



(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)



1-0023816

(51)⁷ C07H 21/02; A61K 31/7084; A61P
11/10; A61P 27/02; A61J 3/00; A61P
11/00

(13) B

(21) 1-2017-05292

(22) 28/06/2016

(86) PCT/JP2016/069182 28/06/2016

(87) WO2017/002827 05/01/2017

(30) JP 2015-129944 29/06/2015 JP

(45) 25/05/2020 386

(43) 26/03/2018 360A

(73) YAMASA CORPORATION (JP)

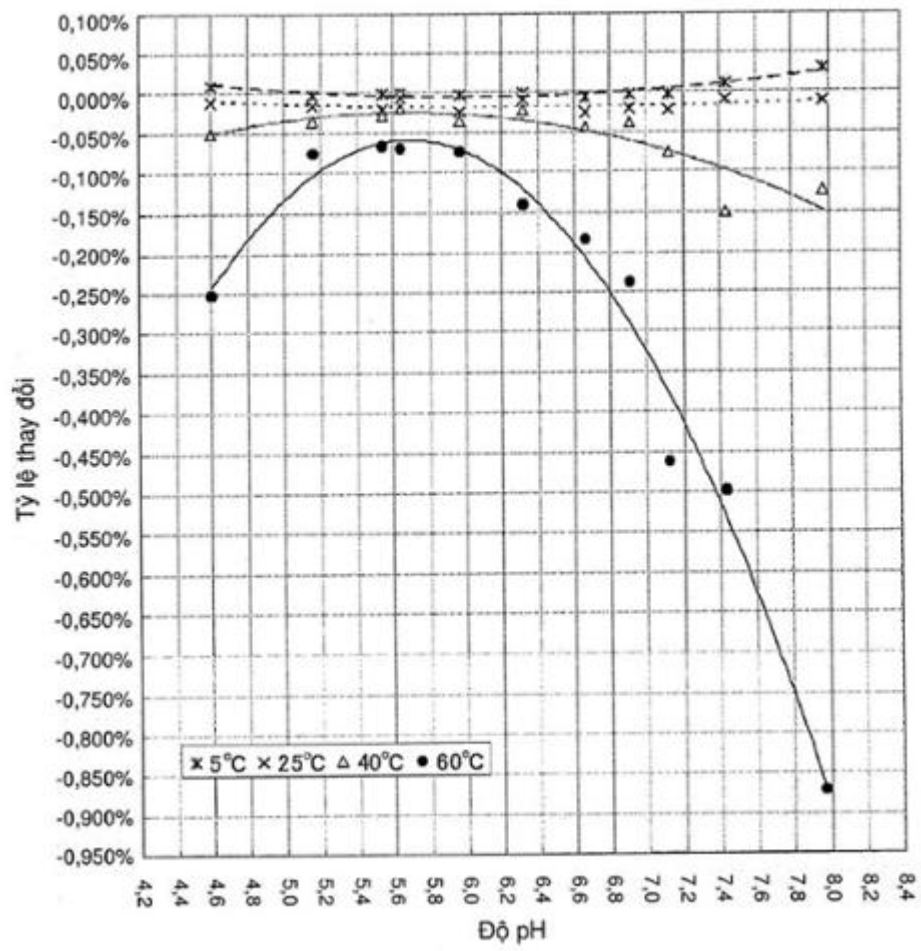
10-1, 2-chome Araoicho, Choshi-shi Chiba 2880056, Japan

(72) OHBA, Yusuke (JP); MIYOSHI, Kentaro (JP); KANO, Fumitaka (JP)

(74) Công ty Luật TNHH WINCO (WINCO LAW FIRM)

(54) PHƯƠNG PHÁP BẢO QUẢN TINH THỂ P¹,P⁴-BIS(5'-URIDYL)TETRAPHOSPHAT

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp bảo quản tinh thể P¹,P⁴-bis(5'-uridyl)tetraphosphat dễ dàng và ổn định trong thời gian dài. Phương pháp theo sáng chế bảo quản các tinh thể p¹,p⁴-bis(5'-uridyl) được đóng gói, trong đó điều kiện bảo quản được chọn trong số các điều kiện từ (1) đến (3) sau: (1) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ 0°C đến nhỏ hơn 25°C; (2) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ 25°C đến nhỏ hơn 40°C và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 4,5 đến 8,0; và (3) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ 40°C đến nhỏ hơn 60°C và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 5,0 đến 6,4 và các tinh thể P¹ P⁴-bis(5'-uridyl)tetraphosphat hoặc muối được dụng của nó được bảo quản trong điều kiện đã chọn.



