



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

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

(11)



1-0053477

(51)^{2020.01} A61K 9/08; A61K 31/43; A61K
31/7048; A61P 31/04; A61K 47/38;
A61K 31/165; A61K 47/18

(13) B

(21) 1-2021-01823

(22) 05/09/2019

(86) PCT/IL2019/050998 05/09/2019

(87) WO2020/049570 12/03/2020

(30) 62/727,574 06/09/2018 US

(45) 25/11/2025 452

(43) 26/07/2021 400A

(73) YISSUM RESEARCH DEVELOPMENT COMPANY OF THE HEBREW
UNIVERSITY OF JERUSALEM LTD. (IL)
HiTech Park Edmond J Safra Campus Givat Ram P.O. Box 39135 9139002
Jerusalem (IL)

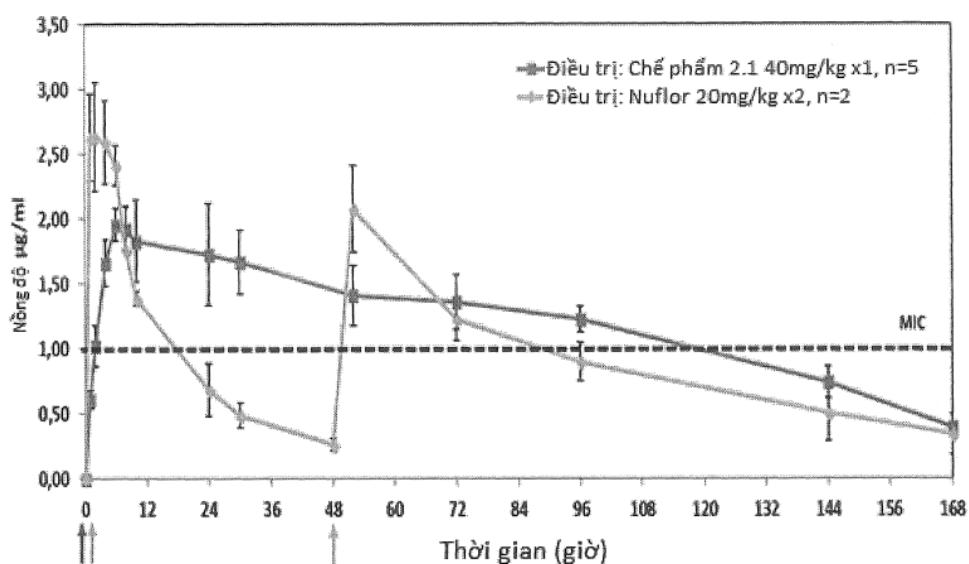
(72) FRIEDMAN, Michael (IL); KIRMAYER, David (IL); NUDELMAN, Zakhar (IL);
HOFFMAN, Amnon (IL); LAVY, Eran (IL); BAR-HAI, Ayala (IL); GATI, Irith
(IL).

(74) Công ty TNHH ASL LAW (ASL LAW CO.,LTD)

(54) CHẾ PHẨM KHÁNG SINH TIÊM GIẢI PHÓNG KÉO DÀI

(21) 1-2021-01823

(57) Sáng chế đề cập đến các hợp chất của thuốc kháng sinh tiêm dùng trong thú y. Các chế phẩm có điểm khác biệt là tạo thành gel ở nhiệt độ sinh lý động vật, gel này có điểm khác biệt ở đặc tính giải phóng kháng sinh kéo dài và có thể lặp lại. Các chế phẩm chứa nhiều thuốc trong dung dịch poloxame có bổ sung đồng dung môi, và tốt nhất là bổ sung dẫn xuất xenluloza ít nhất có thể hòa tan một phần trong dung môi hữu cơ. Sáng chế còn đề cập đến các phương pháp điều trị nhiễm trùng thú y.



HÌNH 3

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến công thức giải phóng kéo dài, và cụ thể hơn là công thức giải phóng kéo dài thích hợp cho kháng sinh hòa tan kém dùng trong thú y.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Uống thuốc được coi là con đường ưu tiên trong y học, song thường không khả thi trong thú y vì những lý do rõ ràng, đặc biệt khi lo ngại về động vật nuôi lớn. Vì những lý do tương tự, việc sử dụng thuốc đòi hỏi nhiều lần uống thường khó hoặc thậm chí không áp dụng được.

Thuốc giải phóng kéo dài sau khi sử dụng đường tiêm thường thích hợp hơn đường uống trong thú y và cho phép điều trị các động vật nuôi lớn (như gia súc) cũng như vật nuôi và các động vật khác. Giảm tần suất dùng thuốc được biết là để cải thiện sự an toàn của bệnh nhân, giảm tỷ lệ biến chứng tại chỗ tiêm và cải thiện việc tuân thủ các phác đồ dùng thuốc. Các công thức giải phóng kéo dài làm giảm tác dụng tiêm tĩnh mạch tại thời điểm tiêm, và do đó có ảnh hưởng lớn đến các tác dụng phụ của thuốc. Đối với một số cách sử dụng và điều trị dự phòng, việc sử dụng một lần hoặc sử dụng không thường xuyên đã trở thành quy trình tiêu chuẩn. Ví dụ, việc sử dụng hàng tháng có sẵn trong hầu hết các loại thuốc ngăn ngừa bệnh giun chỉ như thuốc Heartguard®, Sentinel® và thuốc Interceptor. Các công thức truyền giải phóng có kiểm soát có thể ở dạng chất lỏng, tạo thành chất rắn và chất rắn tại chỗ [Medlicott et al., Advanced Drug Delivery Reviews 2004, 56: 1345-1365]. Các sản phẩm giải phóng có kiểm soát qua đường tiêm bán chạy nhất bao gồm chất lợi sữa Posilac® (dạng hỗn dịch lỏng), thuốc kháng sinh Micotil® (dạng dung dịch lỏng), thuốc kháng sinh Nuflor® (dạng dung dịch lỏng) và chất tăng trưởng Revalor® (dạng thuốc cấy dạng rắn).

Trong những năm gần đây, các nghiên cứu liên quan đến việc sử dụng các poloxame trong các công thức giải phóng kéo dài đã được báo cáo. Các poloxame là chất đồng trùng hợp phân tử không ion bao gồm các khối poly (etylen oxit) (PEO) và poly (propylen oxit) tương đối kỵ nước (PPO) được sắp xếp theo cấu trúc ba khối A-B-A: PEO-PPO-PEO. Ví dụ, gel nước Poloxame được mô tả trong Bằng sáng chế Hoa Kỳ số 3,740,421. Các poloxame được sử dụng làm chất nhũ hóa cho nhũ tương chất béo trong tĩnh mạch, làm chất hòa tan để duy trì độ trong của các dạng thuốc lỏng và xi rô, và làm chất làm ướt cho nguyên liệu kháng khuẩn. Chúng cũng có thể được sử dụng trong các chất nền thuốc mỡ hoặc thuốc đạn và như chất kết dính hoặc chất phủ dạng viên [Sweetman (Ed.), Martindale: The Complete Drug Reference, London: Pharmaceutical Press]. Cân bằng kỵ nước-ưa béo (HLB) của poloxame có thể có điểm khác biệt là số lượng đơn vị etylen oxit và propylen oxit trong chất đồng trùng hợp. Do bản chất lưỡng tính của chúng, các chất đồng trùng hợp poloxame thể hiện các đặc tính hoạt động bề mặt, bao gồm khả năng tương tác với các bề mặt kỵ nước và màng sinh

học. Trong dung dịch nước ở nồng độ trên nồng độ mixen tới hạn (CMC), các chất đồng trùng hợp này tự tập hợp thành các mixen. Đường kính của các mixen poloxame thường thay đổi từ khoảng 10 nm đến 100 nm. Lõi của các mixen bao gồm các khối PPO kỵ nước được ngăn cách với lớp nước bên ngoài bởi lớp vỏ ngậm nước của các khối PEO. Lõi có khả năng kết hợp các thuốc thử điều trị hoặc chẩn đoán khác nhau [Bartrakova & Kabanov, Journal of Controlled Release 2008, 130:98-106]. Các poloxame thường được chỉ định bằng chữ P (cho "poloxame") theo sau là ba chữ số. Hai chữ số thứ nhất nhân với 100 chỉ ra khối lượng phân tử gần đúng của lõi PPO và chữ số cuối cùng nhân với 10 sẽ cho phần trăm PEO. Ví dụ, P407 là poloxame có khối lượng phân tử PPO là 4.000 Da, và hàm lượng PEO là 70%. Theo hệ thống chỉ định bổ sung (được sử dụng, ví dụ, kết hợp với các tên thương mại Pluronic® và Lutrol®), chất đồng trùng hợp được chỉ định bằng một chữ cái xác định dạng vật lý của nó ở nhiệt độ phòng, L cho chất lỏng, P cho bột nhão, F cho vảy (đặc), theo sau là hai hoặc ba chữ số. Chữ số thứ nhất (hoặc hai chữ số thứ nhất trong số có ba chữ số) nhân với 300, chỉ ra trọng lượng phân tử gần đúng của khối kỵ nước và chữ số cuối cùng nhân với 10 sẽ cho phần trăm polyetylen oxit (PEO). Ví dụ, L61 là poloxame lỏng có khối lượng phân tử PPO là 1.800 Da và hàm lượng PEO 10%, sẽ được ký hiệu là P181 theo hệ thống chỉ định được mô tả ở trên.

Đơn đăng ký sáng chế Hoa Kỳ số 20090214685 mô tả chế phẩm được nóng dẻo bao gồm độc tố botulinum và chất poloxame tương thích sinh học. Chế phẩm được có thể được sử dụng dưới dạng chất lỏng và gel sau khi sử dụng vào hệ thống phân phối thuốc giải phóng kéo dài mà từ đó độc tố botulinum được giải phóng trong khoảng thời gian nhiều ngày. Bằng sáng chế Hoa Kỳ số 7,008,628 mô tả chế phẩm được bao gồm chất đồng trùng hợp khối tuyến tính như poloxame, được biến đổi cuối bởi polyme bám dính sinh học như axit polyacrylic. Polyme có khả năng kết tụ khi nhiệt độ tăng lên. Bằng sáng chế Hoa Kỳ số 7,250,177 mô tả các chất poloxamet tạo gel được sửa đổi với một nhóm có thể liên kết chéo như acrylat, nhóm này có thể được liên kết chéo để tạo thành gel nhạy cảm với nhiệt và ưa béo hữu ích cho việc phân phối thuốc hoặc phủ mô. Tình trạng kỹ thuật bổ sung bao gồm Bằng sáng chế Hoa Kỳ số 5,035,891 và US 2004/0247672. Đơn đăng ký sáng chế quốc tế WO 2012131678, đối với một số tác giả sáng chế, đề cập đến các công thức giải phóng kéo dài bao gồm các chất phân cực ở dạng huyền phù hoặc dạng khác của hoạt chất chưa được phân giải, sao cho các công thức được bộc lộ cho phép sử dụng lượng hoạt chất cao hơn trong sử dụng một lần, trong khi duy trì thể tích chấp nhận được của liều đã dùng.

Florfenicol là chất kháng sinh phổ rộng thông dụng, được sử dụng để điều trị Bệnh đường hô hấp ở lợn (SRD) trong số các cách sử dụng khác. Các sản phẩm thú y đã được phê duyệt của florfenicol bao gồm các công thức tiêm thường chứa 300 mg/ml. Một trong những sản phẩm đã được phê duyệt như vậy cho công thức thuốc tiêm dùng trong thú y được hòa tan trong dung môi hữu cơ N-metyl pyrrolidon (NMP).

Một số công thức để giải phóng kéo dài florfenicol đã được bộc lộ trước đây, bao gồm Đơn đăng ký sáng chế của Trung Quốc số CN103202802, hướng đến các công thức giải phóng kéo dài bao gồm các poloxame và polysaccharid. Sáng chế đề cập đến một số polysaccharit khác nhau và lượng tải khác nhau của hoạt chất florfenicol trong các công thức nói trên. Một nghiên cứu được động học về gel tạo thành tại chỗ để phân phối florfenicol có kiểm soát ở lợn đã được bộc lộ trong Geng et. al. [J. vet. Pharmacol. Therap. 38, 596-600], và chứng minh sự gia tăng thời gian bán thải của florfenicol trong huyết tương động vật khi sử dụng 20% gel nạp dựa trên các poloxame và polysaccharit dựa trên xenluloza.

