



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

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

(11)



1-0039258

(51)⁷ A61K 9/10; A61K 9/00; A61P 25/16;
A61K 9/107; A61K 31/473; A61K 9/08

(13) B

(21) 1-2014-00241

(22) 11/07/2012

(86) PCT/EP 2012/002916 11/07/2012

(87) WO 2013/007381 17/01/2013

(30) 11290320.8 11/07/2011 EP

(45) 25/03/2024 432

(43) 26/05/2014 314A

(73) BRITANNIA PHARMACEUTICALS LTD. (GB)

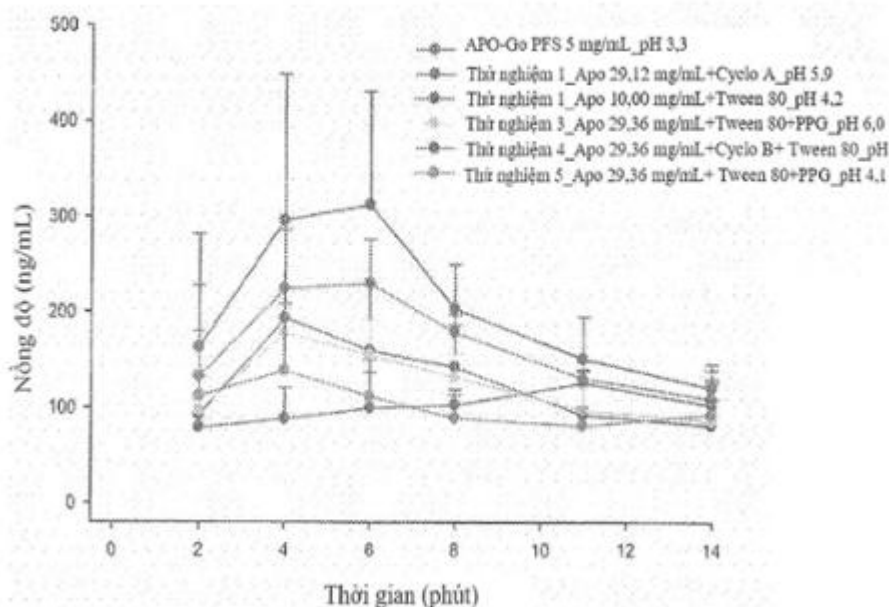
200 Longwater Avenue, Green Park, Reading, Berkshire RG2 6GP, United Kingdom.

(72) DEY, Michael (GB); RICHARD, Joel (FR); BARONNET, Marie-Madeleine (FR);
MONDOLY, Nathalie (FR); BERTOCCHI, Laurent (FR); HARNETT, Jeremiah
(FR).

(74) Văn phòng Luật sư Ân Nam (ANNAM IP & LAW)

(54) DƯỢC PHẨM DÙNG NGOÀI ĐƯỜNG TIÊU HÓA CHỨA HOẠT CHẤT
APOMORPHIN VÀ QUY TRÌNH BẢO CHẾ DƯỢC PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa apomorphin làm hoạt chất dược phẩm, và cụ thể hơn là đề cập đến dược phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến dược phẩm dưới dạng dung dịch chứa apomorphin làm hoạt chất dược phẩm và cụ thể hơn, đề cập đến dạng bào chế để sử dụng ngoài đường tiêu hoá.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Apomorphin là hoạt chất dược phẩm được sử dụng để làm giảm “sự mất kiểm soát vận động” ở các bệnh nhân bị bệnh Parkinson tiến triển. Hiện nay có ba loại dung dịch apomorphin được bán trên thị trường: dung dịch để tiêm dưới da được bán dưới nhãn hiệu *APO-go®* PFS, dung dịch để tiêm không liên tục dưới da (dùng liều cao để đạt nhanh tác dụng) được bán dưới dạng các ống tiêm với nhãn hiệu *Apo-go®*; và dung dịch apomorphin để tiêm không liên tục dưới da (dùng liều cao để đạt nhanh tác dụng) được bán dưới nhãn hiệu *Apokyn®*. Ba dung dịch đang có trên thị trường này có độ pH nằm trong khoảng từ 3,0 đến 4,0.

Tuy nhiên, các dạng bào chế này gây ra các phản ứng tại vị trí tiêm. Bởi vậy, do thận trọng y khoa thì cứ mỗi 12 giờ phải thay đổi vị trí tiêm và để dùng liều cao nhằm đạt tác dụng nhanh của thuốc thì phải luân phiên vị trí tiêm.

Hơn nữa, việc tiêm dưới da hoạt chất dược phẩm (API) được bào chế trong môi trường axit có thể dẫn tới sự kết tủa và sự phân hủy hoá học tại chỗ dưới điều kiện sinh lý và pH. Giá trị pH thấp của dạng bào chế, cũng như sự kết tủa hoặc phân hủy có thể xảy ra của thuốc dưới điều kiện sinh lý, có thể gây ra các phản ứng cục bộ tại vị trí dưới da, như các nốt sần tấy đỏ và ngứa, gây đau và khó chịu. Điều này thường xảy ra với apomorphin khi được dùng theo đường truyền dưới da (SC).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Để làm tăng mức độ dung nạp tại chỗ của điều trị, chủ đơn sáng chế đã tìm ra dạng bào chế mới có độ pH gần với độ pH sinh lý, giúp tránh được sự kết tủa tại chỗ, làm tăng được độ bền hoá học của dạng bào chế; nồng độ thuốc tăng lên cho phép giảm được thể tích có thể tiêm của thuốc.

Mục đích của sáng chế là đề xuất dược phẩm dưới dạng dung dịch, bao gồm:

- i) apomorphin làm chất mang dược tính,
- ii) đồng dung môi có thể trộn lẫn với nước,

iii) chất chống oxy hoá, cụ thể là chất chống oxy hoá tan trong hỗn hợp gồm apomorphin và đồng dung môi; và

iv) nước;

trong đó, pH của dược phẩm lớn hơn 4.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 (các chi tiết pha hấp thụ của các dạng bào chế được thử nghiệm (1mg/kg, SC ở các chuột thân lớn)) cho thấy các nồng độ trong huyết tương của apomorphin trong 14 phút đầu tiên để tính toán các thông số dược động của pha hấp thụ.

Fig.2 (các thông số dược động của các dạng bào chế được thử nghiệm (1mg/kg, SC ở các chuột thân lớn)) cho thấy nồng độ tổng quát trong huyết tương của apomorphin trong khoảng thời gian 3 giờ.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trừ khi được chỉ dẫn ra khác đi, các định nghĩa sau đây được áp dụng để minh hoạ và xác định ý nghĩa và phạm vi sử dụng của các thuật ngữ khác nhau được dùng để mô tả sáng chế.

