trước đó và đối với nồng độ glucoza trong huyết tương cao hơn ở bệnh nhân bị bệnh đái đường được kiểm soát kém và chứng giảm glucoza huyết hiếm khi xảy ra.

Tuy nhiên, giá trị cảnh báo có thể định rõ rằng việc chú ý đến cả bệnh nhân và điều dưỡng viên đến sự tổn hại có thể có liên quan đến chứng giảm glucoza huyết. Bệnh nhân có nguy cơ bị giảm glucoza huyết (tức là, các bệnh nhân được điều trị bằng sulfonylure, glinit, hoặc insulin) nên được cảnh báo về khả năng tiến triển chứng giảm glucoza huyết ở nồng độ glucoza trong huyết tương tự kiểm tra - hoặc glucoza dưới da kiểm tra glucoza liên tục bằng  $\leq 70$  mg/dL ( $\leq 3,9$  mmol/L). Do nó cao hơn ngưỡng glyxemic đối với các triệu chứng ở các cá thể không bị bệnh đái đường và các cá thể bị bệnh đái đường được kiểm soát tốt, thường cho phép thời gian để ngăn chặn giai đoạn giảm glucoza huyết lâm sàng và tạo ra biên nào đó đối với độ chính xác hạn chế của thiết bị theo dõi ở các mức glucoza thấp.

Tình trạng của chứng giảm glucoza huyết nghiêm trọng là một trường hợp cần đến sự hỗ trợ của một người khác để sử dụng tích cực hydrat cacbon, glucagon, hoặc thực hiện các hoạt động hiệu chỉnh khác. Nồng độ glucoza trong huyết tương có thể không có sẵn trong một trường hợp, nhưng việc khôi phục hệ thần kinh sau khi trả lại glucoza trong huyết tương đến mức bình thường được xem là bằng chứng đầy đủ rằng trường hợp này được gây ra bởi nồng độ glucoza trong huyết tương thấp. Thông thường, các trường hợp này bắt đầu xuất hiện ở nồng độ glucoza trong huyết tương  $\leq 50$  mg/dL (2,8 mmol/L). Chứng giảm glucoza huyết ở mức triệu

trứng đã được chứng minh bằng tài liệu là một trường hợp trong khi các triệu trứng điển hình của chứng giảm glucoza huyết đi kèm với nồng độ glucoza trong huyết tương được đo  $\leq 70 \text{ mg/dL}$  ( $\leq 3,9 \text{ mmol/L}$ ). Chứng giảm glucoza huyết không có triệu trứng bị bệnh là một trường hợp không đi kèm với các triệu trứng điển hình của chứng giảm glucoza huyết nhưng với nồng độ glucoza trong huyết tương được đo  $\leq 70 \text{ mg/dL}$  ( $\leq 3,9 \text{ mmol/L}$ ). Chứng giảm glucoza huyết ở mức triệu trứng có thể xảy ra là một trường hợp trong khi các triệu trứng điển hình cho chứng giảm glucoza huyết không đi kèm với việc xác định glucoza trong huyết tương nhưng có lẽ được gây ra bởi nồng độ glucoza trong huyết tương  $\leq 70 \text{ mg/dL}$  ( $\leq 3,9 \text{ mmol/L}$ ). Chứng giảm glucoza huyết giả là một trường hợp trong đó người bị bệnh đái đường báo cáo triệu trứng bất kỳ trong số các triệu trứng điển hình của chứng giảm glucoza huyết với nồng độ glucoza trong huyết tương được đo  $> 70 \text{ mg/dL}$  ( $> 3,9 \text{ mmol/L}$ ) nhưng đạt đến mức đó.

Còn được bao gồm trong các chỉ dẫn có thể được điều trị bởi sáng chế là sự suy giảm tự động có liên quan đến chứng giảm glucoza huyết (HAAF). Như được mô tả bởi Philip E. Cryer, *Perspectives in Diabetes, Mechanisms of Hypoglycemia-Associated Autonomic Failure and Its Component Syndromes in Diabetes, Diabetes, Vol. 54, pp. 3592-3601 (2005)*, “chứng giảm glucoza huyết do điều trị ngay trước đó gây ra cả sự điều hòa ngược glucoza khuyết (bằng cách làm giảm các đáp ứng với epinephrin đối với mức đã cho của chứng giảm glucoza huyết sau đó khi thiết đặt các lượng giảm không tồn tại trong insulin và lượng gia không tồn tại trong glucagon) và sự không có ý thức về chứng giảm glucoza huyết (bằng cách làm giảm sự giao cảm thượng thận và các đáp ứng triệu trứng tạo mô thần kinh tạo thành đối với mức đã cho của chứng giảm glucoza huyết sau đó) và do đó vòng luân quần của chứng giảm glucoza huyết.” HAAF ảnh hưởng bởi bệnh đái đường týp 1 và týp 2 tăng cường. Ngoài ra, sáng chế cũng có thể điều trị chứng giảm glucoza huyết ở bệnh nhân sau khi cấy tế bào tiểu đảo.

Các chế phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng để điều trị chứng giảm glucoza huyết do tăng insulin huyết, đề cập nhiều đến tình trạng bệnh lý và các tác động của mức glucoza trong máu thấp gây ra bởi sự tăng insulin quá mức. Loại

giảm glucoza huyết do tăng tiết insulin huyết nặng, nhưng điển hình là thoáng qua, phổ biến nhất phát sinh từ việc sử dụng insulin ngoại sinh ở bệnh nhân bị bệnh đái đường týp 1. Loại giảm glucoza này có thể được xác định là chứng giảm glucoza huyết do sử dụng thuốc, và là yếu tố hạn chế sự kiểm soát đường huyết của bệnh đái đường týp 1 và týp 2. Chứng giảm glucoza huyết về đêm (hạ đường huyết ban đêm) là một dạng hạ đường huyết do sử dụng thuốc gây ra phổ biến phát sinh ở những bệnh nhân dùng insulin ngoại sinh. Tuy nhiên, chứng giảm glucoza huyết do tăng insulin huyết cũng có thể phát sinh do insulin nội sinh, ví dụ trong chứng tăng tiết insulin bẩm sinh, u insulin (các khối u tiết insulin), chứng giảm glucoza huyết do tập luyện gây ra và chứng giảm glucoza huyết phản ứng. Chứng giảm glucoza huyết phản ứng là chứng giảm glucoza huyết không do bệnh đái đường, và do đường trong máu thấp xuất hiện sau bữa ăn - thường trong khoảng bốn giờ sau khi ăn. Chứng giảm glucoza huyết phản ứng cũng có thể được đề cập đến dưới dạng chứng giảm glucoza huyết sau ăn. Các triệu chứng và dấu hiệu của chứng giảm glucoza huyết phản ứng có thể bao gồm tình trạng đói, tình trạng yếu ớt, sự run, buồn ngủ, đổ mồ hôi, hỗn loạn và lo âu. Phẫu thuật dạ dày (ví dụ, phẫu thuật giảm cân) là một nguyên nhân có thể có, do thức ăn phẫu thuật sau đó có thể chuyển quá nhanh vào ruột non. Các nguyên nhân bổ sung bao gồm các thiếu hụt enzym làm cho cơ thể khó nghiền thức ăn, hoặc tăng tính nhạy đối với hormon epinephrin.

Theo một số phương án, bệnh, tình trạng bệnh lý, hoặc rối loạn được điều trị bằng chế phẩm ổn định theo sáng chế là tình trạng bệnh lý đái đường. Các ví dụ về tình trạng bệnh lý đái đường gồm, nhưng không giới hạn ở, bệnh đái đường týp 1, bệnh đái đường týp 2, bệnh đái đường thai kỳ, bệnh tiền đái đường, chứng tăng glucoza huyết, chứng giảm glucoza huyết, và hội chứng chuyển hóa. Theo một số phương án, bệnh, tình trạng bệnh lý, hoặc rối loạn là chứng giảm glucoza huyết. Theo một số phương án, bệnh, tình trạng bệnh lý, hoặc rối loạn là bệnh đái đường.

Theo một số phương án, phương pháp điều trị bệnh theo sáng chế bao gồm bước điều trị bệnh đái đường bằng cách cho đối tượng bị bệnh đái đường sử dụng tác nhân điều trị bệnh trong chế phẩm ổn định như được mô tả ở đây với lượng hữu hiệu để điều trị bệnh đái đường. Theo một số phương án, đối tượng này được cho

sử dụng chế phẩm ổn định chứa insulin. Theo một số phương án, đối tượng được cho sử dụng chế phẩm ổn định chứa pramlintit. Theo một số phương án, đối tượng được cho sử dụng chế phẩm ổn định chứa insulin và pramlintit. Theo một số phương án, đối tượng được cho sử dụng chế phẩm ổn định chứa exenatit. Theo một số phương án, đối tượng được cho sử dụng chế phẩm ổn định chứa glucagon và exenatit.

Theo các khía cạnh nhất định, epinephrin có thể được sử dụng cho đối tượng có nguy cơ hoặc bị nghi ngờ phản vệ. Epinephrin được chỉ định là phương pháp điều trị nổi bật của các phản ứng dị ứng týp I mà có thể xuất hiện từ nhiều nguồn, gồm, nhưng không giới hạn ở, thực phẩm, thuốc và/hoặc các chất gây dị ứng khác, liệu pháp miễn dịch gây dị ứng, chất kiểm tra chẩn đoán, ngòi côn trùng và vết cắn, và phản vệ tự giác hoặc do tập luyện gây ra.

Liều lượng được sử dụng đối với peptit hoặc thuốc phân tử nhỏ như được mô tả ở đây để điều trị bệnh, tình trạng bệnh lý, hoặc rối loạn (ví dụ, tình trạng bệnh lý đái đường, chứng giảm glucoza huyết, hoặc phản vệ) phù hợp với các liều lượng và chế độ theo lịch trình được thực hiện bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này. Hướng dẫn chung về tất cả các tác nhân được lý được sử dụng trong các phương pháp này được đề xuất trong Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11<sup>th</sup> Edition, 2006, *supra*, và trong Physicians' Desk Reference (PDR), ví dụ, trong the 65<sup>th</sup> (2011) hoặc 66<sup>th</sup> (2012) Eds., PDR Network, LLC, mỗi tài liệu được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Liều lượng thích hợp của thuốc peptit để điều trị bệnh, tình trạng bệnh lý, hoặc rối loạn như được mô tả ở đây sẽ thay đổi theo các yếu tố khác nhau, gồm sự bào chế chế phẩm, đáp ứng của bệnh nhân, tính nghiêm trọng của tình trạng bệnh lý, trọng lượng của đối tượng, và quyết định của bác sỹ kê đơn. Các liều hữu hiệu của các chế phẩm được mô tả phân phối lượng thuốc peptit có hiệu quả về mặt y tế. Liều lượng có thể được tăng lên hoặc giảm đi theo thời gian, như được yêu cầu bởi từng bệnh nhân hoặc được xác định bởi nhân viên y tế.

