

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

CAO THỊ THANH THẢO

NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ HỆ THỐNG NỘI TRONG DẠ DÀY
VÀ PHÓNG THÍCH KÉO DÀI VỚI CLARITHROMYCIN

LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

TP.HỒ CHÍ MINH, Năm 2023

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

CAO THỊ THANH THẢO

NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ HỆ THỐNG NỘI TRONG DẠ DÀY
VÀ PHÓNG THÍCH KÉO DÀI VỚI CLARITHROMYCIN

NGÀNH: CÔNG NGHỆ DƯỢC PHẨM – BÀO CHẾ THUỐC

MÃ SỐ: 62720402

LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. PGS.TS. HOÀNG MINH CHÂU
2. PGS.TS. NGUYỄN NGỌC KHÔI

TP. HỒ CHÍ MINH, Năm 2023

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi, các kết quả nghiên cứu được trình bày trong luận án là trung thực, khách quan và chưa từng được công bố ở bất kỳ nơi nào.

Tác giả luận án

Cao Thị Thanh Thảo

MỤC LỤC

Lời cam đoan	i
Danh mục chữ viết tắt VÀ THUẬT NGỮ ANH – VIỆT	v
Danh mục các bảng	vii
DANH MỤC CÁC HÌNH	ix
danh mục ĐỒ THỊ, SƠ ĐỒ	x
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN.....	3
1.1. CLA.....	3
1.1.1. Hoạt chất CLA	3
1.1.2. Cấu trúc hóa học	3
1.1.3. Tính chất vật lý	4
1.1.4. Tính chất dược lý	4
1.1.5. Dược động học.....	4
1.1.6. CLA trong phác đồ điều trị H. pylori	5
1.2. Phương pháp định lượng CLA.....	8
1.3. Hệ thống phân phối thuốc nội trong dạ dày	10
1.3.1. Khái niệm dạng thuốc nội.....	12
1.3.2. Phân loại thuốc nội	12
1.3.3. Các yếu tố tác động thuốc nội trong dạ dày	16
1.4. Cập nhật tình hình nghiên cứu thuốc nội trong dạ dày.....	21
1.4.1. Tình hình nghiên cứu thuốc nội trên thế giới	21
1.4.2. Phát triển công thức thuốc với sự trợ giúp của máy tính.....	33
1.4.3. Thiết kế công thức có cấu trúc khung matrix kiểm soát sự PTHC.....	35
1.5. Phương pháp đánh giá thời gian nội in vitro và in vivo	36
1.5.1. Phương pháp đánh giá thời gian nội in vitro	36
1.5.2. Phương pháp đánh giá thời gian nội in vivo.....	36
1.5.3. Đánh giá nồng độ thuốc CLA trong huyết tương Chó cỏ.....	40
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	41
2.1. Đối tượng nghiên cứu	41

2.2. Nguyên vật liệu, trang thiết bị nghiên cứu	41
2.3. Phương pháp nghiên cứu	45
2.3.1. Xây dựng và thẩm định được quy trình định lượng CLA nguyên liệu và thành phẩm.....	45
2.3.2. Xây dựng công thức và quy trình bào chế viên nén CLA 500 mg có đặc tính nổi để kéo dài thời gian lưu giữ trong dạ dày và kiểm soát sự phóng thích thuốc 12 giờ	54
2.3.3. Nâng cấp cỡ lô và theo dõi độ ổn định của thành phẩm.....	61
2.3.4. Xây dựng quy trình thử nghiệm in vivo trên Chó cỏ.....	63
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	67
3.1. Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng CLA nguyên liệu và thành phẩm	67
3.1.1. Kết quả phương pháp định lượng CLA	67
Sắc ký đồ Kết quả phương pháp định lượng CLA xem Phụ lục 1.	68
Sắc ký đồ Kết quả phương pháp định lượng CLA xem Phụ lục 14.	69
3.1.2. Kết quả xác định giới hạn tạp liên quan của CLA nguyên liệu.....	72
3.1.3. Kết quả thẩm định quy trình định lượng CLA trong thử độ hòa tan.....	73
3.2. Xây dựng công thức và quy trình bào chế viên nén CLA 500 mg có đặc tính nổi để kéo dài thời gian lưu giữ trong dạ dày và kiểm soát sự phóng thích thuốc 12 giờ.....	78
3.2.1. Tiền nghiên cứu	78
3.2.2. Thiết kế và tối ưu hóa công thức viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày	87
3.3. Nâng cấp cỡ lô và theo dõi độ ổn định	90
3.3.1. Quy trình sản xuất viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày.....	91
3.3.2. Kết quả theo dõi độ ổn định của thuốc	94
3.4. Xây dựng quy trình thử nghiệm in vivo trên Chó cỏ	95
3.4.1. Kết quả đặc tính nổi in vivo của viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày.....	95
3.4.2. Kết quả đánh giá nồng độ CLA trong huyết tương	97