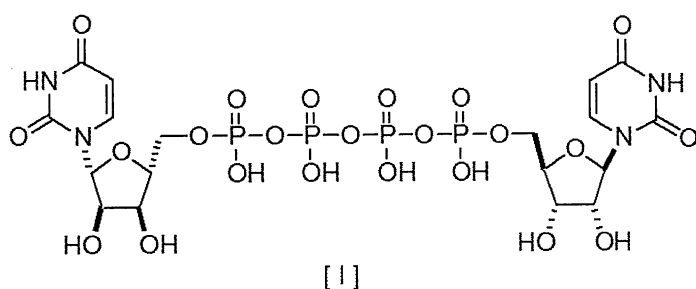
Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp bảo quản ổn định các tinh thể P^1, P^4 -bis(5'-uridyl)tetraphosphat.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hợp chất P^1, P^4 -bis(uridyl)tetraphosphat (tên thông thường: "UP₄U") được thể hiện bằng công thức [I] dưới đây hoặc các muối của nó được dùng làm chất điều trị các rối loạn biểu mô giác mạc-kết mạc do khô mắt. Ngoài ra, các hợp chất nêu trên có tác dụng long đờm và do đó được dự định phát triển làm thuốc long đờm hoặc chất điều trị bệnh viêm phổi.

Công thức 1



Để hợp chất P^1, P^4 -bis(5'-uridyl)tetraphosphat (sau đây còn được gọi là "UP₄U") có thể được bảo quản ổn định, cần thu được các tinh thể của hợp chất này hoặc muối của nó (xem tài liệu sáng chế 1). Tuy nhiên, tài liệu đã biết nêu rằng các tinh thể có tính ổn định so với sản phẩm đông khô nhanh nhưng tài liệu này không đề cập đến điều kiện mà khi đó các tinh thể có thể được bảo quản ổn định.

UP₄U là hợp chất dùng làm nguyên liệu ban đầu cho dược phẩm. Trong trường hợp sử dụng UP₄U làm nguyên liệu ban đầu cho dược phẩm, cần sử dụng sản phẩm trung gian của nó có độ tinh khiết rất cao để làm giảm đến mức tối thiểu lượng sản phẩm phụ được tạo ra từ tạp chất có mặt. Trong một số trường hợp, có thể có tiêu

chuẩn khắt khe như hàm lượng tạp chất phải bằng 0,1%. Do đó, trong khi bảo quản sản phẩm trung gian thu được, cần thiết lập điều kiện mà khi đó sự phân hủy của nó có thể được ngăn ngừa càng nhiều càng tốt. Tuy nhiên, cho đến nay, vẫn chưa biết được điều kiện nào sẽ xúc tiến sự phân hủy và điều kiện nào sẽ ngăn ngừa sự phân hủy này.

Tài liệu sáng chế 1: Công bố đơn quốc tế số WO2000/020430

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là tìm ra phương pháp bảo quản các tinh thể UP₄U một cách dễ dàng và ổn định trong thời gian dài.

Các tác giả sáng chế đã tiến hành nhiều nghiên cứu sâu để giải quyết vấn đề nêu trên và kết quả là đã phát hiện được rằng tính ổn định của các tinh thể UP₄U thay đổi đáng kể theo nhiệt độ bảo quản và độ pH của tinh thể. Các tác giả sáng chế đã tiến hành các nghiên cứu thêm, kết quả là đã phát hiện được rằng các tinh thể UP₄U được bảo quản trong điều kiện được chọn trong số các điều kiện từ (1) đến (3) sau: (1) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ 0°C đến nhỏ hơn 25°C; (2) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ 25°C đến nhỏ hơn 40°C và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 4,5 đến 8,0; và (3) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ 40°C đến nhỏ hơn 60°C và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 5,0 đến 6,4, tỷ lệ thay đổi độ tinh khiết được xác định theo phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (high-performance liquid chromatography: HPLC) của các tinh thể khi bảo quản trong 4 tuần có thể được duy trì ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 0,15% và, do đó, tỷ lệ giảm độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC của các tinh thể trong quá trình bảo quản có thể được giảm đi, và cuối cùng, sáng chế đã được hoàn thành dựa trên các phát hiện này.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Với việc sử dụng phương pháp bảo quản theo sáng chế, UP₄U có thể được bảo quản ở trạng thái ổn định trong thời gian dài mà không bị phân hủy đáng kể.

