



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

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



1-0039547

(51)<sup>2019.01</sup> A61K 9/08; A61K 47/10; A61K 47/26; (13) B  
A61K 39/395; A61K 47/18

- (21) 1-2019-05653 (22) 16/03/2018  
 (86) PCT/KR2018/003097 16/03/2018 (87) WO/2018/169348 20/09/2018  
 (30) 10-2017-0033188 16/03/2017 KR  
 (45) 25/04/2024 433 (43) 30/01/2020 382A  
 (73) LG CHEM, LTD. (KR)  
 128, Yeoui-daero, Yeongdeungpo-gu, Seoul, 07336, Republic of Korea  
 (72) YUN, So Ra (KR); KO, Youn Kyung (KR); SO, Jineon (KR).  
 (74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) CHẾ PHẨM DẠNG LÔNG CHỨA KHÁNG THỂ KHÁNG YẾU TỐ HOẠI TỬ KHỐI U ALPHA VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT CHẾ PHẨM DẠNG LÔNG NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm dạng lông chứa kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mg/mL đến 250mg/mL, chất ổn định, chất hoạt động bề mặt không ion, chất chống oxy hóa, và arginin, trong đó chất ổn định được chọn từ nhóm bao gồm (i) rượu đa chức là sucroza hoặc trehaloza; (ii) rượu đa chức là polyetylen glycol có khối lượng phân tử trung bình số nằm trong khoảng từ 200 đến 600 hoặc polyetylen glycol có khối lượng phân tử trung bình số nằm trong khoảng từ 1000 đến 8000; (iii) axit amin không phải là arginin, axit amin này là glycin hoặc leucin; và (iv) hỗn hợp của ít nhất hai trong số các chất nêu ở mục (i) đến (iii), trong đó chất hoạt động bề mặt không ion là polysorbat 80, polysorbat 20, hoặc poloxame 188, và trong đó chế phẩm dạng lông này không chứa hệ đệm, trong đó chất chống oxy hóa là methionin; cũng như phương pháp sản xuất chế phẩm dạng lông này.

Nồng độ hạt (#/mL)



### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến chế phẩm dạng lỏng chứa kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha và phương pháp sản xuất chế phẩm này, cụ thể là sáng chế đề cập đến chế phẩm dạng lỏng chứa adalimumab.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Yếu tố hoại tử u alpha (TNF- $\alpha$ - Tumor necrosis factor alpha) là xytokin được sinh ra từ các loại tế bào khác nhau như bạch cầu đơn nhân, đại thực bào, v.v. bằng cách kích thích nội độc tố, v.v.. TNF- $\alpha$  là chất trung gian chính của các phản ứng bệnh viêm, miễn dịch, và sinh lý bệnh chính mà kích hoạt thụ thể TNF và gây ra các phản ứng như kích hoạt tế bào T, tăng sinh tế bào tuyến ức, v.v. (Grell, M., et al. (1995) Cell, 83: 793 to 802).

Adalimumab là kháng thể đơn dòng globulin miễn dịch G1 tái tổ hợp của người ức chế phản ứng miễn dịch gây ra bởi TNF- $\alpha$  bằng cách gắn kết chọn lọc với TNF- $\alpha$  *in vivo*. Adalimumab được phát triển bởi BASF Bioresearch Corporation vào năm 1993 và được phê chuẩn cho phép Abbott Laboratories được bán để điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp. Adalimumab hiện được bán dưới dạng chế phẩm Humira®, và sau khi nhận được sự phê chuẩn cho phép bán chế phẩm này dưới dạng chế phẩm điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp, Humira® được sử dụng để điều trị bệnh Crohn, bệnh viêm cột sống dính khớp, bệnh viêm khớp vẩy nến, bệnh viêm loét đại tràng, v.v.

Adalimumab là kháng thể của người có chiều dài đầy đủ trước tiên được phát triển làm dược chất. Adalimumab được phát triển bằng cách áp dụng công nghệ hiển thị thể thực khuẩn và có ái lực tăng cường bằng cách tạo ra đột biến trong CDR. Adalimumab, còn được gọi là D2E7, bao gồm 1330 axit amin và có khối lượng phân tử khoảng 148 kD (Patent Hoa Kỳ số 6090382). Adalimumab là chất ức chế TNF- $\alpha$  liên kết với TNF và ngăn chặn các phản ứng do TNF gây ra bằng cách ngăn TNF tương tác với các thụ thể TNF bề mặt tế bào (xem các trang 55 và 75).

Trong khi đó, dược chất kháng thể là dược chất protein, và quá trình biến tính vật lý và hóa học có thể xảy ra do nhiều yếu tố khác nhau. Khi biến tính protein, biến tính hóa học như quá trình oxy hóa, khử amin và đồng phân hóa hoặc biến tính cấu trúc như phân mảnh hoặc kết tụ có thể xảy ra. Khi protein bị biến tính, có thể là protein có thể mất hoạt tính dược lý của chính nó và do đó gây ra các phản ứng miễn dịch không cần thiết trong cơ thể dưới dạng tác dụng không mong muốn. Khi kháng thể bị phân mảnh, ái lực gắn kết hoặc thời gian lưu của nó trong cơ thể bị thay đổi, và do đó hoạt tính dược lý của kháng thể bị ảnh hưởng. Ngoài ra, các nghiên cứu đã chỉ ra rằng các kháng thể phân mảnh có thể tạo ra sự kết tụ các kháng thể. Ngoài ra, hoạt tính dược lý có thể bị giảm đi do sự kết tụ. Theo các nghiên cứu, khi so sánh các sản phẩm interferon beta có bán trên thị trường, người ta đã kiểm chứng rằng những sản phẩm có hàm lượng chất kết tụ và hạt cao có khả năng cao có tỷ lệ kháng thể trung hòa cao trong cơ thể (Barnard et al., 2013, J. Pharm. Sci. 102: 915). Nếu các kháng thể trung hòa được sản xuất *in vivo*, các kháng thể trung hòa gắn kết với loại dược chất protein khi thuốc được tiêm vào cơ thể, do đó ảnh hưởng đến sự an toàn, tác dụng dược lý và dược động học của dược chất protein.

Ngoài ra, sự biến tính và kết tụ của epoetin alfa cũng được chứng minh là nguyên nhân làm tăng khả năng sinh miễn dịch của thuốc epoetin alfa. Theo đó, trong trường hợp dược chất protein, điều rất quan trọng là sản xuất dược chất protein thành các công thức thích hợp để không làm mất hoạt tính sinh lý của chúng trong bảo quản, và protein cũng không bị phân mảnh, kết tụ hoặc tạo thành các hạt. Theo đó, các nghiên cứu tích cực về các công thức cho các loại dược chất protein khác nhau đang được tiến hành.

Mục tiêu của nghiên cứu về công thức chế phẩm protein là tìm ra sự kết hợp tối ưu bằng cách trộn một cách thích hợp một số chất bổ trợ đồng thời xem xét các đặc tính của mỗi sản phẩm để sản phẩm có thể được bảo quản ổn định cho đến khi sử dụng cho đối tượng bị bệnh. Mục tiêu chính của việc bổ sung chất bổ trợ là làm ổn định protein và kiểm soát các tính chất vật lý của vật liệu hỗn hợp. Các chất bổ trợ có thể được chia thành chất hoạt động bề mặt, chất ổn định, chất bảo quản, hệ đệm, chất đẳng trương, v.v. tùy thuộc vào mục đích và đặc điểm của chúng. Trong trường hợp dược chất kháng thể, để đạt được hiệu quả điều trị hiệu quả, một lượng protein lớn hơn được sử dụng so với các loại dược chất protein khác. Trong trường hợp tiêm dưới da, điều quan trọng là phải phát triển một công thức chế phẩm nồng độ cao do khó khăn trong phân phối thể tích lớn

ở một thời điểm, như thời điểm đối tượng bị bệnh đau, thời điểm sản xuất, vv.. Khi nồng độ của protein tăng lên, sự tương tác giữa các phân tử của nó tăng lên, do đó gây ra các vấn đề như tăng kết tụ, tăng độ nhớt, gel hóa, kết tủa, v.v.. Trong số này, việc tăng độ nhớt quá mức làm cho quy trình sản xuất trở nên khó khăn và cũng gây khó khăn cho chính quá trình sử dụng cho đối tượng bị bệnh khó khăn do sự gia tăng áp lực tiêm. Do đó, các phương pháp khác nhau để dự đoán và giảm độ nhớt của dung dịch kháng thể nồng độ cao đang được nghiên cứu.

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

Theo một mục đích, sáng chế đề cập đến chế phẩm dạng lỏng chứa kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mg/mL đến 250mg/mL, chất ổn định, chất hoạt động bề mặt không ion, chất chống oxy hóa, và arginin, trong đó chất ổn định được chọn từ nhóm bao gồm (i) rượu đa chức là sucroza hoặc trehaloza; (ii) rượu đa chức là polyetylen glycol có khối lượng phân tử trung bình số nằm trong khoảng từ 200 đến 600 hoặc polyetylen glycol có khối lượng phân tử trung bình số nằm trong khoảng từ 1000 đến 8000; (iii) axit amin không phải là arginin, axit amin này là glycin hoặc leucin; và (iv) hỗn hợp của ít nhất hai trong số các chất nêu ở mục (i) đến (iii), trong đó chất hoạt động bề mặt không ion là polysorbat 80, polysorbat 20, hoặc poloxame 188, và trong đó chế phẩm dạng lỏng này không chứa hệ đệm, trong đó chất chống oxy hóa là methionin.

Theo một mục đích khác, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất chế phẩm dạng lỏng theo điểm 1, bao gồm bước trộn kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mg/mL đến 250mg/mL, chất ổn định, chất hoạt động bề mặt không ion, chất chống oxy hóa, và arginin, trong đó chất chống oxy hóa là methionin.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp cải thiện độ ổn định của kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha bằng cách sử dụng chế phẩm chứa chất ổn định, chất hoạt động bề mặt, và arginin và chế phẩm này không chứa hệ đệm.

### **Mô tả vắn tắt các hình vẽ**

Fig.1 là hình vẽ thể hiện độ nhớt của mỗi mẫu trong ví dụ 1 theo mỗi thành phần chất phụ gia.

Fig.2 là hình vẽ thể hiện số lượng hạt trong mỗi mẫu và giả dược của chúng trong ví dụ 7 trước và sau khi nạp qua bơm.

### Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn thông qua phần mô tả dưới đây. Trong khi đó, mỗi phương án được bộc lộ trong bản mô tả này có thể được áp dụng cho các phương án khác. Tức là, toàn bộ tổ hợp của các thành tố khác nhau được bộc lộ bản mô tả nằm trong phạm vi của sáng chế. Hơn nữa, phạm vi của sáng chế không chỉ giới hạn ở bộc lộ cụ thể được trình bày dưới đây. Ngoài ra, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ có thể nhận biết hoặc khẳng định mà không cần sử dụng đến kỹ năng nhiều hơn các thử nghiệm thông thường để tạo ra các biến đổi tương đương của các phương án cụ thể của sáng chế. Ngoài ra, các biến đổi tương đương như vậy là nằm trong phạm vi của sáng chế.

Để đạt được các mục đích nêu trên, sáng chế đề cập đến chế phẩm dạng lỏng chứa kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mg/mL đến 250mg/mL, chất ổn định, chất hoạt động bề mặt không ion, chất chống oxy hóa, và arginin, trong đó chất ổn định được chọn từ nhóm bao gồm (i) rượu đa chức là sucroza hoặc trehaloza; (ii) rượu đa chức là polyetylen glycol có khối lượng phân tử trung bình số nằm trong khoảng từ 200 đến 600 hoặc polyetylen glycol có khối lượng phân tử trung bình số nằm trong khoảng từ 1000 đến 8000; (iii) axit amin không phải là arginin, axit amin này là glycin hoặc leucin; và (iv) hỗn hợp của ít nhất hai trong số các chất nêu ở mục (i) đến (iii), trong đó chất hoạt động bề mặt không ion là polysorbat 80, polysorbat 20, hoặc poloxame 188, và trong đó chế phẩm dạng lỏng này không chứa hệ đệm, trong đó chất chống oxy hóa là methionin.

Thuật ngữ “kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ kháng thể gắn kết với TNF- $\alpha$  và điều chỉnh hoạt tính sinh học của nó. Cụ thể hơn, kháng thể này có thể gắn kết với TNF- $\alpha$  và ức chế sự gắn kết giữa TNF- $\alpha$  và thụ thể của nó, nhờ đó ức chế quá trình truyền tín hiệu bởi TNF- $\alpha$ . Ngoài ra, kháng thể kháng TNF- $\alpha$  có thể là kháng thể đơn dòng.

Kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha có thể ở dạng kháng thể có chiều dài đầy đủ hoặc đoạn kháng thể chứa vùng gắn kết với kháng nguyên của nó, nhưng kháng thể kháng TNF- $\alpha$  không chỉ giới hạn cụ thể ở phương án này.

Cụ thể hơn, kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha có thể là kháng thể đơn dòng globulin miễn dịch G1 tái tổ hợp của người, và cụ thể hơn, kháng thể này có thể là adalimumab. Thông tin về adalimumab có thể dễ dàng thu được bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này từ các cơ sở dữ liệu đã biết.

Kháng thể này có thể được sản xuất bằng phương pháp ADN tái tổ hợp bằng hệ thống biểu hiện tế bào động vật có vú, nhưng phương pháp sản xuất không chỉ giới hạn ở phương pháp này.

