



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

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)  
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0025597

(51)<sup>7</sup> A61K 9/08; A61K 31/517; A61K 31/519 (13) B

(21) 1-2015-04467

(22) 08/05/2014

(86) PCT/KR2014/004105 08/05/2014

(87) WO 2014/182093 13/11/2014

(30) 10-2013-0052083 08/05/2013 KR

(45) 25/09/2020 390

(43) 25/04/2016 337A

(73) CJ HEALTHCARE CORPORATION (KR)

330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul 100-400, Republic of Korea

(72) SHIN, Myung Jin (KR); JIN, Hong Chul (KR); PARK, Young Joon (KR); CHOI, Nak Hyun (KR); CHOI, Ha Yong (KR).

(74) Công ty TNHH Đại Tín và Liên Danh (DAITIN AND ASSOCIATES CO.,LTD)

#### (54) DƯỢC PHẨM CHỨA PEMETREXED ỔN ĐỊNH

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa pemetrexed ổn định, cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa pemetrexed ổn định bao gồm axetylxystein làm thành phần chống oxy hóa và natri xitrat làm chất đệm. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập tới dược phẩm chứa pemetrexed được chứa trong vật chứa bịt kín, bao gồm pemetrexed hoặc muối dược dụng của nó làm thành phần hoạt tính, trong đó hàm lượng khí oxy trong khoang trống của vật chứa nhỏ hơn hoặc bằng 3% theo thể tích.



**Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa pemetrexed ổn định, cụ thể là dược phẩm chứa pemetrexed ổn định chứa axetylxystein và muối xitrat, trong đó axetylxystein là thành phần chống oxy hóa còn muối xitrat là chất đệm; và phương pháp bào chế dược phẩm này. Ngoài ra, sáng chế cũng đề cập tới dược phẩm chứa pemetrexed được chứa trong vật chứa bịt kín, bao gồm pemetrexed hoặc muối dược dụng của pemetrexed làm thành phần hoạt tính, trong đó hàm lượng oxy trong khoang trống của vật chứa nhỏ hơn hoặc bằng 3% theo thể tích.

**Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Các hợp chất có hoạt tính kháng hoạt động của axit folic được biết tới là hóa chất trị liệu. Sáng chế Mỹ số 5.344.932 mô tả phương pháp cụ thể để sản xuất các dẫn xuất kháng hoạt động của axit folic dựa trên pyrrolo[2,3-d]pyrimidin được thế ở vị trí nhất định, bao gồm phương pháp sản xuất pemetrexed, và đơn sáng chế châu Âu có số công bố 0434426 mô tả một loạt dẫn xuất của axit 4-hydroxypyrrolo[2,3-d] pyrimidin-L-glutamic.

Pemetrexed - một pyrrolo[2,3-d]pyrimidin được thế ở vị trí số 5, là chất kháng hoạt động của axit folic đa mục tiêu có hoạt tính kháng ung thư bằng cách ức chế hoạt tính của các sản phẩm trao đổi chất liên quan đến sự chuyển hóa folat trong nhiều loại ung thư khác nhau bao gồm ung thư phổi không tế bào nhỏ.

Chúng ta đã biết, sau khi được đưa vào tế bào thông qua kênh vận chuyển folat bị khử (RFC), vốn là kênh vận chuyển folat chủ yếu, pemetrexed tác động vào thymidylat sintetaza (TS) và dihydrofolat reductaza (DHFR) khi được folylpolyglutamat sintetaza (FPGS) hoạt hóa thành các dẫn xuất của polyglutamat.

Pemetrexed đã được phát triển với tên thương mại ALIMTA™, và hiện tại được bán trên thị trường để điều trị bệnh ung thư phổi không tế bào nhỏ và u trung biểu mô màng phổi ác tính (xem Physicians' Desk Reference, 60th ed., pp. 1722-1728 (2006)). Hiện nay, ALIMTA™ được bán trên thị trường dưới dạng dược phẩm đông khô (100 mg hoặc 500 mg), dược phẩm này cần được hoàn nguyên trước khi sử dụng. Nghĩa là, trước

khi sử dụng cho bệnh nhân, thuốc phải được hoàn nguyên trong dung dịch natri clorua 0,9% và tiếp tục được pha loãng trong dung dịch natri clorua 0,9% để đạt được nồng độ cuối cùng của chế phẩm là 0,25 mg/ml.

Quy trình sản xuất dạng bột đông khô phức tạp và cần chi phí cao. Ngoài ra, dược phẩm đông khô có nguy cơ bị nhiễm khuẩn cao trong quá trình hoàn nguyên, và các dược sĩ, bác sĩ, y tá là những người tham gia vào việc chuẩn bị thuốc phải tiếp xúc với các chất phá hủy tế bào. Do đó, đối với các hóa chất chống ung thư có độc tính đối với tế bào như pemetrexed cần được phát triển thành dược phẩm thể lỏng dùng được ngay và có thể được bảo quản trong thời gian dài thay vì được phát triển thành dược phẩm dạng đông khô.

Trong nhiều trường hợp, dược phẩm thể lỏng có hạn chế là kém ổn định trong quá trình lưu trữ. Do tình trạng kém ổn định này, nhiều thuốc tiêm được sử dụng dưới dạng dược phẩm đông khô và được hòa tan ngay trước khi tiêm. Với pemetrexed hoặc các muối dược dụng của nó, cho tới nay các loại thuốc này vẫn được cung cấp dưới dạng dược phẩm đông khô, việc sản xuất dưới dạng dung dịch lỏng có thể dẫn tới việc gia tăng lượng tạp chất không xác định và do đó không thể bảo quản lâu dài ở nhiệt độ phòng. Vì những lý do liên quan đến tính ổn định, nên hiện nay pemetrexed hoặc muối dược dụng của nó mới chỉ được sử dụng ở dạng dược phẩm đông khô trong các nghiên cứu lâm sàng

Để khắc phục những hạn chế nêu trên, một số dược phẩm đã được đề xuất. Cụ thể là, sáng chế Mỹ số 6.686.365 (đơn sáng chế Hàn Quốc, có số công bố 2002-0081293) đã đề xuất dược phẩm thể lỏng ổn định của pemetrexed, chế phẩm bao gồm một lượng hữu hiệu pemetrexed, một lượng hữu hiệu thành phần chống oxy hóa, và tá dược, trong đó thành phần chống oxy hóa được chọn từ nhóm gồm: monothioglyxerol, L-xystein và axit thioglycolic.

Tuy nhiên, sáng chế trên có hạn chế là xảy ra tình trạng kết tủa trong quá trình thử nghiệm độ ổn định khi lưu trữ lâu dài ở 25°C, do đó nó không thể đảm bảo độ ổn định trong khoảng thời gian mong muốn (Đơn sáng chế có số công bố quốc tế WO 2012/015810). Cho đến nay, cả trong thực nghiệm cũng như trong thương mại, vẫn chưa có dược phẩm chứa pemetrexed thể lỏng nào có tính ổn định khi lưu trữ lâu dài. Các tác giả sáng chế đã điều chế dược phẩm thể lỏng chứa pemetrexed sử dụng L-xystein, thành phần chống oxy hóa đã được đề cập ở trên, và thực hiện thử nghiệm độ ổn định và kết quả

là, các điểm hạn chế như thay đổi đặc tính bao gồm đổi màu, sự gia tăng các tạp chất, giảm pH xuất hiện ở tuần thứ 2 dưới điều kiện thí nghiệm. Ngoài ra, các tác giả sáng chế đã điều chế được phẩm thể lỏng chứa pemetrexed thử nghiệm với khoảng 60 loại chất ổn định, bao gồm axit ascorbic, natri thiosulfat, hydroxyanisole butylat, propyl galat, EDTA, L-methionin và axetyl xystein, nhưng tất cả các dược phẩm này đều thiếu tính ổn định.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Trong khi nỗ lực để khắc phục những vấn đề về độ ổn định còn tồn tại trong dược phẩm dạng lỏng chứa pemetrexed, các tác giả sáng chế phát hiện ra rằng, dược phẩm chứa pemetrexed có khả năng giảm thiểu hiệu quả hoặc loại bỏ sự sản sinh các tạp chất là đồng phân của pemetrexed và các tạp chất không xác định và duy trì độ ổn định cao trong trạng thái dung dịch trong suốt mà không kết tủa trong thời gian lưu trữ có thể được sản xuất bằng cách sử dụng cả axetylxystein làm chất chống oxy hóa và natri xitrat làm chất đệm, qua đó sáng chế được thực hiện. Ngoài ra, các tác giả sáng chế cũng xác định được, trong trường hợp sản xuất dược phẩm nói trên ở quy mô lớn, sự ổn định của dược phẩm có thể được bảo đảm bằng cách kiểm soát các khoang trống phần phía trên của vật chứa, cụ thể là hàm lượng oxy trong khoang trống, qua đó sáng chế được thực hiện.

