



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

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)

(11)



CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

1-0023215

(51)⁷ C08G 63/08, A61K 47/34

(13) B

(21) 1-2012-01834

(22) 28.12.2010

(86) PCT/KR2010/009421 28.12.2010

(87) WO2011/081406 07.07.2011

(30) 10-2009-0132861 29.12.2009 KR

(45) 25.02.2020 383

(43) 25.09.2012 294

(73) SAMYANG BIOPHARMACEUTICALS CORPORATION (KR)

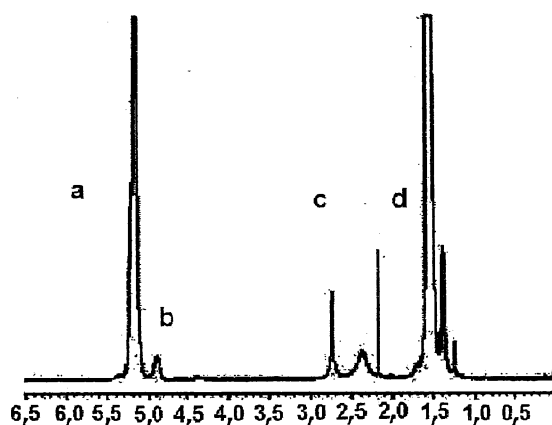
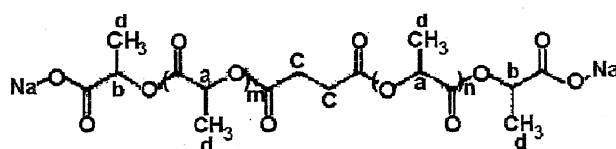
263, Yeonji-dong, Jongno-gu, Seoul 110-725, Republic of Korea

(72) YI, Yil Woong (KR), SEO, Min Hyo (KR), KIM, Bong Oh (KR), CHOI, In Ja (KR), YOON, Hye Jeong (KR), KIM, Se Yoon (KR), LEE, Sang Jun (KR), CHO, Joong Woong (KR)

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) PHỨC HỢP CỦA POLYME ION VỚI ION KIM LOẠI ĐA HÓA TRỊ, CHẾ PHẨM VI HẠT GIẢI PHÓNG KÉO DÀI CHỨA DƯỢC CHẤT PROTEIN, POLYPEPTIT HOẶC PEPTIT VÀ PHỨC HỢP NÀY, VÀ PHƯƠNG PHÁP BẢO CHẾ NÓ

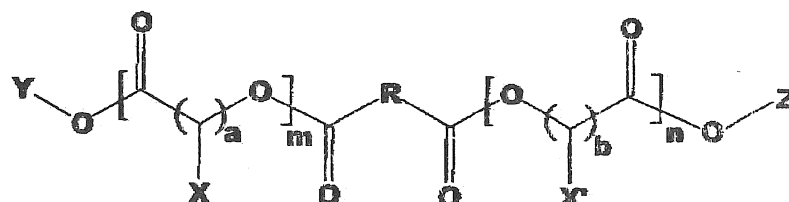
(57) Sáng chế đề cập đến polyme ion để phân phối dược chất protein, polypeptit hoặc peptit, phương pháp điều chế polyme này, chế phẩm chứa polyme này để giải phóng kéo dài dược chất protein, polypeptit hoặc peptit, và phương pháp bào chế chế phẩm này. Sáng chế dựa trên cơ sở dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1 có trọng lượng phân tử trung bình không quá 7.000 dalton và phương pháp điều chế nó, và chế phẩm giải phóng kéo dài chứa dược chất protein, polypeptit hoặc peptit và phương pháp bào chế nó bằng cách sử dụng dẫn xuất này.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến polyme ion để phân phối dược chất protein, polypeptit hoặc peptit, phương pháp điều chế polyme này, chế phẩm chứa polyme này để giải phóng kéo dài dược chất protein, polypeptit hoặc peptit, và phương pháp bào chế chế phẩm này. Sáng chế dựa trên cơ sở dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1 dưới đây có trọng lượng phân tử trung bình không quá 7.000 dalton và phương pháp điều chế nó, và chế phẩm giải phóng kéo dài chứa dược chất protein, polypeptit hoặc peptit và phương pháp bào chế nó bằng cách sử dụng dẫn xuất này:

Công thức hóa học 1



Trong công thức hóa học 1 trên đây, X, X', Y, Z, R, m, n, a và b là như được xác định trong bản mô tả này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Nhờ các tiến bộ nhanh chóng trong lĩnh vực kỹ thuật di truyền, nhiều chức năng và vai trò của protein và peptit đã được xác định và việc sản xuất chúng ở quy mô lớn trở nên khả thi. Kết quả là, nhiều dược chất protein hoặc peptit đã có trên thị trường, và những nỗ lực nghiên cứu các dược chất mới chứa các chất này vẫn được tiếp tục.

Khi protein hoặc peptit được dùng qua đường miệng, chúng khó đi qua thành ruột và dễ dàng bị thoái hóa hoặc phân hủy bởi enzym trong đường tiêu hóa, do đó sinh khả dụng của chúng rất thấp. Vì vậy, chúng được nghiên cứu phát triển dưới dạng chế phẩm để tiêm.

Trong trường hợp chế phẩm để tiêm, để giảm bất tiện của bệnh nhân do phải tiêm thuốc thường xuyên, nhiều phương pháp đã được nghiên cứu để bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài nhằm tạo ra tác dụng dược lý một cách liên tục trong khoảng thời gian dài sau một lần tiêm. Các phương pháp này được bộc lộ trong các tài liệu tham khảo (Khaled Al-Tahami et al., "Smart Polymer Based Delivery Systems for Peptides and Proteins", Recent Patents on Drug Delivery & Formulation 2007, Vol. 1, No. 1, trang 65-71, 2007; Fei Wu et al., "Polymer-Based Sustained-Release Dosage Forms for Protein Drugs, Challenges, and Recent Advances", AAPS PharmSciTech, Vol. 9, No. 4, trang 1 1218-1229, 2008).

Chế phẩm protein giải phóng kéo dài có trên thị trường gồm có các sản phẩm được sản xuất bằng cách áp dụng công nghệ PEG hóa – tức là kết hợp polyetylen glycol (PEG) với protein – với interferon (PEGasys®, PEGIntron®), GCSF (Neulasta®), asparaginaza (Oncaspar®), adenosin deaminaza (Adagen®), v.v.. Tuy nhiên, vì thể tiếp hợp của PEG với protein có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 5.000 đến 50.000 dalton, chúng là các hợp chất mới nên cần phải kiểm tra về độ an toàn và hiệu quả sinh học để ứng dụng đối với các protein khác. Ngoài ra, cũng cần chi phí cao để sản xuất.

Ngoài ra, các dược chất peptit giải phóng kéo dài như leuprolide axetat (Lupron® Depot), octreotide (Sandostatin®), goserelin axetat (Zoladex®), triptorelin pamoat (Trelatar® Depot), v.v. được bào chế bằng cách sử dụng axit polylactic hoặc polyme axit polylactic-axit glycolic - là polyme dễ phân huỷ sinh học - làm chất mang phân phối vi hạt. Tuy nhiên, các tác dụng giải phóng kéo dài của chúng vẫn chưa đáp ứng được yêu cầu.

Trong số các dược chất protein, mới chỉ có chế phẩm giải phóng kéo dài chứa hormon tăng trưởng của người (Nutropin® Depot) được USFDA phê chuẩn. Tuy nhiên, chế phẩm này đã bị rút hoàn toàn khỏi thị trường vào năm 2004 do nó có tác dụng kém hơn so với các chế phẩm dùng hằng ngày.

Như vậy, các chế phẩm chứa dược chất protein hoặc peptit sử dụng vi hạt axit polylactic hoặc polyme axit polylactic-axit glycolic đã được phát triển đến nay vẫn gặp phải các vấn đề như tốc độ giải phóng tức thì ban đầu và tác dụng giải phóng kéo dài không đủ để có thể dùng làm chế phẩm giải phóng kéo dài. Ngoài ra, các vấn đề về kinh tế như chi phí sản xuất cao do sự biến tính và thất thoát dược chất lớn trong quá trình sản xuất cũng là các vấn đề cần được giải quyết khi bào chế các chế phẩm này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích kỹ thuật

Sáng chế này nhằm giải quyết các vấn đề trong tình trạng kỹ thuật như đã nêu trên. Mục đích kỹ thuật của sáng chế là đề xuất polyme có tác dụng giải phóng dược chất kéo dài tốt mà không gặp phải các vấn đề như tốc độ giải phóng tức thì ban đầu và độc tính và do đó đặc biệt thích hợp để phân phối dược chất protein, polypeptit hoặc peptit trong thời gian kéo dài, và đề xuất chế phẩm chứa dược chất protein, polypeptit hoặc peptit giải phóng kéo dài chứa polyme này làm chất mang phân phối dược chất.

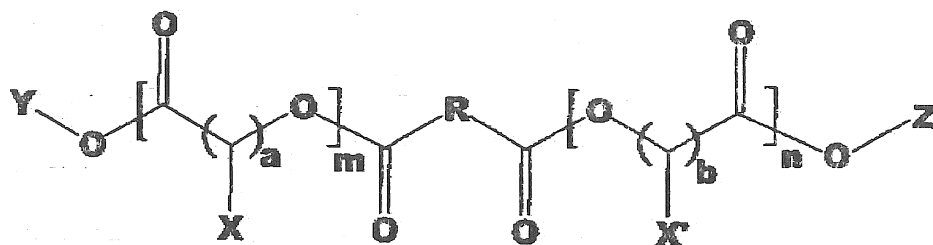
Theo một khía cạnh khác, mục đích kỹ thuật của sáng chế này là đề xuất phương pháp bào chế hiệu quả chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế mà không sử dụng dung môi hữu cơ.

Giải pháp kỹ thuật

Để đạt được các mục đích kỹ thuật nêu trên, sáng chế đưa ra hướng dẫn theo các điểm yêu cầu bảo hộ độc lập và đối tượng của sáng chế được xác định trong các điểm 1-12 yêu cầu bảo hộ kèm theo. Các phương án được mô tả trong bản mô tả này

mà không được bao hàm bởi yêu cầu bảo hộ chỉ dùng để minh họa thuộc tính kỹ thuật của sáng chế. Sáng chế dựa trên cơ sở dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1 dưới đây có trọng lượng phân tử trung bình không quá 7.000 dalton:

Công thức hóa học 1



Trong công thức hóa học 1 trên đây,

X và X' độc lập là hydro, alkyl hoặc aryl,

Y và Z độc lập không có mặt hoặc là kim loại kiềm,

m và n độc lập là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 95, với điều kiện là $5 < m + n < 100$,

a và b độc lập là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 6,

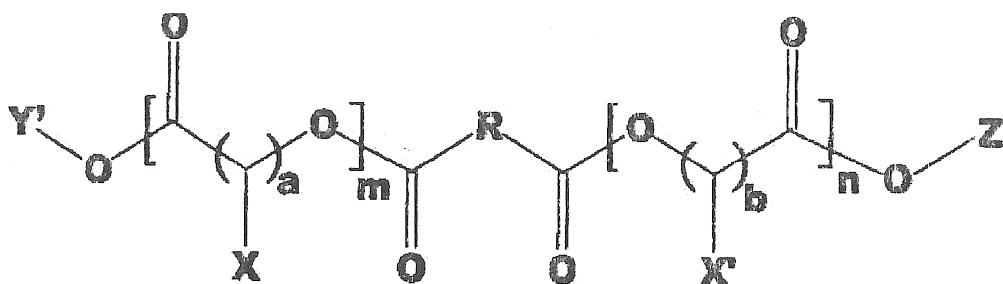
R là $-(CH_2)_k-$ không được thế hoặc được thế trong đó k là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 10, alkenyl hóa trị hai có từ 2 đến 10 nguyên tử cacbon, aryl hóa trị hai có từ 6 đến 20 nguyên tử cacbon, hoặc kết hợp của chúng.

Cách diễn đạt "Y và Z độc lập không có mặt" được sử dụng bản mô tả này có nghĩa là oxy liên kết độc lập với Y và Z là oxy ở dạng mang điện tích âm, tức là dạng O^- .