4.1. Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng CLA nguyên liệu và thành phẩm	100
4.2. Xây dựng công thức và quy trình bào chế viên nén CLA 500 mg có đặc tính nổi để kéo dài thời gian lưu giữ trong dạ dày và kiểm soát sự phóng thích thuốc 12 giờ.....	103
4.3. Nâng cấp cỡ lô và theo dõi độ ổn định thành phẩm	118
4.4. Xây dựng quy trình thử nghiệm in vivo trên Chó cỏ	120
KẾT LUẬN	124
Tài liệu tham khảo	126

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT VÀ THUẬT NGỮ ANH – VIỆT

ADR	<i>Adverse drug reaction</i>	Phản ứng có hại của thuốc
ASEAN	<i>Association of Southeast Asean Nations</i>	Hiệp hội các Quốc gia Đông Nam Á
AUC	Area under the curve	Diện tích dưới đường cong
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>	Hiệp hội hóa chất
CLA	CLA	
CMC	<i>Carboxymethyl cellulose</i>	
CV	Coefficient of variation	Hệ số biến thiên
CYP	Cytochrome P450	Hệ thống gồm 50 loại enzym
DDS	Drug delivery systems	Hệ thống phân phối thuốc
ĐDVN		Dược điển Việt Nam
Di- SGC	Di- Sodium Glycine Carbonat	Muối natri của acid carbonic
FDSDS	Floating drug delivery systems	Hệ thống thuốc nổi
FLT	Floating Lag Time	Tiềm thời nổi
GRDDS	Gastroretentive drug delivery systems	Hệ thống thuốc lưu giữ trong dạ dày
GET	Gastrointestinal emptying time	Thời gian làm rỗng dạ dày
GI	Gastrointestinal	Thuộc hệ tiêu hóa
GRT	Gastrointestinal retention time	Thời gian lưu giữ trong dạ dày
GPHC		Giải phóng hoạt chất
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	Vi khuẩn <i>Helicobacter pylori</i>
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
HPMC	<i>Hydroxypropyl methylcellulose</i>	
ICH	The International Conference on Harmonisation	Hiệp hội đồng thuận quốc tế
IR	<i>Infrared</i>	Tia hồng ngoại

IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry	Liên minh Quốc tế về Hóa học thuần túy và Hóa học ứng dụng
k'	Hệ số dung lượng	Hệ số dung lượng
KLTB	Khối lượng trung bình	Khối lượng trung bình
LOD	Limit of Detection	Giới hạn phát hiện
LOQ	Limit of Quantitation	Giới hạn định lượng
MAC	Mycobacterium avium complex	Nhóm vi khuẩn liên quan bệnh lao
MMC	Migrating motor complexes	Phức hợp vận động di chuyển
MR	<i>Modified-release</i>	Phóng thích biến đổi
NSAID	Nonsteroidal anti-inflammatory drug	Thuốc kháng viêm không steroid
ODDS	Oral drug delivery system	Hệ thống phân phối thuốc đường uống
PEG	<i>Polyethylene glycol</i>	<i>Polyethylene glycol</i>
PPI	<i>Proton pump inhibitors</i>	Thuốc ức chế bơm proton
PTKD	<i>Phóng thích kéo dài</i>	
PTTT	<i>Phóng thích tức thời</i>	
PTHC	<i>Phóng thích hoạt chất</i>	
PVP	<i>Polyvinylpyrrolidon</i>	<i>Polyvinylpyrrolidon</i>
RSD	Relative standard deviation	Độ lệch chuẩn tương đối
TCCS	Tiêu chuẩn cơ sở	
TT	Thuốc thử	
TFT	Total Floating Time	Tổng thời gian nổi
USA	<i>The United States of America</i>	Hợp chúng quốc Hoa Kỳ
USP	<i>The United States Pharmacopoeia</i>	Dược điển Mỹ
UV-Vis	Ultraviolet – visible	Tử ngoại - Khả kiến
WHO	<i>The World Health Organization</i>	Tổ chức Y tế thế giới