Thuật ngữ “đồng dung môi” như được sử dụng trong đơn sáng chế này, dung để chỉ: a) dung môi hoặc hỗn hợp các dung môi cho phép kết hợp thành phần hoạt tính vào dược phẩm để có được liều lượng cần thiết trong một thể tích thích hợp và đáp ứng được các tiêu chuẩn có thể tiêm hoặc b) chất rắn tan được trong nước cho phép kết hợp thành phần hoạt tính vào dược phẩm để thu được liều lượng cần thiết trong một thể tích thích hợp và đáp ứng được các tiêu chuẩn có thể tiêm.

Thuật ngữ “chất chống oxy hoá” có nghĩa là hợp chất dược dụng có tính chất chống oxy hoá để ngăn ngừa sự phân hủy do oxy hoá của hoạt chất và ngăn ngừa sự phân hủy do oxy hoá của các tá dược.

Thuật ngữ “chất hoạt động bề mặt”, như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ hợp chất hoặc tá dược có các tính chất hoạt động bề mặt, được sử dụng chủ yếu trong các dạng bào chế này để cải thiện độ tan trong nước của thành phần hoạt tính, giúp bảo vệ hoạt chất chống lại sự phân hủy và hạn chế sự kết tủa *in vitro* của thành phần hoạt tính, nếu một mình đồng dung môi là không đủ.

Thuật ngữ “chất thay đổi độ pH”, như được sử dụng ở đây, dung để chỉ hợp chất hoặc tá dược được sử dụng chủ yếu để điều chỉnh độ pH của dạng bào chế.

Dược phẩm theo sáng chế chứa apomorphin làm hoạt chất dược phẩm (API)

(hoặc hoạt chất). API apomorphin có thể ở dạng muối hoặc dạng bazơ tự do.

Theo sáng chế, ưu tiên thì apomorphin ở dạng muối. Muối của apomorphin có thể sử dụng cho sáng chế tốt hơn nếu là muối được dụng của axit hữu cơ, như muối của axit axetic, metansulfonic, arylsulfonic, lactic, xitric, tartaric, succinic, glutamic, ascorbic hoặc muối được dụng của axit vô cơ, như muối các axit clohydric, bromhydric, phosphoric, sunfuric, nitric.

Theo phương án ưu tiên khác của sáng chế, apomorphin ở dạng bazơ tự do.

Theo phương án ưu tiên khác của sáng chế, apomorphin ở dạng muối; tốt hơn nếu apomorphin ở dạng muối apomorphin hydroclorua.

Trong dược phẩm theo sáng chế, tốt hơn nếu hàm lượng apomorphin làm thành phần hoạt tính nằm trong khoảng từ 10 đến 70mg/ml. Theo phương án ưu tiên khác, lượng apomorphin nằm trong khoảng từ 10 đến 65mg/ml. Theo một phương án ưu tiên khác, hàm lượng apomorphin làm thành phần hoạt tính được chọn từ 10, 20, 30, 40, 50 và 60mg/ml.

Dược phẩm theo sáng chế chứa đồng dung môi cho phép đạt được tiêu chuẩn cần thiết về khả năng có thể tiêm của dược phẩm. Đồng dung môi là dung môi hoặc hỗn hợp các dung môi, hoặc là chất rắn tan trong nước. Đồng dung môi này trộn lẫn được với nước (tức là, ít nhất có thể trộn lẫn để có nồng độ 5% trong nước ở nhiệt độ 25°C) hoặc tan được trong nước, tùy trường hợp cụ thể. Ví dụ, có thể lựa chọn đồng dung môi là alcol hoặc polyol như các diol, các triol, manitol hoặc là polyete hoặc hỗn hợp của chúng. Khi đồng dung môi là alcol, nó có thể được chọn ví dụ, từ etanol, isopropanol. Khi đồng dung môi là polyol, nó có thể là diol, chẳng hạn như propylen glycol, hoặc là triol, chẳng hạn như glyxerol, hoặc có thể có hơn 3 nhóm hydroxyl, như manitol, maltitol hoặc các dẫn xuất của xyclodextrin, chẳng hạn như hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP β CD) hoặc sulfobutyl- β -cyclodextrin (SB β CD). khi đồng dung môi là polyete, thì chẳng hạn, có thể chọn nó từ các polyoxyetylen glycol hoặc các dẫn xuất của polyoxyetylen glycol, chẳng hạn như polyoxyetylen glycol 400, Solutol® HS15, Cremophor® ELP.

Theo phương án ưu tiên, đồng dung môi được chọn từ alcol hoặc polyol, hoặc polyete hay hỗn hợp của chúng; và tốt hơn nếu được chọn từ polyol và polyete hoặc hỗn hợp của chúng. Theo phương án ưu tiên khác, đồng dung môi được chọn từ diol, triol, dẫn xuất xyclodextrin, polyetylen glycol và dẫn xuất polyetylen glycol hoặc hỗn

hợp của chúng. Theo phương án được ưu tiên hơn, đồng dung môi được chọn từ propylen glycol, glyxerol, hydroxypropyl- β -xyclođextrin (HP β CD), sulfobutyl- β -xyclođextrin (SB β CD), dẫn xuất polyetylen glycol hoặc hỗn hợp của chúng.

Theo phương án ưu tiên, hàm lượng đồng dung môi nằm trong khoảng 0,1 đến 80% (trọng lượng/trọng lượng) trong dược phẩm và tốt hơn nếu nằm trong khoảng 0,2 đến 70% (trọng lượng/trọng lượng).

Dược phẩm theo sáng chế cũng chứa chất chống oxy hoá. Tốt hơn, chất chống oxy hoá này hoà trong hỗn hợp gồm apomorphin và (các) đồng dung môi. Ví dụ, nó có thể được chọn từ axit và muối của chúng, vitamin và dẫn xuất của chúng, axit amin, sulfit hoặc chất chống muối gốc phenolic tự do. Khi chất chống oxy hoá là axit hoặc muối của nó, nó có thể được chọn ví dụ từ axit ascorbic hoặc muối của nó, chẳng hạn như natri ascorbat; axit isoascorbic hoặc muối của nó, chẳng hạn như natri isoascorbat; axit xitric hoặc muối của nó, chẳng hạn như natri xitrat; axit lactic, axit malic. Khi chất chống oxy hoá là vitamin hoặc dẫn xuất của vitamin, nó có thể được chọn ví dụ từ tocopherol (vitamin E), riboflavin (vitamin B2), tocopherol-PEG-succinat (dẫn xuất của vitamin), trolox (dẫn xuất của vitamin). Khi chất chống oxy hoá là axit amin, nó có thể được chọn ví dụ từ xystein, tryptophan, histidin. Khi chất chống oxy hoá là sulfit, nó có thể được chọn ví dụ từ natri sulfit, natri metabisulfit, chẳng hạn. Khi chất chống oxy hoá là chất chống muối gốc phenolic tự do, nó có thể được chọn ví dụ từ hydroxitoluen đã được butyl hoá, butylhydroxylanisol, axit xinamic.

Theo phương án ưu tiên, chất chống oxy hoá được chọn từ axit và muối của chúng, vitamin và dẫn xuất của vitamin, axit amin, sulfit hoặc chất chống muối gốc phenolic tự do, và tốt hơn nếu từ axit và muối của chúng, cũng như sulfit.

