



(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)



1-0044289

(51)^{2020.01} A61K 9/16; A61K 9/00; A61P 29/00; (13) B
A61K 9/50; A61P 25/30; A61K 31/485

(21) 1-2021-01718

(22) 15/10/2019

(86) PCT/KR2019/013535 15/10/2019

(87) WO2020/080806 23/04/2020

(30) 62/745,805 15/10/2018 US

(45) 25/03/2025 444

(43) 25/10/2021 403A

(71) 1. Chong Kun Dang Pharmaceutical Corp. (KR)

8, Chungjeong-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03742, Republic of Korea

2. Purdue Research Foundation (US)

1801 Newman Road West Lafayette, Indiana 47906, United States of America

(72) YOON, Gwangheum (KR); SOH, Bong Kwan (KR); OTTE, Andrew David (US);
PARK, Kinam (US).

(74) Công ty TNHH Đại Tín và Liên Danh (DAITIN AND ASSOCIATES CO.,LTD)

(54) DƯỢC PHẨM DẠNG VI HẠT CHỨA NALTREXON TÁC DỤNG Kéo Dài Có
THỂ TIÊM ĐƯỢC VÀ PHƯƠNG PHÁP BẢO CHẾ DƯỢC PHẨM NÀY

(21) 1-2021-01718

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm dạng vi hạt giải phóng kéo dài chứa naltrexon để điều trị các bệnh được cải thiện bởi naltrexon. Dược phẩm dạng vi hạt có thể tiêm được bao gồm naltrexon được đóng gói trong các vi hạt phân hủy sinh học được sử dụng trong phương tiện dẫn thuốc được dụng.

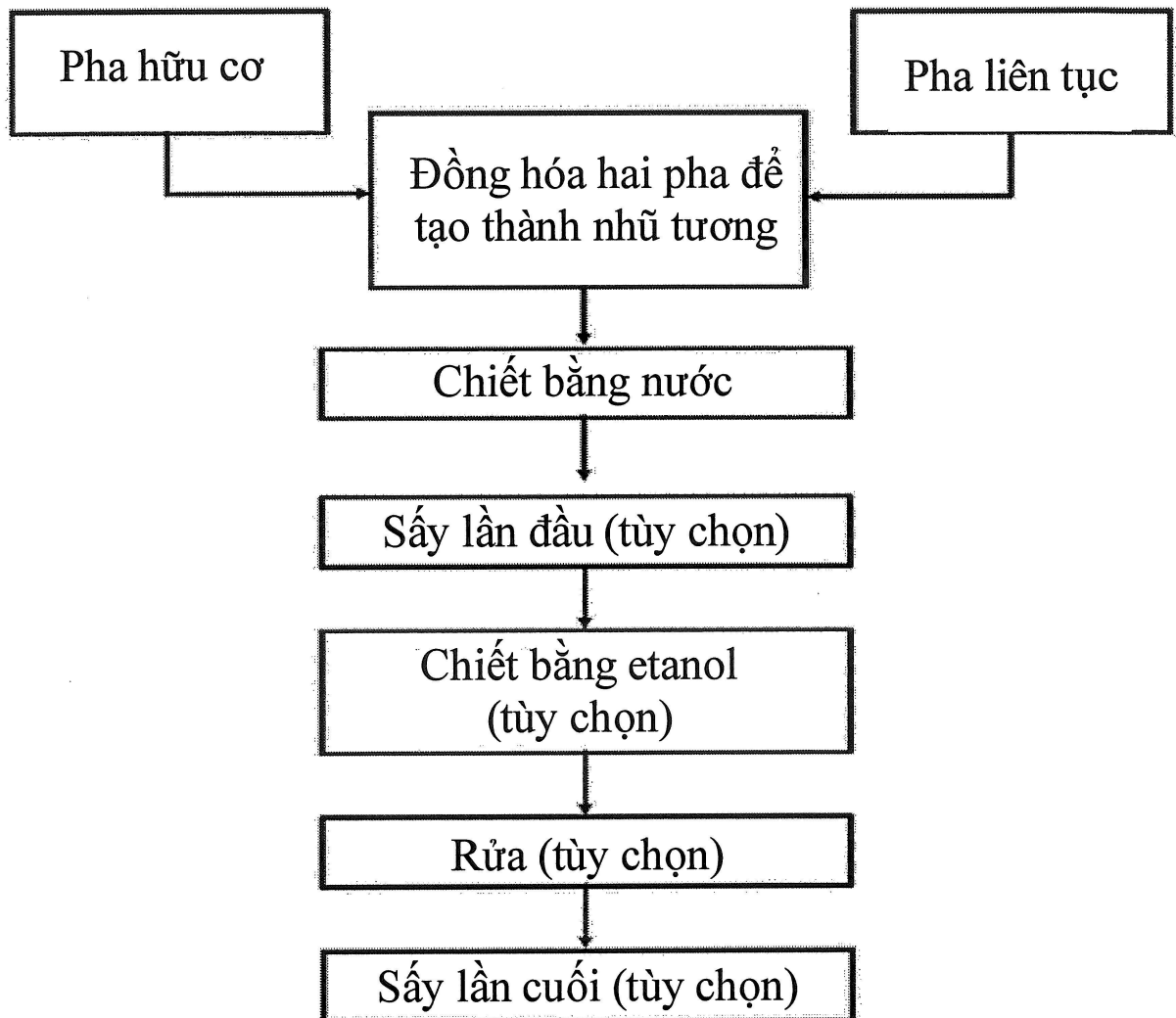


Fig.1

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến dược phẩm dạng vi hạt giải phóng kéo dài chứa naltrexon dùng để điều trị các bệnh được cải thiện bởi naltrexon và phương pháp bào chế dược phẩm này. Dược phẩm dạng vi hạt có thể tiêm được chứa naltrexon được đóng gói trong các vi hạt phân hủy sinh học được sử dụng làm chất dẫn thuốc được dụng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Lạm dụng chất gây nghiện là căn bệnh vẫn còn phổ biến trong toàn xã hội. Vấn đề lạm dụng opioid, thường được coi là vấn đề bên trong các thành phố như trong thời kỳ đại dịch heroin những năm 1960 và 1970, đã trở nên phổ biến hơn trên khắp cả nước, lan rộng từ nội thành đến các cộng đồng nông thôn. Số lượng người lạm dụng chất gây nghiện đã tăng đáng kể trong vài thập kỷ qua, cụ thể là liên quan đến các loại thuốc gốc opioid, cả dược phẩm và ma túy đường phố bất hợp pháp.

Mặc dù uống naltrexon hàng ngày có hiệu quả nhưng vấn đề chính của việc sử dụng naltrexon là sự tuân thủ hoặc không tuân thủ rất thấp. Yêu cầu sử dụng hàng tháng cho thấy tỷ lệ tiêu hao cao (25-36%) sau 60 ngày bắt đầu điều trị [Garbutt và cộng sự, *Hiệu quả và khả năng dung nạp của naltrexon tiêm tác dụng kéo dài đối với chứng nghiện rượu; thử nghiệm đối chứng ngẫu nhiên*. JAMA. 293(13): 1617-1625, 2005; Hulse *Cải thiện kết quả lâm sàng với naltrexon đóng vai trò làm biện pháp quản lý tình trạng sử dụng rượu*. Br. J. Clin. Pharmacol. 76(5) 632-641, 2013.] Do đó, công thức naltrexon tác dụng kéo dài hơn được kỳ vọng sẽ cải thiện sự tuân thủ của bệnh nhân, giảm tái phát, và kết quả điều trị của bệnh nhân ổn định hơn theo thời gian.

Các vi hạt naltrexon giải phóng chậm khác nhau đã được mô tả đặc điểm. Ehrich (Sáng chế Mỹ 7.919.499, công thức và phương pháp sử dụng Naltrexon tác dụng kéo dài) và Brittain cùng cộng sự (Sáng chế Mỹ 7.279.579 B2, Dạng đa hình của naltrexon) đề xuất các công thức naltrexon tác dụng kéo dài ở dạng poly (lactua-co-glycolua) (PLGA) chứa khoảng 310 mg đến khoảng 480 mg naltrexon giải phóng trong khoảng thời gian khoảng bốn tuần. Tice cùng cộng sự (Sáng chế Mỹ 6.306.425 B1, chế phẩm vi cầu naltrexon có thể tiêm được

và sử dụng chúng trong việc giảm tiêu thụ heroin và rượu) đề xuất các công thức naltrexon giải phóng chậm dạng tiêm trong chất nền poly(D,L-lactua) (PDLL) giải phóng khoảng 10-40% mỗi tuần lượng naltrexon ban đầu trong khoảng thời gian 4 tuần. Nuwayser (Sáng chế Mỹ 7.157.102 B1, Vi nang nhiều lớp và phương pháp bào chế vi nang này) đề xuất các vi nang nhiều lớp với lượng naltrexon cao ($> 40\%$ w/w) để giải phóng trong một tháng. Tất cả các công thức vi hạt dựa trên naltrexon được mô tả đã cho thấy biên dạng giải phóng tối đa khoảng 4 tuần hoặc một tháng. Do đó, yêu cầu đặt ra cần phải bào chế các công thức vi hạt có tác dụng lâu dài để phân phối trong thời gian dài hơn 4 tuần hoặc một tháng.

Hệ phân phối tác dụng kéo dài dựa trên chất cấy ghép naltrexon giải phóng chậm đã được phát triển có thể phân phối trong thời gian dài hơn 4 tuần hoặc một tháng. Kuo và Kuzma (Sáng chế Mỹ 8.343.528, Thiết bị phân phối thuốc dài hạn với polyme gốc polyuretan và phương pháp sản xuất thiết bị này), Saxena và Saxena (Sáng chế quốc tế WO/2017/033208, Viên nén naltrexon có thể cấy ghép), và O'Neil và Liu (Sáng chế Mỹ 7.914.804, Dược phẩm giải phóng chậm và phương pháp sử dụng dược phẩm này) tất cả đều đề xuất hệ phân phối dựa trên cơ sở cấy ghép naltrexon tác dụng lâu dài. Các công thức dựa trên hệ phân phối cấy ghép này thường yêu cầu quy trình phẫu thuật ngoại trú để đặt mô cấy. Mặc dù các hệ thống này có thể chứng minh biên dạng giải phóng lâu hơn so với các dược phẩm dạng vi hạt chứa naltrexon trong một số trường hợp, quy trình phẫu thuật bắt buộc và rủi ro do bệnh nhân tự cắt bỏ có thể lớn hơn lợi ích.

Vivitrol® (Công ty Alkermes) hiện được kê đơn để dự phòng tái nghiện opioid sau khi cai nghiện opioid khoảng 7-10 ngày. Liều khuyến cáo là 380 mg tiêm bắp sau mỗi 4 tuần hoặc mỗi tháng một lần. Việc tiêm bao gồm các vi hạt polyme lơ lửng trong chất pha loãng (chất dẫn thuốc chứa nước) được tiêm bằng kim 20 gauge (G). Kim 20 G được yêu cầu do tiêm được tiêm bắp ở vùng cơ mông, số lượng vi hạt và chất pha loãng, cuối cùng là kích thước và phân bố kích thước vi hạt. Các vi hạt có $d_{50, thể tích}$ 108,49 μm và $d_{50, số lượng}$ 58,46 μm (Andhariya và cộng sự, *phương pháp thử nghiệm giải phóng nhanh trong ống nghiệm của vi cầu PLGA được nạp naltrexon*, Int. J. Pharm. 520 (1-2) 79-85, 2017), trong đó $d_{50, thể tích}$ là 50% các hạt theo thể tích có đường kính lớn hơn 108,49 μm và 50% theo thể tích có đường kính nhỏ hơn 108,49 μm . Giá trị $d_{50, số lượng}$ là 58,46 cho biết rằng 50% số hạt theo số có đường kính lớn hơn 58,46 μm và 50% số hạt theo số có đường kính nhỏ hơn 58,46 μm . Do đó, yêu cầu đặt ra là

phải bào chế các vi hạt naltrexon với kích thước vi hạt nhỏ hơn để sử dụng được kim có đường kính nhỏ hơn, hoặc kim có khổ cao hơn, cho mục đích tiêm thuốc.

