



(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)



1-0024217

(51)⁷ A61K 38/00; A61K 39/12; C12N 7/00; (13) B
A61K 47/18; A61K 9/00; A61K 39/00;
A61K 47/12

(21) 1-2015-03206

(22) 12/02/2014

(86) PCT/JP2014/053198 12/02/2014

(87) WO2014/126105A1 21/08/2014

(30) 2013-025955 13/02/2013 JP

(45) 25/06/2020 387

(43) 25/11/2015 332A

(73) HISAMITSU PHARMACEUTICAL CO., INC. (JP)

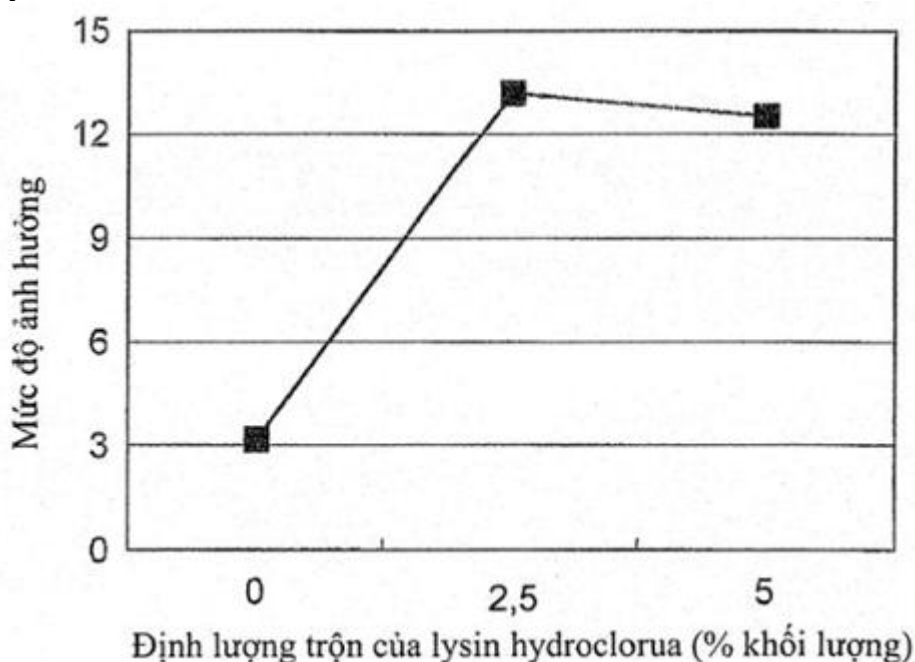
408, Tashirodaikan-machi, Tosu-shi, Saga 841-0017 Japan

(72) Kazuya MACHIDA (JP); Seiji TOKUMOTO (JP); Kazuyoshi KAMINAKA (JP);
Yuji ISHIKAWA (JP).

(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

(54) CHẾ PHẨM PHỦ VI KIM VÀ DỤNG CỤ VI KIM

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm phủ vi kim chứa kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản, axit amin có tính kiềm, và axit, trong đó số mol của axit cho một mol của axit amin có tính kiềm là lớn hơn $1/(N+1)$ và nhỏ hơn 2, trong đó N là hóa trị của axit. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến dụng cụ vi kim bao gồm lớp phủ trên vi kim được tạo ra từ chế phẩm phủ vi kim này.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm phủ vi kim và dụng cụ vi kim.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Về phương tiện sử dụng thuốc theo đường dưới da, dụng cụ vi kim là đã biết. Ở một số dụng cụ như vậy, chế phẩm phủ chứa thuốc và chất làm đặc được tạo ra (ví dụ, tài liệu sáng chế 1).

Ngoài ra, hợp phần bao gồm chế phẩm gồm chất có hoạt tính sinh học và ion đối gia tăng độ nhớt (tài liệu sáng chế 2) và chế phẩm phủ có độ pH thấp hơn 6 và chứa ít nhất một ion đối ít bay hơi (tài liệu sáng chế 3) là đã biết. Hơn nữa, hợp phần bao gồm chế phẩm gồm lượng hữu hiệu điều trị bệnh của chất peptit và ít nhất một ion đối (tài liệu sáng chế 4) và hợp phần bao gồm chế phẩm chứa thành phần hoạt tính sinh học và ion đối không bay hơi, có tính ổn định độ pH và tính hòa tan được gia tăng khi làm khô (tài liệu sáng chế 5) là đã biết. Ngoài các hợp phần này, còn có chế phẩm phủ chứa chất có hoạt tính sinh học và chất phụ gia, trong đó hàm lượng thấp của axit amin được sử dụng làm ví dụ của chất phụ gia (tài liệu sáng chế 6).

Tài liệu viện dẫn

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: US 2008/0213461 A1

Tài liệu sáng chế 2: JP-T-2007-511508

Tài liệu sáng chế 3: JP-T-2007-536988

Tài liệu sáng chế 4: JP-T-2008-528509

Tài liệu sáng chế 5: JP-T-2007-527392

Tài liệu sáng chế 6: WO 2011/150144

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Tuy nhiên, đã nhận thấy rằng trong các tài liệu sáng chế 1 và 2, tính ổn định của các chất có hoạt tính sinh lý, như protein, được chứa trong các chất là không đủ khi các chế phẩm chứa các nguyên liệu được lấy làm ví dụ làm các chất làm đặc.

Do vậy, mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm phủ vi kim có khả năng làm ổn định kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản được chứa trong đó và dụng cụ vi kim bao gồm lớp phủ được tạo ra từ chế phẩm này.

Cách thức giải quyết vấn đề

Chế phẩm phủ vi kim theo sáng chế chứa kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản, axit amin có tính kiềm, và axit, trong đó số mol của axit cho một mol của axit amin có tính kiềm là lớn hơn $1/(N+1)$ và nhỏ hơn 2, ở đó N là hóa trị của axit.

Nếu số mol của axit cho một mol của axit amin có tính kiềm là bằng hoặc nhỏ hơn $1/(N+1)$, khi hàm lượng của axit trong chế phẩm phủ là thấp, chế phẩm phủ không thể hòa tan axit amin có tính kiềm. Ngược lại, nếu số mol của axit cho một mol của axit amin có tính kiềm là bằng hoặc lớn hơn 2, khi hàm lượng của axit amin có tính kiềm trong chế phẩm phủ là thấp, tính ổn định của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản bị giảm. Do vậy, chế phẩm phủ cho phép kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản được chứa trong đó cần có mặt một cách ổn định, bằng cách điều chỉnh số mol của axit cho một mol của axit amin có tính kiềm trong khoảng nêu trên.

Trong chế phẩm phủ vi kim, tốt hơn nếu axit là axit có điểm nóng chảy bằng hoặc cao hơn 40°C , tốt hơn nữa nếu ít nhất một axit được chọn từ nhóm bao gồm axit phosphoric, axit lactic, axit benzoic, axit maleic, axit xitric, axit tartric, axit succinic, axit ascorbic, và axit aspartic, và tốt nhất là ít nhất một axit được

chọn từ nhóm bao gồm axit phosphoric, axit xitric, và axit tartric. Sử dụng axit này có thể gia tăng nồng độ của axit amin có tính kiềm trong chế phẩm phủ và có thể tiếp tục nâng cao tính ổn định của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản được chứa trong chế phẩm phủ.

Trong chế phẩm phủ vi kim, tốt hơn nếu axit amin có tính kiềm là arginin. Sử dụng arginin làm axit amin có tính kiềm có thể cải thiện đáng kể tính ổn định của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản trong chế phẩm phủ.

Chế phẩm phủ vi kim tốt hơn là chứa lysin hoặc lysin hydroclorua. Sự bổ sung lysin hoặc lysin hydroclorua có thể tiếp tục nâng cao tính ổn định của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản.

Sáng chế cũng đề xuất dụng cụ vi kim bao gồm lớp phủ được tạo ra từ chế phẩm phủ vi kim trên vi kim. Ở đây, lớp phủ tốt hơn là được tạo ra trên phần đầu mút của vi kim và tốt hơn nữa là chỉ được tạo ra trên phần đầu mút của vi kim.