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Phác đồ điều trị đau dạ dày do vi khuẩn <i>H. pylori</i>	6
Bảng 1.2. Các phương pháp phân tích CLA	9
Bảng 1.3. Các sản phẩm thuốc nổi trong dạ dày trên thị trường.....	21
Bảng 1.4. Các chế phẩm CLA ở các dạng bào chế khác nhau trên thị trường	222
Bảng 1.5. Tổng hợp các nghiên cứu về CLA nổi trong dạ dày.....	255
Bảng 1.6. Một số đặc tính của dược chất phù hợp bào chế dạng thuốc nổi.....	278
Bảng 1.7. Tổng hợp ưu điểm và nhược điểm các công trình công bố viên nổi.....	28
Bảng 1.8. Giá trị độ nhớt điển hình cho dung dịch nước 2% (w/v) của Methocel ...	32
Bảng 1.9. Công dụng của natri bicarbonat.....	33
Bảng 1.10. Mô hình và hình thể mô phỏng trên dạ dày Chó cỏ và Người	37
Bảng 2.1. Các nguyên liệu, hóa chất và dung môi dùng trong điều chế.....	43
Bảng 2.2. Độ hòa tan (%) theo tiêu chuẩn USP và TCCS	51
Bảng 2.3. Thành phần hoạt chất và vai trò các tá dược trong công thức	56
Bảng 2.4. Hồ sơ số lô, đóng gói và thời hạn bảo quản thuốc	62
Bảng 2.5. Điều kiện bảo quản và thời gian lấy mẫu	62
Bảng 2.6. Mô hình thử nghiệm	64
Bảng 3.1. Thành phần công thức và viên placebo	70
Bảng 3.2. Kết quả phù hợp hệ thống (Dung dịch chuẩn CLA) (n = 6).....	70
Bảng 3.3. Kết quả phù hợp hệ thống (Dung dịch chuẩn CLA và CLA tạp A)	68
Bảng 3.4. Khoảng tuyến tính.....	72
Bảng 3.5. Kết quả độ đúng.....	70
Bảng 3.6. Độ lặp lại ngày 1	71
Bảng 3.7. Độ lặp lại ngày 2.....	71
Bảng 3.8. Tính phù hợp hệ thống (Dung dịch đối chiếu 2)	72
Bảng 3.9. Kết quả thẩm định quy trình định lượng CLA trong thử độ hòa tan	73
Bảng 3.10. Kết quả tương thích hệ thống trong môi trường độ hòa tan	74
Bảng 3.11. Độ đúng phương pháp (n=3)	75
Bảng 3.12. Độ lặp lại (n = 6).....	76

Bảng 3.13. Kết quả độ chính xác trung gian (n = 6).....	77
Bảng 3.14. Thông tin thuốc tham khảo (n = 6).....	80
Bảng 3.15. Hệ số tương quan các mô hình động học phóng thích CLA (n = 6)	81
Bảng 3.16. Thành phần công thức cơ bản A.....	80
Bảng 3.17. Kết quả khảo sát độ cứng – tiềm thời nổi - độ hòa tan viên (n=6).....	81
Bảng 3.18. Chỉ số trương phồng viên (n = 6)	82
Bảng 3.19. Kiểm nghiệm viên thành phẩm sau khi bao (n = 6)	83
Bảng 3.20. Kết quả ảnh hưởng của lớp bao đến tính chất viên (n = 6)	83
Bảng 3.21. Thời gian trộn bột (n = 6)	84
Bảng 3.22. Độ hòa tan của 3 lô ở quy mô PTN (n=6)	89
Bảng 3.23. Hệ số tương quan các mô hình	85
Bảng 3.24. Tiềm thời nổi và thời gian nổi của công thức cơ bản A1	90
Bảng 3.25. Thành phần công thức viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày	87
Bảng 3.26. Mô hình thực nghiệm (n=14) và kết quả thực nghiệm (n=6).....	88
Bảng 3.27. Công thức tối ưu	89
Bảng 3.28. Thành phần công thức tối ưu và nâng cấp cỡ lô 30,000 viên.....	90
Bảng 3.29. Tính tương thích hệ thống	98
Bảng 3.30. Nồng độ thuốc trong huyết tương nhóm chứng (n=8) và nhóm thử (n=8)	99