Trong lĩnh vực kỹ thuật, cần phải cung cấp các công thức kháng sinh dạng tiêm có thể giải phóng thuốc một cách có kiểm soát trong khoảng thời gian kéo dài. Trong lĩnh vực kỹ thuật này còn cần thêm những công thức như vậy có thể duy trì thành công mức nồng độ ức chế cực tiểu đối với nhiều loại mầm bệnh thú y. Trong lĩnh vực kỹ thuật này, vẫn còn nhu cầu về việc cung cấp các công thức kháng sinh có lượng tải thuốc cao, ví dụ: trên 25% đến khoảng 50%, vẫn được tiêm qua ống tiêm thông thường.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Tính kéo dài của công thức giải phóng kéo dài và ảnh hưởng đã đề cập ở trên đến tính kéo dài đối với đặc tính giải phóng tác nhân hoạt tính trong sinh vật đích theo thời gian là một yếu tố quan trọng, trong nhiều trường hợp được chứng minh là sự cân bằng tinh tế giữa các thành phần khác nhau trong công thức. Một điều đáng ngạc nhiên là việc sử dụng sự kết hợp của poloxame, dung môi hữu cơ và tùy chọn là dẫn xuất xenluloza, ít nhất có thể hòa tan một phần trong dung môi hữu cơ, trong công thức giải phóng kéo dài của chất kháng khuẩn làm phát sinh công thức phân tán tiêm kéo dài, với đặc tính giải phóng kéo dài và có thể lặp lại, cả trong ống nghiệm và trong cơ thể. Do đó, theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến chế phẩm bao gồm chất chống vi khuẩn hòa tan kém, ít nhất một poloxame, dung môi hữu cơ và dẫn xuất xenluloza hòa tan ít nhất một phần trong dung môi hữu cơ và môi trường nước, trong đó chế phẩm này có thể tiêm được. Một điều đáng ngạc nhiên nữa là khi tải rất cao nguyên liệu hoạt tính, ví dụ: trên 35% trọng lượng hoặc 40% trọng lượng, sự kết hợp giữa poloxame và dung môi hữu cơ trong nước có thể đủ để tạo ra công thức thuốc tiêm có đặc tính giải phóng kéo dài và có thể lặp lại. Do đó, theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm bao gồm chất chống vi khuẩn, ít nhất một chất poloxame, dung môi hữu cơ và môi trường nước, trong đó nồng độ của chất kháng khuẩn này là trên 35% trọng lượng đến trên 40% trọng lượng, và trong đó chế phẩm này có thể tiêm được.

Do đó, sáng chế đề cập đến chế phẩm được bao gồm chất có hoạt tính sinh học, poloxame, chất mang dạng nước và đồng dung môi hữu cơ, trong đó chế phẩm này là chế phẩm có thể tiêm ở nhiệt độ phòng, với điều kiện mà trong đó nồng độ hoạt chất nói trên là dưới 35% trọng lượng, chế phẩm còn bao gồm nguyên liệu gốc xenluloza, ít

nhất có thể hòa tan một phần trong dung môi hữu cơ. Theo một phương án, khi nồng độ của thuốc trên 35% trọng lượng, ví dụ: từ 35% trọng lượng và lên đến 50% hoặc 55% trọng lượng, nguyên liệu gốc xenluloza được bao gồm trong chế phẩm. Theo các phương án khác, khi nồng độ của thuốc trên 35% trọng lượng, ví dụ: từ 35% trọng lượng và đến 50 hoặc 55% trọng lượng, chế phẩm không có nguyên liệu gốc xenluloza, ví dụ từ 40% trọng lượng đến 50% trọng lượng, hoặc từ 42,5% trọng lượng đến 50% trọng lượng, hoặc từ 45% trọng lượng đến 50% trọng lượng. Sáng chế còn đề cập đến chế phẩm được bao gồm chất có hoạt tính sinh học, poloxame, chất mang dạng nước, đồng dung môi hữu cơ và nguyên liệu gốc xenluloza, ít nhất có thể hòa tan một phần trong dung môi hữu cơ, trong đó chế phẩm này là chế phẩm có thể tiêm ở nhiệt độ phòng, và trong đó nồng độ của chất có hoạt tính sinh học này là trên 10% trọng lượng và lên đến 35% trọng lượng. Chất có hoạt tính sinh học có thể được chọn từ các chất florfenicol, lincomyxin, tylosin, metronidazol, tilmicosin, spiramixin, erythromyxin, tulathromyxin, tiamulin, ampixillin, amoxixillin, axit clavulanic, penixillin, streptomycin, trimethoprim, sulfonamit, sulfamethoxazol, pleuromutilin, avilosin, tylvalosin, doxyxycilin, và oxytetraoxycilin. Tốt hơn là, chất có hoạt tính sinh học là florfenicol. Tốt hơn nữa, florfenicol có thể có trong chế phẩm với hàm lượng nằm trong khoảng từ 25% trọng lượng đến khoảng 50% trọng lượng. Đồng dung môi hữu cơ có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến khoảng 15% trọng lượng. Nguyên liệu gốc xenluloza hòa tan ít nhất một phần trong dung môi hữu cơ có thể là hydroxypropyl xenluloza. Dung môi hữu cơ có thể được chọn từ nhóm bao gồm N-metyl pyrrolidon (NMP), dimetyl sulfoxit (DMSO), PEG 400, propylen glycol và etanol. Tốt hơn là dung môi hữu cơ là N-metyl pyrrolidon. Theo một số phương án tốt hơn, chế phẩm được bao gồm dung môi hữu cơ là N-metyl pyrrolidon, và nguyên liệu gốc xenluloza có thể hòa tan ít nhất một phần trong dung môi hữu cơ là hydroxypropyl xenluloza, và chất có hoạt tính sinh học là florfenicol ở nồng độ giữa 25 trọng lượng và 50 trọng lượng%. Theo một số phương án tốt hơn khác, chế phẩm được bao gồm dung môi hữu cơ là N-metyl pyrrolidon, và florfenicol có nồng độ từ 35% trọng lượng đến 50% trọng lượng. Cũng được cung cấp ở đây chế phẩm được như được định nghĩa ở đây để sử dụng trong điều trị nhiễm trùng thú y ở động vật không phải là người bằng cách cho động vật đó dùng một liều kháng sinh có hiệu quả về mặt dược lý trong chế phẩm này. Tốt hơn là, chế phẩm được sử dụng một lần cho động vật không phải người nói trên trong mỗi đợt điều trị. Tốt hơn nữa là, việc sử dụng bao gồm tiêm bắp hoặc tiêm dưới da. Theo một số phương án, nhiễm trùng có thể do mầm bệnh ở lợn gây ra.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 thể hiện sơ đồ các đặc tính giải phóng của florfenicol từ các chế phẩm đã chọn.

Hình 2 thể hiện sơ đồ các đặc tính giải phóng của florfenicol dưới dạng tác dụng của dung môi hữu cơ được thêm vào.

Hình 3 thể hiện nồng độ florfenicol trong huyết tương sau khi sử dụng một lần chế phẩm theo sáng chế, so với hai lần sử dụng sản phẩm thương mại.

Hình 4 thể hiện nồng độ florfenicol trong huyết tương sau khi sử dụng một lần các chế phẩm khác theo sáng chế, so với hai lần sử dụng sản phẩm thương mại.

Mô tả chi tiết sáng chế

Như đã mô tả ở trên, hợp chất giải phóng kéo dài theo sáng chế bao gồm tác nhân sinh học hoạt tính. Theo một số phương án, tác nhân sinh học này tốt hơn là chất kháng khuẩn, chất này thể hiện khả năng hòa tan kém trong môi trường nước. Độ hòa tan kém có thể được hiểu như đã định nghĩa, ví dụ: trong Dược điển Hoa Kỳ (United States Pharmacopeia) hiện hành, nhưng có thể được hiểu rõ hơn trong ngữ cảnh của công thức, như được giải thích chi tiết hơn bên dưới. Theo phương án có liên quan, chất kháng khuẩn được sử dụng trong hợp chất giải phóng kéo dài theo sáng chế được chọn từ nhóm bao gồm florfenicol, lincomyxin, tylosin, metronidazol, tilmicosin, spiramycin, erythromycin, tulathromycin, tiamulin, ampicillin, amoxicillin, axit clavulanic, penicillin, streptomycin, trimethoprim, sulfonamid, sulfamethoxazol, pleuromutilin, avilosin, tylvalosin, doxycyclin và oxytetracyclin. Theo một số phương án hiện tốt hơn, chất kháng khuẩn là florfenicol.

Theo các nguyên tắc của sáng chế, lượng tải (tức là lượng hoạt chất sinh học hoặc chất kháng khuẩn được đưa vào ở dạng liều tiêm) là cao, cho phép giải phóng kéo dài và có kiểm soát trong vài ngày. Trong số các yếu tố khác, lượng tải nhiều chế phẩm tiêm theo sáng chế được thúc đẩy bởi có công thức chứa tác nhân hoạt tính sinh học có thể ở dạng không hòa tan, do đó tạo thành sự phân tán trong môi trường nước. Theo nguyên tắc của sáng chế, chất kháng khuẩn được phân tán trong công thức, ở một mức độ nào đó, là ở dạng rắn. Tốt hơn là hơn 90% thuốc ở dạng không hòa tan, nhưng thuốc có thể lên tới 99,999% ở dạng không hòa tan. Dạng không hòa tan của thuốc thường bao gồm các hợp chất bazơ, hoặc các muối đặc biệt có độ hòa tan trong nước thấp, ngay cả khi có thể biết đến loại muối hòa tan tốt hơn.

Tùy thuộc vào đặc tính trạng thái rắn của tác nhân hoạt tính, lượng tải có thể khác nhau. Khi thuốc dễ dàng tương tác với môi trường nước hoặc với poloxame hoặc các tác nhân hoạt tính bề mặt khác, nó có thể tạo thành hỗn hợp nhão, tức là chế phẩm không dễ dàng hấp thụ bằng ống tiêm (không dùng được ống tiêm) và/hoặc không tiêm được, ở mức lượng tải cao. Trong những trường hợp này, các loại thuốc như vậy có thể được sử dụng ở các giá trị lượng tải khá thấp, ví dụ: từ 12% đến 20% trọng lượng, nhưng thường tốt hơn là lượng tải thuốc cao. Do đó, theo một số phương án, tải ít nhất là khoảng 20% trọng lượng của chế phẩm tiêm.

Theo một số phương án khác, lượng tải nằm trong khoảng từ 25 đến khoảng 30% trọng lượng của chế phẩm tiêm. Theo một số phương án khác, lượng tải ít nhất là khoảng 30% trọng lượng của chế phẩm tiêm. Theo một số phương án khác, lượng tải

nằm trong khoảng từ 30% đến khoảng 45% trọng lượng của chế phẩm tiêm. Theo một số phương án khác, lượng tải nằm trong khoảng từ 35% đến khoảng 50% trọng lượng của chế phẩm tiêm. Theo một số phương án, lượng tải nằm trong khoảng từ 30% đến 35% trọng lượng của chế phẩm tiêm. Theo một số phương án cụ thể, khi chất có hoạt tính sinh học là florfenicol, lượng tải florfenicol được sử dụng cho các ứng dụng cụ thể có thể nằm trong khoảng từ 25% đến 50% trọng lượng, như từ 28% đến 32% trọng lượng, hoặc từ 36% đến 42% trọng lượng, hoặc từ 44% đến 48% trọng lượng.

Chất có hoạt tính sinh học tạo thành sự phân tán trong môi trường nước với đồng dung môi. Điều này được hiểu rằng chất có hoạt tính sinh học phải ở dạng rắn, ví dụ: bột. Bột có thể ở dạng tập hợp, hạt hoặc bột phủ, nhưng tốt nhất là bột là bột được chất nhỏ, có phân bố cỡ hạt xác định. Theo một số phương án tốt hơn, bột có kích thước hạt nhỏ hơn khoảng 90 micron, tốt hơn là nhỏ hơn khoảng 50 micron. Đôi khi cũng có thể có lợi khi sử dụng kích thước hạt nhỏ hơn, hoặc thậm chí là bột vi mô. Không bị ràng buộc bởi lý thuyết, bột có kích thước hạt nhỏ hơn được tin là có thể làm tăng nồng độ đỉnh trong huyết tương thu được từ công thức trong cơ thể, so với bột thuốc thông thường, ngay cả khi trong ống nghiệm, sự khác biệt sẽ nhỏ hoặc không đáng kể. Bột hoặc bột đã được vi mô hóa với kích thước hạt nhỏ hơn có thể thu được trực tiếp từ bột của hoạt chất sinh học, như thường được biết đến trong lĩnh vực này, ví dụ bằng cách nghiền va đập hoặc cắt mạnh, sàng dưới áp lực và theo những cách khác.