Theo một khía cạnh khác, sáng chế bộc lộ phương pháp điều chế dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 2 dưới đây, phương pháp này bao gồm các bước:

1) polyme hóa axit lactic hoặc dẫn xuất của nó ở dạng axit tự do hoặc lacton với axit dicarboxylic để thu được dẫn xuất của axit polylactic có chứa axit carboxylic ở cả hai đầu; và 2) hoà tan dẫn xuất của axit polylactic thu được ở bước 1) nêu trên trong dung môi hữu cơ, và bổ sung dung dịch nước chứa muối của kim loại kiềm vào dung dịch thu được để thu được muối của dẫn xuất axit polylactic:

Công thức hóa học 2



Trong công thức hóa học 2 trên đây, X, X', R, m, n, a và b là như được xác định trong bản mô tả này, và Y' và Z' độc lập là kim loại kiềm.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế dựa trên cơ sở phức hợp của dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1, có trọng lượng phân tử trung bình không quá 7.000 dalton, với ion kim loại đa hóa trị; và chế phẩm giải phóng kéo dài chứa phức hợp này.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế dựa trên cơ sở chế phẩm giải phóng kéo dài chứa được chất protein, polypeptit hoặc peptit, bao gồm: i) hoạt chất là protein, polypeptit hoặc peptit, ii) chất mang phân phối được chất là dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1, và iii) ion kim loại đa hóa trị.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế dựa trên cơ sở chế phẩm giải phóng kéo dài chứa được chất protein, polypeptit hoặc peptit, bao gồm: i) hoạt chất là protein, polypeptit hoặc peptit, và ii) chất mang phân phối được chất là phức hợp của dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1 với ion kim loại đa hóa trị. Chế phẩm giải phóng kéo dài này bao gồm các vi hạt trong đó hoạt chất như protein, polypeptit hoặc peptit được giữ trong phức hợp được tạo ra từ dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1 và ion kim loại đa hóa trị.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế dựa trên cơ sở phương pháp bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa được chất protein, polypeptit hoặc peptit, phương pháp này bao gồm các bước: a) điều chế dung dịch nước chứa i) hoạt chất là protein, polypeptit hoặc peptit, và ii) dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1; và b)

bổ sung nhỏ giọt dung dịch nước thu được ở bước a) nêu trên vào dung dịch nước chứa ion kim loại đa hóa trị để thu được kết tủa.

Hiệu quả có lợi

Chế phẩm phân phối được chất kéo dài sử dụng phức hợp của polyme ion theo sáng chế tạo thuận lợi cho việc giải phóng kéo dài hoạt chất như protein, polypeptit hoặc peptit. Ngoài ra, do phương pháp bào chế chế phẩm này không sử dụng dung môi hữu cơ bất kỳ, nên có thể tránh được sự biến tính của dược chất trong quá trình sản xuất và do đó tối đa hóa tác dụng dược lý của dược chất. Ngoài ra, không cần quy trình riêng để loại dung môi hữu cơ. Hơn nữa, do tỷ lệ kết hợp dược chất protein, polypeptit hoặc peptit có thể đạt mức 90% hoặc lớn hơn nên giảm thiểu được tổn hao dược chất trong quá trình sản xuất.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 là phổ $^1\text{H-NMR}$ của dẫn xuất của axit polylactic thu được trong ví dụ điều chế 1, được hoà tan trong CDCl_3 .

Fig. 2 là phổ $^1\text{H-NMR}$ của muối natri của dẫn xuất axit polylactic có công thức hóa học 1 thu được trong ví dụ 1, được hoà tan trong CDCl_3 .

Fig. 3 là đồ thị thu được từ thử nghiệm 1, thể hiện kết quả của thử nghiệm dược động học của chế phẩm chứa hormon tăng trưởng của người ở chuột.

Fig. 4 là đồ thị thu được từ thử nghiệm 2, thể hiện kết quả đo nồng độ IGF-1 trong máu sau khi tiêm dưới da chế phẩm chứa hormon tăng trưởng của người cho chuột, tuyến yên của chuột đã được cắt bỏ.

Fig. 5 là đồ thị thu được từ thử nghiệm 2, thể hiện kết quả đo mức tăng cân sau khi tiêm dưới da chế phẩm chứa hormon tăng trưởng của người cho chuột, tuyến yên của chuột đã được cắt bỏ.

Fig. 6 là đồ thị thu được từ thử nghiệm 3, thể hiện kết quả của thử nghiệm dược động học của chế phẩm chứa erythropoietin ở chuột.

Fig. 7 là đồ thị thu được từ thử nghiệm 4, thể hiện kết quả của thử nghiệm được động học của chế phẩm chứa exenatide ở chuột.

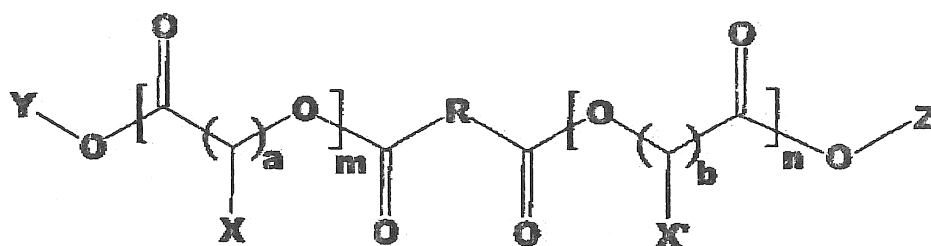
Mô tả chi tiết sáng chế

Dưới đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn.

1. Dẫn xuất của axit polylactic và phương pháp điều chế nó

Dẫn xuất của axit polylactic để phân phối được chất protein, polypeptit hoặc peptit trong thời gian kéo dài, như được bộc lộ theo sáng chế, có nhóm carboxylic trên cả hai đầu và được thể hiện bằng công thức hóa học 1 dưới đây:

Công thức hóa học 1



Trong công thức hóa học 1 trên đây,

X và X' độc lập là hydro, alkyl hoặc aryl,

Y và Z độc lập không có mặt hoặc là kim loại kiềm,

m và n độc lập là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 95, với điều kiện là $5 < m + n < 100$,

a và b độc lập là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 6,

R là $-(CH_2)_k-$ không được thế hoặc được thế trong đó k là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 10, alkenyl hóa trị hai có từ 2 đến 10 nguyên tử cacbon, aryl hóa trị hai có từ 6 đến 20 nguyên tử cacbon, hoặc kết hợp của chúng.

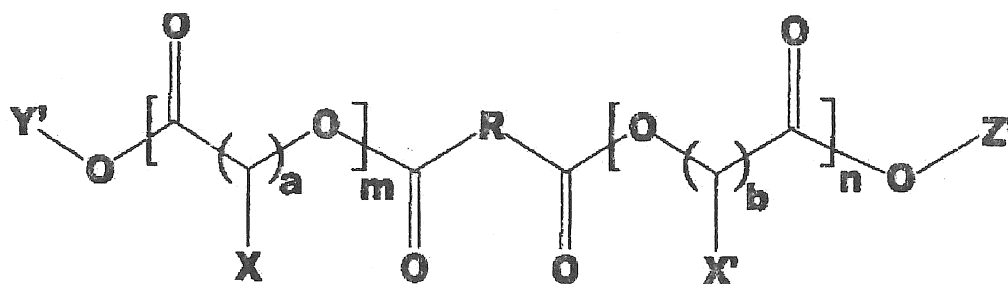
Cách diễn đạt "Y và Z độc lập không có mặt" như trên có nghĩa là oxy liên kết độc lập với Y và Z là oxy ở dạng mang điện tích âm, tức là dạng O^- .

Trong công thức hóa học 1 trên đây, X và X' độc lập có thể là hydro, alkyl có từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon, hoặc aryl có 6 nguyên tử cacbon và không được thế hoặc

được thế bởi alkyl có từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon. Cụ thể hơn, X và X' độc lập là hydro, metyl hoặc phenyl, và cụ thể hơn nữa, chúng là metyl.

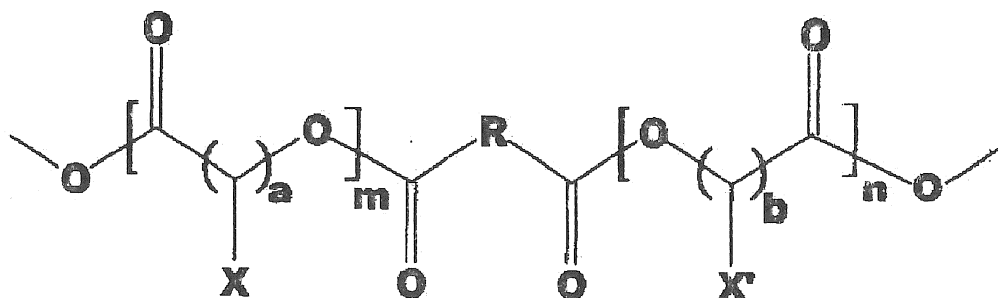
Theo một phương án của sáng chế, trong công thức hóa học 1 trên đây, Y và Z độc lập không có mặt hoặc là kim loại kiềm. Trong trường hợp Y và Z là kim loại kiềm, hợp chất này có thể được thể hiện cụ thể bằng công thức hóa học 2. Trong trường hợp Y và Z không có mặt, có nghĩa là cả hai đầu của hợp chất polyme có công thức hóa học 1 được thể hiện dưới dạng anion, và hợp chất này có thể được thể hiện cụ thể bằng công thức hóa học 3. Đặc biệt, kim loại kiềm có thể độc lập là natri, kali hoặc lithi.

Công thức hóa học 2



Trong công thức hóa học 2 trên đây, X, X', R, m, n, a và b là như được xác định trong bản mô tả này, và Y' và Z' độc lập là kim loại kiềm.

Công thức hóa học 3



Trong công thức hóa học 3 trên đây, X, X', R, m, n, a và b là như được xác định trong bản mô tả này; và

R có thể là $-(CH_2)_k-$ trong đó k là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 10.

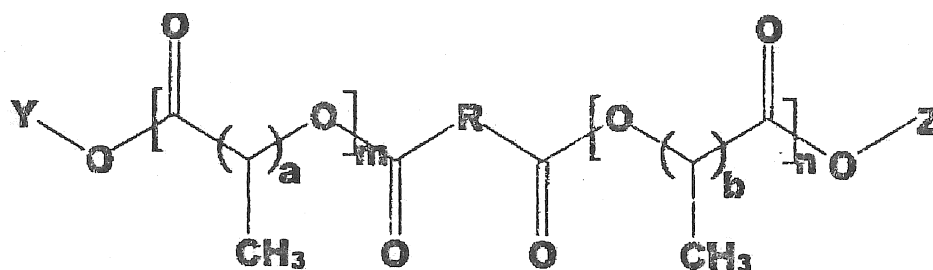
Trong công thức hóa học 1 trên đây, khi R là alkenyl hóa trị hai có từ 2 đến 10

nguyên tử cacbon hoặc aryl hóa trị hai có từ 6 đến 20 nguyên tử cacbon, chúng cũng có thể độc lập được thế bởi nhóm hydroxy hoặc C1-C5 alkyl.

Trong công thức hóa học 1 trên đây, m và n tốt hơn là đáp ứng yêu cầu $10 < m + n < 70$.

Dẫn xuất của axit polylactic có thể được thể hiện bằng công thức hóa học 4 dưới đây:

Công thức hóa học 4



Trong công thức hóa học 4 trên đây, Y, Z, R, m, n, a và b là như được xác định trong bản mô tả này.

Dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1 tan trong nước, và có trọng lượng phân tử trung bình không quá 7.000 dalton, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 500 đến 7.000 dalton, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 700 đến 5.000 dalton, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 1.000 đến 4.000 dalton. Nếu trọng lượng phân tử trung bình lớn hơn 7.000 dalton, thì dẫn xuất của axit polylactic không hoà tan được trong nước, và do đó không thích hợp để sử dụng làm chất mang phân phối dược chất. Ngoài ra, nếu trọng lượng phân tử trung bình dưới 500 dalton, do trọng lượng phân tử này nhỏ nên hợp chất có thể bị phân hủy trong cơ thể rất nhanh, và do đó khó đạt được mục đích giải phóng dược chất kéo dài.

Dẫn xuất của axit polylactic bao gồm hai khối, ví dụ, được chọn từ nhóm bao gồm axit polylactic, polylactit, polyglycolit, axit polymandêlic, polycaprolacton và copolyme của chúng, với trung tâm là axit đicarboxylic. Theo một ví dụ của sáng chế, dẫn xuất của axit polylactic bao gồm hai khối được chọn từ nhóm bao gồm axit polylactic, copolyme của axit lactic và axit mandêlic, copolyme của axit lactic và axit

glycolic, và copolyme của axit lactic và caprolacton. Cụ thể hơn, dẫn xuất của axit polylactic bao gồm hai khối axit polylactic.

Axit dicarboxylic có từ 3 đến 10 nguyên tử cacbon, như axit oxalic, axit malonic, axit malic, axit succinic, axit glutaric, axit adipic, axit pimelic, axit suberic, axit azelaic, axit sebacic, axit dodecandioic, hoặc hỗn hợp của chúng, được ưu tiên sử dụng. Ngoài ra, axit dicarboxylic có từ 4 đến 12 nguyên tử cacbon không no như axit fumaric hoặc axit maleic, axit aryl dicarboxylic có từ 8 đến 22 nguyên tử cacbon như axit phthalic hoặc axit terephthalic cũng có thể được sử dụng.