Nồng độ naltrexon trong huyết thanh là 2,8 ng/ml đã được chứng minh là đủ để chặn liều diamorphin tinh khiết cao tới 500 mg ở hai bệnh nhân (C. Brewer. *Nồng độ naltrexon và 6-beta-naltrexol huyết thanh từ cấy ghép naltrexon có thể ngăn chặn một lượng rất lớn heroin*: báo cáo về hai trường hợp. *Addict. Biol.*, 7: 321-323, 2002), 2,4 ng/ml hoàn toàn đối kháng với 25 mg heroin (Verebey và cộng sự, *Naltrexon: Xử lý, chuyển hóa và tác động sau điều trị cấp tính và mạn tính*, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 20: 315-328, 1976), và mức 1-2 ng/ml đã được nhắm mục tiêu là đủ để bảo vệ khỏi quá liều opioid gây tử vong (Hulse và cộng sự, *Giảm biểu hiện tại bệnh viện đối với Quá liều opioid ở những bệnh nhân được điều trị bằng cấy ghép naltrexon phóng thích kéo dài*, *Drug Alcohol Depend.*, 79: 351-357, 2005 và Comer và cộng sự, *Depot naltrexon: Sự đối kháng kéo dài với tác dụng của heroin ở người*, *Psychopharmacology*, 159: 351-360, Năm 2002). Trong nghiên cứu thử nghiệm Vivitrex®, trước khi tiêm lần thứ hai, nồng độ naltrexon thấp nhất trung bình trong huyết tương là 1,23 ng/ml ($\pm 0,83$ ng/ml), và điều này tương đối ổn định trong phần còn lại của nghiên cứu; mức naltrexon thấp nhất trung bình trung bình là 1,33 ng/ml ($\pm 1,74$ ng/ml) (Johnson và cộng sự, *Đánh giá thí điểm về tính an toàn và khả năng dung nạp của việc dùng liều lặp lại naltrexon dạng tiêm tác dụng kéo dài (Vivitrex®) ở bệnh nhân nghiện rượu*, *Alcohol Clin Exp Res.* 28: 1356-1361, 2004). Trên mô hình chuột, nồng độ naltrexon trong huyết tương ~1-2 ng/ml được chứng minh là có hiệu quả trong “thử nghiệm đĩa nóng giảm đau gây ra bởi morphin” (Sự phát triển tiền lâm sàng của Medisorb Naltrexon, một mũi tiêm tác dụng kéo dài mỗi tháng một lần cho điều trị nghiện rượu. *Frontiers in Bioscience* 10: 643-655, 2005). Do đó, cần phải cung cấp các mức độ điều trị nhanh chóng của naltrexon, với mức giải phóng ban đầu tối thiểu, với nồng độ tối đa được giảm thiểu, do đó cung cấp mức naltrexon điều trị ổn định hơn, trong hơn một tháng và ở dạng bào chế ở định dạng có thể tiêm được.

Liều naltrexon thấp hơn, được gọi là naltrexon liều thấp (LDN) (1 đến 5 mg uống mỗi ngày), naltrexon liều rất thấp (VLDN) (1 mg đến 1 mg) và naltrexon liều cực thấp (ULDN) (dưới 1 mg) đã cho thấy các phản ứng dược lực học khác với liều được kê đơn cổ điển là 50 mg uống hàng ngày (Toljan và Vrooman, *naltrexon liều thấp (LDN) - Đánh giá việc sử dụng điều trị*, *Med Sci.* 6, 82, 2018). LDN hoạt động dưới dạng tác nhân điều biến thần kinh đệm, mang lại lợi ích tiềm năng cho các tình trạng như đau cơ xơ hóa, bệnh Crohn, bệnh đa xơ

cứng, hội chứng đau vùng phức hợp, và ung thư. Cơ chế ULDN dường như liên quan đến phản ứng tế bào hai mô thức đối với opioid, trong đó nó được sử dụng để kiểm soát hậu phẫu đối với giảm đau, làm giảm tổng số lượng opioid. Do đó, cần phải cung cấp nồng độ điều trị ổn định ở nồng độ naltrexon liều thấp (như LDN, VLDN, ULDN, v.v...).

Nhiều yêu cầu được đặt ra đối với các dược phẩm có các đặc tính mong muốn: việc giải phóng thuốc phải diễn ra trong một thời gian dài, lượng thuốc phải đủ, chất nền cao phân tử phải có thể phân hủy sinh học và tương thích sinh học, các hóa chất và dung môi còn lại phải dưới mức tối đa có thể chấp nhận được, và các vi cầu phải đủ nhỏ và có khả năng đi qua kim tiêm thân thiện với bệnh nhân. Các đặc tính hóa lý của vi hạt nhạy cảm với đặc tính của thuốc, tính chất của chất nền cao phân tử, đặc tính của chất điều chỉnh giải phóng, cũng như các bước xử lý mà vi hạt được bào chế.

Nhiều phương pháp đã được đề xuất về cách đóng gói các hợp chất ở dạng vi hạt. Trong các phương pháp này, thuốc hoặc các hợp chất hoạt tính khác thường được hòa tan, phân tán hoặc nhũ hóa bằng cách sử dụng máy khuấy, thiết bị đồng hóa hoặc các thành phần trộn động khác trong dung môi, thường là dung môi hữu cơ, để tạo thành dung dịch có chứa chất nền. Dung môi hữu cơ sau đó được loại bỏ khỏi nguyên liệu nền thuốc trong quá trình chiết và/hoặc các bước rửa bổ sung và sau đó thu được sản phẩm vi hạt. Nhiều thông số được sử dụng trong quá trình bào chế vi hạt ảnh hưởng đến các đặc tính của vi hạt thu được.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Yêu cầu đặt ra là cần có phương pháp bào chế vi hạt có thể giải phóng naltrexon lâu hơn một tháng. Sáng chế được mô tả đầy đủ dưới đây giải quyết nhu cầu về các dược phẩm cung cấp naltrexon giải phóng lâu hơn một tháng.

Theo một phương án thực hiện ưu tiên, sáng chế đề xuất dược phẩm dạng vi hạt chứa naltrexon có thể tiêm được, giải phóng có kiểm soát (hoặc giải phóng kéo dài) bao gồm naltrexon và polyme phân hủy sinh học như poly(lactua-co-glycolua), còn được gọi là poly(axit lactic-co-glycolic) (PLGA), trong hơn một tháng. Các vi hạt (vi cầu) có thể dễ dàng được tiêm dưới da hoặc tiêm bắp. Cụ thể hơn, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế vi hạt tiêm có cấu trúc giải phóng naltrexon duy nhất trong thời gian dài hơn 4 tuần, tốt hơn là khoảng 8 tuần đến khoảng 12 tuần, tốt hơn nữa là lên đến 100 ngày. Các vi hạt được bào chế bằng cách chiết/bay hơi dung môi của nhũ tương dầu trong nước, pha dầu phân tán là các

dung dịch được tạo thành bằng cách sử dụng dung môi hữu cơ, bao gồm chủ yếu là naltrexon và polyme tương thích sinh học có thể phân hủy sinh học.

Theo một phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế được phẩm dạng vi hạt để sử dụng làm hệ phân phối giải phóng có kiểm soát. Phương pháp bào chế được phẩm dạng vi hạt có thể tiêm được bao gồm: (a) trộn pha thứ nhất bao gồm poly(rượu vinyl) (PVA) và dung môi thứ nhất, và pha thứ hai bao gồm polyme phân hủy sinh học, naltrexon và dung môi thứ hai để chuẩn bị hỗn hợp; và (b) thực hiện quy trình chiết hỗn hợp bằng nước hoặc dung dịch nước để thu được các vi hạt. Tốt hơn là, phương pháp bao gồm quá trình sấy khô các vi hạt sau quá trình chiết. Theo phương án thực hiện khác, phương pháp tùy ý bao gồm (c) thực hiện quy trình chiết tiếp theo đối với vi hạt bằng dung dịch nước etanol sau khi (b) thực hiện quy trình chiết. Khi phương pháp bao gồm quá trình chiết tiếp theo, quá trình sấy khô các vi hạt được thực hiện trước và/hoặc sau quá trình chiết tiếp theo. Cụ thể, việc sấy khô các hạt được thực hiện sau khi (b) thực hiện quá trình chiết, sau khi (c) thực hiện quá trình chiết tiếp theo, hoặc sau mỗi (b) và (c).

Theo phương án thực hiện ưu tiên, sáng chế đề xuất được phẩm dạng vi hạt có thể tiêm được. Theo khía cạnh của sáng chế, được phẩm dạng vi hạt dùng để tiêm được bào chế theo phương pháp của sáng chế.

Theo phương án thực hiện, chế phẩm lưu thông được bao gồm các vi hạt có thể phân hủy sinh học vào phương tiện dẫn thuốc được dụng (tương thích sinh học) có thể dùng để tiêm. Phương tiện dẫn thuốc được dụng (tương thích sinh học) bao gồm phương tiện dẫn thuốc gốc nước, phương tiện dẫn thuốc gốc dầu hoặc hỗn hợp của chúng. Tốt hơn là, phương tiện dẫn thuốc được dụng là hệ thống gốc nước. Hệ thống gốc nước bao gồm chất tăng trương lực như natri clorua, chất tăng độ nhớt như natri cacboxymetylxenluloza, chất làm ướt như polysorbat, hoặc hỗn hợp của chúng. Theo khía cạnh của sáng chế, hệ thống gốc nước có thể bao gồm các chất làm ướt như polysorbat 20 và các chất tăng cường độ nhớt, cụ thể như natri cacboxymetylxenluloza, axit hyaluronic, và các chất tương tự. Phương tiện dẫn thuốc được dụng khác có thể là phương tiện dẫn thuốc gốc dầu cũng có thể hoạt động dưới dạng tác nhân giới hạn tốc độ hấp thụ nước và/hoặc rào cản khuếch tán, do đó thay đổi tốc độ giải phóng bằng cách giới hạn lượng giải phóng ban đầu hoặc giảm tốc độ trạng thái ổn định. Phương tiện dẫn thuốc gốc dầu tương thích sinh học bao gồm dầu lạc, dầu thầu dầu, dầu vừng, dầu hướng dương, dầu đậu nành, dầu ngô, dầu hạt bông, hoặc hỗn hợp bất kỳ của chúng. Theo

khía cạnh của sáng chế, phương tiện dẫn thuốc phù hợp có thể là hỗn hợp giữa phương tiện dẫn thuốc gốc nước và phương tiện dẫn thuốc gốc dầu. Các vi hạt có thể được tiêm dưới da hoặc tiêm bắp.

Theo một phương án thực hiện sáng chế, dược phẩm giải phóng có kiểm soát cung cấp lượng naltrexon hữu ích trong điều trị cho đối tượng trong thời gian ít nhất 4 tuần, tốt hơn là ít nhất 6 tuần, tốt hơn nữa là ít nhất 8 tuần trở lên.

Theo phương án thực hiện ưu tiên, thời gian tác dụng của naltrexon khi sử dụng cùng một liều (380 mg naltrexon) như được sử dụng trong Vivitrol cung cấp lượng naltrexon hữu ích trong điều trị trong hơn 4 tuần, tốt hơn là 6 tuần, tốt hơn nữa là 8 tuần, và thậm chí tốt hơn nữa là 12 tuần.

Biên dạng giải phóng có thể thay đổi tùy thuộc vào tỷ lệ L: G, trọng lượng phân tử, nhóm cuối, và độ đa phân tán của polyme PLGA có thể phân hủy sinh học, tương thích sinh học, hàm lượng dung môi còn lại, phương pháp bào chế, trong số các yếu tố khác. Thứ hai, biên dạng giải phóng có thể khác nhau giữa các điều kiện trong ống nghiệm (*in vitro*) và trong cơ thể (*in vivo*), do các yếu tố như sự khác biệt về nhiệt độ giữa các thí nghiệm *in vitro* và *in vivo*, môi trường giải phóng so với sự khác biệt của chất lỏng kẽ và/hoặc phương tiện dẫn thuốc được sử dụng.

Bằng cách cung cấp các vi hạt có khả năng giải phóng kéo dài hơn 4 tuần, cụ thể là khoảng 8 đến 12 tuần (hoặc 100 ngày), các đối tượng sẽ được tiêm ít thuốc hơn và ít phải đến phòng khám hơn. Các vi hạt theo sáng chế cho thấy sự giải phóng naltrexon kéo dài cả trong điều kiện *in vivo* và *in vitro*. Để giúp bệnh nhân tuân thủ sử dụng thuốc tốt hơn, kích thước của các vi hạt và/hoặc lượng naltrexon có thể được thay đổi.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là lưu đồ minh họa phương án thực hiện phương pháp bào chế vi hạt;

Fig.2 là hình minh họa biên dạng giải phóng (Fig.2A) và biên dạng dược động học *in vitro* (Fig.2B) của dược phẩm ở Ví dụ 1;

Fig.3 là hình minh họa sự giải phóng naltrexon *in vitro* từ các dược phẩm có lượng thuốc nằm trong khoảng 37~40% (w/w) ở Ví dụ 5;

Fig.4 là hình minh họa biên dạng được động học *in vivo* của dược phẩm 12-3 (Fig.4A), 12-4 (Fig.4B), 12-5 (Fig.4C), và 12-7 (Fig.4D) của Bảng 10 ở Ví dụ 12.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết thông qua các ví dụ minh họa, nhưng các ví dụ được mô tả chỉ nhằm mục đích làm rõ sáng chế mà không giới hạn phạm vi của sáng chế.

Các phương án thực hiện theo sáng chế sẽ được mô tả chi tiết, bao gồm một số phương án thực hiện ưu tiên và tùy chọn, để các khía cạnh khác nhau của sáng chế có thể được hiểu đầy đủ hơn và được đánh giá cao hơn. Sáng chế đề xuất dược phẩm dạng vi hạt chứa naltrexon có thể tiêm được để cung cấp thành phần hoạt tính giải phóng có kiểm soát trong hơn 4 tuần, cụ thể là khoảng 8 tuần đến 12 tuần (hoặc 100 ngày).

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất dược phẩm dạng vi hạt chứa naltrexon có thể tiêm được, giải phóng có kiểm soát (hoặc giải phóng kéo dài) bao gồm naltrexon và polyme phân hủy sinh học như poly(lactua-co-glycolua), còn được gọi là poly(axit lactic-co-glycolic) (PLGA), trong hơn một tháng. Các vi hạt (vi cầu) có thể dễ dàng được tiêm dưới da hoặc tiêm bắp. Cụ thể hơn, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế vi hạt tiêm có cấu trúc giải phóng naltrexon duy nhất trong thời gian dài hơn 4 tuần, tốt hơn là khoảng 8 tuần đến khoảng 12 tuần, tốt hơn nữa là lên đến 100 ngày. Các vi hạt được bào chế bằng cách chiết/bay hơi dung môi của nhũ tương dầu trong nước, pha dầu phân tán là các dung dịch được tạo thành bằng cách sử dụng dung môi hữu cơ, bao gồm chủ yếu là naltrexon và polyme tương thích sinh học có thể phân hủy sinh học.