Mô tả văn tắt hình vẽ

Fig.1 thể hiện tỷ lệ thay đổi (%) về độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC của các loại tinh thể UP_4U khác nhau có độ pH của tinh thể khác nhau khi mỗi loại tinh thể UP_4U được đóng gói trong đồ chứa và được bảo quản ở một số nhiệt độ nằm trong khoảng từ $5^{\circ}C$ đến $60^{\circ}C$ trong 4 tuần. Đồ thị này thể hiện với các ký hiệu: * thể hiện nhiệt độ $5^{\circ}C$, $\times$ thể hiện nhiệt độ $25^{\circ}C$, Δ thể hiện nhiệt độ $40^{\circ}C$, và $\bullet$ thể hiện nhiệt độ $60^{\circ}C$, và cũng thể hiện các đường cong được hiệu chỉnh tương ứng ở các nhiệt độ này.

Mô tả chi tiết sáng chế

Phương pháp bảo quản theo sáng chế liên quan đến phương pháp bảo quản các tinh thể UP_4U . Hợp chất UP_4U để sử dụng dưới dạng tinh thể có thể ở dạng bazơ tự do hoặc muối được dụng. Ví dụ cụ thể về muối này là các muối được dụng, bao gồm các muối kim loại kiềm như muối natri và muối kali, các muối kim loại kiềm thổ như muối canxi và muối magie, và các muối amoni. Ví dụ về muối này tính theo số nguyên tử hydro được thể bao gồm các muối thu được bằng cách thay thế bằng từ một đến bốn nguyên tử kim loại.

Trong phương pháp bảo quản theo sáng chế, để duy trì tỷ lệ thay đổi độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC của các tinh thể UP_4U khi bảo quản trong 4 tuần ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 0,15%, các tinh thể UP_4U được bảo quản trong điều kiện được chọn trong số các điều kiện từ (1) đến (3) sau: (1) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $0^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $25^{\circ}C$; (2) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $25^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $40^{\circ}C$ và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 4,5 đến 8,0; và (3) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $40^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $60^{\circ}C$ và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 5,0 đến 6,4.

Ngoài ra, trong phương pháp bảo quản theo sáng chế, để duy trì tỷ lệ thay đổi độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC của các tinh thể UP_4U khi bảo

quản trong 4 tuần ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 0,10%, các tinh thể UP_4U được bảo quản trong điều kiện được chọn trong số các điều kiện từ (4) đến (6) sau: (4) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $0^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $25^{\circ}C$; (5) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $25^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $40^{\circ}C$ và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 4,5 đến 7,4; và (6) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $40^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $60^{\circ}C$ và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 5,2 đến 6,2.

Hơn nữa, trong phương pháp bảo quản theo sáng chế, để duy trì tỷ lệ thay đổi độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC của các tinh thể UP_4U khi bảo quản trong 4 tuần ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 0,05%, các tinh thể UP_4U được bảo quản trong điều kiện được chọn trong số các điều kiện (7) và (8) sau: (7) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $0^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $25^{\circ}C$; và (8) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $25^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $40^{\circ}C$ và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 4,6 đến 6,6.

Thuật ngữ độ pH của tinh thể trong sáng chế để chỉ giá trị độ pH của các tinh thể được xác định khi hòa tan 1g tinh thể trong 20ml nước. Có thể kiểm soát độ pH của các tinh thể UP_4U trong khoảng giá trị mong muốn, ví dụ, bằng cách kiểm soát độ pH của dung dịch ban đầu dùng để kết tinh. Để kiểm soát độ pH, chỉ cần sử dụng axit hoặc kiềm tùy ý có thể được dùng để sản xuất nguyên liệu ban đầu hoặc nguyên liệu tương tự đối với dược phẩm là đủ, nếu cần. Chất tùy ý được chọn từ axit clohydric, axit nitric, axit phosphoric, và chất tương tự có thể được sử dụng làm axit và chất tùy ý được chọn từ natri hydroxit, natri cacbonat, natri hydrocacbonat, và chất tương tự có thể được sử dụng làm kiềm.