Trong dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1, cả hai đầu là ion và do đó có thể hoặc không thể tạo được liên kết ion với ion kim loại kiềm, như được thể hiện cụ thể lần lượt bằng các công thức hóa học 2 và 3. Các anion của các đầu này có thể phản ứng để tạo ra phức hợp liên kết ion nhờ việc gắn kết trực tiếp với ion kim loại đa hóa trị, hoặc ion kim loại kiềm, trong trường hợp thay thế cho ion kim loại đa hóa trị.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế bộc lộ phương pháp điều chế dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 2, phương pháp này bao gồm các bước: 1) polyme hóa axit lactic hoặc dẫn xuất của nó ở dạng axit tự do hoặc lacton với axit dicarboxylic để thu được dẫn xuất của axit polylactic có chứa axit carboxylic ở cả hai đầu; và 2) hoà tan dẫn xuất của axit polylactic thu được ở bước 1) nêu trên trong dung môi hữu cơ, và bổ sung dung dịch nước chứa muối của kim loại kiềm vào dung dịch thu được để thu được muối của dẫn xuất axit polylactic.

Ví dụ, ở bước 1) của phương pháp điều chế dẫn xuất của axit polylactic, axit lactic hoặc dẫn xuất của nó ở dạng axit tự do hoặc lacton - có thể được sử dụng dưới dạng monome - được chọn từ nhóm bao gồm axit lactic, lactit, glycolit, axit mandelic, caprolacton, và hỗn hợp của chúng.

Tỷ lệ các lượng được sử dụng giữa axit lactic hoặc dẫn xuất của nó ở dạng axit tự do hoặc lacton và axit dicarboxylic không bị giới hạn cụ thể, và có thể được chọn

thoải mái trong khoảng mà trong đó có thể thu được dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1. Có thể sử dụng từ 1 đến 20 phần khối lượng axit dicarboxylic so với 100 phần khối lượng axit lactic hoặc dẫn xuất của nó ở dạng axit tự do hoặc lacton.

Cụ thể hơn, ở bước 1) của phương pháp điều chế dẫn xuất của axit polylactic, dẫn xuất của axit polylactic chứa axit carboxylic trên cả hai đầu có thể được điều chế bằng cách đun nóng hỗn hợp chứa các monome của axit lactic hoặc dẫn xuất của nó ở dạng axit tự do hoặc lacton và axit dicarboxylic có từ 3 đến 10 nguyên tử cacbon ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 180°C, loại nước trong từ 0,5 đến 4 giờ, và sau đó polyme hóa hỗn hợp này ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 150 đến 250°C trong từ 10 đến 48 giờ. Ở bước trên của quá trình sản xuất, nếu nhiệt độ phản ứng thấp hơn 150°C hoặc thời gian phản ứng ít hơn 10 giờ trong quá trình polyme hoá sau khi loại nước, có thể khó thu được polyme có trọng lượng phân tử mong muốn. Nếu nhiệt độ phản ứng cao hơn 250°C hoặc thời gian phản ứng quá 48 giờ, có thể gặp phải vấn đề phân hủy nhiệt của polyme.

Ở bước 2) của phương pháp điều chế dẫn xuất của axit polylactic, dẫn xuất của axit polylactic chứa axit carboxylic trên cả hai đầu thu được ở bước 1) được hoà tan trong dung môi hữu cơ, và sau đó bổ sung dung dịch nước chứa muối của kim loại kiềm vào dung dịch thu được để thu được dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 2.

Ví dụ, kim loại kiềm có thể được chọn từ nhóm bao gồm natri bicacbonat, natri cacbonat, kali bicacbonat, kali cacbonat, lithi cacbonat và hỗn hợp của chúng. Cụ thể là có thể sử dụng natri bicacbonat hoặc kali bicacbonat. Đối với dung môi hữu cơ, có thể sử dụng dung môi hữu cơ trộn lẫn được với nước. Cụ thể là có thể sử dụng axetonitril hoặc axeton. Ở bước 2), tỷ lệ các lượng được sử dụng giữa dẫn xuất của axit polylactic chứa axit carboxylic trên cả hai đầu và muối của kim loại kiềm không bị giới hạn cụ thể, và có thể được chọn thoải mái trong khoảng mà trong đó có thể thu được dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 2. Từ 2 đến 10 mol muối của

kim loại kiềm có thể được sử dụng so với 1 mol dẫn xuất của axit polylactic chứa axit carboxylic trên cả hai đầu.

Phương pháp điều chế dẫn xuất của axit polylactic có thể còn bao gồm sau bước 2), bước bổ sung, ví dụ, natri clorua vào dung dịch polyme thu được, và tách và thu lại lớp hữu cơ, và sau đó làm khô lớp hữu cơ thu lại được trong chân không để loại dung môi hữu cơ, từ đó thu được dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 2.

2. Phức hợp, chế phẩm giải phóng kéo dài, và phương pháp bào chế chế phẩm này

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phức hợp của dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1, có trọng lượng phân tử trung bình không quá 7.000 dalton, với ion kim loại đa hóa trị. Phức hợp này là hữu ích làm chất mang phân phối được chất.

Dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1 được mô tả như trên, và có các đầu anion. Do đó, phức hợp này có thể được tạo ra nhờ liên kết ion giữa ion kim loại đa hóa trị và 2 mol hoặc nhiều hơn dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1. Trong phức hợp theo sáng chế, ion kim loại đa hóa trị có thể là ion kim loại có hai hoặc ba hóa trị, ví dụ, ion đa hóa trị của kim loại được chọn từ nhóm bao gồm kẽm, canxi, magie và sắt. Ví dụ, ion kim loại đa hóa trị có thể được cung cấp dưới dạng muối như muối clorua của các kim loại này, nhưng không bị giới hạn cụ thể ở đó.

Theo mô tả về phức hợp, dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1 là dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 3 như được mô tả trên đây.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế bộc lộ chế phẩm giải phóng kéo dài chứa được chất protein, polypeptit hoặc peptit, bao gồm: i) hoạt chất là protein, polypeptit hoặc peptit, ii) chất mang phân phối được chất là dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1, và iii) ion kim loại đa hóa trị.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế dựa trên cơ sở chế phẩm giải phóng kéo dài chứa được chất protein, polypeptit hoặc peptit, bao gồm: i) hoạt chất là protein, polypeptit hoặc peptit, và ii) chất mang phân phối được chất là phức hợp của dẫn xuất

của axit polylactic có công thức hóa học 1 với ion kim loại đa hóa trị.

Phức hợp này có thể được tạo ra nhờ liên kết ion của ion kim loại đa hóa trị và 2 mol hoặc nhiều hơn dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1, và phức hợp này có thể có chức năng làm chất mang phân phối dược chất. Hoạt chất được giữ trong đó để tạo ra các vi hạt.

Dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1 có thể là dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 3 như được mô tả trên đây.

Trong chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế, hoạt chất là protein, polypeptit hoặc peptit. Trong trường hợp mà một trong các thuật ngữ bất kỳ được sử dụng riêng rẽ trong bản mô tả này, cần hiểu là thuật ngữ này chỉ tất cả protein, polypeptit hoặc peptit trừ khi được chỉ định cụ thể.

Các thuật ngữ, "giải phóng kéo dài," "phân phối trong thời gian kéo dài" hoặc "phân phối dược chất trong thời gian kéo dài" được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là việc duy trì được nồng độ dược chất hữu hiệu trong máu trong khoảng thời gian dài, ví dụ 72 giờ hoặc lâu hơn, sau một lần dùng thuốc. Cụ thể là, đường dùng thông thường của polypeptit là tiêm dưới da, trong cơ hoặc trong tĩnh mạch, v.v. nhưng đường dùng này không thuận tiện do cần phải tiêm thường xuyên mới đạt được hiệu quả điều trị. Do đó, sáng chế này đã phát hiện ra và đề xuất hệ phân phối trong thời gian kéo dài để giải quyết được sự bất tiện do việc phải dùng thuốc thường xuyên này.

Trong chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế, các ví dụ về hoạt chất có thể gồm có hormon tăng trưởng, erythropoietin, kháng thể đơn dòng, yếu tố kích thích tạo bạch cầu hạt, yếu tố kích thích tạo đại thực bào, yếu tố kích thích tạo bạch cầu hạt-đại thực bào, thrombopoietin, yếu tố tăng trưởng tương tự insulin, yếu tố tăng trưởng biểu mô, yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc tiểu cầu, yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi, yếu tố tăng trưởng biến nạp, interferon, interleukin, yếu tố hoại tử khối u, streptokinaza, urokinaza, staphylokinaza, DNaza, glucocerebrosidaza, alpha galactosidaza, exenatide,

octreotide, insulin, glucagon, hormon giải phóng hormon tạo thể vàng, goserelin, leuprorelin, yếu tố kích thích nang noãn, hormon kích thích tuyến giáp, fertirelin, calcitonin, yếu tố giải phóng hormon hướng vỏ thượng thận, peptit bài niệu natri não, thymopentin, corticotropin, elcatonin, dạng tinh bột beta, triptorelin, buserelin, thymosin, somatostatin, alarelin, angiotensin, argipressin, atosiban, bivalirudin, cetorelix, deslorelin, desmopressin, elcatonin, enfuvirtide, eptifibatide, GLP-1, gonadorelin, lyspressin, nafarelin, nesiritide, oxytocin, pramlintide, secretin, teriparatide, terlipressin, tetracosactide, vapreotide, và hỗn hợp của chúng.

Trong chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế, hoạt chất có thể được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 60% khối lượng (% theo khối lượng), tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,05 đến 50% khối lượng, tính theo khối lượng khô của chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế. Nếu hàm lượng hoạt chất thấp hơn 0,01% khối lượng tính theo khối lượng khô của chế phẩm giải phóng kéo dài, có thể khó thu được tác dụng dược lý đã định, còn nếu hàm lượng này lớn hơn 60% khối lượng, có thể gặp phải vấn đề do tốc độ giải phóng được chất tức thì ban đầu.

Trong chế phẩm giải phóng kéo dài, dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1 có thể được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 39,9 đến 99,9% khối lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 50 đến 99% khối lượng, tính theo khối lượng khô của chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế. Nếu hàm lượng dẫn xuất của axit polylactic thấp hơn 39,9% khối lượng tính theo khối lượng khô của chế phẩm giải phóng kéo dài, thì có thể không đạt được tác dụng giải phóng kéo dài, còn nếu hàm lượng này lớn hơn 99,9% khối lượng, thì liều có thể vượt quá liều đơn tối đa có thể đối với cơ thể người theo cách thông thường.

Trong chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế, ion kim loại đa hóa trị có thể được sử dụng tốt hơn là với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 20% khối lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,05 đến 15% khối lượng, tính theo khối lượng khô của chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế. Nếu hàm lượng ion kim loại đa hóa trị

thấp hơn 0,01% khối lượng tính theo khối lượng khô của chế phẩm giải phóng kéo dài, thì có thể không đạt được tác dụng giải phóng kéo dài, còn nếu hàm lượng này lớn hơn 20% khối lượng, thì có thể gặp phải vấn đề về độc tính của ion kim loại.

Phức hợp polyme chứa hoạt chất khi được tạo ra được kết tủa dưới dạng hạt trong dung dịch nước.

Chế phẩm hạt giải phóng kéo dài chứa polypeptit hoặc các chất tương tự theo sáng chế ở dạng hạt có kích thước đồng đều trong khoảng từ 5 đến 250 μm , tốt hơn là từ 50 đến 150 μm .

Ngoài các thành phần nêu trên, chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế có thể còn bao gồm các tá dược được dụng như chất bảo quản, chất ổn định, chất gây thấm, hoặc các muối và/hoặc chất đệm để kiểm soát áp suất thẩm thấu, và các chất hữu hiệu trị liệu khác. Chế phẩm giải phóng kéo dài chứa dược chất protein, polypeptit hoặc peptit theo sáng chế có thể được phân tán trong môi trường phân tán được dụng và sau đó được dùng cho cơ thể người. Ví dụ về môi trường phân tán có thể gồm có nước cất để tiêm, glucoza 5%, nước muối sinh lý, dầu khoáng, mono-, đi- và tri-glyxerit, v.v..

Theo một khía cạnh khác, sáng chế bộc lộ phương pháp bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa dược chất protein, polypeptit hoặc peptit, phương pháp này bao gồm các bước: a) điều chế dung dịch nước chứa i) hoạt chất là protein, polypeptit hoặc peptit, và ii) dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1; và b) bổ sung nhỏ giọt dung dịch nước thu được ở bước a) nêu trên vào dung dịch nước chứa ion kim loại đa hóa trị để thu được kết tủa.