Việc xác định lượng hoặc liều lượng hữu hiệu sẽ nằm trong khả năng của người có hiểu biết trung bình, đặc biệt đối với phần mô tả chi tiết được đề xuất ở

đây. Nhìn chung, các chế phẩm để phân phối các liều lượng này có thể chứa một, hai, ba, bốn, hoặc nhiều phân tử nhỏ, peptit, hoặc các chất tương tự peptit (nói chung là “peptit,” trừ khi các chất tương tự peptit được loại trừ một cách rõ ràng), trong đó mỗi peptit có mặt ở nồng độ từ khoảng 0,1 mg/mL lên đến giới hạn hòa tan của peptit trong chế phẩm. Nồng độ này tốt hơn là nằm trong khoảng từ khoảng 1 mg/mL đến khoảng 100 mg/mL. Theo các khía cạnh nhất định, nồng độ này là khoảng 1 mg/mL, khoảng 5 mg/mL, khoảng 10 mg/mL, khoảng 15 mg/mL, khoảng 20 mg/mL, khoảng 25 mg/mL, khoảng 30 mg/mL, khoảng 35 mg/mL, khoảng 40 mg/mL, khoảng 45 mg/mL, khoảng 50 mg/mL, khoảng 55 mg/mL, khoảng 60 mg/mL, khoảng 65 mg/mL, khoảng 70 mg/mL, khoảng 75 mg/mL, khoảng 80 mg/mL, khoảng 85 mg/mL, khoảng 90 mg/mL, khoảng 95 mg/mL, hoặc khoảng 100 mg/mL. Các nồng độ của các phân tử nhỏ đã biết đối với nhân viên y tế và có thể được thiết lập và thực hiện bằng cách sử dụng phần mô tả được đề xuất ở đây, ví dụ, từ 0,01 mg/ml đến 500 mg/ml, hoặc ở các liều lượng bằng 5, 10, 25, 50, 75, 100, 200, 500, đến 1000 mg bao gồm tất cả các giá trị và các khoảng giá trị trong đó.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể được dùng dưới da, trong da, hoặc trong cơ (ví dụ, bằng cách tiêm hoặc bằng cách truyền). Theo một số phương án, chế phẩm này được dùng dưới da. Chế phẩm này cũng có thể được phân phối qua da, như bằng cách bôi cục bộ chế phẩm lên da (ví dụ, rắc chế phẩm lên da hoặc nạp chế phẩm lên trên miếng đắp da và dán miếng dán da lên da).

Các chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng bằng cách truyền hoặc tiêm bằng cách sử dụng dụng cụ thích hợp bất kỳ. Ví dụ, chế phẩm theo sáng chế có thể được đặt vào ống tiêm (ví dụ, ống tiêm được đồ đầy trước), dụng cụ phun dạng bút, dụng cụ tự phun, hoặc dụng cụ bơm. Theo một số phương án, dụng cụ phun là dụng cụ bơm phun đa liều hoặc dụng cụ tự phun đa liều. Chế phẩm có trong dụng cụ theo kiểu như vậy là chế phẩm có thể dễ dàng chảy khỏi kim tiêm khi khởi động thiết bị phun, như bút tiêm epinephrin tự động, để phân phối thuốc peptit. Dụng cụ tự tiêm/bút thích hợp gồm, nhưng không giới hạn ở, các dụng cụ tự tiêm/bút được sản xuất bởi Becton-Dickenson, Swedish Healthcare Limited (SHL Group), Ypsomed

Ag, và các công ty tương tự. Dụng cụ bơm thích hợp gồm, nhưng không giới hạn ở, các dụng cụ bơm được sản xuất bởi Tandem Diabetes Care, Inc., Delsys Pharmaceuticals và các công ty tương tự.

Theo một số phương án, các chế phẩm theo sáng chế được tạo ra dễ dàng để sử dụng trong lọ nhỏ, ống, hoặc ống tiêm được đổ đầy trước.

Theo một số phương án, chế phẩm ổn định được sử dụng để bào chế thuốc để điều trị chứng giảm glucoza huyết. Theo một số phương án, chế phẩm ổn định này chứa glucagon hoặc muối của nó (ví dụ, glucagon axetat). Theo một số phương án, chế phẩm ổn định bao gồm glucagon và exenatit.

Theo một số phương án, chế phẩm ổn định được sử dụng để bào chế thuốc để điều trị bệnh đái đường. Theo một số phương án, chế phẩm ổn định chứa insulin. Theo một số phương án, chế phẩm ổn định chứa exenatit. Theo một số phương án, chế phẩm ổn định chứa pramlintit. Theo một số phương án, chế phẩm ổn định chứa insulin và pramlintit.

#### IV. Bộ kit/vật chứa

Bộ kit cũng được dự tính là được sử dụng theo các khía cạnh nhất định của sáng chế. Ví dụ, chế phẩm theo sáng chế có thể được bao gồm trong bộ kit. Bộ kit có thể bao gồm vật chứa. Theo một khía cạnh, ví dụ, chế phẩm có thể được chứa trong vật chứa đã được sử dụng cho đối tượng mà không hoàn nguyên hoặc pha loãng chế phẩm. Tức là, chế phẩm được sử dụng có thể được bảo quản trong vật chứa và dễ dàng được sử dụng nếu cần. Vật chứa này có thể là dụng cụ. Dụng cụ có thể là ống tiêm (ví dụ, ống tiêm được đổ đầy trước), dụng cụ phun dạng bút, dụng cụ tự phun, dụng cụ có thể bơm hoặc sử dụng chế phẩm (ví dụ, bơm ngoài tự động hoặc không tự động, bơm có thể cấy vào cơ thể, v.v.) hoặc túi truyền. Dụng cụ tự phun/bút tự động gồm, nhưng không giới hạn ở, các dụng cụ tự phun/bút được sản xuất bởi Becton-Dickenson, Swedish Healthcare Limited (SHL Group), YpsoMed Ag, và các công ty tương tự. Các dụng cụ bơm thích hợp gồm, nhưng không giới hạn ở, các dụng cụ bơm được sản xuất bởi Tandem Diabetes Care, Inc., Delsys Pharmaceuticals và các công ty tương tự.

### Ví dụ thực hiện sáng chế

Nhiều chế phẩm chứa peptit và phân tử nhỏ được điều chế bằng cách sử dụng các phương pháp được bộc lộ trong sáng chế và cũng thông qua các phương pháp được bộc lộ trong tình trạng kỹ thuật (ví dụ, hòa tan trực tiếp peptit trong hệ dung môi phân cực không proton, và làm khô peptit từ dung dịch đậm trong nước trước khi hòa tan trong hệ dung môi phân cực không proton). Như được thể hiện trong các ví dụ dưới đây, các chế phẩm được điều chế bằng các phương pháp theo sáng chế tạo ra độ ổn định vật lý và hóa học mà đã vượt quá được quan sát thông qua sự hòa tan trực tiếp bột peptit trong hệ dung môi phân cực không proton.

Một số phương án của sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn bằng các ví dụ cụ thể. Các ví dụ sau đây được cung cấp chỉ nhằm mục đích minh họa, và không được dùng để giới hạn sáng chế theo cách bất kỳ. Ví dụ, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ dễ dàng nhận ra rằng các thông số thông thường khác nhau có thể được thay đổi hoặc được cải biến về cơ bản tạo ra các kết quả tương tự.

#### Ví dụ 1

Trong ví dụ này, dung dịch glucagon được điều chế bằng cách hòa tan glyxin hydroclorua (CAS số 6000-43-7) trực tiếp trong DMSO (CAS số 67-68-5) ở các nồng độ 5 mM, 10 mM, và 20 mM, sau đó hòa tan bột glucagon (MW = 3483 g/mol; Bachem AG, sản phẩm số 4074733) đến nồng độ peptit bằng 5 mg/mL. Các dung dịch mẫu đã điều chế được thể hiện trong bảng 1:

Bảng 1: Các dung dịch mẫu glucagon được điều chế bằng cách hòa tan cả glyxin hydroclorua và bột glucagon trực tiếp trong DMSO

| Nồng độ glucagon | Dung môi | Tá dược được bổ sung     |
|------------------|----------|--------------------------|
| 5 mg/mL          | DMSO     | Glyxin Hydroclorua 5 mM  |
| 5 mg/mL          | DMSO     | Glyxin Hydroclorua 10 mM |
| 5 mg/mL          | DMSO     | Glyxin Hydroclorua 20 mM |

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu suất cao pha đảo (RP-HPLC) được sử dụng để đánh giá độ ổn định hóa học là phương pháp gradien với các pha động A và B tương ứng gồm có 0,1% (thể tích/thể tích) TFA (axit trifloaxetic) trong nước và 0,1% (thể tích/thể tích) TFA trong axetonitril. Cột C8 (BioBasic™-8; ThermoScientific) (4,6 mm I.D. x chiều dài 250 mm, cỡ hạt 5  $\mu$ m) được sử dụng với nhiệt độ cột bằng 37°C, tốc độ dòng 1,0 mL/phút, thể tích phun mẫu 6- $\mu$ L và bước sóng phát hiện 280-nm.

Chế phẩm mẫu được điều chế bằng cách biến đổi nồng độ của glyxin hydroclorua được bịt kín trong các lọ nhỏ CZ 2-mL (Crystal-Zenith, West Pharmaceuticals, PA, USA) với các nút cao su được phủ FluroTec® 13-mm (nút cao su butyl được phủ bằng màng flocacbon, được sản xuất bởi West Pharmaceuticals) và được bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 6 tuần. Các dung dịch được so sánh với 5 mg/mL chế phẩm glucagon được điều chế thông qua việc sấy khô (làm khô lạnh) từ dung dịch đậm không dễ bay hơi và hoàn nguyên trong DMSO (các công thức ghi nhớ độ pH được mô tả trong Prestrelski '644), hoặc bằng cách hòa tan trực tiếp bột glucagon trong DMSO (phương pháp này được mô tả trong Stevenson '547). Độ ổn định của chế phẩm được đánh giá thông qua RP-HPLC như được mô tả ở trên và được thể hiện dưới dạng độ tinh khiết của glucagon trong bảng 2.