Các dược phẩm có tác dụng kéo dài có thể được bào chế thông qua quá trình sấy phun, kỹ thuật dựa trên nhũ tương, ép đùn, kỹ thuật dựa trên vi chế tạo, đông tụ và các quy trình khác để bào chế các vi hạt polyme thuốc có đặc tính giải phóng được kiểm soát.

Theo một phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế dược phẩm dạng vi hạt để sử dụng làm hệ phân phối giải phóng có kiểm soát. Phương pháp bào chế dược phẩm dạng vi hạt có thể tiêm được bao gồm: (a) trộn pha thứ nhất bao gồm poly(rượu vinyl) (PVA) và dung môi thứ nhất, và pha thứ hai bao gồm polyme phân hủy sinh học, naltrexon và dung môi thứ hai để chuẩn bị hỗn hợp; và (b) thực hiện quy trình chiết hỗn hợp bằng nước hoặc dung dịch nước để thu được các vi hạt. Tốt hơn là, phương pháp bao gồm

quá trình sấy khô các vi hạt sau quá trình chiết. Theo phương án thực hiện khác, phương pháp tùy ý bao gồm (c) thực hiện quy trình chiết tiếp theo đối với vi hạt bằng dung dịch nước etanol sau khi (b) thực hiện quy trình chiết. Khi phương pháp bao gồm quá trình chiết tiếp theo, quá trình sấy khô các vi hạt được thực hiện trước và/hoặc sau quá trình chiết tiếp theo. Cụ thể, việc sấy khô các hạt được thực hiện sau khi (b) thực hiện quá trình chiết, sau khi (c) thực hiện quá trình chiết tiếp theo, hoặc sau mỗi (b) và (c).

Phương pháp theo các phương án thực hiện của sáng chế được mô tả chi tiết có tham chiếu đến Fig.1. Trong sáng chế, việc sử dụng thuật ngữ “thứ nhất” hoặc “thứ hai” chỉ nhằm mục đích mô tả sáng chế một cách thuận tiện hơn, nhưng các thuật ngữ này không thể hiện hoặc ngụ ý rằng có một thứ tự hoặc mức độ quan trọng cụ thể giữa chúng. Ngoài ra, hình thức diễn đạt số ít theo sáng chế cũng bao gồm nghĩa số nhiều trừ khi có sự khác biệt về ngữ cảnh rõ ràng.

Công đoạn trộn pha thứ nhất và pha thứ hai được thực hiện theo thứ tự bất kỳ. Theo khía cạnh, nhưng không giới hạn, pha thứ nhất có thể được thêm vào đầu pha thứ hai và sau đó trộn để chuẩn bị hỗn hợp. Quá trình này có thể là quá trình nhũ hóa, và hỗn hợp là nhũ tương dầu trong nước của polyme, naltrexon, và một hoặc nhiều dung môi. Các hạt dầu trong hỗn hợp (nhũ tương) trở thành vi hạt thông qua quy trình tiếp theo theo sáng chế. Quá trình trộn có thể là quá trình để tạo thành các vi hạt có kích thước mong muốn, có thể phụ thuộc vào các điều kiện trộn như tốc độ quay, công suất và các điều kiện tương tự.

Pha thứ nhất cũng có thể được gọi là pha liên tục theo sáng chế. Pha thứ nhất bao gồm poly(rượu vinyl) và dung môi thứ nhất, trong đó dung môi thứ nhất bao gồm ít nhất một chất được chọn từ nhóm bao gồm nước, diclometan (DCM), rượu benzyl (BA) và etyl axetat (EA). Theo khía cạnh của sáng chế, dung môi thứ nhất phải bao gồm nước. Cụ thể, dung môi thứ nhất có thể là nước và pha thứ nhất có thể được tạo thành bằng cách thêm PVA vào nước.

Theo khía cạnh khác, dung môi thứ nhất có thể còn bao gồm dung môi hữu cơ, ít nhất một dung môi được chọn từ nhóm bao gồm diclometan, rượu benzyl và etyl axetat. Khi dung môi thứ nhất bao gồm nước và một hoặc nhiều dung môi hữu cơ, dung môi hữu cơ có thể được trộn cùng với poly(rượu vinyl) và nước khi chuẩn bị pha thứ nhất. Theo các khía cạnh khác, khi dung môi thứ nhất bao gồm nước và một hoặc nhiều dung môi hữu cơ, thì dung môi hữu cơ có thể được trộn với dung dịch bao gồm poly(rượu vinyl) và nước ngay sau khi trộn

poly(rượu vinyl) và nước khi chuẩn bị pha thứ nhất. Theo khía cạnh khác, khi dung môi thứ nhất bao gồm nước và một hoặc nhiều dung môi hữu cơ, thì dung môi hữu cơ có thể được trộn với dung dịch chứa poly(rượu vinyl) và nước ngay trước khi trộn pha thứ nhất với pha thứ hai. Tốt hơn là có thể trộn một hoặc nhiều dung môi hữu cơ với dung dịch bao gồm poly(rượu vinyl) và nước ngay trước khi trộn với pha thứ hai.

Theo khía cạnh của sáng chế, pha liên tục (pha thứ nhất) bao gồm khoảng 0,1~5% (w/v) poly(rượu vinyl) (PVA) trong nước. Theo khía cạnh khác, pha liên tục có thể còn chứa từ 0 đến 1,8% (khối lượng) diclometan (DCM) và/hoặc 0 đến 3,3% (khối lượng) rượu benzyl.

Pha thứ hai cũng có thể được gọi là pha hữu cơ theo sáng chế. Pha thứ hai bao gồm polyme phân hủy sinh học, naltrexon và dung môi thứ hai, trong đó dung môi thứ hai bao gồm ít nhất một chất được chọn từ nhóm bao gồm diclometan, rượu benzyl và etyl axetat. Theo khía cạnh của sáng chế, dung môi thứ hai bao gồm diclometan và rượu benzyl, etyl axetat hoặc hỗn hợp của chúng. Theo khía cạnh khác, để tạo ra các vi hạt, pha thứ hai bao gồm khoảng 1~40% (w/w) polyme phân hủy sinh học được hòa tan trong dung môi hữu cơ, cụ thể như diclometan (DCM), còn được gọi là metylen clorua, và 1~50 % (w/w) naltrexon hòa tan trong một dung môi hữu cơ khác, chẳng hạn như rượu benzyl. Naltrexon có thể được sử dụng trong phương pháp này ở dạng bazơ tự do, muối, solvat, đồng tinh thể hoặc hỗn hợp của chúng.

Polyme phân hủy sinh học, tương tích sinh học có thể là polyme đều, đồng polyme, hoặc terpolyme, hoặc các đơn vị monome lặp lại được liên kết bởi các nhóm như nhóm este. Polyme có thể là polyeste có thể bao gồm các đơn vị của một hoặc nhiều gốc axit hydroxycacboxylic, trong đó sự phân bố của các đơn vị có thể là ngẫu nhiên, bị chặn, ghép nối, hoặc phân bố tuần tự. Khi polyme phân hủy sinh học là polyeste, polyeste bao gồm polylactua, polyglycolua và PLGA. Theo khía cạnh của sáng chế, polyme phân hủy sinh học là polylactua, PLGA, hoặc hỗn hợp của chúng. Tốt hơn là, polyeste phân hủy sinh học thích hợp có tỷ lệ lactua: glycolua (L: G) (mol) là 50:50 đến 100: 0, tốt nhất là 65:35 đến 90:10, tốt hơn nữa là 75:25 đến 85:15. Tốt hơn là, polyeste có thể phân hủy sinh học thích hợp là PLGA 60:40 đến 95: 5. Tốt hơn nữa là, polyeste có thể phân hủy sinh học phù hợp là PLGA 70:30 đến 90:10. Tốt hơn nữa là, polyeste có thể phân hủy sinh học là PLGA 75: 25 đến 85:15. Tốt nhất là, polyeste có thể phân hủy sinh học là 85:15 PLGA. Theo khía cạnh khác, polyme phân hủy sinh học có trọng lượng phân tử trung bình từ 50.000 đến 150.000 Dalton.

Hỗn hợp (nhũ tương) được trải qua quá trình chiết bằng dung môi thích hợp để thu được các vi hạt, cuối cùng làm giảm mức dung môi đến mức có thể chấp nhận được. Thuật ngữ “chiết”, “quá trình chiết” trong sáng chế đề cập đến việc đưa hỗn hợp hoặc nhũ tương bao gồm poly(rượu vinyl), polyme phân hủy sinh học, naltrexon, và một hoặc nhiều dung môi tiếp xúc với pha chiết. Một hoặc nhiều dung môi hữu cơ được loại bỏ khỏi các hạt dầu của hỗn hợp (nhũ tương) trong quá trình chiết bằng dung môi, và do đó thu được các vi hạt bao gồm polyme và naltrexon.

Quá trình chiết bằng dung môi bao gồm ít nhất một quá trình chiết. Quá trình chiết (thứ nhất) được thực hiện trên hỗn hợp (nhũ tương) bằng pha chiết để thu được các vi hạt, trong đó pha chiết là nước hoặc dung dịch nước. Dung dịch nước có thể bao gồm ít nhất một dung dịch được chọn từ nhóm bao gồm poly(rượu vinyl), diclometan, rượu benzyl, và etyl axetat. Tốt hơn là, pha chiết có thể là nước với ít nhất từ 0 đến 3% (w/v) của ít nhất một loại được chọn từ nhóm bao gồm rượu polyvinyl, diclometan, rượu benzyl và etyl axetat. Tốt hơn nữa là, pha chiết có thể là nước với 0~2% (w/v) poly(rượu vinyl), 0~1,8% (w/v) diclometan, 0~2% (w/v) rượu benzyl, hoặc 0~3% (w/v) etyl axetat.

Khi quá trình chiết bằng dung môi bao gồm hai quá trình chiết, thì quá trình chiết tiếp theo (lần thứ hai) có thể được thực hiện đối với các vi hạt bằng dung dịch nước etanol (nó còn được gọi là pha chiết etanol hoặc dung dịch etanol theo sáng chế). Pha chiết etanol là dung dịch nước có khoảng 1~50% (v/v) etanol.

Nhiệt độ của mỗi quá trình chiết có thể nằm trong khoảng 4~30°C. Tốt hơn là, quá trình chiết (nước) thứ nhất có thể được thực hiện trong khoảng nhiệt độ khoảng 4 đến 10°C. Tốt hơn là, quá trình chiết thứ hai (etanol) có thể được thực hiện trong khoảng 20 đến 30°C. Thời gian chiết có thể trong khoảng từ 2 đến 8 giờ.

Theo khía cạnh của sáng chế, sau khi thực hiện quá trình chiết bằng dung môi, công đoạn sấy khô các vi hạt được thực hiện tùy ý. Quá trình sấy khô có thể trong điều kiện chân không trong khoảng nhiệt độ khoảng 4~30°C hoặc các quy trình sấy khô khác như đông khô. Khi quá trình chiết bằng dung môi bao gồm hai quá trình chiết, quá trình sấy khô tiếp theo có thể được thực hiện giữa hai quá trình chiết. Quá trình sấy trung gian có thể được thực hiện trong điều kiện chân không trong phạm vi nhiệt độ khoảng 4~30°C.

Trước mỗi quá trình sấy, phương pháp bao gồm quá trình thu thập để thu thập các vi hạt từ hỗn hợp (nhũ tương), dung dịch, phân tán, v.v... Quá trình thu thập được thực hiện bởi các sàng có kích thước lỗ khác nhau. Kích thước lỗ của sàng nằm trong khoảng 10-200 μm .

Phương pháp cũng có thể tùy ý bao gồm quá trình rửa sau quá trình chiết bằng dung môi. Khi phương pháp bao gồm quá trình thu gom, quá trình rửa có thể được thực hiện sau khi thu thập nhưng trước khi sấy khô. Quá trình rửa có thể là quá trình loại bỏ các chất tồn dư như dung môi, các chất không phản ứng, v.v..., theo sáng chế.

Dược phẩm dạng vi hạt có thể tiêm được theo sáng chế bao gồm các vi hạt bao gồm naltrexon và polyme phân hủy sinh học. Vi hạt có các biên dạng giải phóng kéo dài của naltrexon. Theo khía cạnh của sáng chế, sự giải phóng kéo dài của naltrexon kéo dài hơn 4 tuần và lên đến 100 ngày. Theo khía cạnh khác, thời gian giải phóng kéo dài của naltrexon là khoảng 8 tuần đến khoảng 12 tuần. Vi hạt chứa khoảng 20-40% (w/w) naltrexon. Naltrexon có thể ở dạng bazơ tự do, muối, solvat, đồng tinh thể hoặc hỗn hợp của chúng.

Polyme phân hủy sinh học bao gồm polylactua, poly(lactua-co-glycolua), hoặc các hỗn hợp của chúng. Tốt hơn là, tỷ lệ lactua: glycolua (L: G) (mol) của polyme phân hủy sinh học có thể là 50:50 đến 100: 0, tốt nhất là 65:35 đến 90:10, tốt hơn nữa là 75:25 đến 85:15. Trọng lượng phân tử của polyme phân hủy sinh học có thể là 50.000 Dalton đến 150.000 Dalton.

