



(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) 
1-0022352

(51)⁷ **A61K 9/00**

(13) **B**

(21) 1-2014-00512

(22) 23.08.2011

(86) PCT/US2011/048806 23.08.2011

(87) WO2013/028177A1 28.02.2013

(45) 25.12.2019 381

(43) 26.05.2014 314

(73) Allergan Sales, LLC (US)

5 Giralda Farms, Madison, New Jersey 07940 United States of America.

(72) HODGE, Robert Emil (US), WEBSTER, Jeffrey Douglas (US), MORIARTY, Robert M. (US)

(74) Công ty Luật TNHH AMBYS Hà Nội (AMBYS HANOI)

(54) **DƯỢC PHẨM CHỨA AXIT DEOXYCHOLIC VÀ MUỐI CỦA NÓ**

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm nước chứa muối của axit deoxycholic với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 0,4% trọng lượng/thể tích đến nhỏ hơn khoảng 2% trọng lượng/thể tích, trong đó dược phẩm này được duy trì ở độ pH nằm trong khoảng từ khoảng 8,1 đến khoảng 8,5 để dược phẩm được ổn định kết tủa. Sáng chế cũng đề cập đến các phương pháp để làm ổn định dược phẩm nước chứa muối của axit deoxycholic với lượng từ khoảng 0,4% trọng lượng/thể tích đến nhỏ hơn khoảng 2% trọng lượng/thể tích chống lại sự kết tủa, phương pháp này bao gồm việc duy trì độ pH của dung dịch nằm trong khoảng từ khoảng 8,1 đến khoảng 8,5.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến được phẩm nước chứa các nồng độ rất thấp của muối của axit deoxycholic (deoxycholic acid - “DCA”), trong đó được phẩm này được duy trì ở độ pH mà về cơ bản hạn chế sự kết tủa của DCA. Theo phương án được ưu tiên, được phẩm này được tạo đệm để duy trì độ pH có thể chấp nhận được về mặt sinh lý để mà được phẩm này thích hợp để tiêm.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các tài liệu chuyên ngành được công bố gần đây thông báo rằng các dung dịch nước chứa DCA có các đặc tính loại bỏ chất béo khi được tiêm vào các phân tích tụ chất béo *in vivo* (xem, các tài liệu patent số WO 2005/117900 và WO 2005/112942, US2005/0261258; US2005/0267080; US2006/127468; và US2006/0154906). DCA được tiêm vào mô mỡ phân hủy các tế bào mỡ thông qua cơ chế phân giải tế bào để tạo ra kết quả về thẩm mỹ mong muốn.

Bất kể các lợi ích của các chế phẩm nước chứa DCA, đã phát hiện ra rằng các nồng độ thấp của DCA (tức là, nhỏ hơn hoặc khoảng 2% trọng lượng/thể tích) trong các dung dịch nước mà tùy ý chứa rượu benzylic, tạo ra chất kết tủa sau khi bảo quản trong một khoảng thời gian. Ngạc nhiên là, đã phát hiện ra rằng nồng độ DCA càng thấp, tỷ lệ kết tủa càng cao bất kể thay đổi đáng kể nào về độ pH của dung dịch. Quá trình kết tủa ở các nồng độ rất thấp này là vấn đề khó giải quyết đối với quá trình thương mại hóa khi chất kết tủa được chống chỉ định đối với việc tiêm DCA dưới da.

Trong mỗi phác đồ điều trị, các thử nghiệm lâm sàng hiện nay của chế phẩm nước chứa DCA sử dụng nhiều liều tiêm các lượng nhỏ chế phẩm nước vào các vị trí khác nhau có sự tích tụ mỡ cần được điều trị.

Rõ ràng là, các chế phẩm nước chứa DCA được sử dụng trong các quá trình điều trị như vậy đi kèm với các vấn đề nảy sinh từ sự kết tủa của DCA. Điều đó cho thấy rằng dung dịch nước chứa DCA ban đầu không có kết tủa nếu được bảo quản trong một khoảng thời gian, sẽ tạo ra chất kết tủa ở các nồng độ DCA để thương mại dù thực tế là độ

pH của các dung dịch này nằm trong khoảng 7,5 và khoảng 8,0 mà về cơ bản là trên pKa của axit deoxycholic.

Do đó, có nhu cầu làm ổn định các dung dịch nước có nồng độ thấp chứa axit deoxycholic hoặc muối của nó chống lại sự kết tủa trong suốt thời hạn sử dụng ít nhất là 2 tháng.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Ngạc nhiên là, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng các dung dịch nước chứa muối của axit deoxycholic ở các nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 0,4% trọng lượng/thể tích đến nhỏ hơn khoảng 2% trọng lượng/thể tích có thể được làm ổn định bằng cách điều chỉnh độ pH của dung dịch đến khoảng lớn hơn 8 và tốt hơn là có độ pH có thể chấp nhận được về mặt sinh lý nằm trong khoảng từ khoảng 8,1 đến khoảng 8,5. Tốt hơn là độ pH được duy trì trong khoảng này bằng cách sử dụng dung dịch đệm.

Theo đó, theo một trong số các khía cạnh về dược phẩm, sáng chế đề cập đến các chế phẩm nước về cơ bản chứa muối của axit deoxycholic ở nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 0,4% trọng lượng/thể tích đến nhỏ hơn khoảng 2% trọng lượng/thể tích và tùy ý lượng hữu hiệu chất bảo quản là rượu benzylic trong đó các chế phẩm được làm ổn định chống lại sự kết tủa bằng cách điều chỉnh độ pH của dung dịch trong được tạo ra ban đầu đến độ pH nằm trong khoảng từ khoảng 8,1 đến khoảng 8,5. Theo phương án khác, sáng chế này đề cập đến chế phẩm nước về cơ bản chứa muối của axit deoxycholic ở nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 0,5% trọng lượng/thể tích đến khoảng 1% trọng lượng/thể tích và tùy ý lượng chất bảo quản hữu hiệu của rượu benzylic trong đó các chế phẩm được làm ổn định chống lại sự kết tủa bằng cách điều chỉnh độ pH của dung dịch trong được tạo ra ban đầu đến độ pH từ khoảng 8,1 đến khoảng 8,5.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm nước về cơ bản là bao gồm:

dung dịch nước vô trùng được tạo đệm đến độ pH khoảng 8,3;

muối của axit deoxycholic với lượng khoảng 0,5% trọng lượng/thể tích hoặc khoảng 1% trọng lượng/thể tích;

tùy ý rượu benzylic với lượng có hiệu quả bảo quản; và

muối natri clorua với lượng khoảng 1% trọng lượng/thể tích,

trong đó được phẩm này là ổn định chống lại sự kết tủa.

Sáng chế cũng bộc lộ phương pháp để làm ổn định được phẩm nước chứa muối của axit deoxycholic chống lại sự kết tủa trong suốt quá trình bảo quản trong đó nồng độ của muối của axit deoxycholic là lượng có hiệu quả để phân giải các tế bào chất béo với điều kiện là lượng muối của axit deoxycholic nằm trong khoảng từ khoảng 0,4% trọng lượng/thể tích đến nhỏ hơn 2% trọng lượng/thể tích, phương pháp này bao gồm các bước:

tạo dung dịch nước chứa muối của axit deoxycholic ở độ pH ban đầu cao hơn pKa của nó;

điều chỉnh độ pH của dung dịch này đến độ pH nằm trong khoảng từ khoảng 8,1 đến khoảng 8,5; và

tùy ý bao gồm dung dịch đệm với lượng đủ để duy trì độ pH nằm trong khoảng từ khoảng 8,1 đến khoảng 8,5.

Ngoài ra sáng chế cũng bộc lộ phương pháp phân giải tế bào mỡ bao gồm bước sử dụng cho các tế bào này được phẩm theo sáng chế.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là hình minh họa (phóng đại 67 lần) được phẩm nước chứa nước và rượu benzylic với lượng 0,9% trọng lượng/thể tích và không chứa natri deoxycholat chỉ chứa lượng vi lượng chất kết tủa, mà được cho là các hạt tạo ống biopren.

Fig.2 là hình minh họa (phóng đại 67 lần) được phẩm nước chứa nước, natri deoxycholat với lượng 0,5% trọng lượng/thể tích và rượu benzylic với lượng 0,9% trọng lượng/thể tích có lượng đáng kể chất kết tủa mà được cho là các tinh thể deoxycholat.

Fig.3 là hình minh họa (phóng đại 67 lần) được phẩm nước chứa nước, natri deoxycholat với lượng 1% trọng lượng/thể tích và rượu benzylic với lượng 0,9% trọng lượng/thể tích có lượng đáng kể chất kết tủa, mặc dù nhỏ hơn lượng chất kết tủa khi natri deoxycholat có lượng 0,5% trọng lượng/thể tích. Như trước đó, chất kết tủa được cho là các tinh thể deoxycholat.

Fig.4 là hình minh họa (phóng đại 67 lần) được phẩm nước chứa nước, natri deoxycholat với lượng 2% trọng lượng/thể tích và rượu benzylic với lượng 0,9% trọng

lượng/thể tích có lượng đáng kể chất kết tủa nhưng về cơ bản là nhỏ hơn lượng chất kết tủa quan sát được ở Fig.2 và Fig.3.

Mô tả chi tiết sáng chế

Như được sử dụng trong bản mô tả này, các thuật ngữ nhất định được định nghĩa sau đây.