Theo một phương án được ưu tiên hơn, chất chống oxy hoá được chọn từ axit ascorbic và natri metabisulfit, và tốt hơn, là axit ascorbic.

Theo một phương án ưu tiên khác, chất chống oxy hoá là axit ascorbic và tỷ lệ (tính theo trọng lượng/trọng lượng) apomorphin/chất chống oxy hoá nằm trong khoảng 1:0,01 đến 1:3,0, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 1:0,03 đến 1:2,0, và tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng 1:0,05 đến 1:0,50.

Theo một phương án ưu tiên khác, chất chống oxy hoá là natri metabisulfit và tỷ lệ (tính theo trọng lượng/trọng lượng) apomorphin/chất chống oxy hoá nằm trong khoảng 1:0,01 đến 1:0,50, tốt hơn nếu nằm trong khoảng 1:0,03 đến 1:0,30, và tốt hơn

nửa nếu nằm trong khoảng 1:0,09 đến 1:0,11. Theo một phương án được ưu tiên hơn, chất chống oxy hoá là natri metabisulfit và tỷ lệ (tính theo trọng lượng/trọng lượng) apomorphin/chất chống oxy hoá là 1:0,10.

Dược phẩm theo sáng chế có thể chứa các chất phụ trợ khác thường được sử dụng trong dược phẩm chẳng hạn như chất hoạt động bề mặt, chất làm thay đổi độ pH.

Dược phẩm theo sáng chế có thể chứa chất hoạt động bề mặt hoặc hỗn hợp của nó. Ví dụ, có thể chọn chất hoạt động bề mặt từ họ các este béo của polyoxyetylen sorbitan hoặc dẫn xuất của polyetylen glycol, hoặc từ các poloxame. Khi chất hoạt động bề mặt được chọn từ họ các este béo của polyoxyetylen sorbitan, nó có thể được chọn ví dụ từ polyoxyetylen (80) sorbitan monooleat, polyoxyetylen (20) sorbitan monolaurat, polyoxyetylen (40) sorbitan monopalmitat, polyoxyetylen (60) sorbitan monostearat. Khi chất hoạt động bề mặt là dẫn xuất của polyetylen glycol, nó có thể được chọn ví dụ từ este béo của polyetylen glycol, chẳng như polyetylen glycol 660 12-hydroxystearat (Solutol® HS 15), hoặc dẫn xuất của polyetylen glycol từ dầu thầu dầu, như Cremophor® ELP.

Theo một phương án ưu tiên, chất hoạt động bề mặt tùy ý có mặt trong dược phẩm này. Theo một phương án ưu tiên khác, chất hoạt động bề mặt có mặt trong dược phẩm này. Theo một phương án ưu tiên hơn, chất hoạt động bề mặt có mặt trong dược phẩm có giá trị cân bằng ưa nước-ưa lipid (HLB) trong khoảng 8 đến 20 và tốt hơn nữa thì trong khoảng 12 đến 17.

Theo một phương án ưu tiên, chất hoạt động bề mặt có mặt trong dược phẩm theo sáng chế và chất hoạt động bề mặt được chọn từ họ các este béo của polyoxyetylen sorbitan hoặc từ dẫn xuất của polyetylen glycol, hoặc từ poloxame. Theo một phương án được ưu tiên hơn, chất hoạt động bề mặt được chọn từ polyoxyetylen (80) sorbitan monooleat, polyoxyetylen (20) sorbitan monolaurat, dẫn xuất của polyetylen glycol dầu thầu dầu và dẫn xuất của polyetylen glycol; tốt hơn, chất hoạt động bề mặt là Cremophor® ELP hoặc polyetylen glycol 660 12-hydroxystearat (Solutol® HS 15).

Theo một phương án ưu tiên, đồng dung môi có mặt trong dược phẩm theo sáng chế và tỷ lệ apomorphin:đồng dung môi (trọng lượng/trọng lượng) trong dược phẩm nằm trong khoảng từ 1:0,1 đến 1:40, và tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 1:0,2 đến 1:30.

Độ pH của dược phẩm lớn hơn 4. Theo một phương án ưu tiên, độ pH của dược

phẩm nằm trong khoảng từ 4 đến 7, và tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 5 đến 7. Theo một phương án được ưu tiên hơn, độ pH của dược phẩm nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6,5. Theo một phương án được ưu tiên hơn, độ pH của dược phẩm được chọn từ 5,8; 5,9; 6,0; 6,1 hoặc 6,2.

Theo một phương án ưu tiên, chất làm thay đổi độ pH tùy ý có mặt trong dược phẩm này. Theo một phương án ưu tiên khác, chất làm thay đổi độ pH có mặt trong dược phẩm. Chẳng hạn, chất làm thay đổi độ pH có thể được chọn từ natri hydroxit, natri bicarbonat, kali hydroxit, magie hydroxit và nếu cần thì từ axit như axit clohydric.

Theo một phương án ưu tiên, chất làm thay đổi độ pH có mặt trong dược phẩm và được chọn từ natri hydroxit, natri bicarbonat, kali hydroxit hoặc magie hydroxit.

Dược phẩm theo sáng chế thích hợp để dùng ngoài đường tiêu hoá. Theo một phương án ưu tiên, dược phẩm theo sáng chế được dùng theo đường tiêm dưới da và tốt hơn thì theo đường truyền dưới da.

Dược phẩm theo sáng chế có độ nhớt thấp và dùng dễ dàng ngoài đường tiêu hoá thông qua kim tiêm 27Gauge (G) và tốt hơn nếu thông qua với kim tiêm 29G.

Dược phẩm theo sáng chế, có thể được sử dụng trong điều trị để làm giảm "sự mất kiểm soát vận động" ở các bệnh nhân bị Parkinson tiến triển.

Theo một phương án ưu tiên, dược phẩm theo sáng chế được sử dụng làm thuốc nhằm làm giảm "sự mất kiểm soát vận động" ở các bệnh nhân bị Parkinson tiến triển.

Sáng chế còn đề cập đến việc sử dụng dược phẩm theo sáng chế dưới dạng dung dịch để tiêm, cụ thể là dung dịch tiêm trong điều trị bệnh Parkinson.

Hơn nữa, sáng chế đề cập đến quy trình bào chế dược phẩm như được mô tả ở trên; quy trình này được xác định bằng các bước sau đây theo trình tự dưới đây:

- chất hoạt động bề mặt tùy chọn được cân sau đó là đồng dung môi trong cùng một bình chứa;
- cân chất chống oxy hoá (một mình) và hoà tan vào nước đã loại khí;
- thêm dung dịch chất chống oxy hoá vào một mình đồng dung môi hoặc vào hỗn hợp của đồng dung môi với chất hoạt động bề mặt dưới sự khuấy trộn;
- một lượng nước đã loại khí được thêm vào và sau đó điều chỉnh độ thành pH xung quanh $7,5 \pm 0,5$ và tốt hơn nếu gần bằng pH = 7;
- cân apomorphin và cho vào dung dịch ở trên, rồi khuấy cho đến khi tan hoàn

toàn;

- kiểm soát độ pH, và nếu cần, điều chỉnh theo giá trị độ pH cần thiết nằm trong khoảng pH 4-7, và tốt hơn nếu 5-7, sử dụng chất làm thay đổi độ pH;

- cuối cùng, lượng còn lại của nước đã loại khí được thêm vào để đạt được thể tích cần thiết.