Việc quan sát bằng mắt thường chỉ ra rằng sau sáu tuần (42 ngày) bảo quản ở nhiệt độ 40°C, dung dịch mẫu chứa glyxin hydroclorua dưới dạng tá dược chế phẩm vẫn trong và không màu, và không có bất kỳ sự kết tủa và/hoặc gelatin hóa nào.

Bảng 2: Độ ổn định (được cung cấp dưới dạng độ tinh khiết của peptit) của 5 mg/mL dung dịch glucagon được bảo quản ở nhiệt độ 40°C

|                | Nồng độ glyxin HCl |       |       | Bộ nhớ độ pH | Hòa tan trực tiếp |
|----------------|--------------------|-------|-------|--------------|-------------------|
| Điểm thời gian | 5 mM               | 10 mM | 20 mM | Chế phẩm     | Trong DMSO        |
| Ngày 1         | 100%               | 100%  | 100%  | 100%         | Gel được tạo ra   |
| Ngày 14        | 99,7%              | 99,5% | 99,3% | 99,4%        | ----              |
| Ngày 42        | 97,8%              | 97,0% | 97,0% | 96,8%        | ---               |

Trong thời gian 24 giờ ở nhiệt độ trong phòng, 5 mg/mL dung dịch glucagon (xấp xỉ 0,45% trọng lượng/trọng lượng) được điều chế bằng cách hòa tan trực tiếp bột glucagon trong DMSO thể hiện sự kết tụ vật lý, như được lưu ý bằng sự tạo thành của vật liệu không hòa tan (FIG. 1). Ngược lại, dung dịch được điều chế bằng 5 mg/mL bột glucagon được hòa tan trong DMSO với sự có mặt của glyxin HCl 5,0 mM vẫn trong (tức là không có kết tủa) và không màu trong suốt giai đoạn ủ (6 tuần ở nhiệt độ 40°C). Chế phẩm glucagon được làm khô lạnh trước đó từ dung dịch đậm trong nước (độ pH=3,0) chứa 1,0 mg/mL glucagon, 2,0 mM glyxin và 1,0% (trọng lượng/thể tích) trehaloza trước khi hoàn nguyên đến nồng độ ban đầu gấp 5 lần bằng DMSO (tức là, chế phẩm trong hệ dung môi phân cực không proton sau khi hoàn nguyên là glucagon 5,0 mg/mL, glyxin 10,0 mM, và trehaloza 5,0% (trọng lượng/thể tích)) cũng thể hiện độ tinh khiết của glucagon bằng xấp xỉ 97% sau sáu tuần bảo quản ở nhiệt độ 40°C.

Chế phẩm được điều chế bằng phương pháp theo sáng chế tạo ra độ ổn định được tăng cường so với các phương pháp trong tình trạng kỹ thuật về việc hòa tan trực tiếp bột peptit trong dung môi phân cực không proton. Hơn nữa, các chế phẩm theo sáng chế có thể tạo ra một con đường khác để điều chế chế phẩm glucagon ổn định, có độ đậm đặc cao trong hệ dung môi phân cực không proton mà không cần sấy khô peptit từ dung dịch đậm trong nước trước khi hoàn nguyên bột trong hệ dung môi phân cực không proton.

#### Ví dụ 2

Trong ví dụ này, dung dịch glucagon được điều chế ở nồng độ bằng 5 mg/mL bằng cách hòa tan bột glucagon (Bachem AG, sản phẩm số 4074733) trong DMSO

mà được bao gồm các nồng độ khác nhau của axit clohydric được bổ sung, nằm trong khoảng từ 0,001 M (1 mM) đến 0,01 M (10 mM). Để giảm thiểu lượng nước được bổ sung vào chế phẩm, HCl 5 N được sử dụng để điều chế HCl 10 mM và 5,6 mM trong dung dịch DMSO, trong khi HCl 1 N được sử dụng để điều chế các dung dịch 3,2 mM, 1,8 mM, và 1,0 mM. Như là một ví dụ, HCl 10 mM trong dung dịch DMSO được điều chế bằng cách bổ sung 20  $\mu$ L HCl 5 N vào 9,98 mL DMSO (nguyên chất), trong khi HCl 1,0 mM trong dung dịch DMSO được điều chế bằng cách bổ sung 10  $\mu$ L HCl 1 N vào 9,99 mL DMSO (nguyên chất). Các mẫu của mỗi chế phẩm được bảo quản trong các lọ nhỏ CZ 2 mL (0,5 mL mẫu trên mỗi lọ nhỏ) và được ủ ở nhiệt độ 40°C.

Sau cả 28 và 58 ngày bảo quản, độ ổn định hóa học của peptit được đánh giá bằng RP-HPLC và độ tinh khiết được báo cáo trong bảng 3. Việc bổ sung HCl 1,0 mM là chưa đủ để ngăn chặn sự tạo thành của các khối kết tụ không hòa tan trong 5 mg/mL dung dịch glucagon, và do đó độ ổn định hóa học của các mẫu này chưa được đo. Ngược lại, phân tử glucagon thể hiện sự thoái biến hóa học tương đối nhanh khi HCl 10 mM được bổ sung vào dung dịch. Việc làm giảm nồng độ HCl được bổ sung trong dung dịch làm tăng toàn bộ độ ổn định của phân tử glucagon, với các dung dịch HCl 3,2 mM và 1,8 mM thể hiện độ ổn định cao nhất trong khoảng thời gian được nghiên cứu.

Bảng 3: Độ ổn định (được cung cấp dưới dạng độ tinh khiết của peptit) của dung dịch Glucagon-DMSO 5 mg/mL được bảo quản ở nhiệt độ 40°C

| Glucagon | [HCl] được bổ sung | Ngày 28                       | Ngày 58                       |
|----------|--------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 5 mg/mL  | 10,0 mM            | 36,9%                         | 0%                            |
| 5 mg/mL  | 5,6 mM             | 90,8%                         | 85,3%                         |
| 5 mg/mL  | 3,2 mM             | 98,0%                         | 96,8%                         |
| 5 mg/mL  | 1,8 mM             | 98,3%                         | 97,4%                         |
| 5 mg/mL  | 1,0 mM             | Các khối kết tụ không hòa tan | Các khối kết tụ không hòa tan |

### Ví dụ 3

Dung dịch mẫu được điều chế bằng cách hòa tan bột glucagon (Bachem AG, Sản phẩm số 4074733) đến nồng độ bằng 5 mg/mL trong DMSO mà chứa các nồng độ được bổ sung khác nhau của glyxin hydroclorua (CAS số 6000-43-7), betain hydroclorua (CAS số 590-46-5), hoặc axit clohydric (1 N; CAS số 7647-01-0). Các nồng độ khác nhau của mỗi tá dược ổn định ion hóa được sử dụng để điều chế các chế phẩm mẫu được liệt kê trong bảng 4. Các mẫu của mỗi chế phẩm được bảo quản trong các lọ nhỏ CZ và được ủ ở nhiệt độ 40°C. Sau 28 ngày bảo quản độ ổn định hóa học của peptit glucagon được đánh giá bằng RP-HPLC và độ tinh khiết được báo cáo trong bảng 4. Ví dụ này chứng minh rằng khả năng chuyển proton của tá dược ổn định ion hóa bổ sung (tức là ‘độ bền’ của nó) có thể ảnh hưởng đến nồng độ cần thiết để làm ổn định phân tử điều trị bệnh. Glucagon được chọn là peptit mẫu do xu hướng tạo gel của nó (tức là tạo ra các khối kết tụ không hòa tan) khi phân tử này không đủ để bổ sung proton vào. Nồng độ lên đến 2 mM glyxin hydroclorua là chưa đủ để ngăn chặn sự tạo thành của các khối kết tụ không hòa tan trong dung dịch, dù nồng độ này của cả betain hydroclorua và axit clohydric là đủ để ngăn chặn sự tạo thành của các khối kết tụ không hòa tan sau 28 ngày bảo quản ở nhiệt độ 40°C.

Bảng 4: Độ ổn định (được cung cấp dưới dạng % độ tinh khiết của peptit) của dung dịch Glucagon-DMSO 5 mg/mL được bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 28 ngày

| Bột glucagon | Tá dược ổn định ion hóa | Nồng độ được bổ sung | % Độ tinh khiết của peptit    |
|--------------|-------------------------|----------------------|-------------------------------|
| 5 mg/mL      | Glyxin HCl              | 0,5 mM               | Các khối kết tụ không hòa tan |
| 5 mg/mL      | Glyxin HCl              | 1,0 mM               | Các khối kết tụ không hòa tan |
| 5 mg/mL      | Glyxin HCl              | 2,0 mM               | Các khối kết tụ không hòa tan |
| 5 mg/mL      | Glyxin HCl              | 3,0 mM               | 98,5%                         |
| 5 mg/mL      | Glyxin HCl              | 4,0 mM               | 98,6%                         |
| 5 mg/mL      | Glyxin HCl              | 5,0 mM               | 99,1%                         |
| 5 mg/mL      | Betain HCl              | 0,5 mM               | Các khối kết tụ không hòa tan |
| 5 mg/mL      | Betain HCl              | 2,0 mM               | 98,6%                         |
| 5 mg/mL      | Betain HCl              | 5,0 mM               | 98,4%                         |
| 5 mg/mL      | HCl                     | 1,0 mM               | Các khối kết tụ không hòa tan |
| 5 mg/mL      | HCl                     | 1,8 mM               | 98,3%                         |
| 5 mg/mL      | HCl                     | 3,2 mM               | 98,0%                         |

#### Ví dụ 4

Các ví dụ sau đây chứng minh độ ổn định của dung dịch glucagon được điều chế theo phương pháp của sáng chế với sự có mặt của thành phần chế phẩm được bổ sung (ví dụ, các tác nhân bất hoạt, tá dược). Dung dịch mẫu được điều chế bằng cách hòa tan bột glucagon (Bachem AG, sản phẩm số 4074733) đến nồng độ bằng 5 mg/mL trong DMSO mà chứa khoảng 3,2 mM HCl được bổ sung (từ dung dịch gốc chứa HCl 1 N). Các nồng độ khác nhau của hơi ẩm được bổ sung vào dung dịch này, cũng như 5,5% (trọng lượng/thể tích) manitol (CAS số 69-65-8), và 1% (thể tích/thể tích) rượu benzyl (CAS số 100-51-6). Các mẫu thử nghiệm được nghiên cứu được liệt kê trong bảng 5.