Theo phương án thực hiện ưu tiên, các vi hạt chứa naltrexon có thể tiêm được chứa naltrexon trong PLGA 85:15 với trọng lượng phân tử ít nhất là 50.000 Dalton, cụ thể như những vi hạt được mô tả dưới đây trong các ví dụ. Tốt hơn là, trọng lượng phân tử của PLGA là 50.000 Dalton đến 150.000 Dalton.

Theo phương án thực hiện ưu tiên, naltrexon có trong chế phẩm tác dụng kéo dài với lượng ít nhất là khoảng 20% trọng lượng, tốt hơn là ít nhất khoảng 30% trọng lượng, tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 35% trọng lượng, cụ thể là khoảng 40% trọng lượng naltrexon so với tổng trọng lượng của dược phẩm. Theo khía cạnh của sáng chế, naltrexon có trong dược phẩm tác dụng kéo dài với lượng khoảng 20-40% (w/w).

Các vi hạt có thể được chuẩn bị trong phạm vi phân bố kích thước phù hợp để tiêm dưới da và/hoặc tiêm bắp bằng cách sử dụng kim mỏng hơn 20 G. Đường kính, hình dạng, hình thái, và độ xốp của hạt có thể được điều chỉnh theo cách để kiểm soát các đặc tính giải

phóng và cho phép đi qua qua ống tiêm và kim tiêm. Các vi hạt được nạp naltrexon có thể có sự phân bố kích thước hạt trong phạm vi từ 1 đến 200 μm . Tốt hơn nữa là, sự phân bố kích thước hạt có thể nằm trong khoảng 10~125 μm . Tốt hơn nữa là, sự phân bố kích thước hạt có thể nằm trong khoảng 25~100 μm . Theo khía cạnh khác, các vi hạt có kích thước hạt trung bình trong khoảng từ 25 đến 125 μm .

Ví dụ thực hiện sáng chế.

Ví dụ 1. Hiệu quả của quá trình xử lý PLGA 75:25

Pha liên tục được chuẩn bị bằng cách cân 40 g poly(rượu vinyl) (PVA) (Mowiol 40-88, Sigma Aldrich, St. Louis, MO) và trộn với 4 lít nước khử ion. Pha hữu cơ bao gồm 500 mg PLGA 75:25 (Resomer RG756S) và 267 mg naltrexon dạng bazơ tự do (Tecoland Corporation, Irvine, CA) được hòa tan trong 1,333 g diclometan (DCM) (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) và 623 mg rượu benzyl (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) trong lọ 20 ml hoặc 500 mg PLGA 75:25 (Resomer RG756S) và 294 mg naltrexon dạng bazơ tự do (Tecoland Corporation, Irvine, CA) hòa tan trong 1,333 g diclometan (DCM) (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) và 623 mg rượu benzyl (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) trong lọ 20 ml. 10 ml pha liên tục được thêm vào bên trên pha hữu cơ và đồng hóa ở tốc độ 7.000 vòng/phút trong 60 giây bằng thiết bị đồng hóa IKA T25 với bộ tạo S25N - 10G (IKA Works, Inc. Wilmington, NC). Sau đó, hỗn hợp được chuyển sang pha chiết, là 380 ml PVA 1% (w/v) trong nước và được khuấy ở 4°C trong 8 giờ. Các vi hạt sau đó được thu thập bằng rây 25 μm . Sản phẩm được giữ lại bởi rây được khử nước trong 15 phút ở 22°C và được sấy chân không trong khoảng 16 giờ. Sau đó, các vi hạt được tạo huyền phù và được rửa trong 200 ml dung dịch ethanol 25% (v/v) trong 8 giờ ở 22°C để loại bỏ tác nhân tạo nhũ (PVA) và dung môi bất kỳ còn sót lại khỏi các vi hạt. Sau đó thu thập các vi hạt đã rửa sạch trên rây 25 μm và được sấy chân không trong 48 giờ.

Hai dược phẩm đã được đánh giá trong các nghiên cứu dược động học trên chuột Sprague-Dawley (SD) với liều 38 mg/kg.

Kết quả tải thuốc và lượng rượu benzyl còn lại được thể hiện trên Bảng 1. Cả hai dược phẩm đều cung cấp hiệu quả đóng gói khoảng 90% nhưng với thời gian giải phóng chỉ khoảng 4-5 tuần, với lượng thuốc cao hơn dẫn đến động học nhanh hơn. Tương quan *in vitro-in vivo*

mức A được ghi nhận trên Fig.2 cho F.1-1, trong khi thử nghiệm *in vitro* dự đoán phản ứng *in vivo* nhanh hơn so với những gì quan sát được đối với F.1-2.

Bảng 1. Tóm tắt dược phẩm trong Ví dụ 1

Dược phẩm (F)	Trọng lượng Naltrexon ban đầu (mg)	Độ tải thuốc (% w/w)	Rượu Benzyl tồn dư (% w/w)	EE (%)
F. 1-1	267	31,2	1,31	89,7
F. 1-2	294	33,5	1,51	90,6

Tải thuốc (% w/w) cho biết lượng naltrexon có trong vi hạt, và EE (%) cho biết lượng naltrexon cuối cùng còn lại so với naltrexon ban đầu khi chuẩn bị vi hạt.

Ví dụ 2. Ảnh hưởng của trọng lượng phân tử và nhà cung cấp PLGA 75:25

Pha liên tục được chuẩn bị bằng cách cân 40 g poly(rượu vinyl) (PVA) (Mowiol 40-88, Sigma Aldrich, St. Louis, MO) và trộn với 4 lít nước khử ion. Pha hữu cơ bao gồm 500 mg PLGA 75:25 và 267 mg naltrexon dạng bazơ tự do (Tecoland Corporation, Irvine, CA) được hòa tan trong 1,333 g diclometan (DCM) (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) và 623 mg rượu benzyl (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) trong lọ 20 ml. 10 ml pha liên tục được thêm vào bên trên pha hữu cơ và đồng hóa ở tốc độ 7.000 vòng/phút trong 60 giây bằng thiết bị đồng hóa IKA T25 với bộ tạo S25N - 10G (IKA Works, Inc. Wilmington, NC). Sau đó, hỗn hợp được chuyển sang pha chiết, là 380 ml nước khử ion và được khuấy ở 4°C trong 8 giờ. Các vi hạt sau đó được thu thập bằng rây 25 µm. Sản phẩm được giữ lại bởi rây được khử nước trong 15 phút ở 22°C và được sấy chân không trong khoảng 16 giờ. Sau đó, các vi hạt được tạo huyền phù và được rửa trong 200 ml dung dịch ethanol 25% (v/v) trong 8 giờ ở 22°C để loại bỏ tác nhân tạo nhũ (PVA) và dung môi bất kỳ còn sót lại khỏi các vi hạt. Sau đó thu thập các vi hạt đã rửa sạch trên rây 25 µm và được sấy chân không trong 48 giờ.

Kết quả tải thuốc và nồng độ rượu benzyl còn lại được thể hiện trên Bảng 2.

Resomer RG 750 và 756 dẫn đến lượng thuốc và biên dạng giải phóng tương tự nhau, có thể là do độ nhớt vốn có tương tự, với RG 750 có phạm vi rộng hơn. Resomer RG 755 và Lactel B6007-1, với các thông số kỹ thuật về độ nhớt vốn có gần như tương tự nhau, cũng dẫn đến lượng thuốc và biên dạng giải phóng tương tự. Mặc dù dẫn đến việc tải thuốc tương tự như các PLGA khác được thử nghiệm, Lactel B6007-2 dẫn đến biên dạng giải phóng với

động học nhanh hơn nhiều. Các dược phẩm F.2-1 đến F.2-5 cung cấp biên dạng giải phóng thuốc khoảng 30-35 ngày.

Bảng 2. Tóm tắt dược phẩm được thực hiện với 75:25 PLGA

Dược phẩm (F)	PLGA	Độ nhớt vốn có (ml/g)	Độ tải thuốc (% w/w)	Rượu Benzyl tồn dư (% w/w)	EE (%)
F.2-1	Resomer RG 750	0,8-1,2	29,2	2,86	83,8
F.2-2	Resomer RG 755	0,5-0,7	28,9	1,73	83,0
F.2-3	Resomer RG 756	0,71-1,0	29,6	2,73	85,0
F.2-4	Lactel B6007-1	0,55-0,75	29,3	1,95	84,2
F.2-5	Lactel B6007-2	0,8-1,2	29,6	1,70	85,0

Ví dụ 3. Sản xuất vi hạt chứa naltrexon: Dược phẩm 3

Pha liên tục được chuẩn bị bằng cách cân 40 g poly(rượu vinyl) (PVA) (Mowiol 40-88, Sigma Aldrich, St. Louis, MO) và trộn với 4 lít nước khử ion. Pha hữu cơ bao gồm 500 mg PLGA 85:15 (Resomer RG 858S Evonik Cyro, Parsippany, NJ) và 294 mg naltrexon dạng bazơ tự do (Tecoland Corporation, Irvine, CA) được hòa tan trong 2,0 g diclometan (DCM) (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) và 467 mg rượu benzyl (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) trong lọ 20 ml. Tiếp đó, pha liên tục được trộn với DCM, và 10 ml pha liên tục với 1,8% (w/v) DCM được thêm vào bên trên pha hữu cơ và đồng hóa ở tốc độ 7.000 vòng/phút trong 60 giây bằng thiết bị đồng hóa IKA T25 với bộ tạo S25N - 10G (IKA Works, Inc. Wilmington, NC). Sau đó, hỗn hợp được chuyển sang pha chiết, là 380 ml nước với 0,5% w/v DCM và được khuấy ở 4°C trong 8 giờ. Các vi hạt được thu thập bằng rây 25 µm. Sản phẩm được giữ lại bởi rây được khử nước trong 15 phút ở 22°C và được sấy chân không trong khoảng 16 giờ. Sau đó, các vi hạt được tạo huyền phù và được rửa trong 200 ml dung dịch ethanol 25% (v/v) trong 8 giờ ở 22°C để loại bỏ tác nhân tạo nhũ (PVA) và dung môi bất kỳ còn sót lại khỏi các vi hạt. Sau đó thu thập các vi hạt đã rửa sạch trên rây 25 µm và được sấy chân không trong 48 giờ.

Kết quả tải lượng thuốc là 28,1% (75,9% EE) và rượu benzyl còn lại là 0,55%. Biên dạng giải phóng thuốc trong ống nghiệm dẫn đến động học giải phóng gần như bằng 0 trong khoảng 50 ngày.

Ví dụ 4. Bào chế vi hạt chứa naltrexon: Dược phẩm 4

Pha liên tục được chuẩn bị bằng cách cân 40 g PVA và trộn với 4 lít nước khử ion. Pha hữu cơ bao gồm 500 mg PLGA 85:15 (Resomer RG 858S) và 294 mg naltrexon dạng bazơ tự do (Tecoland Corporation, Irvine, CA) được hòa tan trong 2,0 g DCM và 623 mg rượu benzyl trong lọ 20 ml. Tiếp đó, pha liên tục được trộn với DCM, và 10 ml pha liên tục với 1,8% (w/v) DCM được thêm vào bên trên pha hữu cơ và đồng hóa ở tốc độ 7.000 vòng/phút trong 60 giây bằng thiết bị đồng hóa IKA T25 với bộ tạo S25N - 10G (IKA Works, Inc. Wilmington, NC). Sau đó, hỗn hợp được chuyển sang pha chiết, là 380 ml nước với 0,66% (w/v) DCM ở 4°C. Các vi hạt được khuấy trong 8 giờ rồi được thu thập bằng rây 23 μ m. Sản phẩm được giữ lại bởi rây được khử nước trong 15 phút ở 22°C và được sấy chân không trong khoảng 16 giờ. Sau đó, các vi hạt được tạo huyền phù và được rửa trong 200 ml dung dịch ethanol 25% (v/v) trong 8 giờ ở 22°C để loại bỏ tác nhân tạo nhũ (PVA) và dung môi bất kỳ còn sót lại khỏi các vi hạt. Sau đó các vi hạt đã rửa được cho đi qua rây 125 μ m, được thu thập trên rây 23 μ m, và được sấy chân không trong 48 giờ.

Kết quả tải thuốc là 21,7% (58,6% EE) và rượu benzyl còn lại là 0,83%. Một lượng lớn hơn (0,66% (w/v) DCM trong pha chiết và hàm lượng rượu benzyl ban đầu cao hơn trong pha hữu cơ làm giảm đáng kể lượng tải thuốc của dược phẩm. Biên dạng giải phóng thuốc trong ống nghiệm dẫn đến động học giải phóng bậc tuần tự gần như bằng không đối với khoảng 60 ngày.