Đặc biệt, ở bước a) của phương pháp bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài, hoạt chất và dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 2 có thể được bổ sung đồng thời hoặc theo cách bổ sung lần lượt trong đó một thành phần được bổ sung trước và sau đó bổ sung thành phần kia. Ví dụ, dung dịch nước này có thể được điều chế bằng cách (a-1) hoà tan hoạt chất và dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học

2 trong nước; hoặc (a-2) ban đầu hoà tan dẫn xuất của axit polylactic chứa axit carboxylic trên cả hai đầu và dung dịch nước chứa muối của kim loại kiềm trong nước để điều chế dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 2, và sau đó bổ sung hoạt chất vào đó; hoặc (a-3) ban đầu hoà tan dẫn xuất của axit polylactic chứa axit carboxylic trên cả hai đầu và hoạt chất trong nước và sau đó bổ sung dung dịch nước chứa muối của kim loại kiềm vào đó để điều chế dung dịch nước chứa dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 2 và hoạt chất.

Nghĩa là, chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế có thể được điều chế bằng cách sử dụng dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 2 làm nguyên liệu ban đầu (a-1), hoặc theo cách khác bằng cách bắt đầu từ dẫn xuất của axit polylactic chứa axit carboxylic trên cả hai đầu và chuyển hoá nó thành dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 2 bằng muối của kim loại kiềm, và sau đó sử dụng hợp chất thu được trong các bước tiếp theo (a-2 và a-3).

Theo một phương án của phương pháp bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế, môi trường nước tạo nên dung dịch nước nêu trên có thể là nước cất, hoặc một hoặc nhiều dung dịch đệm được chọn từ nhóm bao gồm các dung dịch đệm chứa muối axetat, xitrat, glyxin, phosphat và cacbonat. Các dược chất protein, polypeptit hoặc peptit có thể đáp ứng một cách nhạy cảm với thành phần của chế phẩm, đặc biệt là với độ pH của nó, và do đó có thể làm thay đổi cấu trúc hoặc làm giảm hoạt tính của chúng.

Ở bước b) của phương pháp bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế, dung dịch nước thu được ở bước a) được bổ sung từ từ từng giọt vào dung dịch nước chứa ion kim loại đa hóa trị để tạo ra kết tủa. Lúc này, hoạt chất có thể được phân tán và kết tủa ở bên trong phức hợp được tạo ra từ dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1 và ion kim loại đa hóa trị. Ở bước này, ion kim loại đa hóa trị có thể là, ví dụ, ion đa hóa trị của kim loại được chọn từ nhóm bao gồm kẽm, canxi, magie và sắt. Ion kim loại đa hóa trị có thể được cung cấp, ví dụ, dưới dạng muối như

muối clorua của các kim loại này, nhưng không bị giới hạn cụ thể ở đó. Nồng độ của ion đa hóa trị trong dung dịch nước có thể nằm trong khoảng từ 1 đến 300 mg/ml, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1 đến 100 mg/ml. Trong trường hợp mà phức hợp polyme được tạo ra, ion kim loại đa hóa trị tạo nên phức hợp nhờ liên kết ion trực tiếp, hoặc sự thay thế ion kim loại kiềm rồi liên kết ion, với anion trong dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1. Hoạt chất như polypeptit sau đó được giữ trong phức hợp này, và phức hợp polyme chứa hoạt chất này được tạo ra như vậy bằng cách kết tủa trong dung dịch nước dưới dạng vi hạt. Dung dịch nước ở bước a) bao gồm hoạt chất và dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 1 có thể được kết tủa ở bước b) bằng cách bổ sung vào dung dịch nước chứa ion kim loại đa hóa trị với lượng bằng 1-30 lần theo tỷ lệ thể tích.

Phương pháp bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế có thể còn bao gồm, sau bước b), bước c) ly tâm kết tủa thu được ở bước b) và sau đó rửa kết tủa này bằng nước. Bước c) có thể được tiến hành theo cách ly tâm kết tủa thu được ở bước b) trong máy ly tâm được duy trì ở nhiệt độ thấp, ví dụ, 4°C để tách dịch nổi và kết tủa, và sau đó rửa kết tủa tách được bằng nước.

Ngoài ra, phương pháp bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế còn có thể bao gồm, sau bước c), bước d) đông khô kết tủa tách được ở bước c). Ở bước d) này, tá dược đông khô có thể được bổ sung trong quá trình đông khô. Tá dược đông khô có thể gồm có đường, đường rượu hoặc hỗn hợp của chúng. Đường này có thể là một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm bao gồm lactoza, maltoza, sucroza và trehaloza, và đường rượu này có thể là một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm bao gồm manitol, sorbitol, maltitol, xylitol và lactitol. Theo một phương án theo sáng chế, hàm lượng tá dược đông khô nằm trong khoảng từ 1 đến 50% khối lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1 đến 30% khối lượng, so với tổng khối lượng khô của chế phẩm đông khô.

Chế phẩm dạng vi hạt giải phóng kéo dài theo sáng chế có thể được bào chế

dưới dạng vi hạt có kích thước đồng đều nằm trong khoảng từ 5 đến 250 μm , tốt hơn là nằm trong khoảng từ 50 đến 150 μm , nhờ nghiền bằng rây điện hoặc siêu âm tùy ý sau bước b), c) hoặc d).

Do phương pháp bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế sử dụng dung dịch nước mà không dùng dung môi hữu cơ, nên không cần quy trình tách để loại dung môi hữu cơ và có thể ngăn ngừa được sự biến tính được chất trong quá trình sản xuất, nhờ đó có thể tối đa tác dụng dược lý của dược chất. Ngoài ra, tỷ lệ kết hợp được chất protein, polypeptit hoặc peptit có thể đạt mức 90% hoặc lớn hơn, nên giảm thiểu được tổn hao dược chất trong quá trình sản xuất.

Khi chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế được dùng vào cơ thể, polyme tạo nên phức hợp bị phân hủy trong cơ thể và do đó dược chất được giữ trong đó được giải phóng dần dần. Trước sáng chế này, các polyme có trọng lượng phân tử lớn như hàng chục nghìn dalton đã được sử dụng để giải phóng kéo dài, tức là để làm chậm thời gian giải phóng dược chất. Tuy nhiên, do các polyme này có trọng lượng phân tử lớn như vậy không hoà tan được trong nước, nên cần sử dụng dung môi hữu cơ, điều này có thể gây biến tính protein hoặc peptit trong quá trình điều chế chất mang phân phối như vi hạt. Tuy nhiên, do chế phẩm dạng vi hạt giải phóng kéo dài theo sáng chế sử dụng polyme có trọng lượng phân tử thấp hoà tan được trong nước, nên không cần sử dụng dung môi hữu cơ trong quá trình bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài. Ngoài ra, do polyme có thể tạo ra phức hợp với các ion kim loại đa hóa trị, nên có thể thu được tác dụng giải phóng kéo dài tuyệt vời khi dùng chế phẩm giải phóng kéo dài theo sáng chế vào cơ thể.

Dưới đây, sáng chế sẽ được minh họa chi tiết hơn qua các ví dụ điều chế, ví dụ và thử nghiệm. Tuy nhiên, chúng được đưa ra chỉ để minh họa sáng chế, và không làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ điều chế 1: Điều chế dẫn xuất của axit polylactic

Cho 500 g (5,56 mol) axit D,L-lactic và 18,9 g (0,16 mol) axit succinic vào bình đáy tròn hai cổ dung tích 1 L được lắp đặt sao cho có thể khuấy hỗn hợp phản ứng bằng thanh khuấy từ dưới luồng khí sục nitơ. Đun nóng bể dầu đến nhiệt độ 160°C, và sục hỗn hợp phản ứng bằng khí nitơ ở tốc độ dòng bằng 2000 mL/phút. Nước được tạo ra trong quá trình phản ứng được thoát khỏi lò phản ứng cùng với dòng khí nitơ. Loại nước trong 1 giờ, và đun nóng bể dầu đến nhiệt độ 200°C. Tiến hành phản ứng trong 24 giờ và sau đó ngừng. Cuối cùng, thu được 368 g dẫn xuất của axit D,L-polylactic thô có axit carboxylic trên cả hai đầu. Phổ NMR của dẫn xuất của axit polylactic điều chế được thể hiện trên Fig. 1. Kết quả đo từ phân tích NMR dưới đây cho thấy trọng lượng phân tử trung bình của dẫn xuất của axit polylactic điều chế được bằng 2.315 dalton.

Tính trọng lượng phân tử trung bình từ các diện tích pic trên ảnh quét $^1\text{H-NMR}$

Công thức 1

$$\text{Trọng lượng phân tử trung bình (dalton)} = \{(A+B)/(C/N)\} \times 72,1$$

Trong công thức 1 trên đây,

A là diện tích pic của proton metylen của dẫn xuất axit D,L-polylactic,

B là diện tích pic của proton metylen của dẫn xuất axit D,L-lactic ở đầu của polyme,

C là diện tích pic của proton metylen của axit đicarboxylic, và

N là số lượng proton metylen trong axit đicarboxylic.

Ví dụ điều chế 2: Điều chế dẫn xuất của axit polylactic

Dẫn xuất của axit polylactic được polyme hóa theo phương pháp giống như được mô tả trong ví dụ điều chế 1, chỉ khác là sử dụng 39,3 g (0,33 mol) axit succinic.

Cuối cùng, thu được 348 g dẫn xuất của axit polylactic thô có axit carboxylic trên cả hai đầu. Trọng lượng phân tử trung bình của nó đo được bằng phân tích NMR nêu trên bằng 1.155 dalton.

Ví dụ điều chế 3: Tinh chế dẫn xuất của axit polylactic

Cho 100 g dẫn xuất của axit polylactic thu được trong ví dụ điều chế 1 và 20 g natri bicacbonat (NaHCO_3) vào cốc có mỏ dung tích 2 L, và bổ sung 1 L nước cất vào đó. Đun nóng hỗn hợp này đến nhiệt độ 60°C , và hoà tan polyme trong 1 giờ kết hợp khuấy. Sau khi hoà tan polyme, bổ sung từng giọt dung dịch nước hydroclorua 1N (HCl) vào dung dịch nước polyme để kết tủa polyme. Lọc polyme kết tủa và rửa bằng nước cất. Các quy trình rửa và lọc được lặp lại 3 lần để loại hydroclorua. Đông khô polyme thu được trong 48 giờ. Cuối cùng, thu được 72,4 g dẫn xuất của axit polylactic tinh khiết có axit carboxylic trên cả hai đầu và trọng lượng phân tử trung bình của nó đo được bằng phân tích NMR nêu trên bằng 2.703 dalton.

Ví dụ điều chế 4: Điều chế dẫn xuất của axit polylactic

381 g dẫn xuất của axit polylactic có axit carboxylic trên cả hai đầu được điều chế theo phương pháp giống như được mô tả trong ví dụ điều chế 1, chỉ khác là sử dụng 21,1 g (0,16 mol) axit glutaric thay cho axit succinic. Trọng lượng phân tử trung bình của sản phẩm này đo được bằng phân tích NMR nêu trên bằng 2.360 dalton.

Ví dụ điều chế 5: Điều chế dẫn xuất của axit polylactic

Cho 500 g (5,56 mol) axit D,L-lactic vào bình đáy tròn hai cổ dung tích 1 L được lắp đặt sao cho có thể khuấy chất phản ứng bằng thanh khuấy từ dưới luồng khí sục nitơ. Đun nóng bể dầu đến nhiệt độ 160°C , và sục chất phản ứng bằng khí nitơ ở tốc độ dòng bằng 2000 mL/phút. Nước được tạo ra trong quá trình phản ứng được thoát khỏi lò phản ứng cùng với dòng khí nitơ. Loại nước trong 1 giờ, và đun nóng bể

dầu đến nhiệt độ 200°C. Tiến hành phản ứng trong 24 giờ và sau đó ngừng. Cuối cùng, thu được axit D,L-polylactic thô có nhóm hydroxyl và axit carboxylic lần lượt trên hai đầu. Bổ sung 35 g (0,35 mol) anhydrit succinic vào sản phẩm thu được và đun nóng hỗn hợp này ở nhiệt độ 120°C trong 6 giờ để cho phản ứng với nhóm hydroxyl trên một đầu của axit polylactic. Dẫn xuất của axit polylactic điều chế được có trọng lượng phân tử trung bình bằng 2.240 dalton, khi được đo bằng phân tích NMR nêu trên.

Ví dụ 1: Điều chế muối natri của dẫn xuất axit polylactic

Bổ sung 100 g dẫn xuất của axit polylactic thu được trong ví dụ điều chế 1 vào, và hoà tan trong, 150 mL axetonitril. Bổ sung từ từ 150 mL dung dịch nước chứa natri bicacbonat (0,1 g/mL) vào đó. Khuấy hỗn hợp phản ứng này trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng để trung hoà polyme, từ đó điều chế natri muối của dẫn xuất axit polylactic.

Sau quá trình trên, tinh chế polyme điều chế được bằng phương pháp tách bằng muối. Nghĩa là, bổ sung 15 g natri clorua (NaCl) vào dung dịch phản ứng thu được kết hợp khuấy và hoà tan trong đó, và sau đó tách các pha trong 2 giờ trong phễu tách và loại lớp nước.