Mục đích của sáng chế là đề xuất dược phẩm chứa pemetrexed ổn định.

Để đạt được mục đích trên, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa pemetrexed được cải thiện về sự tiện dụng và độ ổn định, dược phẩm này có thể được sản xuất thương mại dễ dàng và khắc phục được tình trạng nhiễm khuẩn trong quá trình đông khô và hoàn nguyên. Ngoài ra, do dược phẩm chứa pemetrexed theo sáng chế chứa axetylxystein làm chất oxy hóa và natri xitrat làm chất đệm, điều này cho phép tạo thành dược phẩm chứa pemetrexed ổn định thỏa mãn những yêu cầu tiêu chuẩn mà không có thay đổi bất thường nào như đổi màu hay kết tủa, so với những dược phẩm chứa pemetrexed dạng lỏng tiêm thông thường. Ngoài ra, sáng chế có thể ngăn chặn được tình trạng oxy hóa xảy ra trong khoang trống bằng cách kiểm soát lượng oxy trong khoang trống, nhờ đó tạo ra dược phẩm chứa pemetrexed ổn định hơn nữa.

### **Mô tả vắn tắt hình vẽ**

Fig. 1 là hình minh họa so sánh các đặc tính về độ ổn định giữa thuốc tiêm chứa

pemetrexed dạng lỏng thông thường (Các mẫu đối chứng 1, 12, và 14) và thuốc tiêm chứa pemetrexed dạng lỏng theo sáng chế (mẫu 11) sau quá trình kiểm tra độ ổn định kéo dài 4 tuần dưới điều kiện khắc nghiệt (60°C và 80%). Để so sánh, các đặc tính của nước tiêm cũng được trình bày.

### **Mô tả chi tiết sáng chế**

Sáng chế đề xuất dược phẩm chứa pemetrexed hoặc muối dược dụng của nó làm thành phần hoạt tính, N-axetyl-L-xystein, và natri xitrat.

Theo một phương án của sáng chế, pemetrexed hoặc muối dược dụng của nó, N-axetyl-L-xystein và muối xitrat có thể được sử dụng với tỉ lệ nồng độ tương ứng là (1 đến 30) : (0,15 đến 2,0) : (1,0 đến 15,0).

Tốt nhất là, pemetrexed hoặc muối dược dụng của nó, N-axetyl-L-xystein và muối xitrat được sử dụng với tỉ lệ nồng độ tương ứng là (1 đến 30) : 1,5 : (1,0 đến 15,0).

Theo một phương án của sáng chế, dược phẩm có thể là dược phẩm thể lỏng có thể lưu trữ ở trạng thái dung dịch.

Theo một phương án của sáng chế, dược phẩm có thể là dược phẩm thể lỏng dạng tiêm được chứa trong vật chứa kín và sẵn sàng để sử dụng được ngay.

Tuy nhiên, phạm vi của sáng chế không bị giới hạn bởi dược phẩm thể lỏng dạng tiêm mà bao gồm cả các dược phẩm thể lỏng khác và các dược phẩm không phải thể lỏng, các dược phẩm này có thể được bào chế, thực hiện bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực hoặc theo các phương pháp thường được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật có liên quan.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa pemetrexed được chứa trong vật chứa hàn kín bao gồm pemetrexed hoặc muối dược dụng của pemetrexed làm thành phần hoạt tính, trong đó dược phẩm có hàm lượng khí oxy trong khoang trống của vật chứa nhỏ hơn hoặc bằng 3% theo thể tích so với tổng thể tích của khoang trống.

Theo một phương án của sáng chế, tốt nhất là, dược phẩm còn bao gồm N-axetyl-L-xystein và natri xitrat.

Theo một phương án của sáng chế, tỉ lệ nồng độ của pemetrexed hoặc muối dược dụng của pemetrexed, N-axetyl-L-xystein, và natri xitrat là (1 đến 30) : (0,15 đến 2,0) : (1,0 đến 15,0).

Tốt nhất là, tỉ lệ nồng độ của pemetrexed hoặc muối dược dụng của pemetrexed, N-axetyl-L-xystein, và natri xitrat là (1 đến 30) : 1,5 : (1,0 đến 15,0).

Theo một phương án của sáng chế, dược phẩm này là dược phẩm thể lỏng có thể được lưu trữ ở trạng thái dung dịch.

Trong sáng chế, dược phẩm là dược phẩm thể lỏng dạng tiêm được chứa trong vật chứa hàn kín và sẵn sàng để sử dụng được ngay.

Theo một phương án của sáng chế, dược phẩm là công thức mà hàm lượng khí oxy được điều chỉnh tới mức nhỏ hơn hoặc bằng 3% theo thể tích bằng cách thay thế khí oxy trong khoang trống bằng khí trơ.

Theo một phương án của sáng chế, khí trơ có thể là khí nitơ hoặc khí argon, nhưng không bị giới hạn ở những khí này.

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết.

Thông thường, có nhiều loại chất chống oxy hóa có thể được dùng để ổn định dược phẩm, các ví dụ về các thành phần chống oxy hóa bao gồm các dẫn xuất este của axit parahydrobenzoic, các rượu, các dẫn xuất của phenol, thimerosal, anhydrit axetic, natri caboxylat, lauryl sulfat, các thành phần chống oxy hóa, các hợp chất sulfit, sulfit, xistin, xystein, xisteamin, các axit amin, và các axit hữu cơ như axit ascobic, retinol, tocopherol, butylat hydroxyanisol.

Ngoài ra, sáng chế Hàn Quốc số 10-0774366 đề xuất axit amin N-axetyl làm thành phần chống oxy hóa cho paclitaxel, và sáng chế Hàn Quốc có số công bố 10-2007-0028331 đề xuất monothioglyxerol và axit etylenediamintetraaxetic làm thành phần chống oxy hóa cho hỗn hợp chứa diclofenac.

Theo một phương án của sáng chế, các thí nghiệm nhằm tăng độ ổn định của dược phẩm chứa pemetrexed dạng tiêm được tiến hành bằng cách sử dụng các thành phần chống oxy hóa kể trên. Kết quả là, các thành phần chống oxy hóa thông thường được liệt

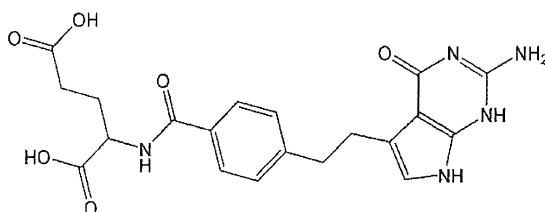
kê ở trên có nhược điểm là liều dùng hàng ngày của các chất này rất hạn chế, đặc biệt là khi chúng được dùng làm tá dược (thành phần chống oxy hóa) chứ không phải thành phần hoạt tính trong thuốc tiêm, và chỉ riêng thành phần chống oxy hóa cũng không thể cải thiện được độ ổn định của công thức. Ngoài ra khi sử dụng axit ascorbic, axit lactic, vốn được sử dụng thường xuyên trong các loại thuốc tiêm thông thường, chất lỏng tiêm thể hiện tính không ổn định của axit, ví dụ như đổi màu 1 phần và/hoặc kết tủa (các mẫu thí nghiệm 1 và 2).

Tuy nhiên, đáng ngạc nhiên là, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng khi hỗn hợp chứa pemetrexed hoặc muối được dùng của pemetrexed làm thành phần hoạt tính được sử dụng cùng với axetylxystein và natri xitrat, thì thành phần hoạt tính không biến đổi nào đáng kể và cũng không đổi màu hay sinh ra kết tủa dưới điều kiện kiểm tra khắc nghiệt (60°C và 80%) kéo dài 4 tuần, điều này khẳng định rằng hỗn hợp có độ ổn định thích hợp đáp ứng được các tiêu chí cần thiết (các mẫu thí nghiệm 1 và 2). Do cả axetylxystein và natri xitrat đều rất thông dụng và có giá thành rẻ, nên chúng có lợi thế về mặt thương mại.