Kháng thể này có thể được sản xuất dưới dạng chế phẩm dạng lỏng theo sáng chế với lượng điều trị hữu hiệu. Theo một phương án cụ thể, kháng thể này có thể có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mg/mL đến 250mg/mL, đặc biệt là nằm trong khoảng từ 20mg/mL đến 200mg/mL, đặc biệt hơn là nằm trong khoảng từ 50mg/mL đến 200mg/mL, và còn đặc biệt là hơn nữa ở nồng độ bằng 50mg/mL, 100mg/mL, hoặc 130mg/mL, nhưng nồng độ kháng thể không chỉ giới hạn cụ thể ở các phương án này.

Chế phẩm dạng lỏng theo sáng chế có thể chứa chất ổn định, chất hoạt động bề mặt, và arginin, ngoài kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha. Chế phẩm dạng lỏng có thể là chế phẩm dạng dung dịch có khả năng bảo quản ổn định kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha. Cụ thể là, độ ổn định của kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha có thể được đo bằng cách sử dụng thử nghiệm độ ổn định protein bất kỳ được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Độ ổn định có thể được đo ở nhiệt độ đã chọn trong đã chọn. Đối với thử nghiệm nhanh, chế phẩm này có thể được bảo quản ở nhiệt độ cao hơn hoặc “nhiệt độ tăng tốc” (ví dụ, ở nhiệt độ 40°C trong 2 tuần đến 1 tháng trở lên), tại đó độ ổn định phụ thuộc vào thời gian được đo. Thuật ngữ “tạo ra độ ổn định cho kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ sự tồn thất hoạt chất trong các điều kiện bảo quản nhất định (cụ thể là nhiệt độ nhất định) trong một khoảng thời gian nhất định ít hơn một lượng nhất định (ví dụ: dưới 10%). Thông thường, khi tỷ lệ còn lại của kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha trong chế phẩm bằng 90% hoặc cao hơn, cụ thể là khoảng 92% hoặc cao hơn ở nhiệt độ 5±3°C trong 2 năm, ở nhiệt độ 25±2°C trong 6 tháng, hoặc 40±2°C trong 1 đến 2 tháng, thì các chế phẩm này có thể được coi là ổn định. Chất ổn định được đưa vào chế phẩm dạng lỏng theo sáng chế có thể là rượu đa

chức, axit amin, hoặc hỗn hợp của chúng. Axit amin này có thể là axit amin không phải là arginin.

Cụ thể là, chất ổn định có thể bằng 1) một loại rượu đa chức; 2) hỗn hợp của một loại rượu đa chức và một loại axit amin; 3) hỗn hợp của một loại rượu đa chức, axit amin thứ nhất, và axit amin thứ hai; 4) hỗn hợp của rượu đa chức thứ nhất và rượu đa chức thứ hai; 5) hỗn hợp của rượu đa chức thứ nhất, rượu đa chức thứ hai, và một loại axit amin; 6) hỗn hợp của rượu đa chức thứ nhất, rượu đa chức thứ hai, axit amin thứ nhất, và axit amin thứ hai; hoặc 7) một loại axit amin. Cụ thể hơn, rượu đa chức này có thể là manitol, sucroza, trehaloza, PEG, hoặc hỗn hợp của chúng, và cụ thể hơn, là sucroza, trehaloza, PEG, hoặc hỗn hợp của chúng. PEG có thể cụ thể là polyetylen glycol400 hoặc PEG4000, nhưng không chỉ giới hạn cụ thể ở các phương án này. Trong chế phẩm nêu trên, rượu đa chức có thể có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1mg/mL đến 100mg/mL.

Cụ thể hơn, axit amin không phải là arginin này có thể là glycin, leucin, isoleucin, phenylalanin, hoặc prolin. Trong chế phẩm nêu trên, axit amin này có thể có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mM đến 300mM. Ngoài ra, thuật ngữ “axit amin” cũng được sử dụng trong bản mô tả để chỉ toàn bộ các chất ở dạng chất tương tự, solvat, hydrat, chất đồng phân lập thể, và các muối được dụng của axit amin tương ứng có có tác dụng hầu như tương tự.

Thuật ngữ “muối được dụng” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ axit vô cơ, axit hữu cơ, hoặc muối dẫn xuất từ bazơ được dụng. Ví dụ về các axit thích hợp có thể bao gồm axit clohydric, axit bromic, axit sulfuric, axit nitric, axit percloric, axit fumaric, axit maleic, axit phosphoric, axit glycolic, axit lactic, axit salixylic, axit succinic, axit toluen-p-sulfonic, axit tartaric, axit axetic, axit xitric, axit metansulfonic, axit formic, axit benzoic, axit malonic, axit naphtalen-2-sulfonic, axit benzensulfonic, v.v.. Ví dụ về muối có nguồn gốc từ các bazơ thích hợp có thể bao gồm muối của kim loại kiềm như natri, kali, v.v.; kim loại kiềm thổ như magie, v.v.; amoni, v.v.

Thuật ngữ “solvat” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ axit amin hoặc muối của nó tạo thành phức chất với phân tử dung môi. Cụ thể hơn, chất ổn định có thể là chất được chọn từ nhóm bao gồm (i) sucroza hoặc trehaloza, (ii) PEG có khối lượng phân tử trung bình số nằm trong khoảng từ 200 đến 600 hoặc PEG có khối lượng phân tử trung

bình số nằm trong khoảng từ 1000 đến 8000; (iii) glycin hoặc leucin; và (iv) hỗn hợp của ít nhất hai chất trong số các chất (i) đến (iii), nhưng chất ổn định không chỉ giới hạn cụ thể ở các phương án này.

Theo một phương án cụ thể hơn, chất ổn định có thể là chất được chọn từ nhóm bao gồm 1) chất bất kỳ trong số sucroza, trehaloza, và PEG400; 2) hỗn hợp của sucroza hoặc trehaloza với glycin hoặc leucin; 3) hỗn hợp của sucroza hoặc trehaloza với glycin và leucin; 4) hỗn hợp của sucroza hoặc trehaloza với PEG4000; 5) hỗn hợp của sucroza hoặc trehaloza với PEG4000 và glycin; 6) hỗn hợp của sucroza hoặc trehaloza với PEG4000 và leucin; 7) hỗn hợp của sucroza hoặc trehaloza với PEG4000, glycin, và leucin; và 8) glycin, nhưng chất ổn định này không chỉ giới hạn cụ thể ở các phương án này.

Chất hoạt động bề mặt chứa trong chế phẩm dạng lỏng theo sáng chế có thể là chất hoạt động bề mặt không ion. Cụ thể hơn, chất hoạt động bề mặt này có thể là polysorbat hoặc poloxame. Cụ thể là, chất hoạt động bề mặt này có thể là polysorbat 80, polysorbat 20, hoặc poloxame 188, nhưng chất hoạt động bề mặt này không chỉ giới hạn cụ thể ở các phương án này.

Trong chế phẩm nêu trên, chất hoạt động bề mặt này có thể có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1mg/mL đến 5mg/mL. Arginin chứa trong chế phẩm dạng lỏng theo sáng chế có thể có mặt ở dạng muối, và cụ thể hơn, ở dạng muối dực dụng. Cụ thể hơn, arginin có thể ở dạng arginin hydroclorua, nhưng arginin không chỉ giới hạn cụ thể ở các phương án này.

Trong chế phẩm nêu trên, arginin có thể có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 mM đến 200mM. Cụ thể hơn, arginin có thể có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 mM đến 140mM khi kháng thể này có mặt trong chế phẩm ở nồng độ 100mg/mL, trong khi đó arginin có thể có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 mM đến 100mM khi kháng thể này có mặt trong chế phẩm ở nồng độ bằng 50mg/mL, nhưng nồng độ của arginin không chỉ giới hạn cụ thể ở các phương án này. Arginin có thể được chứa như một chất làm giảm độ nhớt trong chế phẩm dạng lỏng theo sáng chế.

Bằng cách chứa arginin, chế phẩm dạng lỏng theo sáng chế có thể có độ nhớt nằm trong khoảng từ 1 cps đến 6 cps, nhưng độ nhớt không chỉ giới hạn cụ thể ở các phương án này. Độ nhớt có thể được đo bằng cách sử dụng các phương pháp khác nhau đã biết



trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, theo cách tương tự như được mô tả trong ví dụ 1, nhưng phương pháp đo này không chỉ giới hạn cụ thể ở các phương án này.

Chế phẩm dạng lỏng theo sáng chế còn có thể chứa chất chống oxy hóa. Thuật ngữ “chất chống oxy hóa” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ chất có thể có tác dụng ức chế tạo ra các tạp chất mà có thể xuất hiện bởi phản ứng oxy hóa protein ở dạng dung dịch.

Ví dụ về chất chống oxy hóa có thể bao gồm natri hydro sulfat, axit ascorbic, ascorbyl palmitat, axit xitric, butylhydroxyanisol (BHA: butylhydroxyanisole), butylhydroxytoluen (BHT: butylhydroxytoluene), thioglyxerol, propyl galat, methionin, natri ascorbat, natri xitrat, natri sulfua, natri sulfit, EDTA, và các chất chống oxy hóa khác, nhưng chất chống oxy hóa không chỉ giới hạn ở các chất này. Trong chế phẩm nêu trên, chất chống oxy hóa (cụ thể là methionin) có thể có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mM đến 50mM, nhưng chất chống oxy hóa không chỉ giới hạn cụ thể ở các phương án này.

Ngoài ra, chế phẩm dạng lỏng theo sáng chế có thể có độ pH nằm trong khoảng từ 4 đến 6, nhưng độ pH không chỉ giới hạn cụ thể ở các phương án này. Trong khi đó, chế phẩm dạng lỏng có thể có thể không chứa thêm muối và/hoặc hệ đệm, nhưng chế phẩm dạng lỏng không chỉ giới hạn cụ thể ở các phương án này. Theo một phương án không giới hạn, chế phẩm chứa kháng thể kháng TNF- $\alpha$  ở nồng độ bằng 50mg/mL hoặc cao hơn có thể có thể không chứa thêm muối và/hoặc hệ đệm. Như được khẳng định theo một phương án, chế phẩm theo sáng chế không chứa muối và hệ đệm có thể tạo ra kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha có độ ổn định tốt hơn với nhiệt, so với chế phẩm chứa muối, hệ đệm, hoặc cả hai chất này, nhưng chế phẩm theo sáng chế không chỉ giới hạn cụ thể ở các phương án này.

Trong khi đó, nếu một hệ đệm bổ sung không được bổ sung vào chế phẩm của được chất kháng thể nồng độ cao (ví dụ: thuốc có chứa kháng thể ở nồng độ bằng 50mg/mL hoặc cao hơn) hoặc chất hỗ trợ bổ sung không được bổ sung vào công thức trong một lượng như vậy làm cho áp suất thẩm thấu của dung dịch đi chệch khỏi phạm vi áp suất thẩm thấu tương tự như chất lỏng cơ thể, cơn đau tại thời điểm sử dụng thuốc có thể giảm, do đó cải thiện sự thuận tiện cho đối tượng bị bệnh. Trong khi đó, chế phẩm dạng lỏng theo sáng chế có thể có các tác dụng sau đây, nhưng các tác dụng này không chỉ giới hạn cụ thể ở các phương án này.

Chế phẩm dạng lỏng chứa arginin theo sáng chế có thể thể hiện hàm lượng tương đối thấp của các sản phẩm có khối lượng phân tử cao (HMW: high molecular weight) do ức chế tổng hợp kết tụ các protein kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha so với chế phẩm không chứa arginin; và/hoặc có thể bao gồm một lượng biến thể kháng thể axit tương đối thấp do ức chế sản xuất các biến thể kháng thể kháng axit, so với chế phẩm không chứa arginin. Cụ thể, chế phẩm dạng lỏng chứa arginin theo sáng chế có thể có tác dụng làm giảm kháng thể sinh ra bởi sự biến tính và/hoặc tác dụng làm giảm sự kết tụ và hình thành hạt khi gặp các ứng suất vật lý nhất định.

Chế phẩm dạng dung dịch chứa arginin theo sáng chế còn có thể chứa chất bảo quản. Chất bảo quản sử dụng để chỉ chất được bổ sung vào dược phẩm để có tác dụng như là chất kháng vi sinh vật. Ví dụ về chất bảo quản có thể bao gồm benzalkoni clorua, benzethoni, clohexidin, phenol, m-cresol, rượu benzylic, metyl paraben, propyl paraben, clobutanol, o-cresol, p-cresol, cloresol, phenyl-thủy ngân nitrat, thimerosal, axit benzoic, v.v., nhưng chất bảo quản không chỉ giới hạn ở đó. Các chất bảo quản này có thể được sử dụng đơn lẻ hoặc kết hợp bất kỳ của ít nhất hai loại. Chế phẩm dạng lỏng theo sáng chế có thể là ở dạng dược phẩm. Ngoài ra, chế phẩm dạng lỏng theo sáng chế có thể chứa các chất mang dược dụng khác nhau ngoài các thành phần được mô tả nêu trên.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh vẩy nến, bệnh viêm khớp vẩy nến, bệnh viêm cột sống dính trục (ví dụ, bệnh viêm cột sống dính khớp, bệnh viêm cột sống dính trục nghiêm trọng mà không có bằng chứng phóng xạ của bệnh viêm cột sống dính khớp) bệnh viêm mạch, bệnh Alzheimer, bệnh viêm loét đại tràng, bệnh viêm ruột Behcet, bệnh viêm hidradeniva suppurativa (bệnh viêm HS), bệnh viêm màng bồ đào, bệnh viêm khớp vô căn ở trẻ vị thành niên, bệnh vẩy nến mảng bám ở trẻ em, hoặc bệnh Crohn (bao gồm cả bệnh Crohn ở người lớn và bệnh Crohn ở trẻ em), nhưng các bệnh được phòng hoặc điều trị không chỉ giới hạn ở các bệnh này.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể được đưa vào cơ thể bằng cách uống hoặc sử dụng ngoài đường tiêu hóa bao gồm tiêm và truyền dưới da, tiêm bắp, tiêm màng bụng, tiêm vào xương ức, tiêm qua da, và tiêm tĩnh mạch, nhưng các phương pháp sử dụng không chỉ giới hạn ở các phương pháp này.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp sản xuất chế phẩm lỏng của kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha, bao gồm bước trộn kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha, chất ổn định, chất hoạt động bề mặt, và arginin với nhau.