Bổ sung lần nữa 100 mL nước cất và 10 g natri clorua vào, và hoà tan trong, dung dịch polyme thu được dưới dạng lớp hữu cơ, và sau đó tách các pha lần nữa bằng cách sử dụng phễu tách và loại lớp nước. dung dịch lớp hữu cơ chứa polyme thu được được đem cất quay phân đoạn ở nhiệt độ 50°C để loại hoàn toàn dung môi hữu cơ và một lượng nhỏ nước cất.

Sau khi loại dung môi hữu cơ và nước cất, hoà tan polyme thu được bằng cách bổ sung 500 mL axeton khan vào, và lọc kết tủa còn lại và loại bỏ bằng cách sử dụng giấy lọc. Đem cất quay phân đoạn dung dịch polyme đã lọc trong 2 giờ ở nhiệt độ 50°C để loại hoàn toàn axeton.

Sau khi loại axeton, làm khô polyme thu được trong chân không trong bình hút chân không ở nhiệt độ 50°C trong 3 ngày. Cuối cùng, thu được 91 g muối natri tinh

khiết của dẫn xuất axit polylactic có muối natri-axit carboxylic trên cả hai đầu. Phổ NMR của muối của dẫn xuất axit polylactic điều chế được thể hiện trên Fig. 2. Trọng lượng phân tử trung bình của nó đo được bằng phân tích NMR nêu trên bằng 2.178 dalton.

Ví dụ 2: Điều chế muối natri của dẫn xuất axit polylactic

93 g muối tinh khiết của dẫn xuất axit polylactic có muối natri-axit carboxylic trên cả hai đầu được điều chế bằng cách sử dụng 100 g dẫn xuất của axit polylactic thu được trong ví dụ điều chế 2, theo phương pháp giống như được mô tả trong ví dụ 1. Trọng lượng phân tử trung bình của nó đo được bằng phân tích NMR nêu trên bằng 1.125 dalton.

Ví dụ 3: Điều chế muối natri của dẫn xuất axit polylactic

91 g muối tinh khiết của dẫn xuất axit polylactic có muối natri-axit carboxylic trên cả hai đầu được điều chế bằng cách sử dụng 100 g dẫn xuất của axit polylactic thu được trong ví dụ điều chế 4, theo phương pháp giống như được mô tả trong ví dụ 1. Trọng lượng phân tử trung bình của nó đo được bằng phân tích NMR nêu trên bằng 2.250 dalton.

Ví dụ 4: Điều chế muối natri của dẫn xuất axit polylactic

90 g muối tinh khiết của dẫn xuất axit polylactic có muối natri-axit carboxylic trên cả hai đầu được điều chế bằng cách sử dụng 100 g dẫn xuất của axit polylactic thu được trong ví dụ điều chế 5, theo phương pháp giống như được mô tả trong ví dụ 1. Trọng lượng phân tử trung bình của nó đo được bằng phân tích NMR nêu trên bằng 2.080 dalton.

Ví dụ 5: Bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa hormon tăng trưởng của người

(human growth hormone - hGH)

Hoà tan 4,5 g muối natri của dẫn xuất axit polylactic điều chế được trong ví dụ 1 và 500 mg hormon tăng trưởng của người (3,0 IU/mg) trong 20 mL nước để điều chế dung dịch nước hGH-polyme.

Điều chế 250 mL dung dịch nước chứa kẽm clorua (ZnCl_2) là muối kim loại đa hóa trị (50 mg/mL). Bổ sung từng giọt dung dịch nước hGH-polyme vào dung dịch này để tạo ra kết tủa của chế phẩm chứa hormon tăng trưởng của người. Ly tâm hỗn hợp thu được ở tốc độ 3.500 vòng/phút trong 10 phút bằng cách sử dụng máy ly tâm được duy trì ở nhiệt độ 4°C để tách dịch nổi và kết tủa.

Lọc kết tủa và rửa hai lần bằng 500 mL nước cất, và sau đó đông khô. Chế phẩm đông khô được rây bằng cách sử dụng rây có kích thước lỗ từ 100 đến 400 mesh để thu được chế phẩm dạng vi hạt có kích thước hạt nằm trong khoảng từ 50 đến 150 μm .

Hormon tăng trưởng của người trong chế phẩm dạng vi hạt đông khô thu được được định lượng bằng cách sử dụng thử nghiệm BCA dưới đây (Micro BCA Protein Assay Kit, Thermo Scientific). Hàm lượng và tỷ lệ kết hợp hGH thu được từ phân tích định lượng lần lượt bằng 9,54% khối lượng và 92,6%.

< Đo hàm lượng và tỷ lệ kết hợp protein bằng thử nghiệm BCA (Micro BCA Protein Assay Kit, Thermo Scientific)>

(1) Đo hàm lượng protein

Công thức 2

$$\text{Hàm lượng (\%)} = \frac{\text{Lượng peptit hoặc protein được giữ trong vi hạt (g)}}{\text{Tổng lượng chế phẩm dạng vi hạt (g)}} \times 100$$

(2) Đo tỷ lệ kết hợp protein

Công thức 3

$$\text{Tỷ lệ kết hợp (\%)} = \frac{\text{Lượng peptit hoặc protein được giữ trong vi hạt (g)}}{\text{Lượng được sử dụng trong bào chế chế phẩm dạng vi hạt (g)}} \times 100$$

Ví dụ 6: Bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa hormon tăng trưởng của người

Chế phẩm dạng vi hạt chứa hormon tăng trưởng của người được điều chế theo phương pháp giống như được mô tả trong ví dụ 5, chỉ khác là sử dụng 4,75 g muối natri của dẫn xuất axit polylactic điều chế được trong ví dụ 1 và 250 mg hormon tăng trưởng của người (3,0 IU/mg). Hormon tăng trưởng của người trong chế phẩm điều chế được được định lượng bằng thử nghiệm BCA nêu trên, và hàm lượng và tỷ lệ kết hợp hGH lần lượt bằng 4,72% khối lượng và 91,7%.

Ví dụ 7: Bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa hormon tăng trưởng của người

Chế phẩm dạng vi hạt chứa hormon tăng trưởng của người được điều chế theo phương pháp giống như được mô tả trong ví dụ 5, chỉ khác là sử dụng 4,75 g muối natri của dẫn xuất axit polylactic điều chế được trong ví dụ 1 và 100 mg hormon tăng trưởng của người (3,0 IU/mg). Hormon tăng trưởng của người trong chế phẩm điều chế được được định lượng bằng thử nghiệm BCA nêu trên, và hàm lượng và tỷ lệ kết hợp hGH lần lượt bằng 1,93% khối lượng và 93,7%.

Ví dụ 8: Bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa hormon tăng trưởng của người

Chế phẩm dạng vi hạt chứa hormon tăng trưởng của người được điều chế theo phương pháp giống như được mô tả trong ví dụ 6, chỉ khác là sử dụng muối natri của dẫn xuất axit polylactic điều chế được trong ví dụ 2. Hormon tăng trưởng của người trong chế phẩm điều chế được được định lượng bằng thử nghiệm BCA nêu trên, và hàm lượng và tỷ lệ kết hợp hGH lần lượt bằng 4,72% khối lượng và 91,7%.

Ví dụ 9: Bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa hormon tăng trưởng của người

Hoà tan 4,9 g muối natri của dẫn xuất axit polylactic tinh chế được trong ví dụ điều chế 3 và 100 mg hormon tăng trưởng của người (3,0 IU/mg) trong 20 mL nước, và sau đó bổ sung 0,3 g natri bicacbonat (NaHCO_3) vào đó để điều chế dung dịch nước hGH-polyme.

Điều chế 250 mL dung dịch nước chứa kẽm clorua (ZnCl_2) là muối kim loại đa hóa trị (50 mg/mL). Bổ sung từng giọt dung dịch nước hGH-polyme vào dung dịch này để tạo ra kết tủa của chế phẩm chứa hormon tăng trưởng của người. Ly tâm hỗn hợp thu được ở tốc độ 3.500 vòng/phút trong 10 phút bằng cách sử dụng máy ly tâm được duy trì ở nhiệt độ 4°C để tách dịch nổi và kết tủa.

Lọc kết tủa và rửa hai lần bằng 500 mL nước cất, và sau đó đông khô. Chế phẩm đông khô được rây bằng cách sử dụng rây có kích thước lỗ từ 100 đến 400 mesh để thu được chế phẩm dạng vi hạt có kích thước hạt nằm trong khoảng từ 50 đến 150 μm .

Hormon tăng trưởng của người trong chế phẩm dạng vi hạt đông khô thu được được định lượng bằng thử nghiệm BCA nêu trên, và hàm lượng và tỷ lệ kết hợp hGH lần lượt bằng 4,86% khối lượng và 94,4%.

Ví dụ 10: Bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa erythropoietin (EPO)

Hòa tan 1 g muối natri của dẫn xuất axit polylactic điều chế được trong ví dụ 1 và 0,4 mg erythropoietin (EPO) (41 IU/mg) trong 5 mL nước để điều chế dung dịch nước EPO-polyme.

Điều chế 5,5 mL dung dịch nước chứa kẽm clorua (ZnCl_2) là muối kim loại đa hóa trị (12,5 mg/mL). Bổ sung dung dịch nước EPO-polyme kết hợp khuấy vào dung dịch này để tạo ra kết tủa của chế phẩm chứa erythropoietin. Ly tâm hỗn hợp thu được ở tốc độ 3.500 vòng/phút trong 10 phút bằng cách sử dụng máy ly tâm được duy trì ở nhiệt độ 4°C để tách dịch nổi và kết tủa.

Loại bỏ hoàn toàn dịch nổi và đông khô kết tủa thu được. Chế phẩm đông khô được rây bằng cách sử dụng rây có kích thước lỗ từ 100 đến 400 mesh để thu được chế phẩm dạng vi hạt có kích thước hạt nằm trong khoảng từ 50 đến 150 μm .

Erythropoietin trong chế phẩm dạng vi hạt đông khô thu được được định lượng bằng thử nghiệm BCA nêu trên, và hàm lượng và tỷ lệ kết hợp erythropoietin lần lượt bằng 0,038% khối lượng và 92,2%.

Ví dụ 11: Bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa exenatide

Hòa tan 4,9 g muối natri của dẫn xuất axit polylactic điều chế được trong ví dụ 1 và 100 mg exenatide trong 45 mL nước để điều chế dung dịch nước, và lọc dung dịch này bằng màng lọc có kích thước lỗ 0,45 μm để loại tạp chất.

Điều chế 500 mL dung dịch nước chứa kẽm clorua (ZnCl_2) là muối kim loại đa hóa trị (25 mg/mL). Bổ sung từng giọt dung dịch nước exenatide-polyme vào dung dịch này ở tốc độ 3 mL/phút kết hợp khuấy ở tốc độ 120 vòng/phút để tạo ra kết tủa của chế phẩm chứa exenatide.

Lọc kết tủa và rửa hai lần bằng 500 mL nước cất, và sau đó làm khô trong chân không trong 1 ngày ở nhiệt độ phòng. Nghiền chế phẩm khô bằng máy nghiền, rây bằng cách sử dụng rây có kích thước lỗ từ 100 đến 400 mesh để thu được chế phẩm dạng vi hạt có kích thước hạt nằm trong khoảng từ 50 đến 150 μm .

Exenatide trong chế phẩm dạng vi hạt khô thu được được định lượng bằng thử nghiệm BCA nêu trên, và hàm lượng và tỷ lệ kết hợp exenatide lần lượt bằng 1,97% khối lượng và 95,6%.

Ví dụ 12: Bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa exenatide

Chế phẩm dạng vi hạt chứa exenatide được điều chế theo phương pháp giống như được mô tả trong ví dụ 11, chỉ khác là sử dụng canxi clorua (CaCl_2) thay cho kẽm clorua (ZnCl_2) làm muối kim loại đa hóa trị. Exenatide trong chế phẩm dạng vi hạt khô

thu được được định lượng bằng thử nghiệm BCA nêu trên, và hàm lượng và tỷ lệ kết hợp exenatide lần lượt bằng 1,92% khối lượng và 93,2%.

Ví dụ 13: Bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa exenatide

Chế phẩm dạng vi hạt chứa exenatide được điều chế theo phương pháp giống như được mô tả trong ví dụ 11, chỉ khác là sử dụng 4,9 g muối natri của dẫn xuất axit polylactic điều chế được trong ví dụ 3. Exenatide trong chế phẩm dạng vi hạt khô thu được được định lượng bằng thử nghiệm BCA nêu trên, và hàm lượng và tỷ lệ kết hợp exenatide lần lượt bằng 1,94% khối lượng và 94,2%.

Ví dụ so sánh 1: Bào chế chế phẩm dạng dung dịch nước chứa hormon tăng trưởng của người (hGH)

Dung dịch nước chứa hormon tăng trưởng của người được điều chế bằng cách hòa tan các thành phần được liệt kê trong bảng 1 dưới đây trong 10 mL nước để tiêm.

