



(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) 
1-0020570

(51)⁷ **A61K 9/127, 31/4745, A61P 35/00**

(13) **B**

(21) 1-2012-01781

(22) 03.12.2009

(86) PCT/CN2009/075298 03.12.2009

(87) WO2011/066684 09.06.2011

(45) 25.03.2019 372

(43) 25.10.2012 295

(73) 1. JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD. (CN)

No.145 East Renmin Road, Xipu District, Lianyungang, Jiangsu 222002, China

2. SHANGHAI HENGRUI PHARMACEUTICAL CO., LTD. (CN)

No.279 Wenjing Road, Minhang District, Shanghai 200245, China

(72) TONG, Xinyong (CN), LEI, Guofeng (CN), YU, Chengxia (CN), CHEN, Liang (CN)

(74) Văn phòng luật sư Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) **LIPOSOM CHỨA IRINOTECAN HOẶC IRINOTECAN HYDROCLORUA, PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ LIPOSOM NÀY, THUỐC TIÊM LIPOSOM VÀ QUY TRÌNH BÀO CHẾ THUỐC TIÊM LIPOSOM NÀY**

(57) Sáng chế đề cập đến liposom chứa irinotecan hoặc hydroclorua của nó và phương pháp điều chế liposom này. Liposom này chứa irinotecan hoặc hydroclorua của nó, phospholipit trung tính và cholesterol, trong đó tỷ lệ khối lượng giữa cholesterol và phospholipit trung tính nằm trong khoảng từ 1:3 đến 1:5. Liposom này được điều chế bằng phương pháp gradien ion. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến thuốc tiêm liposom và quy trình bào chế thuốc tiêm liposom này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến liposom chứa irinotecan hoặc hydroclorua của nó và phương pháp điều chế liposom này và thuốc tiêm chứa liposom này và quy trình bào chế thuốc tiêm này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Irinotecan là dẫn xuất bán tổng hợp của camptothecin. Camptothecin có thể gắn kết đặc hiệu với topoisomerase I, gây đứt gãy sợi đơn ADN có thể phục hồi, và sau đó tháo cấu trúc sợi đôi ADN ra. Irinotecan và chất chuyển hóa có hoạt tính của nó SN-38 có thể gắn kết với phức topoisomerase I-ADN, nhờ đó ngăn cản quá trình tái liên kết ở chỗ gãy sợi đơn. Đã chứng minh được rằng tính độc tế bào của irinotecan có thể là do sự tương tác của replicaza và phức bộ ba topoisomerase I-ADN-irinotecan (hoặc SN-38), dẫn tới phá vỡ sợi đôi ADN trong quá trình tổng hợp ADN.

Irinotecan hydroclorua được sử dụng rộng rãi trong điều trị u ác tính do có ưu điểm về tác dụng dược lý và hiệu quả lâm sàng rõ rệt. Tuy nhiên, nó có cùng nhược điểm như các dẫn xuất camptothecin khác: vòng lacton bão hòa trong cấu trúc của irinotecan phụ thuộc vào độ pH và có thể bị chuyển thành dạng carboxyl hóa của nó một cách thuận nghịch dưới các điều kiện sinh lý học, khiến cho hoạt tính chống khối u bị yếu đi. Các chế phẩm thương mại chứa irinotecan hydroclorua hiện đang được dùng là thuốc tiêm dạng lỏng và bột đông khô để tiêm. Sau khi tiêm vào tĩnh mạch trong điều trị lâm sàng, dược chất tự do sẽ mất hoạt tính do vòng lacton trong cấu trúc của nó có xu hướng bị thủy phân thành dạng carboxyl hóa trong môi trường sinh lý có tính kiềm, do đó làm giảm tác dụng của thuốc một cách gián tiếp. Và các chế phẩm này còn có tác dụng phụ nghiêm trọng, chủ yếu là gây giảm bạch cầu trung tính và tiêu chảy kéo dài.

Liposom được nghiên cứu rộng rãi làm chất mang dược chất trong những

năm gần đây. Đặc tính chính của liposom là bảo vệ dược chất được bao nang, tăng độ ổn định của dược chất, thay đổi trạng thái phân bố *in vivo* của dược chất, và đưa dược chất đến vùng bị bệnh theo cách thụ động hoặc chủ động. Liposom là chất mang hiệu quả cho các dược chất chống ung thư, có thể cải thiện hiệu quả của dược chất và làm giảm độc tính của dược chất.

Công bố đơn quốc tế số WO2005/117878 đã bộc lộ chế phẩm chứa liposom irinotecan và phương pháp bào chế nó. Chế phẩm này chứa irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua, phospholipit được chọn từ nhóm bao gồm phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa, phosphatidyletanolamin, lexitin và cardiolipin, và cholesterol. Tương tự, đơn patent Trung Quốc số CN1994279A cũng đã bộc lộ chế phẩm chứa liposom irinotecan và phương pháp bào chế nó, trong đó phosphatidylcholin được sử dụng làm phospholipit để điều chế liposom trong ví dụ 5.

Chou và các đồng tác giả (Effect of Composition on the Stability of Liposomal Irinotecan Prepared by a pH Gradient Method; Journal of Bioscience and Bioengineering, Vol 95, No 4, 405-408, 2003) bộc lộ irinotecan liposom có HSPC/Chol là 100:30.

Các chế phẩm nêu trong các tài liệu patent trên có thể đạt được hiệu quả tốt. Tuy nhiên, khi các chế phẩm này được sử dụng cho con người, thì độ ổn định, cỡ hạt và các yếu tố tương tự vẫn chưa đạt mức thỏa đáng.

Bản chất kỹ thuật sáng chế

Sáng chế đề xuất liposom chứa irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua, có khả năng chứa nhiều dược chất hơn, có hiệu quả bao nang cao, độ ổn định tốt và phù hợp để bào chế thành chế phẩm.

Cho đến nay, một số tài liệu (ví dụ, công bố đơn quốc tế số WO2005/117878 và CN1994279A) đã mô tả thành phần và phương pháp điều chế liposom irinotecan. Một vài chế phẩm trong số này có các chỉ số tốt. Tuy nhiên, không có thông tin nào về khả năng kiểm soát độ ổn định và cỡ hạt. Sau nhiều nghiên cứu sâu về liposom, các tác giả sáng chế đã bất ngờ phát hiện ra

rằng lượng cholesterol có ảnh hưởng đặc biệt đến cỡ hạt và độ ổn định của liposom khi loại thành phần không có hoạt tính được chọn và lượng được dùng trong chế phẩm đáp ứng một số điều kiện. Các tác giả sáng chế đã điều chế thành công liposom có sự phân bố cỡ hạt nhỏ và đồng nhất và đã cải thiện được độ ổn định của nó bằng cách điều chỉnh tỷ lệ giữa phospholipit trung tính và cholesterol. So với các chế phẩm khác, liposom theo sáng chế có độ ổn định khi bảo quản cao hơn, và các chỉ số khác cũng được cải thiện một cách đáng kể. Ngoài ra, so với các giải pháp được mô tả trong công bố đơn quốc tế WO2005/117878 và CN1994279A, các sản phẩm này không chứa hợp chất có nhóm chức bazơ và chất béo cation. Và liposom theo sáng chế có tác dụng chống khối u tốt và có ưu điểm ở chỗ có thành phần đơn giản, khả năng chứa được chất cao và độ ổn định tốt khi bảo quản.

Liposom theo sáng chế chứa irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua, phospholipit trung tính và cholesterol, và tỷ lệ khối lượng giữa cholesterol và phospholipit trung tính nằm trong khoảng từ 1:3 đến 1:5, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1:3,5 đến 1:4,5, tốt nhất là bằng 1:4, đặc trưng ở chỗ, tỷ lệ khối lượng giữa phospholipit trung tính và irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua nằm trong khoảng từ 2:1 đến 5:1, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2,5:1 đến 4:1, và trong đó phospholipit trung tính này bao gồm phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa.

Phospholipit trung tính được sử dụng trong sáng chế này được chọn từ nhóm bao gồm phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa (HSPC), phosphatidylcholin trứng (EPC), phosphatidylcholin đậu tương (SPC) và các chất tương tự. Hiệu quả thu được là tốt nhất khi phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa được sử dụng làm phospholipit trung tính. Khả năng chứa được chất của liposom có thể được cải thiện rất nhiều khi tỷ lệ khối lượng giữa được chất và phospholipit được điều chỉnh trong khoảng rộng như sau:

Irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua	1
phospholipit trung tính	từ 2 đến 5, tốt hơn là từ 2,5 đến 4.

Liposom theo sáng chế có thể được điều chế bằng các phương pháp điều chế liposom thông thường trong lĩnh vực này, tốt hơn là bằng phương pháp gradien ion. Khi sử dụng phương pháp này, gradien ion được tạo ra bởi dung dịch đậm giữa pha nước bên trong và pha nước bên ngoài của liposom này. Tốt hơn nếu pha nước bên trong của liposom này có nồng độ ion cao hơn pha nước bên ngoài, điều này có thể cải thiện độ ổn định cỡ hạt liposom trong giai đoạn bảo quản, duy trì tác dụng thuốc tốt hơn, và có thể kiểm soát cỡ hạt trung bình của liposom nhỏ và đồng nhất, cho phép làm giảm độ thay đổi cỡ hạt liposom xuống mức nhỏ nhất trong giai đoạn bảo quản.

Trong sáng chế, độ thay đổi cỡ hạt liposom trong giai đoạn bảo quản có thể được làm giảm xuống mức nhỏ nhất bằng cách bổ sung dẫn xuất lipid của polyme ưa nước vào chế phẩm. Và, thời gian quay vòng của liposom *in vivo* có thể được kéo dài bằng cách bổ sung dẫn xuất polyetylen glycol vào chế phẩm. Dẫn xuất polyetylen glycol được chọn từ nhóm bao gồm polyetylen glycol 2000-distearoyl phosphatidyl etanolamin (DSPE-PEG₂₀₀₀), polyetylen glycol 5000-distearoyl phosphatidyl etanolamin, polyetylen glycol 2000-dipalmitoyl phosphatidyl etanolamin, polyetylen glycol 5000-dipalmitoyl phosphatidyl etanolamin. Để cải thiện tác dụng thuốc trong thời gian dài, dẫn xuất lipid của polyme ưa nước được ưu tiên bổ sung vào liposom theo sáng chế. Với tỷ lệ trong chế phẩm này, DSPE-PEG₂₀₀₀ có tác dụng rõ ràng nhất. Tỷ lệ khối lượng được ưu tiên giữa dẫn xuất lipid và irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua nằm trong khoảng từ 0,2 đến 0,4.