Các mẫu của mỗi chế phẩm được bảo quản trong các lọ nhỏ CZ và được ủ ở nhiệt độ nhiệt độ trong phòng (từ 22 đến 23°C). Sau 180 ngày bảo quản độ ổn định hóa học của peptit glucagon được đánh giá bằng RP-HPLC (theo phương pháp được mô tả trong ví dụ 1) và độ tinh khiết của glucagon được báo cáo trong bảng 5. Ví dụ này chứng minh rằng các thành phần chế phẩm bổ sung (ví dụ, hơi ẩm, các tác nhân bất hoạt, tá dược) có thể được bao gồm trong chế phẩm và vẫn tạo ra chế phẩm ổn định sau xấp xỉ 6 tháng bảo quản ở nhiệt độ nhiệt độ trong phòng.

Bảng 5: Độ ổn định của dung dịch Glucagon-DMSO 5 mg/mL được bảo quản ở nhiệt độ nhiệt độ trong phòng trong thời gian 180 ngày. Độ ổn định được tạo ra độ tinh khiết của glucagon dưới dạng phần trăm như được đánh giá bằng RP-HPLC

| Glucagon | [HCl] được bổ sung | H <sub>2</sub> O được bổ sung (% thể tích/thể tích) | Manitol (% trọng lượng/thể tích) | Rượu benzyl (% thể tích/thể tích) | % Độ tinh khiết của glucagon |
|----------|--------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| 5 mg/mL  | 3,2 mM             | 0%                                                  | 0%                               | 0%                                | 98,2                         |
| 5 mg/mL  | 3,2 mM             | 1%                                                  | 0%                               | 0%                                | 98,3                         |
| 5 mg/mL  | 3,2 mM             | 3%                                                  | 0%                               | 0%                                | 98,1                         |
| 5 mg/mL  | 3,2 mM             | 5%                                                  | 0%                               | 0%                                | 98,4                         |
| 5 mg/mL  | 3,2 mM             | 1%                                                  | 5,5%                             | 0%                                | 98,6                         |
| 5 mg/mL  | 3,2 mM             | 3%                                                  | 5,5%                             | 0%                                | 97,7                         |
| 5 mg/mL  | 3,2 mM             | 5%                                                  | 5,5%                             | 0%                                | 98,9                         |
| 5 mg/mL  | 3,2 mM             | 1%                                                  | 5,5%                             | 1%                                | 95,3                         |
| 5 mg/mL  | 3,2 mM             | 3%                                                  | 5,5%                             | 1%                                | 96,9                         |
| 5 mg/mL  | 3,2 mM             | 5%                                                  | 5,5%                             | 1%                                | 97,1                         |

#### Ví dụ 5

Ví dụ sau đây chứng minh sự ảnh hưởng của nồng độ peptit đối với lượng tá dược ổn định ion hóa cần thiết để làm ổn định chế phẩm.

Dung dịch mẫu được điều chế bằng cách hòa tan bột glucagon ở các nồng độ nằm trong khoảng từ 20 đến 50 mg/mL (Bachem AG, sản phẩm số 4074733) trong

DMSO chứa các nồng độ khác nhau của HCl được bổ sung (từ dung dịch gốc 1 N (CAS số 7647-01-0)). Các mẫu thử nghiệm được nghiên cứu được liệt kê trong bảng 6. Các chế phẩm được bảo quản trong các lọ nhỏ CZ 2 mL (0,5 mL dung dịch mẫu trên mỗi lọ nhỏ) và được đặt trong buồng ổn định ở nhiệt độ 40°C / RH 75%. Độ ổn định vật lý của các mẫu được đánh giá thông qua việc khảo sát bằng mắt thường và chú ý sự có mặt hoặc không có mặt của các hạt không hòa tan. Nồng độ lớn hơn của peptit cần đến nồng độ cao hơn của tá dược ổn định ion hóa (HCl trong ví dụ) để ngăn chặn sự kết tụ và sự tạo thành của các khối kết tụ không hòa tan. Độ ổn định hóa học của peptit được đánh giá bằng RP-HPLC (theo phương pháp được mô tả trong ví dụ 1) và độ tinh khiết của glucagon được báo cáo trong bảng 6 (lưu ý rằng các chế phẩm này chứa các hạt không hòa tan không được nghiên cứu bằng RP-HPLC).

Bảng 6: Độ ổn định vật lý và hóa học của dung dịch Glucagon-DMSO chứa axit clohydric được bổ sung và được bảo quản ở nhiệt độ 40°C / RH 75% trong thời gian 84 ngày

| Nồng độ (mg/mL) | HCl được bổ sung (mM) | % Độ tinh khiết của Glucagon | Độ ổn định vật lý (Quan sát bằng mắt thường) |
|-----------------|-----------------------|------------------------------|----------------------------------------------|
| 20              | 10,0                  | ---                          | Các hạt không hòa tan                        |
| 20              | 12,6                  | 97,7%                        | Dung dịch trong và không màu                 |
| 25              | 12,6                  | ---                          | Các hạt không hòa tan                        |
| 25              | 15,8                  | 97,6%                        | Dung dịch trong và không màu                 |
| 30              | 15,1                  | ---                          | Các hạt không hòa tan                        |
| 30              | 19,0                  | 97,5%                        | Dung dịch trong và không màu                 |
| 40              | 25,3                  | ---                          | Các hạt không hòa tan                        |
| 40              | 31,8                  | 97,9%                        | Dung dịch trong và không màu                 |
| 50              | 31,6                  | ---                          | Các hạt không hòa tan                        |
| 50              | 39,8                  | 97,9%                        | Dung dịch trong và không màu                 |

## Ví dụ 6

Các ví dụ sau đây chứng minh độ ổn định của dung dịch glucagon được điều chế theo phương pháp của sáng chế với axit nitric, axit sulfuric, axit phosphoric, hoặc axit xitric làm tá được ổn định ion hóa.

Dung dịch mẫu được điều chế bằng cách hòa tan bột glucagon (Bachem AG, sản phẩm số 4074733) đến nồng độ bằng 5 mg/mL trong DMSO chứa các nồng độ khác nhau của HNO<sub>3</sub> được bổ sung (axit nitric được bổ sung từ dung dịch 1 M mà được điều chế từ 70% (trọng lượng/trọng lượng) dung dịch gốc (CAS số 7697-37-2)). Các mẫu thử nghiệm được nghiên cứu được liệt kê trong bảng 7. Các chế phẩm được bảo quản trong các lọ nhỏ CZ 2 mL (0,5 mL dung dịch mẫu trên mỗi lọ nhỏ) được bịt kín bằng nút cao su được phủ FluroTec® và được đặt trong buồng ổn định ở nhiệt độ 40°C / RH 75%. Sau 56 ngày bảo quản, độ ổn định hóa học của peptit glucagon được đánh giá bằng RP-HPLC (theo phương pháp được mô tả trong ví dụ 1) và độ tinh khiết của glucagon được báo cáo trong bảng 7.

Bảng 7: Độ ổn định của dung dịch Glucagon-DMSO 5 mg/mL chứa axit nitric được bổ sung và được bảo quản ở nhiệt độ 40°C / RH 75% trong thời gian 56 ngày. Độ ổn định được tạo ra dưới dạng độ tinh khiết của glucagon như được đánh giá bằng RP-HPLC

| Glucagon | [HNO <sub>3</sub> ] được bổ sung | % độ tinh khiết của Glucagon  |
|----------|----------------------------------|-------------------------------|
| 5 mg/mL  | 1,0 mM                           | Các khối kết tụ không hòa tan |
| 5 mg/mL  | 2,0 mM                           | 96,2%                         |
| 5 mg/mL  | 5,0 mM                           | 94,8%                         |
| 5 mg/mL  | 7,5 mM                           | 86,5%                         |
| 5 mg/mL  | 10,0 mM                          | 78,6%                         |

Dung dịch mẫu được điều chế bằng cách hòa tan bột glucagon (Bachem AG, sản phẩm số 4074733) đến nồng độ bằng 5 mg/mL trong DMSO chứa các nồng độ khác nhau của axit sulfuric được bổ sung (từ 1 N (0,5 M) dung dịch gốc (CAS số

7664-93-9)) và trehaloza 5% (trọng lượng/thể tích) (từ dihydrat; CAS số 6138-23-4). Các mẫu thử nghiệm được nghiên cứu được liệt kê trong bảng 8. Các chế phẩm mẫu được bảo quản trong các lọ nhỏ CZ 2 mL (0,5 mL dung dịch mẫu trên mỗi lọ nhỏ) được bịt kín bằng nút cao su được phủ FluroTec® và được đặt trong buồng ổn định ở nhiệt độ 40°C / RH 75%. Sau 84 ngày bảo quản độ ổn định hóa học của peptit glucagon được đánh giá bằng RP-HPLC (theo phương pháp được mô tả trong ví dụ 1) và độ tinh khiết của glucagon được báo cáo trong bảng 8.

Bảng 8: Độ ổn định của dung dịch Glucagon-DMSO 5 mg/mL chứa axit sulfuric được bổ sung và trehaloza 5% (trọng lượng/thể tích) và được bảo quản ở nhiệt độ 40°C / RH 75% trong thời gian 84 ngày. Độ ổn định được tạo ra dưới dạng độ tinh khiết của glucagon như được đánh giá bằng RP-HPLC

| Glucagon | [H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ] được bổ sung | % độ tinh khiết của Glucagon  |
|----------|------------------------------------------------|-------------------------------|
| 5 mg/mL  | 2,0 mM                                         | Các khối kết tụ không hòa tan |
| 5 mg/mL  | 4,0 mM                                         | 95,3%                         |
| 5 mg/mL  | 5,0 mM                                         | 95,2%                         |
| 5 mg/mL  | 6,3 mM                                         | 94,3%                         |
| 5 mg/mL  | 7,9 mM                                         | 93,3%                         |
| 5 mg/mL  | 10,0 mM                                        | 92,3%                         |
| 5 mg/mL  | 12,6 mM                                        | 87,2%                         |

Dung dịch mẫu được điều chế bằng cách hòa tan bột glucagon (Bachem AG, sản phẩm số 4074733) đến nồng độ bằng 5 mg/mL trong DMSO chứa các nồng độ khác nhau của axit phosphoric được bổ sung (axit phosphoric được bổ sung từ dung dịch 1 M mà được điều chế từ dung dịch gốc 85% (trọng lượng/trọng lượng) (CAS số 7664-38-2)). Các mẫu thử nghiệm được nghiên cứu được liệt kê trong bảng 9. Các chế phẩm mẫu được bảo quản trong các lọ nhỏ CZ 2 mL (0,5 mL dung dịch mẫu trên mỗi lọ nhỏ) được bịt kín bằng nút cao su được phủ FluroTec® và được đặt trong buồng ổn định ở nhiệt độ 40°C / RH 75%. Sau 80 ngày bảo quản độ ổn định

hóa học của peptit glucagon được đánh giá bằng RP-HPLC (theo phương pháp được mô tả trong ví dụ 1) và độ tinh khiết của glucagon được báo cáo trong bảng 9.