Tất cả các sự ấn định về số, ví dụ, độ pH, nhiệt độ, thời gian, nồng độ và trọng lượng phân tử, bao gồm các khoảng, là các trị số xấp xỉ mà được thay đổi (+) hoặc (–) với số gia là 0,1. Cần phải hiểu rằng, mặc dù không phải lúc nào cũng được nêu một cách rõ ràng, các sự ấn định về số được đi kèm với thuật ngữ “khoảng”. Thuật ngữ “khoảng” cũng bao gồm trị số chính xác “X” ngoài các số gia phụ của “X” như “X + 0,1” hoặc “X – 0,1”. Cũng cần phải hiểu rằng, mặc dù không phải lúc nào cũng được nêu một cách rõ ràng, các chất phản ứng được mô tả trong bản mô tả này đơn thuần là để làm ví dụ và các chất tương đương của các chất phản ứng này là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

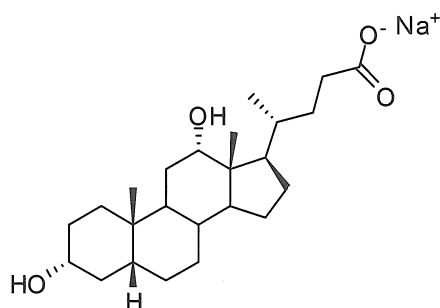
Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “chứa” được dự định có nghĩa là các dược phẩm và phương pháp bao gồm các thành phần được nêu, nhưng không bao gồm các thành phần khác.

“Về cơ bản bao gồm” nếu được sử dụng để xác định các dược phẩm và phương pháp, sẽ có nghĩa là bao gồm hoạt chất bất kỳ. “Hoạt chất” là chất được dự định cung cấp hoạt tính dược lý hoặc tác động trực tiếp khác trong quá trình chuẩn đoán, chữa trị, làm thuyên giảm, điều trị, hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc làm ảnh hưởng đến cấu trúc hoặc chức năng bất kỳ của cơ thể người. Do đó, ví dụ, dược phẩm về cơ bản bao gồm các thành phần như được xác định trong bản mô tả này sẽ không bao gồm các tạp chất vi lượng từ phương pháp tách và tinh chế và các chất mang dược dụng, như dung dịch nước muối được đệm bằng dung dịch đệm phosphat, các chất bảo quản, và các chất thương tự nhưng sẽ bao gồm các enzym như phosphatase và protein. Các ví dụ không giới hạn về các protein này là heparin, albumin, và protein tương tự.

“Bao gồm” sẽ có nghĩa là bao gồm nhiều hơn các thành phần vi lượng của các thành phần khác và các bước quan trọng của phương pháp để sử dụng dược phẩm theo

sáng chế. Các phương án được xác định bằng mỗi thuật ngữ chuyển tiếp của các thuật ngữ này là nằm trong phạm vi của sáng chế này.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “muối của axit deoxycholic” hoặc “muối của nó” chỉ các muối được dựng của hợp chất (4R)-4-((3R,5R,10S,12S,13R,17R)-3,12-dihydroxy-10,13-dimethylhexadecahydro-1H-xyclopenta[a]phenanthren-17-yl)pentanoat có ion kim loại kiềm hoặc ion amoni làm cation. Muối được ưu tiên là các muối của kim loại kiềm, trong đó muối natri được ưu tiên hơn.



Natri deoxycholat hoặc natri (4R)-4-((3R,5R,10S,12S,13R,17R)-3,12-dihydroxy-10,13-dimethylhexadecahydro-1H-xyclopenta[a]phenanthren-17-yl)pentanoat có thể được điều chế theo các phương pháp được bộc lộ trong PCT/US2010/061150 có tên “Methods for the Purification of Deoxycholic Acid”, nộp ngày 17/12/2010.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “dược phẩm nước” chỉ được phẩm chứa axit deoxycholic hoặc muối của nó trong nước thích hợp để sử dụng cho bệnh nhân tốt hơn nếu qua đường tiêm dưới da từ bơm tiêm.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “dung dịch đệm” chỉ dung dịch nước chứa hỗn hợp gồm axit yếu và bazơ liên hợp của nó hoặc bazơ yếu và axit liên hợp của nó. Dung dịch đệm có đặc tính là độ pH của dung dịch thay đổi rất nhỏ nếu lượng nhỏ của axit hoặc bazơ được thêm vào dung dịch này. Các dung dịch đệm được sử dụng để làm phương tiện để giữ độ pH ở trị số gần như không đổi trong khoảng thay đổi rộng của các ứng dụng hóa học. Các ví dụ về các dung dịch đệm thích hợp bao gồm các dung dịch đệm phosphat và các dung dịch đệm đã biết trong các tài liệu chuyên ngành (xem, ví dụ,

Troy, D.B., ed. (2005) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins).

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “bazo” chỉ các hợp chất, phân tử hoặc ion tan trong nước thông thường khác nhau mà trong dung dịch có độ pH lớn hơn 7. Các hợp chất, phân tử hoặc ion có khả năng lấy proton từ axit hoặc có khả năng cho axit cặp electron tự do. Các ví dụ về các bazo thích hợp bao gồm muối cacbonat kim loại, ví dụ, natri cacbonat, canxi cacbonat, magiê cacbonat, kẽm cacbonat, natri bicarbonat và các muối cacbonat tương tự; và các hydroxit kim loại, ví dụ natri hydroxit, kali hydroxit, và các hydroxit tương tự, như các hợp chất đã biết trong tài liệu chuyên ngành (xem, ví dụ, Troy, D.B., ed. (2005) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins).

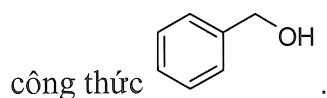
Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “các cacbonat kim loại” chỉ muối kim loại của ion CO_3^{2-} . Ví dụ, natri cacbonat, canxi cacbonat, magiê cacbonat, kẽm cacbonat, và các muối tương tự.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “các bicarbonat kim loại” chỉ muối kim loại của ion HCO_3^- . Ví dụ, natri bicarbonat, và các muối tương tự.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “các hydroxit kim loại” chỉ muối kim loại của ion OH^- . Ví dụ, natri hydroxit, kali hydroxit, và các hydroxit tương tự.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “nước vô trùng” hoặc “nước để tiêm” chỉ chế phẩm không gây sốt vô trùng chứa nước để tiêm mà chứa chất kìm hãm vi khuẩn và chất chống vi sinh vật hoặc dung dịch đậm bổ sung. Nói chung, nồng độ molal đồng thẩm áp của tổng các chất phụ gia ít nhất là 112mOsm/lit (hai phần năm của nồng độ mol thông thường của dịch lỏng ngoại bào - 280mOsm/lit).

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “rượu benzylic” chỉ hợp chất có



Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “kết tủa” chỉ sự tạo ra chất rắn trong dung dịch và được phân biệt dễ dàng với sự tạo ra gel.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “dung dịch” chỉ hỗn hợp về cơ bản là đồng nhất chứa hai hoặc nhiều chất được hòa tan trong dung môi.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “về cơ bản là ức chế sự kết tủa” và “ức chế sự kết tủa” có nghĩa là ức chế hầu hết hoặc tất cả sự kết tủa có thể nhìn thấy được để mà duy trì tính đồng nhất trong khoảng thời gian nằm trong khoảng từ ít nhất 1 tháng đến ít nhất 1 năm.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “độ lệch chuẩn tương đối với tính đồng nhất” hoặc “ H_E ” chỉ trị số có được bằng cách chia độ lệch chuẩn của tính đồng nhất cho trị số tuyệt đối của trị số này. H_E nhỏ hơn 10 cho thấy là độ đồng nhất rất tốt.

Hiểu biết về độ ổn định hóa học và vật lý của dược phẩm chứa hoạt chất trong môi trường được mong muốn để phân phối là có giá trị lớn. Trong tương lai xa hơn, độ ổn định của dược phẩm sẽ quyết định thời hạn sử dụng của sản phẩm được bán trên thị trường. Tốt hơn là hoạt chất trong dược phẩm ở nồng độ mong muốn khi được sử dụng cho bệnh nhân.

Trong các thảo luận dưới đây, natri deoxycholat được nêu ra chỉ nhằm mục đích minh họa và cần phải hiểu rằng các muối dược dụng khác của axit deoxycholic có thể được sử dụng thay thế được cho muối natri.

Các phương pháp lâm sàng hiện nay để sử dụng natri deoxycholat cho bệnh nhân để hòa tan chất béo bao gồm việc sử dụng qua đường tiêm dưới da ở nồng độ thấp (tức là, <2% trọng lượng/thể tích) của dung dịch nước chứa muối của axit deoxycholic trong đó lượng muối của axit deoxycholic đủ để phân giải các tế bào mỡ (khoảng 0,4% trọng lượng/thể tích và cao hơn). Ở các nồng độ này, như đã thấy được rằng nồng độ thấp có lợi đối với việc loại bỏ hiệu quả và an toàn mỡ tích tụ trong cơ thể. Tuy nhiên, các tác giả sáng chế đã quan sát thấy rằng chất kết tủa tạo ra ở các nồng độ tương đối thấp của natri deoxycholat trong môi trường chứa nước. Sự kết tủa này dẫn đến thời hạn sử dụng của các dung dịch nước chứa natri deoxycholat bị hạn chế, thậm chí là ở nhiệt độ lạnh (3-5°C). Theo một phương án, muối natri có thể được thay thế bằng muối của kim loại kiềm khác.