Liposom này có thể còn chứa phospholipid mang điện tích được chọn từ nhóm bao gồm đilauroyl phosphatidylglyxerol, dipalmitoyl phosphatidylglyxerol, distearoyl phosphatidylglyxerol, đimyristat phosphatidylglyxerol, axit dioleic phosphatidylserin, dioleoyl phosphatidylglyxerol, axit phosphatidic đilauroyl, axit phosphatidic đimyristat, axit phosphatidic distearoyl và hỗn hợp của chúng, và tỷ lệ khối lượng giữa phospholipid mang điện tích và phospholipid trung tính nằm trong khoảng từ 1:5 đến 1:100.

Tốt hơn là liposom theo sáng chế có tỷ lệ khối lượng các thành phần như sau:

irinotecan hydroclorua	1
phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa	3,4-3,8
polyetylen glycol 2000-distearoyl phosphatidyl etanolamin	0,34-0,38
cholesterol	0,8-0,95,

và tỷ lệ giữa cholesterol và phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa bằng 1:4.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp điều chế liposom chứa irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua. Liposom theo sáng chế có thể được điều chế bằng phương pháp điều chế liposom thông thường. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể chọn các phương pháp khác nhau để điều chế liposom có thành phần được đề xuất bởi sáng chế này. Với chế phẩm chứa liposom theo sáng chế, phương pháp điều chế gradien ion được ưu tiên sử dụng. Phương pháp này bao gồm các bước sau:

1) điều chế liposom trống bằng phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp từ A đến D như sau:

A. hoà tan phospholipit trung tính và cholesterol vào etanol khan hoặc hỗn hợp dung môi chứa etanol khan và rượu tert-butylic theo tỷ lệ mong muốn, trộn hỗn hợp này với dung dịch đệm để thu được liposom trống thô sau khi loại bỏ etanol bằng cách chưng cất ở áp suất thấp, và sau đó điều chế liposom trống có cỡ hạt mong muốn bằng cách sử dụng thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao và/hoặc thiết bị ép đùn;

B. hoà tan phospholipit trung tính và cholesterol vào clorofom hoặc hỗn hợp dung môi clorofom-metanol theo tỷ lệ mong muốn, tạo ra màng lipid nhờ máy cô quay, bổ sung dung dịch đệm để hydrat hóa nhằm thu được liposom trống thô, và sau đó điều chế liposom trống có cỡ hạt mong muốn bằng cách sử dụng thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao và/hoặc thiết bị ép đùn;

C. trộn phospholipit trung tính, cholesterol và dung dịch đệm theo tỷ lệ mong muốn, sau đó điều chế liposom trống có cỡ hạt mong muốn bằng cách sử dụng thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao và/hoặc thiết bị ép đùn;

D. hoà tan phospholipit trung tính và cholesterol vào etanol khan hoặc hỗn hợp dung môi chứa etanol khan và rượu tert-butylic theo tỷ lệ mong muốn, trộn hỗn hợp với dung dịch đệm, và sau đó điều chế liposom trống có cỡ hạt mong

muốn bằng cách sử dụng thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao và/hoặc thiết bị ép đùn;

2) tạo ra gradien ion giữa pha nước bên trong và pha nước bên ngoài của liposom trống: thay thế pha nước bên ngoài của liposom trống để tạo ra gradien ion giữa pha nước bên trong và pha nước bên ngoài của liposom trống;

3) điều chế liposom chứa được chất: điều chế dung dịch nước chứa irinotecan hydroclorua, bổ sung nó vào thể phân tán chứa liposom trống có gradien ion, và sau đó ủ thể phân tán này để thu được liposom chứa được chất dưới điều kiện đun nóng và khuấy.

Sau bước thứ 3 của quá trình điều chế liposom chứa được chất nêu trên, phương pháp này có thể còn bao gồm bước sau:

4) loại bỏ được chất tự do và cô mẫu: bổ sung môi trường đệm vào liposom irinotecan hydroclorua, loại bỏ được chất không được bao nang bằng cách sử dụng thiết bị dòng tiếp tuyến, và cô mẫu đến thể tích thích hợp.

Sáng chế còn đề xuất thuốc tiêm liposom chứa liposom nêu trên. Khi liposom được bào chế thành thuốc tiêm thích hợp để sử dụng cho người, có lợi nếu bổ sung chất làm ổn định. Chất làm ổn định được sử dụng theo sáng chế có thể là chất làm ổn định thông thường, như vitamin E, axit etylen điamin tetraaxetic, và v.v.. Chất làm ổn định giúp cho việc ổn định chế phẩm. Đối với chế phẩm nêu trên, việc nghiên cứu chất làm ổn định chỉ ra rằng axit etylen điamin tetraaxetic hoặc muối của nó có tác dụng tốt nhất so với các chất làm ổn định khác. Chúng có lợi trong việc cải thiện độ ổn định của liposom. Do đó, chất làm ổn định có thể là axit etylen điamin tetraaxetic, dinatri của axit etylen điamin tetraaxetic và đicanxi của axit etylen điamin tetraaxetic hoặc hỗn hợp của chúng. Tỷ lệ chất làm ổn định được bổ sung nằm trong khoảng từ 0% đến 0,5% (khối lượng/thể tích - w/v), và giá trị tối thiểu không bằng 0%.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là biểu đồ thể hiện sự phân bố cỡ hạt của thuốc tiêm liposom chứa irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua theo sáng chế.

Fig.2 là ảnh chụp cấu trúc của thuốc tiêm liposom chứa irinotecan hoặc

irinotecan hydroclorua theo sáng chế.

Fig.3 là đồ thị thể hiện kết quả thử nghiệm tác dụng chống ung thư *in vivo* của thuốc tiêm liposom chứa irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua theo sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Tốt hơn nếu chế phẩm theo sáng chế chứa chất chống oxy hóa được chọn từ nhóm bao gồm chất chống oxy hóa dễ tan trong nước và chất chống oxy hóa dễ tan trong dầu, trong đó chất chống oxy hóa dễ tan trong dầu được chọn từ nhóm bao gồm α -tocopherol, α -tocopherol suxinat, α -tocopherol axetat và hỗn hợp của chúng, còn chất chống oxy hóa dễ tan trong nước được chọn từ nhóm bao gồm axit ascorbic, natri bisulfit, natri sulfit, natri pyrosulfit, L-xystein và hỗn hợp của chúng. Tỷ lệ chất chống oxy hóa được bổ sung nằm trong khoảng từ 0% đến 0,5% (w/v), và giá trị tối thiểu không bằng 0%.

Thuốc tiêm có thể ở dạng lỏng hoặc bột đông khô để tiêm. Chế phẩm này có thể chứa chất điều chỉnh áp suất thẩm thấu được chọn từ nhóm bao gồm glucoza, sucroza, sorbitol, manitol, natri clorua, glyxerin, histidin và hydroclorua của nó, glyxin và hydroclorua của nó, lysin, serin, axit glutamic, arginin, valin và hỗn hợp của chúng. Tỷ lệ chất điều chỉnh áp suất thẩm thấu được bổ sung nằm trong khoảng từ 0% đến 5% (w/v), và giá trị tối thiểu không bằng 0%.

Với chế phẩm dạng bột đông khô để tiêm, thuốc tiêm còn chứa chất bảo vệ thành phần đông khô, và sau đó thuốc tiêm được điều chế thành bột đông khô để tiêm sau khi đông khô. Chất bảo vệ thành phần đông khô được chọn từ nhóm bao gồm glucoza, sucroza, trehaloza, manitol, dextran, lactoza và hỗn hợp của chúng.

Tốt hơn nếu thuốc tiêm liposom theo sáng chế có tỷ lệ khối lượng các thành phần như sau:

irinotecan hydroclorua	1
phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa	3,4-3,8
polyetylen glycol 2000 - distearoyl phosphatidyl etanolamin	0,34-0,38
cholesterol	0,8-0,95
đinatri của axit etylen điamin tetraaxetic	0,05-0,09,

và tỷ lệ giữa cholesterol và phosphatidylcholin đầu tương được hydro hóa bằng 1:4.

Quy trình bào chế thuốc tiêm nêu trên bao gồm các bước sau:

1) điều chế liposom trống bằng phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp từ A đến D sau:

A. hoà tan phospholipit trung tính và cholesterol vào etanol khan hoặc hỗn hợp dung môi của etanol khan và rượu tert-butylic theo tỷ lệ mong muốn, trộn hỗn hợp này với dung dịch đệm để thu được liposom trống thô sau khi loại etanol bằng cách chưng cất ở áp suất thấp, và sau đó điều chế liposom trống có cỡ hạt mong muốn bằng cách sử dụng thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao và/hoặc thiết bị ép đùn;

B. hoà tan phospholipit trung tính và cholesterol vào clorofom hoặc hỗn hợp dung môi clorofom-metanol theo tỷ lệ mong muốn, tạo ra màng lipid nhờ máy cô quay, bổ sung dung dịch đệm để hydrat hóa nhằm thu được liposom trống thô, và sau đó điều chế liposom trống có cỡ hạt mong muốn bằng cách sử dụng thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao và/hoặc thiết bị ép đùn;

C. trộn phospholipit trung tính, cholesterol và dung dịch đệm theo tỷ lệ mong muốn, sau đó điều chế liposom trống có cỡ hạt mong muốn bằng cách sử dụng thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao và/hoặc thiết bị ép đùn;

D. hoà tan phospholipit trung tính và cholesterol vào etanol khan hoặc hỗn hợp dung môi của etanol khan và rượu tert-butylic theo tỷ lệ mong muốn, trộn hỗn hợp này với dung dịch đệm, và sau đó điều chế liposom trống có cỡ hạt mong muốn bằng cách sử dụng thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao và/hoặc thiết bị ép đùn;

2) tạo ra gradien ion giữa pha nước bên trong và pha nước bên ngoài của liposom trống: thay thế pha nước bên ngoài của liposom trống để tạo ra gradien ion giữa pha nước bên trong và pha nước bên ngoài của liposom trống;

3) điều chế liposom chứa dược chất: điều chế dung dịch nước chứa irinotecan hydroclorua, bổ sung nó vào thể phân tán chứa liposom trống có gradien ion, và sau đó ủ thể phân tán này để thu được liposom chứa dược chất dưới điều kiện đun nóng và khuấy.