Bảng 9: Độ ổn định của dung dịch Glucagon-DMSO 5 mg/mL chứa axit phosphoric được bổ sung và được bảo quản ở nhiệt độ 40°C / RH 75% trong thời gian 80 ngày.

Độ ổn định được tạo ra dưới dạng độ tinh khiết của glucagon như được đánh giá bằng RP-HPLC

| Glucagon | [H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ] được bổ sung | % độ tinh khiết của Glucagon  |
|----------|------------------------------------------------|-------------------------------|
| 5 mg/mL  | 10 mM                                          | Các khối kết tụ không hòa tan |
| 5 mg/mL  | 20 mM                                          | 85,4%                         |
| 5 mg/mL  | 40 mM                                          | 88,8%                         |
| 5 mg/mL  | 60 mM                                          | 89,6%                         |
| 5 mg/mL  | 80 mM                                          | 88,7%                         |
| 5 mg/mL  | 100 mM                                         | 89,1%                         |

Dung dịch mẫu được điều chế bằng cách hòa tan bột glucagon đến nồng độ bằng 5 mg/mL trong DMSO chứa các nồng độ khác nhau của axit xitric được bổ sung (CAS số 77-92-9) mà được hòa tan trực tiếp trong DMSO nguyên chất. Các mẫu thử nghiệm được nghiên cứu được liệt kê trong bảng 10. Các chế phẩm mẫu được bảo quản trong các lọ nhỏ CZ 2 mL (0,5 mL dung dịch mẫu trên mỗi lọ nhỏ) được bịt kín bằng nút cao su được phủ FluroTec® và được đặt trong buồng ổn định ở nhiệt độ 40°C / RH 75%. Sau 65 ngày bảo quản độ ổn định hóa học của peptit glucagon được đánh giá bằng RP-HPLC (theo phương pháp được mô tả trong ví dụ 1) và độ tinh khiết của glucagon được báo cáo trong bảng 10.

Bảng 10: Độ ổn định của dung dịch Glucagon-DMSO 5 mg/mL chứa axit xitric được bổ sung và được bảo quản ở nhiệt độ 40°C / RH 75% trong thời gian 65 ngày.

Độ ổn định được tạo ra dưới dạng độ tinh khiết của glucagon như được đánh giá bằng RP-HPLC

| Glucagon | [C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> ] được bổ sung | % Độ tinh khiết của Glucagon |
|----------|--------------------------------------------------------------|------------------------------|
| 5 mg/mL  | 2,5 mM                                                       | 90,4%                        |
| 5 mg/mL  | 5,0 mM                                                       | 86,8%                        |
| 5 mg/mL  | 10,0 mM                                                      | 82,3%                        |
| 5 mg/mL  | 15,0 mM                                                      | 78,1%                        |
| 5 mg/mL  | 20,0 mM                                                      | 74,0%                        |

Ví dụ này chứng minh rằng các axit khác nhau, bao gồm cả axit hữu cơ và axit vô cơ, có thể được sử dụng làm tá dược ổn định ion hóa. Nồng độ yêu cầu của tá dược ổn định ion hóa nhất định sẽ thay đổi phụ thuộc vào các thông số chế phẩm khác nhau bao gồm (các) API, (các) nồng độ của API, sự có mặt của các thành phần chế phẩm khác (ví dụ, hơi ẩm, tá dược), và nồng độ axit của tá dược ổn định ion hóa trong hệ dung môi đã cho.

#### Ví dụ 7

Chế phẩm chứa các chất tương tự amylin, pramlintit, được điều chế ở nồng độ bằng 1 mg/mL bằng cách hòa tan bột pramlintit axetat (trọng lượng phân tử = 3949,4; CAS số 196078-30-5; ChemPep, Inc., Wellington, FL) trong DMSO với sự có mặt của glyxin hydroclorua 5 mM (CAS số 6000-43-7) hoặc axit xitric 5 mM, khan (CAS số 77-92-9). Để so sánh, bột pramlintit axetat được hòa tan trực tiếp trong DMSO ở cùng nồng độ (nhưng không có tá dược bổ sung). Các mẫu của mỗi chế phẩm được bảo quản trong các lọ nhỏ CZ và được ủ ở nhiệt độ 40°C. Các dung dịch mẫu vẫn trong (tức là, không có các khối kết tụ không hòa tan) và không màu trong toàn bộ giai đoạn thử nghiệm. Sau 14 và 28 ngày bảo quản, độ ổn định hóa học của peptit được đánh giá bằng RP-HPLC theo phương pháp được mô tả trong

ví dụ 1. Như được thể hiện trong bảng 11, việc bao gồm cả glyxin HCl 5 mM và axit xitric 5 mM tạo ra độ ổn định được tăng cường so với các dung dịch chỉ chứa pramlintit và DMSO.

Bảng 11: Độ ổn định của các dung dịch Pramlintit-DMSO được bảo quản ở nhiệt độ 40°C (được cung cấp dưới dạng phần trăm độ tinh khiết của peptit)

| Nồng độ của bột Pramlintit | Tá dược          | Ngày 0 | Ngày 14 | Ngày 28 |
|----------------------------|------------------|--------|---------|---------|
| 1 mg/mL                    | Không có         | 100%   | 77,5%   | 49,1%   |
| 1 mg/mL                    | 5 mM Glyxin HCl  | 100%   | 100%    | 100%    |
| 1 mg/mL                    | 5 mM Axit xitric | 100%   | 91,1%   | 76,6%   |

#### Ví dụ 8

Chế phẩm chứa chất tương tự amylin, pramlintit, được điều chế bằng cách hòa tan bột pramlintit axetat trong DMSO (đến nồng độ bằng 1 mg/mL) và các nồng độ khác nhau của axit clohydric nằm trong khoảng từ 0,00001 M (0,01 mM) đến 0,1 M (100 mM) được bổ sung vào chế phẩm này. HCl 5 N được sử dụng để điều chế 100 mM và HCl 10 mM trong dung dịch DMSO, trong khi HCl 1 N được sử dụng để điều chế 1 mM, 0,1 mM, và 0,01 mM HCl trong dung dịch DMSO. Là một ví dụ, đối với HCl 100 mM trong dung dịch DMSO, 10 µL HCl 1 N được bổ sung vào 9,99 mL DMSO. Các mẫu của mỗi chế phẩm được bảo quản trong các lọ nhỏ CZ và được ủ ở nhiệt độ 40°C. Sau 31 ngày bảo quản, độ ổn định hóa học của peptit được đánh giá bằng RP-HPLC theo phương pháp được mô tả trong ví dụ 1. Các dung dịch mẫu vẫn trong (tức là không chứa vật liệu không hòa tan) và không màu trong toàn bộ giai đoạn thử nghiệm. Tuy nhiên, như được thể hiện trong bảng 12, việc bổ sung một lượng xác định của HCl (HCl 1 mM trong DMSO) tạo ra độ ổn định được tăng cường của peptit, làm giảm thiểu sự thoái biến hóa học so với các chế phẩm mẫu khác.

Bảng 12: Độ ổn định (được cung cấp dưới dạng % độ tinh khiết của peptit) của dung dịch Pramlintit-DMSO 1 mg/mL được bảo quản ở nhiệt độ 40°C

| Pramlintit | [HCl] được bổ sung mM | Ngày 0 | Ngày 31 |
|------------|-----------------------|--------|---------|
| 1 mg/mL    | 100                   | 100%   | 0%      |
| 1 mg/mL    | 10                    | 100%   | 72,9%   |
| 1 mg/mL    | 1                     | 100%   | 100,0%  |
| 1 mg/mL    | 0,1                   | 100%   | 72,8%   |
| 1 mg/mL    | 0.01                  | 100%   | 43,2%   |

#### Ví dụ 9

Để nghiên cứu thêm mức HCl được bổ sung có khả năng làm ổn định các dung dịch chứa pramlintit trong DMSO, các chế phẩm chứa chất tương tự amylin, pramlintit, được điều chế ở nồng độ bằng 5 mg/mL bằng cách hòa tan bột pramlintit axetat trong DMSO với sự có mặt của nồng độ khác nhau của axit clohydric được bổ sung vào dung dịch DMSO, nằm trong khoảng từ 0,00032 (0,32 mM) đến 0,00316 M (3,16 mM). Nồng độ của HCl nghiên cứu được thể hiện trong bảng 13. 0,5 mL thể tích của các dung dịch được bảo quản trong các lọ nhỏ CZ 2 mL và được đặt trong tủ ủ ở nhiệt độ được cài đặt đến 40°C. Các chế phẩm mẫu vẫn trong (tức là không chứa vật liệu không hòa tan) và không màu trong toàn bộ giai đoạn thử nghiệm. Độ ổn định của peptit trong chế phẩm (được đánh giá bằng RP-HPLC theo phương pháp được mô tả trong ví dụ 1) sau 31 ngày bảo quản được thể hiện dưới đây trong bảng 13.