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Công thức cấu tạo CLA.....	3
Hình 1.2. Quá trình phóng thích hoạt chất của dạng trương phồng.....	11
Hình 1.3. Hệ thống phân phối nổi với nhiều đơn vị phân liều qua đường uống.....	133
Hình 1.4. Hệ thống sinh khí CO ₂	144
Hình 1.5. Hệ thống sinh khí CO ₂	155
Hình 1.6. Dạng thuốc nổi không có sủi bọt khí	166
Hình 1.7. Phương pháp khuếch tán dung môi và bay hơi để tạo vi cầu rỗng	166
Hình 1.8. Công thức cấu tạo của hypromellose.....	30
Hình 1.9. Hệ thống PTKD có cấu trúc khung xóp.....	355
Hình 1.10. Mô phỏng dạ dày.....	378
Hình 3.1. Sự tương quan giữa nồng độ CLA và diện tích pic	70
Hình 3.2. Đồ thị sự tương quan giữa nồng độ và diện tích.....	75
Hình 3.3. Phổ IR của CLA nguyên liệu (A), thành phẩm (B), HPMC K100M (C) và HPMC K15M (D)	79
Hình 3.4. Nghiên cứu khả năng nổi in vitro của viên nén CLA (A1-1)	87
Hình 3.5. Thành phẩm viên nổi trong dạ dày và PTKD chứa CLA 500 mg	91
Hình 3.6. Nhóm Chó thử nghiệm số 1 trước và sau khi uống thuốc nghiên cứu.....	97
Hình 3.7. Đồ thị sự tương quan của nồng độ CLA và tỉ số diện tích đỉnh (CLA/Roxithromycin) đo được của mẫu chuẩn.....	98

DANH MỤC ĐỒ THỊ, SƠ ĐỒ

Sơ sồ 2.1. Quy trình bào chế viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày58

MỞ ĐẦU

Hệ thống phân phối thuốc qua đường uống (ODDS) thuận tiện và phổ biến nhất cho tác dụng toàn thân. Thật vậy, đối với hệ thống phóng thích có kiểm soát, thuốc dùng qua đường uống được chú ý nhiều và thành công vì mang lại sự linh hoạt hơn trong thiết kế dạng bào chế so với các đường dùng khác. Phát triển thành công dạng bào chế phân phối thuốc phóng thích có kiểm soát qua đường uống đòi hỏi sự hiểu biết về ba khía cạnh như sinh lý đường tiêu hóa (GI), đặc tính hóa lý thuốc và đặc điểm dạng bào chế¹. Tuy nhiên, quá trình phát triển dạng bào chế này bị cản trở bởi một số khó khăn về sinh lý, chẳng hạn như không có khả năng kiểm soát và định vị DDS trong các vùng mong muốn của đường tiêu hóa (GIT), thời gian làm rỗng dạ dày (GET) tương đối ngắn ở người, thường kéo dài trung bình 2-3 giờ qua vùng hấp thu chính (dạ dày hoặc phần trên của ruột), có thể dẫn đến phóng thích thuốc không hoàn toàn từ ODDS dẫn đến giảm hiệu quả của liệu điều trị thuốc². Do đó, kiểm soát vị trí của DDS trong một vùng cụ thể của đường tiêu hóa mang lại nhiều ưu điểm, đặc biệt đối với các loại thuốc có cửa sổ hấp thụ trong đường tiêu hóa.^{3,5}

Dạng bào chế mới có kiểm soát qua đường uống được lưu giữ trong dạ dày thời gian dài và có thể dự đoán được là cách tiếp cận khả thi để đạt khả năng phân phối thuốc kéo dài và kiểm soát thời gian lưu lại trong dạ dày (GRT), cung cấp một lựa chọn quan trọng trong hiệu quả điều trị². Qua những cách tiếp cận bào chế khác nhau bao gồm: hệ thống nổi, hệ thống trương phồng, hệ thống tỷ trọng cao, hệ thống kết dính sinh học, hệ thống thay đổi hình dạng, hệ thống dung dịch tạo gel hoặc huyền phù,... trong đó dạng bào chế nổi được sử dụng phổ biến nhất.^{1,8}