Dược phẩm chứa pemetrexed theo sáng chế bao gồm pemetrexed hoặc muối được dùng của nó làm thành phần hoạt tính. Pemetrexed theo sáng chế bao gồm thuốc có hoạt tính dược lý hoặc thuốc sẽ trở nên có hoạt tính dược lý nhờ quá trình hóa học in vivo hoặc enzym trong cơ thể. Cụ thể, theo sáng chế, chính pemetrexed hoặc muối được dùng của nó được sử dụng làm thuốc pemetrexed.

Khi được sử dụng ở đây, thuật ngữ “pemetrexed” dùng để chỉ hợp chất với danh pháp là pyrrolo[2,3-d]pyrimidin được thế ở vị trí số 5. Cụ thể, thuật ngữ này được dùng để chỉ thành phần kháng hoạt động của axit folic đa mục tiêu được minh họa bởi công thức 1 dưới đây và có hoạt tính kháng ung thư, chống lại nhiều loại ung thư khác nhau, bao gồm ung thư phổi không phải tế bào nhỏ và u trung biểu mô màng phổi ác tính.

Công thức 1



Pemetrexed thể hiện hoạt tính chống ung thư bằng cách ức chế hoạt động của các sản phẩm trao đổi chất liên quan đến chuyển hóa axit folic trong nhiều loại ung thư bao gồm ung thư phổi không tế bào nhỏ và u trung biểu mô màng phổi ác tính.

Khi được sử dụng ở đây, thuật ngữ “muối được dụng” dùng để chỉ muối được điều chế theo phương pháp thông thường được biết đến trong kỹ thuật, phương pháp điều chế có thể hiểu rõ và thực hiện được bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Mặc dù không bị giới hạn, muối được dụng có thể bao gồm: muối có nguồn gốc từ axit vô cơ được dụng hoặc phù hợp sinh lí, các axit hoặc bazơ hữu cơ được mô tả dưới đây. Cụ thể, một số axit phù hợp gồm: axit clohydric, axit bromic, hydrobromit, axit sunfuric, axit nitric, axit pecloric, axit fumaric, axit maleic, axit photphoric, axit glycolic, axit lactic, axit salixylic, axit succinic, axit toluen-p-sunfonic, axit tactaric, axit axetic, axit xitric, axit metanesunfonic, axit formic, axit benzoic, axit malonic, axit naphthalen-2-sunfonic, axit sunfonic benzen, v.v... Mặc dù không bị giới hạn, một số muối có nguồn gốc từ bazơ phù hợp gồm: các muối kim loại kiềm như natri và kali, và các muối kim loại kiềm thổ như ma-giê.

Khi được sử dụng ở đây, thuật ngữ “axetylxystein” dùng để chỉ hợp chất có danh pháp là N-axetyl-L-xystein (NAC, C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>S, CAS số 616-91-1), và dùng để chỉ hợp chất được sử dụng làm thành phần chống oxy hóa trong dược phẩm chứa pemetrexed theo sáng chế. Trong sáng chế, “axetylxystein” và “N-axetyl-L-xystein” có thể được dùng thay thế cho nhau.

Axetylxystein là thành phần chống oxy hóa được mô tả trong Dược điển Mỹ (xem U.S. Pharmacopeia 35 - National Formulary 10, p 2069). Axetylxystein là tiền chất của L-xystein, một axit amin có trong thức ăn, ở đó xystein bị oxy hóa và dễ dàng bị biến tính thành hợp chất không hòa tan, trong khi đó axetylxystein ổn định và không dễ biến tính, vì vậy axetylxystein phù hợp để sử dụng qua đường uống hoặc tiêm tĩnh mạch.

Khi được sử dụng ở đây, thuật ngữ “natri xitrat” dùng để chỉ muối natri của axit xitric, và là hợp chất được sử dụng làm chất đệm trong dược phẩm chứa pemetrexed theo sáng chế.

Theo một phương án của sáng chế, dược phẩm chứa pemetrexed cho phép pemetrexed dự trữ giữ được dược tính một cách ổn định ở 1-30°C trong thời gian dài bằng



cách sử dụng axetyl-xystein làm thành phần chống oxy hóa cùng với natri xitrat làm chất đệm.

Trong dược phẩm chứa pemetrexed theo sáng chế, tỉ lệ nồng độ của pemetrexed hoặc muối dược dụng của nó : N-axetyl-L-xystein : muối xitrat nên là (1 đến 30) : (0,15 đến 2,0) : (1,0 đến 15,0), và tốt nhất là (1 đến 30) : 1,5 : (1,0 đến 15,0). Ở đây, đơn vị nồng độ được sử dụng là mg/ml. Dược phẩm chứa pemetrexed có tỉ lệ nồng độ nằm ngoài phạm vi trên qua thời gian lưu trữ có sự sản sinh tạp chất cao vượt quá chỉ tiêu chấp nhận (mẫu thí nghiệm 1).

Theo một phương án của sáng chế, dược phẩm chứa pemetrexed bao gồm chất mang dược dụng và thành phần điều chỉnh pH.

Theo một phương án của sáng chế, tốt hơn là, dược phẩm chứa pemetrexed là dược phẩm thể lỏng có thể lưu trữ ở trạng thái dung dịch, và tốt nhất là, dược phẩm thể lỏng dạng tiêm được chứa trong vật chứa được hàn kín, sẵn sàng để sử dụng được ngay.

Theo một phương án của sáng chế, khi dược phẩm chứa pemetrexed là dược phẩm thể lỏng tiêm thì chất mang dược dụng là nước tiêm.

Theo một phương án của sáng chế, pH của dược phẩm thể lỏng tiêm chứa pemetrexed nên khoảng 6,0 đến 8,0, và tốt nhất là khoảng 7,2 đến 7,8. pH của dược phẩm thể lỏng có thể được điều chỉnh bằng cách sử dụng axit như axit clohydric hoặc bazơ như natri hydroxit.

Dược phẩm chứa pemetrexed theo sáng chế có thể không chứa các chất phụ gia khác ngoài axetyl-xystein và muối xitrat, nhưng nó cũng có thể bao gồm thêm tá dược. Các tá dược bao gồm phụ gia được đã biết như lactoza, dextroza, cyclodextrin và dẫn xuất của nó, saccaroza, glyxerol, natri cacbonat, tá dược tốt nhất là natri clorua và mannitol.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế dược phẩm chứa pemetrexed ổn định chứa hỗn hợp gồm: pemetrexed hoặc muối dược dụng của nó, N-axetyl-L-xystein, và natri xitrat.

Theo một phương án của sáng chế, tỉ lệ nồng độ hỗn hợp của pemetrexed hoặc muối dược dụng của nó, N-axetyl-L-xystein, và natri xitrat là (1 đến 30) : (0,15 đến 2,0) :

(1,0 đến 15,0).

Tốt nhất là, tỉ lệ nồng độ hỗn hợp của pemetrexed hoặc muối dược dụng của nó, N-axetyl-L-cystein, và natri xitrat là (1 đến 30) : 1,5 : (1,0 đến 15,0).

Trong quá trình bào chế dược phẩm của sáng chế, nhằm duy trì điều kiện oxy thấp, dược phẩm được làm sạch bằng cách sử dụng khí trơ như nitơ hoặc argon, sau đó được lọc và khử trùng.

Ngoài ra, dược phẩm chứa pemetrexed ổn định theo sáng chế có thể được đóng gói trong vật dụng thích hợp được biết đến trong ngành dược. Cụ thể, vật dụng có thể là lọ thủy tinh, chai thủy tinh, hộp, ống tiêm nạp sẵn hoặc tương tự. Tốt nhất, vật dụng là lọ thủy tinh. Dược phẩm thể lỏng dạng tiêm của pemetrexed theo sáng chế được phân phối vào vật dụng đã được rửa sạch và khử trùng, và vật dụng được đóng kín bằng nút teflon có bề mặt không phản ứng với dược phẩm lỏng này.

Đặc biệt, khoang trống giữa dược phẩm lỏng dạng tiêm và nút có thể được nạp đầy khí trơ nếu cần thiết. Nút được gắn chặt vào lọ bằng cách sử dụng kim kẹp, và tiếp đó nếu cần thiết, lọ chứa đầy dược phẩm lỏng dạng tiêm được làm nóng để khử trùng.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến dược phẩm pemetrexed chứa pemetrexed hoặc muối dược dụng của nó làm thành phần hoạt tính, và đề xuất dược phẩm chứa pemetrexed trong đó hàm lượng oxy trong khoang trống của vật chứa được kiểm soát ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 3% theo thể tích.