Các thuật ngữ trên là như được giải thích nêu trên. Ngoài ra, rõ ràng là toàn bộ các phương án cụ thể của các thuật ngữ này cũng sẽ áp dụng cho khía cạnh này.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp cải thiện độ ổn định của kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha bằng cách sử dụng chế phẩm chứa chất ổn định, chất hoạt động bề mặt, và arginin.

Các thuật ngữ nêu trên là như được định nghĩa nêu trên. Ngoài ra, rõ ràng là toàn bộ các phương án cụ thể của các thuật ngữ này cũng sẽ áp dụng cho khía cạnh này.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp cải thiện độ ổn định của kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha bằng cách sử dụng chế phẩm chứa chất ổn định, chất hoạt động bề mặt, và arginin và chế phẩm này không chứa hệ đệm.

Các thuật ngữ nêu trên là như được định nghĩa nêu trên. Ngoài ra, rõ ràng là toàn bộ các phương án cụ thể của các thuật ngữ này cũng sẽ áp dụng cho khía cạnh này.

Chế phẩm dạng lỏng chứa kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha theo sáng chế, đặc biệt là chế phẩm dạng lỏng chứa adalimumab, có thể làm giảm quá trình hình thành các sản phẩm phụ adalimumab trong quá trình bảo quản, do đó cho phép bảo quản lâu dài. Ngoài ra, tác dụng dược lý của adalimumab có thể được bảo tồn ổn định trong một thời gian dài bằng cách ngăn chặn sự biến tính và kết tụ gây ra để đáp ứng với các tác động vật lý trong quá trình sản xuất và vận chuyển. Theo đó, chế phẩm dạng lỏng theo sáng chế có thể được sử dụng một cách hiệu quả trong lĩnh vực điều trị liên quan đến hiệu quả dược lý của adalimumab.

### **Ví dụ thực hiện sáng chế**

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn thông qua các ví dụ sau. Tuy nhiên, các ví dụ này chỉ nhằm mục đích minh họa chứa không giới hạn phạm vi của sáng chế.

#### **Ví dụ 1**

Ảnh hưởng của việc giảm độ nhớt của dung dịch adalimumab theo chất bổ trợ và kiểm chứng độ ổn định

Để kiểm chứng các chất bổ trợ được sử dụng để sản xuất chế phẩm dạng lỏng chứa adalimumab, chế phẩm 1 với thành phần sucroza (55mg/mL), methionin (5mM), polysorbat 80 (1mg/mL), và adalimumab (100mg/mL) ở độ pH bằng 5,2 được sản xuất. Ngoài ra, các chế phẩm từ 2 đến 13 được sản xuất bằng cách bổ sung mỗi chất arginin hydroclorua, lysin hydroclorua, leucin, isoleucin, phenylalanin, axit glutamic, glycin, prolin, alanin, natri clorua, canxi clorua, và magie clorua vào thành phần của chế phẩm 1, và độ nhớt của mỗi chế phẩm được đo bằng cách sử dụng thiết bị mVROC (Rheosense Inc.). Các loại và nồng độ của các chất bổ trợ được bổ sung vào các chế phẩm và độ nhớt của mỗi chế phẩm được thể hiện trong Bảng 1 và Fig.1.

Bảng 1

Chế phẩm	Chất phụ gia	Độ nhớt (cp)
Chế phẩm 1	-	3,23
Chế phẩm 2	Arginin hydroclorua (20mM)	3,04
Chế phẩm 3	Lysin hydroclorua (40mM)	3,14
Chế phẩm 4	Leucin (40mM)	3,28
Chế phẩm 5	Isoleucin (40mM)	3,26
Chế phẩm 6	Phenylalanin (15mM)	3,21
Chế phẩm 7	Axit glutamic (7,5mM)	3,07
Chế phẩm 8	Glycin (40mM)	3,20
Chế phẩm 9	Prolin (40mM)	3,20
Chế phẩm 10	Alanin (40mM)	3,21
Chế phẩm 11	Natri clorua (40mM)	3,12
Chế phẩm 12	Canxi clorua (20mM)	2,94
Chế phẩm 13	Magie clorua (20mM)	3,01

Liên quan đến độ nhớt của mỗi chế phẩm trong Bảng 1, độ nhớt của chế phẩm 1 bao gồm sucroza, methionin, polysorbat 80, và adalimumab bằng 3,23. So sánh, độ nhớt của các chế phẩm có chứa các axit amin như leucin, isoleucin, phenylalanin, glycin, và prolin nằm trong khoảng từ 3,20 đến 3,28, do đó không cho thấy sự khác biệt đáng kể so với chế phẩm 1. Ngược lại, trong trường hợp bổ sung arginin hydroclorua, lysin hydroclorua, axit glutamic, natri clorua, canxi clorua, magie clorua, v.v., đã khẳng định được rằng độ nhớt nằm trong khoảng từ 2,94 đến 3,14, do đó cho thấy sự giảm so với chế phẩm 1.

Để so sánh độ ổn định của mỗi chế phẩm, mỗi chế phẩm được khử trùng bằng cách lọc bằng bộ lọc (kích cỡ lỗ: 0,2 $\mu$ m), phân phối vào ống tiêm thủy tinh (thể tích: khoảng 1,0mL) trong mỗi lượng 0,4mL, được đậy kín và bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tháng. Sau khi bảo quản, mỗi mẫu được phân tích bằng SE-HPLC để phân tích hàm

lượng tạp chất có khối lượng phân tử cao (HMW) (ví dụ: oligome, chất kết tụ, v.v.) và tạp chất có khối lượng phân tử thấp (LMW) (tức là, các mảnh của phân tử adalimumab). Trước tiên, kết quả SE-HPLC của các chế phẩm có độ nhớt giảm (các chế phẩm 2, 3, 7, 11, 12, và 13) và chế phẩm 1 (mẫu đối chứng) được thể hiện trong Bảng 2. Ngoài ra, kết quả SE-HPLC của các chế phẩm không có thay đổi đáng kể về độ nhớt (các chế phẩm 4, 5, 6, 8, 9, và 10) và chế phẩm 1 (mẫu đối chứng) được thể hiện trong Bảng 3.

Bảng 2

	Trước khi bảo quản			Sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tháng		
	HMW (%)	LMW (%)	Tổng số (%)	HMW (%)	LMW (%)	Tổng số (%)
Chế phẩm 1	0,33	0,54	0,87	1,46	5,13	6,59
Chế phẩm 2	0,33	0,53	0,86	1,31	5,21	6,52
Chế phẩm 3	0,33	0,53	0,85	1,42	5,18	6,61
Chế phẩm 7	0,33	0,56	0,89	1,40	5,06	6,45
Chế phẩm 11	0,35	0,55	0,89	1,70	5,40	7,10
Chế phẩm 12	0,33	0,54	0,87	1,36	6,02	7,38
Chế phẩm 13	0,34	0,54	0,88	1,72	5,70	7,42

Bảng 3

	Trước khi bảo quản			Sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tháng		
	HMW (%)	LMW (%)	Tổng số (%)	HMW (%)	LMW (%)	Tổng số (%)
Chế phẩm 1	0,33	0,54	0,87	1,46	5,13	6,59
Chế phẩm 4	0,33	0,52	0,85	1,27	4,81	6,07
Chế phẩm 5	0,33	0,56	0,88	1,28	4,74	6,02
Chế phẩm 6	0,34	0,52	0,86	1,32	4,85	6,17
Chế phẩm 8	0,33	0,48	0,81	1,21	4,77	5,98
Chế phẩm 9	0,32	0,55	0,87	1,14	4,80	5,94
Chế phẩm 10	0,34	0,56	0,90	1,24	4,84	6,08

Như được thể hiện trong Bảng 2, HMW, LMW, và tổng lượng tạp chất trước khi bảo quản được thể hiện là tương đương với nhau giữa các chế phẩm. Tuy nhiên, tổng lượng tạp chất, sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tháng, bằng 7,10% với chế phẩm 11 chứa natri clorua, 7,38% với chế phẩm 12 chứa canxi clorua, và 7,42% với chế phẩm 13 chứa magie clorua, do đó cho thấy có sự tăng đáng kể so với 6,59% với chế phẩm 1 (tức là, nhóm đối chứng), tương ứng. Ngược lại, trong các trường hợp của chế phẩm 2, 3, và 7, có chứa arginin hydroclorua, lysin hydroclorua, và axit glutamic, tương ứng, tổng lượng các tạp chất sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tháng được thể hiện là nằm trong khoảng từ 6,45% đến 6,61%, do đó duy trì tổng lượng tạp chất tương tự 6,59% của chế phẩm 1 (tức là, nhóm đối chứng).

Như được thể hiện trong Bảng 3, trong các trường hợp của các chế phẩm mà các axit amin như leucin, isoleucin, phenylalanin, glycin, prolin, v.v. được bổ sung vào, tổng

lượng các tạp chất sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tháng được thể hiện là nằm trong khoảng từ 5,94% đến 6,17%, do đó cho thấy mức giảm đáng kể so với 6,59% của chế phẩm 1 (tức là, nhóm đối chứng). Từ các kết quả này, đã khẳng định được rằng các axit amin, như leucin, isoleucin, phenylalanin, glycin, prolin, v.v. có thể góp phần vào độ ổn định của adalimumab.

#### Ví dụ 2

Đánh giá độ ổn định 1 theo hàm lượng arginin hydroclorua

Để đánh giá độ ổn định của các chế phẩm adalimumab theo hàm lượng của arginin hydroclorua, các chế phẩm được sản xuất như sau. Chế phẩm 14 được sản xuất là chứa sucroza (55mg/mL), methionin (5mM), polysorbat 80 (1mg/mL), và adalimumab (100mg/mL). Các chế phẩm 15 và 16 được sản xuất bằng cách bổ sung arginin hydroclorua (20mM) và arginin hydroclorua (40mM) vào thành phần của chế phẩm 14 và đổ vào ống tiêm thủy tinh 1mL với lượng 0,4mL, tương ứng. Mỗi ống tiêm được bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tháng, sau đó được phân tích SE-HPLC để phân tích độ ổn định. Thành phần của mỗi chế phẩm và HMW có trong đó trước và sau khi bảo quản được thể hiện trong Bảng 4.

Bảng 4

Chế phẩm	Thành phần	HMW (%)	
		Trước khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tháng	Sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tháng
Chế phẩm 14	Sucroza (55mg/mL), methionin (5mM), polysorbat 80 (1mg/mL), và arginin hydroclorua (0mM)	0,17	1,00
Chế phẩm 15	Sucroza (55mg/mL), methionin (5mM), polysorbat 80 (1mg/mL), và arginin hydroclorua (20mM)	0,17	0,82
Chế phẩm 16	Sucroza (55mg/mL), methionin (5mM), polysorbat 80 (1mg/mL), và arginin hydroclorua (40mM)	0,16	0,82

Liên quan đến kết quả SE-HPLC trong Bảng 4, khi hàm lượng arginin hydroclorua đã tăng từ 0mM (chế phẩm 14) đến 20mM (chế phẩm 15) và 40mM (chế phẩm 16), lượng HMW của các mẫu trước khi bảo quản là tương đương với nhau, nằm trong khoảng từ 0,16% đến 0,17%. Tuy nhiên, hàm lượng của HMW sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tháng bằng 1,00% với chế phẩm 14 (không chứa arginin hydroclorua), và 0,82% với chế phẩm 15 và 16 (chứa 20mM arginin hydroclorua và

40mM arginin hydroclorua, tương ứng), do đó cho thấy các chế phẩm chứa 20mM arginin hydroclorua và 40mM arginin hydroclorua đã làm giảm nồng độ HMW so với chế phẩm chứa không arginin hydroclorua. Theo đó, đã khẳng định được rằng arginin hydroclorua có tác dụng phòng ngừa chống lại hiện tượng kết tụ adalimumab.

### Ví dụ 3

So sánh quá trình hình thành các biến thể điện tích của kháng thể theo hàm lượng arginin

Để so sánh mức độ hình thành các biến thể điện tích của kháng thể theo hàm lượng arginin, chế phẩm chứa arginin và chế phẩm không chứa arginin được sản xuất, bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng, và các đặc tính tạo ra các biến thể điện tích được so sánh bằng CEX-HPLC. Mỗi chế phẩm và hàm lượng của các biến thể điện tích trước và sau khi bảo quản được thể hiện ở Bảng 5.