Tính không ổn định của các dung dịch nước chứa natri deoxycholat có thể được khắc phục bằng cách điều chế dung dịch nước chứa natri deoxycholat ở nồng độ khoảng 5% đến khoảng 16% trọng lượng/thể tích, và người có chuyên môn phải pha loãng được phẩm chứa dung dịch natri deoxycholat ngay trước khi sử dụng. Ngược lại, phương pháp pha loãng này hiệu quả đối với cả độ ổn định trong quá trình bảo quản và liều dùng cho bệnh nhân một cách hiệu quả, nó không lý tưởng như phương pháp để sử dụng thông thường đặc biệt nếu đòi hỏi dung dịch tiêm vô trùng tiêm không nhiều hơn khoảng 2ml. Ngoài ra, các phác đồ lâm sàng hiện nay bao gồm lên đến 50 lần tiêm đối với mỗi đợt điều trị.

Các tác giả của sáng chế đã thấy rằng các chế phẩm nước chứa natri deoxycholat ở các nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 0,4% trọng lượng/thể tích đến nhỏ hơn khoảng 2% trọng lượng/thể tích có thể được làm ổn định bằng cách điều chỉnh độ pH của dung dịch này. Sáng chế này đề cập đến chế phẩm nước về cơ bản chứa muối của axit deoxycholic ở nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 0,4% trọng lượng/thể tích đến nhỏ hơn khoảng 2% trọng lượng/thể tích và tùy ý tá được dùng như rượu benzylic với lượng có tác dụng bảo quản và/hoặc dung dịch đệm điều chỉnh độ pH, trong đó chế phẩm này được duy trì ở độ pH khoảng 8,1 đến khoảng 8,5.

Theo phương án khác, chế phẩm nước được đông khô để tạo ra được phẩm ổn định mà dễ dàng được hoàn nguyên bằng cách bổ sung lượng nước thích hợp. Theo phương án này, sáng chế bao gồm các được phẩm được đông khô như được mô tả ở trên mà tùy ý chứa thêm chất hỗ trợ quá trình đông khô.

Theo một phương án, chế phẩm nước này chứa muối của axit deoxycholic với lượng khoảng 0,5% trọng lượng/thể tích. Theo phương án khác, chế phẩm nước này chứa muối của axit deoxycholic với lượng khoảng 1% trọng lượng/thể tích.

Theo phương án khác, nước được sử dụng trong chế phẩm nước là nước vô trùng. Theo phương án khác nữa, lượng có tác dụng bảo quản của rượu benzylic là rượu benzylic với lượng khoảng 0,9% trọng lượng/thể tích và độ pH của chế phẩm là khoảng 8,3. Theo một phương án, muối này là muối của kim loại kiềm. Theo phương án khác, muối này là muối natri.

Theo một phương án, các dược phẩm được bọc lộ trong bản mô tả này là thích hợp để tiêm vào người. Phương pháp tiêm có thể là cách tiêm bất kỳ, như tiêm dưới da, cũng như các dạng tiêm khác.

Theo khía cạnh được ưu tiên của sáng chế, sự kết tủa của muối của axit deoxycholic trong chế phẩm nước được ức chế trong khoảng thời gian ít nhất khoảng sáu tháng. Theo khía cạnh khác, sự kết tủa được ức chế trong khoảng thời gian ít nhất khoảng một năm. Theo khía cạnh khác nữa, sự kết tủa được ức chế trong khoảng thời gian ít nhất khoảng hai năm.

Dược dự tính là nếu được bảo quản ở các nhiệt độ khác nhau, ví dụ ở nhiệt độ môi trường hoặc nhiệt độ lạnh, chế phẩm có thể có thời hạn sử dụng gia tăng. Theo các phương án nhất định, dược phẩm được bảo quản ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 17°C đến khoảng 27°C. Theo một số phương án, nhiệt độ của chế phẩm được gia tăng đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 25°C đến khoảng 37°C. Theo các phương án khác, chế phẩm được bảo quản ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 2°C đến khoảng 8°C.

Theo các phương án nhất định, độ pH của chế phẩm nằm trong khoảng từ khoảng 8,1 đến khoảng 8,5. Theo một phương án, độ pH của dược phẩm là khoảng 8,1, hoặc theo cách khác, khoảng 8,2, hoặc theo cách khác, khoảng 8,3, hoặc theo cách khác, khoảng 8,4, hoặc theo cách khác, khoảng 8,5. Theo phương án được ưu tiên, độ pH của chế phẩm là khoảng 8,3.

Theo một phương án, độ pH được tạo ra bằng cách sử dụng bazơ. Dược dự tính là bazơ bất kỳ có thể được sử dụng để làm tăng độ pH của dược phẩm với điều kiện là bazơ không phản ứng với natri deoxycholat và sẽ không gây hại cho bệnh nhân. Theo một số phương án, bazơ được chọn từ nhóm bao gồm các cacbonat kim loại, các bicacbonat kim loại, các hydroxit kim loại, hoặc hỗn hợp của chúng. Các ví dụ về các bazơ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn phạm vi ở, bazơ được chọn từ nhóm bao gồm natri cacbonat, canxi cacbonat, magiê cacbonat, kẽm cacbonat, natri bicacbonat, natri hydroxit và kali hydroxit hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một phương án, bazơ là natri hydroxit.

Trong các trường hợp nhất định, độ pH của dược phẩm có thể được duy trì ở độ pH mong muốn trong suốt quá trình bảo quản bằng cách sử dụng dung dịch đệm. Các dung dịch đệm khác nhau là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật và được dự tính là dung dịch đệm bất kỳ có khả năng tạo đệm ở độ pH mong muốn có thể được sử dụng trong các chế phẩm được bộc lộ trong bản mô tả này. Theo một phương án, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat. Lượng dung dịch đệm phosphat trong dược phẩm có thể được xác định để tạo ra độ pH và nồng độ muối mong muốn. Theo một phương án, dược phẩm bao gồm khoảng 10mM dung dịch đệm phosphat. Theo phương án được ưu tiên, dược phẩm bao gồm khoảng 10mM dung dịch đệm dinatri hydrophosphat.

Theo một số phương án, dược phẩm bao gồm ít nhất một tá dược để hỗ trợ việc tạo ra dược phẩm có các đặc tính mong muốn, như độ hòa tan gia tăng, khả năng bảo quản hoặc để tạo ra dung dịch đẳng trương. Các tá dược này là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Theo một phương án, dược phẩm bao gồm khoảng 1% trọng lượng/thể tích natri clorua. Theo phương án khác, dược phẩm bao gồm khoảng 0,9% trọng lượng/thể tích rượu benzylic. Theo một số phương án, dược phẩm bao gồm khoảng 0,9% trọng lượng/thể tích rượu benzylic và khoảng 1% trọng lượng/thể tích natri clorua.

Theo một số phương án, độ pH của dược phẩm được thiết lập bằng cách sử dụng bazơ và tùy ý được duy trì bằng cách sử dụng dung dịch đệm.

Theo phương án được ưu tiên, sáng chế đề xuất dược phẩm được làm ổn định chứa:

dung dịch đệm phosphat có độ pH khoảng 8,3;
natri deoxycholat với lượng khoảng 0,5% trọng lượng/thể tích hoặc khoảng 1% trọng lượng/thể tích;
rượu benzylic với lượng có tác dụng bảo quản; và
natri clorua với lượng khoảng 1% trọng lượng/thể tích,
trong đó dược phẩm này được làm ổn định chống lại sự kết tủa.

Theo phương án khác, dung dịch đệm phosphat là dung dịch đệm dinatri hydrophosphat 10mM.

Theo một phương án, lượng có tác dụng bảo quản của rượu benzylic là khoảng 0,9% trọng lượng/thể tích.

Các chế phẩm được bộc lộ trong bản mô tả này bao gồm muối của axit deoxycholic trong nước với lượng từ khoảng 0,4% trọng lượng/thể tích đến nhỏ hơn khoảng 2% trọng lượng/thể tích được duy trì ở độ pH đủ để về cơ bản ức chế sự kết tủa của muối của axit deoxycholic. Lượng kết tủa hoặc đồng nhất của dược phẩm này có thể được xác định bằng cách sử dụng nhiều phương pháp khác nhau. Ví dụ, có thể được xác định định lượng sử dụng sự phân tán ánh sáng bằng cách chiếu sáng dược phẩm bằng quang phổ kế. Hoặc theo cách khác, độ đồng nhất có thể được xác định định lượng bằng cách quan sát độ trong nhìn thấy được của dung dịch bằng mắt. Theo một số phương án, dược phẩm có độ lệch chuẩn tương đối về độ đồng nhất ít hơn khoảng 5%. Theo cách khác, dược phẩm có độ lệch chuẩn tương đối về độ đồng nhất ít hơn khoảng 4%, hoặc theo cách khác, khoảng 3%, hoặc theo cách khác, khoảng 2%, hoặc theo cách khác, khoảng 1%.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm về cơ bản chứa:

dung dịch nước vô trùng được tạo đệm đến độ pH khoảng 8,3;

natri deoxycholat với lượng khoảng 0,5% trọng lượng/thể tích hoặc 1% trọng lượng/thể tích;

rượu benzylic với lượng khoảng 0,9% trọng lượng/thể tích; và

natri clorua với lượng khoảng 1% trọng lượng/thể tích,

trong đó dược phẩm này có độ ổn định chống lại sự kết tủa.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm bao gồm:

dung dịch nước được tạo đệm để có độ pH khoảng 8,3;

natri deoxycholat với lượng khoảng 0,5% trọng lượng/thể tích hoặc khoảng 1% trọng lượng/thể tích;

rượu benzylic với lượng khoảng 0,9% trọng lượng/thể tích; và

natri clorua với lượng khoảng 1% trọng lượng/thể tích,

trong đó dược phẩm này có độ ổn định chống lại sự kết tủa.