Theo một số phương án tốt hơn, nguyên liệu có hoạt tính sinh học hoặc chất kháng khuẩn được giải phóng khỏi gel được tạo thành tại chỗ của chế phẩm theo sáng chế trong ít nhất 3 ngày. Theo một số phương án khác, nguyên liệu được giải phóng trong khoảng từ 2 ngày đến 3 ngày. Theo một số phương án khác, nguyên liệu được giải phóng trong khoảng từ 4 ngày đến 5 ngày. Theo một số phương án, nguyên liệu được giải phóng trong hơn 5 ngày liên tục từ chế phẩm tiêm một lần theo sáng chế. Do đó, sự giải phóng có thể được mô tả theo thời hạn giải phóng hơn là bất kỳ tỷ lệ cụ thể nào. Thời gian giải phóng trong cơ thể có thể được phát hiện trong huyết tương khi nồng độ thuốc duy trì ở mức đáng kể theo thời gian. Theo phương án khác, khoảng thời gian giải phóng trong cơ thể có thể được phát hiện trong cơ quan hoặc mô đích khi nồng độ thuốc duy trì ở mức đáng kể theo thời gian. Đặc biệt, trong trường hợp hoạt chất là kháng sinh, thời gian giải phóng có thể được phát hiện trong huyết tương và nồng độ thu được có thể được so sánh với nồng độ ức chế cực tiểu của kháng sinh đối với các mầm bệnh cụ thể. Trong ống nghiệm, do duy trì các điều kiện chìm, thời gian giải phóng thuốc có thể từ khoảng 12 giờ đến khoảng 3 ngày, ví dụ: trong các điều kiện như được mô tả trong phần Ví dụ bên dưới.

Theo một số nguyên tắc của sáng chế, sự kết hợp thuận lợi của đồng dung môi hữu cơ, poloxame trong môi trường nước và dẫn xuất xenluloza có ít nhất một phần hòa tan trong dung môi hữu cơ, làm tăng hiệu ứng hiệp đồng, cho phép sự giải phóng kéo dài và có kiểm soát của hoạt chất sinh học, trong vài ngày. Hàm lượng thuốc trong

các công thức chứa dẫn xuất xenluloza như vậy có thể thấp tới khoảng 5% trọng lượng, hoặc khoảng 10% trọng lượng. Tuy nhiên, tùy thuộc vào đặc tính trạng thái rắn của kháng sinh, lượng thuốc có thể cao tới 35% trọng lượng, hoặc 40% trọng lượng, hoặc 45% trọng lượng, hoặc 47,5% trọng lượng, hoặc thậm chí 50% trọng lượng. Hơn nữa, khi hoạt chất có mặt ở nồng độ trên 35% trọng lượng, người ta đã bất ngờ nhận thấy rằng động học giải phóng thuốc tương đối kéo dài và lặp lại có thể đạt được từ các chế phẩm chứa poloxame, nước và dung môi hữu cơ như được định nghĩa ở đây. Trong khi sự hiện diện của dẫn xuất xenluloza ít nhất hòa tan một phần trong dung môi hữu cơ được cho là có lợi ngay cả khi tải thuốc cao, thì các đặc tính giải phóng không có tá dược đủ phù hợp một cách đáng ngạc nhiên để đáp ứng các yêu cầu của Dược điển Hoa Kỳ hiện hành về tính biến đổi của giải phóng thuốc của các dạng điều chế giải phóng có kiểm soát. Tuy nhiên, khi lượng thuốc dưới 35% trọng lượng, tốt hơn hết là chế phẩm chứa dẫn xuất xenluloza như mô tả bên dưới.

Theo một số phương án, poloxame như được mô tả ở trên được chọn từ nhóm bao gồm poloxame 407, poloxame 188, poloxame 237 và poloxame 338, và sự kết hợp các chất này. Theo một số phương án hiện tốt hơn, poloxame như được mô tả ở trên là poloxame 407.

Sự có mặt của poloxame cho phép chế phẩm tạo gel dưới nhiệt độ sinh lý, và do đó, poloxame phải tồn tại ở nồng độ thích hợp trong chế phẩm tiêm để cho phép tạo gel kéo dài, đặc biệt là khi có một lượng lớn chất chưa hòa tan bột của tác nhân hoạt tính. Theo đó, nồng độ của poloxame như được mô tả ở trên là trên 8 phần trăm trọng lượng so với tổng trọng lượng của chế phẩm. Tùy thuộc vào bản chất của thuốc, ví dụ: kích thước hạt, độ hòa tan của thuốc, ái lực của nó với poloxame và khi tải thuốc, lượng poloxame có thể thấp từ 7% đến 9% trọng lượng và lên đến 16% đến 20% trọng lượng.

Tác dụng hiệp đồng của một số phương án của sáng chế đạt được bằng cách kết hợp poloxame nói trên với sự kết hợp duy nhất của dung môi hữu cơ và dẫn xuất xenluloza, ít nhất có thể hòa tan một phần trong dung môi hữu cơ. Sự tương thích hóa học giữa dẫn xuất xenluloza và dung môi hữu cơ, và tỷ lệ giữa hai thành phần này xác định, cùng với nồng độ poloxame, đặc tính giải phóng của hoạt chất sinh học. Không bị ràng buộc bởi bất kỳ cơ chế hoặc lý thuyết nào, người ta thừa nhận rằng trong khi dung môi hữu cơ có thể làm tăng khả năng hòa tan của hoạt chất sinh học, nó cũng làm chậm tốc độ giải phóng của hoạt chất nói trên khỏi chế phẩm dạng gel trong các điều kiện sinh lý, do ảnh hưởng của nó đối với gel. Người ta thừa nhận rằng ít nhất đối với một số loại thuốc, việc bổ sung dẫn xuất xenluloza như được mô tả ở trên có thể gây ra sự gia tăng tốc độ giải phóng hoạt chất sinh học và dung môi hữu cơ góp phần làm giảm sự thay đổi trong đặc tính giải phóng tổng thể hơn thời gian. Mặc dù khối lượng phân tử của dẫn xuất xenluloza được sử dụng có thể được lựa chọn theo các đặc tính lưu biến yêu cầu và đặc tính giải phóng dự kiến, theo một số phương án của sáng chế, tỷ lệ nồng độ giữa dẫn xuất xenluloza này và dung môi hữu cơ nói trên thường có thể là

trong khoảng từ 1:6 đến khoảng 1:20. Khi thuốc có trong lượng đặc biệt cao, ví dụ: trên 35% trọng lượng đến trên 40% trọng lượng, tỷ lệ nồng độ giữa dẫn xuất xenluloza và dung môi hữu cơ nói trên có thể nằm trong khoảng 1:10 đến khoảng 1:100.

Dẫn xuất xenluloza hòa tan ít nhất một phần trong dung môi hữu cơ thường hòa tan ở một mức độ đáng kể trong các dung môi hữu cơ chế phẩm được thông thường, ví dụ: trong etanol. Tốt hơn là, dẫn xuất thích hợp tạo thành dung dịch trong khi hòa tan, ví dụ: 1 gam dẫn xuất trong 100 mL etanol 96% ở nhiệt độ phòng. Một dẫn xuất xenluloza thích hợp có thể hòa tan ít nhất một phần trong dung môi hữu cơ là hydroxypropyl xenluloza. Hydroxypropyl xenluloza có một đặc tính hữu ích nữa là nó cũng hòa tan cao trong dung dịch nước ở nhiệt độ phòng và trở nên ít hòa tan hơn khi nhiệt độ tăng. Không bị ràng buộc bởi bất kỳ lý thuyết hoặc cơ chế hoạt động nào, có thể giả định rằng khi tiêm chế phẩm theo sáng chế vào động vật, độ hòa tan của hydroxypropyl xenluloza giảm, do đó góp phần vào sự kéo dài của gel được tạo thành, dẫn đến tốt hơn kiểm soát việc giải phóng hoạt chất sinh học.

Theo một số phương án liên quan, nồng độ của dẫn xuất xenluloza như được mô tả ở trên nằm trong khoảng từ 0,5% trọng lượng đến khoảng 1,5% trọng lượng tổng trọng lượng của chế phẩm tiêm. Theo một số phương án khác, nồng độ dẫn xuất xenluloza nằm trong khoảng từ 0,5% đến khoảng 1% trọng lượng. Khi thuốc hiện diện với lượng tải cao, ví dụ: trên 40%, nồng độ dẫn xuất xenluloza có thể nằm trong khoảng 0,05% đến khoảng 0,7% trọng lượng.

Theo một số phương án, dung môi hữu cơ như được mô tả ở trên được chọn từ nhóm bao gồm N-metyl pyrrolidon (NMP), dimetyl sulfoxit (DMSO), PEG 400, propylen glycol và etanol. Theo một số phương án hiện tốt hơn, dung môi hữu cơ là NMP.

Theo một số phương án liên quan, nồng độ của dung môi hữu cơ như được mô tả ở trên nằm trong khoảng từ 1,5% trọng lượng đến khoảng 20% trọng lượng tổng trọng lượng của chế phẩm tiêm. Theo một số phương án khác, nồng độ dung môi hữu cơ nằm trong khoảng từ 3% đến 15% trọng lượng. Theo một số phương án khác, nồng độ dung môi hữu cơ nằm trong khoảng từ 8% đến 12% trọng lượng.

Theo các phương án có liên quan khác, ít nhất một poloxame, dung môi hữu cơ và dẫn xuất xenluloza, được hòa tan trong môi trường nước. Môi trường nước thường là nước, tùy chọn bao gồm các chất phụ gia hòa tan hơn nữa, như muối và/hoặc chất đệm. Lượng môi trường nước trong chế phẩm thường là phần còn lại từ 100% chế phẩm khi trừ đi phần trăm tương ứng của hoạt chất sinh học, ít nhất một poloxame, dẫn xuất xenluloza, đồng dung môi, và các tá dược khác nếu đã sử dụng. Các muối có thể bao gồm natri clorua, canxi clorua hoặc magie clorua, và các chất đệm có thể bao gồm muối mono-, di- hoặc tri- bazơ của kim loại kiềm và các phosphat.

Trong khi tác dụng hiệp đồng có thể có đối với đồng dung môi, dẫn xuất xenluloza ít nhất hòa tan một phần trong dung môi hữu cơ và poloxame trong môi trường nước rõ ràng là có lợi, khi thuốc có mặt ở mức tải rất cao, ví dụ trên 35% trọng lượng đến trên 40% trọng lượng, ảnh hưởng của dẫn xuất xenluloza đến sự kéo dài của hệ thống có thể trở nên ít cần thiết hơn để thu được chế phẩm được dụng, ví dụ thể hiện đặc tính giải phóng với độ lệch chuẩn tương đối trong các giá trị của nồng độ tại mỗi thời điểm dưới 10%. Như được thể hiện trong các ví dụ dưới đây, ví dụ: việc bỏ sót hydroxypropyl xenluloza từ công thức florfenicol ở tải lượng 47,5% trọng lượng dẫn đến hiệu ứng bùng nổ nhẹ với sự gia tăng của độ lệch chuẩn tương đối (RSD) tại các thời điểm ban đầu, nhưng cũng ở mức giải phóng có thể chấp nhận được.

Theo các nguyên tắc của sáng chế, công thức đạt được là công thức kéo dài và có thể tiêm ở nhiệt độ phòng (ví dụ từ 15 °C đến 25 °C), hoặc ở nhiệt độ lạnh (ví dụ từ 2 °C đến 8 °C), khi tiêm vào cơ thể động vật (ví dụ có nhiệt độ trên 35 °C) sẽ chuyển thành dạng gel, có đặc điểm là có đặc tính giải phóng có thể tái sản xuất và được kiểm soát tốt của hoạt chất sinh học được kết hợp trong đó.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp điều chế các công thức giải phóng kéo dài có thể tiêm bao gồm chất chống vi khuẩn, ít nhất một poloxame, một dung môi hữu cơ và một dẫn xuất xenluloza mà ít nhất có thể hòa tan một phần trong dung môi hữu cơ, trong môi trường nước, có các bước: 1) trộn nước và dung môi hữu cơ (được gọi là đồng dung môi) và tốt hơn là làm lạnh hỗn hợp thu được, 2) thêm liên tục hoặc đồng thời ít nhất một poloxame và dẫn xuất xenluloza nói trên vào hỗn hợp [lạnh] ở bước 1, tiếp theo là trộn cho đến khi hòa tan; và 3) thêm chất kháng khuẩn vào hỗn hợp thu được.

Theo một số phương án, dung môi hữu cơ như được mô tả ở trên được chọn từ nhóm bao gồm N-metyl pyrrolidon (NMP), DMSO, PEG 400, propylen glycol và etanol. Theo một số phương án hiện tốt hơn, dung môi hữu cơ là NMP.

Theo một số phương án, poloxame như được mô tả ở trên được chọn từ nhóm bao gồm poloxame 407, poloxame 188, poloxame 237, poloxame 338 và hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án hiện tốt hơn, poloxame như được mô tả ở trên là poloxame 407.

Theo một số phương án, dẫn xuất xenluloza là hydroxypropyl xenluloza.

Theo một số phương án, chất kháng khuẩn được sử dụng trong bước 3 được chọn từ nhóm bao gồm florfenicol, lincomyxin, tylosin, metronidazol, tilmicosin, spiramycin, erythromycin, tulathromycin, tiamulin, ampicillin, amoxicillin, axit clavulanic, penicillin, streptomycin, trimethoprim, sulfonamid, sulamethoxazol, pleuromutilin, avilosin, tylvalosin, doxycyclin, oxytetracyclin. Theo một số phương án hiện tốt hơn, chất kháng khuẩn là florfenicol.

Thuật ngữ "chất có hoạt tính sinh học" như xuất hiện ở đây và trong các yêu cầu bảo hộ có thể thay thế cho thuật ngữ "tác nhân kháng khuẩn", "thuốc" hoặc "thuốc kháng sinh".