Hợp chất UP_4U để sử dụng trong sáng chế có thể được tổng hợp và kết tinh bằng phương pháp đã biết bất kỳ (ví dụ, tài liệu sáng chế 1). Theo một ví dụ cụ thể, có thể thu được các tinh thể UP_4U bằng cách tổng hợp UP_4U thô bằng phương pháp sản xuất tùy ý như phương pháp tổng hợp hóa học hoặc phương pháp tổng hợp bằng enzym, tinh chế UP_4U thô bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký trao đổi anion và

phương pháp sắc ký bằng than hoạt tính, và cho thêm dung môi hữu cơ ưa nước vào dung dịch chứa UP_4U đã tinh chế. Tuy nhiên, có thể thu được các tinh thể này bằng các phương pháp khác, miễn là có thể thu được các tinh thể. Ngoài ra, các tinh thể thu được có thể được làm khô thích hợp bằng phương pháp thông thường như làm khô dưới áp suất giảm, làm khô bằng cách tuần hoàn hoặc làm khô bằng cách gia nhiệt.

Khi tinh đến các tinh thể UP_4U thu được để sử dụng trong dược phẩm, tốt hơn nếu các tinh thể này có độ tinh khiết lớn hơn hoặc bằng 95%, tốt hơn nữa là lớn hơn hoặc bằng 97%, và tốt hơn nữa là lớn hơn hoặc bằng 99%. Ngoài ra, các tinh thể này có thể chứa nước liên kết hoặc có thể là hydrat. Cụ thể hơn, ba đến tám phân tử nước có thể gắn kết hoặc liên kết với một phân tử UP_4U .

Trong phương pháp theo sáng chế, các tinh thể UP_4U được bảo quản ở trạng thái được đóng gói trong đồ chứa tùy ý. Đồ chứa có thể được sử dụng để bảo quản là đồ chứa có hình dạng tùy ý như túi, chai, bình, hộp, ampun.

Vật liệu dùng làm đồ chứa có thể được sử dụng bao gồm các màng không được kéo căng, được kéo căng theo một trục hoặc hai trục làm bằng nhựa polyolefin như polyetylen tỷ trọng thấp và polyetylen tỷ trọng cao, các nhựa vinyl như polystyren và polyvinyl clorua, các nhựa polyamit như nylon 6 và nylon 66, các nhựa polyester như polyetylen terephthalat và polytetrametylen terephthalat.

Các vật liệu màng này có thể được sử dụng ở dạng một lớp hoặc dạng tấm mỏng được tạo ra từ hai hoặc nhiều lớp, hoặc có thể được sử dụng ở dạng tấm mỏng làm từ lá kim loại, như nhôm, hoặc tấm mỏng làm từ màng kim loại hoặc oxit kim loại được lắng phủ. Ngoài ra, đồ chứa có thể được bảo quản ở dạng hai lớp, ba lớp hoặc nhiều lớp. Tốt hơn, nếu trạng thái đóng gói của đồ chứa không là trạng thái mở như trạng thái được đóng kín, kín khí hoặc hàn kín, và tốt hơn nữa là ở trạng thái được hàn kín hoặc kín khí.

Nếu UP_4U được bảo quản trong các điều kiện trong đó độ pH của tinh thể hoặc nhiệt độ nằm ngoài các khoảng nêu trên, UP_4U dễ có khả năng bị phân hủy, điều

này gây ra nguy cơ UP_4U trở nên không thích hợp khi được dùng nguyên liệu ban đầu hoặc nguyên liệu tương tự của dược phẩm.

Phương pháp theo sáng chế có thể duy trì sự giảm độ tinh khiết được xác định theo phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) của UP_4U khi bảo quản trong 4 tuần ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 0,15%, nhỏ hơn hoặc bằng 0,10%, hoặc thậm chí nhỏ hơn hoặc bằng 0,05%, là đặc biệt thích hợp để ngăn ngừa sự phân hủy.