Theo một số phương án, các dung dịch được đề cập trong sáng chế không bao gồm lipid, phospholipit, hoặc phosphatidylcholin. Theo một số phương án, các dung dịch được đề cập trong sáng chế bao gồm lipid với lượng lên tới 5% trọng lượng/trọng lượng, trọng lượng/thể tích, hoặc thể tích/thể tích, cụ thể là phospholipit, hoặc cụ thể hơn nữa là phosphatidylcholin. Tốt hơn là, lượng lipid được sử dụng là nhỏ hơn lượng natri deoxycholat hoặc muối khác của axit deoxycholic.

Theo một số phương án, dược phẩm nước theo sáng chế có thể bao gồm thêm chất có tác dụng điều trị bệnh thứ hai được chọn từ nhóm bao gồm: các chất chống vi sinh vật, chất làm co mạch, chất chống huyết khối, chất chống đông máu, thuốc giảm đau dạng bột, chất kháng viêm, thuốc giảm đau, chất làm phân tán, chất chống sự phân tán, chất làm tăng quá trình thẩm, steroid, thuốc an thần, chất làm giãn cơ, và chất chống tiêu chảy. Theo một số phương án, dung dịch ở trong vật chứa mà chứa lên tới 500ml dung dịch. Vật chứa đã nêu có thể là bơm tiêm hoặc vật chứa có thể nạp được vào bơm tiêm.

Theo một số phương án, các chế phẩm còn bao gồm phân tử đã biết để phân giải chất béo bằng cơ chế trực giao. Các phân tử này bao gồm các chất đối kháng peptit thần kinh Y (neuropeptide Y - NPY) bao gồm, nhưng không giới hạn phạm vi ở, các chất đối kháng thụ thể NPY, như các chất đối kháng thụ thể NPYBIBP-3226 (Amgen), BIBO-3304 (Boehringer Ingleheim), BMS-192548 và AR-H040922 (Bristol-Myers Squibb), LY-357897 (Eli Lilly), 1229U91 và GW438014S (GlaxoSmithKline), JNJ-5207787 (Johnson & Johnson), Lu-AA-44608 (Lundbeck), MK-0557 (Merck NPY), NGD-95-1 (Neurgogen), NLX-E201 (Neurologix), CGP-71683 (Novartis), PD-160170 (Pfizer), SR-120819A, BIIE0246, và S.A.0204 (Sanofi Aventis), S-2367 (Shiongli), dihydropyridin và các dẫn xuất dihydropyridin mà là các chất đối kháng thụ thể NPY, các hợp chất hai vòng mà là các chất đối kháng thụ thể NPY, các chất đối kháng thụ thể NPY carbazol, và các hợp chất ba vòng mà là các chất đối kháng thụ thể NPY (*xem*, ví dụ, tài liệu patent số WO 2006/133160 và US6,313,128). Cũng được dự tính là các peptit tiền gây chết tế bào theo chương trình chọn lọc chất béo như peptit CKGGRAKDC mà làm đích cho hệ mạch mỡ trắng (*xem*, Kolonin M.G. *et al.*, Nat. Med., 2004, 10(6): 625-32).

Khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến việc trộn các axit mật phân cắt mỡ, chẳng hạn như, axit deoxycholic (DCA) với các chất làm chết các tế bào mỡ. Theo một khía cạnh, sáng chế dự tính các phương pháp để tăng cường tác dụng thẩm mỹ của chế phẩm tiêm chứa deoxycholat bằng cách trộn vào chế phẩm để tiêm chứa deoxycholat phân tử mà gây phân giải chất béo theo cơ chế trực giao. Các ví dụ về các phân tử có tác dụng như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn phạm vi ở, chất đối kháng peptit thần kinh Y (NPY) và peptit tiền gây chết tế bào theo chương trình chọn lọc chất béo. Do việc làm chết tế bào mỡ có thể cần để tạo ra các tác dụng mong muốn, các tác dụng này của các chất có hoạt tính làm chết tế bào mỡ có thể được tăng cường thông qua việc bổ sung phân tử có tác dụng làm chết tế bào mỡ có hiệu lực. Ngoài ra, các phân tử mà cần đi vào hệ mạch để làm chết (chẳng hạn như các peptit tiền gây chết tế bào theo chương trình liên kết với các protein được biểu hiện trên mặt trong của các mao mạch) có thể đi tới các protein này bởi vì deoxycholat có thể gây rò rỉ thành mạch. Do đó, các chất này có thể có tác dụng hiệp đồng với deoxycholat một cách tiềm năng tạo ra các phương pháp có hiệu lực hơn để tạo đường nét cơ thể trong giai đoạn trị liệu ngắn hơn.

Các ví dụ về các chất đối kháng NPY bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn phạm vi ở, các chất đối kháng thụ thể NPY, như BIBP-3226 (Amgen), BIBO-3304 (Boehringer Ingelheim), BMS-192548 and AR-H040922 (Bristol-Myers Squibb), LY-357897 (Eli Lilly), 1229U91 and GW438014S (GlaxoSmithKline), JNJ-5207787 (Johnson & Johnson), Lu-AA-44608 (Lundbeck), MK-0557 (Merck NPY), NGD-95-1 (Neurgogen), NLX-E201 (Neurologix), CGP-71683 (Novartis), PD-160170 (Pfizer), SR-120819A, BIIE0246, và S.A.0204 (Sanofi Aventis), S-2367 (Shiongli), dihydropyridin và các dẫn xuất dihydropyridin mà là các chất đối kháng thụ thể NPY, các hợp chất hai vòng mà là các chất đối kháng thụ thể NPY, các chất đối kháng thụ thể NPY carbazol, và các hợp chất ba vòng mà là các chất đối kháng thụ thể NPY. Xem, ví dụ, tài liệu patent số WO 2006/133160 và US 6,313,128.

Peptit tiền gây chết tế bào theo chương trình chọn lọc chất béo để làm ví dụ bao gồm, nhưng không bị giới hạn phạm vi ở, peptit CKGGRAKDC mà làm đích cho hệ mạch mỡ trắng. Xem, Kolonin M.G. *et al.*, Nat. Med. June 10(6):625-32 (2004).

Natri deoxycholat hoặc natri (4*R*)-4-((3*R*,5*R*,10*S*,12*S*,13*R*,17*R*)-3,12-dihydroxy-10,13-dimethylhexadecahydro-1*H*-xyclopenta[*a*]phenanthren-17-yl)pentanoat có thể được điều chế theo các phương pháp được bộc lộ trong tài liệu patent PCT/US2010/061150 có tiêu đề “Methods for the Purification of Deoxycholic Acid” được nộp ngày 17/12/2010. Các muối khác của axit deoxycholic có thể được điều chế theo cách tương tự bởi các chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật.

Các phương pháp

Sáng chế đề cập đến các phương pháp làm ổn định chế phẩm nước chứa muối của axit deoxycholic chống lại sự kết tủa trong suốt quá trình bảo quản trong đó nồng độ của axit deoxycholic hoặc muối của nó là lượng có tác dụng phân giải các tế bào mỡ với điều kiện là lượng muối nằm trong khoảng từ khoảng 0,4% trọng lượng/thể tích đến nhỏ hơn khoảng 2% trọng lượng/thể tích, trong đó phương pháp bao gồm các bước:

tạo dung dịch nước chứa muối của axit deoxycholic ở độ pH ban đầu lớn hơn pKa của nó;

điều chỉnh độ pH của dung dịch nước này đến độ pH từ khoảng 8,1 đến khoảng 8,5; và

tùy ý bao gồm dung dịch đệm với lượng đủ để duy trì độ pH nằm trong khoảng từ khoảng 8,1 đến khoảng 8,5.

Theo một khía cạnh của sáng chế, các phương pháp được bộc lộ trong bản mô tả này về cơ bản là làm ổn định chế phẩm chứa muối của axit deoxycholic chống lại sự kết tủa trong khoảng thời gian tốt hơn là ít nhất khoảng sáu tháng. Theo khía cạnh khác, các phương pháp này làm ổn định chế phẩm chứa muối của axit deoxycholic chống lại sự kết tủa trong khoảng thời gian tốt hơn là ít nhất khoảng một năm. Theo khía cạnh khác nữa, các phương pháp này làm ổn định chế phẩm chứa muối của axit deoxycholic chống lại sự kết tủa trong khoảng thời gian tốt hơn là ít nhất khoảng hai năm.

Các tác giả của sáng chế đã thấy rằng độ pH của dung dịch có thể ức chế sự kết tủa của axit deoxycholic hoặc muối của nó ở các nồng độ từ khoảng 0,4% trọng lượng/thể tích đến nhỏ hơn khoảng 2% trọng lượng/thể tích trong nước để cho phép axit deoxycholic hoặc muối của nó được duy trì trong dung dịch. Theo một phương án, độ pH

được thiết lập bằng cách sử dụng bazơ. Bazơ bất kỳ có thể được sử dụng để làm tăng độ pH của dược phẩm với điều kiện là nó không phản ứng với axit deoxycholic hoặc muối của nó. Theo một số phương án, bazơ được chọn từ nhóm bao gồm các cacbonat kim loại, các bicacbonat kim loại, và các hydroxit kim loại, hoặc hỗn hợp của chúng. Các ví dụ về các bazơ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn phạm vi ở, bazơ được chọn từ nhóm bao gồm natri cacbonat, canxi cacbonat, magiê cacbonat, kẽm cacbonat, natri bicacbonat, natri hydroxit và kali hydroxit hoặc hỗn hợp của chúng. Theo một phương án, bazơ là natri hydroxit.