Khi được sử dụng ở đây, thuật ngữ “khoang trống” dùng để chỉ phần không gian phía trên bên trong vật chứa kín còn lại sau khi đã đựng dược phẩm chứa pemetrexed. Thể tích của khoang trống có thể thay đổi tùy thuộc vào dung tích của vật chứa và lượng pemetrexed chứa trong đó.

Khi được sử dụng ở đây, thuật ngữ “hàm lượng khí oxy trong khoang trống” dùng để chỉ tỉ lệ thể tích được tính theo thể tích của khoang trống bị chiếm bởi khí oxy trên tổng thể tích của khoang trống. Theo đó, đơn vị % thể hiện hàm lượng khí oxy dùng để chỉ thể tích (% thể tích/thể tích).

Theo một phương án của sáng chế, hàm lượng khí oxy trong khoang trống là nhỏ

hơn hoặc bằng 3% thể tích, tức là, trong phạm vi từ 0% đến 3% thể tích, cụ thể là từ 0,001% đến 3 % thể tích. Theo phương án thực hiện ưu tiên, hàm lượng khí oxy trong khoang trống là 3% thể tích.

Vật chứa được sử dụng theo sáng chế là loại như đã được mô tả ở trên và tốt nhất là lọ thủy tinh.

Theo một phương án của sáng chế, tốt nhất là, dược phẩm còn bao gồm N-axetyl-L-xystein và natri xitrat. Cụ thể, tỉ lệ nồng độ tối ưu của pemetrexed hoặc muối dược dụng của pemetrexed, N-axetyl-L-xystein, và natri xitrat là tỉ lệ như đã được trình bày ở trên đây.

Tốt nhất là, dược phẩm theo sáng chế là chế phẩm thể lỏng có thể được lưu trữ ở trạng thái dung dịch, cụ thể, chế phẩm thể lỏng dạng tiêm được chứa trong vật chứa được đậy kín và sẵn sàng để sử dụng được ngay.

Theo một phương án của sáng chế, việc kiểm soát hàm lượng khí oxy được thực hiện bằng cách thay thế oxy trong khoang trống của vật chứa bằng khí trơ. Mặc dù không bị giới hạn, nhưng khí trơ có thể là khí nitơ và khí argon.

Theo một phương án của sáng chế, nhằm giảm thiểu hạn chế về việc sản sinh ra tạp chất bởi oxy trong khoang trống của vật chứa, trong quá trình bào chế dược phẩm pemetrexed chứa pemetrexed hoặc muối dược dụng của nó làm thành phần hoạt tính được chứa trong vật chứa kín, đặc biệt là trong quá trình sản xuất dược phẩm pemetrexed ở quy mô lớn, hàm lượng khí oxy trong khoang trống được kiểm soát ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 3% thể tích, nhờ đó độ ổn định của dược phẩm pemetrexed được cải thiện đáng kể (mẫu thí nghiệm 1 và bảng 10).

Như đã được mô tả ở trên, theo sáng chế, sự oxy hóa có thể xảy ra trong khoang trống có thể được ngăn chặn bằng cách sử dụng phương pháp kiểm soát hàm lượng khí oxy trong khoang trống, cụ thể là bằng cách sử dụng phương pháp thay thế oxy bằng khí nitơ. Theo sáng chế, việc sản xuất dược phẩm chứa pemetrexed dạng tiêm rẻ và ổn định có thể được nâng quy mô lên mức độ sản xuất thương mại bằng cách sử dụng hệ thống tự động hóa thông dụng hiện nay, nhờ đó cho phép sản xuất trên quy mô lớn dược phẩm này.

### Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn cùng với các ví dụ thực hiện cụ thể. Tuy nhiên, các ví dụ thực hiện này chỉ nhằm mục đích minh họa cho sáng chế mà không giới hạn phạm vi của sáng chế.

Mẫu 1-14: Chuẩn bị dung dịch tiêm chứa pemetrexed, bao gồm lượng khác nhau axetylxystein làm thành phần chống oxy hóa và natri xitrat làm chất đệm.

Hòa tan 2,5 g D-manitol trong 100 ml nước tiêm, tiếp đó axetylxystein và natri xitrat lần lượt được thêm vào rồi hòa tan hoàn toàn với nồng độ được trình bày trên bảng 1 dưới đây. 2,5 g pemetrexed được thêm từ từ vào dung dịch (3,0 g pemetrexed được thêm từ từ vào mẫu 14), và dung dịch được khuấy cho đến khi trở nên trong suốt. Sau đó, pH của dung dịch được điều chỉnh về giá trị như được trình bày trên bảng 1 bằng cách sử dụng dung dịch nước của axit clohydric hoặc natri hydroxit. Dung dịch được lọc vô trùng qua màng lọc vô trùng 0,22  $\mu\text{m}$  trong phòng sạch. Dung dịch thu được được rót vào vật đựng có thể bịt kín đã được rửa sạch và khử trùng, vật đựng này đã được làm sạch trước đó bằng nitơ.

Thành phần và pH của dung dịch tiêm chứa pemetrexed thu được được trình bày trên bảng 1 dưới đây.

Bảng 1

	Nồng độ thành phần hoạt tính (mg/ml)	Chất chống oxy hóa	Nồng độ thành phần chống oxy hóa (mg/ml)	Chất đệm	Nồng độ chất đệm (mg/ml)	pH
Mẫu 1	25	Axetylxystein	0,15	Natri xitrat	2,0	7,3
Mẫu 2	25	Axetylxystein	0,3	Natri xitrat	2,0	7,2
Mẫu 3	25	Axetylxystein	0,5	Natri xitrat	1,0	7,2
Mẫu 4	25	Axetylxystein	0,5	Natri xitrat	2,0	7,2
Mẫu 5	25	Axetylxystein	0,5	Natri xitrat	3,0	7,3

Mẫu 6	25	Axetylxystein	0,5	Natri xitrat	4,0	7,4
Mẫu 7	25	Axetylxystein	0,5	Natri xitrat	5,0	7,4
Mẫu 8	25	Axetylxystein	1,0	Natri xitrat	2,0	7,4
Mẫu 9	25	Axetylxystein	1,5	Natri xitrat	1,0	7,5
Mẫu 10	25	Axetylxystein	1,5	Natri xitrat	2,0	7,5
Mẫu 11	25	Axetylxystein	1,5	Natri xitrat	5,0	7,5
Mẫu 12	25	Axetylxystein	1,5	Natri xitrat	15,0	7,5
Mẫu 13	25	Axetylxystein	2,0	Natri xitrat	5,0	7,4
Mẫu 14	30	Axetylxystein	1,5	Natri xitrat	5,0	7,4

Mẫu 15 và 16: Chuẩn bị dung dịch tiêm chứa pemetrexed của sáng chế theo sự thay đổi của pH

2,5 g D-mannitol được hòa tan vào 100 ml nước tiêm, tiếp đó axetylxystein và natri xitrat lần lượt được thêm vào rồi hòa tan hoàn toàn với nồng độ được trình bày trên bảng 2 dưới đây. 2,5 g pemetrexed được thêm từ từ vào dung dịch, và dung dịch được khuấy đến khi trong. Tiếp đó, dung dịch được điều chỉnh về giá trị pH như trình bày trên bảng 2 bằng cách sử dụng dung dịch nước của axit clohydric hoặc natri hydroxit. Dung dịch được lọc vô trùng qua màng lọc vô trùng 0,22  $\mu\text{m}$  trong phòng sạch. Dung dịch thu được được rót vào vật đựng có thể bịt kín đã rửa sạch và khử trùng, vật đựng này đã được làm sạch trước đó bằng nitơ.

Thành phần và pH của dung dịch dạng tiêm chứa pemetrexed thu được được trình bày trên bảng 2 dưới đây.

Bảng 2

	Nồng độ thành phần hoạt tính (mg/ml)	Thành phần chống oxy hóa	Nồng độ thành phần chống oxy hóa (mg/ml)	Chất đệm	Nồng độ chất đệm (mg/ml)	pH
Mẫu 15	25	Axetylxystein	1,5	Natri xitrat	5,0	6,8
Mẫu 16	25	Axetylxystein	1,5	Natri xitrat	5,0	7,2

Mẫu 17-20: Chuẩn bị dung dịch tiêm chứa pemetrexed theo hàm lượng oxy trong khoang trống

2,5 g D-mannitol được hòa tan vào 100 ml nước tiêm, tiếp đó axetylxystein và natri xitrat lần lượt được thêm vào rồi hòa tan hoàn toàn với nồng độ được trình bày trên bảng 3 dưới đây. 2,5 g pemetrexed được thêm từ từ vào dung dịch, và dung dịch được khuấy đến khi trong. Tiếp đó, dung dịch được điều chỉnh về giá trị pH như trình bày trên bảng 3 bằng cách sử dụng dung dịch nước của axit clohydric hoặc natri hydroxit.