Ví dụ 5. Bào chế vi hạt chứa naltrexon: Ảnh hưởng của dung môi trong môi trường nhũ tương hóa

Pha liên tục được chuẩn bị bằng cách cân 40 g PVA và trộn với 4 lít nước đã khử ion. Pha hữu cơ bao gồm 1,0 g PLGA 85:15 (Resomer RG 858S) và 818 mg naltrexon dạng bazơ tự do (SpecGx, LLC) được hòa tan trong 4,0 g DCM và 1,908 g rượu benzyl trong lọ 20 ml hoặc 1,0 g PLGA 85:15 (Resomer RG 858S) và 818 mg naltrexon dạng bazơ tự do (SpecGx, LLC) được hòa tan trong 4,0 g DCM và 1,04 g rượu benzyl trong lọ 20 ml. 15 ml của pha liên tục hoặc pha liên tục được trộn thêm với DCM hoặc rượu benzyl (BA) (được mô tả trên Bảng 3) được thêm vào bên trên pha hữu cơ và được đồng nhất ở tốc độ 7.000 vòng/phút trong 60 giây bằng thiết bị đồng hóa IKA T25 với bộ tạo S25N - 10G (IKA Works, Inc. Wilmington, NC). Sau đó, hỗn hợp được chuyển sang thành 760 ml pha chiết và được khuấy ở 4°C. Các vi hạt được thu thập bằng rây 25 μ m. Sản phẩm được giữ lại bởi rây được khử nước trong 15 phút ở 22°C và được sấy chân không trong khoảng 16 giờ. Sau đó, các vi hạt được tạo huyền

phù và được rửa trong 400 ml dung dịch etanol 25% (v/v) trong 8 giờ ở 22°C để loại bỏ tác nhân tạo nhũ (PVA) và dung môi bất kỳ còn sót lại khỏi các vi hạt. Sau đó các vi hạt đã rửa được cho đi qua rây 125 μm , và được thu thập trên rây 23 μm , và được sấy chân không trong 48 giờ.

Kết quả tải thuốc và lượng rượu benzyl dư có thể có trên Bảng 3. Sự gia tăng lượng rượu benzyl dư được nhận thấy khi lượng rượu benzyl ban đầu lớn hơn. Có thể đạt được hiệu suất đóng gói 80 ~ 90%. Ở ví dụ này, diclometan trong môi trường chiết dẫn đến hàm lượng rượu benzyl còn lại thấp nhất, mặc dù naltrexon cũng bị mất trong quá trình này. Các đường cong giải phóng thuốc dường như không cho thấy sự khác biệt về giải phóng giữa 3,3% BA (rượu benzyl) trong 1% PVA so với 1% PVA đơn thuần. 1,8% DCM trong 1% PVA cho thấy tỷ lệ giải phóng ban đầu thấp hơn một chút, có thể do lượng thuốc thấp hơn.

Bảng 3. Ảnh hưởng của các thành phần trong pha liên tục và pha chiết đối với việc tải thuốc thu được, rượu benzyl dư (BA) và hiệu quả đóng gói (EE)

Dược phẩm (F)	Pha liên tục (w/v)/ Pha chiết (w/v)	BA ban đầu (g)	Độ tải thuốc (% w/w)	BA dư (% w/w)	EE (%)
F.5-1	1,8% DCM trong 1% PVA trong nước / 0,5% DCM trong nước	1,908	37,0	1,44	82,2
F.5-2	3,3% BA trong 1% PVA trong nước /H ₂ O	1,908	39,5	2,43	87,8
F.5-3	1% PVA trong nước / H ₂ O	1,908	39,8	2,26	88,5
F.5-4	1,8% DCM trong 1% PVA trong nước / 0,5% DCM trong nước	1,04	37,8	0,96	84,0
F.5-5	3,3% BA trong 1% PVA trong nước /H ₂ O	1,04	39,4	1,92	87,6
F.5-6	1% PVA trong nước / H ₂ O	1,04	39,8	1,02	88,5

Ví dụ 6. Bào chế vi hạt chứa naltrexon: Ảnh hưởng của tỷ lệ dầu/nước

Pha liên tục được chuẩn bị bằng cách cân 40 g PVA và trộn với 4 lít nước đã khử ion. Pha hữu cơ bao gồm 0,630 g PLGA 85:15 (Resomer RG 858S) và 370 mg naltrexon dạng bazơ tự do (SpecGx, LLC) được hòa tan trong 3,15 g etyl acetate (Fisher Scientific, Fair

Lawn, NJ) và 1,17 g benzyl còn trong lọ nhỏ 20 ml. Pha liên tục được trộn thêm với etyl axetat, và 20 ml của pha liên tục với 6,525% (w/v) etyl axetat được nhũ hóa với pha hữu cơ ở 4.000 hoặc 7.000 vòng/phút trong 30 giây bằng thiết bị đồng hóa IKA T25 với bộ tạo S25N - 10G (IKA Works, Inc. Wilmington, NC). Sau đó, hỗn hợp được chuyển sang pha chiết, 250 ml etyl axetat 2,5% (w/v) trong nước và được khuấy ở 4°C trong 2 hoặc 4 giờ. Sau đó, các vi hạt được thu thập bằng rây 10 µm và được sấy khô ở 4°C trong chân không trong khoảng 16 giờ. Sau đó, các vi hạt được tạo huyền phù và rửa trong 150 ml dung dịch etanol 25% (v/v) trong 8 giờ ở 22°C để loại bỏ chất tạo nhũ (PVA) và dung môi tồn dư bất kỳ khỏi vi hạt. Các vi hạt đã rửa sạch sau đó được đưa qua rây 150 µm và được thu thập trên rây 10 µm và được sấy chân không trong 48 giờ.

Kết quả tải thuốc và nồng độ rượu benzyl còn lại được trình bày trên Bảng 4.

Hiệu quả đóng gói dường như thấp hơn so với các dược phẩm được bào chế trong các điều kiện tương tự với diclometan. Sự khác biệt tối thiểu được quan sát thấy trong biên dạng giải phóng *in vitro* của ba dược phẩm, với tất cả các dược phẩm kéo dài hơn 55 ngày.

Bảng 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ dầu/nước, tốc độ đồng hóa, và thời gian chiết bằng dung môi đến tải lượng thuốc thu được, rượu benzyl dư (BA), và hiệu quả đóng gói (EE).

Dược phẩm (F)	Tỷ lệ dầu/nước (v/v)	Tốc độ đồng hóa (RPM)	Thời gian chiết dung môi (giờ)	Độ tải thuốc (% w/w)	BA dư (% w/w)	EE (%)
F.6-1	1/2,82	4.000	4	27,5	0,72	74,3
F.6-2	1/4,35	4.000	2	25,0	0,43	67,6
F.6-3	1/4,35	7.000	4	23,2	0,17	62,7

Ví dụ 7. Xác định trọng lượng phân tử PLGA bằng máy dò bậc bốn sắc ký lọc gel

Các mẫu Resomer RG 858S và Lactel B6006-2P được hòa tan trong axeton đến nồng độ khoảng 2,5 mg/ml, được lọc qua bộ lọc 0,22 µm PTFE, và được thu vào lọ lấy mẫu tự động HPLC để tiêm. Các mẫu được phân tích bằng GPC-4D. Hệ thống GPC-4D bao gồm Agilent 1260 Infinity II HPLC được kết nối với Dawn Heleos II (MALLS) kết hợp với Dynapro Nanostar DLS thông qua cáp quang, Optilab T-rEX (máy dò RI) và máy đo độ nhớt Viscostar III được vận hành bằng phần mềm Astra 7. Phân tích GPC được thực hiện bằng cách bơm 50,0 µl dung dịch polyme. Quá trình phân tách được thực hiện bằng cột gradient

tuyến tính (Tosoh Bioscience LLC, TSKgel GMHHR-L, 7,8 mm x 30 cm) ở dòng axeton 0,6 ml/phút với thời gian chạy 60 phút. Khối lượng phân tử của các mẫu polyme được thể hiện trên Bảng 5.

Bảng 5. M_n (số khối phân tử trung bình), M_w (khối lượng phân tử trung bình theo trọng lượng), M_z (khối lượng phân tử trung bình cao hơn), M_{avg} (khối lượng phân tử trung bình), và độ phân tán

Tá được (E)	Polyme	Số lô	M_n (kDa)	M_w (kDa)	M_z (kDa)	M_{avg} (kDa)	Độ phân tán (M_w/M_n)
E.7-1	Resomer RG 858S	D161000568	120,15	141,07	171,75	121,95	1,17
E.7-2	Lactel B6006-2P	A17-028	66,01	78,19	94,40	65,41	1,19

Ví dụ 8. Bảo chế vi hạt chứa naltrexon: Ảnh hưởng của 85:15 trong lượng phân tử và thời gian chiết

Pha liên tục được chuẩn bị bằng cách cân 40 g PVA và trộn với 4 lít nước đã khử ion. Pha hữu cơ bao gồm 500 mg PLGA 85:15 (Resomer RG 858S (IV 1,3 - 1,7 dL/g, Số lô D161000568, Evonik Cyro, Parsippany, NJ) hoặc Lactel B6006-2P (IV 0,76 - 0,85 dL/g, Số lô A17-068, Durect, Cupertino, CA)) và 267 mg naltrexon dạng bazơ tự do (SpecGx, LLC) được hòa tan trong 2,0 g DCM và 623 mg rượu benzyl trong lọ 20 ml. Pha liên tục được trộn thêm với DCM, và 10 ml của pha liên tục chứa 1,8% (w/v) DCM được thêm vào pha hữu cơ và được nhũ hóa ở tốc độ 7.000 vòng/phút trong 60 giây bằng thiết bị đồng hóa IKA T25 với bộ tạo S25N - 10G (IKA Works, Inc. Wilmington, NC). Sau đó, hỗn hợp được chuyển sang pha chiết (380 ml diclometan 0,5% (w/v) trong nước) và được khuấy ở 4°C trong 2, 4 hoặc 7 giờ. Sau đó, các vi hạt này được thu thập bằng rây 25 μ m và được sấy khô ở 4°C trong chân không trong khoảng 16 giờ. Sau đó, vi hạt được tạo huyền phù và được rửa trong 200 ml dung dịch etanol 25% (v/v) trong 8 giờ ở 22°C để loại bỏ PVA và dung môi bất kỳ còn sót lại khỏi vi hạt. Sau đó, các vi hạt đã rửa sạch được đưa qua rây 125 μ m và được thu lại trên rây 25 μ m và được sấy chân không trong 48 giờ.

Kết quả tải thuốc, nồng độ rượu benzyl còn lại và hiệu suất đóng gói có thể được trình bày trên Bảng 6. Ảnh hưởng tối thiểu của thời gian chiết đã được ghi nhận giữa hai loại PLGA và lượng thuốc tương ứng của chúng. Rượu benzyl dư có vẻ cao hơn một chút đối với các lô Lactel so với các lô Resomer. Thời gian chiết dường như không ảnh hưởng đến tốc độ giải

phóng, trong khi sự khác biệt về biên dạng giải phóng giữa hai polyme là rõ ràng. Các lô Resomer dường như có pha trễ ngắn hơn so với các lô Lactel, dẫn đến việc giải phóng ở trạng thái ổn định hơn trong 60 ngày trong ống nghiệm so với các lô Lactel.

Bảng 6. Ảnh hưởng của PLGA và thời gian chiết đến kết quả tải thuốc, rượu benzyl dư (BA), và hiệu quả đóng gói (EE).

Dược phẩm (F)	PLGA	Thời gian chiết (giờ)	Độ tải thuốc (% w/w)	Rượu Benzyl tồn dư (% w/w)	EE (%)
F.8-1	Resomer RG 858S	2	28,0	0,88	80,5
F.8-2		4	27,7	0,88	79,6
F.8-3		7	28,6	0,89	82,2
F.8-4	Lactel B6006-2	2	27,5	1,16	79,0
F.8-5		4	28,1	1,06	80,7
F.8-6		7	28,5	1,12	81,9

Ví dụ 9. Bào chế vi hạt chứa naltrexon: Tác dụng của việc Không rửa Etanol so với Rửa Etanol 25%

Pha liên tục được chuẩn bị bằng cách cân 40 g PVA và trộn với 4 lít nước đã khử ion. Pha hữu cơ bao gồm 500 mg PLGA 85:15 (Resomer RG 858S và 267 mg naltrexon dạng bazơ tự do (SpecGx, LLC) được hòa tan trong 2,0 g DCM và 623 mg rượu benzyl trong lọ 20 ml. Pha liên tục được trộn thêm với DCM, và 10 ml của pha liên tục chứa 1,8% (w/v) DCM được thêm vào pha hữu cơ và được nhũ hóa ở tốc độ 7.000 vòng/phút trong 60 giây bằng thiết bị đồng hóa IKA T25 với bộ tạo S25N - 10G (IKA Works, Inc. Wilmington, NC). Sau đó, hỗn hợp được chuyển sang pha chiết (380 ml diclometan 0,5% (w/v) trong nước) và được khuấy ở 4°C trong 2 giờ. Sau đó, các vi hạt này được thu thập bằng rây 25 µm và được sấy khô ở 4°C trong chân không trong khoảng 16 giờ. Sau đó, vi hạt được tạo huyền phù và được rửa trong 200 ml dung dịch etanol 25% (v/v) trong 8 giờ ở 22°C để loại bỏ PVA và dung môi bất kỳ còn sót lại khỏi vi hạt hoặc cho đi qua rây 125 µm và sấy chân không trong 48 giờ. Sau đó, các vi hạt đã rửa sạch được đưa qua rây 125 µm và được thu lại trên rây 25 µm và được sấy chân không trong 48 giờ.

Kết quả tải thuốc, nồng độ rượu benzyl còn lại và hiệu suất đóng gói có thể được trình bày trên Bảng 7. Quá trình rửa bằng etanol dẫn đến các vi hạt có hàm lượng rượu benzyl dư

thấp hơn, và tải lượng thuốc cao hơn - có thể là do quá trình chiết rượu benzyl. 10 ngày đầu giải phóng tương tự giữa các hạt đã rửa và chưa rửa, nhưng tốc độ sau 10 ngày nhanh hơn đối với các hạt chưa rửa so với các hạt đã rửa sạch.

Bảng 7. Ảnh hưởng của PLGA và thời gian chiết đến kết quả tải thuốc, rượu benzyl dư (BA), và hiệu quả đóng gói (EE).