Theo các phương án nhất định, độ pH nằm trong khoảng từ khoảng 8,1 đến khoảng 8,5. Theo một phương án, độ pH của dược phẩm là khoảng 8,1, hoặc theo cách khác, khoảng 8,2, hoặc theo cách khác, khoảng 8,3, hoặc theo cách khác, khoảng 8,4, hoặc theo cách khác, khoảng 8,5. Theo phương án được ưu tiên, độ pH của dung dịch nước là khoảng 8,3.

Trong các trường hợp nhất định, độ pH của dược phẩm có thể cần được duy trì bằng cách sử dụng dung dịch đệm. Các dung dịch đệm khác nhau đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật và được dự tính là dung dịch đệm bất kỳ có khả năng tạo đệm ở độ pH mong muốn có thể được sử dụng trong các chế phẩm được bộc lộ trong bản mô tả này. Theo một phương án, dung dịch đệm là dung dịch đệm phosphat. Lượng phosphat cần để tạo ra độ pH mong muốn và nồng độ muối có thể được tính toán bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Theo một phương án, dược phẩm bao gồm dung dịch đệm phosphat khoảng 10mM. Theo phương án khác, dung dịch đệm phosphat là dung dịch đệm dinatri hydrophosphat 10mM.

Theo các trường hợp nhất định, độ pH được thiết lập bằng cách sử dụng bazơ và tùy ý được duy trì bằng cách sử dụng dung dịch đệm.

Theo một phương án, các phương pháp được bộc lộ trong bản mô tả này tạo ra các chế phẩm mà thích hợp để tiêm vào người. Phương pháp tiêm có thể là phương pháp tiêm bất kỳ, chẳng hạn như tiêm dưới da, cũng như các dạng tiêm khác. Do đó, theo một số phương án, dung dịch nước bao gồm nước vô trùng hoặc nước để tiêm (water for injection - WFI).

Theo một khía cạnh, có thể là một hoặc nhiều tá dược được sử dụng để duy trì độ tan, hoặc làm tăng khả năng bảo quản của muối của axit deoxycholic có mặt trong chế phẩm. Theo một phương án, phương pháp bao gồm bước bổ sung rượu benzylic với lượng khoảng 1% trọng lượng/thể tích. Theo một số phương án, chế phẩm này cũng bao gồm ít nhất một tá dược để hỗ trợ trong việc tạo ra dung dịch đẳng trương. Các tá dược này là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Theo một phương án, phương pháp này bao gồm bước bổ sung natri clorua với lượng khoảng 1% trọng lượng/thể tích. Theo một số phương án, phương pháp này bao gồm bước bổ sung cả rượu benzylic với lượng 1% trọng lượng/thể tích và natri clorua với lượng 1% trọng lượng/thể tích. Theo một số phương án, phương pháp này bao gồm bước bổ sung cả rượu benzylic với lượng 0,9% trọng lượng/thể tích và natri clorua với lượng 0,9% trọng lượng/thể tích. Bằng cách sử dụng các phương pháp được bộc lộ trong bản mô tả này, dung dịch nước chứa ít hơn khoảng 2% trọng lượng/thể tích muối của axit deoxycholic được duy trì ở độ pH đủ để về cơ bản ức chế sự kết tủa của muối của axit deoxycholic. Lượng kết tủa hoặc đồng nhất của dược phẩm này có thể được xác định bằng cách sử dụng các phương pháp khác nhau. Ví dụ, có thể được xác định theo cách định lượng bằng cách đo sự phân tán ánh sáng thông qua việc chiếu sáng bằng quang phổ kế. Hoặc theo cách khác, độ đồng nhất có thể được xác định một cách định tính bằng cách quan sát đơn giản độ trong nhìn thấy được của dung dịch bằng mắt. Theo một số phương án, phương pháp đề xuất dược phẩm có độ lệch chuẩn tương đối về độ đồng nhất nhỏ hơn khoảng 5%. Theo cách khác, độ lệch chuẩn tương đối về độ đồng nhất nhỏ hơn khoảng 4%, hoặc theo cách khác, khoảng 3%, hoặc theo cách khác, khoảng 2%, hoặc theo cách khác, khoảng 1%.

Nhiệt độ bảo quản có thể hỗ trợ trong việc duy trì độ tan của muối của axit deoxycholic trong chế phẩm. Theo các phương án nhất định, nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ khoảng 17°C đến khoảng 27°C. Theo một số phương án, nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ khoảng 25°C đến khoảng 37°C. Theo các phương án khác, nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ khoảng 2°C đến khoảng 8 °C.

Nồng độ của muối của axit deoxycholic trong chế phẩm được dự tính là khoảng 0,5% trọng lượng/thể tích, hoặc theo cách khác khoảng 0,7% trọng lượng/thể tích, hoặc

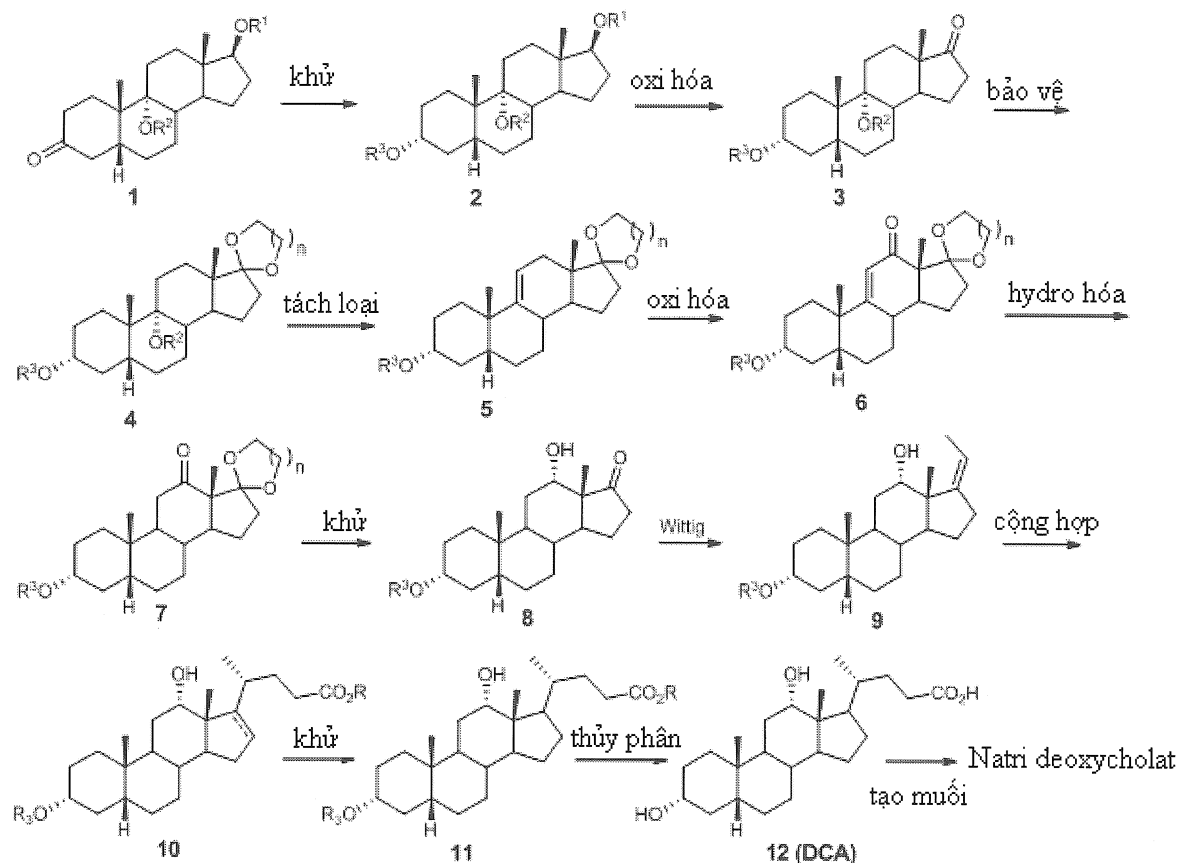
theo cách khác khoảng 1% trọng lượng/thể tích, hoặc theo cách khác khoảng 1,2% trọng lượng/thể tích, hoặc theo cách khác khoảng 1,4% trọng lượng/thể tích, hoặc theo cách khác nhỏ hơn khoảng 2% trọng lượng/thể tích. Theo phương án được ưu tiên, muối của axit deoxycholic là natri deoxycholat. Theo phương án được ưu tiên khác, dược phẩm chứa natri deoxycholat với lượng 0,5% trọng lượng/thể tích. Theo phương án được ưu tiên khác, dược phẩm chứa natri deoxycholat với lượng 1% trọng lượng/thể tích.

Theo một phương án, chế phẩm nước được chia thành nhiều dung dịch riêng rẽ mà được sử dụng một cách riêng rẽ đối với các tế bào mỡ. Ví dụ, chế phẩm nước được chia thành 5, 10, 15, 20, 25 hoặc 30 dung dịch riêng rẽ và, trong một số trường hợp, lên tới 50 dung dịch riêng rẽ.

Theo phương án được ưu tiên, muối của axit deoxycholic là natri deoxycholat. Khi các phương pháp theo sáng chế bao gồm tiêm dưới da, sáng chế cũng đề xuất bơm tiêm bao gồm khoang chứa, pit-tông và kim tiêm trong đó khoang chứa chứa chế phẩm theo sáng chế này. Tốt hơn nếu khoang chứa này đủ để chứa ít nhất 2ml và tốt hơn nếu không quá 4ml chế phẩm.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất quy trình tổng hợp DCA từ hợp chất 9- α ,17- β -dihydroxy-5- α -androstan-3-on có bán trên thị trường được bảo vệ như được thể hiện trong sơ đồ 1 dưới đây.