Như xuất hiện ở đây và trong các yêu cầu bảo hộ, thuật ngữ "dung môi" dùng để chỉ dung môi hữu cơ được trộn với chất mang dạng nước hoặc nước trong công thức của sáng chế. Theo một số phương án, dung môi hữu cơ như được mô tả ở trên được chọn từ nhóm bao gồm N-metyl pyrrolidon (NMP), DMSO, PEG 400, propylen glycol và etanol.

Ở khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị nhiễm trùng thú y, hoặc sử dụng các hợp chất để điều trị nhiễm trùng thú y, bằng cách sử dụng cho bệnh nhân cần nó ít nhất tiêm một lần hợp chất giải phóng kéo dài như được mô tả chung ở đây, bao gồm chất chống vi khuẩn, ít nhất một poloxame, một dung môi hữu cơ, và tùy chọn là dẫn xuất xenluloza hòa tan ít nhất một phần trong dung môi hữu cơ ở trong môi trường nước. Tốt hơn là, phương pháp này bao gồm truyền đơn lẻ công thức, nhưng nhiều hơn một lần tiêm có thể được dùng tùy theo nhu cầu và thời gian điều trị. Khi tiếp xúc với bệnh nhân thú y, điều thuận lợi là giảm thiểu việc điều trị, để giảm bớt sự đau đớn cho con vật và nỗ lực cần thiết để xác định vị trí, bắt và điều trị con vật bị bệnh. Do đó, sử dụng theo lần đơn lẻ là tốt hơn. Ngoài ra, phương pháp này bao gồm nhiều lần sử dụng công thức, miễn là số lượng lần sử dụng thấp hơn mức yêu cầu hiện tại đối với chất có hoạt tính sinh học cụ thể.

Việc sử dụng có thể bao gồm tiêm một lần hoặc nhiều lần tiêm vào nhiều vị trí, nếu cần phải tiêm một lượng lớn. Do những ưu điểm của công thức theo sáng chế, có thể không cần sử dụng nhiều vị trí tiêm, vì thuốc hòa tan kém có đủ lượng trong một lượng tương đối nhỏ của thuốc tiêm.

Cách sử dụng thường là tiêm bắp. Tuy nhiên, cách sử dụng cũng có thể là tiêm dưới da, tiêm trong màng bụng, tiêm trong da, hoặc các vị trí sử dụng cụ thể, như tiêm trong ổ bụng cho bò và cừu, tiêm trong cổ hoặc tai cho bò thịt, tiêm nội tạng, và các loại tương tự.

Các bệnh nhiễm trùng thú y có thể được điều trị theo sáng chế bao gồm nhiễm trùng do mầm bệnh của lợn, nhiễm trùng gia súc, nhiễm trùng gia cầm, nhiễm trùng động vật đồng hành hoặc nhiễm trùng động vật trong sở thú và động vật hoang dã.

Theo một số phương án, dung môi hữu cơ như được mô tả ở trên được chọn từ nhóm bao gồm N-metyl pyrrolidon (NMP), DMSO, PEG 400, propylen glycol và etanol. Theo một số phương án hiện tốt hơn, dung môi hữu cơ là NMP. Theo một số phương án, poloxame như được mô tả ở trên được chọn từ nhóm bao gồm poloxame 407, poloxame 188, poloxame 237, poloxame 338, và hỗn hợp của các chất này. Theo một số phương án hiện tốt hơn, poloxame như được mô tả ở trên là poloxame 407. Theo một số phương án, dẫn xuất xenluloza là hydroxypropyl xenluloza. Theo một số

phương án, chất kháng khuẩn được chọn từ nhóm bao gồm florfenicol, lincomyxin, tylosin, metronidazol, tilmicosin, spiramycin, erythromycin, tulathromycin, tiamulin, ampicillin, amoxicillin, axit clavulanic, penicillin, streptomycin, trimethoprim, sulfonamid, sulfamethoxazol, pleuromutilin, aviloxin, tylvalosin, doxycyclin, oxytetracyclin. Theo một số phương án thực hiện tốt hơn, chất kháng khuẩn là florfenicol.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các nguyên liệu và phương pháp

Florfenicol và N-methylpyrrolidon (NMP) được mua từ Sigma-Aldrich, Israel. Các poloxame, 407, 188, 338 và 237 được lấy từ đại diện địa phương của BASF. Amoxicillin, tylosin, các polyme hãng Klucel® (hydroxypropyl xenluloza), PEG400 và propylene glycol đã được các công ty chế phẩm dược làm quà tặng. Nước được làm sạch trên cột và chưng cất trước khi sử dụng. Natri clorua được mua từ Merck, Israel.

Trừ khi có chỉ định khác, các công thức thuốc tiêm florfenicol được điều chế như sau:

Một lượng nước được cân và đồng dung môi được trộn ở nhiệt độ phòng, và muối hoặc chất đệm, nếu có trong công thức, được thêm vào và trộn để đạt được độ hòa tan. Một lượng lớn poloxame và dẫn xuất xenluloza đã được làm lạnh đến 4 °C trong phòng lạnh; riêng biệt, hỗn hợp nước và đồng dung môi cũng được làm lạnh. Sau đó, các polyme được thêm vào hỗn hợp nước và đồng dung môi trong cùng điều kiện, và được trộn mạnh bằng máy khuấy từ, cho đến khi thu được dung dịch trong. Bột florfenicol (dạng bột) sau đó được thêm vào dung dịch thu được và trộn trong 24 giờ trong phòng lạnh, để đảm bảo phân phối tốt trong quá trình chuẩn bị. Ngoài ra, đặc biệt là đối với các công thức có lượng tải cao, một lượng florfenicol được cân được cho vào cối, và được đánh tan về mặt hình học, tức là trộn trong cối với các phần dung dịch có thể so sánh được, cho đến khi sử dụng hết phần ước được cân của dung dịch được điều chế.

Đo điểm gel hóa

Độ gel hóa được đo bằng cách đảo ngược một ống thủy tinh chứa 0,5-1 mL công thức, ở nhiệt độ tăng dần. Nhiệt độ thúc đẩy công thức ngừng chảy xuống khi đảo ngược được coi là điểm tạo gel chính. Ngoài ra, để sàng lọc sơ bộ, nhiệt độ được tăng lên 40 °C và thời gian để công thức trở thành dạng gel được ghi lại.

Điểm gel hóa cũng được đo lưu biến, sử dụng Anton Paar Rheometer Physica MCR 101, các trục bản song song cách nhau với khe hở 200 µm, với nhiệt độ quét ở tốc độ cắt là 100 giây qua lại. Dẫn xuất thứ hai của đường cong độ nhớt cung cấp sự thay đổi mạnh nhất về độ nhớt, được coi là điểm gel hóa thực.

Xác định florfenicol

Florfenicol được xác định bằng HPLC, sử dụng thiết bị HP1090, với máy phát hiện UV đo độ hấp thụ ở bước sóng 224 nm. Cột C-18 250x4,6 5 μ m được sử dụng, rửa giải ở 1,2 ml/phút, với pha động 25:75 ACN:DDW. Florfenicol rửa giải trong các điều kiện này ở 4 đến 4,5 phút.

Kiểm tra độ hòa tan

Để kiểm tra động học hòa tan của florfenicol từ các công thức, thùng ống tiêm chứa các ống tiêm 5 mL, được cắt thành các phân đoạn 2 mL để dùng làm giá đỡ có dạng ống. Một mặt được đóng bằng tờ Parafilm® và khoảng 2 mL chế phẩm ở nhiệt độ phòng được cân chính xác vào các giá đỡ ống đã chuẩn bị sẵn nói trên, thông qua kim 19G bằng cách sử dụng ống tiêm phù hợp, do đó đánh giá khả năng tiêm của công thức. Sau đó, mặt trên được đóng lại bằng một tấm Parafilm® khác và đặt vào lò nung đã được làm nóng trước đến 40 °C, trong ít nhất 15 phút để đảm bảo gel hóa. Sau đó, các tấm Parafilm® được lấy ra một cách chính xác, giá đỡ ống được đặt vào giỏ chìm và ngay lập tức được chuyển vào máy thử độ hòa tan Caleva 6ST (Thiết bị USP 2), được đặt thành 20 vòng/phút ở 40 °C. Nhiệt độ được chọn để phù hợp và bắt chước nhiệt độ cơ thể của động vật đích (lợn). Môi trường hòa tan là đệm phosphat USP, ở pH 6,8, và thể tích 900 mL được sử dụng cho mỗi giá đỡ ống. Các mẫu được lấy ra từ môi trường hòa tan tại các thời điểm xác định trước, và thể tích được hiệu chỉnh bằng môi trường hòa tan mới. Khi kết thúc thử nghiệm, các ống giữ ống được rửa sạch trong các bình hòa tan và trộn mạnh để thu được lượng thu hồi của nguyên liệu làm mẫu chuẩn 100%. Phần trăm nồng độ cực đại của florfenicol tại mỗi thời điểm với độ lệch chuẩn đã được báo cáo.

Ngoài ra, việc hòa tan một số hợp chất florfenicol được thực hiện bằng thiết bị USP 5 (cánh trên đĩa), như được chỉ ra bên dưới.

Ví dụ 1 - ví dụ so sánh

A. Để đánh giá hiệu quả của các công thức được bộc lộ trong đơn đăng ký sáng chế Trung Quốc số CN103202802, Ví dụ 7 (30% florfenicol) của công bố này đã được sao chép và thử nghiệm trong các điều kiện được mô tả. Do công bố có ít hướng dẫn về cấp độ hypromellose được sử dụng, nên hai cấp độ có độ nhớt biểu kiến dưới 20 cP ở nồng độ thấp được thử nghiệm (HPMC K4M và HPMC K15M) đã được thử nghiệm riêng biệt. Tóm lại, các các poloxame được cân chính xác, làm lạnh và hòa tan trong một phần lớn nước lạnh ở 4 °C, sau đó bổ sung hydroxypropyl methyl xenluloza (HPMC). Phần còn lại của tá dược được cung cấp từ dung dịch gốc, và hàm lượng nước còn lại được thêm vào và trộn kỹ. Các mẫu chế phẩm có tổng số lượng là 25 gam được điều chế, các mẫu được điều chế bằng cách sử dụng HPMC K4M được gọi là chế phẩm mẫu 1.1 và các mẫu được điều chế bằng cách sử dụng HPMC K15M được gọi là chế phẩm mẫu 1.2.

Để kiểm tra tác dụng có lợi của dung môi hữu cơ theo sáng chế, các công thức tương tự như mô tả ở trên đã được điều chế, lần này sử dụng khoảng 20% trọng lượng N-metyl pyrrolidon làm đồng dung môi, trong tổng trọng lượng dung môi (thay thế 20% nước bằng dung môi hữu cơ), do đó thu được chế phẩm mẫu 1.3 và chế phẩm mẫu 1.4, tương ứng với lần lượt HPMC K4M và HPMC K15M.

Trong các điều kiện thí nghiệm, tức là ở nhiệt độ phòng, các mẫu được điều chế theo 1.1 và các mẫu được điều chế theo 1.2 được phát hiện ra là không thể được kéo vào ống tiêm ngay cả khi không có kim. Điều này cho thấy chế phẩm được điều chế theo sự bộc lộ của CN103202802 (Ví dụ 7) dường như không thể tiêm trong các điều kiện đã báo cáo. Để có được đặc tính giải phóng và kết quả của các công thức không thể tiêm nói trên, các mẫu được cung cấp bằng cách sử dụng dao trộn. Cần phải đề cập thêm rằng việc bổ sung NMP làm đồng dung môi làm tăng độ nhớt ngoài thực tế (gel cứng ngay cả ở 4 °C), tuy nhiên, chế phẩm mẫu 1.3 và 1.4 đã được thử nghiệm để giải phóng thuốc, mặc dù chúng có thể cũng không được tiêm.

B. Để sản xuất các chế phẩm tiêm, các công thức chứa tỷ lệ 20% đã được sản xuất, theo xu hướng của Ví dụ 7 và Ví dụ 6 của công bố kỹ thuật CN103202802. Tóm lại, lượng tải florfenicol đã giảm do nước. Chế phẩm mẫu 1.5 bao gồm HPMC K15M và nước tinh khiết và chế phẩm mẫu 1.6 bao gồm HPMC K15M và 20% trọng lượng NMP làm đồng dung môi. Các công thức kết quả theo chế phẩm 1.5 và 1.6 có 20% trọng lượng florfenicol được tiêm dễ dàng qua kim đã thử nghiệm và tạo gel trong điều kiện chế phẩm mẫu để thử nghiệm độ hòa tan.

Để kiểm tra đặc tính giải phóng của florfenicol từ các công thức được mô tả ở trên mặc dù thiếu các đặc tính tiêm của các chế phẩm được điều chế theo 1.1-1.4, các chế phẩm này đã được áp dụng cho các ống bằng cách sử dụng dao trộn theo kỹ thuật chiết rót bột bán nguyệt tròn thông thường. Kết quả được thể hiện trong Bảng 1 dưới đây.