Dược phẩm (F)	Quy trình	Độ tải thuốc (% w/w)	Rượu Benzyl tồn dư (% w/w)	EE (%)
F.9-1	Không rửa bằng etanol	27,9	1,71	80,2
F.9-2	Rửa bằng etanol 25%	28,3	0,86	81,3

Ví dụ 10. Bào chế vi hạt chứa naltrexon: Ảnh hưởng của nồng độ rửa Etanol

Pha liên tục được chuẩn bị bằng cách cân 40 g PVA và trộn với 4 lít nước đã khử ion. Pha hữu cơ bao gồm 500 mg PLGA 85:15 (Resomer RG 858S và 305 mg naltrexon dạng bazơ tự do (SpecGx, LLC) được hòa tan trong 2,0 g DCM và 467 mg rượu benzyl trong lọ 20 ml. Pha liên tục được trộn thêm với DCM, và 10 ml của pha liên tục chứa 1,8% (w/v) DCM được thêm vào pha hữu cơ và được nhũ hóa ở tốc độ 7.000 vòng/phút trong 60 giây bằng thiết bị đồng hóa IKA T25 với bộ tạo S25N - 10G (IKA Works, Inc. Wilmington, NC). Sau đó, hỗn hợp được chuyển sang pha chiết (380 ml diclometan 0,33% (w/v) trong nước) và được khuấy ở 4°C trong 8 giờ. Sau đó, các vi hạt này được thu thập bằng rây 25 µm và được sấy khô ở 4°C trong chân không trong khoảng 16 giờ. Sau đó, vi hạt được tạo huyền phù và được rửa trong 200 ml dung dịch etanol 6,25, 12,5, 25 hoặc 50% (v/v) trong 8 giờ ở 22°C để loại bỏ PVA và dung môi bất kỳ còn sót lại khỏi vi hạt. Sau đó, các vi hạt đã rửa sạch được đưa qua rây 125 µm và được thu lại trên rây 25 µm và được sấy chân không trong 48 giờ.

Kết quả tải thuốc, nồng độ rượu benzyl còn lại và hiệu suất đóng gói có thể được trình bày trên Bảng 8. Độ tải thuốc đối với 6,25, 12,5 và 25% (v/v) không dẫn đến bất kỳ sự khác biệt hoặc xu hướng đáng kể nào. Hàm lượng rượu benzyl dư giảm khi tăng nồng độ rượu trong điều kiện này. Ở mức 50% (v/v), một lượng đáng kể naltrexon bị mất trong quá trình rửa và giải phóng naltrexon nhanh hơn nhiều so với điều kiện 6,25, 12,5 và 25%.

Bảng 8. Ảnh hưởng của nồng độ dịch rửa etanol đến kết quả tải thuốc, rượu benzyl dư (BA), và hiệu quả đóng gói (EE).

Dược phẩm (F)	Nồng độ rửa etanol (% v/v)	Độ tải thuốc (% w/w)	Rượu Benzyl tồn dư (% w/w)	EE (%)
F.10-1	6,25	29,5	0,77	77,8
F.10-2	12,5	29,2	0,67	77,0
F. 10-3	25	29,4	0,41	77,5
F. 10-4	50	23,9	0,00	63,1

Ví dụ 11. Bào chế vi hạt chứa naltrexon: Ảnh hưởng của nhiệt độ rửa Etanol

Pha liên tục được chuẩn bị bằng cách cân 40 g PVA và trộn với 4 lít nước đã khử ion. Pha hữu cơ bao gồm 500 mg PLGA 85:15 (Resomer RG 858S và 294 mg naltrexon dạng bazơ tự do (SpecGx, LLC) được hòa tan trong 2,0 g DCM và 467 mg rượu benzyl (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) trong lọ 20 ml. Pha liên tục được trộn thêm với DCM, và 10 ml của pha liên tục chứa 1,8% (w/v) DCM được thêm vào pha hữu cơ và được nhũ hóa ở tốc độ 7.000 vòng/phút trong 60 giây bằng thiết bị đồng hóa IKA T25 với bộ tạo S25N - 10G (IKA Works, Inc. Wilmington, NC). Sau đó, hỗn hợp được chuyển sang pha chiết (380 ml PVA 1% (w/v) trong nước) và được khuấy ở 4°C trong 8 giờ. Sau đó, các vi hạt này được thu thập bằng rây 25 μ m và được sấy khô ở 4°C trong chân không trong khoảng 16 giờ. Sau đó, vi hạt được tạo huyền phù và được rửa trong 200 ml dung dịch etanol 25% (v/v) trong 8 giờ ở 4°C hoặc 22°C để loại bỏ chất nhũ hóa PVA và dung môi bất kỳ còn sót lại khỏi vi hạt. Sau đó, các vi hạt đã rửa sạch được đưa qua rây 125 μ m và được thu lại trên rây 25 μ m và được sấy chân không trong 48 giờ. Kết quả tải lượng thuốc, nồng độ rượu benzyl còn lại, và hiệu suất đóng gói có thể được trình bày trên Bảng 9.

Quá trình rửa bằng etanol ở 22°C dẫn đến các vi hạt có hàm lượng rượu benzyl còn lại thấp hơn, và tải lượng thuốc cao hơn - có thể là do quá trình chiết rượu benzyl. Sự giải phóng naltrexon từ các vi hạt được rửa ở 22°C dẫn đến tốc độ giải phóng nhanh hơn cho đến 10 ngày. Việc giải phóng naltrexon từ các vi hạt ở 4°C dẫn đến tốc độ giải phóng nhanh hơn sau 10 ngày đầu tiên và chỉ kéo dài khoảng 35 ngày trong ống nghiệm, trong khi các hạt được rửa ở 22°C cung cấp giải phóng naltrexon trong khoảng 50 ngày.

Bảng 9. Ảnh hưởng của nồng độ dịch rửa etanol đến kết quả tải thuốc, rượu benzyl dư (BA), và hiệu quả đóng gói (EE).

Dược phẩm (F)	Nhiệt độ rửa (°C)	Độ tải thuốc (% w/w)	Rượu Benzyl tồn dư (% w/w)	EE (%)
F.11-1	4	32,1	1,61	86,6
F.11-2	22	32,9	0,76	88,9

Ví dụ 12. Phản ứng trong cơ thể của các dược phẩm

Bảy dược phẩm có tải lượng naltrexon (bazơ tự do) từ ~20% đến ~40% đã được đánh giá trong các nghiên cứu dược động học với chuột Sprague-Dawley. Trong số bảy dược phẩm, mỗi dược phẩm F.12-1, F.12-2, F.12-4 và F.12-6 được bào chế theo cách tương tự như F.3-5, F.4-1, F.8-6 và F.5-4, trong khi F.12-3, F.12-5 và F.12-7 được bào chế như mô tả bên dưới.

F.12-3

Pha liên tục được chuẩn bị bằng cách cân 40 g poly(rượu vinyl) (PVA) (Mowiol 40-88, Sigma Aldrich, St. Louis, MO) và trộn với 4 lít nước khử ion. Pha hữu cơ bao gồm 500 mg PLGA 85:15 (Resomer RG858S) và 294 mg naltrexon dạng bazơ tự do (Tecoland Corporation, Irvine, CA) được hòa tan trong 2,0 g diclometan (DCM) (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) và 467 mg rượu benzyl (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ). 10 ml pha liên tục được thêm vào trên đỉnh pha hữu cơ và đồng hóa ở tốc độ 7.000 vòng/phút trong 60 giây bằng thiết bị đồng hóa IKA T25 với bộ tạo S25N - 10G (IKA Works, Inc. Wilmington, NC). Sau đó, hỗn hợp được chuyển sang pha chiết, là 380 ml PVA 1% (w/v) trong nước và được khuấy ở 4°C trong 8 giờ. Các vi hạt sau đó được thu thập bằng sàng 25 µm. Sản phẩm được giữ lại bởi sàng được khử nước trong 15 phút ở 22°C và được sấy khô chân không trong khoảng 16 giờ. Sau đó, các vi hạt được tạo huyền phù và được rửa trong 200 ml dung dịch ethanol 25% (v/v) trong 8 giờ ở 22°C để loại bỏ tác nhân tạo nhũ (PVA) và dung môi bất kỳ còn sót lại khỏi các vi hạt. Sau đó thu thập các vi hạt đã rửa sạch trên sàng 25 µm và được sấy khô chân không trong 48 giờ.

F.12-5

Pha liên tục được chuẩn bị bằng cách cân 40 g poly(rượu vinyl) (PVA) (Mowiol 40-88, Sigma Aldrich, St. Louis, MO) và trộn với 4 lít nước khử ion. Pha hữu cơ bao gồm 500 mg PLGA 85:15 (Resomer RG858S) và 409 mg naltrexon dạng bazơ tự do (Tecoland Corporation, Irvine, CA) được hòa tan trong 2,0 g diclometan (DCM) (Fisher Scientific, Fair

Lawn, NJ) và 623 mg rượu benzyl (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) trong lọ 20 ml. Pha liên tục tiếp tục được trộn với diclometan, và 10 ml pha liên tục chứa 1,8% (w/v) DCM được thêm vào trên đỉnh pha hữu cơ và đồng hóa ở tốc độ 7.000 vòng/phút trong 60 giây bằng thiết bị đồng hóa IKA T25 với bộ tạo S25N - 10G (IKA Works, Inc. Wilmington, NC). Sau đó, hỗn hợp được chuyển sang pha chiết, là 380 ml DCM 0,5% (w/v) trong nước và được khuấy ở 4°C trong 4 giờ. Các vi hạt sau đó được thu thập bằng sàng 25 μ m. Sản phẩm được giữ lại bởi sàng được khử nước trong 15 phút ở 22°C và được sấy khô chân không trong khoảng 16 giờ. Sau đó, các vi hạt được tạo huyền phù và được rửa trong 200 ml dung dịch ethanol 25% (v/v) trong 8 giờ ở 22°C để loại bỏ tác nhân tạo nhũ (PVA) và dung môi bất kỳ còn sót lại khỏi các vi hạt. Sau đó thu thập các vi hạt đã rửa sạch trên sàng 25 μ m và được sấy khô chân không trong 48 giờ.

F.12-7

Pha liên tục được chuẩn bị bằng cách cân 40 g poly(rượu vinyl) (PVA) (Mowiol 40-88, Sigma Aldrich, St. Louis, MO) và trộn với 4 lít nước khử ion. Pha hữu cơ bao gồm 500 mg PLGA 85:15 (Resomer RG858S) và 267 mg naltrexon dạng bazơ tự do (Tecoland Corporation, Irvine, CA) được hòa tan trong 2,0 g diclometan (DCM) (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) và 623 mg rượu benzyl (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) trong lọ 20 ml. Pha liên tục tiếp tục được trộn với diclometan, và 10 ml pha liên tục chứa 1,8% (w/v) DCM được thêm vào trên đỉnh pha hữu cơ và đồng hóa ở tốc độ 7.000 vòng/phút trong 60 giây bằng thiết bị đồng hóa IKA T25 với bộ tạo S25N - 10G (IKA Works, Inc. Wilmington, NC). Sau đó, hỗn hợp được chuyển sang pha chiết, là 380 ml DCM 0,5% (w/v) trong nước và được khuấy ở 4°C trong 7 giờ. Các vi hạt sau đó được thu thập bằng sàng 25 μ m. Sản phẩm được giữ lại bởi sàng được khử nước trong 15 phút ở 22°C và được sấy khô chân không trong khoảng 16 giờ. Sau đó, các vi hạt được tạo huyền phù và được rửa trong 200 ml dung dịch ethanol 25% (v/v) trong 8 giờ ở 22°C để loại bỏ tác nhân tạo nhũ (PVA) và dung môi bất kỳ còn sót lại khỏi các vi hạt. Sau đó thu thập các vi hạt đã rửa sạch trên sàng 25 μ m và được sấy khô chân không trong 48 giờ.

Ảnh hưởng của độ tải thuốc, hệ dung môi, và nồng độ dung môi đối với sự giải phóng naltrexon đã được đánh giá. Mẫu tải thuốc thấp nhất (F.12-2), dẫn đến kết quả giải phóng thuốc đột ngột cao nhất, so với các dược phẩm giải phóng ở trạng thái ổn định. Khi tải thuốc tăng từ khoảng 28% lên 38%, nồng độ cao hơn từ khoảng ngày thứ 2 đến ngày thứ 20 đã được

quan sát, nhưng qua theo dõi, các dược phẩm đã cho thấy nồng độ thuốc trong huyết tương ở trạng thái ổn định tương tự sau ngày thứ 20 trong khoảng từ 1,5 đến 4 ng/ml cho đến khoảng ngày thứ 60. Nồng độ naltrexon 0,5 ng/ml được duy trì trong khoảng 100 ngày.

Bảng 10. Tóm tắt dược phẩm đặc trưng trong cơ thể

Dược phẩm (F)	Nồng độ PLGA trong DCM hoặc EA (%w/w)	Nồng độ Naltrexon trong BA (% w/w)	Hệ dung môi pha hữu cơ	Mức liều (mg/ kg)	Độ tải thuốc (% w/w)	EE (%)
F. 12-1	20,0	38,6	DCM/BA	76	28,1	80,7
F. 12-2	20,0	32,1	DCM/BA	76	21,7	58,6
F. 12-3	20,0	38,6	DCM/BA	50	34,2	92,4
F.12-4	15,0	24,0	EA/BA	50	28,5	77,0
F.12-5	20,0	39,6	DCM/BA	50	36,1	80,2
F.12-6	20,0	44,0	DCM/BA	50	37,8	84,0
F. 12-7	20,0	30,0	DCM/BA	50	27,8	79,9

Tải lượng thuốc (% w/w) so với trọng lượng vi hạt.