Hiệu quả của sáng chế

Theo sáng chế, có thể tạo ra chế phẩm phủ vi kim mà có thể ổn định kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản được chứa trong đó và dụng cụ vi kim.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là hình vẽ phối cảnh minh họa một phương án về dụng cụ vi kim.

Fig.2 là hình vẽ mặt cắt ngang dọc theo đường II-II của Fig.1.

Fig.3 bao gồm các biểu đồ (a), (b), và (c) minh họa một phương án về phương pháp sản xuất dụng cụ vi kim.

Fig.4 là biểu đồ thể hiện mức ảnh hưởng của lysin hydroclorua đối với hoạt tính đặc hiệu.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các phương án ưu tiên sẽ được mô tả với sự tham khảo các hình vẽ. Lưu ý rằng trong phần mô tả hình vẽ, các thành phần giống nhau được biểu thị bằng

cùng một kí hiệu tham chiếu, và không được mô tả lại. Một phần hình vẽ được phóng đại để làm cho dễ hiểu, và tỷ lệ kích thước không nhất thiết phải giống như tỷ lệ được nêu trong phần mô tả.

Fig.1 là hình vẽ phối cảnh minh họa một phương án về dụng cụ vi kim. Dụng cụ vi kim 1 được thể hiện trên Fig.1 bao gồm nền 2, một loạt vi kim 3 được bố trí hai chiều trên nền 2, và lớp phủ 5 được bố trí trên vi kim 3. Lớp phủ 5 được tạo ra từ chế phẩm phủ vi kim theo sáng chế, và tốt hơn là loại bỏ ít nhất một phần của thành phần dễ bay hơi.

Nền 2 là nền để mang các vi kim 3. Diện tích nền 2 tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10cm², tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 1 đến 5cm², và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 1 đến 3cm². Nền có kích thước mong muốn có thể được cấu thành bao gồm dính kết nhiều nền 2.

Mỗi vi kim 3 có vi cấu trúc tốt hơn là có chiều cao (độ dài) nằm trong khoảng từ 50 đến 600µm. Ở đây, việc sử dụng kháng nguyên vắc xin viêm não Nhật Bản được chứa trong chế phẩm phủ vi kim được đảm bảo bằng cách điều chỉnh độ dài của các vi kim nằm trong khoảng từ 3 đến 50µm hoặc dài hơn nữa. Ngoài ra, bằng cách điều chỉnh độ dài của các vi kim nằm trong khoảng từ 3 đến 600µm hoặc ngắn hơn, có thể ngăn không cho các vi kim tiếp xúc với dây thần kinh và bằng cách làm giảm nguy cơ gây đau và ngăn chặn rủi ro làm chảy máu. Ngoài ra, nếu độ dài của các vi kim 3 là bằng hoặc ngắn hơn 500µm, kháng nguyên vắc xin viêm não Nhật Bản có thể được sử dụng một cách hữu hiệu ở lượng mà được đưa vào trong da, và có thể sử dụng mà không xuyên thủng màng cơ sở. Độ dài của các vi kim 3 tốt nhất là nằm trong khoảng từ 300 đến 500µm.

Ở đây, mỗi vi kim 3 là kết cấu lõi và có nghĩa là cấu trúc ở dạng hình kim hoặc bao gồm dạng hình kim theo nghĩa rộng. Vi kim không bị giới hạn ở vi kim hình kim có đầu nhọn và có thể là vi kim có đầu bằng. Nếu vi kim 3 có cấu trúc hình nón, đường kính nền tốt hơn là khoảng 50 đến 200µm. Mặc dù theo phương án này, các vi kim 3 là hình nón, hình dạng của các vi kim có thể là hình chóp đa

giác, như hình chóp tứ giác, hoặc hình dạng khác.

Vi kim 3 được bố trí một cách điển hình với các khoảng trống giữa chúng để tạo ra mật độ vào khoảng một đến mười vi kim được bố trí trên 1 milimet (mm) theo dãy vi kim. Nói chung, các dãy liền kề cách nhau một khoảng gần giống như khoảng cách giữa các kim trong một dãy, và mật độ kim nằm trong khoảng từ 100 đến 10000 kim trên 1cm^2 . Mật độ bằng hoặc lớn hơn 100 kim có thể chọc vào da một cách hiệu quả. Trái lại, mật độ vượt quá 10000 kim thì khó duy trì độ bền của các vi kim 3. Mật độ của các vi kim 3 tốt hơn là nằm trong khoảng từ 200 đến 5000 kim, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 300 đến 2000 kim, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 400 đến 850 kim.

Các ví dụ về nguyên liệu của nền 2 hoặc các vi kim 3 bao gồm silic, silic dioxit, gốm, kim loại (như thép không gỉ, titan, niken, molybden, crom, và coban), và các nguyên liệu nhựa tự nhiên hoặc tổng hợp, và xét đến tính kháng nguyên của vi kim và giá đơn vị của nguyên liệu, tốt nhất là nguyên liệu là polyme có thể phân hủy sinh học được, như axit polylactic, polyglycolit, axit polylactic-co-polyglycolit, pululan, capronolacton, polyuretan, hoặc polyanhydrit, hoặc polyme không phân hủy sinh học được, ví dụ, nguyên liệu nhựa tự nhiên hoặc tổng hợp, như polycarbonat, axit polymetacrylic, etylen vinyl axetat, polytetrafloetylen, hoặc polyoxymetylen. Ngoài ra, các polysacarit như axit hyaluronic, natri hyaluronat, pululan, dextran, dextrin, và chondroitin sulfat, là được ưu tiên.

Các ví dụ về phương pháp sản xuất nền 2 hoặc các vi kim 3 bao gồm quy trình khắc ướt và quy trình khắc khô sử dụng nền silic, sự gia công chính xác sử dụng kim loại hoặc nhựa (như gia công phóng điện, gia công bằng tia laze, gia công cắt, gia công in dập nóng, và gia công đúc áp lực), và cắt cơ học. Nền 2 và các vi kim 3 được đúc liền khối bằng các quy trình gia công này. Các ví dụ về quy trình chế tạo các vi kim 3 rỗng bao gồm quy trình gồm tạo ra các vi kim 3 và sau đó đưa vi kim 3 đi gia công thứ cấp bằng tia laze chẳng hạn.

Dụng cụ vi kim 1 bao gồm lớp phủ 5 trên các vi kim 3, và tốt hơn là tạo ra lớp phủ 5 bằng cách phủ chế phẩm phủ vi kim. Các ví dụ về phương pháp phủ bao gồm phủ phun và phủ nhúng, và phương pháp phủ nhúng là được ưu tiên. Trên Fig.1, mặc dù lớp phủ 5 được tạo ra trên tất cả các vi kim 3, lớp phủ 5 có thể được tạo ra chỉ trên một phần của loạt vi kim 3. Ngoài ra, trên Fig.1, lớp phủ 5 được tạo ra chỉ trên các phần đầu mút của các vi kim 3 nhưng có thể được tạo ra để bao phủ toàn bộ từng vi kim 3. Hơn nữa, lớp phủ 5 có thể được tạo ra trên nền 2.

Fig.3(a), (b), và (c) là các biểu đồ minh họa một phương án của phương pháp sản xuất dụng cụ vi kim 1. Theo quy trình này, trước tiên, như được thể hiện trên Fig.3(a), chế phẩm phủ vi kim 10 được quét lên tấm chắn 11 bằng dao trộn 12 theo chiều mũi tên A. Theo cách vậy, các lỗ hở 13 được nạp chế phẩm phủ vi kim 10. Sau đó, như được thể hiện trên Fig.3(b), các vi kim 3 được xuyên vào trong lỗ hở 13 của tấm chắn 11. Tiếp theo, như được thể hiện trên Fig.3(c), các vi kim 3 được kéo ra khỏi lỗ hở 13 của tấm chắn 11. Bằng cách đó, chế phẩm phủ vi kim 10 được bám dính lên trên các vi kim 3. Chế phẩm phủ vi kim 10 có thể dính lên trên nền 2. Tiếp theo, thành phần dễ bay hơi trong chế phẩm phủ vi kim 10 trên các vi kim 3 được loại bỏ bằng phương pháp đã biết, tức là, làm khô bằng không khí, làm khô chân không, hoặc sự kết hợp các phương pháp này. Bằng cách đó, lớp phủ 5 dính chắc lên trên các vi kim 3 và trở thành dạng rắn hoặc như thủy tinh để tạo ra dụng cụ vi kim. Hàm lượng ẩm của lớp phủ 5 thường là bằng hoặc nhỏ hơn 55% khối lượng, tốt hơn là bằng hoặc nhỏ hơn 30% khối lượng, và tốt hơn nữa là bằng hoặc nhỏ hơn 10% khối lượng, tính theo tổng trọng lượng của lớp phủ 5. Phương pháp nêu trên ngăn chặn sự bám dính ngăn chế phẩm phủ vi kim 10 đã bám dính không bị chảy nhỏ giọt. Thuật ngữ chảy nhỏ giọt là để chỉ sự chảy chế phẩm phủ từ đầu mũi kim và có nghĩa là phần H trên Fig.3(c) còn kéo dài nữa.