Sau bước 3 của quá trình điều chế liposom chứa dược chất nêu trên, quy trình nêu trên có thể còn bao gồm bước sau:

4) loại bỏ dược chất tự do và cô mẫu: bổ sung môi trường đệm vào liposom irinotecan hydroclorua, loại bỏ dược chất không được bao nang bằng cách sử dụng thiết bị dòng tiếp tuyến, và cô mẫu đến thể tích thích hợp.

Sau khi thu được liposom, nồng độ dược chất được điều chỉnh bằng cách pha loãng đến thể tích xác định; liposom được khử trùng bằng cách lọc, sau đó được nạp vào lọ và được hàn kín để thu được thuốc tiêm liposom. Hoặc sau khi chất bảo vệ thành phần đông khô được bổ sung vào mẫu thuốc liposom, nồng độ dược chất được điều chỉnh bằng cách pha loãng đến thể tích xác định, liposom được khử trùng bằng cách lọc, sau đó được nạp vào lọ, được làm kín và được đông khô để thu được bột liposom đông khô để tiêm.

Hiệu quả có lợi của sáng chế:

Chế phẩm liposom chứa irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua theo sáng chế khắc phục được nhiều nhược điểm của các sản phẩm và các công nghệ đã biết. Độ ổn định thuốc có thể được cải thiện bằng cách bao dược chất trong pha nước bên trong của liposom. Do dược chất ở dạng vòng lacton *in vivo*, nồng độ của chất chuyển hóa có hoạt tính SN-38 được duy trì trong thời gian dài trong huyết tương. Nói chung, chế phẩm liposom chứa irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua có thể làm tăng hiệu lực của chế phẩm và làm giảm tác dụng phụ của thuốc.

Chế phẩm liposom chứa irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua theo sáng chế đã giải quyết được vấn đề về khả năng chứa ít dược chất trong liposom bằng cách kiểm soát tỷ lệ riêng giữa dược chất, phospholipit và cholesterol. Tỷ lệ dược chất và lipit trong thuốc tiêm liposom là trên 0,25 (w/w), và hiệu quả bao nang là trên 90%, tốt hơn là trên 95%. Liposom điều chế được theo sáng chế có cỡ hạt nhỏ hơn và độ ổn định của nó có thể được tăng bằng cách tối ưu hóa liều lượng cholesterol và phospholipit. Bằng cách sàng lọc chất làm ổn định, tốt hơn nếu một tỷ lệ nhất định các muối của axit etylen điamin tetraaxetic được bổ sung vào chế phẩm để cải thiện đáng kể độ ổn định của liposom, và sự phân bố cỡ hạt của liposom là đồng nhất trong khoảng từ 10nm đến 220nm. Kết quả thử nghiệm về

yếu tố ảnh hưởng đến thuốc tiêm liposom chứa irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua chỉ ra rằng cỡ hạt và hiệu quả bao nang của mẫu không có thay đổi đáng kể nào khi được để ở nhiệt độ 40°C trong 10 ngày, và tất cả các chỉ số đều đáp ứng được yêu cầu. So sánh với các chế phẩm có bán trên thị trường, thuốc tiêm liposom chứa irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua làm tăng đáng kể tỷ lệ ức chế khối u và làm giảm đáng kể độc tính của nó.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau nhằm làm rõ hơn sáng chế, nhưng không giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1

Thành phần chế phẩm:

irinotecan hydroclorua	0,28g	0,28g	0,28g	0,28g	0,28g
phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa	1g	1g	1g	1g	1g
cholesterol	0,4g	0,33g	0,25g	0,2g	0,167g
DSPE-PEG ₂₀₀₀	0,1g	0,1g	0,1g	0,1g	0,1g
amoni sulfat	5g	5g	5g	5g	5g
natri clorua	0,45g	0,45g	0,45g	0,45g	0,45g
cholesterol: phospholipit	1:2,5	1:3	1:4	1:5	1:6
nước để tiêm	cho đến thể tích cần có				

Phương pháp điều chế:

Hoà tan phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa (HSPC) và cholesterol (CHOL) theo tỷ lệ trên trong lượng thích hợp etanol khan, dung dịch lipid thu được được trộn với dung dịch amoni sulfat (100ml), etanol được loại bỏ bằng cách chưng cất ở áp suất thấp để thu được liposom trống thô. Sau 5 chu kỳ đồng nhất hóa trong thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao (1000 bar (100.000 kPa)), cỡ hạt liposom được điều chỉnh bằng cách ép đùn liposom trong thiết bị ép đùn (2 màng ép đùn cỡ 0,1µm trong thiết bị ép đùn, 5 lần ép đùn), và sau đó bổ sung dung dịch nước DSPE-PEG₂₀₀₀. Dưới điều kiện khuấy, hỗn hợp này được ủ trong 20 phút. Liposom trống được thẩm tách bằng cách sử dụng thiết bị siêu lọc dòng tiếp tuyến có bổ sung liên tục nước để tiêm vào dòng này, cuối cùng thu được liposom trống.

Dung dịch nước chứa irinotecan hydroclorua được điều chế bằng nước để

tiêm và được bổ sung vào thể phân tán chứa liposom trống có gradien ion trên theo tỷ lệ khối lượng giữa irinotecan hydroclorua và HSPC bằng 1:3,5. Dưới điều kiện khuấy, hỗn hợp này được đun nóng đến nhiệt độ 60°C và được ủ trong 20 phút, và sau đó thu được liposom chứa dược chất. Dược chất không được bao nang được loại ra bằng cách sử dụng thiết bị siêu lọc dòng tiếp tuyến. 0,45g natri clorua được bổ sung vào để điều chỉnh áp suất thẩm thấu sau khi mẫu được cô đến 50ml. Sau khi nồng độ dược chất được điều chỉnh bằng cách pha loãng đến thể tích xác định, liposom được khử trùng bằng cách lọc qua màng lọc cỡ 0,22µm, được nạp vào lọ nhỏ trong môi trường khí bảo vệ nitơ, và được hàn kín. Cuối cùng thu được thuốc tiêm liposom chứa irinotecan hydroclorua.

Sự thay đổi cỡ hạt của mỗi chế phẩm được thể hiện trong bảng dưới đây. Kết quả này chỉ ra rằng cỡ hạt của mẫu là nhỏ nhất khi tỷ lệ khối lượng giữa phospholipit và cholesterol bằng 4:1.

HSPC: CHOL	Quy trình điều chế	Cỡ hạt trung bình
6:1	Sau khi đồng nhất hóa	138,7
	0,1µm 5 lần ép đùn	92,26
5:1	Sau khi đồng nhất hóa	136,2
	0,1µm 5 lần ép đùn	89,5
4:1	Sau khi đồng nhất hóa	123,4
	0,1µm 5 lần ép đùn	87,26
3:1	Sau khi đồng nhất hóa	145,1
	0,1µm 5 lần ép đùn	93,4
2,5:1	Sau khi đồng nhất hóa	142
	0,1µm 5 lần ép đùn	98,56

Độ ổn định của mẫu thu được được nghiên cứu ở nhiệt độ 25°C ở các tỷ lệ khối lượng khác nhau giữa phospholipit và cholesterol. Kết quả được thể hiện trong bảng dưới đây. Sau khi bảo quản ở nhiệt độ 25°C trong 60 ngày, cỡ hạt và hiệu quả bao nang của mẫu không có sự thay đổi đáng kể nào khi tỷ lệ khối lượng giữa phospholipit và cholesterol bằng 4:1. Tuy nhiên, với các mẫu có các

tỷ lệ khác giữa phospholipit và cholesterol, cỡ hạt của mẫu tăng lên và hiệu quả bao nang bị giảm. Do đó, độ ổn định của mẫu là tốt hơn khi tỷ lệ khối lượng giữa phospholipit và cholesterol bằng 4:1.

HSPC: CHOL	Thời gian bảo quản (25°C, ngày)	Đặc điểm	Hiệu quả bao nang %	Cỡ hạt (z-v) nm	Điện thế (mv)	Hàm lượng (mg/ml)	Tổng lượng tạp chất %	Lysophospholipit
6:1	0	Huyền phù màu trắng nhờ	98,86	92,3	-30,5	5,05	0,58	0,39
	30	Huyền phù màu trắng nhờ	98,56	94,3	-26,8	5,04	0,75	0,56
	60	Huyền phù màu trắng nhờ	98,20	95,9	-24,9	5,06	0,85	0,66
4:1	0	Huyền phù màu trắng nhờ	99,37	87,3	-32,1	5,10	0,55	0,40
	30	Huyền phù màu trắng nhờ	99,25	87,5	-30,9	5,11	0,64	0,50
	60	Huyền phù màu trắng nhờ	99,18	87,8	-28,6	5,09	0,70	0,62
2,5:1	0	Huyền phù màu trắng nhờ	99,27	98,5	-35,8	5,12	0,60	0,38
	30	Huyền phù màu trắng nhờ	98,75	100,2	-28,6	5,09	0,73	0,51
	60	Huyền phù màu trắng nhờ	98,19	101,7	-25,3	5,07	0,84	0,67

Kết luận:

Xem xét các chỉ số, thấy rằng có thể đạt được kết quả tốt hơn khi tỷ lệ giữa cholesterol và phospholipit nằm trong khoảng từ 1:3 đến 1:5, tốt nhất là khi tỷ lệ này bằng 1:4.