Tốt hơn, dung dịch được bảo vệ tránh ánh sáng. Nước loại khí đã thu được từ trước bằng cách cho khí nitơ khô hoà tan chuyển động tuần hoàn và sủi bọt trong thời gian ít nhất là 30 phút và kiểm soát lượng oxy hoà tan bằng oxy kế.

Trừ khi được chỉ dẫn khác, tất cả các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật sử dụng ở đây đều có cùng ý nghĩa như thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ dưới đây được đưa ra nhằm minh hoạ cho các quy trình nêu trên và không nên xem là để giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1: Điều chế dung dịch apomorphin hydroclorua tại 40mg/ml, propylen glycol (PG) (45%), axit ascorbic (AA) (0,4%), chất hoạt động bề mặt Polysorbat (PS80) (0,3%), pH = 6

100ml dung dịch apomorphin hydroclorua tại 40mg/ml được điều chế theo quy trình sau đây:

- cân 0,3g PS80 trong một bình thót cổ. Thêm 45,0g PG vào bình thót cổ chứa PS80;

- trong cốc có mỏ, cân 0,4g AA hoặc 0,4g natri ascorbat. Thêm 5g nước đã loại khí dung để tiêm (WFI) AA hoặc natri ascorbate, và AA hoặc natri ascorbat tan trong nước đã loại khí bằng máy khuấy từ;

- thêm dung dịch axit ascorbic vào bình thót cổ chứa PG và PS80 ;

Cốc có mỏ chứa dung dịch AA được tráng rửa bằng 5g WFI đã loại khí. Nước tráng rửa này được thêm vào bình thót cổ chứa PG, PS80 và AA. Đồng thể hoá dung dịch thu được bằng máy khuấy từ.

- 30g WFI đã loại khí được thêm vào bình thót cổ chứa PS80, PG và AA, rồi đồng thể hoá dung dịch thu được bằng máy khuấy từ. Sau đó, pH được điều chỉnh tại $7,5 \pm 0,5$ sử dụng dung dịch NaOH 1M (để cho gần nhất có thể với pH 7,0);

- cân 4g apomorphin hydroclorua trong một lọ thuỷ tinh. Lượng apomorphin

hydroclorua này được thêm vào bình thót cổ chứa chất dẫn thuuoocs đã được điều chỉnh tại pH 7,0. Lọ thủy tinh chứa apomorphin hydroclorua được tráng rửa bằng 3g WFI đã loại khí. WFI tráng rửa này được thêm vào dung dịch apomorphin. Apomorphin hydroclorua được hòa tan dưới sự khuấy bằng máy khuấy từ cho đến khi apomorphin hydroclorua hoà tan hoàn toàn.

- sau đó, pH của dung dịch apomorphin được điều chỉnh tại pH $6,0 \pm 0,2$ sử dụng dung dịch NaOH 0,1 M;

Dung dịch apomorphin hydroclorua vẫn được khuấy bằng máy khuấy từ trong lúc rót dung dịch NaOH 0,1 M vào.

- WFI đã loại khí được thêm vào dung dịch apomorphin hydroclorua để đạt được trọng lượng cuối cùng là 104,8g dung dịch apomorphin hydroclorua.

Dung dịch apomorphin hydroclorua được đồng thể hoá bằng máy khuấy từ và kiểm tra độ pH cuối cùng.

Ví dụ 2: Nghiên cứu độ ổn định của dung dịch apomorphin tại 30mg/ml và 40mg/ml

Hàm lượng apomorphin và các tạp chất được phân tích sử dụng phương pháp HPLC. Các thông số đặc trưng của phương pháp HPLC được sử dụng để xác định hàm lượng apomorphin như sau:

Thiết bị HPLC:	Alliance 2695 Waters
Cột:	YMC ODS-A 5 μ m, 46x150 mm, 200 Å
Pha động	750ml đệm: K_2HPO_4 0,03 M, pH = 3 250ml metanol 0,75g axit L-tartaric
Dung môi pha loãng	natri metabisulfit (NaM) 0,1% HCl 0,1M Sục khí heli trong thời gian ít nhất là 30 phút
Tốc độ dòng:	1ml/phút
Đầu dò:	UV ở 210 nm
Thời gian chạy:	20 phút
Nhiệt độ:	Cột : môi trường–Khay quay chuyển đổi mẫu: 5°C

Dung dịch chuẩn: 0,05mg/ml

Thể tích bơm mẫu: 25 μ l

Thời gian lưu: ~ 8,5 phút

Các thông số đặc trưng của phương pháp HPLC được sử dụng để xác định các tạp chất đi kèm apomorphin như sau:

Thiết bị HPLC: Alliance 2695 Waters

Cột: YMC ODS-A 5 μ m, 46x150 mm, 200 Å

Pha động: 875ml đệm: K₂HPO₄ 0,01M, pH 3
125ml metanol

0,75g axit L-tartaric

Dung môi pha loãng: SM 0,1%

HCl 0,1M

Sục khí heli trong thời gian ít nhất là 30 phút

Tốc độ dòng: 1ml/phút

Đầu dò : UV ở 273nm

Thời gian chạy: 110 phút

Nhiệt độ: Cột: môi trường–Khay quay chuyển đổi mẫu: 5°C

Dung dịch chuẩn: 0,0025mg/ml

Thể tích bơm: 20 μ l

Thời gian lưu: ortoquinon: ~ 10 phút

tạp chất A2 : ~ 27 phút

tạp chất A1 : ~ 28 phút

apomorphin : ~ 35 phút

Hàm lượng của tạp chất, như được xác định bằng cách tính diện tích dưới đường cong đồ thị, là tiêu chuẩn được sử dụng để đánh giá độ ổn định của các nguyên mẫu.

Mức độ nhuộm màu được đánh giá theo phép phân tích màu của Dược điển Châu Âu.

Cần lưu ý là, thang màu (từ 1 đến 7) tỷ lệ nghịch với cường độ màu, cụ thể: 7 có nghĩa là dung dịch nước không màu, còn 1 có nghĩa là dung dịch có màu đậm. Các vật liệu và các chế phẩm dùng cho phép phân tích này là các dung dịch màu tham chiếu được pha theo Dược điển Châu Âu.

Mỗi dạng bào chế nêu dưới đây (từ 1 đến 6) và các số liệu về độ bền đáng khích lệ của dược phẩm đó được nêu trong Bảng 1 dưới đây.