Các nhóm hoạt chất thích hợp cho dạng bào chế lưu giữ trong dạ dày là các phân tử có khả năng hấp thụ ở đại tràng kém, cửa sổ hấp thụ hẹp ở đường tiêu hóa^{2,13,14,22}, hấp thụ chủ yếu từ dạ dày và phần trên của đường tiêu hóa, thuốc tác dụng tại chỗ ở dạ dày (metronidazol, CLA (CLA)⁷), thuốc điều trị viêm loét đại tràng và thuốc có thời gian bán hủy thấp (Levodopa, ciprofloxacin)^{2,17,18}. Khi đề cập đến CLA – đây là kháng sinh thuộc nhóm macrolid, được chỉ định trong điều trị viêm xoang, viêm họng, viêm phổi, viêm phế quản cấp và mạn tính cho người lớn và trẻ em từ 12 tuổi trở lên.

Đặc biệt, CLA dùng trong phác đồ điều trị nhiễm vi khuẩn *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)^{4, 10,11,12}. Khi uống CLA được hấp thu nhanh qua đường tiêu hóa và sinh khả dụng của CLA ở dạng nguyên vẹn đạt khoảng 55%. Thời gian bán thải ngắn, do đó, người bệnh phải uống liều cao và dùng nhiều lần trong ngày, điều đó dẫn đến làm tăng nguy cơ gây độc tính và tác dụng phụ không mong muốn¹⁰. Bên cạnh đó, thực trạng *H. pylori* đề kháng CLA trên thế giới ở mức ngưỡng $\geq 15-20\%$, ở Châu Á là 27,46% đứng sau Bắc Mỹ là 30,80%, riêng tại Việt Nam, tỷ lệ lên đến 41,5% ở nhóm bệnh nhân viêm dạ dày. Do đó, việc phát triển một dạng bào chế mới góp phần giúp giảm số lần dùng thuốc và tăng hiệu quả điều trị là cách tiếp cận khả thi nhằm góp phần hạn chế tỷ lệ đề kháng kháng sinh CLA.^{6,41}

Hiện nay, các sản phẩm trên thị trường với hoạt chất CLA có dạng bào chế viên nén phóng thích chậm và viên PTTT cũng như chưa có dạng bào chế nào đề cập đến viên vừa có đặc tính nổi trong dạ dày và vừa kiểm soát được sự phóng thích hoạt chất theo thời gian. Tuy nhiên, có nhiều công trình nghiên cứu đã công bố bào chế viên nổi trong dạ dày nói chung và viên nén CLA nổi trong dạ dày nhằm mục tiêu cải thiện sinh khả dụng (SKD) và kéo dài thời gian lưu giữ thuốc trong dạ dày^{5,6,7,13}.

Do đó, luận án “Nghiên cứu bào chế hệ thống nổi và phóng thích kéo dài trong dạ dày chứa CLA” với mục tiêu tổng quát là xây dựng công thức, quy trình bào chế viên nén chứa CLA 500 mg có đặc tính nổi trong dạ dày để kéo dài thời gian lưu giữ trong dạ dày trên *cơ thể sống* và kiểm soát sự phóng thích hoạt chất trong 12 giờ. Luận án với các mục tiêu cụ thể:

1. Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng CLA nguyên liệu và thành phẩm.
2. Xây dựng công thức và quy trình bào chế viên nén CLA 500 mg có đặc tính nổi để kéo dài thời gian lưu giữ trong dạ dày và kiểm soát sự phóng thích thuốc 12 giờ.
3. Nâng cấp cỡ lô và theo dõi độ ổn định thành phẩm.
4. Xây dựng quy trình thử nghiệm *in vivo* trên Chó cỏ.