Từ Bảng 1 có thể thấy rằng nói chung việc bổ sung NMP vào chế phẩm bao gồm HPMC làm tăng tốc độ giải phóng florfenicol từ các chế phẩm, và đôi khi làm giảm độ biến thiên, ví dụ: khi so sánh các chế phẩm 1.1 với 1.3, 1.2 với 1.4, và 1.5 với 1.6.

Cũng có thể thấy rằng công thức thuốc tiêm theo công bố kỹ thuật trước chỉ có thể chứa 20% florfenicol, điều này cũng được chứng minh qua một công bố khác của cùng các tác giả sáng chế (ZX Geng, HM Li, J. Tian, TF. Liu, ZG Yu, J Vet Pharmacol Ther, Vol 38, Iss 6, Dec 2015, 596-600). Việc lượng tải cao hơn không thể đạt được vì chế phẩm tiêm sử dụng công thức theo kỹ thuật trước.

Bảng 1

	Chế phẩm 1.1		Chế phẩm 1.2		Chế phẩm 1.3		Chế phẩm 1.4		Chế phẩm 1.5		Chế phẩm 1.6	
Thời gian (giờ)	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn
0,25	2,52	0,51	2,61	0,44	2,61	0,44	2,98	0,38	2,47	2,15	3,94	0,61
0,5	4,25	1,16	5,80	0,79	5,80	0,79	7,39	0,47	5,52	4,35	9,34	0,49
1	6,54	1,49	11,02	2,12	11,02	2,12	15,50	1,06	10,41	7,06	15,25	1,15
1,5	8,34	1,45	15,44	2,92	15,44	2,92	22,30	1,78	15,76	7,09	20,28	1,48
2	9,43	1,60	18,70	3,28	18,70	3,28	27,90	2,65	19,59	6,84	24,13	1,81
3	12,56	3,02	23,94	3,23	23,94	3,23	36,28	3,94	27,20	6,40	30,80	2,96
4	16,40	3,22	28,94	2,33	28,94	2,33	43,82	3,11	32,61	5,57	37,23	4,07
5	20,63	5,31	35,19	4,10	35,19	4,10	49,79	2,01	36,75	4,77	42,60	4,02
6	23,73	5,72	38,59	1,59	38,59	1,59	55,42	2,43	41,78	6,86	48,17	3,10
7	27,12	6,67	42,20	1,93	42,20	1,93	57,69	1,87	43,69	4,76	53,70	2,96
8	30,22	7,38	45,46	1,71	45,46	1,71	63,62	5,77	46,27	4,46	59,21	5,93
24	48,68	9,42	72,25	7,96	72,25	7,96	87,11	7,07	75,23	8,86	85,66	7,62
Độ nhớt cực đại	44,9 Pa*s		38,4 Pa*s						18,3 Pa*s		22,9 Pa*s	
Độ nhớt cực tiểu	0,59 Pa*s		0,49 Pa*s		Gel cứng tại 4 °C				0,18 Pa*s		0,27 Pa*s	
Nhiệt độ gel hóa °C	12,9 °C		12,8 °C						18,4 °C		17,1 °C	
Biên độ gel hóa	12,3-14,4		12,3-14,8						17,5-19,9		16,2-19,9	

Ví dụ 2

Để đánh giá ưu điểm của công thức giải phóng kéo dài florfenicol theo các nguyên tắc của sáng chế so với công thức giải phóng kéo dài dựa trên gel biết khác được công bố trong đơn đăng ký sáng chế quốc tế WO2012131678, gel chứa 30% florfenicol theo trọng lượng đã được sản xuất. Tác dụng của đồng dung môi NMP, nguyên liệu gốc xenluloza hydroxypropyl xenluloza, và sự kết hợp hiệp đồng của chúng đã được phân lập và nghiên cứu. Tất cả các công thức đã chứng minh độ keo tụ trong khoảng từ 25 °C đến 35 °C (dữ liệu riêng lẻ được đưa ra bên dưới), và các đặc tính giải phóng được đánh giá theo phương pháp trên. Các công thức được tóm tắt trong bảng bên dưới, cùng với dữ liệu đặc tính giải phóng tương ứng của chúng.

Chế phẩm 2.1 theo phương án của sáng chế và bao gồm cả nguyên liệu gốc xenluloza là hydroxypropyl xenluloza; chế phẩm 2.2 cho thấy tác động của việc bỏ sót đồng dung môi; chế phẩm 2.3 cho thấy tác động của việc bỏ sót hydroxypropyl xenluloza (Klucel® EF) và đồng dung môi NMP; và chế phẩm 2.4 là chế phẩm so sánh theo WO2012131678, không có đồng dung môi và không có phụ gia xenluloza. Chế phẩm 2.5 (theo một phương án của sáng chế) chứng tỏ lượng tải thấp hơn (20% trọng lượng florfenicol) và 2.6 chứa 20% florfenicol và không có NMP để so sánh với chế phẩm 2.6.

Khi so sánh kết quả của chế phẩm 2.1 và 2.3, có thể dễ dàng nhận thấy rằng việc bổ sung NMP vào chế phẩm theo công bố số WO 2012131678 làm giảm đáng kể sự giải phóng thuốc, với sự giảm đáng kể sự thay đổi giữa các kết quả. Ngoài ra, việc bổ sung hydroxypropyl xenluloza vào công thức theo công bố số WO 2012131678 dẫn đến giảm đáng kể tốc độ giải phóng và tạo ra sự thay đổi tương đối cao trong đặc tính giải phóng. Theo kết quả, chỉ việc bổ sung cả hai thành phần (NMP và HPC) là nguyên nhân gây ra tác dụng hiệp đồng dẫn đến độ biến thiên thấp hơn (độ lệch chuẩn của giá trị trung bình so với giá trị trung bình thấp hơn) và làm tăng giải phóng thuốc so với chỉ là chế phẩm dạng nước 2.2 và 2.3. Hơn nữa, có thể thấy rằng các công thức có 20% tải theo sáng chế tạo ra florfenicol giải phóng tương đương nhưng có phần giảm độc lực hơn với độ biến thiên thấp hơn so với công thức giả thuyết 20% của CN'802 với hypromellose thay vì hydroxypropyl xenluloza (chế phẩm 1.5).

Kết quả được tóm tắt trong Bảng 2 bên dưới và cả trong Hình 1. Trong Hình 1, các đặc tính giải phóng được minh họa với các thanh lỗi chỉ ra RSD tại mọi thời điểm. Các kim cương (♦) đại diện cho chế phẩm 2.1, chế phẩm hình vuông đặc (■) 2.2, chế phẩm tam giác đặc (▲) 2.3, và chế phẩm dấu X (x) 2.4, với "% FFC" chỉ ra phân vị giải phóng tích lũy của florfenicol, và "thời gian (giờ)" chỉ ra thời gian đã trôi qua kể từ khi bắt đầu thử nghiệm, tính bằng giờ.

Bảng 2

	Chế phẩm 2.1		Chế phẩm 2.2		Chế phẩm 2.3		Chế phẩm 2.4		Chế phẩm 2.5		Chế phẩm 2.6	
	Trọng lượng (g)	% trọng lượng /trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng /trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng /trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng /trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng /trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng /trọng lượng
Florfenicol	7,50	30,00	7,50	30,00	7,50	30,00	7,50	30,00	5,00	20,00	5,00	20,00
Poloxame 407	3,00	12,00	3,00	12,00	3,13	12,50	3,13	12,00	3,43	13,72	3,43	13,72
Klucel® EF	0,19	0,75	0,19	0,75	---	---	---	---	0,22	0,88	0,22	0,88
DDW	11,81	47,25	14,31	57,25	11,81	47,50	14,38	57,50	13,50	54,00	16,36	65,44
NMP	2,50	10,00	---	---	2,50	10,00	---	---	2,86	11,44	---	---
Thời gian (giờ)	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	Độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn
0,25	1,37	0,50	1,33	0,56	1,05	0,52	9,29	1,05	1,75	0,87	4,40	1,55
0,5	2,80	0,98	2,75	1,24	1,72	0,65	14,97	1,44	3,46	0,31	5,66	2,81
1	5,70	2,02	5,21	2,30	2,89	1,11	21,85	4,01	7,34	0,62	9,69	4,11

1,5	8,76	2,76	7,64	3,57	3,96	1,43	26,20	4,98	11,06	0,74	12,18	4,95
2	11,67	3,86	9,42	4,03	5,48	1,23	28,28	5,34	15,90	1,11	13,85	5,75
3	16,53	4,56	12,39	4,45	8,71	2,23	32,91	5,76	20,70	1,08	16,29	7,76
4	20,39	4,78	15,01	4,77	11,42	3,22	36,29	6,21	26,25	1,17	18,84	8,52
5	24,00	4,61	17,34	4,72	13,53	3,75	39,61	6,67	30,54	1,56	21,09	9,93
6	27,59	4,94	19,64	4,45	15,30	3,88	42,83	7,66	33,59	1,10	23,24	8,98
7	30,34	4,63	21,80	4,20	16,93	3,97	45,93	8,81	36,57	0,64	27,32	8,40
8	33,67	4,68	23,61	4,24	18,49	4,00	48,57	9,02	39,74	0,71	30,22	8,09
24	64,18	4,63	57,38	6,57	40,47	4,47	78,06	11,68	66,69	5,16	59,45	12,58
Lưu biến học												
Độ nhớt cực đại	9,69 Pa*s		12,3 Pa*s		11,4 Pa*s		13 Pa*s		8,11 Pa*s		8,3 Pa*s	
Độ nhớt cực tiểu	0,38 Pa*s		0,262 Pa*s		0,181 Pa*s		0,346 Pa*s		0,125 Pa*s		0,0819 Pa*s	
Nhiệt độ gel hóa °C	27,1 °C		24 °C		27,6 °C		23,9 °C		27,9 °C		25,3 °C	
Biên độ gel hóa	27,0-31,6		23,6-27,1		27-31,2		23,5-27,1		27,5-31,2		24,4-27,5	

Ví dụ 3

Để đánh giá ảnh hưởng của đồng dung môi được lựa chọn, NMP, đối với công thức, gel theo chế phẩm 2.1 đã được tạo ra, và hàm lượng NMP thay đổi từ 5 đến 20 phần trăm trọng lượng, để cung cấp chế phẩm 3.1 (5 % trọng lượng) và 3.2 (20% trọng lượng).

Dữ liệu giải phóng được thể hiện trong bảng 3 dưới đây và các đặc tính được minh họa trong Hình 2, với các thanh lỗi chỉ ra RSD tại mọi thời điểm. Các hình kim cương (◆) đại diện cho chế phẩm 3.1 (được chỉ định là "5% trọng lượng"), các hình vuông đặc (■) là chế phẩm 2.1 (được chỉ định là "10% trọng lượng"), và chế phẩm hình tam giác (▲) 3.2 (được chỉ định là "20% trọng lượng") với "% FFC" chỉ ra phân vị giải phóng tích lũy của florfenicol và "thời gian (giờ)" chỉ thời gian trôi qua kể từ đầu thử nghiệm, tính bằng giờ.

Có thể thấy rằng ở 5% trọng lượng NMP, sự thay đổi tăng lên trong khi đặc tính giải phóng hầu như không thay đổi, trong khi với 20%, độ giải phóng được tăng tốc nhẹ.

Bảng 3

	Chế phẩm 3.1		Chế phẩm 3.2	
Thời gian (giờ)	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn

0,25	2,79	1,06	5,92	0,48
0,5	5,05	1,73	9,14	1,31
1	8,88	3,45	13,81	2,57
1,5	11,49	4,53	17,69	4,17
2	13,67	5,70	21,63	4,57
3	17,21	7,16	28,77	6,72
4	20,37	8,25	33,16	7,55
5	22,74	9,32	37,94	7,03
6	24,86	10,01	43,80	6,41
7	28,79	12,15	46,57	5,34
8	31,25	12,73	51,41	5,88
24	43,06	15,81	76,69	3,56
Lưu biến học				
Độ nhớt cực đại	6,16 Pa*s		10,9 Pa*s	
Độ nhớt cực tiểu	0,23 Pa*s		0,39 Pa*s	
Nhiệt độ gel hóa °C	26,4 °C		21,6 °C	
Biên độ gel hóa	26,2 -29,3		21,1-24,7	

Ví dụ 4

Để đánh giá ảnh hưởng của các đồng dung môi bổ sung lên công thức, gel theo chế phẩm 2.1 được sản xuất và NMP được thay thế bằng DMSO (chế phẩm 4.1), propylen glycol (chế phẩm 4.2), PEG 400 (chế phẩm 4.3), hoặc etanol (chế phẩm 4.4).

Các đặc tính giải phóng được tóm tắt trong Bảng 4 bên dưới.

Có thể dễ dàng nhận thấy rằng cả DMSO và PEG 400 đều cho đặc tính giải phóng tương đương với NMP, nhưng làm giảm nhiều hơn đáng kể điểm gel của dung dịch.