Bảng 13: Độ ổn định (được cung cấp dưới dạng % độ tinh khiết của peptit) của dung dịch Pramlintit-DMSO 5 mg/mL được bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 31 ngày

| Nồng độ của bột Pramlintit | [HCl] được bổ sung mM | Độ tinh khiết của Peptit |
|----------------------------|-----------------------|--------------------------|
| 5 mg/mL                    | 3,16                  | 69,0%                    |
| 5 mg/mL                    | 1,78                  | 87,3%                    |
| 5 mg/mL                    | 1,26                  | 94,9%                    |
| 5 mg/mL                    | 1,00                  | 97,7%                    |
| 5 mg/mL                    | 0,79                  | 97,0%                    |
| 5 mg/mL                    | 0,56                  | 90,5%                    |
| 5 mg/mL                    | 0,32                  | 59,2%                    |

Việc lập đồ thị dữ liệu trong bảng 13 chỉ ra rằng có thể có một khoảng tối ưu của tá dược ổn định ion hóa bổ sung trong đó độ ổn định của peptit được tối ưu hóa (xấp xỉ 1,00 mM trong ví dụ này) (FIG. 2). Như được lưu ý trên FIG. 2 (trong đó trục X thể hiện nồng độ của HCl được bổ sung (mM) với thang loga), lệch xa khỏi nồng độ tối ưu của HCl được bổ sung (bằng cách làm tăng hoặc giảm nồng độ của HCl) thúc đẩy sự thoái biến hóa học và/hoặc vật lý trong phân tử pramlintit hòa tan.

#### Ví dụ 10

Nồng độ của tá dược ổn định ion hóa cần thiết để làm ổn định peptit đã cho sẽ phụ thuộc vào các thông số chế phẩm khác nhau, bao gồm cả trình tự axit amin của peptit và nồng độ của peptit trong dung dịch. Trong ví dụ này, các dung dịch chứa pramlintit axetat trong DMSO được điều chế ở hai nồng độ khác nhau: 1 mg/mL và 5 mg/mL. Tá dược ổn định ion hóa được bổ sung vào dung dịch là HCl trong nước (nồng độ 5 N và 1 N), để thu được nồng độ HCl được bổ sung cuối cùng được chỉ rõ trong cột bên trái. Các mẫu sau đó được bảo quản trong thời gian 1 tháng ở nhiệt độ 40°C. Như được lưu ý trong bảng 14, độ ổn định của phân tử pramlintit như được đánh giá bằng RP-HPLC theo phương pháp được mô tả trong ví dụ 1 chỉ ra rằng sự tăng nồng độ thuốc gấp 5 lần cần đến sự tăng tương ứng xấp xỉ về nồng độ

của HCl được bổ sung cần thiết để làm ổn định phân tử, là dung dịch pramlintit 1 mg/mL thể hiện độ ổn định tối đa của HCl 1,00 mM (hoặc nằm trong khoảng 0,56 mM và 1,78 mM HCl), trong khi dung dịch 5 mg/mL thể hiện độ ổn định tối đa quanh giá trị 3,16 mM và 5,62 mM HCl).

Bảng 14: Độ tinh khiết của Pramlintit như được đánh giá bằng RP-HPLC sau 31 ngày bảo quản ở nhiệt độ 40°C

| Nồng độ HCl được bổ sung | Pramlintit (1 mg/mL) | Pramlintit (5 mg/mL) |
|--------------------------|----------------------|----------------------|
| 10,00 mM                 | ---                  | 83,5%                |
| 5,62 mM                  | ---                  | 99,3%                |
| 3,16 mM                  | 79,2%                | 100,0%               |
| 1,78 mM                  | 96,3%                | 88,5%                |
| 1,00 mM                  | 100,0%               | 68,9%                |
| 0,56 mM                  | 96,0%                | 57,7%                |
| 0,32 mM                  | 67,3%                | 56,8%                |

\* Đối với các dung dịch đặc pramlintit 1 mg/mL, các mẫu được chuẩn bị ở nồng độ HCl là 5,62 mM và 10,0 mM là chế phẩm thể hiện độ ổn định giảm là nồng độ HCl tăng từ 1,78 mM đến 3,16 mM.

#### Ví dụ 11

Trong ví dụ này, bột insulin (ở người tái tổ hợp) (CAS số 11061-68-0) được hòa tan đến nồng độ bằng 3,5 mg/mL trong DMSO. Sau khi hòa tan bột insulin, nồng độ khác nhau của axit clohydric được bổ sung vào các dung dịch mẫu. Nồng độ của HCl được bổ sung nằm trong khoảng từ 0,010 M (10 mM) đến 0,00032 M (0,32 mM). Nồng độ HCl nghiên cứu được thể hiện trong bảng 15. 0,5 mL phần phân ước của dung dịch insulin mẫu được bảo quản trong lọ nhỏ CZ 2-mL và được đặt trong tủ ủ ở nhiệt độ được cài đặt đến 40°C. Việc quan sát bằng mắt thường các dung dịch sau bảo quản cho thấy rằng chúng vẫn trong (tức là không chứa vật liệu không hòa tan) và không màu trong suốt giai đoạn ủ. Độ ổn định hóa học của peptit trong chế phẩm được đánh giá bằng RP-HPLC theo phương pháp được mô tả trong

ví dụ 1 sau 14 ngày bảo quản và các kết quả (được cung cấp dưới dạng độ tinh khiết của peptit) như được thể hiện dưới đây trong bảng 15.

Bảng 15: Độ ổn định (được cung cấp dưới dạng độ tinh khiết của peptit) của dung dịch Insulin-DMSO 3,5 mg/mL được bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 2 tuần

| Nồng độ bột Insulin | [HCl] mM | Độ tinh khiết của Insulin |
|---------------------|----------|---------------------------|
| 3,5 mg/mL           | 10,0     | 70,7%                     |
| 3,5 mg/mL           | 5,6      | 72,4%                     |
| 3,5 mg/mL           | 3,2      | 74,7%                     |
| 3,5 mg/mL           | 1,8      | 88,1%                     |
| 3,5 mg/mL           | 1,0      | 95,5%                     |
| 3,5 mg/mL           | 0,6      | 97,3%                     |
| 3,5 mg/mL           | 0,3      | 94,7%                     |

#### Ví dụ 12

Ví dụ sau đây chứng minh rằng khả năng áp dụng của sáng chế đối với việc điều chế các đồng chế phẩm. Bột insulin (ở người tái tổ hợp) (CAS số 11061-68-0) được hòa tan đến nồng độ cuối cùng bằng 3,5 mg/mL trong DMSO (nguyên chất), nồng độ khác nhau của axit clohydric được bổ sung vào dung dịch tạo thành. Nồng độ bổ sung của HCl nằm trong khoảng từ 0,010 M (10 mM) đến 0,00032 M (0,32 mM) như được thể hiện trong bảng 16. Bột pramlintit axetat (CAS số 196078-30-5) sau đó được bổ sung vào các dung dịch này đến nồng độ bằng 1,0 mg/mL. Do đó, mỗi trong số các dung dịch mẫu sau đó chứa 3,5 mg/mL bột insulin và 1,0 mg/mL bột pramlintit được hòa tan trong DMSO mà chứa nồng độ xác định của HCl bổ sung. 0,5 mL phần phân ước của các dung dịch mẫu đồng chế phẩm được đặt trong các lọ nhỏ CZ 2-mL, và được bảo quản ở nhiệt độ phòng (từ 22 đến 23°C). Độ ổn định của peptit trong chế phẩm được đánh giá bằng RP-HPLC (theo phương pháp được mô tả trong ví dụ 1) sau 52 ngày bảo quản và các kết quả này được thể hiện trong bảng 16. Như với các ví dụ trước hướng đến các chế phẩm chứa

một mình API, các đồng chế phẩm này cũng thể hiện nồng độ HCl được bổ sung mà tạo ra độ ổn định tối ưu cho cả hai peptit.

Bảng 16: Độ ổn định của các đồng chế phẩm (được cung cấp dưới dạng độ tinh khiết của peptit) chứa 3,5 mg/mL bột insulin và 1,0 mg/mL bột pramlintit được hòa tan trong DMSO và được bảo quản ở nhiệt độ phòng (từ 22 đến 23°C) trong thời gian 52 ngày

| Nồng độ của bột Insulin | Nồng độ của bột Pramlintit | [HCl] được bổ sung | Độ tinh khiết kết hợp |
|-------------------------|----------------------------|--------------------|-----------------------|
| 3,5 mg/mL               | 1,0 mg/mL                  | 3,2 mM             | 87,4%                 |
| 3,5 mg/mL               | 1,0 mg/mL                  | 1,8 mM             | 92,9%                 |
| 3,5 mg/mL               | 1,0 mg/mL                  | 1,0 mM             | 98,1%                 |
| 3,5 mg/mL               | 1,0 mg/mL                  | 0,6 mM             | 88,8%                 |
| 3,5 mg/mL               | 1,0 mg/mL                  | 0,3 mM             | 87,5%                 |

#### Ví dụ 13

Ví dụ sau đây chứng minh rằng khả năng áp dụng của sáng chế đối với việc điều chế các chế phẩm ổn định chứa các phân tử nhỏ. Bột epinephrin (từ bitartrat) (CAS số 51-42-3) được hòa tan đến nồng độ API bằng 10 mg/mL (xấp xỉ 55 mM) trong DMSO (nguyên chất) mà nồng độ khác nhau của axit clohydric (từ dung dịch gốc 1 N) được bổ sung vào. Nồng độ bổ sung của HCl nằm trong khoảng từ 1 mM đến 100 mM, như được thể hiện trong bảng 17. 0,5 mL phần phân ước của các dung dịch epinephrin được bảo quản trong các lọ nhỏ thủy tinh 2-mL (Loại 1) và được đặt trong các buồng ổn định với nhiệt độ bằng 40°C và độ ẩm tương đối bằng 75%. Các mẫu này được điều chế trong môi trường xung quanh và được bảo quản trong các lọ nhỏ được bịt kín bằng nút cao su được phủ FluroTec® dưới khí xung quanh (lưu ý rằng các mẫu cũng có thể được lấp đầy dưới khí trơ (nitơ, argon)).