Ví dụ 2

Thành phần chế phẩm:

irinotecan hydroclorua	0,28g
phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa (HSPC)	1g
polyetylen glycol 2000-distearoyl phosphatidyletanolamin (DSPE-PEG ₂₀₀₀)	0,1g
cholesterol	0,25g
amoni sulfat	5g
đinatri của axit etylen điamin tetraaxetic	0,02g
natri clorua	0,45g
nước để tiêm	cho đến thể tích cần có

Phương pháp điều chế:

Hoà tan phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa và cholesterol theo tỷ lệ trên trong lượng thích hợp etanol khan, dung dịch lipit thu được được trộn với dung dịch amoni sulfat (100 ml), etanol khan được loại bỏ bằng cách chưng cất ở áp suất thấp để thu được liposom trống thô. Sau 5 chu kỳ đồng nhất hóa trong thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao (1000 bar (100.000 kPa)), cỡ hạt của liposom được điều chỉnh bằng cách ép đùn liposom trong thiết bị ép đùn (2 màng ép đùn cỡ 0,1µm trong thiết bị ép đùn, 5 lần ép đùn), và sau đó bổ sung dung dịch nước chứa DSPE-PEG₂₀₀₀. Dưới điều kiện khuấy, hỗn hợp này được ủ trong 20 phút. Liposom trống được thẩm tách bằng cách sử dụng thiết bị siêu lọc dòng tiếp tuyến có bổ sung liên tục nước để tiêm vào dòng này, cuối cùng thu được liposom trống.

Dung dịch nước chứa irinotecan hydroclorua được điều chế bằng nước để tiêm và được bổ sung vào thể phân tán chứa liposom trống có gradien ion nêu trên theo tỷ lệ khối lượng giữa irinotecan hydroclorua và HSPC bằng 1:3,5. Dưới điều kiện khuấy, hỗn hợp này được đun nóng đến nhiệt độ 60°C và được ủ trong 20 phút để thu được liposom chứa được chất. Dược chất không được bao nang được loại bỏ bằng cách sử dụng thiết bị siêu lọc dòng tiếp tuyến. 0,45g natri

clorua được bổ sung vào để điều chỉnh áp suất thẩm thấu sau khi mẫu này được cô đến thể tích khoảng 50ml. Sau khi nồng độ được chất được điều chỉnh bằng cách pha loãng đến thể tích nhất định, liposom được khử trùng bằng cách lọc bằng màng lọc cỡ 0,22 μ m, được nạp vào lọ nhỏ trong môi trường khí bảo vệ nitơ, và được hàn kín. Cuối cùng thu được thuốc tiêm liposom chứa irinotecan hydroclorua.

Ví dụ 3

Thành phần chế phẩm và phương pháp điều chế liposom trống là giống như trong ví dụ 2, chỉ khác ở chỗ tỷ lệ khối lượng giữa irinotecan hydroclorua và HSPC là 1:1,5, 1:2, 1:3,5, 1:4 và 1:5 trong quá trình điều chế liposom. Hiệu quả bao nang và cỡ hạt của mẫu liposom chứa irinotecan hydroclorua được thể hiện trong bảng dưới đây:

CPT11:HSPC	Hiệu quả bao nang (%)	Lượng dược chất được nạp (mg/ml)	Cỡ hạt (nm)
1:1,5	83,2	5,11	87,1
1:2	90,8	5,15	86,5
1:3,5	99,4	5,08	85,9
1:4	99,1	4,81	85,4
1:5	99,4	4,25	86,7

Các kết quả này cho thấy rằng hiệu quả bao nang bị giảm đáng kể khi tỷ lệ khối lượng giữa irinotecan hydroclorua và HSPC bằng 1:1,5, và lượng dược chất được nạp bị giảm rõ rệt khi tỷ lệ bằng 1:5. Hai tỷ lệ này là không phù hợp để điều chế chế phẩm dùng trong lâm sàng. Hiệu quả bao nang và lượng dược chất được nạp là cao hơn khi tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 1:2 đến 1:4.

Ví dụ 4

Chế phẩm và phương pháp điều chế liposom trống và liposom chứa dược chất là giống như trong ví dụ 2, chỉ khác ở chỗ HSPC trong chế phẩm được thay lần lượt bằng phosphatidylcholin trứng (EPC) có độ tinh khiết cao, phosphatidylcholin đậu tương (SPC) có độ tinh khiết cao. Độ ổn định của mẫu

liposom thu được được nghiên cứu ở nhiệt độ 25°C và kết quả được thể hiện trong bảng dưới đây. Kết quả thử nghiệm cho thấy rằng độ ổn định của mẫu liposom được điều chế bằng HSPC là tốt nhất và các chỉ số chính không có sự thay đổi rõ rệt nào khi được bảo quản ở nhiệt độ 25°C trong 2 tháng.

Thời gian	Chế phẩm PC	Hiệu quả bao nang (%)	Lượng dược chất được nạp (mg/ml)	Cỡ hạt (nm)
0 tháng	HSPC	99,4	5,08	85,9
	EPC	99,5	5,10	87,5
	SPC	99,2	5,01	86,9
1 tháng	HSPC	99,5	5,10	85,5
	EPC	92,4	5,07	88,2
	SPC	93,9	5,05	87,3
2 tháng	HSPC	98,7	5,07	86,5
	EPC	85,8	5,06	93,2
	SPC	89,6	5,02	91,5

Ví dụ 5

Thành phần chế phẩm:

irinotecan hydroclorua	0,28g
phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa (HSPC)	1g
polyetylen glycol 2000-distearoyl phosphatidyletanolamin (DSPE-PEG ₂₀₀₀)	0,1g
cholesterol	0,25g
dung dịch nước muối	50ml
nước để tiêm	cho đến thể tích cần có

Phương pháp điều chế <1>:

Phương pháp phun etanol: hoà tan phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa, DSPE-PEG₂₀₀₀ và cholesterol theo tỷ lệ trên trong lượng thích hợp

etanol khan, dung dịch lipid thu được được phun vào dung dịch nước muối chứa irinotecan hydroclorua. Etanol được loại bỏ bằng cách chưng cất ở áp suất thấp để thu được liposom trống thô. Cỡ hạt liposom được điều chỉnh bằng cách ép đùn liposom trong thiết bị ép đùn (2 màng ép đùn cỡ 0,1µm trong thiết bị ép đùn, 5 lần ép đùn) sau 5 chu kỳ đồng nhất hóa trong thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao (1000 bar (100.000 kPa)). Nồng độ được chất được điều chỉnh bằng cách pha loãng đến thể tích định sẵn, liposom được khử trùng bằng cách lọc bằng màng lọc cỡ 0,22µm, nạp vào lọ nhỏ trong môi trường khí bảo vệ nitơ, và được hàn kín. Cuối cùng thu được thuốc tiêm liposom chứa irinotecan hydroclorua.

Phương pháp điều chế <2>:

Phương pháp phân tán màng: hoà tan phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa, DSPE-PEG₂₀₀₀ và cholesterol theo tỷ lệ trên trong lượng thích hợp clorofom và dung dịch lipid thu được được điều chế thành màng bằng thiết bị cô quay sau đó clorofom được loại bỏ. Dung dịch nước muối chứa irinotecan hydroclorua được bổ sung và hỗn hợp này được ủ trong 1 giờ. Cỡ hạt liposom được điều chỉnh bằng ép đùn liposom trong thiết bị ép đùn (2 màng ép đùn cỡ 0,1µm trong thiết bị ép đùn, 5 lần ép đùn) sau 5 chu kỳ đồng nhất hóa trong thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao (1000 bar (100.000 kPa)). Nồng độ được chất được điều chỉnh bằng cách pha loãng đến thể tích định sẵn, liposom được khử trùng bằng cách lọc bằng màng lọc cỡ 0,22µm, được nạp vào lọ nhỏ trong môi trường khí bảo vệ nitơ, và được hàn kín. Cuối cùng thu được thuốc tiêm liposom chứa irinotecan hydroclorua.

Hiệu quả bao nang và cỡ hạt liposom irinotecan hydroclorua được điều chế bằng phương pháp điều chế <1>, <2> và ví dụ 2 được xác định.

Mẫu	Hiệu quả bao nang (%)	Cỡ hạt (nm)
Ví dụ 2	99,4	85,9
Phương pháp điều chế <1>	15,3	87,9
Phương pháp điều chế <2>	17,8	90,2

Thấy rằng sản phẩm đích có thể được điều chế bằng các phương pháp nạp

được chất thu động như phương pháp phun etanol và phương pháp phân tán màng khi điều chế liposom chứa irinotecan hydroclorua. Nhưng liposom điều chế được theo các phương pháp này có hiệu quả bao nang thấp và chỉ một lượng nhỏ được chất có thể được nạp vào liposom. Ngược lại, mẫu điều chế được bằng phương pháp nạp được chất chủ động (ví dụ 2) có hiệu quả bao nang và lượng được chất được nạp cao. Ngoài ra, mẫu điều chế được bằng phương pháp nạp được chất chủ động có cỡ hạt nhỏ và đồng nhất. Do đó, theo sáng chế, phương pháp nạp được chất chủ động được sử dụng để điều chế liposom. Nó có kết quả rất tốt trong việc điều chế liposom chứa irinotecan hydroclorua bằng phương pháp gradien ion.

Ví dụ 6

Thành phần chế phẩm	Chế phẩm 1	Chế phẩm 2	Chế phẩm 3	Chế phẩm 4
HSPC	1 g	1 g	1 g	1 g
Cholesterol	250 mg	250 mg	250 mg	250 mg
PEG ₂₀₀₀ -DSPE	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g
Vitamin E	/	0,02 g	/	0,02 g
EDTA-2Na	/	/	0,02 g	0,02 g
Dung dịch amoni sulfat (300mM)	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml
Irinotecan hydroclorua	0,3 g	0,3 g	0,3 g	0,3 g

Phương pháp điều chế:

Liposom trống: dung dịch etanol lipid được phun, và dung dịch này được đồng nhất hóa dưới áp suất 1000bar (100.000 kPa), 6 lần; được ép đùn 3 lần trong trong thiết bị ép đùn có màng ép đùn cỡ 200nm, 5 lần trong thiết bị ép đùn có màng ép đùn cỡ 100nm; PEG₂₀₀₀-DSPE được bổ sung vào và hỗn hợp này được ủ trong 30 phút ở nhiệt độ 60°C. Sau đó, hỗn hợp này được thẩm tách 3 lần bằng thiết bị dòng tiếp tuyến, 50ml mỗi lần, trong đó vitamin E (VE) được bổ sung vào dung môi hữu cơ phospholipit và EDTA được bổ sung vào dung dịch amoni sulfat.