Sơ đồ 1: Quy trình tổng hợp DCA



Các nhóm 9- α ,17- β hydroxyl của hợp chất 9- α ,17- β -dihydroxy-5- α -androstan-3-on có bán trên thị trường được bảo vệ một cách khác biệt bằng các nhóm bảo vệ nhóm hydroxyl mà có thể được loại bỏ trong các điều kiện trong đó một trong số các nhóm hydroxyl được tái tạo trong khi nhóm còn lại vẫn được bảo vệ. Sự bảo vệ khác biệt như vậy được gọi là sự bảo vệ trực giao và sử dụng các chất phản ứng và các điều kiện phản ứng đã được biết rõ. Theo một ví dụ, một nhóm hydroxy được bảo vệ bằng nhóm axetyl, trong khi đó nhóm hydroxy còn lại được bảo vệ bằng nhóm benzyl. Mỗi nhóm có thể được loại bỏ một cách chọn lọc trong các điều kiện phản ứng mà giữ lại nhóm bảo vệ nhóm hydroxyl nguyên vẹn.

Được dự tính là nhóm 9- α -hydroxyl được bảo vệ về mặt không gian tương đối có thể không cần được bảo vệ vì các phản ứng được dự tính trước khi tách loại nhóm đó có khả năng bị ức chế ở vị trí này do sự án ngữ không gian. Bất chấp điều đó, mong muốn là

việc bảo vệ nhóm hydroxyl này một cách thích hợp đảm bảo rằng nhóm này giữ lại nguyên vẹn cho đến khi tách loại nhóm hydroxyl này bằng phản ứng loại nước.

Nhóm 3-on của hợp chất 9- α ,17- β -dihydroxy-5- α -androstan-3-on được bảo vệ theo cách trực giao, hợp chất có công thức **1**, được khử bằng chất khử thông thường như natri bohryua để tạo ra dẫn xuất 3- α -hydroxy mà tiếp đó được bảo vệ bằng nhóm bảo vệ trực giao khác nữa để thu được hợp chất có công thức **2**.

Tiếp đó, nhóm bảo vệ nhóm hydroxyl ở vị trí số 17 của hợp chất có công thức **2** được loại bỏ một cách chọn lọc và nhóm hydroxyl tái tạo ra tiếp đó được oxy hóa bằng chất phản ứng oxy hóa thích hợp như CrO_3 để tạo ra dẫn xuất 17-keto, hợp chất có công thức **3**. Nhóm 17-keto trong hợp chất có công thức **3** được bảo vệ ở dạng ketal dưới các điều kiện ketal hóa chuẩn như phản ứng với hợp chất 1,2-dihydroxyetan hoặc hợp chất 1,3-dihydroxypropan để thu được hợp chất có công thức **4** (mà minh họa sự tạo ra ketal với hợp chất 1,2-dihydroxyetan chỉ nhằm mục đích minh họa).

Quá trình loại bỏ nhóm bảo vệ của 9- α -hydroxyl nếu cần sau phản ứng loại nước của nhóm hydroxyl trong các điều kiện như phản ứng tách loại được xúc tác bằng axit tạo ra dẫn xuất không no ở vị trí số 9, 10, hợp chất có công thức **5**. Quá trình tạo ra nhóm 12-keto được hoàn thành bằng phản ứng oxy hóa allyl hợp chất có công thức **5** bằng các chất phản ứng oxy hóa như axit cromic hoặc (tert-butyl hydroperoxit) và NaOCl để tạo ra hợp chất có công thức **6**. Xem, ví dụ, đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 61/348,686. Theo cách khác, phản ứng oxy hóa allyl được tiến hành bằng cách sử dụng khoảng 2 đến 5 đương lượng TBHP và khoảng 0,3 đến 0,5 đương lượng CuI để làm chất xúc tác. Phản ứng này được tiến hành trong dung môi như axetonitril ở nhiệt độ 40°C trong thời gian nằm trong khoảng từ 40 đến 55 giờ. Việc bổ sung chậm từng phần TBHP dẫn đến phản ứng oxy hóa có hiệu quả hơn. Sản phẩm tạo ra chứa hỗn hợp của hợp chất có công thức **6** và rượu allylic tương ứng. Sau đó, hỗn hợp sản phẩm được oxy hóa bằng PCC để tạo ra hợp chất có công thức **6**.

Phản ứng hydro hóa hợp chất có công thức **6** trong các điều kiện chuẩn như 10% Pd/C và H_2 tạo ra hợp chất có công thức **7**. Phản ứng khử nhóm 12-keto trong hợp chất có công thức **7** bằng các chất phản ứng như $\text{LiAl}(\text{OBu}^t)_3\text{H}$ tạo ra dẫn xuất 12-hydroxy, hợp

chất có công thức **8**. Olefin hóa hợp chất có công thức **8** trong các điều kiện Wittig chuẩn như bằng cách sử dụng etyltriphenylphosphoni bromua với sự có mặt của bazơ như kali *tert*-butoxit tạo ra hợp chất có công thức **9**. Bổ sung alkyl acrylat như metyl acrylat với sự có mặt của axit Lewis tạo ra hợp chất có công thức **10**, trong đó R là nhóm alkyl như metyl chẳng hạn. Phản ứng khử liên kết đôi trong hợp chất có công thức **10** một lần nữa trong các điều kiện hydro hóa chuẩn như Pd/C và H₂ để tạo ra hợp chất có công thức **11**. Quá trình loại bỏ nhóm bảo vệ của 3-OR₃ sau quá trình thủy phân bằng bazơ như LiOH tạo ra DCA, hợp chất có công thức **12**.

Hợp chất có công thức **12** (DCA thô) được tinh chế thêm bằng cách rửa bằng metanol và được kết tinh lại từ etanol. Nó được pha loãng bằng MeOH 2 mol% trong CH₂Cl₂ (25 thể tích) và được gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 35 đến 37°C trong thời gian 1 giờ. Huyền phù đặc được để nguội đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 28 đến 30°C và được lọc. Bánh lọc được rửa bằng CH₂Cl₂ (5 thể tích) và được làm khô trong chân không ở nhiệt độ 40°C để thu được DCA.

DCA được hòa tan trong 10% nước DI /EtOH (12 thể tích), nước thu được được lọc qua xelit và được rửa bằng 10% nước DI / EtOH (3 thể tích). Dịch lọc 15 thể tích thu được được bổ sung vào nước DI (30 thể tích) và huyền phù đặc hơi trắng được tạo ra. Huyền phù đặc này được để trong thời gian 24 giờ, được lọc, được rửa bằng nước DI (20 thể tích) và được làm khô trong chân không ở nhiệt độ 40°C để thu được DCA.

Quá trình chuyển hóa DCA thành muối được dụng như natri deoxycholat tiến hành trong các điều kiện thông thường. Theo cách khác, quá trình chuyển hóa muối được dụng của DCA như natri deoxycholat thành DCA cũng được tiến hành trong các điều kiện thông thường.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm được làm ổn định chứa:

dung dịch nước được tạo đệm có độ pH nằm trong khoảng từ khoảng 8,1 đến khoảng 8,5 và chứa thêm natri deoxycholat với lượng khoảng 0,5% và rượu benzylic với lượng khoảng 0,9%, trong đó chế phẩm này được làm ổn định chống lại sự kết tủa, và natri deoxycholat được điều chế theo sơ đồ 1.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm được làm ổn định chứa:

dung dịch nước được tạo đệm có độ pH nằm trong khoảng từ khoảng 8,1 đến khoảng 8,5 và chứa thêm natri deoxycholat với lượng khoảng 1% và rượu benzylic với lượng khoảng 0,9%,

trong đó chế phẩm này được làm ổn định chống lại sự kết tủa, và natri deoxycholat được điều chế theo sơ đồ 1.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Trong các ví dụ và phần nào khác trong bản mô tả này, các thuật ngữ viết tắt có nghĩa sau:

mg	=	Miligram
ml	=	Mililit
mm	=	Milimet
mM	=	Milimol
T	=	Thời gian
UV	=	Tử ngoại
v/v	=	thể tích/thể tích
w/v	=	trọng lượng/thể tích (g/ml)
w/w	=	trọng lượng/trọng lượng
WFI	=	Nước để tiêm
mOsm	=	Milliosmol

Sáng chế được hiểu thêm bằng cách tham khảo các ví dụ sau, mà được dự định đơn thuần là để làm ví dụ của sáng chế.

Ví dụ 1

Sự kết tủa phụ thuộc nồng độ từ dung dịch chứa natri deoxycholat

Các dung dịch chứa natri deoxycholat ở các nồng độ khác nhau được đánh giá về sự tạo ra chất kết tủa sau một tuần bảo quản. Kết quả được thể hiện trên các hình vẽ từ Fig.1 đến Fig.4, và các ví dụ đã chứng minh rằng ở nồng độ natri deoxycholat ở khoảng 0,5% và ở nồng độ khoảng 1% (trọng lượng/thể tích) của trong dung dịch nước chỉ chứa nước và rượu benzylic với lượng 0,9% trọng lượng/thể tích, lượng đáng kể chất kết tủa

được tạo ra mà nó sẽ hạn chế việc sử dụng dung dịch để làm được phẩm để tiêm dưới da. Bằng cách xem xét bằng mắt các hình vẽ từ Fig.1 đến Fig.4, lượng chất kết tủa có thể xếp loại như được nêu trong bảng dưới đây.