Quy trình kiểm tra

Giải phóng Naltrexon trong ống nghiệm từ các dược phẩm thử nghiệm

Môi trường, 20 ml dung dịch muối đệm phosphat pH 7,4 chứa 0,05% Tween 20 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO) và 0,0625% (w/v) natri ascorbat (Sigma Aldrich, St. Louis, MO) và khoảng 5 mg mẫu kiểm tra được đặt trong bình Erlenmeyer 50 ml có nút đậy và được đặt trong nồi cách thủy 37°C có lắc 100 vòng/phút. Các mẫu được lấy ở các thời điểm khác nhau và được thay thế bằng môi trường giải phóng mới. Hàm lượng Naltrexon trong đệm được đo bằng Sắc ký lỏng Hiệu năng cao (HPLC).

HPLC pha đảo ngược để định lượng Naltrexon

HPLC có các điều kiện sau: Pha động: 65:35 metanol: đệm kali photphat, pH 6,6; tốc độ dòng chảy: 1,0 ml/phút; nhiệt độ bộ lấy mẫu tự động: nhiệt độ phòng; nhiệt độ cột: 30°C; phát hiện: 210 nm (UV); tổng thời gian chạy: 7 phút; thể tích tiêm mẫu: 10 µl; cột: Zorbax SB-C18 150 × 4,6 mm, 5 µm; thời gian lưu giữ gần đúng của naltrexon: 4,8 phút.

Nghiên cứu dược động học trong cơ thể

Tất cả các nghiên cứu tiền lâm sàng trên chuột đều được thực hiện trên chuột Sprague-Dawley. Ba đến năm con chuột cho mỗi được phẩm thử nghiệm được tiêm dưới da ở vùng gáy sau cổ hoặc vùng vai với liều naltrexon từ 50 mg/kg đến 100 mg/kg trong 1 ml dung dịch nước, bao gồm 0,9 % natri clorua, 0,02% Tween 20 và 0,5% natri cacboxymetylxenluloza.

Trong quá trình nghiên cứu, chuột đã được quan sát về độc tính và bất kỳ bất thường nào xuất hiện ở vị trí thử nghiệm, bao gồm mẩn đỏ, sưng tấy, chảy máu, tiết dịch, và bầm tím tại chỗ tiêm. Ngoài ra, trọng lượng cơ thể được cân và ghi lại khi thực hiện và khi kết thúc nghiên cứu.

Tại các thời điểm đã chọn, chuột được gây mê và lấy máu (khoảng 250 μ l) qua đuôi hoặc tĩnh mạch dưới hàm. Máu được thu thập trong các ống axit kali etylenglicol đã được dán nhãn. Máu được ly tâm trong 10 phút ở 4.000 vòng/phút ở 4°C. Phần huyết tương được chuyển vào các ống nhựa 1 ml được dán nhãn và được bảo quản ở -80°C trước khi phân tích.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm dạng vi hạt có thể tiêm được bao gồm vi hạt chứa naltrexon và poly(lactua-co-glycolua) với tỷ lệ lactua:glycolua là 85:15, trong đó naltrexon giải phóng kéo dài lâu hơn 4 tuần và lên đến 100 ngày.

2. Dược phẩm dạng vi hạt theo điểm 1, trong đó naltrexon giải phóng kéo dài trong khoảng 8 tuần đến khoảng 12 tuần.

3. Dược phẩm dạng vi hạt theo điểm 1, trong đó naltrexon ở dạng bazơ tự do, muối, solvat, đồng tinh thể hoặc hỗn hợp của chúng.

4. Dược phẩm dạng vi hạt theo điểm 1, trong đó naltrexon chiếm khoảng 20-40% trọng lượng (w/w) của vi hạt.

5. Dược phẩm dạng vi hạt theo điểm 1, trong đó poly(lactua-co-glycolua) có trọng lượng phân tử trung bình từ 50.000 đến 150.000 Dalton.

6. Dược phẩm dạng vi hạt theo điểm 1, trong đó vi hạt được sử dụng trong phương tiện dẫn thuốc tương thích sinh học, bao gồm phương tiện dẫn thuốc gốc nước, phương tiện dẫn thuốc gốc dầu, hoặc hỗn hợp của chúng.

7. Dược phẩm dạng vi hạt theo điểm 6, trong đó phương tiện dẫn thuốc gốc nước bao gồm chất tăng trương lực như natri clorua, chất tăng độ nhớt như natri cacboxymetylxenluloza, chất làm ướt như polysorbat, hoặc hỗn hợp của chúng.

8. Dược phẩm dạng vi hạt theo điểm 6, trong đó phương tiện dẫn thuốc gốc dầu bao gồm dầu lạc, dầu vừng, dầu hạt bông, hoặc hỗn hợp của chúng.

9. Dược phẩm dạng vi hạt theo điểm 1, trong đó vi hạt có kích thước hạt trong khoảng từ 25 đến 125 μm .

10. Phương pháp bào chế dược phẩm dạng vi hạt có thể tiêm được theo điểm 1, phương pháp này bao gồm:

(a) trộn pha thứ nhất bao gồm rượu polyvinyl và dung môi thứ nhất, và pha thứ hai bao gồm polyme phân hủy sinh học, naltrexon và dung môi thứ hai để chuẩn bị hỗn hợp; và

(b) thực hiện quy trình chiết hỗn hợp bằng nước hoặc dung dịch nước để thu được các vi hạt.

11. Phương pháp theo điểm 10, trong đó dung môi thứ nhất bao gồm ít nhất một dung môi được chọn từ nhóm bao gồm nước, rượu benzyl diclometan, và etyl axetat.

12. Phương pháp theo điểm 10, trong đó dung môi thứ hai bao gồm ít nhất một dung môi được chọn từ nhóm bao gồm diclometan, rượu benzyl, và etyl axetat.

13. Phương pháp theo điểm 10, trong đó dung dịch nước bao gồm ít nhất một dung dịch được chọn từ nhóm bao gồm rượu polyvinyl, diclometan, rượu benzyl và etyl axetat.

14. Phương pháp theo điểm 10, trong đó polyme phân hủy sinh học bao gồm polylactua, poly(lactua-co-glycolua), hoặc hỗn hợp của chúng, trong đó tỷ lệ lactua: glycolua của polyme phân hủy sinh học là 50:50 đến 100: 0.

15. Phương pháp theo điểm 10, trong đó phương pháp còn bao gồm thêm bước (c) thực hiện quy trình chiết tiếp theo đối với các vi hạt bằng dung dịch etanol sau bước (b) thực hiện quy trình chiết.

16. Phương pháp theo điểm 15, trong đó phương pháp còn bao gồm công đoạn sấy khô vi hạt, trong đó quá trình sấy khô được thực hiện sau bước (b) thực hiện quy trình chiết, sau bước (c) thực hiện quy trình chiết tiếp theo, hoặc sau mỗi bước (b) và (c).