Cụ thể, ví dụ như khi bảo quản UP_4U , sự giảm độ tinh khiết của UP_4U làm thành phần hoạt tính để sản xuất dược phẩm khi được xác định theo phương pháp HPLC cần phải nhỏ hơn 0,15%, UP_4U được bảo quản ở trạng thái đóng kín, được hàn kín hoặc kín khí trong điều kiện được chọn trong số các điều kiện bảo quản sau: (1) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $0^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $25^{\circ}C$; (2) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $25^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $40^{\circ}C$ và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 4,5 đến 8,0; và (3) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $40^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $60^{\circ}C$ và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 5,0 đến 6,4. Miễn là UP_4U ở trong môi trường bảo quản mà trong đó nhiệt độ bảo quản có thể được kiểm soát để nằm trong khoảng từ $0^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $25^{\circ}C$, không cần kiểm soát độ pH của tinh thể. Tuy nhiên, khi nhiệt độ của môi trường bảo quản không ổn định và có thể đạt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ $25^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $40^{\circ}C$, cần kiểm soát độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 4,5 đến 7,4 để duy trì sự giảm độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC của UP_4U khi bảo quản trong 4 tuần ở mức nhỏ hơn 0,15%. Khi nhiệt độ nêu trên có thể tăng thêm đến mức nằm trong khoảng từ $40^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $60^{\circ}C$, cần kiểm soát độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 5,2 đến 6,2.

Tương tự, để duy trì sự giảm độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC của UP_4U ở mức nhỏ hơn 0,10%, UP_4U cần được bảo quản trong điều kiện được chọn trong số các điều kiện sau: (4) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $0^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $25^{\circ}C$; (5) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $25^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $40^{\circ}C$ và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 4,5 đến 7,4; và (6) nhiệt độ bảo quản

nằm trong khoảng từ 40°C đến nhỏ hơn 60°C và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 5,2 đến 6,2.

Ngoài ra, để duy trì sự giảm độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC của UP₄U ở mức nhỏ hơn 0,05%, UP₄U được bảo quản trong điều kiện được chọn trong số các điều kiện sau: (7) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ 0°C đến nhỏ hơn 25°C; và (8) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ 25°C đến nhỏ hơn 40°C và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 4,6 đến 6,6.

Tóm lại, (A) khi nhiệt độ bảo quản được duy trì trong khoảng từ 0°C đến nhỏ hơn 25°C, độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC của các tinh thể UP₄U gần như không giảm, bất kể độ pH của tinh thể UP₄U và do đó điều kiện này là thích hợp để bảo quản các tinh thể UP₄U trong thời gian dài. Mặt khác, để bảo quản các tinh thể UP₄U trong môi trường khó kiểm soát nhiệt độ, cần kiểm soát độ pH của tinh thể nằm trong khoảng quy định bằng cách kiểm soát độ pH của dung dịch ban đầu chứa các tinh thể.

(B) Khi nhiệt độ bảo quản có thể đạt đến mức nằm trong khoảng từ 25°C đến nhỏ hơn 40°C, độ pH của tinh thể được điều chỉnh để nằm trong khoảng từ 4,5 đến 8,0, tốt hơn là từ 4,5 đến 7,4, và tốt hơn nữa là từ 4,6 đến 6,6. Khoảng này là được ưu tiên do sự giảm độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC của các tinh thể khi bảo quản trong 4 tuần có thể được duy trì ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 0,15%, nhỏ hơn hoặc bằng 0,10%, và nhỏ hơn hoặc bằng 0,05%, tương ứng.

(C) Khi nhiệt độ bảo quản có thể đạt đến mức nằm trong khoảng từ 40°C đến nhỏ hơn 60°C, sự giảm độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC của các tinh thể khi bảo quản trong 4 tuần có thể được duy trì ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 0,15% và nhỏ hơn hoặc bằng 0,10% bằng cách điều chỉnh độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 5,0 đến 6,4 và tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5,2 đến 6,2, tương ứng. Khi cần duy trì sự giảm độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 0,05%, nhiệt độ bảo quản cao hơn 40°C là không được ưu tiên.

(D) Ngoài ra, việc nhiệt độ bảo quản đạt đến 60°C hoặc cao hơn là không được ưu tiên do độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC của các tinh thể có thể giảm đáng kể, bất kể độ pH của tinh thể.

Hơn nữa, để duy trì sự giảm độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC của các tinh thể UP_4U đến mức mong muốn hoặc thấp hơn khi các tinh thể này được bảo quản trong thời gian lâu hơn bốn tuần (hai hoặc ba tháng), cần điều chỉnh nhiệt độ bảo quản ở mức nằm trong khoảng từ 0°C đến nhỏ hơn 25°C hoặc điều chỉnh độ pH của tinh thể nằm trong khoảng được ưu tiên hơn nữa so với các khoảng độ pH của nó đã được mô tả là cần thiết đối với các vùng nhiệt độ tương ứng trong mục (B) và (C) trên đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả với các thuật ngữ cụ thể cùng với các ví dụ nhưng phạm vi của sáng chế không bị giới hạn bởi các ví dụ này.