Dung dịch được lọc vô trùng qua màng lọc vô trùng 0,22  $\mu\text{m}$  trong phòng sạch. Dung dịch thu được được rót vào vật đựng có thể bịt kín đã rửa sạch và khử trùng, sau khi được làm sạch bằng khí nitơ cho đến khi lượng khí oxy trong khoang trống đạt giá trị được trình bày trên bảng 3.

Thành phần và hàm lượng khí oxy trong khoang trống của dung dịch tiêm chứa pemetrexed thu được được trình bày trên bảng 3 dưới đây.

Bảng 3

	Nồng độ thành phần hoạt tính (mg/ml)	Thành phần chống oxy hóa	Nồng độ thành phần chống oxy hóa (mg/ml)	Chất đệm	Nồng độ chất đệm (mg/ml)	pH	Hàm lượng khí oxy trong khoang trống (% thể tích/thể tích)
Mẫu 17	25	axetylxystein	1,5	natri xitrat	5,0	7,4	3
Mẫu 18	25	axetylxystein	1,5	natri xitrat	5,0	7,4	5
Mẫu 19	25	axetylxystein	-	natri xitrat	-	7,4	3
Mẫu 20	25	axetylxystein	-	natri xitrat	-	7,4	5

Mẫu đối chứng 1-8: Chuẩn bị dung dịch dạng tiêm chứa pemetrexed sử dụng nhiều loại thành phần chống oxy hóa khác nhau

Theo thành phần và hàm lượng được trình bày trên bảng 4 dưới đây, dung dịch chứa pemetrexed được chuẩn bị theo cách giống như được mô tả ở mẫu 1. Ở mẫu đối chứng 1, dung dịch không có thành phần chống oxy hóa và chỉ có nước tiêm làm chất mang đã được chuẩn bị.

Bảng 4

	Nồng độ thành phần hoạt tính (mg/ml)	Loại chất chống oxy hóa	Nồng độ thành phần chống oxy hóa (mg/ml)	pH
Mẫu đối chứng 1	25	-	-	7,5
Mẫu đối chứng 2	25	Axit ascorbic	0,3	6,5
Mẫu đối chứng 3	25	Natri thiosulfat	0,3	7,5
Mẫu đối chứng 4	25	Butylat hydroxyanisol	0,3	9,9
Mẫu đối chứng 5	25	Propyl galat	0,3	9,5
Mẫu đối chứng 6	25	EDTA	0,3	6,8
Mẫu đối chứng 7	25	L-Xistin	0,3	7,5
Mẫu đối chứng 8	25	L-Methionin	0,3	7,4

Mẫu đối chứng 9-14: Chuẩn bị dung dịch tiêm chứa pemetrexed theo các loại thành phần chống oxy hóa và theo sự có mặt của chất đệm

Dung dịch chứa pemetrexed được chuẩn bị theo thành phần và hàm lượng được trình bày trên bảng 5 dưới đây, theo cách tương tự như cách chuẩn bị dung dịch chứa pemetrexed trong mẫu 1.

Bảng 5

	Nồng độ thành phần hoạt tính (mg/ml)	Loại chất chống oxy hóa	Nồng độ thành phần chống oxy hóa (mg/ml)	Chất đệm	Nồng độ chất đệm (mg/ml)	pH
Mẫu đối chứng 9	25	-	-	Natri xitrat	1,5	7,4
Mẫu đối chứng 10	25	-	-	Natri xitrat	2,0	7,3
Mẫu đối chứng 11	25	Axetylxystein	0,5	-	-	7,2
Mẫu đối chứng 12	25	Axetylxystein	1,5	-	-	7,5
Mẫu đối chứng 13	25	L-xystein	0,5	-	-	7,5
Mẫu đối chứng 14	25	L-xystein	1,5	-	-	7,5

Mẫu đối chứng 15-17: Chuẩn bị dung dịch tiêm chứa pemetrexed theo các loại chất đệm khác nhau

Dung dịch chứa pemetrexed được chuẩn bị theo thành phần và hàm lượng được trình bày trên bảng 6 dưới đây, theo cách tương tự như cách chuẩn bị dung dịch chứa pemetrexed trong mẫu 1.

Bảng 6

	Nồng độ thành phần hoạt tính (mg/ml)	Loại chất chống oxy hóa	Nồng độ thành phần chống oxy hóa (mg/ml)	Chất đệm	Nồng độ chất đệm (mg/ml)	pH
Mẫu đối chứng 15	25	Axetylxystein	1,5	Natri axetat	5,0	7,4
Mẫu đối chứng 16	25	Axetylxystein	1,5	Natri hydro photphat	5,0	7,5
Mẫu đối chứng 17	25	Axetylxystein	1,5	Kali dihydro photphat	5,0	7,5



Mẫu thí nghiệm: Kiểm tra tính ổn định

Tính ổn định được thực hiện đối với các hỗn hợp được chuẩn bị trong mẫu 1-20 và các mẫu đối chứng 1-17 đã được kiểm tra dưới điều kiện khắc nghiệt (60°C và 80%) trong 4 tuần. Trong số các hỗn hợp này, tính ổn định của các hỗn hợp được chuẩn bị trong mẫu 11 và các mẫu đối chứng 1, 12, và 14 đã được kiểm tra dưới điều kiện đẩy nhanh tiến độ (40°C và 70%) trong 4 tháng. Việc đánh giá tính ổn định được thực hiện bằng cách đo hàm lượng pemetrexed còn lại trong dung dịch nước và hàm lượng tạp chất bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) dưới điều kiện như được mô tả trên bảng 7 dưới đây.

Bảng 7

Cột	Cột 8, 150×4,6 mm, 3,5 µm
Máy dò	Máy quang phổ kế tia cực tím (250nm)
Pha di động	Phương pháp gradient
	- Pha di động A - đệm axit axetic : axetonitrin (97 : 3)
	- Pha di động B - đệm axit axetic : axetonitrin (87,5 : 12,5)
	- Đệm axit axetic (0,03 mol/lít, pH 5,5) - nhận được bằng cách bổ sung 3,4 ml axit axetic (100%) vào 2 lít nước, khuấy đều dung dịch và điều chỉnh pH đến 5,5 bằng natri hydroxit 50%
Tốc độ dòng	1 ml/phút
Nhiệt độ cột	35°C
Thời gian phân tích	55 phút

Mẫu thí nghiệm 1: Kiểm tra tính ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt (đánh giá độ ổn định ở 60°C/80%, trong 4 tuần)

Kết quả kiểm tra độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt như đã mô tả ở trên được trình bày trên bảng 8-13.

Ngoài ra, trong số các dược phẩm thể lỏng dạng tiêm chứa pemetrexed được chuẩn bị ở trên, hình minh họa sự so sánh các đặc tính dưới điều kiện khắc nghiệt kiểm tra tính ổn định (60°C/80%) giữa dược phẩm thể lỏng dạng tiêm chứa pemetrexed của sáng chế được chuẩn bị trong mẫu 11 và dược phẩm thể lỏng dạng tiêm chứa pemetrexed được

chuẩn bị trong các mẫu đối chứng 1, 12, và 14, được cung cấp trong Fig.1. Đặc biệt, để so sánh, hình thức bên ngoài của nước tiêm cũng được trình bày.