Liposom chứa được chất: khoảng 10mg/ml dung dịch nước chứa irinotecan hydroclorua được điều chế và được bổ sung vào liposom trống, sau đó hỗn hợp này được ủ ở nhiệt độ 60°C trong 15 phút. Mẫu này được cô đến thể tích xấp xỉ 50ml bằng thiết bị dòng tiếp tuyến và thu được 5mg/ml mẫu.

Kết quả về độ ổn định được thể hiện trong bảng dưới đây. Tất cả các chỉ số của mẫu không có sự thay đổi đáng kể nào khi chỉ bổ sung EDTA. Độ ổn định của liposom được cải thiện đáng kể. Nhưng các chất ổn định khác không cải thiện nhiều về độ ổn định của liposom.

Mẫu	Thời gian bảo quản (25°C, ngày)	Đặc điểm	Hiệu quả bao nang %	Cỡ hạt (z-v) nm	Hàm lượng mg/ml	Tổng lượng tạp chất %	Lysophospholipit (mg/ml)
HSPC	0	Huyền phù màu trắng nhờ	99,70	85,6	5,42	0,65	0,40
	30	Huyền phù màu trắng nhờ	91,51	87,7	5,40	0,74	0,65
HSPC+ VE	0	Huyền phù màu trắng nhờ	97,10	89,0	5,01	0,48	0,35
	30	Huyền phù màu trắng nhờ	93,49	93,4	5,03	0,56	0,43
HSPC+ EDTA	0	Huyền phù màu trắng nhờ	95,67	87,2	4,94	0,56	0,38
	30	Huyền phù màu trắng nhờ	95,67	86,5	4,98	0,60	0,40
HSPC+ VE+ EDTA	0	Huyền phù màu trắng nhờ	98,92	89,2	5,55	0,61	0,39
	30	Sự lắng hạt	87,31	99,7	5,51	0,61	0,47

Ví dụ 7

Thành phần chế phẩm (1):

irinotecan hydroclorua	0,5g
phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa	1,5g
cholesterol	0,4g
mangan sulfat	10g
manitol	2,5g
nước để tiêm	cho đến thể tích cần có

Phương pháp điều chế:

Hoà tan phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa và cholesterol theo tỷ lệ trên trong lượng thích hợp etanol khan và dung dịch lipit thu được được trộn với dung dịch mangan sulfat (100 ml). Sau khi etanol khan được loại bỏ bằng cách chưng cất ở áp suất thấp, thu được liposom trống thô. Cỡ hạt liposom được điều chỉnh bằng cách ép đùn liposom trong thiết bị ép đùn (2 màng ép đùn cỡ 0,1µm trong thiết bị ép đùn, 5 lần ép đùn). Liposom trống được thẩm tách bằng cách sử dụng thiết bị siêu lọc dòng tiếp tuyến có bổ sung liên tục nước để tiêm vào dòng này để thu được liposom trống. Dung dịch nước chứa irinotecan hydroclorua được điều chế bằng nước để tiêm và được bổ sung vào thể phân tán chứa liposom trống có gradien ion. Dưới điều kiện khuấy, hỗn hợp được đun nóng đến nhiệt độ 50°C và được ủ trong 20 phút, và sau đó thu được liposom chứa được chất. Dược chất không được bao nang được loại bỏ bằng cách sử dụng thiết bị siêu lọc dòng tiếp tuyến và sau đó 2,5g manitol được bổ sung vào để điều chỉnh áp suất thẩm thấu. Sau khi nồng độ dược chất được điều chỉnh bằng cách pha loãng đến thể tích nhất định, liposom được khử trùng bằng cách lọc bằng màng lọc cỡ 0,22µm, và sau đó được nạp vào lọ nhỏ trong môi trường khí bảo vệ nitơ, và được hàn kín. Cuối cùng thu được thuốc tiêm liposom chứa irinotecan hydroclorua. Cỡ hạt chứa liposom được xác định bằng thiết bị phân tích cỡ hạt nano (89,3nm), và hiệu quả bao nang bằng 97,5%.

Thành phần chế phẩm (2):

irinotecan hydroclorua	1g
lexitin trứng được hydro hóa (HEPC)	3,45g
cholesterol	0,8g
magie sulfat	10g
histidin	2,5g
nước để tiêm	cho đến thể tích cần có

Phương pháp điều chế:

Hoà tan lexitin trứng được hydro hóa và cholesterol theo tỷ lệ trên trong lượng thích hợp etanol khan và dung dịch lipit thu được được trộn với dung dịch mangan sulfat (100ml). Cỡ hạt liposom được điều chỉnh bằng cách ép đùn liposom trong thiết bị ép đùn (2 màng ép đùn cỡ 0,1 μ m trong thiết bị ép đùn, 5 lần ép đùn). Liposom trống được thẩm tách bằng cách sử dụng thiết bị siêu lọc dòng tiếp tuyến có bổ sung liên tục nước để tiêm vào dòng này để thu được liposom trống. Dung dịch nước chứa irinotecan hydroclorua được điều chế bằng nước để tiêm và được bổ sung vào thể phân tán chứa liposom trống có gradien ion. Dưới điều kiện khuấy, hỗn hợp này được đun nóng đến nhiệt độ 50°C và được ủ trong 20 phút, và sau đó thu được liposom chứa dược chất. Dược chất không được bao nang được loại bỏ bằng cách sử dụng thiết bị siêu lọc dòng tiếp tuyến và mẫu được cô đến thể tích 50ml. Sau đó 2,5g histidin được bổ sung vào để điều chỉnh áp suất thẩm thấu. Sau khi nồng độ dược chất được điều chỉnh bằng cách pha loãng đến thể tích xác định, liposom được khử trùng bằng cách lọc bằng màng lọc cỡ 0,22 μ m, và sau đó được nạp vào lọ nhỏ trong môi trường khí bảo vệ nitơ, và được hàn kín. Cuối cùng thu được thuốc tiêm liposom chứa irinotecan hydroclorua. Cỡ hạt liposom được xác định bằng thiết bị phân tích cỡ hạt nano (87,6nm), và hiệu quả bao nang bằng 98,1%.

Thành phần chế phẩm (3):

irinotecan hydroclorua	0,3g
phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa (HSPC)	1g
polyetylen glycol 2000-distearoyl phosphatidyletanolamin (DSPE-PEG ₂₀₀₀)	0,05g
cholesterol	0,25g
amoni sulfat	5g
natri clorua	0,45g
nước để tiêm	cho đến thể tích cần có

Phương pháp điều chế:

Hoà tan phosphatidylcholin đậu tương và cholesterol được hydro hóa theo tỷ lệ trên trong lượng thích hợp etanol khan và dung dịch lipit thu được được trộn với dung dịch amoni sulfat (100 ml). Sau khi etanol khan được loại bỏ bằng cách chưng cất ở áp suất thấp, thu được liposom trống thô. Sau 5 chu kỳ đồng nhất hóa trong thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao (1000 bar (100.000 kPa)), dung dịch nước chứa DSPE-PEG2000 được bổ sung. Dưới điều kiện khuấy, hỗn hợp này được ủ trong 20 phút. Liposom trống được thẩm tách bằng cách sử dụng thiết bị siêu lọc dòng tiếp tuyến có bổ sung liên tục nước để tiêm vào dòng, để thu được liposom trống. Dung dịch nước chứa irinotecan hydroclorua được điều chế bằng nước để tiêm và được bổ sung vào thể phân tán chứa liposom trống có gradien ion. Dưới điều kiện khuấy, hỗn hợp này được đun nóng đến 60°C và được ủ trong 20 phút, và sau đó thu được liposom chứa được chất. Dược chất không được bao nang được loại bỏ bằng cách sử dụng thiết bị siêu lọc dòng tiếp tuyến và mẫu được cô đến đến thể tích khoảng 50ml. Sau đó 0,45g natri clorua được bổ sung để điều chỉnh áp suất thẩm thấu. Sau khi nồng độ được chất được điều chỉnh bằng cách pha loãng đến thể tích xác định, liposom được khử trùng bằng cách lọc bằng màng lọc cỡ 0,22µm, và sau đó được nạp vào lọ nhỏ trong môi trường khí bảo vệ nitơ, và được hàn kín. Cuối cùng thu được thuốc tiêm liposom chứa irinotecan hydroclorua. Cỡ hạt liposom được xác định bằng thiết bị phân tích cỡ hạt nano (87,3nm), và hiệu quả bao nang bằng 99,2%.

Ví dụ 8 (không theo yêu cầu bảo hộ)

Thành phần chế phẩm:

irinotecan hydroclorua	0,5g
Phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa (HSPC)	1g
phospholipit cơ tim (CL)	0,5g
polyetylen glycol 5000-distearoyl phosphatidyletanolamin (DSPE-PEG ₅₀₀₀)	0,5g
α - Tocopherol	0,05g
cholesterol	0,35g
axit xitric	5,76g
natri clorua	3,6g
nước để tiêm	cho đến thể tích cần có

Phương pháp điều chế:

Hoà tan phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa, phospholipit cơ tim, DSPE-PEG₅₀₀₀, cholesterol và α -tocopherol theo tỷ lệ trên trong lượng thích hợp ethanol khan và dung dịch lipid thu được được trộn với dung dịch axit xitric (100 ml). Sau khi ethanol khan được loại bỏ bằng cách chưng cất ở áp suất thấp, thu được liposom trống. Sau 5 chu kỳ đồng nhất hóa trong thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao (1000 bar (100.000 kPa)), liposom trống được thẩm tách bằng cách sử dụng thiết bị siêu lọc dòng tiếp tuyến có bổ sung liên tục dung dịch natri clorua (0,9%, 400ml) vào dòng này, sau đó thu được liposom trống. Dung dịch nước chứa irinotecan hydroclorua được điều chế bằng nước để tiêm và được bổ sung vào thể phân tán chứa liposom trống có gradien ion. Dưới điều kiện khuấy, hỗn hợp được đun nóng đến nhiệt độ 60°C và được ủ trong 20 phút, và sau đó thu được liposom chứa dược chất. Dược chất không được bao nang được loại bỏ bằng cách sử dụng thiết bị siêu lọc dòng tiếp tuyến và mẫu được cô đến thể tích khoảng 50ml. Sau khi nồng độ dược chất được điều chỉnh bằng cách pha loãng đến thể tích nhất định, liposom được khử trùng bằng cách lọc bằng màng lọc cỡ 0,22 μ m, và sau đó được nạp vào lọ nhỏ trong môi trường khí bảo vệ nitơ, và được hàn kín. Cuối cùng thu được thuốc tiêm liposom chứa irinotecan hydroclorua. Cỡ hạt liposom được xác định bằng thiết bị phân tích cỡ hạt nano (85,8nm), và hiệu quả bao nang bằng 98,6%.