Dạng bào chế 1: apomorphin 30mg/ml, PG 35%, PS80 0,2%, SM 0,3%, pH 6,0.

Dạng bào chế 2: apomorphin 30mg/ml, PG 35%, PS 0,2% 80, AA 0,3% pH 6,0.

Dạng bào chế 3: apomorphin 30mg/ml, PG 35%, AA 0,3%, pH 6,0.

Dạng bào chế 4: apomorphin 40mg/ml, PG 45%, AA 0,4%, pH 6,0.

Dạng bào chế 5: apomorphin 40mg/ml, PG 45%, PS80 0,3%, AA 0,4% pH 6,0.

Dạng bào chế 6: apomorphin 30mg/ml, HP β CD 20%, PS80 0,2%, SM 0,3%, pH 6,0.

(PG: Propylen glycol; PS 80: Polysorbat 80; HP β CD: Hydroxypropyl β cyclodextrin; SM: natri metabisulfit; AA: axit ascorbic)

Các tiêu đề ở các đầu cột cho các bảng là như sau:

- . pH
- . mức độ nhuộm màu được ghi là “Màu”
- . hàm lượng apomorphin được ghi là “Hàm lượng ước tính (mg/ml)”, bởi vì các số liệu thu được không sử dụng chuẩn apomorphin tham chiếu;
- . tổng hàm lượng các tạp chất được ghi là “Tổng tạp chất (%)”

Bảng 1:

Thử nghiệm Dạng bào chế	pH			Màu			Hàm lượng ước tính (mg/mL)			Tổng tạp chất (%)		
	T0	T 3 tháng (25° C)	T 3 tháng (40° C)	T0	T 3 tháng (25° C)	T 3 tháng (40° C)	T0	T 3 tháng (25° C)	T 3 tháng (40° C)	T0	T 3 tháng (25° C)	T 3 tháng (40° C)
1	6,0	5,7	5,5	< B4	< B1	< JV2	29,9	29,0	28,9	< 0,1	< 0,1	< 0,1
2	6,1	6,0	6,0	< J4	< J3	< JB3	29,2	30,3	30,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
3	6,1	6,0	6,0	< J4	< J3	< JB3	30,4	30,2	30,1	< 0,1	< 0,1	< 0,1
4	6,0	6,1	6,1	< J4	< J3	< JB3	40,7	40,1	39,9	< 0,1	< 0,1	< 0,1
5	6,0	6,1	6,1	< J4	< JB3	< JB3	40,5	39,7	39,9	< 0,1	< 0,1	< 0,1
6	6,0	5,8	5,7	GY6	R3/RY3	< RY1	30,8	31,0	30,3	< 0,1	0,2	0,8

Ví dụ 3: Thử nghiệm *in vivo*

Các thông số dược động (PK) của các nguyên mẫu đã lựa chọn được đánh giá trên chuột thân lớn. Sáu chuột thân lớn đặt canun được sử dụng cho mỗi nguyên mẫu. Các chuột được tiêm dưới da dạng bào chế với liều 1mg/kg tại vị trí tiêm đầu tiên; tiêm dưới da tá được tương ứng tại vị trí tiêm thứ hai và tiêm dưới da dung dịch NaCl sinh lý tại vị trí tiêm thứ ba. Các thể tích được tiêm nằm trong khoảng 0,03 đến 0,2ml/kg, tùy thuộc vào nồng độ của dạng bào chế (0,5 đến 30mg/ml). Thu lấy các mẫu máu trong khoảng thời gian 3 giờ. Xác định các nồng độ hoạt chất trong huyết tương bằng phương pháp HPLC-MS/MS và tính toán các thông số dược động.

Để đánh giá mức dung nạp tại chỗ của các dạng bào chế được thử nghiệm, các mô từ 3 vị trí tiêm được thu mẫu từ mỗi chuột và được bác sĩ giải phẫu bệnh xem xét. Điểm số đánh giá từ 0 đến 4 (0: không có ảnh hưởng, 1: ảnh hưởng ít nhất, 2: ảnh hưởng nhẹ, 3: ảnh hưởng vừa phải, 4: ảnh hưởng nghiêm trọng) được quy cho mỗi mẫu và rút ra mức độ dung nạp.

Các dạng bào chế như dưới đây đã được sử dụng cho các chuột thân lớn (tiêm liều cao để nhanh đạt được nồng độ tối đa) :

Tham chiếu: Apo-go® PFS 5mg/ml, pH 3,3

Thử nghiệm 1: apomorphin 29,12mg/ml, SB β CD 20%, SM 0,3%, pH 5,9

Thử nghiệm 2: apomorphin 10mg/ml , PS 0,2% 80, SM 0,1%, pH 4,2

Thử nghiệm 3: apomorphin 29,36mg/ml , PS 0,2% 80, PG 30%, SM 0,3%, pH 6,0.

Thử nghiệm 4: apomorphin 29,36mg/ml, HP β CD 20%, PS 0,2% 80, SM 0,3%, pH 5,9

Thử nghiệm 5: mg/ml apomorphin 29,36, PS 0,2% 80, PG 30%, SM 0,3%, pH 4,1

(PG: Propylen glycol; PS 80: Polysorbat 80; SB β CD: Sulfobutyl-ete β xyclodextrin ; HP β CD: Hydroxypropyl β xyclodextrin; SM: natri metabisulfit)

Các nguyên mẫu lựa chọn này được so sánh với dung dịch tham chiếu (APO-go®) về các thông số dược động và mức dung nạp tại chỗ.

Các thông số dược động của các dạng bào chế thử nghiệm trên các chuột thân lớn (1mg/kg - SC) được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2:

Thông số	APO-go ®	Thử nghiệm 1	Thử nghiệm 2	Thử nghiệm 3	Thử nghiệm 4	Thử nghiệm 5
Nồng độ (mg/ml)	5,0	29,1	10,0	29,4	29,4	29,4
pH	3,3	5,9	4,2	6,0	5,9	4,1
Cmax (ng/ml)	242	150	211	191	357	182
Tmax (phút)	5	11	4	4	5	9
AUC (ng.h/ml)	104	98	99	85	136	113
Khả dụng sinh học (%)	Tham chiếu	94	95	82	130	108

Cmax: nồng độ tối đa của apomorphin trong huyết thanh chuột thân lớn

Tmax : thời gian sau khi dùng nồng độ apomorphin để đạt được trị số Cmax .

AUC : diện tích dưới đường cong đồ thị biểu diễn tương quan của thông số dược động học theo thời gian

Tổng lượng tác dụng của apomorphin đối với các dạng bào chế thử nghiệm nêu trên hoàn toàn tương tự như đối với dược phẩm tham chiếu và không có sự khác nhau nhiều về dược động học có thể quan sát thấy đối với năm dạng bào chế được thử nghiệm, mà các dược phẩm này có nồng độ cao hơn đáng kể so với APO-go® dạng bào chế tham chiếu. Do đó, tất cả các dạng bào chế thử nghiệm đều thể hiện các thông số có thể chấp nhận được trên quan điểm dược động.