Chiều cao H của lớp phủ 5 bám dính vào các vi kim 3 được điều chỉnh bởi khoảng trống (khe) C được thể hiện trên Fig.3(b). Khoảng trống C này được xác định bởi khoảng cách từ nền của các vi kim 3 đến bề mặt của tấm chắn 11 (độ dày của nền 2 không liên quan đến khoảng trống C), và được xác định tùy thuộc vào

ứng suất của tấm chắn 11 và độ dài của các vi kim 3. Phạm vi khoảng cách của khoảng trống C tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0 đến 500 μ m. Nếu khoảng cách của khoảng trống C là zero, có nghĩa là chế phẩm phủ vi kim 10 được phủ lên toàn bộ vi kim 3. Chiều cao H của chế phẩm phủ vi kim 10 bám dính lên trên từng vi kim 3 thay đổi phụ thuộc vào chiều cao của vi kim 3 và có thể là từ 0 đến 500 μ m, thường là từ 10 đến 500 μ m, tốt hơn là khoảng 30 đến 300 μ m, và tốt nhất là khoảng 40 đến 250 μ m. Để sử dụng một cách hiệu quả kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản trong chế phẩm phủ vi kim 10, tốt hơn là giới hạn chế phẩm phủ vi kim 10 ở một phần của từng vi kim, tức là, phần đầu mút của kim, và cũng xét trên quan điểm về sự kích thích da và tỷ lệ truyền thuốc đến da, tốt hơn là giới hạn chế phẩm 10 ở vùng 200 μ m từ đầu mút. Hơn nữa, xét trên quan điểm về tính ổn định của vacxin chứa kháng nguyên viêm não Nhật Bản, nếu nồng độ của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản là từ 0,1 đến 10% trọng lượng/trọng lượng tính theo tổng trọng lượng của lớp phủ 5, tốt hơn nữa là giới hạn chế phẩm phủ vi kim 10 trong khu vực từ 50 đến 150 μ m tính từ đầu mút. Vì chế phẩm phủ vi kim 10 cho phép axit amin có tính kiềm được hòa tan trong dung dịch nước ở nồng độ cao (ví dụ, bằng hoặc cao hơn 20% trọng lượng/trọng lượng) và có độ nhớt cao, tốt hơn là tạo ra lớp phủ 5 trên một phần của từng vi kim. Chế phẩm phủ vi kim 10 được giữ trên các vi kim 3 ở dạng được chèn vào trong da đồng thời khi các vi kim 3 được chích vào da.

Độ dày của mỗi lớp phủ 5 bám dính vào các vi kim 3 sau khi khô tốt hơn là nhỏ hơn 50 μ m, tốt hơn nữa là nhỏ hơn 40 μ m, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 1 đến 30 μ m. Nói chung, độ dày của lớp phủ 5 bám vào vi kim là mức trung bình của các độ dày đo được trên bề mặt của vi kim 3 sau khi khô. Độ dày của từng lớp phủ 5 bám dính lên bề mặt các vi kim 3 có thể được gia tăng bằng cách phủ nhiều màng phủ của chế phẩm phủ vi kim 10, tức là, bằng cách lặp lại bước kết dính sau khi kết dính chế phẩm phủ vi kim 10.

Khi kết dính chế phẩm phủ vi kim 10 vào các vi kim 3, tốt hơn là duy trì nhiệt độ và độ ẩm của môi trường lắp đặt dụng cụ ở mức không thay đổi. Ngoài

ra, khi chế phẩm phủ vi kim 10 chứa nước, môi trường có thể được nạp nước, nếu cần. Bằng cách đó, sự thoát hơi nước của nước trong chế phẩm phủ vi kim 10 có thể bị ngăn chặn càng nhiều càng tốt.

Fig.2 là hình vẽ mặt cắt ngang dọc theo đường II-II của Fig.1. Như được thể hiện trên Fig.2, dụng cụ vi kim 1 bao gồm nền 2, các vi kim 3 bố trí trên nền 2, và lớp phủ 5 được bố trí trên vi kim 3. Lớp phủ 5 bám vào các vi kim chứa kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản, axit amin có tính kiềm, và axit và có thể được tạo ra, ví dụ, nhờ quy trình được nêu ở trên.

Chế phẩm phủ vi kim 10 chứa kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản, axit amin có tính kiềm, và axit, trong đó số mol của axit cho một mol của axit amin có tính kiềm là lớn hơn $1/(N+1)$ và nhỏ hơn 2, trong đó N là hóa trị của axit. Số mol của axit cho một mol của axit amin có tính kiềm tốt hơn là bằng hoặc lớn hơn $1/N$ và bằng hoặc nhỏ hơn 1.

Nồng độ của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản trong chế phẩm phủ vi kim 10 tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,01 đến 30% trọng lượng/trọng lượng, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,02 đến 20% trọng lượng/trọng lượng, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,05 đến 10% trọng lượng/trọng lượng, tính theo tổng trọng lượng của chế phẩm phủ vi kim 10. Nếu nồng độ của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản là bằng hoặc lớn hơn 0,01% trọng lượng/trọng lượng, khi sử dụng cho da, lượng hữu hiệu của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản có thể được giải phóng bên trong da thể hiện hiệu lực thuốc đầy đủ. Nồng độ của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản trong mỗi lớp phủ 5 được điều chế bằng cách phủ chế phẩm phủ vi kim 10 lên các vi kim 3 và loại bỏ thành phần dễ bay hơi tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,01 đến 30% trọng lượng/trọng lượng, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,03 đến 15% trọng lượng/trọng lượng, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,1 đến 10% trọng lượng/trọng lượng, tính theo tổng trọng lượng của lớp phủ 5.

Axit amin có tính kiềm không bị giới hạn một cách cụ thể và là một hoặc

nhiều axit amin, ví dụ, lysin, histidin, arginin, ornithin, và carnitin và tốt hơn là dạng tự do của nó. Cụ thể, arginin là được ưu tiên xét trên quan điểm mở rộng phạm vi lựa chọn axit.

Nồng độ của axit amin có tính kiềm trong chế phẩm phủ vi kim 10 tốt hơn là bằng hoặc lớn hơn 20% trọng lượng/trọng lượng, và tốt hơn nữa là bằng hoặc lớn hơn 30% trọng lượng/trọng lượng, tính theo tổng trọng lượng của chế phẩm phủ vi kim 10, xét trên quan điểm về độ nhớt và tính ổn định của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản. Nồng độ của axit amin có tính kiềm bằng hoặc lớn hơn 20% trọng lượng/trọng lượng có thể cải thiện tính ổn định của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản trong chế phẩm phủ vi kim 10. Nồng độ của axit amin có tính kiềm bằng hoặc nhỏ hơn 70% trọng lượng/trọng lượng làm cho thao tác xử lý khi phủ lên các vi kim 3 dễ dàng hơn. Ngoài ra, nồng độ của axit amin có tính kiềm ở lớp phủ 5 được điều chế bằng cách phủ chế phẩm phủ vi kim 10 lên các vi kim 3 và loại bỏ thành phần dễ bay hơi tốt hơn là nằm trong khoảng từ 50 đến 90% trọng lượng/trọng lượng và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 60 đến 80% trọng lượng/trọng lượng tính theo tổng trọng lượng của lớp phủ 5.