Ví dụ 9 (không theo yêu cầu bảo hộ)

Thành phần chế phẩm:

irinotecan hydroclorua	0,8g
dipalmitoyl phosphatidyl choline (DPPC)	2g
dipalmitoyl phosphatidylglycerol (DPPG)	0,2g
cholesterol	0,5g
axit ascorbic	0,05g
đinatri của axit etylen điamin tetraaxetic	0,05g
amoni sulfat	5g
natri clorua	3,6g
nước để tiêm	cho đến thể tích cần có

Phương pháp điều chế:

Hoà tan DPPC, DPPG và cholesterol theo tỷ lệ trên trong lượng thích hợp etanol khan và dung dịch lipit thu được được trộn với dung dịch amoni sulfat (100ml, chứa đinatri của axit etylen điamin tetraaxetic). Sau khi etanol được loại bỏ bằng cách chưng cất ở áp suất thấp, thu được liposom trống. Sau 5 chu kỳ đồng nhất hóa trong thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao (1000 bar (100.000 kPa)), liposom trống được thẩm tách bằng cách sử dụng thiết bị siêu lọc dòng tiếp tuyến có bổ sung liên tục dung dịch natri clorua (0,9%, 400ml) vào dòng này, sau đó thu được liposom trống. Dung dịch nước chứa irinotecan hydroclorua được điều chế bằng nước để tiêm và được bổ sung vào thể phân tán chứa liposom trống có gradien ion. Dưới điều kiện khuấy, hỗn hợp này được đun nóng đến nhiệt độ 60°C và được ủ trong 20 phút, để thu được liposom chứa được chất. Dược chất không được bao nang được loại bỏ bằng cách sử dụng thiết bị siêu lọc dòng tiếp tuyến và mẫu được cô đến thể tích khoảng 50ml. Sau khi nồng độ dược chất được điều chỉnh bằng cách pha loãng đến thể tích nhất định, liposom được khử trùng bằng cách lọc bằng màng lọc cỡ 0,22µm, và sau đó được nạp vào lọ nhỏ trong môi trường khí bảo vệ nitơ, và được hàn kín. Cuối cùng thu được thuốc tiêm liposom chứa irinotecan hydroclorua. Cỡ hạt liposom được xác định bằng thiết bị phân tích cỡ hạt nano (89,4nm), và hiệu quả bao nang bằng 97,2%.

Ví dụ 10 (không theo yêu cầu bảo hộ)

Thành phần chế phẩm:

irinotecan hydroclorua	0,5g
phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa (HSPC)	1g
polyetylen glycol 5000- distearoyl phosphatidyletanolamin (DSPE-PEG ₅₀₀₀)	0,1g
α - tocopherol	0,05g
cholesterol	0,3g
amoni sulfat	5g
natri clorua	about 3,6g
sucroza	2g
manitol	1g
nước để tiêm	cho đến thể tích cần có

Phương pháp điều chế:

Hoà tan phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa, cholesterol và α -tocopherol theo tỷ lệ trên trong lượng thích hợp etanol khan và dung dịch lipid thu được được trộn với dung dịch amoni sulfat (100ml). Sau khi etanol được loại bỏ bằng cách chưng cất ở áp suất thấp, thu được liposom trống. Sau 5 chu kỳ đồng nhất hóa trong thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao (1000 bar (100.000 kPa)), liposom được ép đùn trong thiết bị ép đùn (5 màng ép đùn cỡ 100nm trong thiết bị ép đùn, 5 lần ép đùn). Sau đó bổ sung dung dịch nước chứa DSPE-PEG₅₀₀₀, và hỗn hợp này được ủ dưới điều kiện khuấy trong 20 phút. Liposom trống được thẩm tách bằng cách sử dụng thiết bị siêu lọc dòng tiếp tuyến có bổ sung liên tục dung dịch natri clorua (0,9%, 400ml) vào dòng này, sau đó thu được liposom trống. Dung dịch nước chứa irinotecan hydroclorua được điều chế bằng nước để tiêm và được bổ sung vào thể phân tán chứa liposom trống có gradien ion. Dưới điều kiện khuấy, hỗn hợp này được nung nóng đến nhiệt độ 60°C và được ủ trong 20 phút, để thu được liposom chứa dược chất. Dược chất không được bao nang được loại bỏ bằng cách sử dụng thiết bị siêu lọc dòng tiếp tuyến và mẫu được cô

đến thể tích khoảng 50ml. Sau đó sucroza và manitol được bổ sung vào hỗn hợp này và được trộn đều. Sau khi nồng độ được chất được điều chỉnh bằng cách pha loãng đến thể tích nhất định, liposom được khử trùng bằng cách lọc bằng màng lọc cỡ 0,22 μ m, và sau đó được nạp vào lọ penixilin và được đông khô. Cuối cùng thu được bột liposom đông khô chứa irinotecan hydroclorua để tiêm. Cỡ hạt liposom được đo (90,8nm) sau quá trình hydrat hóa bột đông khô để tiêm, và hiệu quả bao nang bằng 97,5%.

Thử nghiệm 1

Lấy sản phẩm của ví dụ 2 làm mẫu để nghiên cứu đặc tính hóa lý của sản phẩm thu được theo sáng chế:

[Sự phân bố cỡ hạt]: Một lượng mẫu thích hợp được pha loãng bằng nước sau đó được đo bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động học (Dynamic Light Scattering, DLS). Bước sóng phát hiện: $\lambda=633\text{nm}$; góc phát hiện: 173° ; nhiệt độ phát hiện: 25°C . Cỡ hạt được tính theo cường độ. Sự phân bố cỡ hạt được thể hiện trên fig 1. Cỡ hạt trung bình bằng 85,9nm.

[Hình thái học]: Một lượng mẫu thích hợp đã được pha loãng được lấy ra, lưới đồng được đặt lên trên giấy lọc sạch, mẫu được cho chảy nhỏ giọt lên lưới đồng, được làm khô bằng axit phosphovonframic, và được quan sát bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM, JEM2010, Japan Electronics Co., Ltd.) sau khi khô. Hình thái học được thể hiện trên fig 2. Hình dạng của liposom irinotecan hydroclorua là cấu trúc lớp kép đặc trưng và phần lớn cỡ hạt là dưới 200nm. Nó phù hợp với kết quả được đo bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động học.

[Hiệu quả bao nang]: Phương pháp xác định hàm lượng dược chất: Cột: Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 ($4,6\times 150\text{mm}$, $5\mu\text{m}$); pha động: axetonitril – dung dịch đệm KH_2PO_4 0,05M (độ pH được điều chỉnh đến 4, chứa 1% trietylamin) = 20:80; nhiệt độ cột: 40°C ; thể tích tiêm: 20 μl ; tốc độ dòng: 1,0 ml/phút.

Phương pháp xác định hiệu quả bao nang:

1ml dung dịch mẫu được cho vào bình định mức dung tích 10ml và được pha loãng bằng nước đến vạch định mức. Sau đó, được lắc đều và được siêu lọc bằng thiết bị siêu lọc 8010 (công ty MILLIPORE). Phần lọc đầu tiên được loại bỏ và phần lọc kế tiếp được giữ làm dung dịch mẫu. 20 μ l dung dịch mẫu và mẫu đối chứng được đưa bằng pipet vào sắc ký lỏng và ghi lại sắc ký đồ. Hàm lượng được chất tự do của chế phẩm được xác định bằng phương pháp chuẩn ngoại, được ký hiệu là W. Tổng lượng được chất trong sản phẩm này được xác định bằng phương pháp xác định hàm lượng, được ký hiệu là W₀. Hiệu quả bao nang được tính theo công thức sau:

$$\text{Hiệu quả bao nang} = \frac{W_0 - W}{W_0} \times 100\%$$

Kết quả xác định: Hiệu quả bao nang của sản phẩm bằng 99,4%.

[Thử nghiệm các yếu tố ảnh hưởng]: Các yếu tố ảnh hưởng được xác định bằng cách để sản phẩm dưới các điều kiện khác nhau. Kết quả được thể hiện trong bảng dưới đây:

Điều kiện	Thời gian bảo quản (ngày)	Đặc điểm	pH	Cỡ hạt (nm)	Hàm lượng (%)	Hiệu quả bao nang (%)	Tổng lượng tạp chất (%)	Lysophospholipit (mg/ml)
Độ rọi 4500lx±500lx	0	Huyền phù màu trắng nhò	6,39	85,9	98,14	99,40	0,43	0,19
	5	Huyền phù màu vàng đất	6,30	86,3	78,99	99,11	14,4	0,23
	10	Huyền phù màu vàng đất	6,40	86,5	76,39	99,20	19,5	0,30
40°C	0	Huyền phù màu trắng nhò	6,39	85,9	98,14	99,40	0,43	0,19
	5	Huyền phù màu trắng nhò	6,35	87,1	98,77	99,29	0,45	0,29
	10	Huyền phù màu trắng nhò	6,47	88,7	98,86	96,82	0,55	0,44
Nhiệt độ thấp	3 chu kỳ	Huyền phù màu trắng nhò	6,41	89,1	100,07	99,16	0,44	0,38
Tan giá-kết đông	3 chu kỳ	Huyền phù trắng	6,38	110,5	95,22	99,28	0,46	0,23

Kết quả cho thấy rằng mẫu nhạy cảm với ánh sáng. Dưới ánh sáng chói, mẫu bị chuyển thành màu vàng, hàm lượng bị giảm và hàm lượng các chất liên quan tăng một cách đáng kể. Hiệu quả bao nang và cỡ hạt mẫu không có sự thay đổi đáng kể ở nhiệt độ 40°C, trong khi đó các hàm lượng các chất liên quan tăng ít. Các hạt kích thước lớn được tạo ra trong mẫu dưới điều kiện nhiệt độ thấp hoặc tan giá-kết đông. Xét thấy ở nhiệt độ cao phospholipit không ổn định và trên cơ sở kết quả thử nghiệm các yếu tố ảnh hưởng, thấy rằng sản phẩm nên được bảo quản dưới điều kiện nhiệt độ thấp và tối.