Bảng 4

	Chế phẩm 4.1		Chế phẩm 4.2		Chế phẩm 4.3		Chế phẩm 4.4	
Thời gian (giờ)	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn
0,25	2,27	0,36	1,38	0,37	2,44	0,69	1,53	0,80
0,5	4,44	0,70	2,36	0,90	4,86	1,35	2,57	1,39
1	8,61	1,18	3,65	1,36	9,52	2,57	3,94	1,96
1,5	11,14	1,00	4,44	1,59	12,93	3,94	4,92	2,27
2	13,09	0,92	5,34	1,63	15,28	4,50	5,86	2,45
3	15,98	1,59	6,89	1,72	19,62	6,25	7,66	2,82
4	18,70	2,62	8,14	1,91	23,53	7,55	9,17	3,37
5	21,61	4,36	9,61	2,08	27,58	8,78	10,84	3,61

6	24,26	5,55	10,82	2,05	30,58	9,32	12,20	3,72
7	27,28	6,75	12,45	2,21	33,89	9,78	13,97	4,29
8	30,14	7,61	13,70	2,42	36,84	10,12	15,49	5,06
24	68,9	7,22	32,8	4,48	69,36	4,96	36,31	11,66
Lưu biến học								
Độ nhớt cực đại	10,5 Pa*s		10,5 Pa*s		8,16 Pa*s		4,25 Pa*s	
Độ nhớt cực tiểu	0,29 Pa*s		0,37 Pa*s		0,35 Pa*s		0,21 Pa*s	
Nhiệt độ gel hóa °C	15,1 °C		22,0 °C		20,2 °C		33,8 °C	
Biên độ gel hóa	14,7-17,0		21,6-24,7		19,4-22,9		Rộng	

Ví dụ 5

Để chứng minh tác dụng của sáng chế trong cơ thể, một nghiên cứu được động học đã được thực hiện để chứng minh nồng độ thuốc trong huyết tương kéo dài và hiệu quả từ một lần dùng florfenicol ở lợn. Nghiên cứu đã được sự chấp thuận của Ủy ban Đạo đức về Nghiên cứu Động vật tại Đại học Hebrew của Jerusalem. Tổng cộng sáu con được sử dụng với hai con lợn cái 3 đến 4 tháng tuổi. Ống thông tĩnh mạch trung tâm 20G được đưa vào tĩnh mạch hình tam giác của mỗi con lợn để thuận tiện cho việc lấy máu. Tất cả động vật nhận được 40 mg/kg khi điều trị một lần với chế phẩm 2.1 trong nhánh thứ nhất của nghiên cứu, và 20 mg/kg dưới dạng Nuflor® (Merck Animal Health - dung dịch florfenicol 30% trong NMP) cho hai lần trong 48 giờ cách biệt, hoặc phương pháp điều trị thử nghiệm khác ở nhánh thứ hai, sau khoảng thời gian rửa sạch hai tuần.

Mẫu máu được rút trước mỗi lần điều trị (thời điểm 0) và vào các thời điểm 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 30, 52, 72, 96, 144 và 196 giờ sau lần dùng thứ nhất. Các mẫu được thu thập vào các ống đã được heparin hóa và huyết tương ngay lập tức được tách ra và bảo quản ở -20 °C cho đến khi phân tích. Vào ngày phân tích, các mẫu được bổ sung chất chuẩn nội (cloramphenicol) và chiết bằng axetonitril. Các tiêu chuẩn đã được điều chế ngay trong ngày. Việc xác định thuốc gốc, florfenicol, và chất chuyển hóa chính, florfenicol-amin, được thực hiện bằng cách sử dụng UHPLC-MS/MS (máy khối phổ TSQ Quantum Access Max ở chế độ ion dương sử dụng ion hóa phun điện tử (ESI) và chế độ theo dõi đa phản ứng (MRM) thu bản sao. Kết quả cho florfenicol (hợp chất gốc) và florfenicol-amin (chất chuyển hóa chính) đã được thu.

Việc phân tích dữ liệu được thực hiện bằng phần mềm Microsoft Excel. Diện tích dưới các giá trị đường cong (AUC) thu được bằng quy tắc hình thang. Độ dốc đầu cuối được xác định bằng phép biến đổi bán kỳ, và độ dốc được tính toán bằng cách điều chỉnh các đường cong với dữ liệu suy giảm theo cấp số nhân. Tất cả các tính toán tiếp theo được thực hiện với các chức năng được trang bị. Không có giải mã nào được thực hiện do độ phức tạp của mô hình, đặc biệt là đối với các nhánh phun kép. Đối với các nhánh Nuflor® này, dữ liệu độ dốc của thiết bị đầu cuối cũng được sử dụng để

ngoại suy các điểm 48 giờ. Dữ liệu được tính toán từ một đường cong trung bình; phạm vi các giá trị riêng lẻ được thể hiện nếu có.

Các kết quả cho biểu đồ của nồng độ trong huyết tương theo thời gian của hợp chất florfenicol gốc được thể hiện trong Hình 3 để có các so sánh liên quan. Đường đứt nét trên mỗi biểu đồ chỉ ra MIC90 cực đại có khả năng đối với các mầm bệnh đích bệnh đường hô hấp điển hình ở lợn. Các thanh lỗi chỉ ra sai số chuẩn của giá trị trung bình. Các mũi tên chỉ ra thời gian sử dụng. Các kim cương (♦) đại diện cho Nuflor, được chỉ định là "Điều trị: Nuflor 20 mg/kgx2, n = 2"), và các hình vuông rắn (■) đại diện cho Chế phẩm 2.1 (được chỉ định là "Điều trị P2.1, 40 mg/kg x1, n=5"), với "Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)" chỉ ra nồng độ florfenicol trong huyết tương và "Thời gian (giờ)" chỉ ra thời gian trôi qua kể từ khi bắt đầu thử nghiệm, tính bằng giờ.

Các thông số dược động học thu được cho những dữ liệu này được tóm tắt trong Bảng 5 dưới đây.

Bảng 5

Thông số	P2.1 40 mg/kg	Nuflor 20 mg/kg x2
Kỳ $t_{1/2}$ (giờ)	43,5 (36,7-53,2)	53,1 h (20,3-78,2)
AUX _{inf} ($\mu\text{g} \times \text{h} \times \text{mL}^{-1}$)	224,9	176,0
AUC trên MIC (AUC) ($\mu\text{g} \times \text{h} \times \text{mL}^{-1}$)	178,7	84,4
Phân vị thời gian trên MIC (%)	79,4	47,9
C _{cực đại} ($\mu\text{g/mL}$)	2,24 (1,62-2,79)	2,77 (2,28-3,25)
T _{cực đại} (giờ)	10,8 (6-24)	8 (6-10)

Thời gian bán rã cuối cùng của Nuflor® được tính từ lần tiêm thứ hai; dữ liệu từ lần tiêm thứ nhất cho thấy thời gian bán rã ngắn hơn đáng kể cho thấy khả năng thải trừ nhanh trong giai đoạn đầu. Nồng độ cực đại được báo cáo cho nhánh Nuflor là nồng độ cực đại của lần tiêm thứ nhất.

Có thể dễ dàng nhận thấy rằng chế phẩm theo sáng chế tạo ra khả năng tiếp xúc với florfenicol có liên quan cao hơn, như được chứng minh bởi AUC và phần trăm thời gian trên MIC, sau tiêm một lần, tương đối so với sản phẩm thương mại.

Ví dụ 6

Để đánh giá khả năng của hệ thống điều trị lượng thuốc rất cao, các công thức sau đây của florfenicol cũng được điều chế theo các dòng được mô tả ở đây. Chế phẩm 6.1 chứa khoảng 33% trọng lượng florfenicol, 6,2 khoảng 36% trọng lượng và 6,3 khoảng 39% trọng lượng.

Các chế phẩm có thể được bơm qua kim 16G, sau đó có thể tiêm và thể hiện trạng thái nhiệt ngược, ví dụ: được tạo bột khi đun nóng và hóa lỏng trở lại khi làm lạnh. Các đặc tính giải phóng và dữ liệu lưu biến được tóm tắt trong Bảng 6 dưới đây.

Bảng 6

	Chế phẩm 6.1		Chế phẩm 6.2		Chế phẩm 6.3	
	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/trọng lượng
Florfenicol	8,0	32,6	8,5	36,2	9,25	39,3
Poloxame 407	3,0	12,2	3,0	12,8	2,5	10,6
Klucel® EF	0,2	0,8	0,2	0,8	0,2	0,8
DDW	11,4	46,2	10,1	43,3	10,0	42,6
NMP	2	8,2	1,6	6,9	1,6	6,9
Thời gian (giờ)	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn
0,25	1,41	0,31	1,59	0,40	2,26	0,47
0,5	2,41	0,35	2,85	0,63	4,28	0,93
1	4,38	0,87	5,41	1,09	7,69	1,17
1,5	5,94	1,32	7,42	1,57	11,33	1,54
2	7,19	1,72	9,36	2,07	14,64	1,32
3	9,33	2,36	13,14	3,10	20,54	1,27
4	11,09	2,71	16,40	4,21	25,56	1,42
5	12,57	3,22	19,10	5,10	29,44	1,77
6	14,27	3,55	21,04	5,31	33,14	1,31
7	15,64	3,55	23,39	6,01	36,91	1,64
8	17,12	4,00	25,23	6,10	40,65	0,84
24	36,45	7,16	59,74	7,54	77,95	5,15
Lưu biến học						
Độ nhớt cực đại	13,1 Pa*s		34,2 Pa*s		18,9 Pa*s	
Độ nhớt cực tiểu	0,28 Pa*s		2,3 Pa*s		1,01 Pa*s	
Nhiệt độ gel hóa °C	24,4 °C		18,2 °C		26,2 °C	
Biên độ gel hóa	23,9-28,4		18,0-20,3		25,8-28,1	

Có thể dễ dàng nhận thấy rằng các công thức tạo gel đáp ứng với sự tăng nhiệt độ, giải phóng thuốc theo cách có kiểm soát với độ biến thiên thấp, bằng chứng là độ lệch chuẩn tương đối thấp tại mỗi điểm.

Các chế phẩm khác được điều chế ở mức tải 45% trọng lượng và cao hơn. Florfenicol được sàng qua lưới 50 micron, để thu được phân kích thước hạt thấp hơn. Các công thức và kết quả được tóm tắt trong bảng 7 dưới đây.

Bảng 7

	Chế phẩm	Chế phẩm	Chế phẩm	Chế phẩm	Chế phẩm
--	----------	----------	----------	----------	----------

	6.4		6.5		6.6		6.7		6.8	
	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/ trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/ trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/ trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/ trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/ trọng lượng
Florfenicol	45,0	45,0	--	--	--	--	--	--	47,5	47,5
Florfenicol đã sàng lọc	--	--	45,0	45,0	45,0	45,0	47,5	47,5	--	--
Poloxame 407	12,0	12,0	12,0	12,0	10,0	10,0	9,0	9,0	9,0	9,0
Klucel® EF	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4
DDW	37,5	37,5	37,5	37,5	39,5	39,5	38,1	38,1	38,1	38,1
NMP	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Thời gian (giờ)	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn
0,5	21,76	3,91	17,64	4,24	10,51	2,38	6,96	1,72	10,03	2,29
1	26,14	5,38	22,02	5,75	13,35	2,50	9,40	1,66	12,35	2,29
2	30,91	5,40	27,45	6,10	18,28	2,67	13,72	1,52	16,42	2,23
4	39,71	5,53	35,80	6,28	27,11	2,88	21,74	1,27	24,02	2,07
6	47,61	5,43	43,25	6,05	35,31	3,04	29,12	1,23	31,11	2,11
24	86,47	5,00	77,75	3,87	76,36	3,09	70,49	1,89	68,40	3,21
48	99,9	1,38	90,8	1,07	95,68	2,37	91,77	2,11	84,41	1,38
Lưu biến học										
Độ nhớt cực đại	NP		NP		0,95 Pa*s		0,75 Pa*s		0,57 Pa*s	
Độ nhớt cực tiểu	NP		NP		16,8 Pa*s		12,9 Pa*s		NP	
Nhiệt độ gel hóa °C	16,7 °C		17,1 °C		21,5 °C		24,2		NP	

Thử nghiệm hòa tan được thực hiện bằng phương pháp đĩa đệm. Số lượng khoảng 1 g được thử trong 900 mL dung dịch đệm phosphat USP pH 6,8, với 1% CTAB được thêm vào. Phép đo nhịp được thực hiện ở 500 giây nghịch đảo với khoảng cách 500 µm.

Từ kết quả có thể thấy rằng kích thước hạt nhỏ hơn không ảnh hưởng xấu đến đặc tính giải phóng, ở mức lượng tải rất cao có thể làm tăng nhẹ quá trình giải phóng thuốc, và lượng florfenicol rất cao có thể thu được dưới dạng công thức tiêm.