Tỷ lệ lượng trộn (khối lượng) của axit amin có tính kiềm với lượng trộn (khối lượng) của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản trong chế phẩm phủ vi kim 10 tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1,8 đến 2400, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 3,5 đến 700, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 5 đến 500. Tính ổn định của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản có thể được nâng cao bằng cách điều chỉnh tỷ lệ của nồng độ của axit amin có tính kiềm với nồng độ của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản nằm trong khoảng nêu trên.

Axit trong chế phẩm phủ vi kim 10 tốt hơn là axit có điểm nóng chảy bằng hoặc cao hơn 40°C. Sử dụng axit này cho phép axit amin có tính kiềm có mặt với nồng độ cao (ví dụ, bằng hoặc lớn hơn 20% trọng lượng/trọng lượng) trong chế phẩm phủ vi kim 10 và có thể nâng cao tính ổn định của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản trong chế phẩm phủ vi kim 10. Cụ thể, tốt hơn là axit là ít nhất

một axit được chọn từ nhóm bao gồm axit phosphoric, axit lactic, axit benzoic, axit maleic, axit xitric, axit tartric, axit succinic, axit ascorbic, và axit aspartic, và tốt hơn nữa là ít nhất một axit được chọn từ nhóm bao gồm axit phosphoric, axit xitric, và axit tartric. Nồng độ của axit trong chế phẩm phủ vi kim 10 tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5% đến 50% trọng lượng/trọng lượng và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 10% đến 30% trọng lượng/trọng lượng tính theo tổng trọng lượng của chế phẩm phủ vi kim 10. Ngoài ra, nồng độ của axit trong lớp phủ 5 được điều chế bằng cách phủ chế phẩm phủ vi kim 10 lên các vi kim 3 và loại bỏ thành phần dễ bay hơi tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5% đến 50% trọng lượng/trọng lượng và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 10% đến 30% trọng lượng/trọng lượng tính theo tổng trọng lượng của lớp phủ 5.

Chế phẩm phủ vi kim 10 có thể chứa, ngoài kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản, axit amin có tính kiềm, và axit, còn chứa dung dịch nước, ví dụ, nước tinh khiết, nước muối sinh lý, hoặc dung dịch đệm như dung dịch đệm phosphat, dung dịch đệm xitrat, dung dịch đệm axetat, dung dịch đệm xitrat-phosphat, dung dịch đệm axit tris-clohydric, hoặc dung dịch đệm glyxin-natri hydroxit. Hàm lượng của các dung dịch nước nêu trên tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5% đến 75% khối lượng tính theo tổng trọng lượng của chế phẩm phủ vi kim 10. Hàm lượng vượt quá 75% khối lượng có xu hướng không thu được độ nhót đầy đủ trong khi phủ, và hàm lượng nhỏ hơn 5% khối lượng có xu hướng làm cho khó hòa tan chế phẩm.

Chế phẩm phủ vi kim 10 có thể chứa, ngoài axit amin có tính kiềm nêu trên, còn chứa lysin hoặc muối được dụng của lysin. Sự bổ sung lysin hoặc muối được dụng của lysin có thể tiếp tục nâng cao tính ổn định của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản.

Muối được dụng của lysin tốt hơn là hydroclorua. Nồng độ của lysin hydroclorua có thể nằm trong khoảng từ 0,1% đến 20% trọng lượng/trọng lượng tính theo tổng trọng lượng của chế phẩm phủ vi kim 10. Ở nồng độ lớn hơn 20%

trọng lượng/trọng lượng, lysin hydroclorua không thể hòa tan được, và ở nồng độ nhỏ hơn 0,1% trọng lượng/trọng lượng, tính ổn định của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản có thể là không đủ. Ngoài ra, nồng độ của lysin hydroclorua trong lớp phủ 5 được điều chế bằng cách phủ chế phẩm phủ vi kim 10 lên các vi kim 3 và loại bỏ thành phần dễ bay hơi có thể nằm trong khoảng từ 0,1% đến 20% trọng lượng/trọng lượng tính theo tổng trọng lượng của lớp phủ 5.

Ngoài ra, chế phẩm phủ vi kim 10 có thể còn chứa chất mang polyme (chất làm đặc) làm thành phần tùy chọn. Các ví dụ về chất mang polyme bao gồm polyetylen oxit, polyhydroxymethyl xenluloza, hydroxypropyl xenluloza, polyhydroxypropyl methylxenluloza, polymetyl xenluloza, dextran, polyetylen glycol, rượu polyvinyllic, polyvinylpyrrolidon, pululan, carmelloza natri, chondroitin sulfat, axit hyaluronic, dextran, và gôm arabic. Trọng lượng phân tử trung bình-trọng lượng của polyetylen glycol được dùng làm chất mang polyme tốt hơn là cao hơn 600 và không cao hơn 500000.

Chất mang polyme tốt hơn là chất mang có tính tương thích cao (tính có thể trộn lẫn đồng đều) với kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản, và các ví dụ được đặc biệt ưu tiên là hydroxypropyl xenluloza, dextran, rượu polyvinyllic, và pululan.

Hàm lượng của chất mang polyme trong chế phẩm phủ vi kim 10 nằm trong khoảng từ 0,005% đến 30% khối lượng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,01% đến 20% khối lượng, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,05% đến 10% khối lượng, tính theo tổng trọng lượng của chế phẩm phủ vi kim 10. Ngoài ra, chất mang polyme này cần có mức độ nhớt xác định để ngăn chặn sự chảy nhỏ giọt ở một số trường hợp, và độ nhớt ở nhiệt độ trong phòng (25°C) tốt hơn là nằm trong khoảng từ 100 đến 100000mPa.s. Tốt hơn nữa là độ nhớt này nằm trong khoảng từ 500 đến 60000mPa.s.

Ngoài phần mô tả ở trên, chế phẩm phủ vi kim 10 có thể chứa, nếu cần, chất hòa tan hoặc chất thúc đẩy sự hấp thụ, như propylen carbonat, crotamiton,

L-mentol, dầu bạc hà, limonen, hoặc diisopropyl adipat, chất hỗ trợ hiệu lực thuốc như methyl salixylat, glycol salixylat, L-mentol, thymol, dầu bạc hà, axit vanilylamit nonylic, hoặc dịch chiết từ quả ớt.

Hơn nữa, nếu cần, chế phẩm phủ vi kim 10 có thể chứa hợp chất như chất làm ổn định, chất chống oxy hóa, chất tạo nhũ, chất hoạt động bề mặt, hoặc muối. Chất hoạt động bề mặt có thể là chất hoạt động bề mặt không phân ly hoặc chất hoạt động bề mặt ion (cation, anion, hoặc ion lưỡng tính), và tốt hơn là chất hoạt động bề mặt không phân ly mà thường được sử dụng làm nền dược phẩm, xét theo tiêu chuẩn an toàn. Các ví dụ về các hợp chất này bao gồm este rượu đường của axit béo, như este sucroza của axit béo, este propylen glycol của axit béo, este polyoxyetylen sorbitan của axit béo, este polyoxyetylen sorbitan của axit béo, este polyoxyetylen glyxerin của axit béo, este polyetylen glycol của axit béo, polyoxyetylen dầu thầu dầu, và polyoxyetylen dầu thầu dầu được hydro hóa.

Các nguyên liệu phụ trợ điều chế đã biết khác có thể được chứa trong chế phẩm phủ vi kim 10, miễn là chúng không gây ảnh hưởng bất lợi đến hiệu quả nâng cao tính hòa tan và độ nhớt của chế phẩm phủ vi kim 10 và không gây ảnh hưởng bất lợi các đặc điểm và các đặc tính vật lý của chế phẩm phủ vi kim đã sấy khô 10 bám vào các vi kim 3.

Chế phẩm phủ vi kim 10 cần có mức độ nhớt xác định để ngăn chặn sự chảy nhỏ giọt sau khi phủ lên trên các vi kim 3. Độ nhớt này nằm trong khoảng từ 100 đến 45000mPa.s, và trong chế phẩm phủ vi kim 10 có độ nhớt nằm trong khoảng này, lượng mong muốn của chế phẩm phủ vi kim 10 có thể bám dính vào các vi kim 3 ở một thời điểm, mà không phụ thuộc vào nguyên liệu của vi kim.