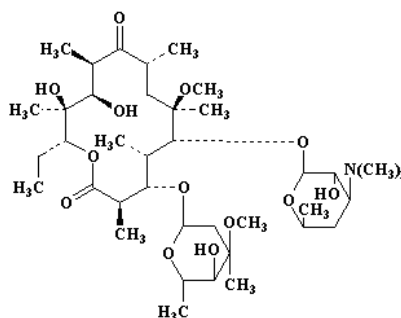
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. CLA

1.1.1. Hoạt chất CLA

CLA là kháng sinh nhóm macrolid có nguồn gốc từ erythromycin, dùng trong điều trị viêm phổi do *Mycoplasma pneumoniae* và *Legionella*, bệnh bạch hầu và giai đoạn đầu của ho gà, cũng như nhiễm khuẩn cơ hội do *Mycobacterium*. CLA khi uống được hấp thu nhanh qua đường tiêu hóa và sinh khả dụng của CLA ở dạng nguyên vẹn đạt khoảng 55%. Thời gian bán thải của CLA tương đối ngắn là 3 - 4 giờ khi người bệnh uống 250 mg CLA và 5-7 giờ khi uống liều 500 mg. Do đó, để có được hiệu quả tốt nhất, người bệnh dùng thuốc ở liều cao và nhiều lần trong ngày^{9,10}.

1.1.2. Cấu trúc hóa học



Hình 1.1. Công thức cấu tạo CLA

“Nguồn: National Library of Medicine⁹”

- Tên chung quốc tế: CLA;
- Tên gọi khác: 6-O-Methylerythromycin;
- Công thức phân tử: $C_{38}H_{69}NO_{13}$;
- Trọng lượng phân tử: 747,95 g/mol;
- Tên gọi theo IUPAC: (3R,4S,5S,6R,7R,9R,11S,12R,13S,14S)-6-[[[(2S,3R,4S,6R)-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy]-14-ethyl-12,13-dihydroxy-4-[[[(2R,4S,5S,6S)-5-hydroxy-4-methoxy-4,6-dimethyloxan-2-yl]oxy]-7-methoxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-1-oxacyclotetradecane-2,10-dione.

1.1.3. Tính chất vật lý

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, vị đắng, thực tế không tan trong nước, tan trong aceton và chloroform, khó tan trong methanol, acetonitril, ethanol và ether. CLA ổn định ở pH 5 – 8, ở pH 2,7 thì thời gian bán thải là $1,3 \pm 0,5$ giờ. Độ tan của CLA giảm khi pH tăng và bão hòa từ pH 9⁹.

1.1.4. Tính chất dược lý

CLA có tác dụng kìm khuẩn, diệt khuẩn ở liều cao hoặc đối với những chủng rất nhạy cảm. CLA ức chế sự tổng hợp protein ở vi khuẩn bằng cách gắn với tiểu đơn vị 50S ribosom. Chất chuyển hóa 14-hydroxy CLA có hoạt tính và có thể hiệp đồng *in vitro* với dược chất có hoạt tính, làm tăng đáng kể hoạt tính CLA trên lâm sàng¹⁰.

1.1.5. Dược động học

1.1.5.1. Hấp thu

CLA khi uống, được hấp thu nhanh qua đường tiêu hóa và chịu sự chuyển hóa đầu tiên ở mức độ cao làm cho sinh khả dụng của thuốc giảm xuống còn khoảng 50% và khả năng hấp thu gần như không bị ảnh hưởng bởi thức ăn. Nồng độ đỉnh của CLA và chất chuyển hóa chính 14 - hydroxy CLA khoảng 0,6-0,7 $\mu\text{g/ml}$ sau khi uống một liều duy nhất 250 mg. Ở trạng thái cân bằng động, ở cùng mức liều trên cho nồng độ đỉnh khoảng 1 $\mu\text{g/ml}$ ¹⁰.

1.1.5.2. Phân bố

CLA và chất chuyển hóa chính phân phối rộng rãi, nồng độ trong mô vượt nồng độ trong huyết thanh do một phần thuốc được hấp thu vào trong tế bào¹⁰.

1.1.5.3. Chuyển hóa

Chất chuyển hóa có thời gian bán thải từ 4-9 giờ, CLA được hấp thu ở dạ dày - ruột tốt hơn erythromycin và có ái lực với CYP3A4 thấp hơn erythromycin, vì vậy, tương tác thuốc ít quan trọng hơn trên lâm sàng¹⁰.

1.1.5.4. Thải trừ

Thuốc chuyển hóa nhiều ở gan và thải ra phân qua đường mật, một phần đáng kể được thải qua nước tiểu. Liều 250 mg và 500 mg được thải qua nước tiểu dưới dạng

không bị chuyển hóa tương ứng khoảng 20% và 30%, ngoài ra, thời gian bán thải bị kéo dài ở người bệnh suy thận.