Độ ổn định của phân tử nhỏ trong chế phẩm được đánh giá bằng RP-HPLC sau 1 tháng bảo quản và các kết quả này được thể hiện trong bảng 17. Đối với phép phân tích HPLC, 1 lít dung dịch chứa nước được chuẩn bị gồm có 0,05 M natri

phosphat monobazơ, 519 mg natri 1-octansulfonat, 45 mg edetat dinatri, với độ pH được điều chỉnh đến 3,8 bằng cách sử dụng  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Pha động gồm có 85:15 (thể tích/thể tích) hỗn hợp của dung dịch chứa nước với methanol. Cột BDS Hypersil C8 (chiều dài 4,6 mm I.D. x 150 mm) được sử dụng với thể tích phun 20- $\mu\text{L}$  và bước sóng phát hiện 280-nm. Trước khi sử dụng, pha động được lọc dưới chân không qua bộ lọc ni lông 0,45- $\mu\text{m}$  và các dung dịch mẫu epinephrin 10 mg/mL được pha loãng 200 lần với pha động (ví dụ, 5  $\mu\text{L}$  thể tích mẫu trong tổng thể tích 1 mL). Do các dung dịch epinephrin dễ bị phai màu một phần, do sự biến đổi của phân tử epinephrin thông qua sự oxy hóa thành chất điều khiển sự chảy máu (được đặc trưng bởi sự phai màu hồng của dung dịch) và/hoặc melanin (được đặc trưng bởi sự phai màu vàng/nâu của dung dịch), màu sắc của các dung dịch mẫu được khảo sát bằng mắt thường. Như được lưu ý trong bảng 17, việc bổ sung nồng độ đẳng mol xấp xỉ của HCl (50 mM) vào dung dịch epinephrin ngăn chặn sự phai màu khi được bật kín trong các điều kiện xung quanh.

Hơn nữa, epinephrin trong dung dịch chứa nước cũng bị ảnh hưởng bởi sự chuyển hóa của chất đồng phân lập thể hoạt hóa sinh học (L-epinephrin) thành dạng bất hoạt (D-epinephrin). Do đó, độ tinh khiết đối quang của các dung dịch DMSO cũng được nghiên cứu thông qua RP-HPLC không đối xứng. Pha động là hỗn hợp 95:5 (thể tích/thể tích) của dung dịch chứa nước (NaCl 0,20 M, axit axetic băng 0,05%) và axetonitril. Cột không đối xứng (Shodex ORpak CDBS-453; 4,6 mm I.D. và chiều dài 150 mm) được sử dụng với nhiệt độ cột bằng 10°C, tốc độ dòng bằng 0,5 mL/phút, và bước sóng phát hiện 280-nm. Trước khi sử dụng, pha động được lọc dưới chân không qua bộ lọc ni lông 0,45- $\mu\text{m}$  và 10 mg/mL dung dịch mẫu được pha loãng 200 lần bằng pha động HPLC không đối xứng. Độ tinh khiết đối quang (được cung cấp dưới dạng L-epinephrin là tỷ lệ phần trăm của epinephrin tổng số) được liệt kê trong bảng 17.

Lưu ý rằng khi epinephrin bitartrat được hòa tan trực tiếp trong DMSO, được mô tả trong tình trạng kỹ thuật (ví dụ, patent Mỹ số 9,125,805), dung dịch thể hiện sự phai màu mạnh. Việc bổ sung HCl vào chế phẩm ức chế mức độ phai màu, cho đến khi ở 50 mM HCl được bổ sung (là đẳng mol xấp xỉ với nồng độ của phân tử

epinephrin trong 10 mg/mL dung dịch), dung dịch này vẫn trong và không màu trong toàn bộ giai đoạn bảo quản 1 tháng. Ở 75 và 100 mM HCl được bổ sung, các dung dịch này thể hiện sự phai màu đáng kể.

Bảng 17: Độ ổn định của 10 mg/mL dung dịch epinephrin được giữ trong môi trường khí xung quanh được bảo quản ở nhiệt độ 40°C và RH 75% trong thời gian 1 tháng

| Nồng độ Epinephrin | [HCl] được bổ sung | % độ tinh khiết | Màu dung dịch | Độ tinh khiết đối quang |
|--------------------|--------------------|-----------------|---------------|-------------------------|
| 10 mg/mL           | 0 mM               | 92,6%           | Đỏ sẫm        | 100%                    |
| 10 mg/mL           | 1 mM               | 94,9%           | Hồng sẫm      | 100%                    |
| 10 mg/mL           | 10 mM              | 98,5%           | Hồng nhạt     | 100%                    |
| 10 mg/mL           | 25 mM              | 100,0%          | Hồng rất nhạt | 100%                    |
| 10 mg/mL           | 50 mM              | 100,0%          | Không màu     | 100%                    |
| 10 mg/mL           | 75 mM              | 91,6%           | Nâu           | 97,4%                   |
| 10 mg/mL           | 100 mM             | 74,8%           | Nâu sẫm       | 93,1%                   |

#### Ví dụ 14

Ví dụ sau đây chứng minh rằng khả năng áp dụng của sáng chế đối với việc điều chế các chế phẩm ổn định chứa các phân tử nhỏ được kết hợp với việc bịt kín các lọ nhỏ mẫu trong điều kiện khí trơ. Bột epinephrin (từ bitartrat) (CAS số 51-42-3) được hòa tan đến nồng độ API cuối cùng bằng 10 mg/mL (xấp xỉ 55 mM) trong DMSO (nguyên chất), được bổ sung nồng độ khác nhau của axit clohydric (từ dung dịch gốc 1 N). Nồng độ được bổ sung của HCl nằm trong khoảng từ 1 mM đến 100 mM, như được thể hiện trong bảng 18. 0,5 mL phần phân ước của các dung dịch epinephrin được bảo quản trong các lọ thủy tinh 2-mL (Loại 1) và được đặt trong buồng ổn định với nhiệt độ bằng 40°C và độ ẩm tương đối bằng 75%. Các mẫu này được chuẩn bị trong môi trường xung quanh nhưng được bịt kín dưới khí trơ (agon), dưới dạng Epinephrin đã biết là bị ảnh hưởng bởi các phản ứng thoái biến do oxy hóa.

Độ ổn định của phân tử nhỏ trong chế phẩm và được bịt kín dưới khí trơ được đánh giá bằng RP-HPLC sau 1 tháng bảo quản và các kết quả này được thể hiện trong bảng 18. Độ ổn định hóa học được phân tích thông qua HPLC được mô tả trong ví dụ 13. Do dung dịch epinephrin dễ bị phai màu một phần được tăng cường sự thoái biến, do sự biến đổi của phân tử epinephrin thông qua sự oxy hóa thành chất điều khiển sự chảy máu (được đặc trưng bởi sự phai màu hồng của dung dịch) và/hoặc melanin (được đặc trưng bởi phai màu vàng/nâu của dung dịch), màu sắc của các dung dịch mẫu được khảo sát bằng mắt thường. Như được lưu ý trong bảng 18, việc bịt kín các lọ nhỏ mẫu dưới khí trơ (agon trong ví dụ cụ thể này), ức chế sự phai màu hồng được lưu ý ở trên trong ví dụ 11, trong đó các lọ nhỏ mẫu được giữ trong môi trường khí xung quanh. Tuy nhiên, việc bổ sung lượng dư HCl vào chế phẩm (ví dụ, nồng độ đẳng mol đáng kể ở trên so với API phân tử nhỏ), sự phai màu vàng sẫm/nâu tương tự được lưu ý là với các dung dịch từ ví dụ 10.

Được mô tả trong ví dụ 13, phép phân tích HPLC không đối xứng cũng được tiến hành trên các mẫu epinephrin được lấp đầy agon. Trước khi sử dụng, pha động được lọc dưới chân không qua bộ lọc ni lông 0,45- $\mu$ m và 10 mg/mL dung dịch mẫu được pha loãng 200 lần bằng pha động HPLC không đối xứng. Độ tinh khiết đối quang (được cung cấp dưới dạng L-epinephrin là tỷ lệ phần trăm của epinephrin tổng số) được liệt kê trong bảng 18.

Khi epinephrin (từ bitartrat) được hòa tan trực tiếp trong DMSO và được bịt kín trong các lọ nhỏ thủy tinh dưới khí agon, dung dịch này vẫn thể hiện sự phai màu, nhưng sự phai màu bị giảm bớt so với các mẫu được giữ trong môi trường xung quanh. Việc bổ sung HCl vào chế phẩm thể hiện mức độ phai màu; HCl được bổ sung trong khoảng từ 10 đến 50 mM (50 mM là đẳng mol xấp xỉ với phân tử epinephrin), dung dịch vẫn trong và không màu trong toàn bộ giai đoạn bảo quản 1 tháng. Ở 75 và 100 mM HCl bổ sung, các dung dịch được quan sát bị mất màu nhanh chóng.

Bảng 18: Độ ổn định hóa học của 10 mg/mL dung dịch epinephrin được bịt kín dưới khí agon được bảo quản ở nhiệt độ 40°C và RH 75% trong thời gian 1 tháng

| Nồng độ Epinephrin | [HCl] được bổ sung | % độ tinh khiết | Màu của dung dịch | Độ độ tinh khiết đối quang |
|--------------------|--------------------|-----------------|-------------------|----------------------------|
| 10 mg/mL           | 0 mM               | 100,0%          | Hồng nhạt         | 100,0%                     |
| 10 mg/mL           | 1 mM               | 100,0%          | Hồng rất nhạt     | 100,0%                     |
| 10 mg/mL           | 10 mM              | 100,0%          | Không màu         | 100,0%                     |
| 10 mg/mL           | 25 mM              | 100,0%          | Không màu         | 100,0%                     |
| 10 mg/mL           | 50 mM              | 100,0%          | Không màu         | 100,0%                     |
| 10 mg/mL           | 75 mM              | 93,9%           | Vàng              | 97,3%                      |
| 10 mg/mL           | 100 mM             | 91,1%           | Cam               | 91,1%                      |

#### Ví dụ 15

Ví dụ sau đây chứng minh rằng khả năng áp dụng của sáng chế với việc điều chế các chế phẩm ổn định chứa các phân tử nhỏ. Bột epinephrin (từ bitartrat) (CAS số 51-42-3) được hòa tan đến nồng độ của API bằng 3 mg/mL (xấp xỉ 16 mM) trong DMSO (nguyên chất) được bổ sung nồng độ khác nhau của axit clohydric (từ dung dịch gốc 1 N). Nồng độ được bổ sung của HCl nằm trong khoảng từ 0 mM đến 25 mM, như được thể hiện trong bảng 19. 0,5 mL phần phân ước của dung dịch epinephrin được bảo quản trong bình thủy tinh 2-mL (Loại 1) và được đặt trong buồng ổn định với nhiệt độ bằng 40°C và độ ẩm tương đối bằng 75%. Các mẫu này được điều chế trong môi trường xung quanh và được bịt kín trong các lọ nhỏ trong môi trường khí xung quanh (lưu ý rằng mẫu này cũng có thể được lấp đầy dưới khí trơ (ví dụ, nitơ, agon)).