Nếu độ nhớt của chế phẩm phủ vi kim 10 ở 25°C là bằng hoặc nhỏ hơn 45000mPa.s, ứng suất cắt được gia tăng để gia tăng tính chống bong giữa các nguyên liệu. Do vậy, phủ dung dịch thuốc bằng phương pháp nhúng, đặc tính (khả năng kết tụ) của từng cá thể, tức là, tính chống sự phân rã khỏi vi kim, được tăng cường, và lượng lớn chế phẩm phủ có thể được giữ trên vi kim. Trái lại, nếu độ

nhớt vượt quá 45000mPa.s, hàm lượng của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản trong chế phẩm phủ bám vào các vi kim giảm, đây là một sự bất lợi về mặt kinh tế. Nếu độ nhớt của chế phẩm phủ bằng hoặc lớn hơn 100mPa.s, vì khả năng kết tụ cao, nên có thể giữ được lượng lớn chế phẩm phủ trên vi kim. Dựa vào các đặc tính này, độ nhớt của chế phẩm phủ vi kim 10 ở 25°C tốt hơn là nằm trong khoảng từ 100 đến 45000mPa.s, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 300 đến 35000mPa.s, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 500 đến 30000mPa.s, và tốt nhất là nằm trong khoảng từ 600 đến 15000mPa.s.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả cụ thể hơn với sự tham khảo các ví dụ của sáng chế, nhưng sáng chế không bị giới hạn ở các ví dụ này, và có thể được thay đổi trong phạm vi không trệtch khỏi ý tưởng kỹ thuật của sáng chế.

Tính hòa tan của hỗn hợp gồm arginin và axit trong nước

Arginin được trộn với axit bất kỳ (hóa trị N) được thể hiện ở các bảng 1 đến 3 ở tỷ lệ, arginin : axit = N:1; nước tinh khiết được bổ sung vào từng hỗn hợp để điều chế dung dịch axit-arginin loãng 20% trọng lượng/trọng lượng; và nước được làm bay hơi bằng cách làm đông khô nhanh để tạo ra chất rắn đông khô. Nước tinh khiết được bổ sung vào chất rắn đông khô này ở tỷ lệ, (hỗn hợp (Arg + axit) của arginin và axit) : nước = 7:3, để điều chế dung dịch được cô của hỗn hợp (Arg + axit) của arginin và axit. Trong các bảng này, "tính hòa tan" thể hiện các kết quả, trong đó kí hiệu "○" là chỉ trường hợp trong đó dung dịch được cô đặc có thể được điều chế có tính hòa tan hoàn toàn, và kí hiệu "△" là để chỉ trường hợp trong đó một phần chất rắn đông khô được hòa tan riêng phần.

Bảng 1

Axit vô cơ	Axit clohydric (hóa trị một)	Axit sulfuric (hóa trị hai)	Axit metansulfonic (hóa trị một)	Axit phosphoric (hóa trị ba)
Điểm nóng chảy (°C)	-27,3	10	20	42,4
Tính hòa tan	△	△	△	○

Bảng 2

Axit hữu cơ	Axit axetic băng (hóa trị một)	Axit lactic (hóa trị một)	Axit benzoic (hóa trị một)	Axit maleic (hóa trị hai)	Axit xitric (hóa trị ba)
Điểm nóng chảy (°C)	16,7	53	122	131	153
Tính hòa tan	△	○	○	○	○

Bảng 3

Axit hữu cơ	Axit tarttric (hóa trị hai)	Axit succinic (hóa trị hai)	Axit ascorbic (hóa trị một)	Axit aspartic (hóa trị một)
Điểm nóng chảy (°C)	168	185	190	300
Tính hòa tan	○	○	○	○

Tính hòa tan trong nước và đặc tính độ nhớt của hỗn hợp gồm arginin và axit phụ thuộc vào tỷ lệ trộn

Arginin và axit được trộn ở các tỷ lệ mol được thể hiện ở bảng 4 và 5; nước tinh khiết được bổ sung vào từng hỗn hợp để điều chế dung dịch arginin-axit loãng 20% trọng lượng/trọng lượng; và nước được làm bay hơi bằng cách làm đông khô nhanh để tạo ra chất rắn đông khô. Nước tinh khiết được bổ sung vào chất rắn đông khô này ở tỷ lệ, (hỗn hợp (Arg + axit) của arginin và axit) : nước = 7:3, để điều chế dung dịch được cô đặc của hỗn hợp (Arg + axit) gồm arginin và axit. Trong các bảng này, "tính hòa tan" thể hiện các kết quả, trong đó kí hiệu "○" là để chỉ trường hợp trong đó dung dịch được cô đặc có thể được điều chế có tính hòa tan hoàn toàn, kí hiệu "△" để chỉ trường hợp trong đó chất rắn đông khô được

hòa tan một phần, và kí hiệu "×" để chỉ trường hợp trong đó chất rắn đông khô gần như không được hòa tan. Trong các bảng này, "độ nhớt" được đo bằng nhớt kế mẫu nhỏ (VROC, do RheoSense, Inc. sản xuất), và đơn vị đo là "mPa·s".

Ngoài ra, dung dịch được cô đặc của từng hỗn hợp gồm arginin và axit (Arg + axit, arginin : axit phosphoric = 2:1, arginin : axit xitric = 3:1, và arginin : axit tartric = 2:1) được phủ lên các vi kim (chiều cao: khoảng 500µm, mật độ: 640 kim/cm², hình dạng: hình chóp tứ giác), và đầu mũi kim của các vi kim được quan sát bằng kính hiển vi (VH-8000, do KEYENCE Corporation sản xuất). Các kết quả quan sát cho thấy rằng lớp phủ được tạo ra trên phần đầu mũi của các vi kim và lý giải rằng hỗn hợp gồm arginin và axit là thích hợp để phủ lên đầu mũi kim.

Bảng 4

Arg : axit phosphoric (hóa trị ba)	Tính hòa tan	Độ nhớt	Arg : axit xitric (hóa trị ba)	Tính hòa tan	Độ nhớt
1:1	○	-	1:1	○	-
2:1	○	1134	2:1	○	-
3:1	○	-	3:1	○	1331
4:1	△	-	4:1	△	-

Bảng 5

Arg : axit tartric (hóa trị hai)	Tính hòa tan	Độ nhớt	Arg : axit lactic (hóa trị một)	Tính hòa tan	Độ nhớt
1:1	○	-	1:1	○	-
2:1	○	792	2:1	△	-
3:1	△	-	3:1	×	-
4:1	×	-	4:1	×	-

Đánh giá tính ổn định của kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản

Dung dịch phủ kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản được trộn với arginin và axit được phủ lên trên vi kim, và tính ổn định được đánh giá.

Dung dịch đệm phosphat nước muối sinh lý (PBS) chứa kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản được sử dụng làm thành phần hoạt được. Thành phần

hoạt được này được cô bằng cách siêu lọc, và dung dịch phủ kháng nguyên vaccin viêm não Nhật Bản được bào chế bằng cách bổ sung chất rắn đông khô (Arg + axit) của hỗn hợp gồm arginin và axit và lysin hydroclorua (Lys HCl) vào phần cô đặc và trộn chúng hoặc bằng cách trộn arginin, axit, và lysin hydroclorua với thành phần hoạt được trong khi cô và làm đông khô nhanh và sau đó hòa tan lại hỗn hợp. Tỷ lệ trộn (đơn vị: % khối lượng) của từng thành phần và tỷ lệ mol của Arg + axit được thể hiện ở bảng 6.

Dung dịch phủ kháng nguyên vaccin viêm não Nhật Bản thu được được phủ lên từng vi kim (chiều cao: khoảng 500 μ m, mật độ: 640 kim/cm², hình dạng: hình chóp tứ giác) và được làm khô để thu các chế phẩm A đến F. Ở bảng 6, các trị số trong ngoặc đơn cho mỗi thành phần biểu thị tỷ lệ trộn (đơn vị: % khối lượng) sau khi khô. Các chế phẩm A đến F được đóng kín trong MoistCatch (tên thương mại, Kyodo Printing Co., Ltd.) cùng với PharmaKeep (tên thương mại, Mitsubishi Gas Chemical Company, Inc.) và được bảo quản ở 40°C trong một tháng.