Bảng 1

% trọng lượng/thể tích natri deoxycholat	Xếp loại sự kết tủa	Bình luận
0	1	Sự kết tủa về cơ bản không nhìn thấy được bằng mắt thường
0,5	10	Lượng đáng kể chất kết tủa có thể nhìn thấy bằng mắt thường
1,0	7	Lượng đáng kể chất kết tủa có thể nhìn thấy bằng mắt thường nhưng ít hơn lượng chất kết tủa đối với 0,5% trọng lượng/thể tích
2,0	2	Sự kết tủa có thể nhìn thấy bằng mắt thường nhưng có mặt với các lượng về cơ bản là nhỏ hơn so với các dung dịch 0,5 và 1% ở trên

Việc xếp loại sự kết tủa đánh giá là “0” chỉ dung dịch trong và “10” chỉ hỗn hợp có nhiều chất kết tủa dễ dàng nhìn thấy được bằng mắt thường.

Sự quan sát này chứng tỏ rằng ở khoảng nồng độ được thử nghiệm, hiện tượng kết tủa về cơ bản bị ảnh hưởng bởi nồng độ deoxycholat. Để xác định tác động của độ pH đến sự kết tủa, độ pH của các dung dịch được xác định, như được nêu trong Bảng 2, mà chúng tỏ rằng độ pH của các dung dịch về cơ bản là giống nhau, đặc biệt là đối với dung dịch có nồng độ 1% và 2%. Độ tan trong nước nghịch đảo của natri deoxycholat, trong đó dung dịch loãng hơn (0,5% hoặc 1%) tạo ra nhiều kết tủa hơn so với dung dịch có nồng độ đậm đặc hơn (2%), là ngạc nhiên và cũng chứng tỏ rằng hiện tượng kết tủa là không trực tiếp

liên quan đến độ pH, bởi vì độ pH của các dung dịch về cơ bản là giống nhau, đặc biệt là đối với các dung dịch có nồng độ 1% và 2%.

Bảng 2

% trọng lượng/thể tích Natri deoxycholat	Số ghi #	Nhiệt độ/°C	Độ pH
0	1	24,0	7,75
0	2	24,1	7,58
0,5	1	24,7	7,77
0,5	2	24,5	7,71
1	1	24,6	7,93
1	2	24,5	7,97
2	1	24,9	8,07
2	2	24,7	8,06

Theo đó, sáng chế đề xuất rằng sự kết tủa đáng ngạc nhiên từ dung dịch muối của axit deoxycholic loãng, từ 0,4% đến ít hơn 2% (trọng lượng/thể tích), được hạn chế, đối với phạm vi mà các dung dịch này là hữu dụng để tiêm dưới da, bằng cách tăng độ pH của dung dịch.

Ví dụ 2

Chế phẩm natri deoxycholat (API) chứa và không chứa rượu benzylic

1. Dược phẩm chứa natri deoxycholat (0,5% và 1%) được điều chế chứa natri phosphat (10mM), natri clorua (75-90mM), rượu benzylic (0,9%), axit deoxycholic, pH 8,3.

2. Dược phẩm đẳng trương chứa natri deoxycholat không chứa rượu benzylic được điều chế bằng cách sử dụng dạng axit tự do, cụ thể là axit deoxycholic, như sau.

a. Điều chế các mẻ đẳng trương thể tích 100ml ở nồng độ 10mg/ml

Bổ sung 1,0g axit deoxycholic (DCA) vào dung dịch chỉ sau khi điều chế dung dịch bazơ bằng 70ml nước, 142mg dinatri hydrophosphat khan và 267μl dung dịch NaOH

10M. Cần khoảng 20 phút để API đi vào dung dịch. Độ pH của dung dịch này là 11,1. Việc bổ sung nhanh HCl vào đã được biết là gây ra một số quá trình kết tủa, vì vậy thêm từ từ 225 μ l dung dịch HCl 1M vào để điều chỉnh dung dịch về độ pH 8,3. Trộn đều dung dịch này trong thời gian 15 phút nữa. Sau khi hiệu chỉnh thể tích đến 100ml bằng nước, nồng độ molal đồng thẩm áp được thấy là 51mOsm. Việc bổ sung 859mg NaCl làm cho nồng độ molal đồng thẩm áp lên tới 305mOsm.

Dung dịch điều chế được như vậy có thể tùy ý được đông khô để tạo ra sản phẩm được đông khô mà có thể được hoàn nguyên bằng cách bổ sung lượng nước vô trùng thích hợp. Theo đó, sáng chế cũng đề xuất các sản phẩm được đông khô của các dung dịch được bộc lộ trong bản mô tả này.

b. Điều chế các mẻ đẳng trương thể tích 1000ml ở nồng độ 10mg/ml

Các kết quả ở phần a (ở trên) không thật tốt để điều chế với lượng lớn hơn khi tăng gấp mười lần. Thêm 1,4g dinatri hydrophosphat, 8,6g NaCl, và 2,7ml dung dịch NaOH 10M vào 900ml nước. Tiếp đó, thêm 10,0g DCA vào và khuấy trộn đến trong trong thời gian 30 phút. Độ pH của dung dịch này là 10,4. Thêm từ từ 1,5ml dung dịch HCl 1M vào và khuấy trộn trong thời gian 5 phút. Độ pH cuối cùng là 8,1. Phải thêm 20 μ l dung dịch NaOH 10M vào để điều chỉnh độ pH đến 8,3. Sau khi điều chỉnh thể tích đến 1000ml bằng nước, nồng độ molal đồng thẩm áp là 314mOsm.

Dựa trên các quan sát về sự thay đổi độ pH trong suốt quá trình thêm dung dịch HCl 1M, đã xác định được rằng đối với các mẻ 1000ml ở nồng độ 10mg/ml API, chỉ 1,0ml dung dịch HCl 1M cần phải ngay lập tức được thêm vào và tiếp đó được chuẩn độ từ từ bằng các thể tích nhỏ axit. Thứ tự bổ sung được đề nghị đối với 1000ml dung dịch API 10 mg/ml được nêu trong Bảng 3.

c. Điều chế các mẻ đẳng trương thể tích 100ml ở nồng độ 5mg/ml

Thêm 0,50g axit deoxycholic (DCA) vào dung dịch chỉ sau khi dung dịch có tính bazơ được điều chế bằng 70ml nước, 142mg dinatri hydrophosphat và 134 μ l dung dịch NaOH 10M. Cần 20 phút để API đi vào trong dung dịch. Độ pH là 10,7. Việc bổ sung nhanh HCl đã được biết là gây ra một số quá trình kết tủa, vì vậy 115 μ l dung dịch HCl 1M được thêm vào để điều chỉnh dung dịch này đến độ pH 8,3. Dung dịch này được

khuấy trộn trong thời gian 15 phút nữa. Sau khi điều chỉnh thể tích đến 100ml bằng nước, nồng độ molal đồng thẩm áp được thấy là 39mOsm. Việc bổ sung 859mg NaCl làm cho nồng độ molal đồng thẩm áp lên tới 294mOsm.

d. Điều chế các mẻ đẳng trương thể tích 1000ml ở nồng độ 5mg/ml

Các kết quả ở phần c (ở trên) không thật tốt để điều chế với lượng lớn hơn khi tăng gấp mười lần. Thêm 1,4g dinatri hydrophosphat, 8,6g NaCl, và 1,3ml dung dịch NaOH 10M vào 900ml nước. Tiếp đó, thêm 5,0g DCA vào và khuấy trộn đến trong trong thời gian 30 phút. Độ pH là 8,6. Sau khi thêm 350 μ l dung dịch HCl 1M vào, độ pH giảm xuống 8,0. Cần phải thêm 25 μ l dung dịch NaOH 10M nữa vào để điều chỉnh độ pH đến 8,4. Sau khi điều chỉnh thể tích đến 1000ml bằng nước, nồng độ molal đồng thẩm áp là 305mOsm. Dựa trên các quan sát về sự thay đổi độ pH trong suốt quá trình bổ sung dung dịch HCl 1M, đã xác định được rằng đối với các mẻ 1000ml ở nồng độ 5mg/ml API, dung dịch này cần phải được chuẩn độ từ từ bằng các thể tích nhỏ của dung dịch HCl 1M. Thứ tự bổ sung được đề nghị đối với 1000ml dung dịch 5mg/ml được nêu trong Bảng 3.