Bảng 1

hGH	0,1 g
Glyxin	1,0 g
Manitol	0,1 g
Lactoza	0,1 g
Natri bicarbonat	0,1 g

Ví dụ so sánh 2: Bào chế chế phẩm dạng dung dịch nước chứa erythropoietin (EPO)

Dung dịch nước chứa erythropoietin được điều chế bằng cách hòa tan các thành phần được liệt kê trong bảng 2 dưới đây trong 1,0 mL nước để tiêm.

Bảng 2

EPO	4.100 IU (0,1 g)
Albumin huyết thanh người	5 mg
Natri clorua	10 mg
Natri phosphat monobazơ dihydrat	5 mg
Đinatri phosphat dihydrat	2 mg

Thử nghiệm 1: Thử nghiệm dược động học của chế phẩm chứa hormon tăng trưởng của người (hGH)

Chế phẩm chứa hormon tăng trưởng của người (hGH) điều chế được trong các ví dụ từ 5 đến 9 và ví dụ so sánh 1 được thử nghiệm về các đặc tính dược động học.

Chuột S.D. (190 ± 20 g, 5 đến 6 tuần tuổi) mua từ Charles River Laboratories (Orient, Korea) được cho thích nghi trong một tuần hoặc lâu hơn trong phòng nuôi sinh vật được duy trì ở nhiệt độ không đổi và độ ẩm không đổi. Khi đạt được các điều kiện chung, chuột khỏe mạnh về tất cả các mặt hình thức được chọn và sử dụng để thử nghiệm. Chuột thử nghiệm được nuôi trong điều kiện gồm có chiếu sáng nhân tạo trong khoảng thời gian 12 giờ, độ chiếu sáng nằm trong khoảng từ 300 đến 500 Lux, nhiệt độ bằng $23 \pm 1^\circ\text{C}$, và độ ẩm tương đối bằng $65 \pm 10\%$, và để tự do ăn thức ăn rắn vô khuẩn và nước máy.

Tiêm dưới da mỗi chế phẩm cho chuột ($n=5$) ở liều 5 mg/kg, và sau đó lấy máu trong 10 ngày ở các khoảng thời gian đều đặn và định lượng mức hGH trong máu bằng bộ kit thử nghiệm miễn dịch hGH Quantikine (R&D Systems). Các kết quả định lượng được thể hiện trên Fig. 3. Như được thể hiện trên Fig. 3, chế phẩm chứa hormon tăng trưởng của người theo sáng chế duy trì mức hormon tăng trưởng của người trong máu bằng 1 ng/mL hoặc cao hơn trong 10 ngày hoặc lâu hơn. Ngoài ra, kết quả mô xác để khám nghiệm thu được cho thấy chế phẩm theo sáng chế không gây ra độc tính.

Thử nghiệm 2: Thử nghiệm về hiệu lực của chế phẩm chứa hormon tăng trưởng của người

Chế phẩm chứa hormon tăng trưởng của người (hGH) điều chế được trong các ví dụ 5 và 6 và ví dụ so sánh 1 được dùng cho chuột (chuột bị cắt bỏ tuyến yên) - trong đó tuyến yên bị cắt để gây ra thiếu hụt hormon tăng trưởng - để tiến hành thử nghiệm về hiệu lực.

Để làm mẫu động vật bị bệnh, chuột S.D. bị cắt bỏ tuyến yên (90 ± 10 g, 4 tuần tuổi, Japan SLC, Inc.) được cho thích nghi trong một tuần hoặc lâu hơn trong phòng nuôi sinh vật được duy trì ở nhiệt độ không đổi và độ ẩm không đổi. Khi đạt được các điều kiện chung, chuột khỏe mạnh về tất cả các mặt hình thức và không thay đổi cân nặng được chọn và sử dụng để thử nghiệm. Chuột thử nghiệm được nuôi trong điều kiện gồm có chiếu sáng nhân tạo trong khoảng thời gian 12 giờ, độ chiếu sáng nằm trong khoảng từ 300 đến 500 Lux, nhiệt độ bằng $23 \pm 1^\circ\text{C}$, và độ ẩm tương đối bằng $65 \pm 10\%$, và để tự do ăn thức ăn rắn vô khuẩn và nước máy.

Tiêm dưới da chế phẩm trong các ví dụ 5 và 6 một lần ở liều 5 mg/kg, và tiêm dưới da chế phẩm trong ví dụ so sánh 1 mỗi ngày một lần ở liều 0,71 mg/kg trong 7 ngày ($n=6$). Lấy máu ở các khoảng thời gian đều đặn để định lượng mức IGF-1 (Insulin Like Growth Factor-1 - yếu tố tăng trưởng tương tự insulin-1) trong máu bằng bộ kit thử nghiệm miễn dịch IGF-1 Quantikine (R&D Systems). Ngoài ra, cân nặng của chuột thử nghiệm được đo để ghi lại sự thay đổi về cân nặng. Kết quả định lượng và đo cân nặng được thể hiện trên các Fig. 4 và 5.

Như được thể hiện trên Fig. 4, đối với mức IGF-1 trong máu được sản xuất nhờ hormon tăng trưởng, việc dùng một lần chế phẩm theo sáng chế thể hiện kết quả tốt hơn so với việc dùng chế phẩm hiện có trên thị trường mỗi ngày một lần trong 7 ngày.

Ngoài ra, như được thể hiện trên Fig. 5, khi chế phẩm theo sáng chế được dùng một lần, cân nặng tăng lên khoảng 20% sau 2 tuần, và do đó chế phẩm theo sáng chế

thể hiện kết quả tốt hơn so với việc dùng chế phẩm hiện có trên thị trường mỗi ngày một lần trong 7 ngày. Nhóm đối chứng âm (không điều trị) không dùng hormon tăng trưởng không thấy có tăng cân. Kết quả mô xác để khám nghiệm thu được cho thấy chế phẩm theo sáng chế không gây ra độc tính.

Thử nghiệm 3: Thử nghiệm dược động học của chế phẩm chứa erythropoietin (EPO)

Chế phẩm chứa erythropoietin điều chế được trong ví dụ 10 và ví dụ so sánh 2 được thử nghiệm về các đặc tính dược động học.

Chuột S.D. (190 ± 20 g, 5 đến 6 tuần tuổi) được mua từ Charles River Laboratories (Orient, Korea), và được chăm sóc trong cùng điều kiện như ở thử nghiệm 1.

Tiêm dưới da mỗi chế phẩm cho chuột ($n=6$) ở liều 2000 IU/kg, và sau đó lấy máu ở các khoảng thời gian đều đặn và định lượng mức erythropoietin trong máu bằng bộ kit thử nghiệm miễn dịch enzym (DEP00, R&D systems). Các kết quả định lượng được thể hiện trên Fig. 6. Như được thể hiện trên Fig. 6, chế phẩm chứa erythropoietin theo sáng chế kéo dài được thời gian duy trì nồng độ trong máu và thể hiện tác dụng giải phóng kéo dài trong một tuần so với chế phẩm có trên thị trường dùng hằng ngày. Ngoài ra, kết quả mô xác để khám nghiệm thu được cho thấy chế phẩm theo sáng chế không gây ra độc tính.

Thử nghiệm 4: Thử nghiệm dược động học của chế phẩm chứa exenatide

Chế phẩm chứa exenatide điều chế được trong các ví dụ từ 11 đến 13 được thử nghiệm về các đặc tính dược động học.

Chuột S.D. (190 ± 20 g, 5 đến 6 tuần tuổi) được mua từ Charles River Laboratories (Orient, Korea), và được chăm sóc trong cùng điều kiện như ở thử nghiệm 1.

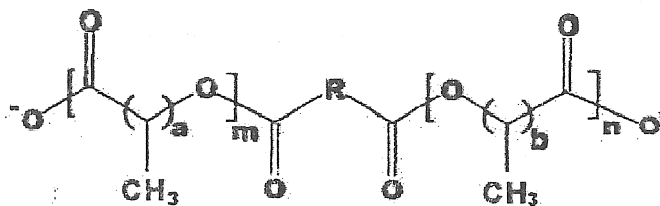
Tiêm dưới da chế phẩm trong ví dụ 11 (400 $\mu\text{g}/\text{con}$, 800 $\mu\text{g}/\text{con}$) và chế phẩm

trong các ví dụ 12 và 13 (400 µg/con) cho chuột (n=6), và sau đó lấy máu ở các khoảng thời gian đều đặn và định lượng mức exenatide trong máu bằng bộ kit thử nghiệm miễn dịch enzym (EK-070-94, Phoenix Pharmaceuticals, Inc.). Các kết quả định lượng được thể hiện trên Fig. 7. Như được thể hiện trên Fig. 7, chế phẩm chứa exenatide theo sáng chế duy trì được nồng độ trong máu bằng 0,1 ng/mL hoặc lớn hơn trong một tuần mà chỉ dùng một lần. Kết quả mô tả để khám nghiệm thu được cho thấy chế phẩm theo sáng chế không gây ra độc tính.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phức hợp của polyme ion có công thức hóa học 5 dưới đây có trọng lượng phân tử trung bình không quá 7.000 dalton, với ion kim loại đa hóa trị:

Công thức hóa học 5



trong đó:

m và n độc lập là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 95, với điều kiện là $5 < m + n < 100$,

a và b độc lập bằng 1,

R là $-(CH_2)_k-$ không được thể hoặc được thể, trong đó k là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 10, alkenyl hóa trị hai có 2 đến 10 nguyên tử cacbon, aryl hóa trị hai có 6 đến 20 nguyên tử cacbon, hoặc tổ hợp của chúng.

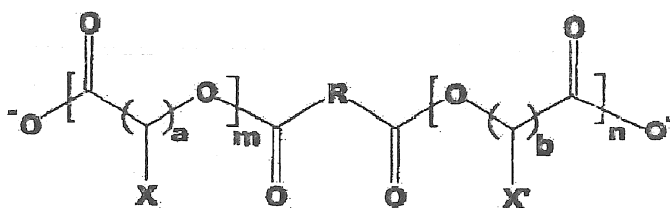
2. Phức hợp theo điểm 1, trong đó ion kim loại đa hóa trị là ion đa hóa trị của kim loại được chọn từ nhóm bao gồm kẽm, canxi, magie và sắt.

3. Chế phẩm vi hạt giải phóng kéo dài chứa được chất protein, polypeptit hoặc peptit, bao gồm:

i) hoạt chất là protein, polypeptit hoặc peptit, và

ii) chất mang phân phối được chất là phức hợp của polyme ion có công thức hóa học 6 dưới đây có trọng lượng phân tử trung bình không quá 7.000 dalton với ion kim loại đa hóa trị:

Công thức hóa học 6



trong đó:

X và X' độc lập là hydro, alkyl hoặc aryl,

m và n độc lập là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 95, miễn là $5 < m + n < 100$,

a và b độc lập bằng 1,

R là $-(CH_2)_k-$ không được thế hoặc được thế, trong đó k là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 10, alkenyl hóa trị hai có 2 đến 10 nguyên tử cacbon, aryl hóa trị hai có 6 đến 20 nguyên tử cacbon, hoặc tổ hợp của chúng;

trong đó hoạt chất này được giữ trong phức hợp.

4. Chế phẩm vi hạt giải phóng kéo dài theo điểm 3, trong đó chế phẩm này chứa hoạt chất với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 60% khối lượng, tính theo khối lượng khô của chế phẩm.

5. Chế phẩm vi hạt giải phóng kéo dài theo điểm 3, trong đó chế phẩm này chứa chất mang phân phối dược chất với lượng nằm trong khoảng từ 39,9% đến 99,9% khối lượng, tính theo khối lượng khô của chế phẩm.

6. Chế phẩm vi hạt giải phóng kéo dài theo điểm 3, trong đó hoạt chất là hormon tăng trưởng, erythropoietin, kháng thể đơn dòng, yếu tố kích thích tạo bạch cầu hạt, yếu tố kích thích tạo đại thực bào, yếu tố kích thích tạo bạch cầu hạt-đại thực bào, thrombopoietin, yếu tố tăng trưởng tương tự insulin, yếu tố tăng trưởng biểu mô, yếu

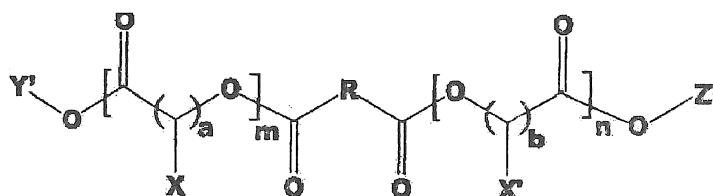
tổ tăng trưởng có nguồn gốc tiểu cầu, yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi, yếu tố tăng trưởng biến nạp, interferon, interleukin, yếu tố hoại tử khối u, streptokinaza, urokinaza, staphylokinaza, DNaza, glucocerebrosidaza, alpha galactosidaza, exenatide, octreotide, insulin, glucagon, hormon giải phóng hormon tạo thể vàng, goserelin, leuprorelin, yếu tố kích thích nang noãn, hormon kích thích tuyến giáp, fertirelin, calcitonin, yếu tố giải phóng hormon hướng vỏ thượng thận, peptit bài niệu natri não, thymopentin, corticotropin, elcatonin, dạng tinh bột beta, triptorelin, buserelin, thymosin, somatostatin, alarelin, angiotensin, argipressin, atosiban, bivalirudin, cetorelix, deslorelin, desmopressin, elcatonin, enfuvirtide, eptifibatide, GLP-1, gonadorelin, lyspressin, nafarelin, nesiritide, oxytocin, pramlintide, secretin, teriparatide, terlipressin, tetracosactide, vapreotide, hoặc hỗn hợp của chúng.