Ví dụ 7

Các chế phẩm khác được điều chế ở mức tải 47,5% trọng lượng. Florfenicol đã được sàng lọc đã được sử dụng, như trong Ví dụ 6. Các công thức và kết quả được tóm tắt trong bảng 8 dưới đây.

Bảng 8

	Chế phẩm 7.1		Chế phẩm 7.2		Chế phẩm 7.3		Chế phẩm 7.4	
	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/trọng lượng
Florfenicol*	57	47,5	57	47,5	57	47,5	57	47,5
Poloxame 407	10,2	8,5	10,2	8,5	10,2	8,5	10,8	9
Klucel® EF	0,12	0,1	--	--	0,12	0,1	0,12	0,1
DDW	46,68	38,9	46,8	39	40,68	33,9	46,08	38,4
NMP	6	5	6	5	12	10	6	5
Thời gian (giờ)	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn
0.5	8,97	3,77	24,31	8,04	7,16	2,42	24,56	2,94
1	11,15	3,98	26,80	7,80	9,72	2,50	27,15	3,53
2	15,40	4,49	30,98	7,35	14,14	2,38	31,38	4,14
4	23,36	5,31	38,21	6,81	22,32	2,18	38,19	4,16
6	30,48	6,02	44,52	6,60	29,72	1,91	44,27	4,26
24	69,82	7,55	77,28	4,67	71,41	0,99	77,95	4,42
48	90,04	4,27	94,71	3,18	92,76	2,09	96,84	1,65
Lưu biến học								
Độ nhớt cực đại	0,34 Pa*s		0,34 Pa*s		0,71 Pa*s		0,38 Pa*s	
Độ nhớt cực tiểu	10,05 Pa*s		9,95 Pa*s		7,9 Pa*s		12,7 Pa*s	
Nhiệt độ gel hóa °C	27,23 °C		29,86 °C		28,09 °C		27,23 °C	

*Florfenicol đã sàng lọc

Có thể dễ dàng nhận thấy từ kết quả rằng các chế phẩm chứa 47,5 phần trăm trọng lượng florfenicol có thể được tạo ra ở dạng tiêm, ví dụ: có độ nhớt tốt ở môi trường xung quanh và điểm gel hóa thích hợp.

Ngoài ra, có thể thấy rằng ngay cả với lượng hydroxypropyl xenluloza thấp (xem, ví dụ: chế phẩm 7.1 so với 6.7), đặc tính giải phóng vẫn ổn định, với RSD tương đối thấp (mặc dù thực tế độ biến thiên cao hơn một chút so với 7.1).

Khá bất ngờ rằng, sự biến đổi mà không có hydroxypropyl xenluloza (chế phẩm 7.2) vẫn nằm trong phạm vi được dung, mặc dù chỉ cần 0,1% phụ gia xenluloza làm giảm đáng kể sự biến đổi mà không ảnh hưởng xấu đến đặc tính giải phóng. Hơn nữa, việc bổ sung thêm đồng dung môi (chế phẩm 7.3 so với 7.1) giúp cải thiện hơn nữa khả

năng biến đổi, và thậm chí còn cao hơn so với chế phẩm 7.2 không có phụ gia xenluloza.

Ví dụ 8

Để chứng minh thêm tác dụng của sáng chế trong cơ thể, một nghiên cứu được động học khác đã được thực hiện để chứng minh nồng độ thuốc trong huyết tương kéo dài và hiệu quả từ một lần dùng florfenicol duy nhất ở lợn.

Tổng cộng 20 con lợn được nhận song song 40 mg/kg khi điều trị một lần bằng chế phẩm 6.6-6.8 hoặc 30 mg/kg Nuflor® (Merck Animal Health - dung dịch florfenicol 30% trong NMP), sử dụng theo khuyến nghị của nhà sản xuất. Ngoài ra, chế phẩm (được chỉ định ở đây là 8.1) bao gồm 40% trọng lượng florfenicol, 12% trọng lượng poloxame 407, 0,5% trọng lượng Klucel EF, 5% trọng lượng NMP và 42,5% trọng lượng nước, với điểm gel hóa là 21,7°C, được dùng với liều 40 mg/kg. Đặc tính giải phóng của chế phẩm 8.1 ở cùng các điều kiện như trong Ví dụ 7 được thể hiện trong bảng 9 dưới đây.

Bảng 9

Thời gian (giờ)	0	0,5	1	2	4	6	24	48
Trung bình	0	18,85	23,01	26,70	32,97	38,48	64,37	72,78
RSD	0	5,98	6,74	6,51	6,20	5,78	3,05	1,82

Mẫu máu được lấy tại các thời điểm 0, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 50, 72, 84, 96, 120, 144 và 168 giờ.

Biểu đồ của nồng độ florfenicol trong huyết tương so với thời gian được minh họa trong Hình 4. Trong Hình 4, nồng độ florfenicol trong huyết tương tại mọi điểm mẫu được chứng minh. Các kim cương (♦) đại diện cho Nuflor, chế phẩm hình vuông đặc (■) 8.1, chế phẩm hình tam giác (▲) rắn 6.6 và chế phẩm dấu X (x) 6.7, và chế phẩm dấu sao (*) 6.8, với "C (ng/mL)" chỉ nồng độ florfenicol trong huyết tương và "thời gian (giờ)" chỉ thời gian trôi qua kể từ khi bắt đầu thử nghiệm, tính bằng giờ.

Có thể dễ dàng nhận thấy từ kết quả rằng sản phẩm bán sẵn trên thị trường được đào thải nhanh chóng khỏi máu của lợn, trong khi tất cả các chế phẩm theo sáng chế duy trì nồng độ huyết tương trên 1000 ng/mL trung bình từ 72 giờ đến 84 giờ. Đáng chú ý là AUC hiệu chỉnh theo liều của các phương pháp điều trị là tương đương giữa các nhóm, cho thấy rằng khả dụng sinh học không bị giảm bởi các công thức giải phóng có kiểm soát. Nồng độ đỉnh trong huyết tương rõ ràng là cao nhất trong sản phẩm thương mại giải phóng ngay lập tức; tuy nhiên, chế phẩm 6.7 thể hiện nồng độ đỉnh cao hơn đáng kể so với chế phẩm 6.8, chỉ khác về kích thước hạt của thuốc.

Thời gian trên nồng độ ức chế cực tiểu của Liên cầu khuẩn lợn, một mầm bệnh độc lực ở lợn (hiện được coi là 2 mcg/mL), trong số các bài báo được thử nghiệm, được thể hiện trong bảng 10 dưới đây.

Bảng 10

Trên MIC	Nuflor	P8.1	P6.6	P6.7	P6.8
Thời gian (giờ)	7,44	18,5	27,8	34,2	14,8

Các kết quả cho thấy rõ ràng là các chế phẩm được thử nghiệm theo sáng chế cho kết quả vượt trội với tiềm năng lâm sàng đáng kể để chống lại Liên cầu khuẩn lợn.

Ví dụ 9

Để chứng minh khả năng giải phóng các chất kháng sinh khác của các chế phẩm theo sáng chế, các chế phẩm chứa 30% trọng lượng amoxixillin đã được điều chế. Chế phẩm 9.1 chứa cả đồng dung môi và dẫn xuất xenluloza ít nhất có thể hòa tan một phần trong dung môi hữu cơ (hydroxypropyl xenluloza), chế phẩm 9.2 chỉ chứa hydroxypropyl xenluloza và 9.3 không chứa tá dược bổ sung. Các công thức đã được điều chế dọc theo các dòng như được mô tả cho florfenicol.

Các chế phẩm có thể được bơm qua kim 16G, sau đó có thể tiêm và cho thấy trạng thái nhiệt ngược lại, ví dụ: được tạo bột khi đun nóng và hóa lỏng trở lại khi làm lạnh. Dữ liệu đặc tính giải phóng được tóm tắt trong Bảng 11 dưới đây.

Bảng 11

	Chế phẩm 9.1		Chế phẩm 9.2		Chế phẩm 9.3	
	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/trọng lượng
Amoxyxillin	6,0	30	6,0	30	6,0	30
Poloxame 407	2,4	12	2,4	12	2,4	12
Klucel® EF	0,15	0,75	0,15	0,75	--	--
DDW	9,45	47,25	11,45	57,25	11,6	58
NMP	2,0	10	--	--	--	--
Thời gian (giờ)	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn
0,5	2,99	0,94	2,52	0,45	3,14	0,50
1	6,34	1,40	5,10	0,58	5,61	0,47
1,5	9,26	1,65	7,69	0,55	7,83	0,47
2	11,76	1,81	10,04	0,75	9,68	0,66
3	16,68	2,76	14,12	1,17	12,63	1,18
4	20,90	3,43	19,03	1,63	16,06	1,88
5	25,39	3,16	22,94	2,27	21,59	6,45
6	30,12	5,44	26,56	3,10	21,40	3,31
7	34,14	6,85	29,14	2,93	23,40	2,60
8	36,52	4,86	33,34	5,34	25,65	5,81
24	68,70	7,66	84,69	22,44	77,00	21,35

Có thể dễ dàng nhận thấy rằng các công thức tạo gel, giải phóng thuốc một cách có kiểm soát với độ biến thiên thấp, bằng chứng là RSD thấp ở mỗi thời điểm, nhưng nếu không có NMP hoặc Klucel, việc giải phóng thuốc ở giai đoạn sau sẽ trở nên thất thường hơn, điều này có thể cho thấy sự hình thành gel kém kéo dài hơn khi không có cả hai tá dược.

Ví dụ 10

Để chứng minh thêm khả năng giải phóng các chất kháng sinh khác của các chế phẩm theo sáng chế, chế phẩm chứa tylosin 15% trọng lượng đã được điều chế. Chế phẩm 10.1 chứa cả đồng dung môi và dẫn xuất xenluloza ít nhất có thể hòa tan một phần trong dung môi hữu cơ (hydroxypropyl xenluloza), chế phẩm 10.2 chỉ chứa hydroxypropyl xenluloza và 10.3 không chứa tá dược bổ sung. Các công thức đã được điều chế dọc theo các dòng như được mô tả cho florfenicol.

Các chế phẩm có thể được bơm qua kim 16G, sau đó có thể tiêm và thể hiện trạng thái nhiệt ngược, ví dụ: được tạo bột khi đun nóng và hóa lỏng trở lại khi làm lạnh. Dữ liệu dạng hình giải phóng được tóm tắt trong Bảng 12 dưới đây.

Bảng 12

	Chế phẩm 9.1		Chế phẩm 9.2		Chế phẩm 9.3	
	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/trọng lượng	Trọng lượng (g)	% trọng lượng/trọng lượng
Tylosin	3,0	15	3,0	15	3,0	15
Poloxame 407	2,92	14,6	2,4	12	2,4	12
Klucel® EF	0,18	0,9	0,15	0,76	--	--
DDW	11,47	57,3	14,45	72,24	14,6	73
NMP	2,43	12,2	--	--	--	--
Thời gian (giờ)	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn	trung bình	độ lệch chuẩn
0,5	11,40	1,80	5,48	0,09	4,83	1,65
1	20,95	1,16	9,33	0,99	8,24	2,96
1,5	35,71	1,47	12,51	1,56	11,26	4,24
2	37,27	1,54	15,63	1,75	14,35	5,54
3	46,75	1,72	21,51	2,09	20,05	7,60
4	52,50	1,28	25,64	2,04	25,18	9,34
5	57,97	1,95	31,04	1,60	30,63	11,46
6	61,14	1,07	36,23	2,67	36,67	13,35
7	70,25	3,08	40,72	4,02	41,42	14,09
8	72,71	3,49	45,10	6,39	46,19	15,39
24	94,05	3,02	97,94	1,60	96,85	2,08

Có thể dễ dàng thấy rằng các công thức đã tạo ra gel và giải phóng thuốc một cách có kiểm soát. Chế phẩm 10.1 có nhiều poloxame hơn một chút để bù lại sự gia

tăng khả năng hòa tan của thuốc với NMP. Đặc tính giải phóng của 10.1 thể hiện với độ thay đổi thấp, bằng chứng là RSD thấp tại mỗi thời điểm, đặc biệt là trong thời gian trung gian. Chế phẩm 10.2 cho thấy sự thay đổi nhiều hơn một chút, nhưng không có cả NMP và Klucel, việc giải phóng thuốc trở nên biến thiên hơn.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm được bao gồm florfenicol với nồng độ nằm trong khoảng từ 25% trọng lượng đến 50% trọng lượng, poloxame, chất mang dạng nước và đồng dung môi hữu cơ được chọn từ nhóm bao gồm N-metyl pyrrolidon (NMP), dimethyl sulfoxit (DMSO), và PEG 400, trong đó chế phẩm này là chế phẩm có thể tiêm được ở nhiệt độ phòng, với điều kiện trong đó nồng độ florfenicol là dưới 35% trọng lượng, chế phẩm còn bao gồm hydroxypropyl xenluloza.