Bảng 8

	Nồng độ thành phần hoạt tính (mg/ml)	Loại chất chống oxy hóa	Nồng độ thành phần chống oxy hóa (mg/ml)	Chất đệm	Nồng độ chất đệm (mg/ml)	pH	Tạp chất (%) riêng/tổng số	
Mẫu 1	25	Axetyl xystein	0,15	Natri xitrat	2,0	7,3	Ban đầu	0,05/0,1 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,09/0,3 (màu vàng)
							4 tuần	0,11/0,6 (màu vàng)
Mẫu 2	25	Axetyl xystein	0,3	Natri xitrat	2,0	7,2	Ban đầu	0,07/0,1 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,10/0,3 (màu vàng nhạt)
							4 tuần	0,12/0,6 (màu vàng)
Mẫu 3	25	Axetyl xystein	0,5	Natri xitrat	1,0	7,2	Ban đầu	0,07/0,1 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,10/0,1 (màu hơi vàng nhạt)
							4 tuần	0,11/0,4 (màu vàng nhạt)
Mẫu 4	25	Axetyl xystein	0,5	Natri xitrat	20	7,2	Ban đầu	0,07/0,1 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,10/0,1 (màu vàng nhạt)
							4 tuần	0,13/0,5 (màu vàng nhạt)
Mẫu 5	25	Axetyl xystein	0,5	Natri xitrat	3,0	7,3	Ban đầu	0,07/0,1 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,15/0,3 (màu vàng nhạt)
							4 tuần	0,10/0,4 (màu vàng nhạt)
Mẫu 6	25	Axetyl xystein	0,5	Natri xitrat	4,0	7,4	Ban đầu	0,07/0,1 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,10/0,2 (không màu và trong suốt)
							4 tuần	0,12/0,5 (màu vàng nhạt)
Mẫu 7	25	Axetyl xystein	0,5	Natri xitrat	5,0	7,4	Ban đầu	0,07/0,1 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,10/0,2 (không màu và trong suốt)
							4 tuần	0,12/0,5 (màu vàng nhạt)

Mẫu 8	25	Axetyl xystein	1,0	Natri xitrat	2,0	7,4	Ban đầu	0,08/0,1 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,11/0,2 (không màu và trong suốt)
							4 tuần	0,13/0,5 (không màu và trong suốt)
Mẫu 9	25	Axetyl xystein	1,5	Natri xitrat	1,0	7,5	Ban đầu	0,08/0,1 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,11/0,2 (không màu và trong suốt)
							4 tuần	0,10/0,3 (không màu và trong suốt)
Mẫu 10	25	Axetyl xystein	1,5	Natri xitrat	2,0	7,5	Ban đầu	0,08/0,1 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,12/0,1 (không màu và trong suốt)
							4 tuần	0,12/0,3 (không màu và trong suốt)
Mẫu 11	25	Axetyl xystein	1,5	Natri xitrat	5,0	7,5	Ban đầu	0,07/0,1 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,10/0,1 (không màu và trong suốt)
							4 tuần	0,11/0,2 (không màu và trong suốt)
Mẫu 12	25	Axetyl xystein	1,5	Natri xitrat	15,0	7,5	Ban đầu	0,07/0,1 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,11/0,1 (không màu và trong suốt)
							4 tuần	0,11/0,2 (không màu và trong suốt)
Mẫu 13	25	Axetyl xystein	2,0	Natri xitrat	5,0	7,4	Ban đầu	0,20/0,2 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,25/0,4 (màu hơi vàng nhạt)
							4 tuần	0,25/0,6 (màu hơi vàng nhạt)
Mẫu 14	30	Axetyl xystein	1,5	Natri xitrat	5,0	7,5	Ban đầu	0,11/0,1 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,15/0,2 (không màu và trong suốt)
							4 tuần	0,15/0,3 (màu hơi vàng nhạt)

Kết quả trên bảng 8 cho thấy, khi sử dụng 1,5 mg/ml axetylxystein làm thành phần chống oxy hóa cùng với 1 mg/ml đến 15 mg/ml natri xitrat làm chất đệm trong dược phẩm, hàm lượng tạp chất riêng bằng hoặc nhỏ hơn 0,2% và hàm lượng tạp chất tổng số bằng hoặc nhỏ hơn 1,0% trong suốt quá trình kiểm tra kéo dài 4 tuần dưới điều kiện khắc nghiệt, điều đó chỉ ra rằng các dược phẩm này (các mẫu 9-12) có độ ổn định xuất sắc.

Ngoài ra, dược phẩm chứa 1,0-1,5 mg/ml axetylxystein làm thành phần chống oxy hóa và 2,0 mg/ml natri xitrat làm chất đệm cho thấy hàm lượng tạp chất riêng bằng hoặc nhỏ hơn 0,2% và hàm lượng tạp chất tổng số bằng hoặc nhỏ hơn 1,0%, điều đó chỉ ra rằng các dược phẩm này (mẫu 8 và 10) có độ ổn định xuất sắc. Tuy nhiên, kết quả quan sát cho thấy, khi nồng độ axetylxystein thấp hơn 1,0-1,5 mg/ml thì xảy ra sự thay đổi về hình thức bên ngoài (đổi màu) mặc dù hàm lượng tạp chất thỏa mãn tiêu chí chấp nhận (mẫu 1 và 2).

Ngoài ra, khi nồng độ axetylxystein là 2,0 mg/ml và nồng độ natri xitrat là 5,0 mg/ml, thì hàm lượng tạp chất thỏa mãn tiêu chí chấp nhận, nhưng xảy ra sự biến đổi về hình thức (đổi màu) (mẫu 13).

Hơn nữa, khi nồng độ axetylxystein là 0,5 mg/ml và nồng độ natri xitrat là 1,0-5,0 mg/ml, thì hàm lượng tạp chất thỏa mãn tiêu chí chấp nhận, nhưng xảy ra sự biến đổi về hình thức (đổi màu) (các mẫu 3-7).

Bảng 9

	Nồng độ thành phần hoạt tính (mg/ml)	Loại chất chống oxy hóa	Nồng độ thành phần chống oxy hóa (mg/ml)	Chất đệm	Nồng độ chất đệm (mg/ml)	pH	Tạp chất (%) riêng/tổng số	
Mẫu 15	25	Axetylxystein	1,5	Natri xitrat	5,0	6,9	Ban đầu	0,16/0,2 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,18/0,2 (không màu và trong suốt)
							4 tuần	0,17/0,3 (không màu và trong suốt)
Mẫu 16	25	Axetylxystein	1,5	Natri xitrat	5,0	7,2	Ban đầu	0,14/0,2 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,15/0,3 (không màu và trong suốt)
							4 tuần	0,14/0,2 (không màu và trong suốt)

Mẫu 11	25	Axetyl xystein	1,5	Natri xitrat	5,0	7,5	Ban đầu	0,07/0,1 (không màu và trong suốt)
							2 tuần	0,10/0,1 (không màu và trong suốt)
							4 tuần	0,11/0,2 (không màu và trong suốt)

Kết quả trên bảng 9 cho thấy, khi dùng cả axetylxystein làm thành phần chống oxy hóa cùng với natri xitrat làm chất đệm trong công thức, bất chấp sự thay đổi pH, hàm lượng tạp chất riêng là nhỏ hơn hoặc bằng 0,2% và hàm lượng tạp chất tổng số là nhỏ hơn hoặc bằng 1,0% trong suốt quá trình kiểm tra độ ổn định kéo dài 4 tuần dưới điều kiện kiểm tra khắc nghiệt, điều đó chỉ ra rằng các dược phẩm này có độ ổn định xuất sắc.

Bảng 10

	Nồng độ thành phần hoạt tính (mg/ml)	Thành phần chống oxy hóa	Nồng độ thành phần chống oxy hóa (mg/ml)	Chất đệm	Nồng độ chất đệm (mg/ml)	pH	Hàm lượng khí oxy trong khoang trống (% thể tích)		Tạp chất (%) riêng/tổng số
Mẫu 17	25	Axetyl xystein	1,5	natri xitrat	5,0	7,4	3	Ban đầu	≤0,05/0,0 (không màu và trong suốt)
								2 tuần	≤0,05/0,0 (không màu và trong suốt)
								4 tuần	≤0,05/0,0 (không màu và trong suốt)
Mẫu 18	25	Axetyl xystein	1,5	natri xitrat	5,0	7,4	5	Ban đầu	≤0,05/0,0 (không màu và trong suốt)
								2 tuần	0,12/0,4 (không màu và trong suốt)
								4 tuần	0,22/0,7 (không màu và trong suốt)

Mẫu 19	25	Axetyl xystein	-	natri xitrat	-	7,4	3	Ban đầu	≤0,05/0,0 (không màu và trong suốt)
								2 tuần	0,18/0,7 (màu vàng nhạt)
								4 tuần	0,57/1,5 (màu vàng)
Mẫu 20	25	Axetyl xystein	-	natri xitrat	-	7,4	5	Ban đầu	≤0,05/0,0 (không màu và trong suốt)
								2 tuần	0,25/0,8 (màu vàng nhạt)
								4 tuần	0,61/1,8 (màu vàng)

Nếu dược phẩm trên được bào chế nhờ sản xuất quy mô lớn nhằm mục đích thương mại hóa thì khả năng dược phẩm tiếp xúc với oxy, vốn là nguyên nhân chủ yếu tạo ra tạp chất, có thể tăng lên. Để ngăn chặn sự tiếp xúc với oxy, độ ổn định của dược phẩm có thể được đảm bảo bằng cách kiểm soát hàm lượng khí oxy còn lại trong quá trình bào chế.