Ví dụ 1: Kiểm soát các tinh thể UP_4U có độ pH khác nhau

Các tinh thể UP_4U điều chế được bằng phương pháp đã biết được hòa tan trong nước đã loại ion. Mỗi dung dịch nước axit phosphoric hoặc dung dịch nước natri hydroxit được cho thêm vào dung dịch chứa UP_4U đã hòa tan trong đó để điều chế các dung dịch có độ pH khác nhau (sau đây được gọi là "dung dịch ban đầu").

Cho etanol vào mỗi dung dịch ban đầu để làm cho dung dịch này trở nên hơi đục, sau đó cho thêm một lượng nhỏ tinh thể UP_4U vào và khuấy trong mười hai giờ. Sau khi các tinh thể kết tủa hoàn toàn, cho thêm tiếp etanol vào mỗi dung dịch, dung dịch này được khuấy, và sau đó các tinh thể được tách ra khỏi dung dịch bằng cách sử dụng máy ly tâm. Các tinh thể khác nhau thu được được làm khô bằng máy sấy tuần hoàn để tạo ra các tinh thể UP_4U khác nhau có độ pH khác nhau.

Xác định độ pH: Nước được đun sôi và sau đó được làm nguội ở trạng thái được nối với ống hấp thụ cacbon dioxit, nhờ đó điều chế nước cất. Hòa tan lượng 1,0g của mỗi mẫu thử nghiệm trong 20ml nước cất điều chế được. Xác định độ pH

(độ pH của tinh thể) của dung dịch này. Bảng 1 dưới đây thể hiện mối tương quan giữa độ pH của các dung dịch ban đầu điều chế được trước khi được kết tinh và độ pH của tinh thể.

Bảng 1

Độ pH của chất lỏng ban đầu	2,50	3,00	3,50	4,00	5,50	6,50	7,40	7,80	8,00	8,10	8,20
Độ pH của tinh thể	4,60	5,16	5,54	5,64	5,97	6,32	6,66	6,91	7,12	7,43	7,97

Ví dụ 2: Thử nghiệm tính ổn định

Đóng gói mẫu thử nghiệm: cho lượng khoảng 20mg của mỗi mẫu thử nghiệm vào túi làm bằng polyetylen tỷ trọng thấp và hàn kín bằng nhiệt. Túi này được cho tiếp vào túi làm bằng polyetylen tỷ trọng thấp và được hàn kín bằng nhiệt. Túi này lại được cho tiếp vào túi làm bằng polyetylen tỷ trọng thấp và được hàn kín bằng nhiệt. Túi này được cho vào túi làm bằng màng có tráng nhôm và được hàn kín bằng nhiệt, nhờ đó thu được mẫu dùng cho thử nghiệm tính ổn định.

Thử nghiệm tính ổn định: Các mẫu đã đóng gói được cho vào bể điều chỉnh nhiệt độ tương ứng ở 5°C, 25°C, 40°C, và 60°C, và được bảo quản trong 4 tuần.

Phân tích: Mỗi mẫu vào ngày 0 trước khi bắt đầu thử nghiệm tính ổn định và các mẫu cùng loại được bảo quản trong 4 tuần ở các nhiệt độ khác nhau, sản phẩm đóng gói bằng cách hàn kín được mở ra và mỗi mẫu thử nghiệm được hòa tan trong nước đã loại ion. Dung dịch này được phân tích bằng phương pháp HPLC và dựa vào kết quả phân tích, đánh giá tính ổn định. Các điều kiện của phép đo bằng cách sử dụng phương pháp HPLC trong phân tích này là như sau.