Bảng 5

Chế phẩm	Thành phần	Trước khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng				Sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng			
		Axit	K0	K1	Bazo	Axit	K0	K1	Bazo
A	Sucroza (55mg/mL), methionin (5mM), polysorbat 80 (1mg/mL), và adalimumab (100mg/mL)	13,36	70,77	12,44	3,44	33,39	51,58	10,70	4,33
B	Sucroza (55mg/mL), methionin (5mM), polysorbat 80 (1mg/mL), adalimumab (100mg/mL), và arginin hydroclorua (20mM)	13,15	71,14	12,41	3,30	31,31	52,51	11,16	5,01

Chế phẩm A được sản xuất để chứa sucroza (55mg/mL), methionin (5mM), polysorbat 80 (PS80: 1mg/mL), và adalimumab (100mg/mL), và chế phẩm B được sản xuất để chứa thêm arginin hydroclorua (20mM) ngoài thành phần chế phẩm A. Hàm lượng của biến thể axit của chế phẩm này trước khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng là tương đương với nhau. Khi so sánh hai chế phẩm này sau khi bảo quản, đã khẳng định được rằng chế phẩm B chứa arginin hydroclorua có hàm lượng biến thể axit của kháng thể thấp hơn và hàm lượng K0 cao hơn so với chế phẩm A. Theo đó, đã khẳng định được rằng arginin hydroclorua làm giảm quá trình hình thành các biến thể axit của adalimumab.

## Ví dụ 4

Các chế phẩm theo loại chất hoạt động bề mặt và so sánh độ ổn định của các chế phẩm này

Để so sánh độ ổn định của chế phẩm dạng lỏng chứa adalimumab theo loại chất hoạt động bề mặt, các chế phẩm có các thành phần sau được sản xuất. Tương tự như chế phẩm 14 của ví dụ 2, chế phẩm 17 được sản xuất để chứa sucroza (55mg/mL), methionin (5mM), polysorbat 80 (1mg/mL), và adalimumab (100mg/mL). Ngoài ra, chế phẩm 18 và 19 được sản xuất bằng cách thay đổi loại chất hoạt động bề mặt này thành polysorbat 20 và poloxame 188 trong khi cô định lượng chất hoạt động bề mặt là như nhau. Mỗi chế phẩm được khử trùng bằng cách lọc, đổ vào mỗi ống tiêm thủy tinh 1mL với lượng 0,4mL, và bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng. Lượng tạp chất của HMW và LMW trong các mẫu trước và sau khi bảo quản được phân tích bằng SE-HPLC. Các thành phần của các chế phẩm 17 đến 19 và hàm lượng SE-HPLC của các chế phẩm này trước và sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng được phân tích và các kết quả được thể hiện trong Bảng 6.

Bảng 6

		Trước khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng			Sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng		
		HMW (%)	LMW (%)	Tổng số (%)	HMW (%)	LMW (%)	Tổng số (%)
Chế phẩm 17	Sucroza (55mg/mL), methionin (5mM), polysorbat 80 (1mg/mL), độ pH bằng 5,2	0,14	0,37	0,51	0,46	2,05	2,52
Chế phẩm 18	Sucroza (55mg/mL), methionin (5mM), polysorbat 20 (1mg/mL), độ pH bằng 5,2	0,15	0,38	0,53	0,45	2,04	2,49
Chế phẩm 19	Sucroza (55mg/mL), Methionin (5mM), poloxame 188 (1mg/mL), độ pH bằng 5,2	0,15	0,37	0,53	0,44	1,99	2,43

Liên quan đến kết quả của Bảng 6, hàm lượng của HMW và LMW trước và sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng không thay đổi đáng kể theo các loại chất hoạt động bề mặt. Tức là, độ ổn định của các chế phẩm chứa polysorbat 80, chế phẩm chứa polysorbat 20, và chế phẩm chứa poloxame 188 là tương đương với nhau. Theo đó,



đã khẳng định được rằng tác dụng của polysorbat 80, polysorbat 20, và poloxame 188 đến độ ổn định của adalimumab là tương đương với nhau.

#### Ví dụ 5

Các chế phẩm theo các loại rượu đa chức và so sánh độ ổn định của các chế phẩm này

Để so sánh độ ổn định của chế phẩm dạng lỏng chứa adalimumab theo các loại rượu đa chức, các chế phẩm có các thành phần sau đây được sản xuất. Tương tự như chế phẩm 14 của ví dụ 2, chế phẩm 20 được sản xuất để chứa sucroza (55mg/mL), methionin (5mM), polysorbat 80 (1mg/mL), và adalimumab (100mg/mL) (tương tự như Chế phẩm 17 trong ví dụ 4). Ngoài ra, các chế phẩm 21 đến 23 được sản xuất bằng cách thay đổi loại rượu đa chức thành trehaloza, PEG400, và PEG4000 trong khi cố định tổng lượng rượu đa chức là như nhau. Mỗi chế phẩm được khử trùng bằng cách lọc, đổ vào mỗi ống tiêm thủy tinh 1mL với lượng 0,4mL, và bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng. Lượng các tạp chất HMW và LMW trong các mẫu trước và sau khi bảo quản được phân tích bằng SE-HPLC. Các thành phần của các chế phẩm 20 đến 23 và hàm lượng SE-HPLC của các chế phẩm này trước và sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng được phân tích và các kết quả được thể hiện trong Bảng 7.

Bảng 7

		Trước khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng			Sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng		
		HMW (%)	LMW (%)	Tổng số (%)	HMW (%)	LMW (%)	Tổng số (%)
Chế phẩm 20	Sucroza (55mg/mL), methionin (5mM), và polysorbat 80 (1mg/mL), độ pH bằng 5,2	0,14	0,37	0,51	0,46	2,05	2,52
Chế phẩm 21	Trehaloza (55mg/mL), methionin (5mM), và Polysorbat 80 (1mg/mL), độ pH bằng 5,2	0,14	0,36	0,50	0,46	2,03	2,49
Chế phẩm 22	PEG400 (55mg/mL), methionin (5mM), và polysorbat 80 (1mg/mL), độ pH bằng 5,2	0,16	0,38	0,54	0,62	2,02	2,63
Chế phẩm 23	PEG4000 (55mg/mL), methionin (5mM), và polysorbat 80 (1mg/mL), độ pH bằng 5,2	0,17	0,37	0,53	0,85	2,05	2,90

Liên quan đến các kết quả của Bảng 7, có thể thấy rằng hàm lượng của HMW và LMW thay đổi đáng kể theo các loại rượu đa chức trước và sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng. Hàm lượng tạp chất HMW và LMW của toàn bộ các chế phẩm này

là tương đương với nhau trước khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 1 tháng. Tuy nhiên, sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng, các chế phẩm 20 đến 22, mà chứa sucroza, trehaloza, và PEG400, tương ứng, cho thấy hàm lượng HMW tương đối thấp so với chế phẩm 23, có chứa PEG4000. Hàm lượng LMW được thể hiện là tương đương với nhau trong các chế phẩm này. Theo đó, đã khẳng định được rằng có sự khác biệt về độ ổn định giữa các chế phẩm tùy thuộc vào loại rượu đa chức được sử dụng, và trong số này, sucroza và trehaloza được chứng minh là có hiệu quả hơn trong cải thiện độ ổn định so với các loại rượu đa chức khác.

#### Ví dụ 6

So sánh độ ổn định giữa các chế phẩm bao gồm rượu đa chức, arginin, methionin, chất hoạt động bề mặt, và chất ổn định bổ sung và chế phẩm Humira® có bán trên thị trường

Các mẫu được sản xuất thông qua các chế phẩm khác nhau bằng cách thay đổi các loại chất hoạt động bề mặt và rượu đa chức, trong sự có mặt/vắng mặt chất ổn định bổ sung, hàm lượng arginin hydroclorua, v.v. trong chế phẩm có 5 mM methionin được sử dụng làm chất ổn định, và thành phần của chế phẩm Humira® được sản xuất. Các mẫu này được bảo quản ở nhiệt độ 40°C và sau đó được phân tích SE-HPLC để so sánh độ ổn định giữa các chế phẩm này. Thành phần của mỗi chế phẩm được thể hiện trong Bảng 8, và hàm lượng của các tạp chất trước và sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tháng được thể hiện trong Bảng 9.

Bảng 8

Chế phẩm	Thành phần
24	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (0mM), polysorbat 80 (1mg/mL), sucroza (55mg/mL)
25	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (20mM), polysorbat 80 (1mg/mL), sucroza (55mg/mL)
26	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), polysorbat 80 (1mg/mL), sucroza (55mg/mL)
27	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), poloxame 188 (1mg/mL), sucroza (55mg/mL),
28	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), poloxame 188 (1mg/mL), sucroza (55mg/mL), glycin (20mM)
29	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), poloxame 188 (1mg/mL), sucroza (55mg/mL), leucin (20mM)
30	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), poloxame 188 (1mg/mL), sucroza (55mg/mL), glycin (10mM), leucin (10mM)
31	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), poloxame 188

	(1mg/mL), trehaloza (55mg/mL)
32	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), poloxame 188 (1mg/mL), trehaloza (55mg/mL), glycin (20mM)
33	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), poloxame 188 (1mg/mL), trehaloza (55mg/mL), leucin (20mM)
34	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), poloxame 188 (1mg/mL), trehaloza (55mg/mL), glycin (10mM), leucin (10mM)
35	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), poloxame 188 (1mg/mL), sucroza (27,5mg/mL), PEG4000 (27,5mg/mL)
36	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), poloxame 188 (1mg/mL), sucroza (27,5mg/mL), PEG4000 (27,5mg/mL), glycin (20mM)
37	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), poloxame 188 (1mg/mL), sucroza (27,5mg/mL), PEG4000 (27,5mg/mL), leucin (20mM)
38	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), poloxame 188 (1mg/mL), sucroza (27,5mg/mL), PEG4000 (27,5mg/mL), glycin (10mM), leucin (10mM)
39	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), poloxame 188 (1mg/mL), trehaloza (27,5mg/mL), PEG4000 (27,5mg/mL)
40	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), poloxame 188 (1mg/mL), trehaloza (27,5mg/mL), PEG4000 (27,5mg/mL), glycin (20mM)
41	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), poloxame 188 (1mg/mL), trehaloza (27,5mg/mL), PEG4000 (27,5mg/mL), leucin (20mM)
42	Adalimumab (100mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), poloxame 188 (1mg/mL), trehaloza (27,5mg/mL), PEG4000 (27,5mg/mL), glycin (10mM), leucin (10mM)
43	Adalimumab (100mg/mL), chế phẩm Humira® có bán trên thị trường
44	Adalimumab (50mg/mL), methionin (5mM), arginin hydroclorua (40mM), polysorbat 80 (1mg/mL), sucroza (55mg/mL)
45	Adalimumab (50mg/mL), chế phẩm Humira® có bán trên thị trường*

\*Chế phẩm Humira® có bán trên thị trường: natri phosphat monobazo dihydrat (0,86mg/mL), natri phosphat dibazo dihydrat (1,53mg/mL), natri xitrat (0,3mg/mL), axit xitric monohydrat (1,3mg/mL), manitol (12mg/mL), natri clorua (6,16mg/mL), polysorbat 80 (PS80) (1mg/mL), độ pH bằng 5,2

Bảng 9

Chế phẩm	Trước khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tháng			Sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tháng		
	HMW (%)	LMW (%)	Tổng số (%)	HMW (%)	LMW (%)	Tổng số (%)
24	0,17	0,44	0,60	1,00	4,42	5,43
25	0,17	0,45	0,62	0,82	4,49	5,32
26	0,16	0,41	0,57	0,82	4,69	5,52
27	0,17	0,43	0,60	0,85	4,57	5,42
28	0,17	0,45	0,61	0,77	4,55	5,32
29	0,16	0,44	0,60	0,80	4,55	5,34
30	0,17	0,44	0,60	0,79	4,54	5,33
31	0,17	0,45	0,62	0,76	4,58	5,34
32	0,17	0,45	0,62	0,73	4,55	5,28
33	0,17	0,43	0,60	0,76	4,55	5,31
34	0,16	0,44	0,60	0,76	4,57	5,33
35	0,18	0,45	0,62	0,99	4,56	5,55
36	0,17	0,44	0,61	1,06	4,50	5,56
37	0,17	0,43	0,61	1,02	4,50	5,52
38	0,18	0,44	0,62	0,95	4,47	5,42
39	0,17	0,43	0,61	0,96	4,52	5,48
40	0,17	0,44	0,62	0,97	4,51	5,48
41	0,17	0,42	0,59	0,99	4,50	5,49

42	0,18	0,43	0,61	0,99	4,55	5,55
43	0,29	0,44	0,73	1,44	5,52	6,95
44	0,19	0,43	0,62	0,50	4,62	5,12
45	0,29	0,45	0,74	1,15	5,66	6,81

Như được thể hiện trong Bảng 8, sucroza, trehaloza, hỗn hợp của sucroza và PEG4000, và hỗn hợp của trehaloza và PEG4000 được sử dụng làm rượu đa chức, trong khi đó polysorbat 80 và poloxame 188 được sử dụng làm các chất hoạt động bề mặt. Arginin được sử dụng ở nồng độ 0mM, 20mM, hoặc 40mM, và để khẳng định vai trò của chất bổ trợ bổ sung, các chế phẩm được thiết kế bằng cách sử dụng glycin (Gly), leucin (Leu), hoặc hỗn hợp của glycin và leucin, và độ ổn định của các chế phẩm adalimumab thu được (100mg/mL) được so sánh với độ ổn định của chế phẩm Humira® có bán trên thị trường. Ngoài ra, đối với độ ổn định của adalimumab (50mg/mL), chế phẩm Humira® có bán trên thị trường được so sánh với thành phần của chế phẩm 44, là tương tự như chế phẩm 26 chỉ khác hàm lượng adalimumab. Kết quả so sánh độ ổn định trong các chế phẩm trong Bảng 9 đã khẳng định được rằng toàn bộ các chế phẩm này có độ ổn định tuyệt vời so với chế phẩm Humira® có bán trên thị trường. Tổng hàm lượng tạp chất trước khi bảo quản nằm trong khoảng từ 0,57 đến 0,74 và tương đương với nhau. Tuy nhiên, đối với độ ổn định của các chế phẩm sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tháng, đã khẳng định được rằng các chế phẩm khác có hàm lượng tạp chất của adalimumab thấp hơn so với chế phẩm Humira® có bán trên thị trường có hàm lượng adalimumab 100mg/mL (chế phẩm 43) và chế phẩm Humira® có bán trên thị trường có hàm lượng adalimumab 50mg/mL (chế phẩm 45).