Tiến hành đánh giá tính ổn định bằng cách chiết lấy kháng nguyên vaccin viêm não Nhật Bản từ các vi kim với chất lỏng chiết (0,01% khối lượng của Tween 80/1% khối lượng trehaloza/PBS), tiến hành đo (ELISA) hàm lượng của kháng nguyên E và đo định lượng protein (phương pháp Lowry), và so sánh hàm lượng kháng nguyên E với hàm lượng protein dưới dạng hoạt tính đặc hiệu sau một tháng ở 40°C với giá trị ban đầu.

Bảng 6

Chế phẩm	Dung dịch phủ kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản				Arg + axit		Hoạt tính đặc hiệu	
	Kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản	Arg+ axit	PBS	Lys·HCl	Axit	Arg : axit (tỷ lệ mol)	Giai đoạn ban đầu	40°C, 1 tháng
A	0,87 (1,2)	70 (98,3)	29,13 (0,5)	0 (0)	Axit phosphoric (hóa trị ba)	2:1	1,01	0,97
B	3,75 (4,9)	70 (91,5)	23,75 (0,4)	2,5 (3,3)			1,07	0,98
C	3,75 (4,9)	70 (91,5)	23,75 (0,4)	2,5 (3,3)		3:1	1,23	0,96
D	0,87 (1,2)	70 (98,3)	29,13 (0,5)	0 (0)	Axit xitric (hóa trị ba)	3:1	1,02	0,87
E	3,75 (4,9)	70 (91,5)	23,75 (0,4)	2,5 (3,3)			1,00	0,98
F	0,87 (1,2)	70 (98,3)	29,13 (0,5)	0 (0)	Axit tartaric (hóa trị hai)	2:1	0,92	0,87

Trong các chế phẩm A đến F, hoạt tính đặc hiệu của từng mẫu được bảo quản ở 40°C trong một tháng là gần giống như hoạt tính của mẫu ở giai đoạn ban đầu, và không quan sát thấy sự giảm hoạt tính.

Tác dụng trộn lysin hydroclorua

Dung dịch phủ kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản chứa 70% khối lượng của hỗn hợp gồm arginin và axit, trong đó tỷ lệ trộn của từng thành phần (đơn vị: % khối lượng) và tỷ lệ mol của arginin và axit được thể hiện ở bảng 7, được phủ lên trên vi kim, và tác dụng trộn lysin hydroclorua được đánh giá bằng cách sử dụng bảng trực giao L9. Trong bảng 7, các trị số trong ngoặc đơn cho từng thành phần biểu thị các tỷ lệ trộn (đơn vị: % khối lượng) sau khi loại bỏ thành phần dễ bay hơi.

Dung dịch PBS chứa kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản được sử dụng làm thành phần hoạt được, thành phần hoạt được này được cô bằng cách siêu lọc, và lượng định trước của chất phụ gia được bổ sung vào phần cô đặc, sau đó trộn để thu dung dịch phủ cho vi kim. Dung dịch này được phủ lên các đầu mũi kim của các vi kim axit polylactic (chiều cao: khoảng 500µm, mật độ: 640

kim/cm², hình dạng: hình chóp tứ giác) trong môi trường có độ ẩm tương đối nằm trong khoảng từ 80% đến 85%. Sau khi làm khô, các vi kim được đóng kín trong MoistCatch (tên thương mại, Kyodo Printing Co., Ltd.) cùng với PharmaKeep (tên thương mại, Mitsubishi Gas Chemical Company, Inc.), và tính ổn định trong từng điều kiện nhiệt độ được đánh giá. Sau khi chiết kháng nguyên vaccin viêm não Nhật Bản từ các vi kim với chất lỏng chiết (0,01% Tween 80/1% trehaloza/PBS), tiến hành đo (ELISA) hàm lượng kháng nguyên E và đo định lượng protein (phương pháp Lowry), và hàm lượng kháng nguyên E trên hàm lượng protein được đánh giá là hoạt tính đặc hiệu. Đối với mức hoạt tính đặc hiệu của từng mẫu được bảo quản ở 50°C trong 2 tuần, mức ảnh hưởng bởi sự trộn lysin hydroclorua đối với hoạt tính đặc hiệu được phân tích bằng phương pháp bình phương bé nhất. Fig.4 là biểu đồ thể hiện mức ảnh hưởng của lysin hydroclorua đối với hoạt tính đặc hiệu. Khi 2,5% hoặc 5,0% lysin hydroclorua được trộn, mức ảnh hưởng đối với hoạt tính đặc hiệu của mẫu được bảo quản ở 50°C trong 2 tuần là cao, điều này chứng tỏ rằng lysin hydroclorua có tác dụng nâng cao tính ổn định.

Bảng 7

Chế phẩm	Dung dịch phủ kháng nguyên vaccin viêm não Nhật Bản					Arg + axit (tỷ lệ mol)	Hoạt tính đặc hiệu
	Kháng nguyên vaccin viêm não Nhật Bản	Arg + axit	Glyxin	Lys·HCl	PBS		50°C, 2 tuần
G	0,9 (1,3)	70 (98,3)	0 (0)	0	29,1 (0,5)	Arg + axit phosphoric (2:1)	0,84
H	0,9 (1,2)	70 (91,9)	2,5 (3,3)	2,5 (3,3)	24,1 (0,4)		0,82
I	0,9 (1,1)	70 (86,3)	5 (6,2)	5 (6,2)	19,1 (0,3)		0,85
J	0,9 (1,2)	70 (95,0)	0 (0)	2,5 (3,4)	26,6 (0,4)	Arg + axit xitric (3:1)	0,87
K	0,9 (1,1)	70 (89,0)	2,5 (3,2)	5	21,6 (0,3)		0,92
L	0,9 (1,2)	70 (91,9)	5 (6,6)	0	24,1 (0,4)		0,70
M	0,9 (1,2)	70 (91,9)	0 (0)	5 (6,6)	24,1 (0,4)	Arg + axit tartaric (2:1)	0,75
N	0,9 (1,2)	70 (95,0)	2,5 (3,4)	0	26,6 (0,4)		0,70
O	0,9 (1,1)	70 (89,0)	5 (6,4)	2,5 (3,2)	21,6 (0,3)		0,85

Đánh giá tính ổn định của kháng nguyên vaccin viêm não Nhật Bản bằng liệu

dùng chế phẩm

Dung dịch phủ kháng nguyên vaccin viêm não Nhật Bản được trộn với arginin và axit được phủ lên trên vi kim, và tính ổn định ở hai liều dùng khác nhau của chế phẩm, 4 μ g chế phẩm và 0,2 μ g chế phẩm, được đánh giá. Hai liều dùng khác nhau của chế phẩm được tạo ra bằng cách điều chỉnh nồng độ kháng nguyên của dung dịch phủ chứa kháng nguyên vaccin viêm não Nhật Bản và chiều cao phủ.

Dung dịch nước muối sinh lý đệm phosphat (PBS) chứa kháng nguyên vaccin viêm não Nhật Bản được sử dụng làm thành phần hoạt được. Thành phần hoạt được này được cô bằng cách siêu lọc, và các dung dịch phủ kháng nguyên vaccin viêm não Nhật Bản được bào chế bằng cách trộn thành phần hoạt được với arginin, axit phosphoric, và lysin hydroclorua trong khi cô và làm đông khô nhanh và sau đó hòa tan lại hỗn hợp này. Tỷ lệ trộn (đơn vị: % khối lượng) của từng thành phần và tỷ lệ mol của Arg + axit được thể hiện ở bảng 8.