Kết quả trên bảng 9 cho thấy, khi dùng cả axetylxystein làm thành phần chống oxy hóa cùng với natri xitrat làm chất đệm trong dược phẩm, lượng tạp chất tổng số trong dược phẩm của sáng chế giảm so với lượng tạp chất tổng số trong dược phẩm thông thường (mẫu 11) nhờ kiểm soát hàm lượng khí oxy trong khoang trống, qua đó cho thấy dược phẩm theo sáng chế có độ ổn định xuất sắc (mẫu 17 và 18). Cụ thể là, khi hàm lượng khí oxy trong khoang trống được kiểm soát ở mức nhỏ hơn hoặc bằng 3% theo thể tích, thì hàm lượng tạp chất riêng là nhỏ hơn hoặc bằng 0,2% và hàm lượng tạp chất tổng số là nhỏ hơn hoặc bằng 1,0% trong suốt quá trình kiểm tra độ ổn định kéo dài 4 tuần dưới điều kiện kiểm tra khắc nghiệt, từ đó cho thấy dược phẩm theo sáng chế có độ ổn định xuất sắc (mẫu 17).

Ngay cả khi thành phần chống oxy hóa không được thêm vào, độ ổn định của dược phẩm cũng được xác nhận là được đảm bảo trong vòng 2 tuần đầu dưới điều kiện kiểm tra khắc nghiệt khi hàm lượng khí oxy trong khoang trống được duy trì ở mức thấp hơn hoặc bằng 3% theo thể tích (mẫu 19), so với khi hàm lượng khí oxy trong khoang trống không

được kiểm soát (mẫu đối chứng 1). Qua các kết quả trên, việc điều chỉnh hàm lượng khí oxy trong khoang trống đã được khẳng định là có thể góp phần cải thiện độ ổn định của công thức. Tuy nhiên, khi thành phần chống oxy hóa và chất đệm cùng được bổ sung vào dược phẩm (mẫu 17 và 18), thì độ ổn định hoàn chỉnh hơn được đảm bảo.

Bảng 11

	Nồng độ thành phần hoạt tính (mg/ml)	Loại chất chống oxy hóa	Nồng độ thành phần chống oxy hóa (mg/ml)	pH		Tạp chất (%) riêng/tổng số
Mẫu đối chứng 1	25	-	-	7,5	Ban đầu	0,01/0,1
					2 tuần	0,33/0,8
					4 tuần	0,66/2,1
Mẫu đối chứng 2	25	Axit ascobic	0,3	6,5	Ban đầu	0,63/0,7
					2 tuần	0,6/1,0
					4 tuần	Không thỏa mãn về hình thức (NA)
Mẫu đối chứng 3	25	Natri thiosulfat	0,3	7,5	Ban đầu	0,04/0,2
					2 tuần	0,24/0,6
					4 tuần	0,72/1,7
Mẫu đối chứng 4	25	Butylat hydroxyanisol	0,3	9,9	ban đầu	0,1/0,3
					2 tuần	0,45/1,3
					4 tuần	Không thỏa mãn về hình thức (NA)
Mẫu đối chứng 5	25	Propyl galat	0,3	9,5	Ban đầu	0,11/0,4
					2 tuần	1,03/2,7
					4 tuần	Không thỏa mãn về hình thức (NA)
Mẫu đối chứng 6	25	EDTA	0,3	6,5	Ban đầu	0,53/2,7
					2 tuần	1,23/3,0
					4 tuần	Không thỏa mãn về hình thức (NA)
Mẫu đối chứng 7	25	L-xistin	0,3	7,5	Ban đầu	0,05/0,2
					2 tuần	0,38/1,0
					4 tuần	0,71/1,8
Mẫu đối chứng 8	25	L-methionin	0,3	7,4	Ban đầu	0,05/0,2
					2 tuần	0,35/0,9
					4 tuần	0,51/1,3

Kết quả trên bảng 11 khẳng định rằng, khi một chất oxy hóa thông dụng được sử dụng trong dược phẩm, có sự thay đổi về hình thức bên ngoài như kết tủa hoặc đổi màu, hoặc gia tăng ít nhất đến 0,2% về hàm lượng tạp chất riêng và đến ít nhất 1,0% về hàm lượng tạp chất tổng số trong quá trình kiểm tra độ ổn định dưới điều kiện khắc nghiệt. Điều này chỉ ra rằng dược phẩm thể lỏng dạng tiêm chứa pemetrexed bao gồm các thành phần chống oxy hóa mà thường được sử dụng không bảo đảm tính ổn định cần thiết về tạp chất và sự thay đổi hình thức bên ngoài.

Bảng 12

	Nồng độ thành phần hoạt tính (mg/ml)	Loại chất chống oxy hóa	Nồng độ thành phần chống oxy hóa (mg/ml)	Chất đệm	Nồng độ chất đệm (mg/ml)	pH		Tạp chất (%) riêng/tổng số
Mẫu đối chứng 9	25	-		Natri xitrat	15	7,4	Ban đầu	0,15/0,2 (không màu và trong suốt)
						7,4	2 tuần	0,13/0,6 (màu vàng đậm)
						-	4 tuần	Không thỏa mãn về hình thức (NA)
Mẫu đối chứng 10	25	-		Natri xitrat	2,0	7,3	Ban đầu	0,03/0,0 (không màu và trong suốt)
						7,0	2 tuần	0,11/0,3 (màu vàng đậm)
						7,0	4 tuần	0,17/0,5 (màu vàng đậm)
Mẫu 11	25	Axetyl xystein	1,5	Natri xitrat	5,0	7,5	Ban đầu	0,07/0,1 (không màu và trong suốt)
						7,3	2 tuần	0,10/0,1 (không màu và trong suốt)
						7,2	4 tuần	0,11/0,2 (không màu và trong suốt)
Mẫu đối chứng 11	25	Axetyl xystein	0,5	-	-	7,2	Ban đầu	0,12/0,1 (không màu và trong suốt)
						6,9	2 tuần	0,14/0,3 (màu vàng nhạt)
						6,9	4 tuần	0,15/0,5 (màu vàng nhạt)



Mẫu 8	25	Axetyl xystein	0,5	Natri xitrat	5,0	7,4	Ban đầu	0,07/0,1 (không màu và trong suốt)
						7,1	2 tuần	0,10/0,2 (không màu và trong suốt)
						7,1	4 tuần	0,12/0,5 (màu vàng nhạt)
Mẫu đối chứng 12	25	Axetyl xystein	1,5	-	-	7,5	Ban đầu	0,09/0,1 (không màu và trong suốt)
						7,1	2 tuần	0,12/0,3 (không màu và trong suốt)
						7,0	4 tuần	0,12/0,3 (màu hơi vàng nhạt)
Mẫu đối chứng 13	25	L- xixtêin	0,5	-	-	7,5	Ban đầu	0,12/0,2 (không màu và trong suốt)
						6,9	2 tuần	0,12/0,2 (màu vàng nhạt và mùi bất thường)
						6,9	4 tuần	0,12/0,3 (màu vàng nhạt)
Mẫu đối chứng 14	25	L- xystein	1,5	-	-	7,5	Ban đầu	0,09/0,1 (không màu và trong suốt)
						7,4	2 tuần	0,11/0,1 (mùi bất thường)
						7,2	4 tuần	0,12/0,2 (mùi bất thường)

Kết quả trên bảng 12 cho thấy, khi sử dụng axetylxystein làm thành phần chống oxy hóa cùng với natri xitrat làm chất đệm trong dược phẩm, và tốt nhất là khi nồng độ axetylxystein là 1,5 mg/ml và nồng độ natri xitrat là 5,0 mg/ml, dược phẩm có hàm lượng tạp chất riêng nhỏ hơn hoặc bằng 0,2% và hàm lượng tạp chất tổng số nhỏ hơn hoặc bằng 1,0% trong suốt thời gian kiểm tra độ ổn định kéo dài 4 tuần dưới điều kiện khắc nghiệt, điều đó chỉ ra rằng dược phẩm (mẫu 11) có độ ổn định xuất sắc.

Ngược lại, khi chỉ dùng chất đệm natri xitrat, màu sắc của dung dịch bắt đầu chuyển sang màu vàng đậm từ tuần thứ 2 dưới điều kiện kiểm tra khắc nghiệt (các mẫu đối chứng 9 và 10). Ngoài ra, khi chỉ sử dụng thành phần chống oxy hóa L-xystein và axetylxystein, màu sắc của dung dịch bắt đầu chuyển sang màu vàng nhạt từ tuần thứ 2 dưới điều kiện kiểm tra khắc nghiệt, và pH dung dịch giảm đáng kể trong suốt 4 tuần

trong điều kiện kiểm tra khắc nghiệt (các mẫu đối chứng 11, và 12-14). Có nghĩa là, điều này khẳng định rằng khi cả axetylxystein và natri xitrat được sử dụng đồng thời, độ ổn định về hàm lượng tạp chất được cải thiện đáng kể, khác hẳn với khi chỉ axetylxystein hoặc natri xitrat được sử dụng.