Theo đó, đã khẳng định được rằng các chế phẩm theo sáng chế, mà bao gồm các rượu đa chức và chất hoạt động bề mặt khác nhau, arginin hydroclorua, và chất ổn định bổ sung, là ổn định hơn chế phẩm Humira® có bán trên thị trường, xét về việc gia tăng tạp chất. Ngoài ra, trong khi tổng hàm lượng tạp chất là cao hơn khoảng 0,4% trong chế phẩm theo Ví dụ 5 sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng khi PEG 4000 được sử dụng làm rượu đa chức trong ví dụ 5 so với chế phẩm trong đó sucroza hoặc trehaloza được sử dụng làm rượu đa chức, trong các chế phẩm của ví dụ này, tổng hàm lượng tạp chất của adalimumab khi sucroza hoặc trehaloza được sử dụng cùng với PEG4000, mặc dù sau thời gian bảo quản 2 tháng, được thể hiện là tương tự với các chế phẩm trong đó sucroza hoặc trehaloza được sử dụng đơn lẻ. Theo đó, đã khẳng định được rằng khi chất bổ trợ bổ sung được bổ sung để thu được tác dụng bổ sung

như chống oxy hóa, v.v., việc thay thế một phần sucroza hoặc trehaloza bằng PEG, mà có khối lượng phân tử cao hơn, có thể được sử dụng làm phương pháp để duy trì áp suất thẩm thấu và độ ổn định.

#### Ví dụ 7

Đánh giá độ ổn định so sánh của chế phẩm Humira® có bán trên thị trường và các chế phẩm chứa arginin hydroclorua đáp ứng lại ứng suất cơ học

Để so sánh độ ổn định của chế phẩm Humira® có bán trên thị trường và các chế phẩm chứa arginin hydroclorua đáp ứng lại ứng suất cơ học, các chế phẩm với thành phần sau được sản xuất và nạp qua bơm pit-tông quay, và bằng cách đó số hạt trước và sau khi qua bơm được đánh giá. Ngoài ra, để kiểm chứng xem các hạt đo được có nguồn gốc từ adalimumab, giả dược được sản xuất bằng cách chỉ loại trừ chỉ adalimumab trong thành phần của mỗi mẫu, được phép đi qua bơm pit-tông quay trong cùng điều kiện, và do đó số lượng hạt trước và sau qua bơm được đánh giá. Để đánh giá số lượng hạt, một thiết bị hình ảnh dòng vi mô từ Protein Simple được sử dụng. Thành phần của mỗi mẫu được thể hiện trong Bảng 10 và số lượng hạt của mỗi mẫu và giả dược của chúng trước và sau khi qua bơm được thể hiện trong Bảng 11 và Fig.2.

Bảng 10

Chế phẩm 46	Adalimumab (100mg/mL), sucroza (55mg/mL), arginin hydroclorua (40mM), methionin (5mM), polysorbat 80 (1mg/mL), độ pH bằng 5,2
Chế phẩm 47	Adalimumab (50mg/mL), sucroza (55mg/mL), arginin hydroclorua (40mM), methionin (5mM), polysorbat 80 (1mg/mL), độ pH bằng 5,2
Chế phẩm 48	Adalimumab (50mg/mL), natri phosphat monobazơ dihydrat (0,86mg/mL), natri phosphat dibazơ dihydrat (1,53mg/mL), natri xitrat (0,3mg/mL), axit xitric monohydrat (1,3mg/mL), manitol (12mg/mL), natri clorua (6,16mg/mL), polysorbat 80 (PS80) (1mg/mL), độ pH bằng 5,2 (thành phần của chế phẩm Humira® có bán trên thị trường)

Bảng 11

	Nồng độ hạt (#/mL)			
	Giả dược		Mẫu (chứa adalimumab)	
	Trước khi nạp qua bơm	Sau khi nạp qua bơm	Trước khi nạp qua bơm	Sau khi nạp qua bơm
Chế phẩm 46	2667	3618	699	85743
Chế phẩm 47	2667	3618	769	53734
Chế phẩm 48	1213	7938	1917	150617

Như được thể hiện trong Bảng 10, các chế phẩm 46 và chế phẩm 47 có cùng thành phần chất bổ trợ, và hàm lượng adalimumab của chế phẩm 46 bằng 100mg/mL

và chế phẩm 47 là 50mg/mL. Trong trường hợp của chế phẩm 48, thành phần và hàm lượng adalimumab được điều chỉnh tương tự như của chế phẩm Humira® có bán trên thị trường. Mỗi chế phẩm được đưa qua bơm pit-tông quay và số lượng hạt trước và sau khi nạp qua bơm được phân tích. Kết quả là, như được thể hiện trong Bảng 11 và Fig.2, đã khẳng định được rằng chế phẩm 46 có 85743 hạt/mL và chế phẩm 47 có 53734 hạt/mL, và chế phẩm 46 có hàm lượng adalimumab cao có số lượng hạt cao hơn so với chế phẩm 47 có hàm lượng adalimumab thấp.

Ngược lại, trong trường hợp của chế phẩm 48, tức là, chế phẩm Humira® có bán trên thị trường, số lượng hạt đi qua bơm bằng 150617 hạt/mL, do đó cho thấy số lượng hạt cao hơn so với các chế phẩm 46 và 47. Ngoài ra, nồng độ hạt của giả dược của toàn bộ các chế phẩm sau khi bơm qua bằng 3618 hạt/mL và 7938 hạt/mL, và do đó, đã xác nhận rằng các hạt được đo trong các mẫu chứa adalimumab sau khi bơm qua được lấy từ adalimumab. Theo đó, đã khẳng định được rằng các chế phẩm chứa arginin hydroclorua có thể bảo vệ hiệu quả adalimumab đáp ứng lại ứng suất cơ học, so với chế phẩm Humira® có bán trên thị trường.

#### Ví dụ 8

Thử nghiệm hiệu quả làm giảm độ nhớt theo nồng độ arginin hydroclorua để kiểm tra phạm vi nồng độ arginin mà tại đó độ nhớt của dung dịch adalimumab có thể được giảm khi bổ sung arginin, các thử nghiệm được thực hiện như sau. Các mẫu được sản xuất để chứa adalimumab (100mg/mL) và polysorbat 80 (1mg/mL), hoặc adalimumab (50mg/mL) và polysorbat 80 (1mg/mL) được sử dụng làm nhóm đối chứng không chứa arginin hydroclorua (ArgHCl). Các mẫu chứa arginin hydroclorua được sản xuất bằng cách tăng dần nồng độ arginin hydroclorua được bổ sung vào mỗi thành phần của nhóm đối chứng thêm 20mM lên đến 180mM (nồng độ cuối cùng) được sử dụng làm nhóm thử nghiệm. Độ pH của toàn bộ các mẫu là khoảng 5,2. Độ nhớt của các mẫu sản xuất được đo bằng thiết bị mVROC từ Rheosense. Kết quả đo độ nhớt được thể hiện trong Bảng 12.

#### Bảng 12

ArgHCl (mM)	Adalimumab (100mg/mL) (Đơn vị: cp)	Adalimumab (50mg/mL) (Đơn vị: cp)
0	<b>2,71</b>	<b>1,47</b>
20	2,59	1,42
40	2,59	1,42
60	2,62	1,42
80	2,62	1,45
100	2,63	<b>1,48</b>
120	2,67	1,49
140	<b>2,70</b>	1,50
160	2,75	1,52
180	2,79	1,54

Trong Bảng 12, xem xét độ nhớt của các chế phẩm trong đó adalimumab (100mg/mL), polysorbat80 (1mg/mL), và arginin hydroclorua (ArgHCl) ở các nồng độ khác nhau được bổ sung vào, độ nhớt của dung dịch chứa adalimumab (100mg/mL) và polysorbat 80 (1mg/mL) mà không có ArgHCl bằng 2,71 cp. Khi ArgHCl được bổ sung vào dung dịch ở nồng độ cuối cùng nằm trong khoảng từ 20mM đến 120mM, đã khẳng định được rằng độ nhớt của các chế phẩm này giảm so với chế phẩm mà ArgHCl không được bổ sung vào. Trong trường hợp ArgHCl được bổ sung vào ở độ kết hợp cuối cùng bằng 140mM, độ nhớt của chế phẩm tương tự như khi không bổ sung ArgHCl. Trong trường hợp ArgHCl được bổ sung vào ở nồng độ cuối cùng nằm trong khoảng từ 160mM trở lên, hiệu ứng giảm độ nhớt không được quan sát thấy và độ nhớt được tăng lên so với chế phẩm mà ArgHCl không được bổ sung vào.

Trong trường hợp các chế phẩm chứa adalimumab (50mg/mL) và polysorbat 80 (1mg/mL), độ nhớt của dung dịch không chứa ArgHCl bằng 1,47 cp, và trong trường hợp ArgHCl được bổ sung vào ở nồng độ 20mM đến 80mM, độ nhớt nằm trong khoảng từ 1,42 đến 1,45, do đó thấp hơn so với chế phẩm mà ArgHCl không được bổ sung vào. Trong trường hợp ArgHCl được bổ sung vào ở nồng độ cuối cùng bằng 100mM, độ nhớt tương tự như khi không bổ sung ArgHCl, và trong trường hợp ArgHCl được bổ sung vào ở nồng độ cuối cùng bằng 120mM hoặc cao hơn, độ nhớt được tăng lên so với trong trường hợp ArgHCl không được bổ sung vào. Theo đó, đã khẳng định được rằng trong trường hợp dung dịch adalimumab (100mg/mL), độ nhớt có thể được giảm bằng cách bổ sung ArgHCl ở nồng độ 140mM hoặc nhỏ hơn, và trong trường hợp dung dịch adalimumab (50mg/mL), độ nhớt có thể được giảm bằng cách bổ sung ArgHCl ở nồng độ 100mM hoặc nhỏ hơn.

Ví dụ 9

Thử nghiệm 1 kiểm chứng tác dụng của hệ đệm và muối trong các chế phẩm adalimumab

Để xác định ảnh hưởng của hệ đệm và muối đến độ ổn định của adalimumab, các mẫu chế phẩm không có hệ đệm và muối được sản xuất, và các mẫu chế phẩm trong đó một hệ đệm hoặc muối được bổ sung vào các chế phẩm trên được sản xuất và các chế phẩm này được bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tuần và 1 tháng. Độ ổn định của các mẫu này được so sánh bằng SE-HPLC và độ pH của mỗi mẫu được đo.

Bảng 13

Chế phẩm	Thành phần	Muối và hệ đệm bổ sung	Thời điểm 0			Sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tuần			Sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng		
			HMW	LMW	Tổng số	HMW	LMW	Tổng số	HMW	LMW	Tổng số
A-1	Adalimumab (100mg/mL), pS80 (1mg/mL), độ pH bằng 5,2	Không hệ đệm/không muối	0,36	0,38	0,74	0,47	1,19	1,66	0,65	2,04	2,69
A-2		Natri phosphat/ natri xitrat (hệ đệm Humira® có bán trên thị trường)*	0,38	0,39	0,76	0,59	1,25	1,84	0,92	2,27	3,19
A-3		NaCl (100mM)	0,37	0,41	0,78	0,66	1,42	2,09	0,86	2,50	3,35
A-4		Amoni sulfat (100mM)	0,37	0,41	0,78	0,50	1,42	1,92	0,69	2,54	3,24
A-5		Natri sulfat (100mM)	0,39	0,41	0,80	0,54	1,41	1,95	0,75	2,49	3,24
A-6	Adalimumab (50mg/mL), pS80 (1mg/mL), độ pH bằng 5,2	Không hệ đệm/không muối	0,37	0,40	0,77	0,28	1,21	1,49	0,38	2,03	2,41
A-7		Natri phosphat/ natri xitrat (hệ đệm Humira® có bán trên thị trường)*	0,38	0,41	0,79	0,43	1,27	1,69	0,66	2,20	2,86
A-8		NaCl (100mM)	0,38	0,42	0,80	0,43	1,38	1,81	0,63	2,50	3,13
A-9		Amoni sulfat (100mM)	0,39	0,41	0,80	0,38	1,45	1,83	0,53	2,58	3,10
A-10		Natri sulfat (100mM)	0,39	0,44	0,83	0,40	1,45	1,85	0,55	2,51	3,05

\*Hệ đệm, tức là chế phẩm Humira® có bán trên thị trường: natri phosphat monobazơ dihydrat (0,86mg/mL), natri phosphat dibazơ dihydrat (1,53mg/mL), natri xitrat (0,3mg/mL), axit xitric monohydrat (1,3mg/mL)