[Thử nghiệm hiệu quả chữa bệnh kháng khối u *in vivo*]

Tên thuốc: Liposom chứa irinotecan hydroclorua (Liposom CPT-11) (được điều chế theo ví dụ 2) được cung cấp bởi Shanghai Hengrui Pharmaceutical Co., LTD.. Thuốc tiêm chứa irinotecan hydroclorua (CPT-11) được cung cấp bởi Jiangsu Hengrui Medicine Co., LTD..

Phương pháp điều chế: Thuốc được pha loãng bằng dung dịch nước muối đến nồng độ cần có.

Động vật thí nghiệm: chuột trụi lông BALB/cA, 6-7 tuần tuổi, chuột cái (♀), được mua từ Shanghai Slac Laboratory Animal Co., LTD.. Certificate No.: SCXK (Shanghai) 2007-0005. Môi trường: mức SPF.

Quy trình thí nghiệm:

Chuột trụi lông được tiêm tế bào ung thư ruột kết của người Ls-174t vào dưới da. Sau khi các khối u phát triển đến thể tích 150-300mm³, chuột được chia ngẫu nhiên thành các nhóm (d0). Liều lượng và chế độ liều được thể hiện trong bảng dưới đây. Thể tích khối u và khối lượng của chuột được đo và được ghi lại 2 đến 3 lần mỗi tuần. Thể tích khối u (V) được tính theo công thức sau:

$V = 1/2 \times a \times b^2$ trong đó a, b lần lượt là chiều dài và chiều rộng.

Thuốc	Tiêm thuốc	Đường truyền	Thể tích khối u trung bình (mm ³) D0	SD	Thể tích khối u trung bình (mm ³) D12	SD	RTV D12	SD	%T/C D12	Tỷ lệ ức chế khối u (%) D12	Giá trị P D12	Sự thoái triển cục bộ	Số lượng động vật
Chất dẫn thuốc	D0,3	IV	219,8	±37,2	2013,7	±303,1	9,4	±2,3	100	0	-	0	8
Liposom CPT-11 1,0mg/kg	D0,3	IV	212,2	±42,1	732,2	±162,6	3,5	±0,7	38	62	0,000	0	13
Liposom CPT-11 3,0mg/kg	D0,3	IV	205,0	±49,0	265,1	±122,9	1,3	±0,4	13	87	0,000	4	13
CPT-11 10mg/kg	D0,3	IV	204,6	±44,7	844,4	±197,5	4,2	±0,9	45	55	0,000	0	14

D0: lần tiêm thứ nhất; RTV: thể tích khối u tương ứng; giá trị P là giá trị so với mẫu đối chứng. Nhóm đối chứng n = 12, nhóm điều trị n = 6.

Kết quả:

Cả liposom CPT-11 và CPT-11 ức chế đáng kể sự phát triển của tế bào ung thư ruột kết của người Ls-174t ở chuột trụi lông. Liposom CPT-11 phụ thuộc vào liều lượng trong việc ức chế sự phát triển của Ls-174t. 4/14 khối u thoái triển một phần khi liposom CPT-11 được tiêm với liều cao (3mg/kg). Hiệu quả trị bệnh của liposom CPT-11 bằng với CPT-11 (10mg/kg) khi liposom CPT-11 được tiêm với liều cao (1mg/kg). Kết quả này chỉ ra rằng hiệu chữa bệnh của liposom CPT-11 tăng ít nhất 10 lần so với thuốc tiêm CPT-11. Kết quả chi tiết được thể hiện trên fig 3.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Liposom chứa irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua, đặc trưng ở chỗ, liposom này chứa irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua, phospholipit trung tính và cholesterol, và tỷ lệ khối lượng giữa cholesterol và phospholipit trung tính nằm trong khoảng từ 1:3 đến 1:5, đặc trưng ở chỗ, tỷ lệ khối lượng giữa phospholipit trung tính và irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua nằm trong khoảng từ 2:1 đến 5:1, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2,5:1 đến 4:1, và trong đó phospholipit trung tính này bao gồm phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa.
2. Liposom theo điểm 1, đặc trưng ở chỗ, phospholipit trung tính này là phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa.
3. Liposom theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, đặc trưng ở chỗ, tỷ lệ giữa cholesterol và phospholipit trung tính nằm trong khoảng từ 1:3,5 đến 1:4,5, tốt hơn là bằng 1:4.
4. Liposom theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, đặc trưng ở chỗ, liposom này được điều chế bằng phương pháp gradien ion.
5. Liposom theo điểm 4, đặc trưng ở chỗ, liposom này có gradien ion được tạo ra bởi dung dịch đậm giữa pha nước bên trong và pha nước bên ngoài của liposom, tốt hơn là pha nước bên trong liposom này có nồng độ ion cao hơn pha nước bên ngoài.
6. Liposom theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, đặc trưng ở chỗ, liposom này còn chứa dẫn xuất lipit của polyme ưa nước, tốt hơn là polyetylen glycol 2000-distearoyl phosphatidyl etanolamin (DSPE-PEG₂₀₀₀).
7. Liposom theo điểm 6, đặc trưng ở chỗ, tỷ lệ khối lượng giữa dẫn xuất lipit của polyme ưa nước và irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua nằm trong khoảng từ 0,2 đến 0,4.
8. Liposom theo theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, đặc trưng ở chỗ,

liposom này còn chứa phospholipit mang điện tích, trong đó phospholipit mang điện tích này được chọn từ nhóm bao gồm ðilauroyl phosphatidyl glyxerol, ðipalmitoyl phosphatidyl glyxerol, ðistearoyl phosphatidyl glyxerol, ðimyristat phosphatidyl glyxerol, phosphatidylserin của axit ðioleic, ðioleoyl phosphatidyl glyxerol, axit ðilauroyl phosphatidic, axit ðimyristat phosphatidic, axit ðistearoyl phosphatidic và hỗn hợp của chúng, và tỷ lệ khối lượng giữa phospholipit mang điện tích và phospholipit trung tính nằm trong khoảng từ 1:5 đến 1:100.

9. Liposom theo điểm 1, đặc trưng ở chỗ, liposom này có tỷ lệ khối lượng các thành phần như sau:

- irinotecan hydroclorua: 1
- phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa: 3,4-3,8
- polyetylen glycol 2000-ðistearoyl phosphatidyl etanolamin: 0,34-0,38
- cholesterol: 0,8-0,95

và tỷ lệ giữa cholesterol và phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa bằng 1:4.

10. Phương pháp điều chế liposom được xác định trong điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, đặc trưng ở chỗ, phương pháp điều chế này bao gồm các bước sau:

1) điều chế liposom trống bằng phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp từ A đến D sau:

A. hoà tan phospholipit trung tính và cholesterol trong etanol khan hoặc hỗn hợp dung môi chứa etanol khan và rượu tert-butylic theo tỷ lệ mong muốn, trộn hỗn hợp này với dung dịch đậm để thu được liposom trống thô sau khi loại bỏ etanol bằng cách chưng cất ở áp suất thấp, và sau đó điều chế liposom trống có cỡ hạt mong muốn bằng cách sử dụng thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao và/hoặc thiết bị ép đùn;

B. hoà tan phospholipit trung tính và cholesterol vào clorofom hoặc hỗn hợp dung môi clorofom-metanol theo tỷ lệ mong muốn, tạo ra màng lipid bằng thiết bị cô quay, bổ sung dung dịch đậm để hydrat hóa nhằm thu được liposom trống thô, và sau đó điều chế liposom trống có cỡ hạt mong muốn bằng cách sử dụng thiết

bị đồng nhất hóa áp suất cao và/hoặc thiết bị ép đùn;

C. trộn phospholipit trung tính, cholesterol và dung dịch đệm theo tỷ lệ mong muốn, sau đó điều chế liposom trống có cỡ hạt mong muốn bằng cách sử dụng thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao và/hoặc thiết bị ép đùn;

D. hoà tan phospholipit trung tính và cholesterol vào etanol khan hoặc hỗn hợp dung môi chứa etanol khan và rượu tert-butylic theo tỷ lệ mong muốn, trộn hỗn hợp này với dung dịch đệm, và sau đó điều chế liposom trống có cỡ hạt mong muốn bằng cách sử dụng thiết bị đồng nhất hóa áp suất cao và/hoặc thiết bị ép đùn;

2) tạo ra gradien ion giữa pha nước bên trong và pha nước bên ngoài của liposom trống: thay thế pha nước bên ngoài của liposom trống để tạo ra gradien ion giữa pha nước bên trong và pha nước bên ngoài của liposom trống;

3) điều chế liposom chứa dược chất: điều chế dung dịch nước chứa irinotecan hydroclorua, bổ sung nó vào thể phân tán chứa liposom trống có gradien ion, và sau đó ủ thể phân tán này để thu được liposom chứa dược chất dưới điều kiện đun nóng và khuấy.

11. Phương pháp điều chế theo điểm 10, đặc trưng ở chỗ, sau bước 3) điều chế liposom chứa dược chất phương pháp này còn bao gồm bước sau:

4) loại bỏ dược chất tự do và cô mẫu: bổ sung môi trường đệm vào liposom irinotecan hydroclorua, loại bỏ dược chất không được bao nang bằng cách sử dụng thiết bị dòng tiếp tuyến, và cô mẫu đến thể tích thích hợp.

12. Phương pháp điều chế theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 10 đến 11, đặc trưng ở chỗ, dung dịch đệm nêu trên được chọn từ nhóm bao gồm dung dịch đệm chứa các muối ion Na^+ , K^+ , Fe^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Li^+ , NH_4^+ , H^+ và hỗn hợp của chúng.

13. Thuốc tiêm liposom chứa liposom chứa irinotecan hoặc irinotecan hydroclorua theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9.

14. Thuốc tiêm liposom theo điểm 13, đặc trưng ở chỗ, thuốc tiêm này còn chứa chất làm ổn định, trong đó chất làm ổn định này được chọn từ nhóm bao gồm

axit etylen điamin tetraaxetic, đinatri của axit etylen điamin tetraaxetic, đicanxi của axit etylen điamin tetraaxetic và hỗn hợp của chúng, tốt hơn là đinatri của axit etylen điamin tetraaxetic; tỷ lệ của chất làm ổn định được bổ sung nằm trong khoảng từ 0% đến 0,5% (khối lượng/thể tích), và tỷ lệ nhỏ nhất không phải bằng 0%.