Ví dụ 4: Mức dung nạp tại chỗ

Các kết quả nghiên cứu mức dung nạp tại chỗ của các dạng bào chế được thử nghiệm trên chuột thân lớn (1mg/kg - SC) được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3:

Thông số		APO-go ®	Thử nghiệm 1	Thử nghiệm 2	Thử nghiệm 3	Thử nghiệm 4	Thử nghiệm 5
Nồng độ (mg/ml)		5,0	29,1	10,0	29,4	29,4	29,4
pH		3,3	5,9	4,2	6,0	5,9	4,1
Điểm số đánh giá sự dung nạp	Dạng bào chế	2,7	2,4	3,7	2,3	3,0	3,2
	Giả dược	0,3	0,6	0,5	0,3	0,2	0,8

Ghi chú: Điểm số đánh giá sự dung nạp cho dung dịch NaCl sinh lý là 0,1.

Cùng mức dung nạp như tham chiếu Apo-go® được quan sát thấy đối với 5 dạng bào chế được thử nghiệm; các dược phẩm này có nồng độ cao hơn gấp từ 2 đến 6 lần so với dược phẩm tham chiếu (từ 10 đến 30mg/ml cho các dạng bào chế được thử

nghiệm so với 5mg/ml cho được phẩm tham chiếu).

Như vậy, khi sử dụng dạng bào chế theo sáng chế, thì các bệnh nhân có thể nhận được sự điều trị tốt hơn nhờ thể tích thuốc tiêm thấp hơn đến 6 lần, dạng bào chế có độ pH phù hợp sinh lý hơn và có khuynh hướng dễ dung nạp hơn so với tham chiếu APO-go®.

Ví dụ 5: Thử nghiệm ruyền dưới da *in vivo* trong thời gian 14 ngày

Các thông số được động học của các nguyên mẫu được chọn đã được đánh giá trên chuột thân lớn. Các bơm vi lượng dưới da được cấy cho 6 chuột thân lớn cho mỗi nguyên mẫu. Các bơm vi lượng này được cấy dưới da ở vùng dưới chi trước để truyền liên tục vào vùng xương bả. Các con vật được truyền dưới da dạng bào chế với liều 6mg/kg/ngày (0,3mg/kg/giờ) của các dạng bào chế apomorphin thích hợp, trong khoảng thời gian 20 giờ mỗi ngày, trong 14 ngày. Thu lấy các mẫu máu vào các thời điểm sau:

Ngày 1 vào 0 giờ, 6 giờ sau khi bắt đầu truyền và 20 giờ sau khi bắt đầu truyền (SOI),

Ngày 7 vào 20 giờ sau khi bắt đầu truyền (SOI),

Ngày 14 vào 0 giờ, 20 giờ sau khi bắt đầu truyền (SOI).

Các nồng độ huyết tương được xác định bằng phương pháp HPLC-ESI-MS/MS và các thông số được động học được tính toán .

Để đánh giá mức dung nạp tại chỗ của các dạng bào chế được thử nghiệm, mô từ vị trí tiêm được lấy mẫu từ mỗi chuột và được bác sĩ giải phẫu bệnh xem xét. Điểm số đánh giá từ 0 đến 4 (0: không có ảnh hưởng, 1: ảnh hưởng ít nhất, 2: ảnh hưởng nhẹ, 3: ảnh hưởng vừa phải, 4: ảnh hưởng nghiêm trọng) được quy cho mỗi mẫu và rút ra mức độ dung nạp.

Các dạng bào chế dưới đây đã được sử dụng cho các chuột thân lớn (bằng cách truyền) :

Thử nghiệm 1 (tham chiếu): Apo-go® PFS 5mg/ml, pH 3,3

Thử nghiệm 2: apomorphin 30mg/ml, PG 35%, PS80 0,2%, SM 0,3%, pH 6,0.

Thử nghiệm 3: apomorphin 30mg/ml, PG 35%, PS 0,2% 80, AA 0,3%, pH 5,8.

Thử nghiệm 4: apomorphin 30mg/ml, PG 35%, AA 0,3%, pH 5,9.

Thử nghiệm 5: apomorphin 40mg/ml, PG 45%, AA 0,4%, pH 5,9.

Thử nghiệm 6: apomorphin 40mg/ml, PG 45%, PS 80 0,3%, AA 0,4%, pH 5,9.

(PG: Propylen glycol; PS 80: Polysorbat 80; SM: natri metabisulfit; AA: axit ascorbic)

Các nguyên mẫu lựa chọn này đã được so sánh với dung dịch tham chiếu (APO-go®, Thử nghiệm 1) về các thông số dược động và khả năng dung nạp tái chỗ.

Các thông số dược động của các dạng bào chế này thử nghiệm trên chuột thân lớn (6mg/kg/ngày – truyền SC liên tục) sau các ngày 1, 7 và 14 được trình bày ở Bảng 4.

Bảng 4:

Thông số	Thử nghiệm 1 (Tham chiếu)	Thử nghiệm 2	Thử nghiệm 3	Thử nghiệm 4	Thử nghiệm 5	Thử nghiệm 6
Nồng độ (mg/ml)	4,58	28,9	29,6	30,4	39,5	37,2
V pH	3,3	6,0	5,8	5,9	5,9	5,9
C _{maxss} (ng/ml) vào ngày 1	12,95	17,16	13,43	12,19	13,51	10,02
C _{maxss} (ng/ml) vào ngày 7	10,35	13,01	9,79	11,53	7,17	9,25
C _{maxss} (ng/ml) vào ngày 14	15,21	9,68	8,73	7,30	2,76	9,54

C_{maxss}: là nồng độ tối đa của apomorphin trong huyết tương ở tình trạng ổn định. Giá trị vào ngày 1 được tính toán là trung bình của tất cả các giá trị nồng độ thu được vào 6 và 20 giờ sau khi bắt đầu truyền (SOI) (2 thời điểm mẫu). Vào ngày truyền thứ 7, C_{maxss} là trung bình của tất cả các giá trị nồng độ vào ngày thứ 7 (một thời điểm mẫu). Vào ngày truyền thứ 14, C_{maxss} là trung bình của tất cả các giá trị nồng độ vào ngày thứ 20 sau khi SOI, tức là lúc kết thúc truyền (EOI) (một thời điểm mẫu).

Các số liệu về lượng tác dụng của apomorphin của các dạng bào chế thử nghiệm nêu trên là tương tự với tham chiếu.

Các thông số dược động học của các dạng bào chế này thử nghiệm trên chuột thân lớn (6mg/kg/ngày (truyền liên tục SC) vào ngày thứ 14 được trình bày ở Bảng 5.