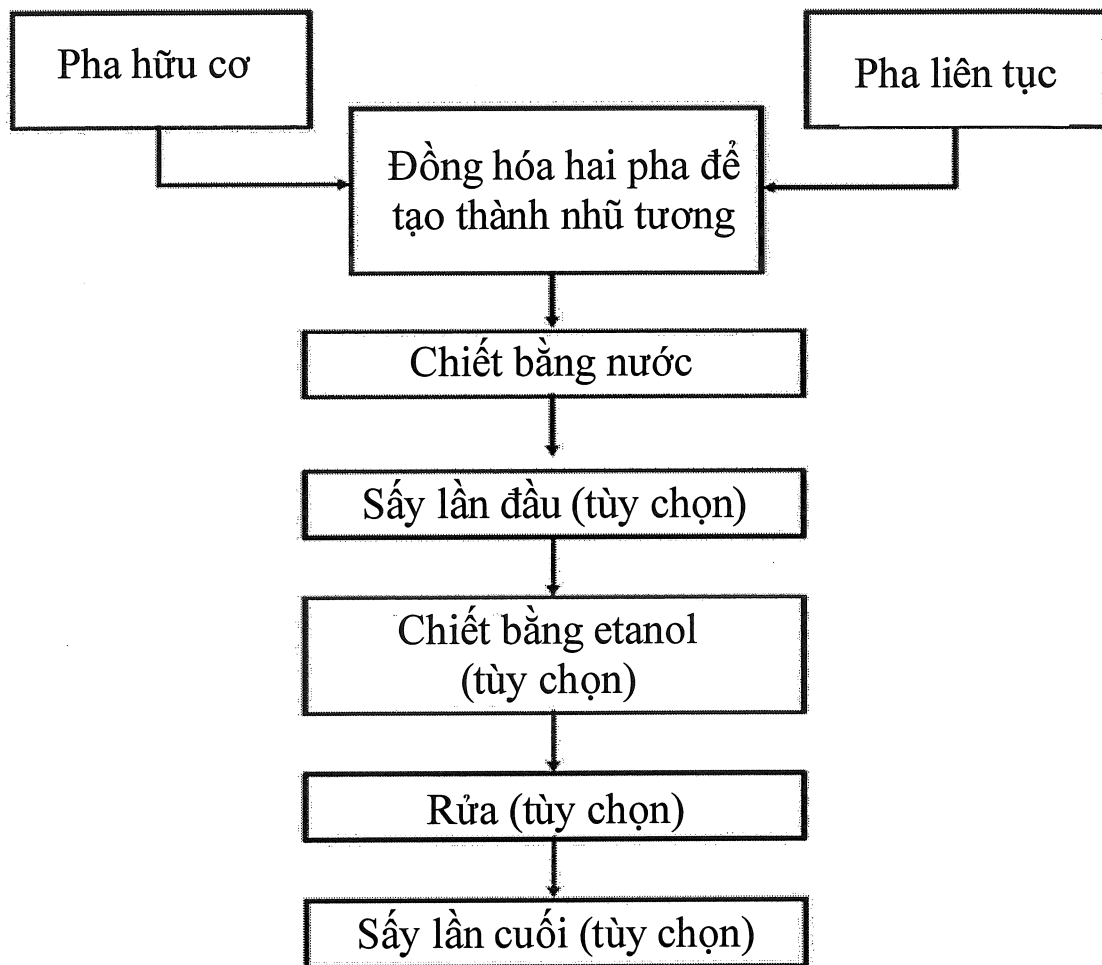


Fig.1

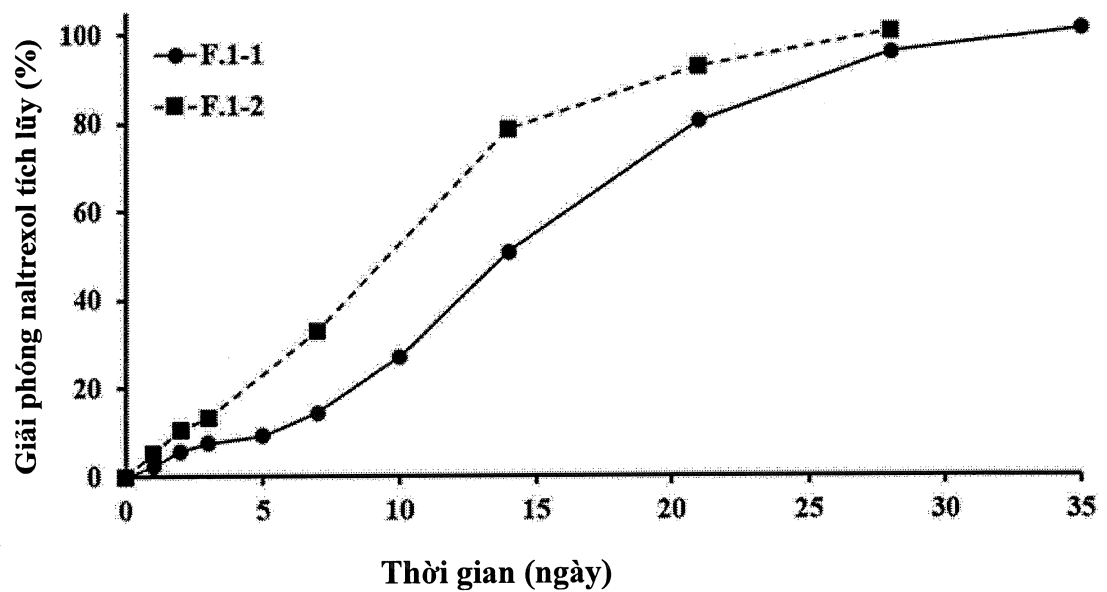


Fig.2A

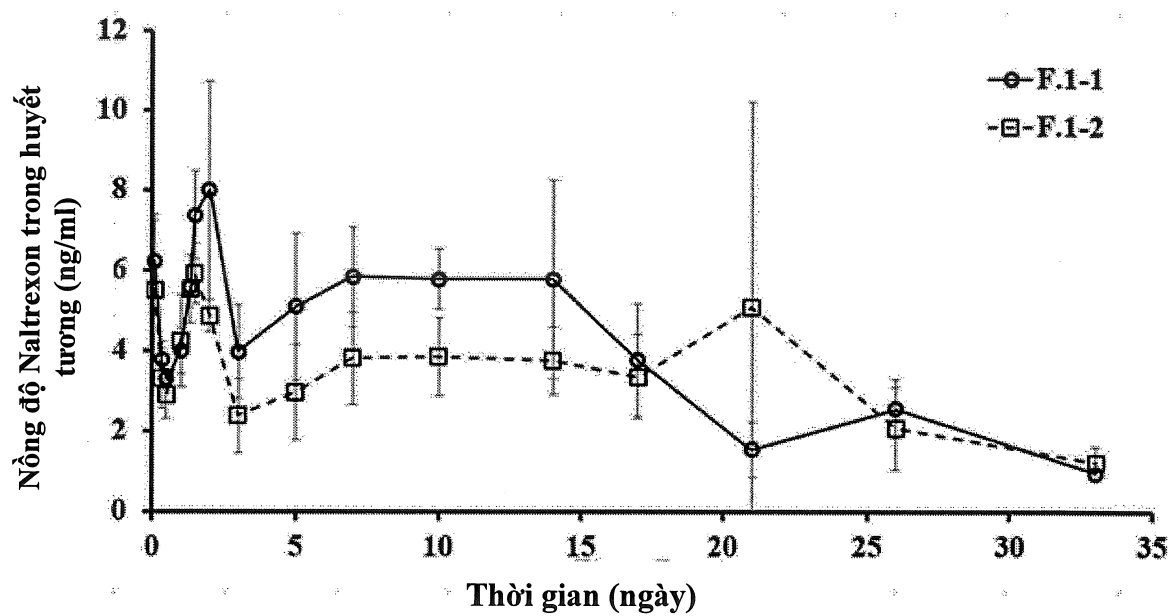


Fig.2B

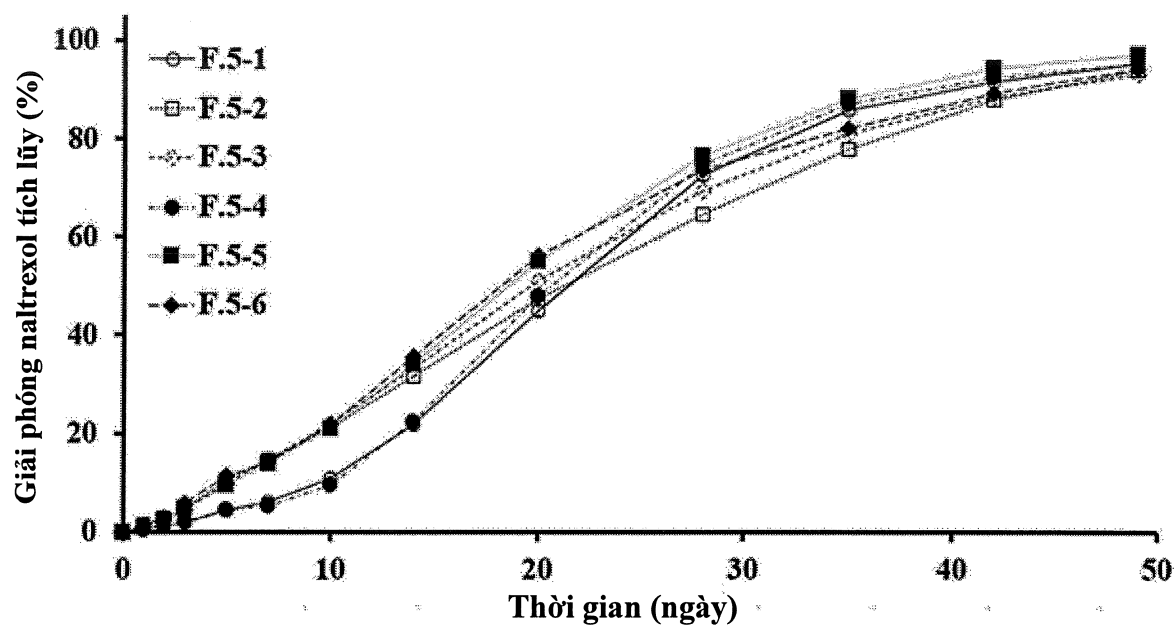


Fig.3

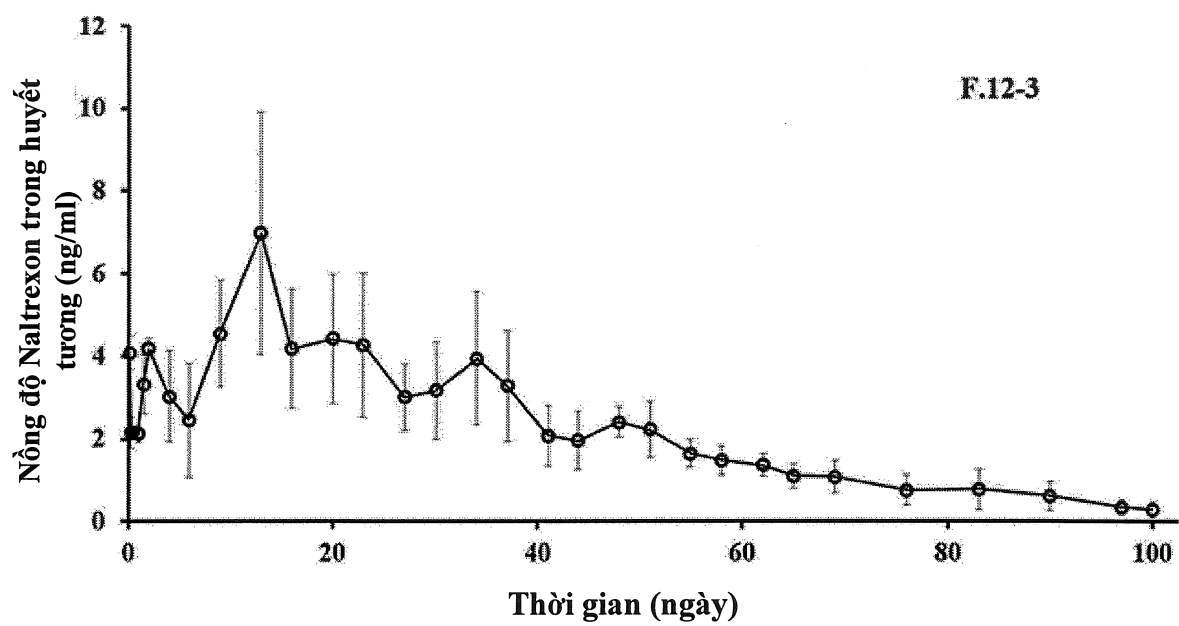


Fig.4A

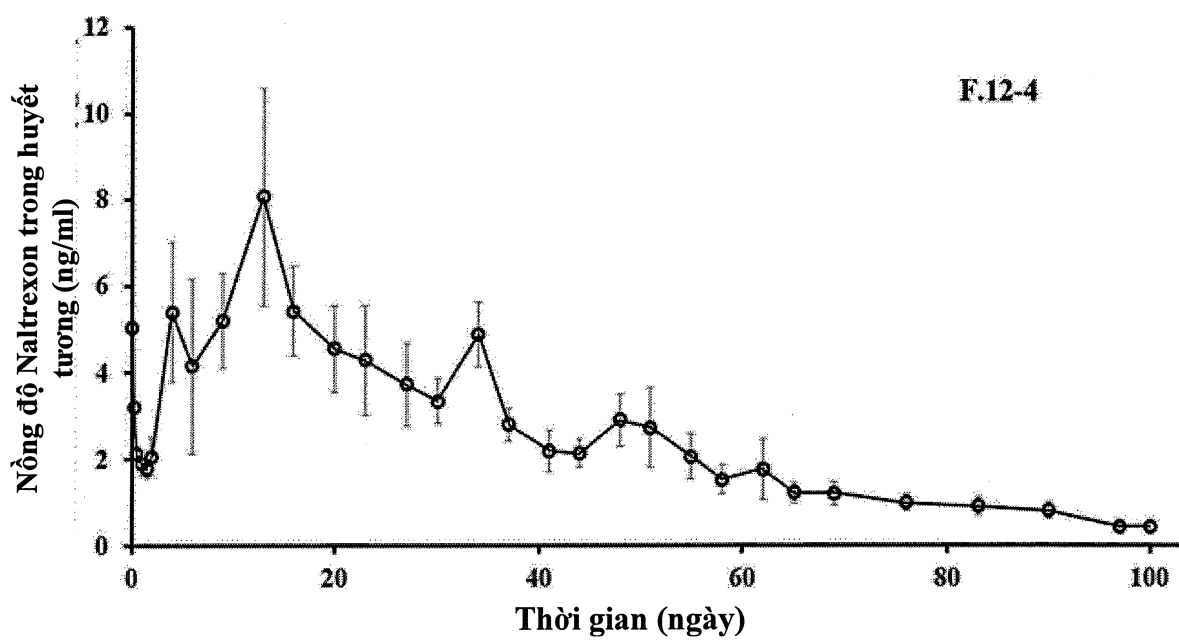


Fig.4B

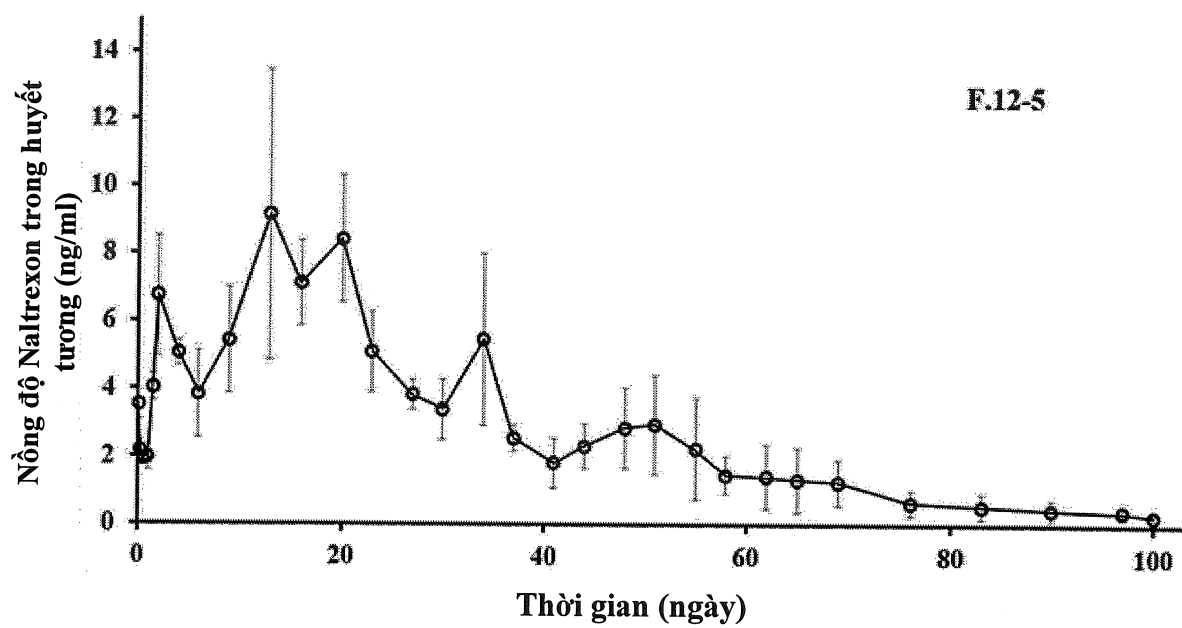


Fig.4C

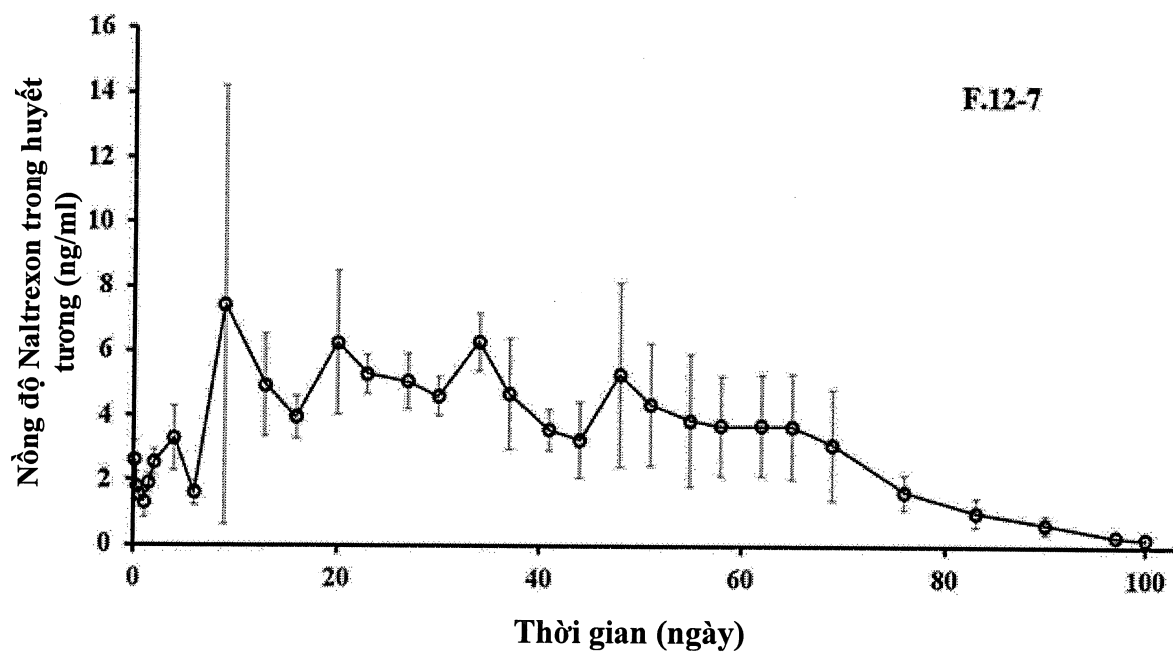


Fig.4D