7. Phương pháp bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa dược chất protein, polypeptit hoặc peptit, bao gồm các bước:

a) điều chế dung dịch nước chứa i) hoạt chất là protein, polypeptit hoặc peptit, và ii) dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 2 dưới đây có trọng lượng phân tử trung bình không quá 7.000 dalton:

Công thức hóa học 2

1



trong đó:

X và X' độc lập là hydro, alkyl hoặc aryl,

Y' và Z' độc lập là kim loại kiềm,

m và n độc lập là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 95, với điều kiện là $5 <$

$m + n < 100$,

a và b độc lập bằng 1,

R là $-(CH_2)_k$ không được thế hoặc được thế, trong đó k là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 10, alkenyl hóa trị hai có 2 đến 10 nguyên tử cacbon, aryl hóa trị hai có 6 đến 20 nguyên tử cacbon, hoặc tổ hợp của chúng; và

b) bổ sung nhỏ giọt dung dịch nước thu được ở bước a) trên đây vào dung dịch nước chứa ion kim loại đa hóa trị để thu được kết tủa.

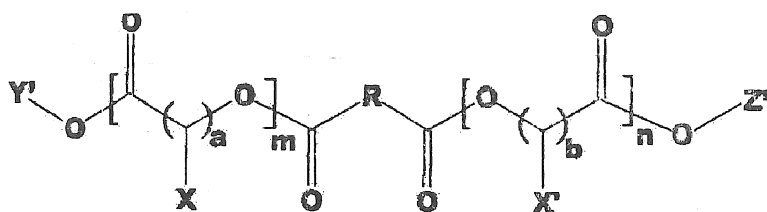
8. Phương pháp bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa được chất protein, polypeptit hoặc peptit theo điểm 7, trong đó hoạt chất là hormon tăng trưởng, erythropoietin, kháng thể đơn dòng, yếu tố kích thích tạo bạch cầu hạt, yếu tố kích thích tạo đại thực bào, yếu tố kích thích tạo bạch cầu hạt-đại thực bào, thrombopoietin, yếu tố tăng trưởng tương tự insulin, yếu tố tăng trưởng biểu mô, yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc tiểu cầu, yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi, yếu tố tăng trưởng biến nạp, interferon, interleukin, yếu tố hoại tử khối u, streptokinaza, urokinaza, staphylokinaza, DNaza, glucocerebrosidaza, alpha galactosidaza, exenatide, octreotide, insulin, glucagon, hormon giải phóng hormon tạo thể vàng, goserelin, leuprorelin, yếu tố kích thích nang noãn, hormon kích thích tuyến giáp, fertirelin, calcitonin, yếu tố giải phóng hormon hướng vỏ thượng thận, peptit bài niệu natri não, thymopentin, corticotropin, elcatonin, dạng tinh bột beta, triptorelin, buserelin, thymosin, somatostatin, alarelin, angiotensin, argipressin, atosiban, bivalirudin, cetorelix, deslorelin, desmopressin, elcatonin, enfuvirtide, eptifibatide, GLP-1, gonadorelin, lyspressin, nafarelin, nesiritide, oxytocin, pramlintide, secretin, teriparatide, terlipressin, tetracosactide, vapreotide, hoặc hỗn hợp của chúng.

9. Phương pháp bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa được chất protein, polypeptit hoặc peptit theo điểm 7, trong đó ion kim loại đa hóa trị là ion đa hóa trị của kim loại được chọn từ nhóm bao gồm kẽm, canxi, magie và sắt.

10. Phương pháp bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa dược chất protein, polypeptit hoặc peptit theo điểm 7, trong đó ở bước a) dung dịch nước được điều chế bằng cách:

hòa tan hoạt chất và dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa học 2 dưới đây vào trong nước:

Công thức hóa học 2



trong đó trong công thức hóa học 2 trên đây:

X và X' độc lập là hydro, alkyl hoặc aryl,

Y' và Z' độc lập là kim loại kiềm,

m và n độc lập là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 95, với điều kiện là $5 <$

$m + n < 100$,

a và b độc lập bằng 1,

R là $-(CH_2)_k-$ không được thế hoặc được thế, trong đó k là số nguyên nằm

trong khoảng từ 0 đến 10, alkenyl hóa trị hai có 2 đến 10 nguyên tử cacbon, aryl hóa

trị hai có 6 đến 20 nguyên tử cacbon, hoặc tổ hợp của chúng; hoặc

hoà tan dẫn xuất của axit polylactic có axit carboxylic trên cả hai đầu và dung

dịch nước chứa muối của kim loại kiềm trong nước để điều chế dẫn xuất của axit

polylactic có công thức hóa học 2, và sau đó bổ sung hoạt chất vào đó; hoặc

hoà tan dẫn xuất của axit polylactic có axit carboxylic trên cả hai đầu và hoạt

chất vào trong nước và sau đó bổ sung dung dịch nước chứa muối của kim loại kiềm

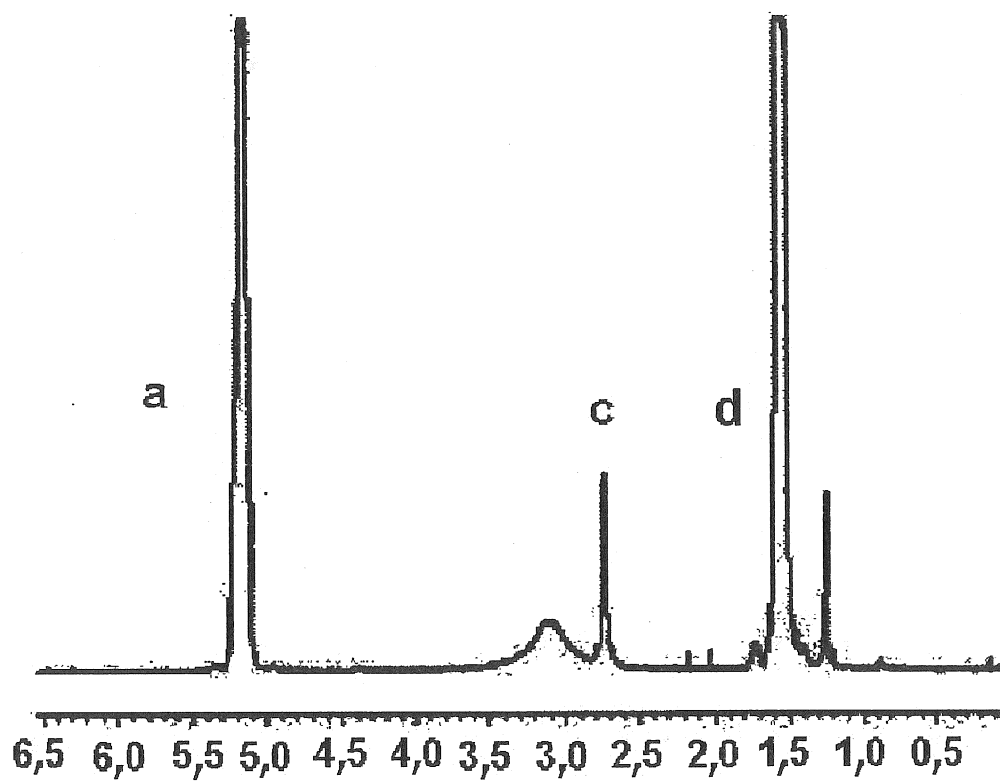
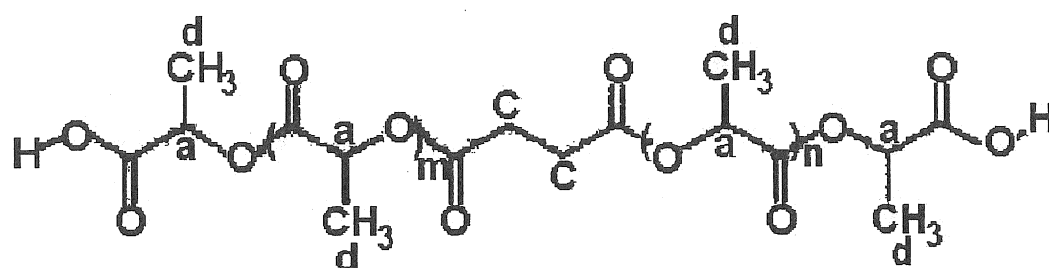
vào đó để điều chế dung dịch nước chứa dẫn xuất của axit polylactic có công thức hóa

học 2 và hoạt chất.

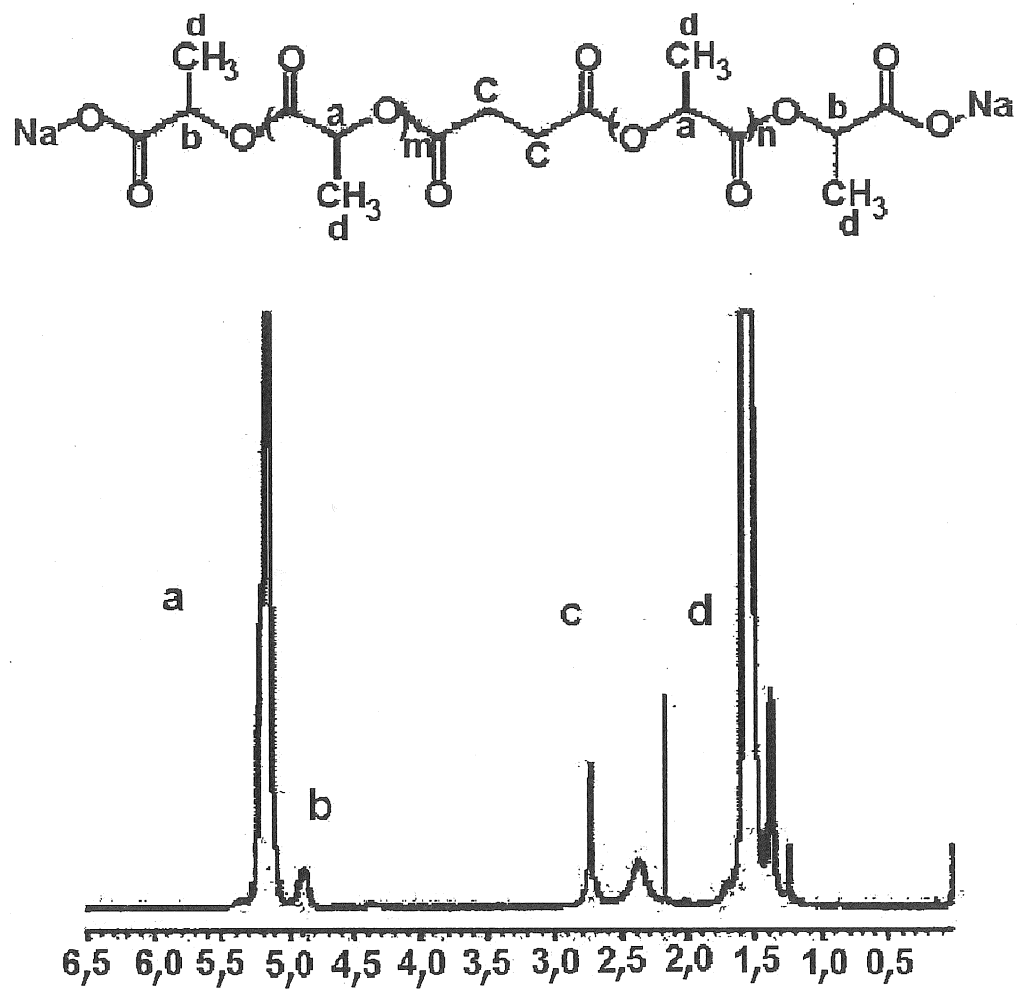
11. Phương pháp bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa được chất protein, polypeptit hoặc peptit theo điểm 7, trong đó phương pháp này còn bao gồm, sau bước b), là bước c) ly tâm kết tủa thu được ở bước b) và sau đó rửa kết tủa này bằng nước.

12. Phương pháp bào chế chế phẩm giải phóng kéo dài chứa được chất protein, polypeptit hoặc peptit theo điểm 11, trong đó phương pháp này còn bao gồm, sau bước c), là bước d) đông khô kết tủa tách được ở bước c).