Bảng 13 thể hiện các kết quả phân tích SE-HPLC về thành phần của các mẫu tại thời điểm 0 của mỗi mẫu, sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 2 tuần và sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 1 tháng. Chế phẩm A-1 được sản xuất để chứa adalimumab (100mg/mL) và PS80 (1mg/mL), và các chế phẩm A-2 đến A-5 được sản xuất để chứa hệ đệm hoặc muối trong chế phẩm A-1. Ngoài ra, các chế phẩm A-6 đến A-10 được sản xuất bằng cách điều chỉnh nồng độ adalimumab của chế phẩm A-1~A-5 thành 50mg/mL. Xem xét kết quả phân tích SE-HPLC của mỗi mẫu, khi Chế phẩm A-1 không có hệ đệm và chế phẩm A-2 có hệ đệm được so sánh (hoặc các chế phẩm A-6 và A-7 với nồng độ adalimumab khác nhau được so sánh), nhận thấy rằng các chế phẩm không có hệ đệm có sự gia tăng nhỏ hơn về HMW và LMW, do đó kiểm chứng rằng các chế phẩm này ổn định hơn. Ngoài ra, khi so sánh các chế phẩm A-1 và A-6 và các chế phẩm chứa muối bao gồm NaCl, amoni sulfat, natri sulfat, v.v., nhận thấy rằng các chế phẩm không có muối có mức tăng HMW và LMW nhỏ hơn so với các chế phẩm có muối. Theo đó, đã khẳng định được rằng xét trên từ khía cạnh độ ổn định, tốt hơn nếu các chế phẩm adalimumab không chứa muối. Ngoài ra, toàn bộ các mẫu được duy trì để có độ pH không đổi 5,2 trước khi bảo quản, 2 tuần sau khi bảo quản, và 1 tháng sau khi bảo quản. Theo đó, đã khẳng định được rằng adalimumab ở nồng độ bằng 50mg/mL hoặc cao hơn có tác dụng đệm nội tại đủ, do đó không cần sử dụng hệ đệm và bằng cách không sử dụng hệ đệm, có thể tạo ra các chế phẩm có độ ổn định được cải thiện.

#### Ví dụ 10

Thử nghiệm 2 khẳng định tác dụng của hệ đệm và muối trong chế phẩm adalimumab

Để xác định ảnh hưởng của hệ đệm và muối đến độ ổn định của adalimumab, các mẫu chế phẩm bao gồm adalimumab (100mg/mL hoặc 50mg/mL), chất ổn định (sucroza (55mg/mL) hoặc glycin (160mM)), arginin hydroclorua (ArgHCl: 50mM), methionin (5mM), và polysorbat 80 (1mg/mL) được sản xuất, và các mẫu chế phẩm trong đó hệ đệm hoặc muối được bổ sung vào các chế phẩm nêu trên được sản xuất. Để so sánh, các mẫu có chế phẩm Humira® có bán trên thị trường chứa adalimumab (100mg/mL) hoặc adalimumab (50mg/mL) được sản xuất, và mỗi chế phẩm được đổ vào ống tiêm thủy tinh với lượng 0,4mL mỗi ống tiêm, được bảo quản ở nhiệt độ 55°C trong một tuần, và độ ổn

định được so sánh bằng SE-HPLC và độ pH được đo. Thành phần và hàm lượng monome trước và sau khi bảo quản ở nhiệt độ 55°C trong 1 tuần được thể hiện trong Bảng 14.

Bảng 14

	Chế phẩm	Muối và hệ đệm bổ sung	Hàm lượng monome (%)	
			Trước khi bảo quản ở nhiệt độ 55°C trong một tuần	Sau khi bảo quản ở nhiệt độ 55°C trong một tuần
A-11	Adalimumab	-	98,9	94,8
A-12	(100mg/mL),	Natri clorua (NaCl) (100mM)	98,8	94,7
A-13	sucroza	Amoni sulfat (100mM)	98,9	94,6
A-14	(55mg/mL),	Magie clorua (MgCl <sub>2</sub> ) (100mM)	98,9	94,7
A-15	ArgHCl	Canxi clorua (CaCl <sub>2</sub> ) (100mM)	98,8	94,7
A-16	(50mM), met (5mM), pS80 (1mg/mL), độ pH bằng 5,2	Natri axetat (20mM)	98,9	94,1
A-17	Adalimumab	-	98,9	95,2
A-18	(100mg/mL),	Natri clorua (100mM)	98,9	94,8
A-19	gly (160mM),	Amoni sulfat (100mM)	98,9	94,8
A-20	ArgHCl	Magie clorua (100mM)	98,9	94,8
A-21	(50mM), met	Canxi clorua (100mM)	98,8	94,6
A-22	(5mM), pS80 (1mg/mL), độ	Natri phosphat/natri xitrat (hệ đệm Humira® có bán trên thị trường)**	98,9	94,9
A-23	pH bằng 5,2	Natri axetat (20mM)	98,9	94,0
A-24	Adalimumab (100mg/mL), chế phẩm Humira® có bán trên thị trường*		98,8	93,9
A-25	Adalimumab	-	99,0	95,2
A-26	(50mg/mL),	Natri clorua (100mM)	98,9	94,8
A-27	sucroza	Amoni sulfat (100mM)	98,9	94,8
A-28	(55mg/mL),	Magie clorua (100mM)	98,9	95,0
A-29	ArgHCl	Canxi clorua (100mM)	98,9	94,4
A-30	(50mM), met (5mM), pS80 (1mg/mL), độ	Natri phosphat/natri xitrat (hệ đệm Humira® có bán trên thị trường)**	98,9	94,9
A-31	pH bằng 5,2	Natri axetat (20mM)	98,9	93,5
A-32	Adalimumab	-	99,0	95,6
A-33	(50mg/mL),	Natri clorua (100mM)	98,9	95,4
A-34	gly (160mM),	Amoni sulfat (100mM)	98,9	95,0
A-35	ArgHCl	Magie clorua (100mM)	98,9	94,9
A-36	(50mM), met	Canxi clorua (100mM)	98,8	94,7
A-37	(5mM), pS80 (1mg/mL), độ	Natri phosphat/natri xitrat (hệ đệm Humira® có bán trên thị trường)**	98,9	95,3
A-38	pH bằng 5,2	Natri axetat (20mM)	98,9	93,6
A-39	Adalimumab (50mg/mL), chế phẩm Humira® có bán trên thị		98,9	93,6

trường*			
*Chế phẩm Humira® có bán trên thị trường: natri phosphat monobazo dihydrat (0,86mg/mL), natri phosphat điaxit dihydrat (1,53mg/mL), natri xitrat (0,3mg/mL), axit xitric monohydrat (1,3mg/mL), manitol (12mg/mL), natri clorua (6,16mg/mL), PS80 (1mg/mL)			
**Hệ đệm Humira® có bán trên thị trường: natri phosphat monobazo dihydrat (0,86mg/mL), natri phosphat dibazo dihydrat (1,53mg/mL), natri xitrat (0,3mg/mL), axit xitric monohydrat (1,3mg/mL)			

Trước tiên, toàn bộ các mẫu được duy trì để có độ pH không đổi 5,2 trước và sau khi bảo quản ở nhiệt độ 55°C trong 1 tuần. Theo đó, đã khẳng định được rằng adalimumab ở nồng độ bằng 50mg/mL hoặc cao hơn có tác dụng đệm nội tại đủ trong các chế phẩm và các chế phẩm tương tự của chúng trong Bảng 14. Như được thể hiện trong Bảng 14, hàm lượng monome của các mẫu là tương đương với nhau, nằm trong khoảng từ 98,8% đến 99,0%. Sau khi bảo quản ở nhiệt độ 55°C trong 1 tuần, hàm lượng monome được thể hiện là khác nhau phụ thuộc vào chế phẩm. Hàm lượng monome của mẫu A-11, với thành phần adalimumab (100mg/mL), sucroza (55mg/mL), ArgHCl (50mM), methionin (5mM), và polysorbat 80 (1mg/mL), bằng 94,8% sau khi bảo quản. Tuy nhiên, trong trường hợp các mẫu A-12 đến A-16, trong đó hệ đệm là muối natri clorua, amoni sulfat, magie clorua, và canxi clorua, hoặc natri xitrat được sử dụng, hàm lượng monome sau khi bảo quản nằm trong khoảng từ 94,1% đến 94,7%, là thấp hơn so với của mẫu có thành phần trong đó không sử dụng muối và hệ đệm. Trong trường hợp mẫu A-17, trong đó Gly (160mM) được sử dụng làm chất ổn định thay vì sucroza, hàm lượng monome sau khi bảo quản bằng 95,2%; tuy nhiên, trong trường hợp các mẫu A-18 đến A-23, trong đó muối và hệ đệm được sử dụng, hàm lượng monome sau khi bảo quản nằm trong khoảng từ 94,0% đến 94,9%, như vậy là thấp hơn so với mẫu có thành phần trong đó không sử dụng muối và hệ đệm. Ngay cả trong trường hợp trong đó chế phẩm được sản xuất bằng cách giảm hàm lượng của adalimumab xuống 50mg/mL, khi sucroza được sử dụng làm chất ổn định không sử dụng muối và hệ đệm (tức là, mẫu A-25), thì hàm lượng monome sau khi bảo quản bằng 95,2%, và khi glycin (Gly) được sử dụng làm chất ổn định mà không sử dụng muối và hệ đệm (tức là, mẫu A-32), hàm lượng monome sau khi bảo quản bằng 95,6%. Tuy nhiên, khi muối/hệ đệm bổ sung được sử dụng trong mỗi chế phẩm, trong trường hợp các chế phẩm (các mẫu A-26 đến A-31) trong đó có chứa sucroza, hàm lượng monome sau khi bảo quản nằm trong khoảng từ 93,5% đến 95,0%, và trong trường hợp các chế phẩm (các mẫu A-33 đến A-38) trong đó có chứa Gly, hàm lượng monome sau khi bảo quản nằm trong khoảng từ 93,6% đến 95,4%, do đó

điều này chứng tỏ rằng hàm lượng monome của các chế phẩm trong đó có sử dụng muối/hệ đệm bổ sung là thấp hơn so với hàm lượng trong chế phẩm trong đó không sử dụng muối và hệ đệm. Theo đó, đã khẳng định được rằng khi muối và hệ đệm bổ sung không được sử dụng trong các chế phẩm trong đó có adalimumab, arginin, chất ổn định, và chất hoạt động bề mặt, độ ổn định của adalimumab có thể được cải thiện, và có thể tạo ra chế phẩm với độ ổn định được cải thiện bằng cách sử dụng tác dụng đệm nội tại của chính adalimumab, mà không cần sử dụng hệ đệm bổ sung. Tuy nhiên, khi so với các mẫu A-24 và A-39, với chế phẩm Humira® có bán trên thị trường có cùng hàm lượng adalimumab, hàm lượng monome của các chế phẩm trong đó có muối và hệ đệm, sau khi bảo quản ở nhiệt độ 55°C trong 1 tuần, là lớn hơn so với các mẫu của chế phẩm Humira® sau khi bảo quản ở nhiệt độ 55°C trong 1 tuần. Theo đó, xét trên khía cạnh độ ổn định tốt hơn nếu không sử dụng muối và hệ đệm bổ sung trong chế phẩm adalimumab trong đó có chứa arginin, chất hoạt động bề mặt, và chất ổn định; tuy nhiên, đã khẳng định được rằng các chế phẩm chứa arginin, chất hoạt động bề mặt, và chất ổn định là ổn định hơn so với chế phẩm Humira® có bán trên thị trường, cho dù các chế phẩm này có chứa muối và hệ đệm bổ sung hay không.

#### Ví dụ 11

Thử nghiệm khẳng định tác dụng ổn định do rượu đa chức trong các chế phẩm adalimumab

Để so sánh tác dụng ổn định của các rượu đa chức, mà được sử dụng để cải thiện độ ổn định của adalimumab trong dung dịch, dung dịch adalimumab (112mg/mL adalimumab) và chế phẩm chứa adalimumab ở nồng độ 112mg/mL và mỗi loại rượu đa chức ở nồng độ 42mg/mL được sản xuất như sau. Hàm lượng của HMW, LMW, và monome được phân tích bằng cách sử dụng SE-HPLC sau khi lặp lại 5 chu trình kết đông/rã đông và 10 chu trình kết đông/rã đông ở nhiệt độ -70°C và 5°C, tương ứng.