Dung dịch phủ kháng nguyên vaccin viêm não Nhật Bản thu được được phủ lên các vi kim (chiều cao: khoảng 500 μ m, mật độ: 640 kim/cm², hình dạng: hình chóp tứ giác) để thu chế phẩm P có độ dày phủ 125 μ m và hàm lượng mong muốn 4 μ g, chiều cao phủ chế phẩm Q là 70 μ m và hàm lượng mong muốn là 0,2 μ g, chế phẩm R có chiều cao phủ (độ dày phủ) là 120 μ m và hàm lượng mong muốn là 8 μ g, chế phẩm S có chiều cao phủ là 60 μ m và hàm lượng mong muốn là 2 μ g, chế phẩm T có chiều cao phủ là 60 μ m và hàm lượng mong muốn là 1 μ g, và chế phẩm U có chiều cao phủ là 60 μ m và hàm lượng mong muốn là 0,032 μ g. Trong bảng 8, các trị số trong ngoặc đơn cho từng thành phần biểu thị các tỷ lệ trộn (đơn vị: % khối lượng) sau khi làm khô. Các chế phẩm P đến U được bao kín trong MoistCatch (tên thương mại, Kyodo Printing Co., Ltd.) cùng với PharmaKeep (tên thương mại, Mitsubishi Gas Chemical Company, Inc.), và các chế phẩm P đến T được bảo quản trong ba tháng và chế phẩm U được bảo quản trong bốn tháng, dưới điều kiện nhiệt độ được thể hiện ở bảng 9.

Tiến hành đánh giá tính ổn định bằng cách chiết kháng nguyên vaccin viêm não Nhật Bản từ các vi kim với chất lỏng chiết (0,01% khối lượng Tween 80/1% khối lượng trehaloza/PBS), tiến hành đo (ELISA) hàm lượng của kháng nguyên E và đo định lượng protein (phương pháp Lowry), và so sánh hàm lượng kháng nguyên E với hàm lượng protein làm hoạt tính đặc hiệu. Trong các chế phẩm Q và U với liều lượng thấp, hoạt tính đặc hiệu được xác định bằng cách tính từ trị số đo của hàm lượng axit amin và tỷ lệ trộn trong chế phẩm thay vì hàm lượng protein được đo bằng phương pháp Lowry. Hàm lượng axit amin được đo bằng phương pháp orto-phthalaldehyt (OPA_ortho-phthalaldehyt).

Bảng 8

Chế phẩm	Dung dịch phủ kháng nguyên vaccin viêm não Nhật Bản				Arg + axit		Chiều cao phủ (μm)	Hàm lượng mong muốn (μg)
	Kháng nguyên vaccin viêm não Nhật Bản	Arg + axit	PBS	Lys-HCl	Axit	Arg : axit (tỷ lệ mol)		
P	3,75 (4,9)	70 (91,5)	23,75 (0,4)	2,5 (3,3)	Axit phosphoric (hóa trị ba)	2:1	125	4
Q	0,75 (1,0)	70 (95,2)	26,75 (0,4)	2,5 (3,4)			70	0,2
R	6,5 (9,3)	60,7 (87,0)	30,7 (0,5)	2,2 (3,2)			120	8
S	6,5 (9,3)	60,7 (87,0)	30,7 (0,5)	2,2 (3,2)			60	2
T	3,75 (4,9)	70 (91,5)	23,75 (0,4)	2,5 (3,3)			60	1
U	0,11 (0,15)	70 (96,0)	27,4 (0,4)	2,5 (3,4)			60	0,032

Bảng 9

Chế phẩm	Mục	Giai đoạn ban đầu	10°C, 3 tháng	25°C, 3 tháng	40°C, 3 tháng	50°C, 3 tháng
P	Hàm lượng protein	4,22	4,70	4,60	4,37	4,44
		100,0%	111,5%	109,2%	103,8%	105,3%
	Hàm lượng kháng nguyên E	5,82	6,08	5,98	5,83	5,22
		100,0%	104,6%	102,8%	100,2%	89,8%
	Hoạt tính đặc hiệu	1,38	1,29	1,30	1,33	1,18
Q	Hàm lượng protein	0,208	0,204	0,213	0,210	0,210
		100,0%	98,1%	102,2%	101,0%	100,8%
	Hàm lượng kháng nguyên E	0,239	0,246	0,231	0,228	0,213
		100,0%	103,1%	96,9%	95,6%	89,3%
	Hoạt tính đặc hiệu	1,15	1,20	1,09	1,08	1,01
R	Hàm lượng protein	7,06		7,50	7,37	7,37
		100,0%		106,2%	1,04,3%	104,3%
	Hàm lượng kháng nguyên E	7,86		8,15	8,03	8,58
		100,0%		103,7%	102,1%	109,2%
	Hoạt tính đặc hiệu	1,11		1,09	1,09	1,16
S	Hàm lượng protein	1,84		1,98	1,81	1,88
		100,0%		107,7%	98,3%	102,1%
	Hàm lượng kháng nguyên E	1,73		1,86	1,66	1,49
		100,0%		107,6%	95,8%	86,1%
	Hoạt tính đặc hiệu	0,94		0,94	0,92	0,79
T	Hàm lượng protein	1,17		1,22	1,22	1,14
		100,0%		104,4%	104,9%	97,7%
	Hàm lượng kháng nguyên E	1,38		1,24	1,25	1,22
		100,0%		89,6%	90,4%	88,7%
	Hoạt tính đặc hiệu	1,18		1,01	1,02	1,07
Chế phẩm	Mục	Giai đoạn ban đầu	10°C, 4 tháng	25°C, 4 tháng	40°C, 4 tháng	50°C, 4 tháng
U	Hàm lượng protein	0,033	0,033	0,033	0,035	0,031
		100,0%	97,4%	97,5%	104,1%	94,0%
	Hàm lượng kháng nguyên E	0,032	0,032	0,026	0,032	0,028
		100,0%	100,0%	81,3%	100,0%	87,5%
	Hoạt tính đặc hiệu	0,96	0,98	0,80	0,92	0,89

Trong các chế phẩm P đến T, không quan sát thấy sự giảm hàm lượng protein và hàm lượng kháng nguyên E ở các mẫu được bảo quản ở nhiệt độ 10°C, 25°C, 40°C, hoặc 50°C trong ba tháng, so với các hàm lượng của các mẫu ở giai đoạn ban đầu. Cũng trong chế phẩm U, không thấy có sự giảm hàm lượng protein và hàm lượng kháng nguyên E ở các mẫu được bảo quản ở nhiệt độ 10°C, 25°C, 40°C, hoặc 50°C trong bốn tháng, với với các hàm lượng của các mẫu ở giai đoạn

ban đầu. Hoạt tính đặc hiệu cũng gần như là cùng một mức, và như vậy không quan sát thấy sự giảm hoạt tính.

Danh mục các số chỉ dẫn

1: dụng cụ vi kim, 2: nền, 3: vi kim, 5: lớp phủ, 10: chế phẩm phủ vi kim, 11: tấm chắn, 12: dao trộn, 13: lỗ hở

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm phủ vi kim chứa:

kháng nguyên vacxin viêm não Nhật Bản;

axit amin có tính kiềm với nồng độ bằng hoặc lớn hơn 20% trọng lượng/trọng lượng tính theo tổng trọng lượng của chế phẩm phủ vi kim; và

axit với nồng độ nằm trong khoảng từ 5% đến 50% trọng lượng/trọng lượng tính theo tổng trọng lượng của chế phẩm phủ vi kim, trong đó axit này là ít nhất một axit được chọn từ nhóm bao gồm axit phosphoric, axit lactic, axit benzoic, axit maleic, axit xitric, axit tartric, axit succinic, axit ascorbic, và axit aspartic, trong đó:

số mol của axit cho một mol của axit amin có tính kiềm là lớn hơn $1/(N+1)$ và nhỏ hơn 2, trong đó N là hóa trị của axit.

2. Chế phẩm phủ vi kim theo điểm 1, trong đó axit có điểm nóng chảy bằng hoặc cao hơn 40°C.

3. Chế phẩm phủ vi kim theo điểm 1, trong đó axit amin có tính kiềm là arginin.

4. Chế phẩm phủ vi kim theo điểm 3, trong đó chế phẩm này còn chứa lysin hoặc lysin hydroclorua.

5. Chế phẩm phủ vi kim theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa lysin hoặc lysin hydroclorua.

6. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó nồng độ của axit amin có tính kiềm bằng hoặc lớn hơn 30% trọng lượng/trọng lượng tính theo tổng trọng lượng của chế phẩm phủ vi kim.