Độ ổn định của phân tử nhỏ trong chế phẩm được đánh giá bằng RP-HPLC sau 16 tuần bảo quản được mô tả trong ví dụ 13 và các kết quả được thể hiện trong bảng 19. Trước khi phân tích, dung dịch mẫu epinephrin 3 mg/mL được pha loãng xấp xỉ 30 lần với pha động (ví dụ, 33  $\mu$ L thể tích mẫu trong tổng thể tích mẫu 1 mL). Như được lưu ý trong bảng 19, việc bổ sung nồng độ đẳng mol xấp xỉ của HCl

(16,4 mM) vào epinephrin bitartat ức chế dung dịch mẫu khỏi phai màu khi được bịt kín dưới các điều kiện xung quanh trong thời gian xấp xỉ 16 tuần (114 ngày).

Độ tinh khiết đối quang của các dung dịch DMSO-epinephrin cũng được nghiên cứu bằng RP-HPLC không đối xứng được mô tả trong ví dụ 13. Trước khi phân tích, 3 mg/mL dung dịch mẫu được pha loãng 30 lần bằng pha đảo HPLC không đối xứng. Độ tinh khiết đối quang (được cung cấp dưới dạng L-epinephrin là tỷ lệ phần trăm của epinephrin tổng số) được liệt kê trong bảng 19.

Việc bổ sung HCl vào chế phẩm thể hiện mức độ phai màu, cho đến khi ở 16,4 mM HCl được bổ sung (là xấp xỉ đẳng mol với phân tử epinephrin), dung dịch vẫn trong và không màu trong suốt giai đoạn bảo quản 16 tuần. Ở 20 và 25 mM HCl được bổ sung, các dung dịch thể hiện sự phai màu nhạt.

Bảng 19: Độ ổn định hóa học của 3 mg/mL dung dịch epinephrin được giữ trong môi trường khí xung quanh được bảo quản ở nhiệt độ 40°C và RH 75% trong thời gian 16 tuần

| Nồng độ Epinephrin | [HCl] được bổ sung | % độ tinh khiết | Màu sắc của dung dịch | Độ tinh khiết đối quang |
|--------------------|--------------------|-----------------|-----------------------|-------------------------|
| 3 mg/mL            | 0 mM               | 74%             | Nâu                   | 99%                     |
| 3 mg/mL            | 1 mM               | 76%             | Đỏ sẫm                | 99%                     |
| 3 mg/mL            | 5 mM               | 96%             | Vàng sẫm              | 100%                    |
| 3 mg/mL            | 10 mM              | 100%            | Nâu nhạt              | 100%                    |
| 3 mg/mL            | 15 mM              | 100%            | Không màu             | 100%                    |
| 3 mg/mL            | 20 mM              | 97%             | Vàng rất nhạt         | 96%                     |
| 3 mg/mL            | 25 mM              | 90%             | Nâu nhạt              | 92%                     |

\* \* \*

Tất cả các chế phẩm và/hoặc phương pháp được mô tả và được bảo hộ trong bản mô tả có thể được tạo ra và được thực hiện mà không cần thử nghiệm quá mức theo quan điểm của sáng chế. Trong khi các chế phẩm và phương pháp theo sáng chế được mô tả theo một số phương án, sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này rằng các biến thể có thể được ứng dụng đối với các

chế phẩm và phương pháp và trong các bước hoặc trong trình tự của các bước của phương pháp được bộc lộ trong bản mô tả mà không tách rời khỏi ngữ cảnh và phạm vi của sáng chế. Cụ thể hơn, sẽ rõ ràng rằng các tác nhân đã biết có liên quan cả về mặt hóa học và sinh lý đều có thể được thay thế cho các tác nhân được mô tả trong bản mô tả trong khi đạt được các kết quả tương tự hoặc tương đương. Tất cả các phần thay thế và các cải biến tương tự sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này dường như nằm trong phạm vi và ngữ cảnh của sáng chế được mô tả ở đây.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

### 1. Chế phẩm glucagon ổn định chứa:

(a) peptit glucagon hoặc muối của nó, trong đó peptit glucagon này hoặc muối của nó không được điều chế bằng cách sấy khô với sự có mặt của dung dịch đệm không dễ bay hơi có độ pH nằm trong khoảng từ 2 đến 4;

(b) tá dược ổn định ion hóa, trong đó tá dược ổn định ion hóa này là axit khoáng; và

(c) dung môi phân cực không proton;

trong đó (i) peptit glucagon hoặc muối của nó được hòa tan trong dung môi không proton với lượng từ khoảng 0,1 mg/mL lên đến giới hạn hòa tan của peptit glucagon hoặc muối của nó, và (ii) tá dược ổn định ion hóa được hòa tan trong dung môi không proton với lượng để ổn định sự ion hóa của peptit glucagon hoặc muối của nó.

2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó tá dược ổn định ion hóa là ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 mM đến nhỏ hơn 100 mM.

3. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó axit khoáng được chọn từ axit clohydric, axit sulfuric, hoặc axit nitric.

4. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó dung môi không proton là DMSO.

5. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó dung môi không proton là dung môi không proton được khử oxy.

6. Chế phẩm theo điểm 5, trong đó dung môi không proton được khử oxy là DMSO được khử oxy.

7. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó tá dược ổn định ion hóa là axit sulfuric và dung môi không proton là DMSO.

8. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó hàm lượng ẩm nhỏ hơn 10, 5, hoặc 3%.

9. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa chất bảo quản ở lượng nhỏ hơn 10, 5, hoặc 3% trọng lượng/thể tích.

10. Chế phẩm theo điểm 9, trong đó chất bảo quản là rượu benzyl.

11. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa disacarit ở lượng nhỏ hơn 10, 5, hoặc 3% trọng lượng/thể tích.

12. Chế phẩm theo điểm 11, trong đó disacarit là trehaloza.

13. Phương pháp bào chế peptit glucagon ổn định bao gồm các bước:

(a) xác định profin ion hóa thích hợp đối với peptit glucagon hoặc muối của nó trong hệ dung môi phân cực không proton;

(b) trộn ít nhất một tá dược ổn định ion hóa với dung môi không proton để tạo ra nồng độ thích hợp của ít nhất một tá dược ổn định ion hóa để thiết lập profin ion hóa được xác định trong bước (a); và

(c) hòa tan peptit glucagon hoặc muối của nó trong dung môi không proton có nồng độ của tá dược ổn định ion hóa thích hợp để làm ổn định vật lý và hóa học peptit glucagon hoặc muối của nó trong thời gian ít nhất một năm ở nhiệt độ trong phòng.

14. Phương pháp theo điểm 13, trong đó tá dược ổn định ion hóa là axit clohydric, axit nitric, axit sulfuric, hoặc hỗn hợp của chúng.

15. Phương pháp theo điểm 13, trong đó nồng độ của tá dược ổn định ion hóa nằm trong khoảng từ 0,1 mM đến 100 mM.

16. Phương pháp theo điểm 13, trong đó dung môi không proton là DMSO.

**FIG. 1**

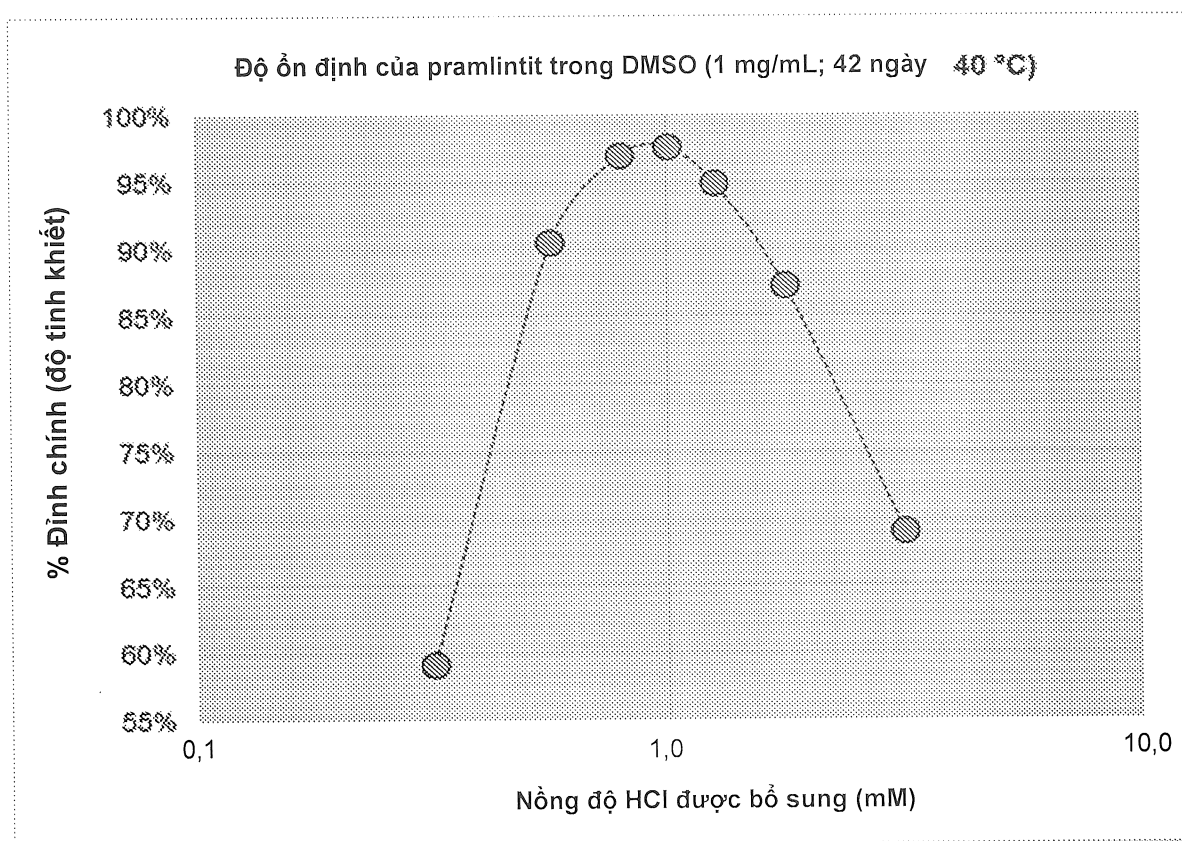


FIG. 2