Bảng 15

Chế phẩm	Thời điểm 0			5 chu trình kết đông /rã đông			10 chu trình kết đông /rã đông		
	HMW (%)	LMW (%)	Tổng số (%)	HMW (%)	LMW (%)	Tổng số (%)	HMW (%)	LMW (%)	Tổng số (%)
Không bổ sung rượu đa chức	0,40	0,42	0,82	1,63	0,49	2,13	2,08	0,37	2,45
Manitol (42mg/mL)	0,39	0,41	0,80	0,51	0,48	0,99	0,65	0,36	1,01
Sucroza (42mg/mL)	0,38	0,41	0,79	0,35	0,47	0,82	0,34	0,34	0,68
Trehaloza (42mg/mL)	0,38	0,41	0,79	0,35	0,47	0,82	0,35	0,35	0,70

Bảng 15 thể hiện các chế phẩm của các mẫu, và các kết quả của phân tích SE-HPLC các mẫu theo thời điểm lấy mẫu của kiểm tra độ ổn định. Trong các kết quả nêu trên, khi mỗi mẫu được cho đến chu trình kết đông/rã đông lặp lại, sự tăng HMW và LMW trong các chế phẩm trong đó có bổ sung manitol, sucroza, hoặc trehaloza có xu hướng giảm đi so với chế phẩm trong đó không bổ sung rượu đa chức, điều này khẳng định các rượu đa chức có tác dụng ổn định. Khi so sánh tác dụng ổn định của mỗi loại rượu đa chức, khi bổ sung sucroza hoặc trehaloza, hàm lượng của HMW và LMW là tương tự với các mẫu trước khi trải qua quá trình kết đông/rã đông, và ngoài ra, độ tinh khiết được thể hiện là tương đương với độ tinh khiết trước khi kết đông/rã đông ngay cả sau khi thực hiện 10 chu trình kết đông/rã đông, điều này khẳng định tác dụng ổn định đáng kể của rượu đa chức. Ngược lại, trong trường hợp mẫu chứa manitol, khi mẫu được đưa tới chu trình kết đông/rã đông lặp lại, đã khẳng định được rằng hàm lượng HMW có xu hướng tăng lên và độ tinh khiết của mẫu giảm đi trong chu trình kết đông/rã đông. Theo đó, đã khẳng định được rằng sucroza và trehaloza tác dụng ổn định tốt hơn so với manitol.

#### Ví dụ 12

Thử nghiệm kết đông/rã đông của chế phẩm adalimumab để xác định và so sánh tác dụng ổn định của arginin, methionin, glycin, và sucroza

Để xác định tác động của arginin, methionin, glycin, và sucroza đến độ ổn định trong chu trình kết đông/rã đông của dung dịch gốc, các mẫu được sản xuất như được nêu dưới đây. Mỗi mẫu với lượng 1mL được bổ sung vào lọ polycarbonat (5mL), được trải qua 5 chu trình kết đông/rã đông khi sản xuất, và ở nhiệt độ  $-70^{\circ}\text{C}$  và  $5^{\circ}\text{C}$ , tương ứng, và được phân tích bằng cách sử dụng SE-HPLC. Thành phần của mỗi mẫu và các kết quả SE-HPLC của mỗi mẫu trước và sau chu trình kết đông/rã đông được thể hiện dưới đây.

Bảng 16

Thành phần	Chất ổn định bổ sung				Trước khi kết đông/rã đông			Sau 5 chu trình kết đông/rã đông		
	ArgHCl (mM)	Gly (mM)	Met (mM)	Sucroza (mg/mL)	HMW	LMW	Tổng số	HMW	LMW	Tổng số
Adalimumab (130mg/mL), polysorbat 80 (1mg/mL)	-	-	-	-	0,32	0,40	0,72	1,76	0,28	2,04
	50	-	-	-	0,36	0,39	0,74	0,67	0,31	0,98
	50	-	5	-	0,34	0,37	0,71	0,67	0,33	1,00
	50	-	25	-	0,33	0,34	0,67	0,52	0,33	0,85
	50	160	5	-	0,34	0,36	0,70	0,41	0,31	0,73

	50	140	25	-	0,33	0,34	0,66	0,43	0,33	0,75
	50	0	5	55	0,34	0,35	0,69	0,41	0,29	0,70

Các mẫu được sản xuất để chứa adalimumab (130mg/mL) và polysorbat 80 (1mg/mL), và để chứa chất ổn định bổ sung vào đó. Hàm lượng của các tạp chất của mỗi mẫu trước chu trình kết đông/rã đông được thể hiện là tương đương với nhau xét về HMW và LMW. Sau chu trình kết đông/rã đông, hàm lượng LMW được thể hiện là tương đương với nhau trong toàn bộ các mẫu; tuy nhiên, hàm lượng HMW được thể hiện là thay đổi phụ thuộc loại và hàm lượng của chất ổn định bổ sung. Trong trường hợp mẫu trong đó không cho chất ổn định bổ sung, hàm lượng HMW sau khi thực hiện 5 chu trình kết đông/rã đông tăng đáng kể lên đến 1,76%, trong khi đó trong trường hợp mẫu chứa arginin hydrochlorua (50mM), hàm lượng HMW sau khi thực hiện 5 chu trình kết đông/rã đông giảm đáng kể xuống 0,67%. Trong trường hợp chế phẩm trong đó có bổ sung methionin ngoài ra arginin hydrochlorua (50mM), không nhận thấy sự giảm thêm hàm lượng HMW khi chế phẩm chứa methionin ở nồng độ bằng 5 mM, trong khi đó hàm lượng HMW giảm thêm một lượng khoảng 0,52% khi chế phẩm chứa methionin ở nồng độ 25 mM. Trong các trường hợp trong đó có bổ sung glycin hoặc sucroza ngoài arginin hydrochlorua và methionin, đã khẳng định được rằng hàm lượng HMW sau khi thực hiện 5 chu trình kết đông/rã đông giảm thêm để nằm trong khoảng từ 0,41% đến 0,43%, và cả chế phẩm chứa glycin và chế phẩm chứa sucroza có độ ổn định tương tự nhau. Theo đó, đã khẳng định được rằng toàn bộ các chất methionin, arginin, glycin, và sucroza có tác động đóng góp cho độ ổn định của adalimumab. Ngoài ra, đã khẳng định được rằng có thể thu được mức độ ổn định tương tự khi chế phẩm được tạo ra bằng kết hợp thích hợp bằng cách sử dụng rượu đa chức hoặc axit amin làm chất ổn định.

### Ví dụ 13

Thử nghiệm so sánh độ ổn định trong các chế phẩm chứa glycin, chế phẩm chứa sucroza, và chế phẩm Humira® có bán trên thị trường

Để so sánh độ ổn định của các chế phẩm chứa glycin, chế phẩm chứa sucroza, và chế phẩm Humira® có bán trên thị trường, các mẫu được sản xuất để chứa adalimumab ở nồng độ 100mg/mL hoặc 50mg/mL, arginin hydrochlorua (ArgHCl) ở nồng độ bằng 50mM, polysorbat 80 (PS80) ở nồng độ 1mg/mL, và methionin ở nồng độ 5mM, và sau đó, các mẫu khác được sản xuất bằng cách bổ sung glycin, hỗn hợp của glycin và methionin, hoặc sucroza làm chất ổn định bổ sung vào các chế phẩm nêu trên. Ngoài ra,

các mẫu được sản xuất có chế phẩm Humira® có bán trên thị trường và chứa adalimumab ở nồng độ 100mg/mL hoặc 50mg/mL. Mỗi trong số các mẫu nêu trên được bổ sung vào ống tiêm thủy tinh có dung tích 1 ml với lượng 0,4mL cho mỗi ống tiêm. Sau khi bảo quản mỗi ống tiêm ở nhiệt độ 40°C trong 4 tuần, hàm lượng HMW và LMW của mỗi mẫu được phân tích bằng SE-HPLC. Thành phần của mỗi chế phẩm và các kết quả SE-HPLC được thể hiện trong Bảng 17.

Bảng 17

Thành phần	Chất ổn định bổ sung	Trước khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 4 tuần			Sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 4 tuần		
		HMW	LMW	Total	HMW	LMW	Tổng số
Adalimumab (100mg/mL), Arg-HCl (50mM), PS80 (1mg/mL), Met (5mM)	-	0,28	0,39	0,67	0,54	2,44	2,99
	Gly (120mM)	0,27	0,41	0,68	0,56	2,42	2,99
	Gly (160mM)	0,28	0,42	0,69	0,54	2,37	2,91
	Gly (100mM), Met (20mM)	0,26	0,40	0,67	0,54	2,40	2,94
	Gly (120mM), Met (20mM)	0,27	0,39	0,65	0,53	2,46	2,99
	Gly (140mM), Met (20mM)	0,28	0,43	0,70	0,49	2,32	2,81
	Sucroza (55mg/mL)	0,27	0,40	0,67	0,48	2,51	2,99
Adalimumab (100mg/mL), chế phẩm Humira® có bán trên thị trường		0,40	0,40	0,80	0,98	3,05	4,03
Adalimumab (50mg/mL), Arg-HCl (50mM), PS80 (1mg/mL), Met (5mM)	-	0,27	0,38	0,64	0,35	2,36	2,71
	Gly (120mM)	0,26	0,38	0,64	0,35	2,29	2,64
	Gly (160mM)	0,28	0,43	0,71	0,32	2,26	2,58
	Gly (100mM), Met (20mM)	0,26	0,39	0,64	0,33	2,33	2,66
	Gly (120mM), Met (20mM)	0,25	0,36	0,61	0,34	2,38	2,71
	Gly (140mM), Met (20mM)	0,27	0,43	0,70	0,30	2,26	2,56
	Sucroza (55mg/mL)	0,26	0,38	0,64	0,31	2,33	2,64
Adalimumab (50mg/mL), chế phẩm Humira® có bán trên thị trường		0,43	0,41	0,84	0,82	3,23	4,06

Các mẫu với thành phần chứa arginin hydroclorua, polysorbat 80, methionin, và adalimumab cho mức độ ổn định tương tự trước khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 4 tuần. Trong khi đó, các mẫu với chế phẩm Humira® có bán trên thị trường cho hàm lượng HMW cao hơn khoảng 0,1% khi sản xuất và so sánh với các mẫu khác. Xét về tổng hàm lượng HMW và LMW sau khi bảo quản, toàn bộ các mẫu chứa arginin hydroclorua cho giá trị tương đối thấp: đó là, 2,81% đến 2,99% khi có adalimumab ở nồng độ 100mg/mL; và 2,56% đến 2,71% khi có adalimumab ở nồng độ bằng 50mg/mL. Tuy nhiên, trong trường hợp chế phẩm Humira® có bán trên thị trường, tổng hàm lượng HMW và LMW sau khi bảo quản là 4,03% khi có adalimumab ở nồng độ 100mg/mL; và 4,06% khi có adalimumab ở nồng độ bằng 50mg/mL, do đó có hàm lượng HMW và

LMW cao hơn, so với các mẫu có thành phần chứa arginin. Theo đó, đã khẳng định được rằng các chế phẩm chứa kết hợp các chất bổ trợ được mô tả trong các ví dụ của sáng chế; đó là, các chế phẩm chứa arginin và các chế phẩm chứa rượu đa chức hoặc axit amin là chất ổn định bổ sung là tốt hơn chế phẩm Humira® có bán trên thị trường xét về độ ổn định.

#### Ví dụ 14

Thử nghiệm so sánh độ ổn định của các chế phẩm adalimumab theo nồng độ của adalimumab, sucroza, glycin, leucin, methionin, natri clorua (NaCl), và arginin

Để so sánh độ ổn định của chế phẩm adalimumab, các mẫu có thành phần khác nhau được sản xuất bằng hỗn hợp của adalimumab, arginin hydroclorua (ArgHCl), natri clorua (NaCl), polysorbat 80 (PS80), methionin (Met), sucroza, glycin (Gly), và leucin (Leu). Ngoài ra, các mẫu được sản xuất để thu được chế phẩm Humira® có bán trên thị trường và chứa adalimumab ở nồng độ 100mg/mL hoặc 50mg/mL cho mục đích so sánh. Mỗi chế phẩm được bổ sung vào ống tiêm thủy tinh 1mL với lượng 0,4mL, được bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 4 tuần, và hàm lượng monome trước và sau khi bảo quản được phân tích bằng SE-HPLC. Thành phần và các kết quả SE-HPLC được thể hiện dưới đây.