Bảng 3. Thứ tự bổ sung (từ trái qua phải) đối với chế phẩm đẳng trương không chứa rượu benzylic có thể tích 1000ml

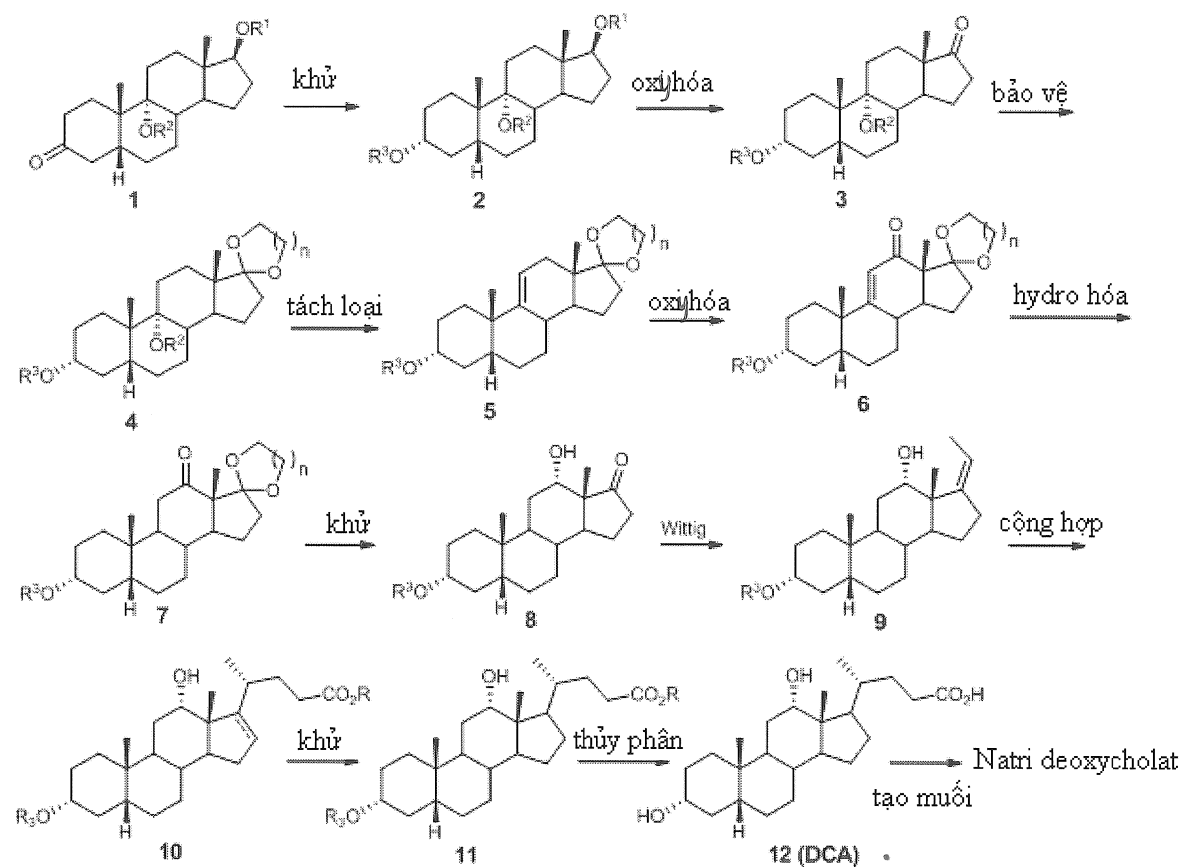
Nồng độ API	Diatric hydrophosphat khan	Dung dịch NaOH 10M	DCA	NaCl	dung dịch HCl 1M	pH
10mg/ml	1,4g	2,7ml	10,0g	8,6g	1,0ml + bổ sung thêm đến độ pH cuối cùng	8,3
5mg/ml	1,4g	1,3ml	5,0g	8,6g	bổ sung thêm đến độ pH	8,3

Nồng độ API	Diatri hydrophosphat khan	Dung dịch NaOH 10M	DCA	NaCl	dung dịch HCl 1M	pH
					cuối cùng	

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm nước ổn định kết tủa về cơ bản chứa muối của axit deoxycholic với lượng nằm trong khoảng từ 0,4% trọng lượng/thể tích đến 1% trọng lượng/thể tích và tá dược được dụng, và trong đó dược phẩm này được duy trì độ pH nằm trong khoảng từ 8,2 đến 8,5.
2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó muối của axit deoxycholic đã nêu có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,5% trọng lượng/thể tích đến 1% trọng lượng/thể tích.
3. Dược phẩm theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó muối của axit deoxycholic đã nêu có mặt với lượng 0,5% trọng lượng/thể tích.
4. Dược phẩm theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó muối của axit deoxycholic đã nêu có mặt với lượng 1% trọng lượng/thể tích.
5. Dược phẩm theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó tá dược đã nêu là dung môi, đệm, chất bảo quản, chất hỗ trợ quá trình đông khô, hoặc tổ hợp bất kỳ của chúng.
6. Dược phẩm theo điểm 5, trong đó tá dược đã nêu là dung môi, như nước vô trùng.
7. Dược phẩm theo điểm 5, trong đó tá dược đã nêu là chất bảo quản, như rượu benzylic.
8. Dược phẩm theo điểm 7, trong đó chất bảo quản đã nêu là rượu benzylic 0,9%.
9. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm đã nêu có độ pH là 8,3.
10. Dược phẩm theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, trong đó dược phẩm này là dược phẩm thích hợp để tiêm.
11. Dược phẩm theo điểm 10, trong đó dược phẩm này thích hợp cho tiêm dưới da.
12. Dược phẩm theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11, trong đó muối đã nêu là muối kim loại kiềm.
13. Dược phẩm theo điểm 12, trong đó muối kim loại kiềm đã nêu là muối natri.

14. Dược phẩm theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 13, trong đó axit deoxycholic được tổng hợp theo sơ đồ sau:



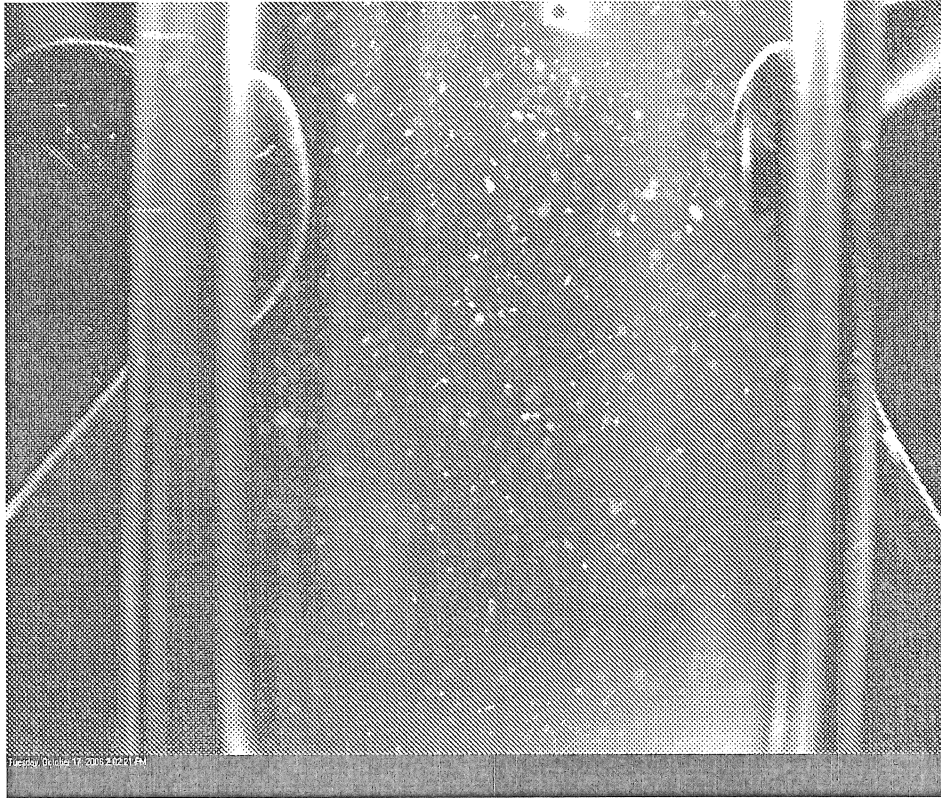
1/4

Fig. 1



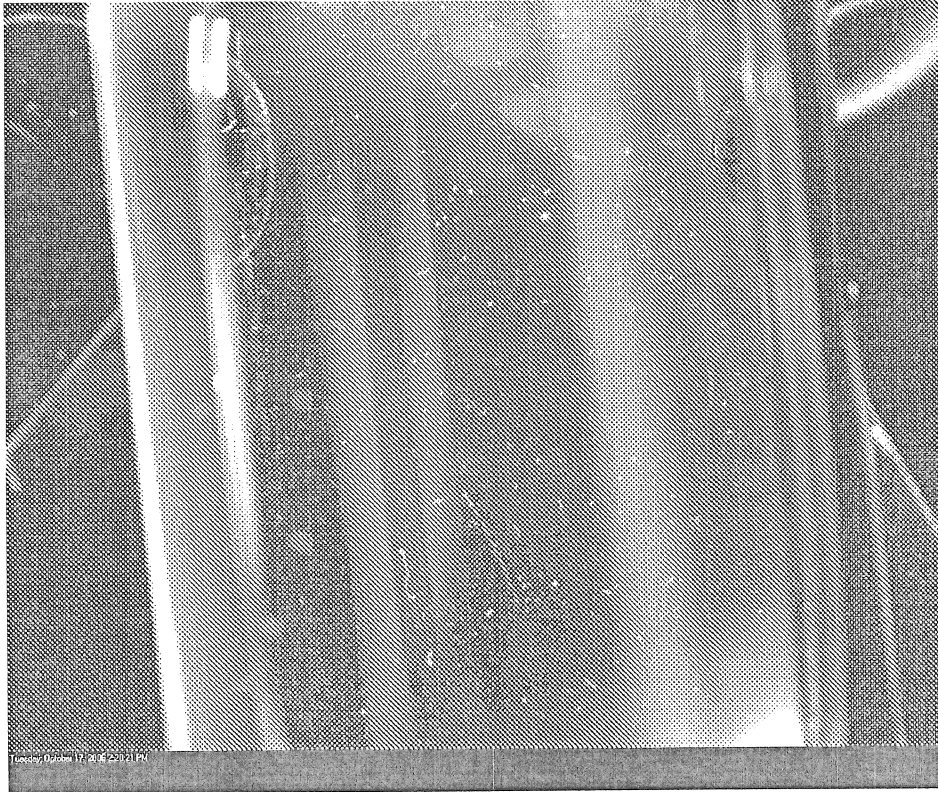
2/4

Fig. 2



3/4

Fig. 3



4/4

Fig. 4