Bảng 2

Hệ thống	Waters 2695.2487
Cột	Zorbax Eclipse XDB-C18, S-5 μ m, 250 x 4,6 mm I.D
Cột bảo vệ	Zorbax Eclipse XDB-C18, 12,50 x 4,6 mm
Nhiệt độ	30°C
Chiều dài bước sóng khi đo	262nm
Tốc độ dòng	1,0ml/phút
Pha động	MeOH/dung dịch đệm = 16/84
Dung dịch đệm	10mM TBA-HSO ₄ (3,4g/l) 80mM KH ₂ PO ₄ (10,89g/l) độ pH = 6,7 $\pm$ 0,1 bằng KOH (2,2g/l)

Việc đánh giá được thực hiện bằng cách xác định giá trị thu được bằng cách lấy giá trị độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC (%) của các tinh thể vào ngày 0 sau khi bắt đầu thử nghiệm tính ổn định trừ giá trị độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC (%) của các tinh thể khi bảo quản trong 4 tuần làm tỷ lệ thay đổi (%). Tỷ lệ thay đổi (%) trong các điều kiện khác nhau được thể hiện trong Bảng 3 và trên Fig.1.

Bảng 3

Độ pH	4,60	5,16	5,54	5,64	5,97	6,32	6,66	6,91	7,12	7,43	7,97
5°C	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-0,01	0,00	0,00	0,01	0,03
25°C	-0,01	-0,02	-0,02	-0,01	-0,02	-0,01	-0,03	-0,02	-0,02	-0,01	-0,01
40°C	-0,05	-0,04	-0,03	-0,02	-0,03	-0,02	-0,04	-0,04	-0,08	-0,15	-0,12
60°C	-0,25	-0,08	-0,07	-0,07	-0,08	-0,14	-0,18	-0,24	-0,46	-0,50	-0,87

Như quan sát được từ các kết quả trong Bảng 3 và trên Fig.1, trước tiên, rõ ràng là tỷ lệ thay đổi độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC có thể

được duy trì ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 0,15% khi điều kiện bảo quản các tinh thể UP_4U là một trong số các điều kiện sau: (1) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $0^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $25^{\circ}C$; (2) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $25^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $40^{\circ}C$ và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 4,5 đến 8,0; và (3) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $40^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $60^{\circ}C$ và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 5,0 đến 6,4.

Ngoài ra, rõ ràng là tỷ lệ thay đổi độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC có thể được duy trì ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 0,10% khi điều kiện bảo quản là một trong số các điều kiện sau: (4) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $0^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $25^{\circ}C$; (5) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $25^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $40^{\circ}C$ và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 4,5 đến 7,4; và (6) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $40^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $60^{\circ}C$ và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 5,2 đến 6,2.

Hơn nữa, rõ ràng là tỷ lệ thay đổi độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC có thể được duy trì ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 0,05% khi điều kiện bảo quản là một trong số các điều kiện sau: (7) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $0^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $25^{\circ}C$; và (8) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ $25^{\circ}C$ đến nhỏ hơn $40^{\circ}C$ và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 4,6 đến 6,6.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp bảo quản tinh thể P^1, P^4 -bis(5'-uridyl)tetraphosphat được đóng gói, trong đó điều kiện bảo quản được chọn trong số các điều kiện (1) và (2) sau: (1) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ 5°C đến nhỏ hơn 40°C và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 4,60 đến 7,12; và (2) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ 40°C đến nhỏ hơn 60°C và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 5,2 đến 6,2 và các tinh thể P^1, P^4 -bis(5'-uridyl)tetraphosphat được bảo quản trong điều kiện đã chọn sao cho tỷ lệ giảm độ tinh khiết được xác định theo phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (high-performance liquid chromatography: HPLC) của các tinh thể P^1, P^4 -bis(5'-uridyl)tetraphosphat khi bảo quản trong 4 tuần được duy trì ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 0,1%.
2. Phương pháp bảo quản tinh thể P^1, P^4 -bis(5'-uridyl)tetraphosphat được đóng gói, trong đó điều kiện bảo quản được chọn trong số các điều kiện (3) và (4) sau: (3) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ 5°C đến nhỏ hơn 25°C và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 4,60 đến 7,12; và (4) nhiệt độ bảo quản nằm trong khoảng từ 25°C đến nhỏ hơn 40°C và độ pH của tinh thể nằm trong khoảng từ 4,6 đến 6,6 và các tinh thể P^1, P^4 -bis(5'-uridyl)tetraphosphat được bảo quản trong điều kiện đã chọn sao cho tỷ lệ giảm độ tinh khiết được xác định theo phương pháp HPLC của các tinh thể P^1, P^4 -bis(5'-uridyl)tetraphosphat khi bảo quản trong 4 tuần được duy trì ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 0,05%.

Fig.1