Bảng 18

	Thành phần								Hàm lượng monome (%)	
	Adalimumab (mg/mL)	ArgHCl (mM)	NaCl (mM)	Met (mM)	PS80 (mg/mL)	Sucroza (mg/mL)	Gly (mM)	Leu (mM)	Trước khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 4 tuần	Sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 4 tuần
A-40	100	50		5	1	55			99,29	97,15
A-41	100	50		5	1	45			99,33	97,16
A-42	100	50		25	1	45			99,30	97,14
A-43	100	50		5	1	45	20		99,30	97,18
A-44	100	50		5	1	45		20	99,30	97,12
A-45	100	50		5	1	35			99,30	97,06
A-46	100	50		25	1	35			99,30	97,14
A-47	100	50		25	1	35	40		99,33	97,09
A-48	100	50		25	1	35	20	20	99,29	97,23
A-49	100	50		5	1	25			99,31	97,11
A-50	100	50		25	1	25			99,32	97,13
A-51	100	50		25	1	25	60		99,30	97,17
A-52	100	50		25	1	25	40	20	99,31	97,17
A-53	100	50		5	1				99,31	97,06
A-54	100	50		25	1				99,32	97,13



A-55	100	50		25	1		140		99,30	97,04	
A-56	100	50	50	5	1	25			99,31	96,96	
A-57	100	50	50	15	1	25			99,28	96,93	
A-58	100	50	50	25	1	25			99,27	96,89	
A-59	100	25	60	5	1	25			99,30	96,88	
A-60	100	25	60	35	1	25			99,29	97,00	
A-61	100	25	60	5	1	35			99,27	96,85	
A-62	100	Chế phẩm Humira® có bán trên thị trường								99,29	95,64
A-63	50	50		5	1	55			99,30	97,23	
A-64	50	50		5	1	45			99,30	97,21	
A-65	50	50		25	1	45			99,31	97,28	
A-66	50	50		5	1	45	20		99,30	97,30	
A-67	50	50		5	1	45		20	99,30	97,32	
A-68	50	50		5	1	35			99,30	97,23	
A-69	50	50		25	1	35			99,31	97,23	
A-70	50	50		25	1	35	40		99,30	97,27	
A-71	50	50		25	1	35	20	20	99,30	97,34	
A-72	50	50		5	1	25			99,31	97,15	
A-73	50	50		25	1	25			99,30	97,24	
A-74	50	50		25	1	25	60		99,30	97,32	
A-75	50	50		25	1	25	40	20	99,31	97,26	
A-76	50	50		5	1				99,29	97,25	
A-77	50	50		25	1				99,30	97,33	
A-78	50	50		25	1		140		99,29	97,33	
A-79	50	50		25	1		120	20	99,31	97,38	
A-80	50	50	50	5	1	25			99,29	97,06	
A-81	50	50	50	15	1	25			99,30	96,90	
A-82	50	50	50	25	1	25			99,27	97,02	
A-83	50	25	60	5	1	25			99,30	96,81	
A-84	50	25	60	35	1	25			99,30	97,00	
A-85	50	25	60	5	1	35			99,29	96,92	
A-86	50	Chế phẩm Humira® có bán trên thị trường								99,29	95,47
*Chế phẩm Humira® có bán trên thị trường: natri phosphat monobazơ dihydrat (0,86mg/mL), natri phosphat dibazơ dihydrat (1,53mg/mL), natri xitrat (0,3mg/mL), axit xitric monohydrat (1,3mg/mL), manitol (12mg/mL), natri clorua (6,16mg/mL), PS80 (1mg/mL)											

Hàm lượng monome của toàn bộ các mẫu trước khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C là tương đương với nhau, nằm trong khoảng từ 99,27% đến 99,33%, đối với mọi chế phẩm. Đối với hàm lượng monome của các mẫu (A-40 đến A-61) chứa adalimumab (100mg/mL) sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 4 tuần, trong trường hợp các mẫu (A-40 đến A-55) trong đó không chứa natri clorua, hàm lượng monome nằm trong khoảng từ 97,04% đến 97,23%, trong khi đó trong trường hợp các mẫu chứa natri clorua (A-56 đến A-61 loại trừ A-62 là chế phẩm Humira®), hàm lượng monome nằm trong khoảng từ 96,85% đến 97,00%, do đó cho thấy hàm lượng monome hơi thấp hơn so với các chế phẩm trong đó không chứa natri clorua. Tuy nhiên, sự khác biệt hàm lượng monome giữa các mẫu này theo hàm lượng của natri clorua, sucroza, methionin, glycin, và leucin sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 4 tuần được thể hiện là tương đối không đáng kể, và hàm lượng monome của các chế phẩm (A-40 đến A-61) được thể hiện là cao hơn 95,64%, hàm lượng monome của A-62, là chế phẩm Humira® chứa adalimumab ở

cùng nồng độ, một lượng ít nhất bằng 1%. Trong trường hợp trong đó có adalimumab ở nồng độ bằng 50mg/mL, các kết quả phân tích là tương tự như các chế phẩm trong đó có adalimumab ở nồng độ 100mg/mL. Đối với hàm lượng monome của các mẫu chứa adalimumab (50mg/mL) (A-63 đến A-85) sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 4 tuần, trong trường hợp các mẫu A-63 đến A-79, trong đó không chứa natri clorua, hàm lượng monome nằm trong khoảng từ 97,15% đến 97,38%, trong khi đó trong trường hợp các mẫu chứa natri clorua (A-80 đến A-85, ngoại trừ A-86, mà là chế phẩm Humira®), hàm lượng monome nằm trong khoảng từ 96,81% đến 97,06%, do đó thể hiện hàm lượng monome hơi thấp hơn so với các chế phẩm trong đó không chứa natri clorua. Tuy nhiên, sự khác biệt về hàm lượng monome giữa các mẫu này tùy theo hàm lượng của natri clorua, sucroza, methionin, glycin, và leucin sau khi bảo quản ở nhiệt độ 40°C trong 4 tuần được thể hiện là tương đối không đáng kể, và hàm lượng monome của các chế phẩm này (A-63 đến A-85) được thể hiện là cao hơn 95,47%, hàm lượng monome của A-86, là chế phẩm Humira® chứa adalimumab ở cùng nồng độ, một lượng ít nhất 1%. Theo đó, đã khẳng định được rằng các hỗn hợp của các chất bổ trợ và chế phẩm của chúng được mô tả trong các ví dụ thực hiện sáng chế, đó là các chế phẩm chứa arginin, tốt hơn chế phẩm Humira® có bán trên thị trường xét về độ ổn định.

Từ phần mô tả nêu trên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể hiểu rằng sáng chế có thể bao gồm các dạng cụ thể khác mà không làm thay đổi dấu hiệu cơ bản của sáng chế. Về khía cạnh này, các phương án cụ thể nêu trên chỉ nhằm mục đích minh họa chứ không giới hạn phạm vi của sáng chế. Ngược lại, sáng chế bao gồm không chỉ các phương án cụ thể mà cả các thay thế, cải biến, biến đổi tương đương khác nhau, và các phương án khác nằm trong phạm vi của sáng chế như được xác định trong bộ yêu cầu bảo hộ kèm theo.

**YÊU CẦU BẢO HỘ**

1. Chế phẩm dạng lỏng chứa kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mg/mL đến 250mg/mL, chất ổn định, chất hoạt động bề mặt không ion, chất chống oxy hóa, và arginin,

trong đó chất ổn định được chọn từ nhóm bao gồm:

(i) rượu đa chức là sucroza hoặc trehaloza;

(ii) rượu đa chức là polyetylen glycol có khối lượng phân tử trung bình số nằm trong khoảng từ 200 đến 600 hoặc polyetylen glycol có khối lượng phân tử trung bình số nằm trong khoảng từ 1000 đến 8000;

(iii) axit amin không phải là arginin, axit amin này là glycin hoặc leucin; và

(iv) hỗn hợp của ít nhất hai trong số các chất nêu ở mục (i) đến (iii),

trong đó chất hoạt động bề mặt không ion là polysorbat 80, polysorbat 20, hoặc poloxame 188, và

trong đó chế phẩm dạng lỏng này không chứa hệ đệm, trong đó chất chống oxy hóa là methionin.

2. Chế phẩm dạng lỏng theo điểm 1, trong đó rượu đa chức có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1mg/mL đến 100mg/mL.

3. Chế phẩm dạng lỏng theo điểm 1, trong đó axit amin không phải là arginin có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mM đến 300mM.

4. Chế phẩm dạng lỏng theo điểm 1, trong đó chất hoạt động bề mặt không ion có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1mg/mL đến 5mg/mL.

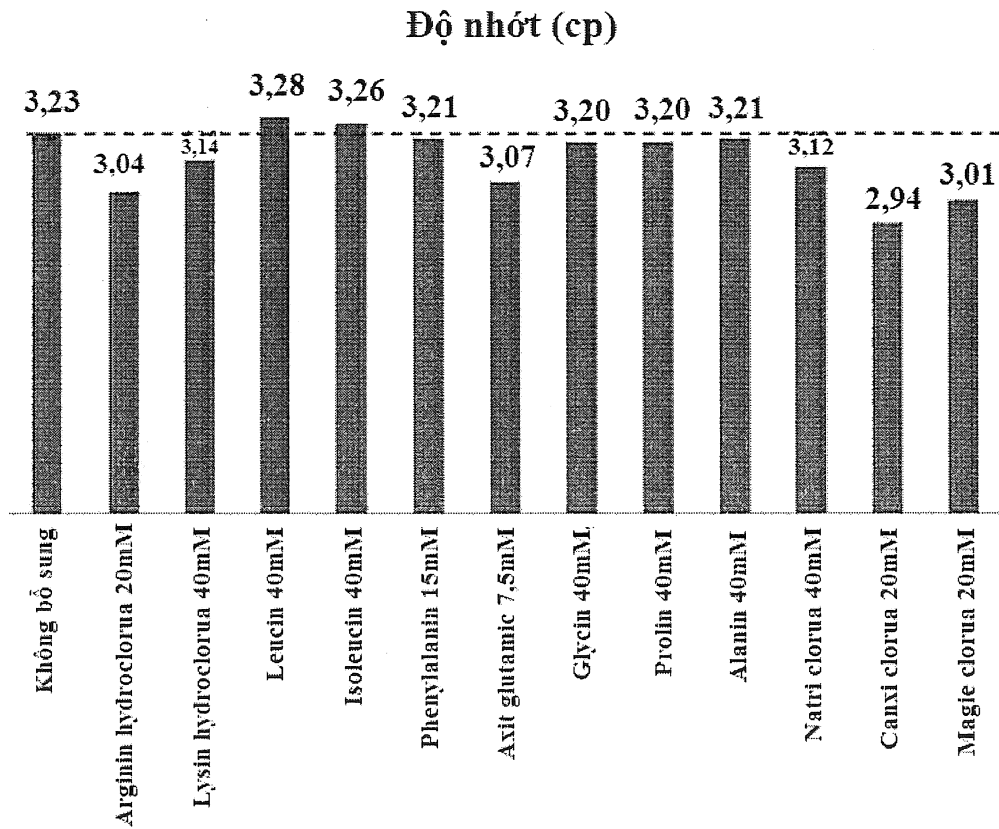
5. Chế phẩm dạng lỏng theo điểm 1, trong đó arginin là ở dạng muối.

6. Chế phẩm dạng lỏng theo điểm 5, trong đó arginin là ở dạng arginin hydroclorua.

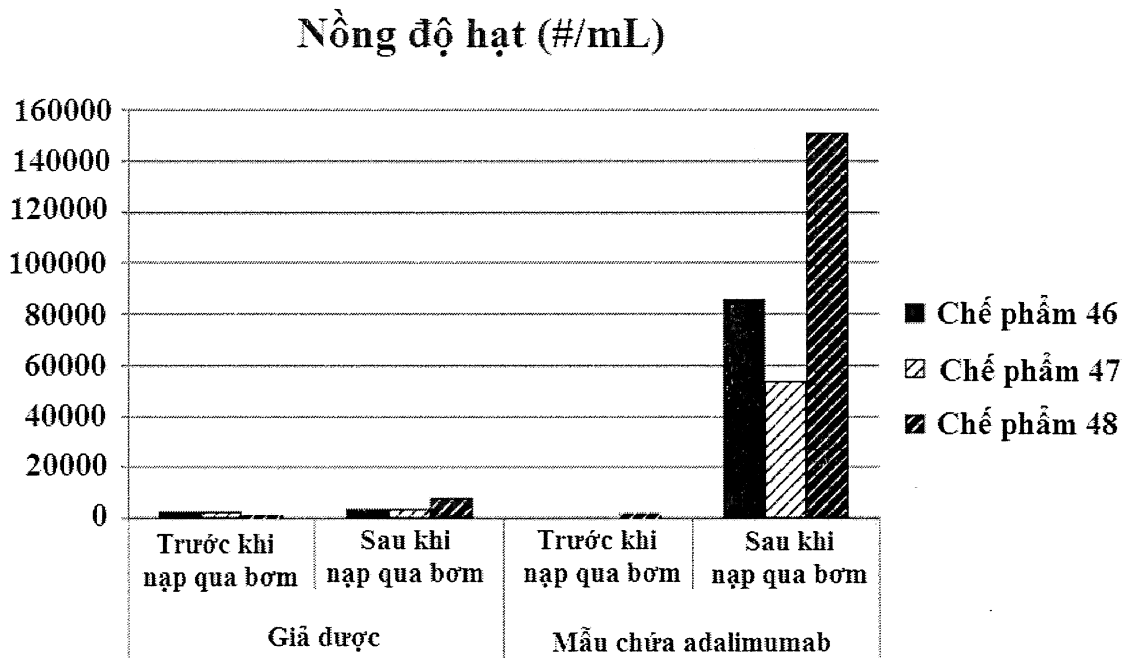
7. Chế phẩm dạng lỏng theo điểm 1, trong đó arginin có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1mM đến 200mM.

8. Chế phẩm dạng lỏng theo điểm 1, trong đó kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha adalimumab.

9. Chế phẩm dạng lỏng theo điểm 1, trong đó kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 50mg/mL đến 200mg/mL.
10. Chế phẩm dạng lỏng theo điểm 1, trong đó methionin có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mM đến 50mM.
11. Chế phẩm dạng lỏng theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10, trong đó chế phẩm dạng lỏng này có độ pH nằm trong khoảng từ 4 đến 6.
12. Chế phẩm dạng lỏng theo điểm 1, trong đó chế phẩm dạng lỏng này chứa kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mg/mL đến 250mg/mL; rượu đa chức ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1mg/mL đến 100mg/mL; chất hoạt động bề mặt không ion ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1mg/mL đến 5mg/mL; và arginin ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1mM đến 200mM.
13. Chế phẩm dạng lỏng theo điểm 1, trong đó chế phẩm dạng lỏng này chứa kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mg/mL đến 250mg/mL; axit amin không phải là arginin ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mM đến 300mM; chất hoạt động bề mặt không ion ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1mg/mL đến 5mg/mL; và arginin ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1mM đến 200mM.
14. Phương pháp sản xuất chế phẩm dạng lỏng theo điểm 1, bao gồm bước trộn kháng thể kháng yếu tố hoại tử khối u alpha ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1mg/mL đến 250mg/mL, chất ổn định, chất hoạt động bề mặt không ion, chất chống oxy hóa, và arginin, trong đó chất chống oxy hóa là methionin.



**Fig.1**



**Fig.2**