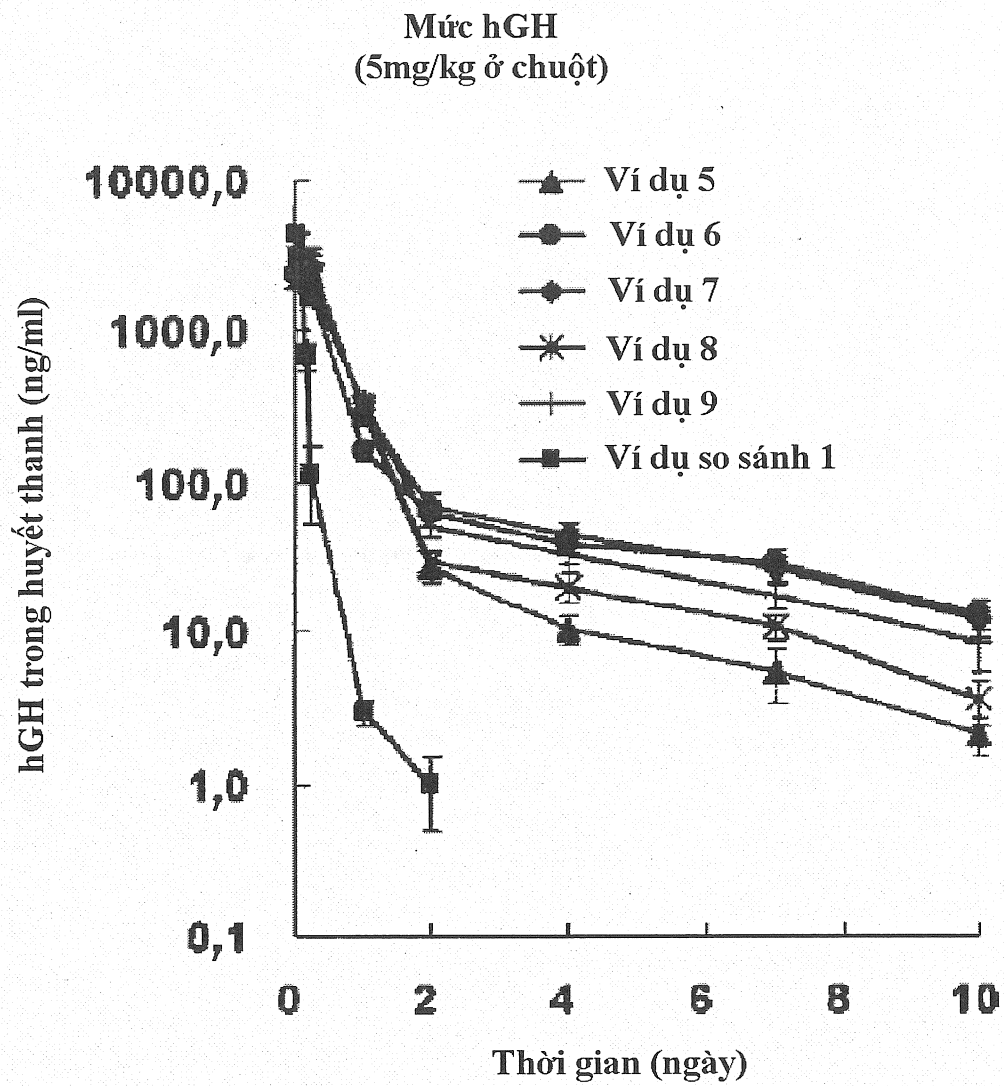
[Fig.1]



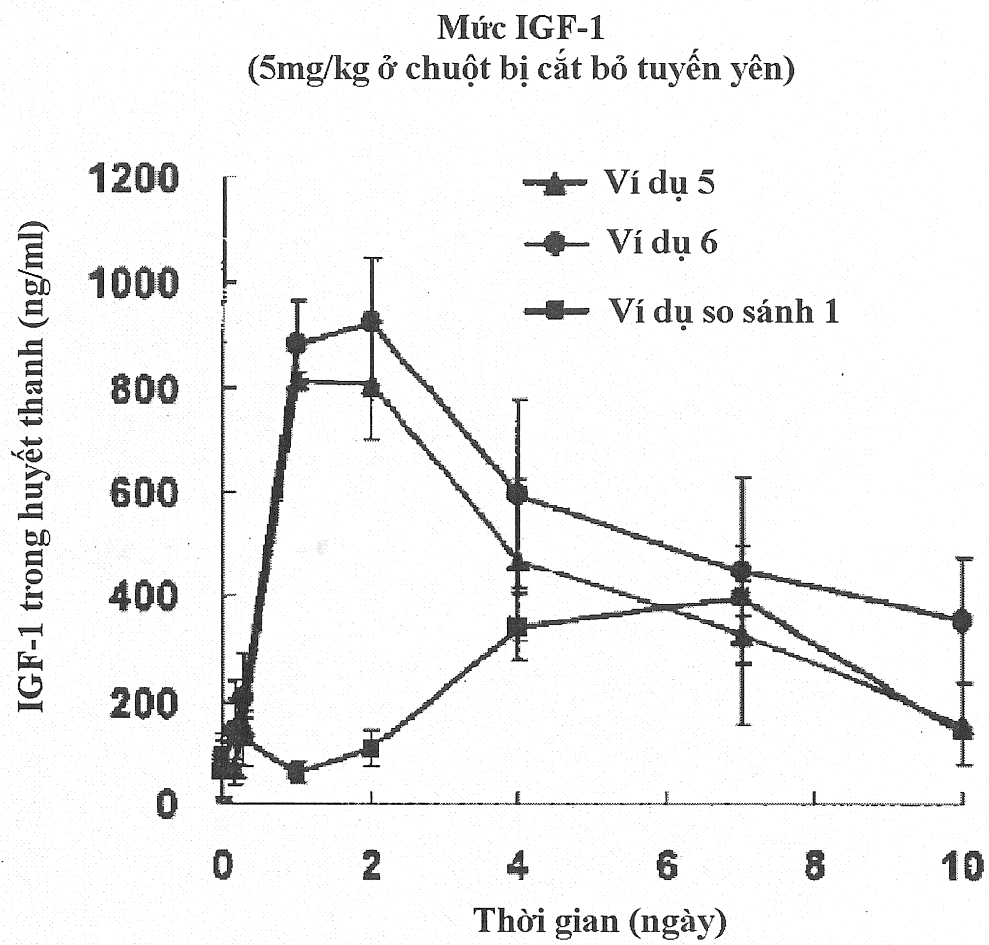
[Fig.2]



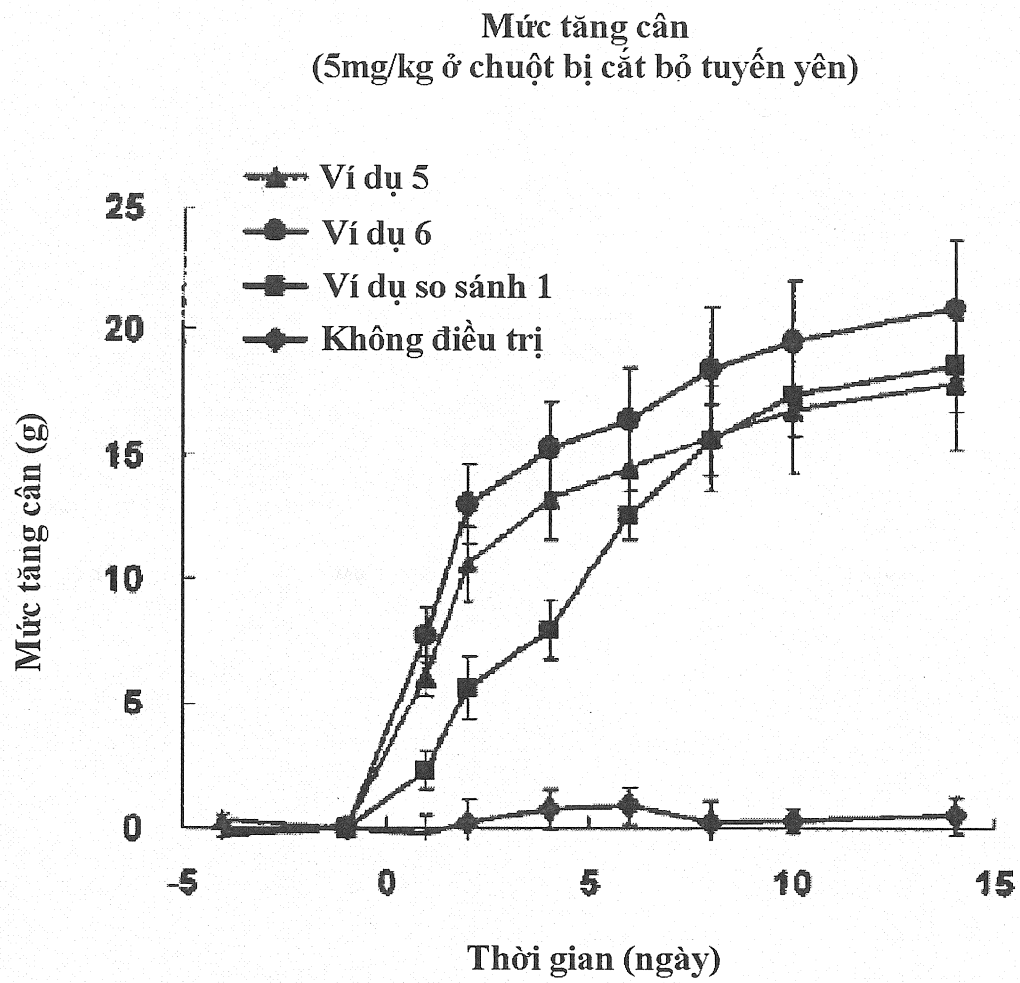
[Fig.3]



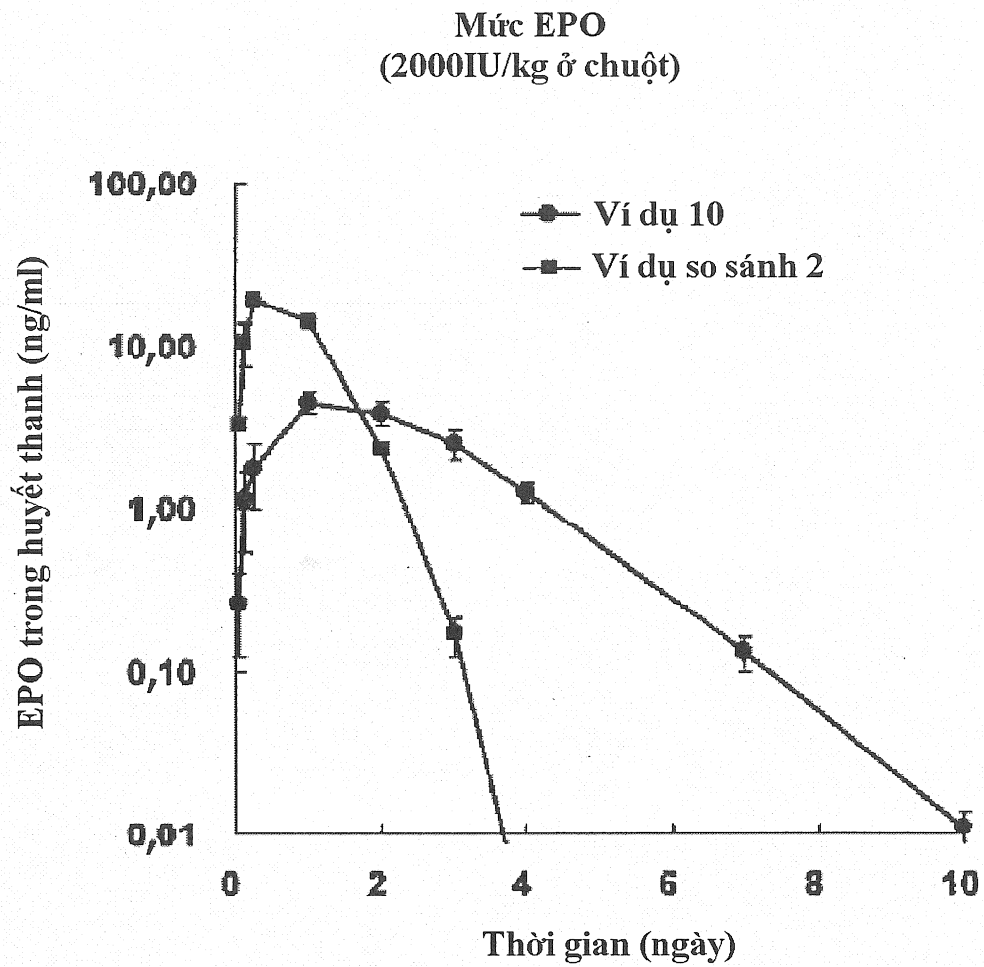
[Fig.4]



[Fig.5]



[Fig.6]



[Fig.7]