7. Dụng cụ vi kim bao gồm:

vi kim; và

lớp phủ trên vi kim được tạo ra từ chế phẩm phủ vi kim theo điểm 1 nêu

trên.

8. Dụng cụ vi kim theo điểm 7, trong đó lớp phủ này được tạo ra trên phần đầu mút của vi kim.

9. Dụng cụ vi kim bao gồm:

vi kim; và

lớp phủ trên vi kim được tạo ra từ chế phẩm phủ vi kim theo điểm 3 nêu trên.

10. Dụng cụ vi kim bao gồm:

vi kim; và

lớp phủ trên vi kim được tạo ra từ chế phẩm phủ vi kim theo điểm 4 nêu trên.

Fig. 1

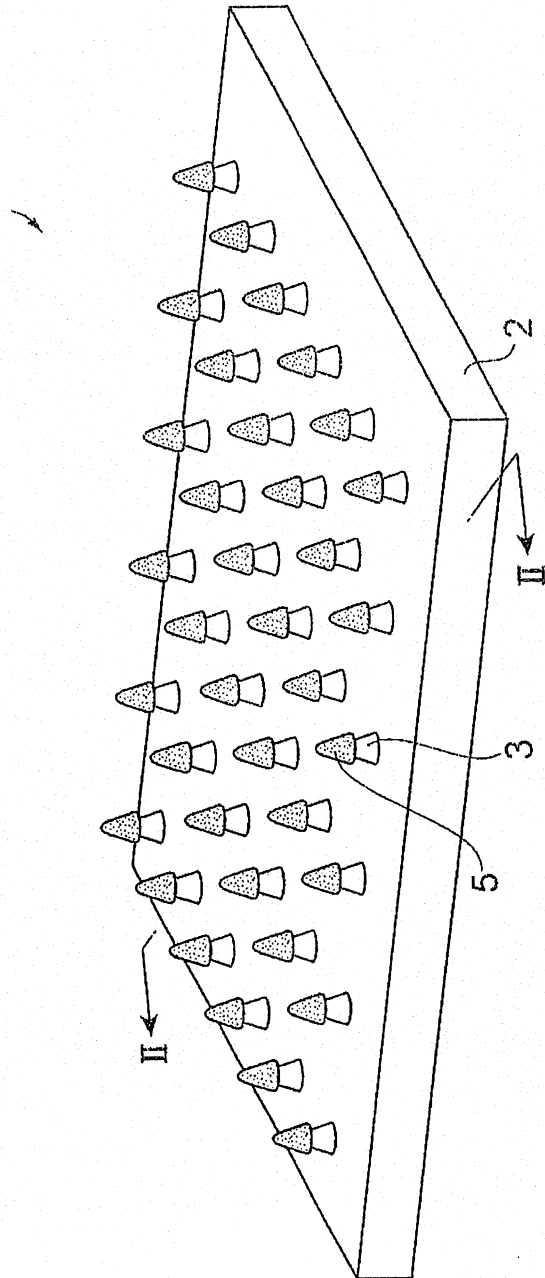
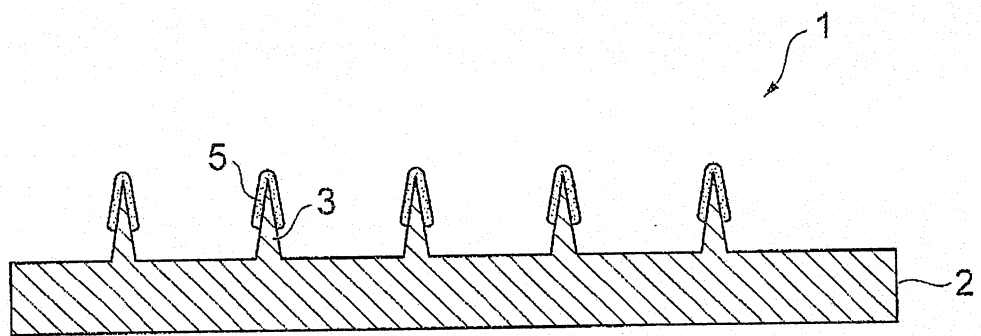


Fig.2

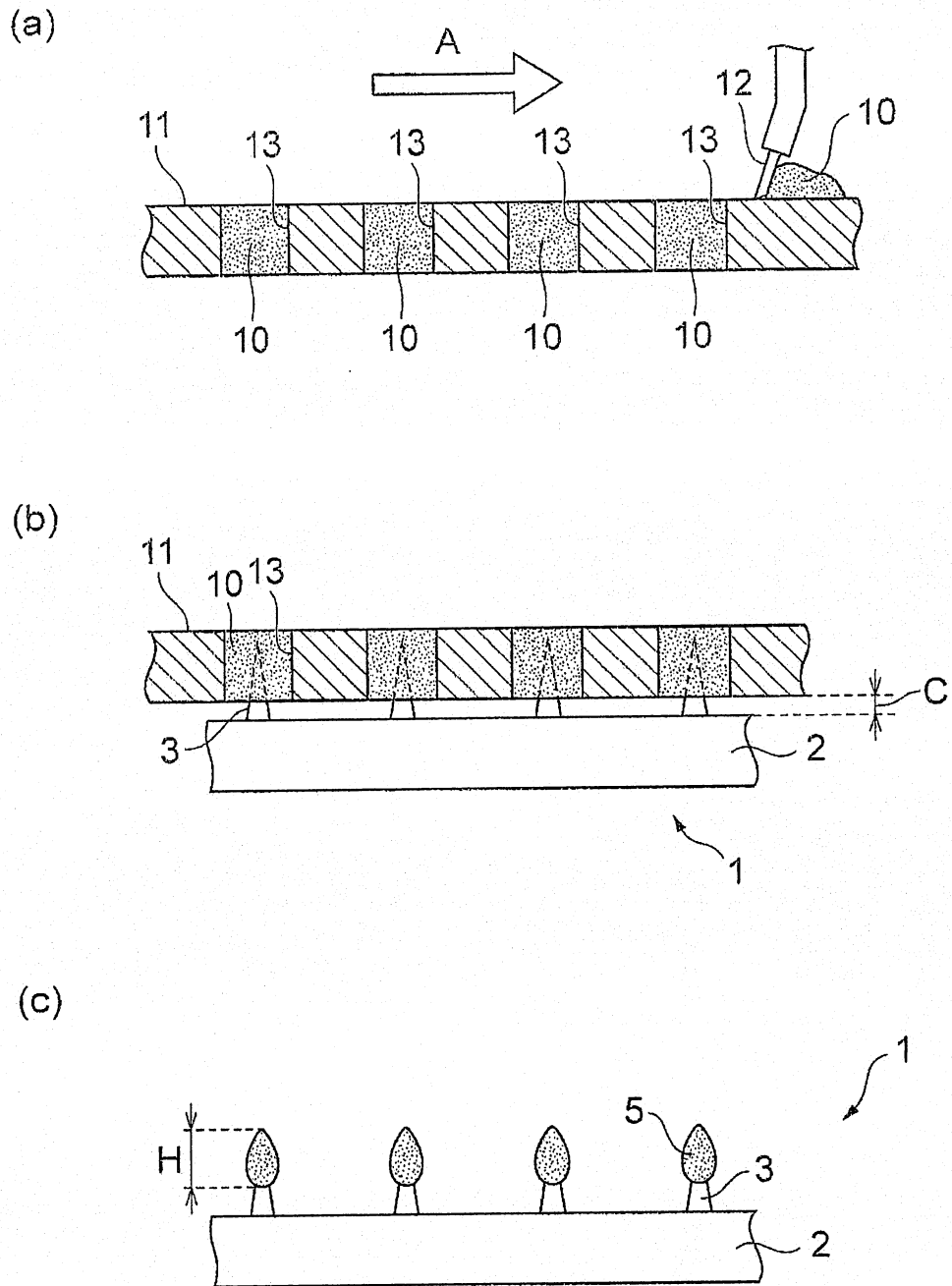


Fig.4