Bảng 5:

Thông số	Thử nghiệm 1 (Tham chiếu)	Thử nghiệm 2	Thử nghiệm 3	Thử nghiệm 4	Thử nghiệm 5	Thử nghiệm 6
Nồng độ (mg/ml)	4,58	28,9	29,6	30,4	39,5	37,2
pH	3,3	6,0	5,8	5,9	5,9	5,9

$C_{\max ss}$ (ng/ml) vào ngày thứ 14	5,2	9,68	8,73	7,30	2,76	9,54
AUC (ng.h/ml)	277	210	178	183	75	173

$C_{\max ss}$ tương ứng với nồng độ trung bình thu được vào thời điểm sau 20 giờ sau SOI.

Không có sự khác nhau nhiều về dược động có thể quan sát thấy đối với năm dạng bào chế được thử nghiệm. Do đó, tất cả các dạng bào chế được thử nghiệm đều cho thấy các thông số có thể chấp nhận được trên quan điểm dược động học.

Ví dụ 6: Dung nạp tại chỗ trong thí nghiệm truyền dưới da trong 14 ngày

Sự dung nạp tại chỗ của các dạng bào chế được thử nghiệm được truyền dưới da trong khoảng thời gian 20h/ngày ở các chuột thân lớn với liều 6mg/kg/ngày được trình bày ở Bảng 6. Việc cho điểm đánh giá sự dung nạp được thực hiện vào ngày thứ 14 của đợt truyền, tức là vào lúc EOI.

Bảng 6:

Thông số	Thử nghiệm 1 (Tham chiếu)	Thử nghiệm 2	Thử nghiệm 3	Thử nghiệm 4	Thử nghiệm 5	Thử nghiệm 6
Nồng độ (mg/ml)	4,58	28,9	29,6	30,4	39,5	37,2
pH	3,3	6,0	5,8	5,9	5,9	5,9
Điểm đánh giá sự dung nạp	3,0	2,8	2,3	2,7	2,4	2,6

Cùng mức độ dung nạp như tham chiếu Apo-Go® (Thử nghiệm 1) đã thu được với các dạng bào chế thử nghiệm có nồng độ cao hơn gấp 6 đến 8 lần.

Như vậy, khi sử dụng dạng bào chế theo sáng chế, thì các bệnh nhân có thể nhận được sự điều trị tốt hơn do thể tích dịch tiêm ít hơn gấp 6 đến 8 lần; dạng bào chế có độ pH phù hợp hơn với sinh lý và có khuynh hướng được dung nạp dễ hơn so với tham chiếu APO-go®.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa bằng cách tiêm có hoạt chất và được bào chế dưới dạng dung dịch, dược phẩm bao gồm:
 - i) apomorphin làm hoạt chất;
 - ii) đồng dung môi có thể trộn lẫn với nước;
 - iii) chất chống oxy hoá;
 - iv) nước;
 - v) tùy ý, chất hoạt động bề mặt; và
 - vi) tùy ý, chất làm thay đổi độ pH;
 trong đó pH của dược phẩm lớn hơn 4, và trong đó dược phẩm có thể dùng thông qua kim tiêm 27 Gauge hoặc lớn hơn.
2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó hàm lượng của hoạt chất nằm trong khoảng 10 đến 70mg/ml.
3. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó hàm lượng của đồng dung môi có thể trộn lẫn với nước nằm trong khoảng từ 0,1 đến 80% (trọng lượng:trọng lượng) của dược phẩm.
4. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó đồng dung môi có thể trộn lẫn với nước được chọn từ nhóm bao gồm alcol, polyol, và polyete, hoặc hỗn hợp của chúng.
5. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó đồng dung môi được chọn từ diol, triol, dẫn xuất xyclodextrin, polyetylen glycol và dẫn xuất polyetylen glycol hoặc hỗn hợp của chúng.
6. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó chất chống oxy hoá được chọn từ nhóm bao gồm axit, muối của nó, vitamin, dẫn xuất vitamin, axit amin, sulfite hoặc các chất chống muối gốc phenolic tự do.
7. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó chất chống oxy hoá được chọn từ nhóm bao gồm axit ascorbic và natri metabisulfite.
8. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm còn bao gồm chất hoạt động bề mặt.
9. Dược phẩm theo điểm 8, trong đó chất hoạt động bề mặt có trị giá trị cân bằng ưa nước-ưa lipid (HLB) nằm trong khoảng từ 8 đến 20.
10. Dược phẩm theo điểm 8, trong đó chất hoạt động bề mặt được chọn từ nhóm bao gồm este béo của polyoxyetylen sorbitan, dẫn xuất polyetylen glycol, và

poloxame.

11. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó tỷ lệ apomorphin:đồng dung môi (trọng lượng/trọng lượng) nằm trong khoảng từ 1:0,1 đến 1:40.

12. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó pH của dược phẩm nằm trong khoảng 4 đến 7.

13. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm còn bao gồm chất làm thay đổi độ pH.

14. Dược phẩm theo điểm 13, trong đó chất làm thay đổi độ pH được chọn từ nhóm bao gồm natri hydroxit, natri bicarbonat, kali hydroxit, và magie hydroxit hoặc hỗn hợp của chúng.

15. Dung dịch tiêm để điều trị bệnh Parkinson chứa dược phẩm theo điểm 1.

16. Quy trình sản xuất dược phẩm theo điểm 1, trong đó quy trình bao gồm:

- i) chuẩn bị bình chứa thứ nhất;
- ii) tùy ý, cân chất hoạt động bề mặt trong bình chứa thứ nhất;
- iii) thêm dung môi hòa nhập vào trong bình chứa thứ nhất;
- iv) cân chất chống oxy hoá trong bình chứa thứ hai và hoà tan chất chống oxy hóa vào nước đã loại khí để thu được dung dịch chống oxy hóa;
- v) thêm dung dịch chống oxy hóa vào bình chứa thứ nhất dưới sự khuấy trộn;
- vi) thêm nước đã loại khí vào bình chứa thứ nhất và điều chỉnh pH thành khoảng $7,5 \pm 0,5$;
- vii) cân apomorphin và đưa apomorphin vào bình chứa thứ nhất dưới sự khuấy trộn cho đến khi hoà tan hoàn toàn;
- viii) kiểm soát pH của dung dịch trong bình chứa thứ nhất nằm trong khoảng từ 4 đến 7 bằng cách thêm chất làm thay đổi độ pH nếu cần để duy trì pH nằm trong khoảng này; và,
- ix) thêm lượng còn lại của nước đã loại khí để đạt đến thể tích dung dịch cần thiết.

17. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm thích hợp để truyền dưới da.

18. Dược phẩm để dùng ngoài đường tiêu hóa bằng cách tiêm có hoạt chất và được bào chế dưới dạng dung dịch, dược phẩm bao gồm:

- i) apomorphin làm hoạt chất;
- ii) đồng dung môi có thể trộn lẫn với nước;

iii) chất chống oxy hoá;

iv) nước;

v) tùy ý, chất hoạt động bề mặt; và

vi) tùy ý, chất làm thay đổi độ pH;

trong đó pH của dược phẩm lớn hơn 4,

trong đó dược phẩm có thể dùng thông qua kim tiêm 27 Gauge hoặc lớn hơn;

và

trong đó hàm lượng của hoạt chất nằm trong khoảng từ 10 đến 70 mg/ml.