15. Thuốc tiêm liposom theo điểm 13, đặc trưng ở chỗ, thuốc tiêm này là thuốc tiêm dạng lỏng hoặc bột đông khô để tiêm.

16. Thuốc tiêm liposom theo điểm 13, đặc trưng ở chỗ, thuốc tiêm này còn chứa chất điều chỉnh áp suất thẩm thấu, trong đó chất điều chỉnh áp suất thẩm thấu này được chọn từ nhóm bao gồm glucoza, sucroza, sorbitol, manitol, natri clorua, glyxerin, histidin và hydroclorua của chúng, glyxin và hydroclorua của nó, lysin, serin, axit glutamic, arginin, valin và hỗn hợp của chúng; tỷ lệ của chất điều chỉnh áp suất thẩm thấu được bổ sung nằm trong khoảng từ 0% đến 5% (khối lượng/thể tích), và tỷ lệ nhỏ nhất không phải bằng 0%.

17. Thuốc tiêm liposom theo điểm 13, đặc trưng ở chỗ, thuốc tiêm này còn chứa chất chống oxy hóa, trong đó chất chống oxy hóa này được chọn từ nhóm bao gồm chất chống oxy hóa dễ tan trong nước và chất chống oxy hóa dễ tan trong dầu; trong đó chất chống oxy hóa dễ tan trong dầu được chọn từ nhóm bao gồm α -tocopherol, α -tocopherol suxinat, α -tocopherol axetat và hỗn hợp chúng; chất chống oxy hóa dễ tan trong nước được chọn từ nhóm bao gồm axit ascorbic, natri bisulfit, natri sulfit, natri pyrosulfit, L-xystein và hỗn hợp của chúng; tỷ lệ chất chống oxy hóa được bổ sung nằm trong khoảng từ 0 đến 0,5% (khối lượng/thể tích), và tỷ lệ nhỏ nhất không phải bằng 0%.

18. Thuốc tiêm liposom theo điểm 15, đặc trưng ở chỗ, thuốc tiêm này là bột đông khô để tiêm, thuốc tiêm này chứa chất bảo vệ thành phần đông khô, và được bào chế bằng cách đông khô.

19. Thuốc tiêm liposom theo điểm 13, đặc trưng ở chỗ, thuốc tiêm này có tỷ lệ khối lượng các thành phần như sau:

- irinotecan hydroclorua:	1
- phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa:	3,4-3,8
- polyetylen glycol 2000- distearoyl phosphatidyl etanolamin:	0,34-0,38
- cholesterol:	0,8-0,95
- đinatri của axit etylen điamin tetraaxetic:	0,05-0,09

và tỷ lệ giữa cholesterol và phosphatidylcholin đậu tương được hydro hóa là 1:4.

20. Quy trình bào chế thuốc tiêm liposom được xác định trong điểm bất kỳ trong số các điểm từ 13 đến 19, đặc trưng ở chỗ, quy trình này bao gồm phương pháp điều chế theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 10 đến 11.

21. Quy trình bào chế theo điểm 20, đặc trưng ở chỗ, quy trình bào chế này còn bao gồm các bước sau:

định lượng thể tích, khử trùng, và đóng gói: điều chỉnh nồng độ dược chất chứa liposom, định lượng thể tích, khử trùng bằng cách lọc, nạp vào các lọ nhỏ và hàn kín để thu được thuốc tiêm liposom; hoặc

bổ sung chất bảo vệ thành phần đông khô vào mẫu thuốc liposom, điều chỉnh nồng độ dược chất, định lượng thể tích, khử trùng bằng cách lọc, nạp vào các lọ nhỏ, hàn kín, sau đó đông khô để thu được bột đông khô để tiêm.

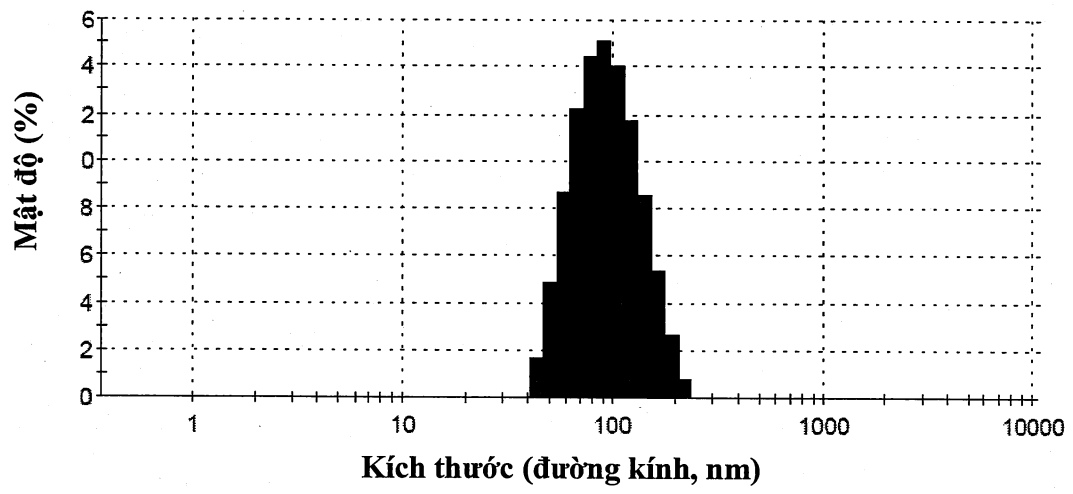


FIG. 1

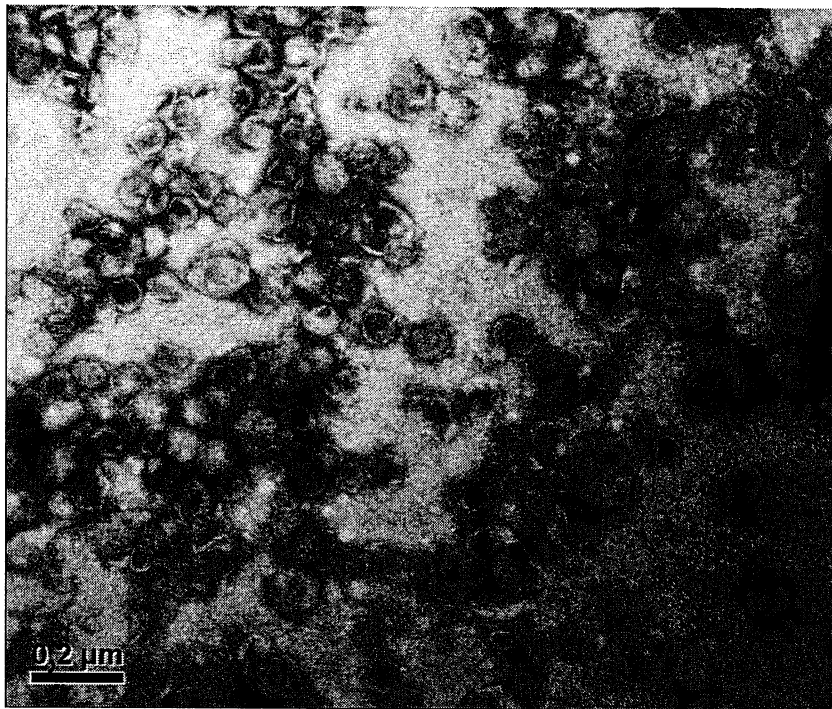


FIG. 2

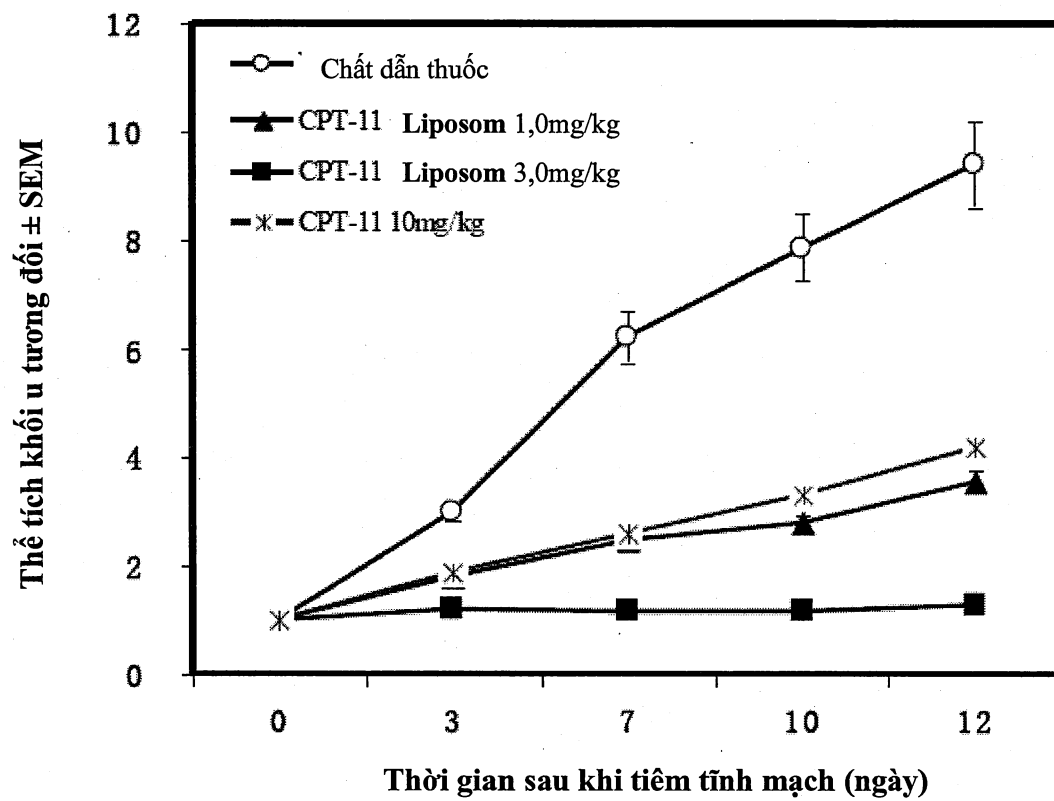


FIG. 3