2. Chế phẩm được theo điểm 1, trong đó nồng độ của florfenicol là từ 25% trọng lượng đến 35% trọng lượng.

3. Chế phẩm được theo điểm 1, trong đó nồng độ của florfenicol là trên 35% trọng lượng, và trong đó chế phẩm này không có hydroxypropyl xenluloza.

4. Chế phẩm được theo điểm 1, trong đó nồng độ của florfenicol là trên 35% trọng lượng, và trong đó chế phẩm này còn bao gồm hydroxypropyl xenluloza.

5. Chế phẩm được theo điểm bất kỳ trong số các điểm 3 hoặc điểm 4, trong đó nồng độ của florfenicol là từ 35% trọng lượng đến 50% trọng lượng.

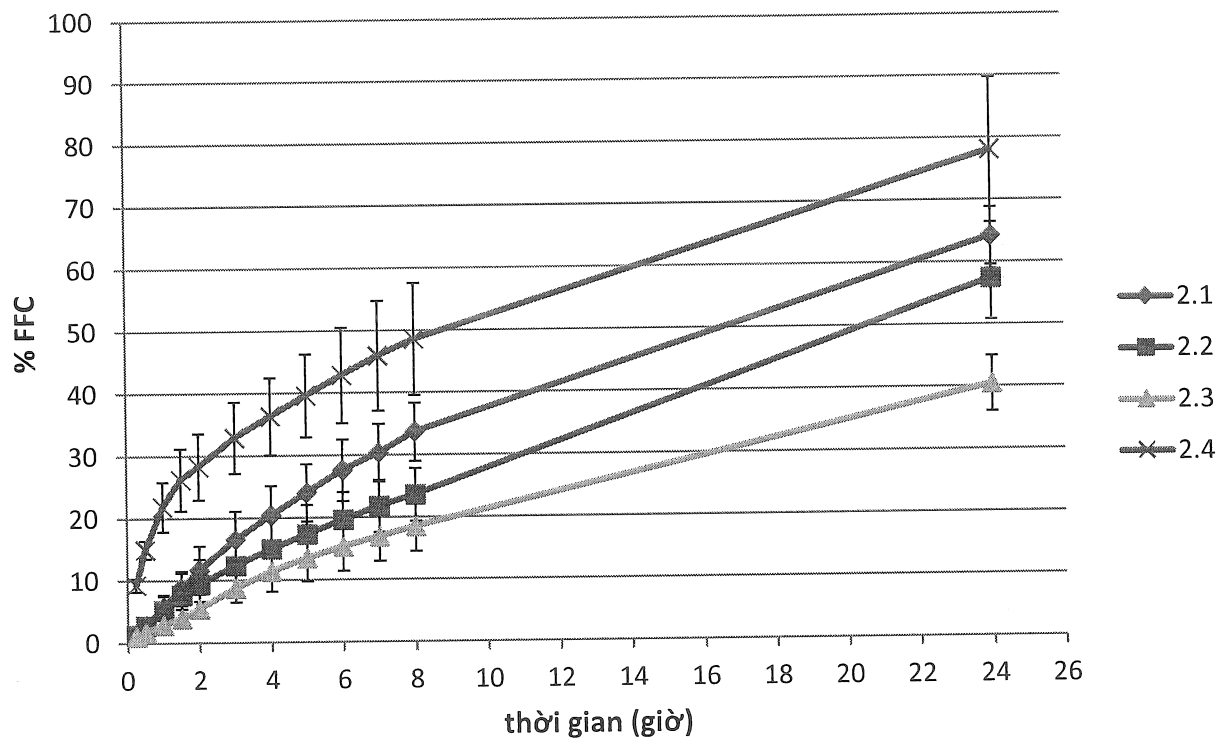
6. Chế phẩm được theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó đồng dung môi hữu cơ có mặt với hàm lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 15% trọng lượng.

7. Chế phẩm được theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó đồng dung môi hữu cơ là N-metyl pyrrolidon.

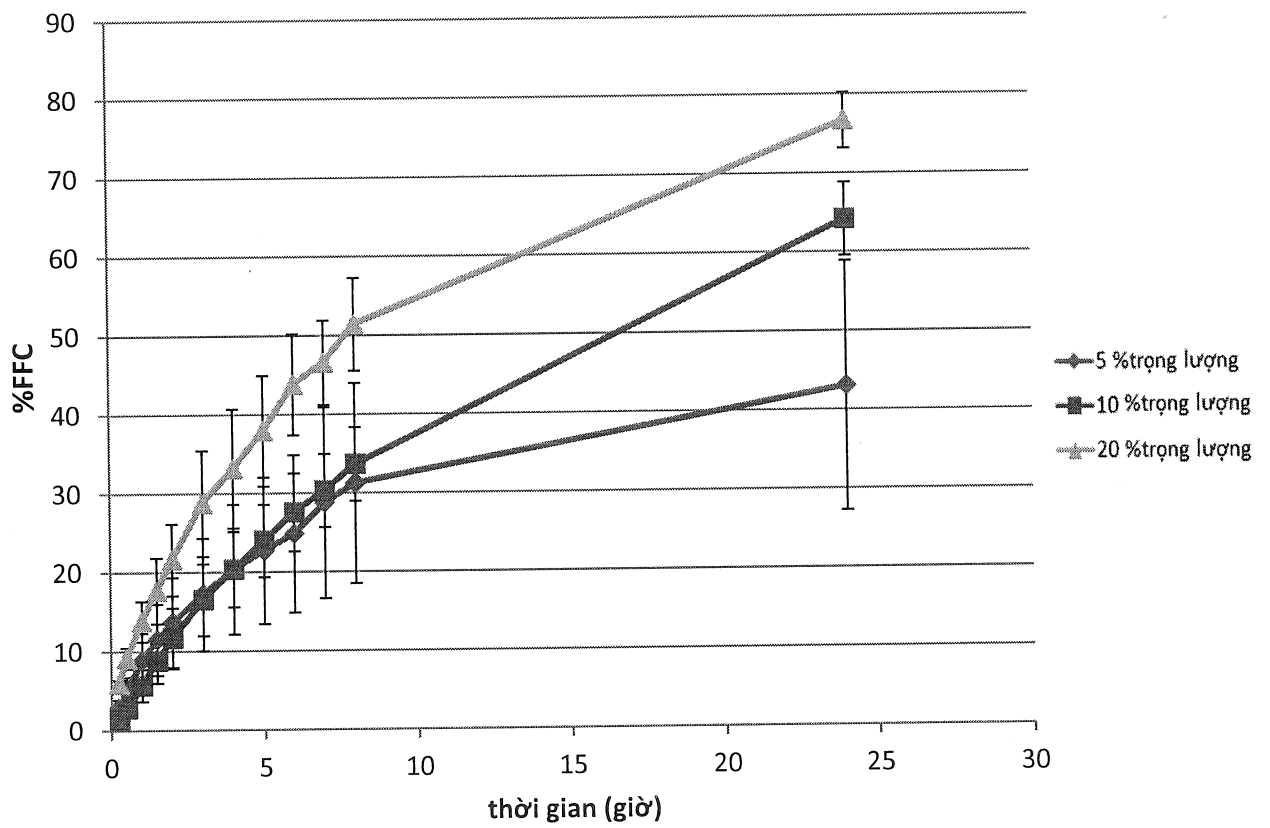
8. Chế phẩm được theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó đồng dung môi hữu cơ là N-metyl pyrrolidon, và trong đó florfenicol có mặt ở nồng độ từ 25% trọng lượng đến 50% trọng lượng.

9. Chế phẩm được theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó đồng dung môi hữu cơ là N-metyl pyrrolidon, và trong đó florfenicol có mặt ở nồng độ từ 35% khối lượng đến 50% khối lượng.

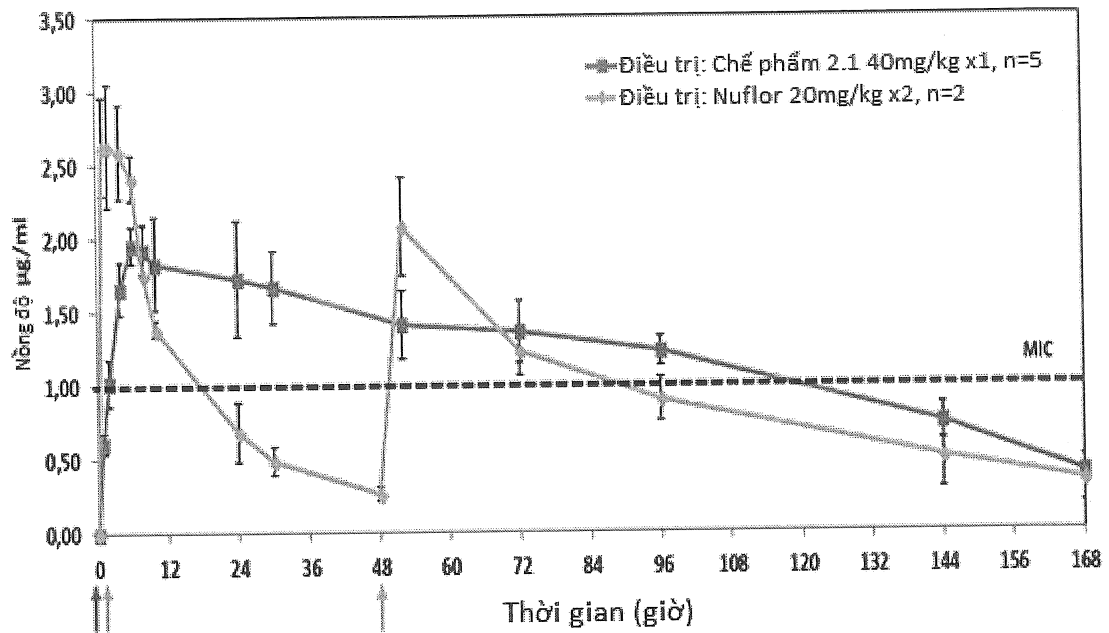
10. Chế phẩm được theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9 để sử dụng trong việc điều trị nhiễm trùng thú y ở động vật không phải người bằng cách dùng cho động vật đó một liều thuốc kháng sinh có hiệu quả về mặt dược lý trong chế phẩm, trong đó việc sử dụng bao gồm tiêm bắp hoặc tiêm dưới da.



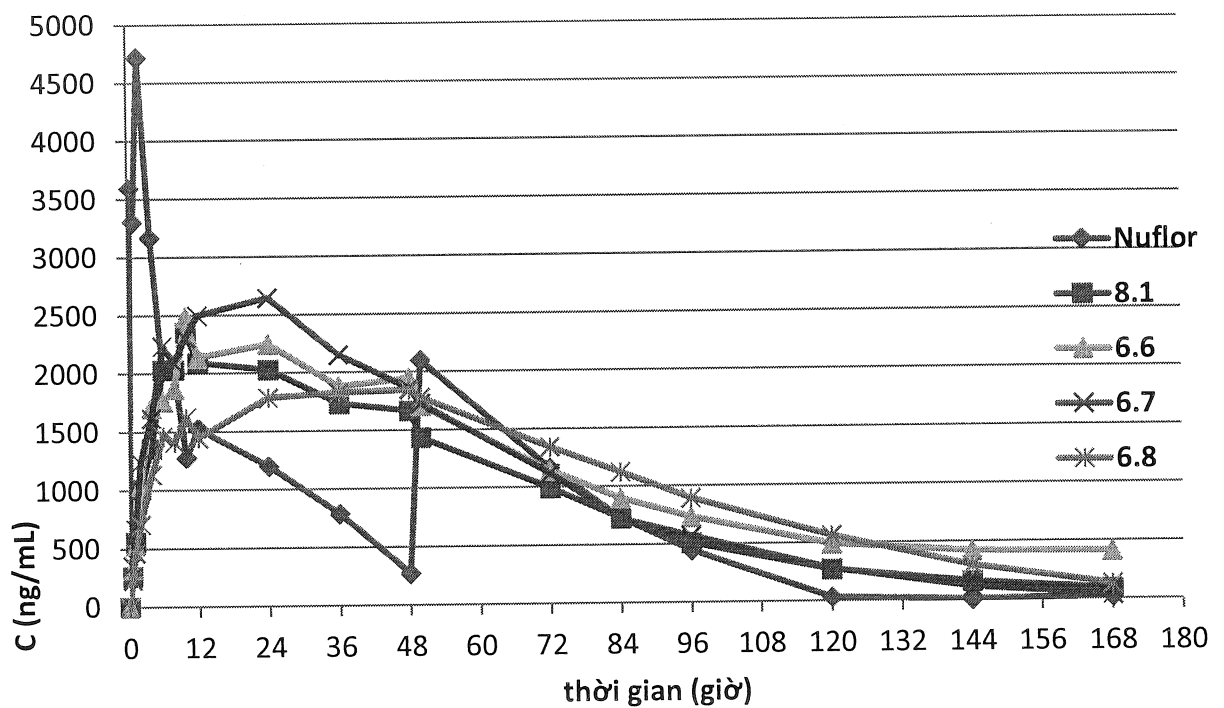
HÌNH 1



HÌNH 2



HÌNH 3



HÌNH 4