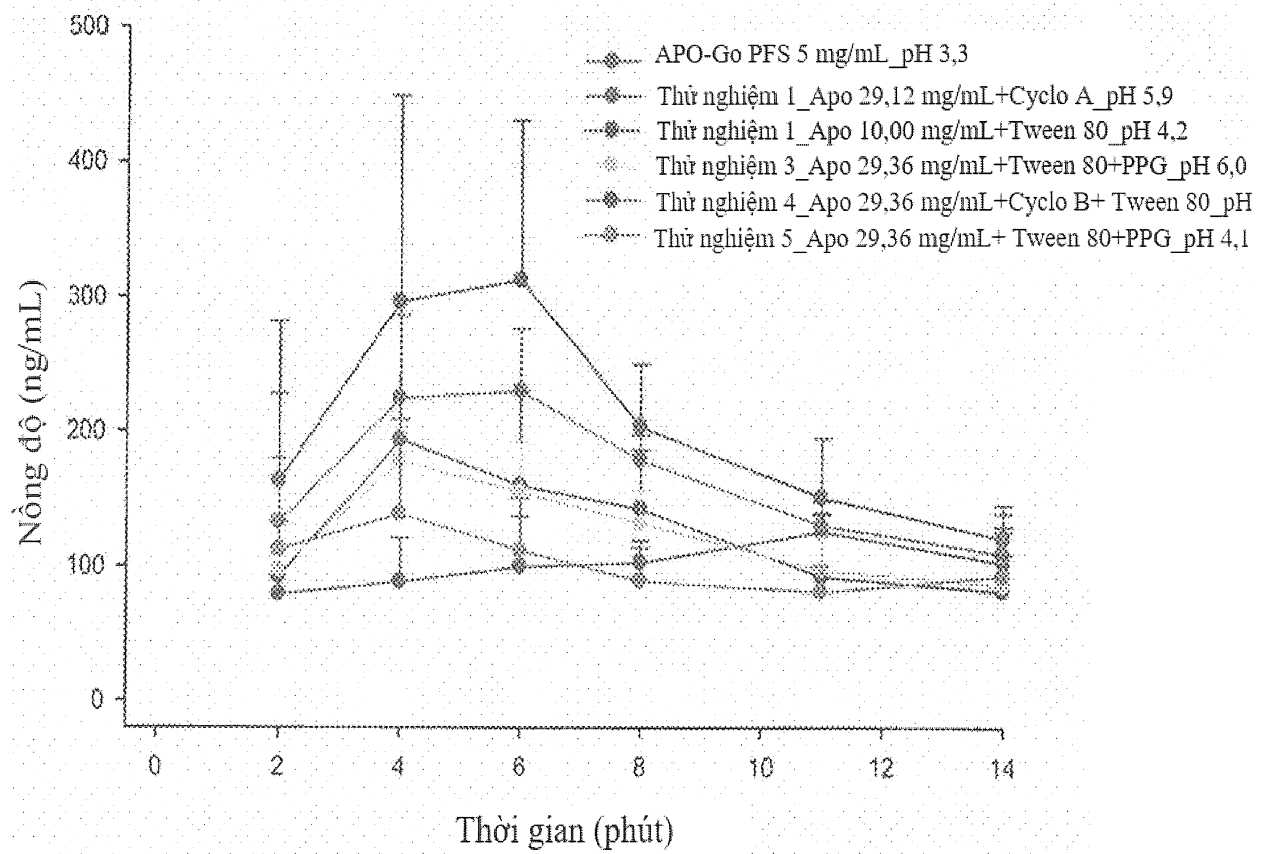


Fig. 1

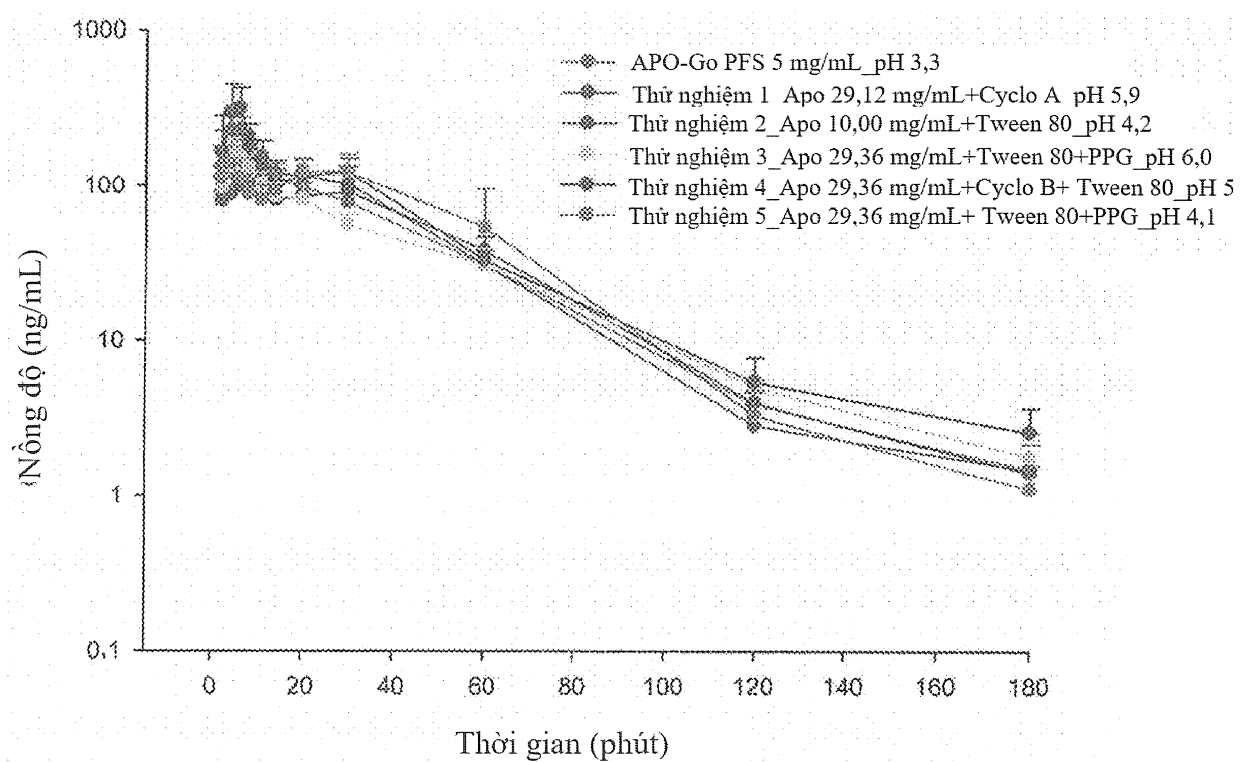


Fig. 2