Ngoài ra, dược phẩm của các mẫu đối chứng 13 và 14, mà trong đó các mẫu được chuẩn bị bằng cách chỉ sử dụng L-xystein, thì kết quả kiểm tra trong điều kiện khắc nghiệt cho thấy mùi lạ như mùi thối của trứng thối xuất hiện từ tuần thứ hai. Tuy nhiên, mùi lạ này không xuất hiện trong dược phẩm theo sáng chế, điều này cho thấy mặt tiến bộ của sáng chế.

Bảng 13

	Nồng độ thành phần hoạt tính (mg/ml)	Loại chất chống oxy hóa	Nồng độ thành phần chống oxy hóa (mg/ml)	Chất đệm	Nồng độ chất đệm (mg/ml)	pH		Tạp chất (%) riêng/tổng số
Mẫu 11	25	Axetyl xystein	1,5	Natri xitrat	5,0	7,5	Ban đầu	0,07/0,1 (không màu và trong suốt)
						7,3	2 tuần	0,10/0,1 (không màu và trong suốt)
Mẫu đối chứng 15	25	Axetyl xystein	1,5	Natri axetat	5,0	7,4	Ban đầu	0,89/1,45 (màu vàng nhạt)
						7,1	2 tuần	0,86/2,3 (màu vàng đậm)
Mẫu đối chứng 16	25	Axetyl xystein	1,5	Natri hydro photphat	5,0	7,5	Ban đầu	0,23/0,2 (không màu và trong suốt)
						7,4	2 tuần	0,21/0,9 (màu vàng)
Mẫu đối chứng 17	25	Axetyl xystein	1,5	Kali dihydro photphat	5,0	7,5	Ban đầu	0,24/0,2 (không màu và trong suốt)
						7,2	2 tuần	0,23/0,8 (màu hơi vàng nhạt)

Kết quả trên bảng 13 cho thấy, khi axetylxystein được sử dụng làm thành phần chống oxy hóa cùng với nhiều loại chất đệm khác nhau thường được dùng trong dược

phẩm để kiểm tra độ ổn định thu được, có thể nhìn thấy những thay đổi về hình thức bên ngoài (đổi màu) từ giai đoạn ban đầu hoặc sự gia tăng ít nhất tới 0,2% về hàm lượng tạp chất riêng và gia tăng ít nhất tới 1,0% về hàm lượng tạp chất tổng số đối với các công thức chứa chất đệm không phải là natri xitrat.

Theo đó, có thể khẳng định rằng, trong việc bào chế dược phẩm thể lỏng dạng tiêm chứa pemetrexed, độ ổn định xuất sắc nhất chỉ đạt được khi sử dụng cả axetylxystein làm thành phần chống oxy hóa và natri xitrat làm chất đệm.

Mẫu thí nghiệm 2: Kiểm tra độ ổn định dưới điều kiện tăng tốc (đánh giá độ ổn định ở 40°C và 70% trong 4 tháng)

Kết quả kiểm tra độ ổn định dưới điều kiện tăng tốc được trình bày trên bảng 14.

Bảng 14

	Nồng độ thành phần hoạt tính (mg/ml)	Loại chất chống oxy hóa	Nồng độ thành phần chống oxy hóa (mg/ml)	Chất đệm	Nồng độ chất đệm (mg/ml)	pH		Tạp chất (%) riêng/tổng số
Mẫu 11	25	Axetyl xystein	1,5	Natri xitrat	5,0	7,5	Ban đầu	0,07/0,1 (không màu và trong suốt)
						7,3	2 tháng	0,10/0,1 (không màu và trong suốt)
						7,3	4 tháng	0,14/0,2 (không màu và trong suốt)
						7,2	6 tháng	0,18/0,4 (màu hơi vàng nhạt)
Mẫu đối chứng 1	25	-	-	-	-	7,5	Ban đầu	0,01/0,1
						-	2 tháng	0,04/0,1 (màu vàng)
						-	4 tháng	0,60/1,5 (màu vàng)
Mẫu đối chứng 12	25	Axetyl xystein	1,5	-	-	7,5	Ban đầu	0,09/0,1 (không màu và trong suốt)
						7,1	4 tháng	0,33/0,8 (không màu và trong suốt)

Mẫu đối chứng 14	25	L- xystein	1,5	-	-	7,5	Ban đầu	0,09/0,1 (không màu và trong suốt)
						72	4 tháng	0,12/0,2 (không màu, trong suốt, và mùi bất thường)

Kết quả trên bảng 14 trên đây cho thấy, trong dược phẩm của mẫu đối chứng 1 vốn được chuẩn bị bằng cách chỉ sử dụng nước tiêm làm chất mang mà không bổ sung thành phần chống oxy hóa, thì hình thức của dung dịch chuyển sang màu vàng từ tháng thứ 2 dưới điều kiện kiểm tra tăng tốc, và dung dịch có hàm lượng tạp chất riêng bằng hoặc cao hơn 0,2% và hàm lượng tạp chất tổng số là lớn hơn hoặc bằng 1,0% vào tháng thứ 4 dưới điều kiện kiểm tra tăng tốc, điều đó chỉ ra rằng chế phẩm không đáp ứng được yêu cầu về tính ổn định. Tuy nhiên dược phẩm của mẫu 11, mẫu mà có chứa axetylxystein làm thành phần chống oxy hóa cùng với natri xitrat làm chất đệm, có hàm lượng tạp chất riêng bằng hoặc nhỏ hơn 0,2% và hàm lượng tạp chất tổng số bằng hoặc nhỏ hơn 1,0%, từ đó cho thấy dược phẩm của mẫu 11 có độ ổn định xuất sắc trong suốt khoảng thời gian 6 tháng kiểm tra độ ổn định dưới điều kiện tăng tốc.

Ngược lại, dược phẩm được chuẩn bị bằng cách chỉ sử dụng axetylxystein làm thành phần chống oxy hóa (mẫu đối chứng 12) bắt đầu chuyển sang màu vàng hoặc hàm lượng tạp chất riêng cao hơn hoặc bằng 0,2% kể từ tháng thứ 4 trong điều kiện tăng tốc, và do đó không đáp ứng được chỉ tiêu độ ổn định.

Ngoài ra, dược phẩm chứa duy nhất L-xystein được chuẩn bị trong mẫu đối chứng 14 thỏa mãn chỉ tiêu chấp nhận về mặt hàm lượng tạp chất nhưng lại tạo ra mùi lạ tương tự mùi trứng thối từ tháng thứ tư dưới điều kiện tăng tốc. Tuy nhiên, mùi bất thường không xuất hiện trong dược phẩm theo sáng chế (dược phẩm của mẫu 11).

**YÊU CẦU BẢO HỘ**

1. Dược phẩm chứa pemetrexed được chứa trong vật chứa bịt kín bao gồm pemetrexed hoặc muối dược dụng của nó làm thành phần hoạt tính, N-axetyl-L-xystein và natri xitrat, trong đó dược phẩm có hàm lượng khí oxy trong khoang trống của vật chứa nhỏ hơn hoặc bằng 3% thể tích so với tổng thể tích của khoang trống.

2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó tỉ lệ nồng độ của pemetrexed hoặc muối dược dụng của nó : N-axetyl-L-xystein : natri xitrat là (1 đến 30) : (0,15 đến 2,0) : (1,0 đến 15,0).

3. Dược phẩm theo điểm 2, trong đó tỉ lệ nồng độ của pemetrexed hoặc muối dược dụng của nó : N-axetyl-L-xystein : natri xitrat là (1 đến 30) : 1,5 : (1,0 đến 15,0).

4. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này là dược phẩm thể lỏng có thể lưu trữ được ở trạng thái dung dịch.

5. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này là dược phẩm thể lỏng dạng tiêm được chứa trong vật chứa bịt kín và sẵn sàng để sử dụng được ngay.

6. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó hàm lượng khí oxy được điều chỉnh bằng cách thay thế khí oxy trong khoang trống của vật chứa bằng khí trơ.

7. Dược phẩm theo điểm 6, trong đó khí trơ là khí nitơ hoặc khí argon.



**Fig. 1**