Dược động học CLA không tuyến tính và phụ thuộc liều. Liều lớn có thể làm nồng độ đỉnh tăng, không theo tỷ lệ thuận do chuyển hóa thuốc bị bão hòa¹⁰.

1.1.5.5. Tác dụng không mong muốn

- Thường gặp, ADR > 1/100.
 - Phản ứng dị ứng ở mức độ khác nhau từ mày đay đến phản vệ và hội chứng Stevens-Johnson;
 - Toàn thân: Phản ứng quá mẫn như ngứa, mày đay, ban da, kích thích.
- Ít gặp, $1/1000 < \text{ADR} < 1/100$.
 - Tiêu hóa: Các triệu chứng ứ mật, buồn nôn, nôn;
 - Gan: Chức năng gan bất thường, bilirubin huyết thanh tăng và thường kèm theo vàng da, sốt phát ban và tăng bạch cầu ái toan.
 - Thính giác: Điếc (nếu dùng liều cao), thần kinh giác quan có thể hồi phục.

1.1.6. CLA trong phác đồ điều trị *H. pylori*

CLA được dùng nhiều trong phác đồ điều trị kháng khuẩn *H. pylori* trong bệnh loét dạ dày - tá tràng đang tiến triển.^{11,44,99}

1.1.6.1. Phác đồ điều trị *H. pylori*

H. pylori còn có tên *Campylobacter pylori* - là một loại xoắn khuẩn gram âm, sống trong lớp nhày trên bề mặt niêm mạc dạ dày, hình cong hoặc hình chữ S, đường kính từ 0,3 - 1,0 μm , dài 1,5 - 5,0 μm với 4 - 6 chiên mao ở mỗi đầu, các lông mao cùng với hình thể của mình mà *H. pylori* có thể chuyển động trong môi trường có độ nhớt. *H. pylori* tăng trưởng ở nhiệt độ 30 - 40 °C, ổn định được ở môi trường pH 5 - 8,5. Khoảng 60 – 90 % loét dạ dày tá tràng do *H. pylori* được Robin Warren và Barry Marshall phát hiện năm 1982 gây ra ung thư dạ dày. Tuy nhiên, hơn 80% người bị nhiễm vi khuẩn không có triệu chứng và đã được mặc nhiên công nhận rằng có thể đóng một vai trò quan trọng trong hệ sinh thái dạ dày tự nhiên. Hơn 50% dân số thế giới có vi khuẩn *H. pylori* ở đường tiêu hóa trên, nhiễm trùng phổ biến hơn ở các nước

đang phát triển và tỷ lệ đang giảm ở các nước phương Tây, *H. pylori* hình dạng xoắn ốc được cho là tiến hóa để thâm nhập vào lớp chất nhầy niêm mạc dạ dày.

Theo báo cáo (2005) của tổ chức y tế thế giới (WHO) đã chính thức xếp *H. pylori* là nguyên nhân gây ung thư dạ dày, là một trong những nhiễm khuẩn mãn tính thường gặp nhất. Ước tính có khoảng hơn nửa dân số trên thế giới đã bị nhiễm, chủ yếu ở tuổi trên 20 và hầu hết trẻ em bị nhiễm ở độ tuổi từ 2 - 8. Các phác đồ điều trị đau dạ dày do vi khuẩn *H. pylori* được cập nhật hàng năm và năm 2022 theo các bác sĩ chuyên khoa tiêu hóa tại Việt Nam cũng đã áp dụng^{14,15}, phác đồ điều trị được trình bày trong Bảng 1.1.

Bảng 1.1. Phác đồ điều trị đau dạ dày do vi khuẩn *H. pylori*^{12,14,15}

Phác đồ điều trị	Thuốc, liều lượng và thời gian
Trị liệu theo kinh nghiệm	
Điều trị đồng thời	Amoxicillin (1 g), CLA (500 mg) và tinidazole (500 mg) hoặc metronidazol (500 mg) , cộng với PPI (omeprazol 40 mg/liều) đều được dùng 02 lần mỗi ngày x 14 ngày
Điều trị theo trình tự (không khuyến cáo dùng điều trị đồng thời là tốt hơn)	Amoxicillin (1 g) cộng với PPI 02 lần mỗi ngày x 7 ngày, tiếp theo là CLA (500 mg) và tinidazole (500 mg) hoặc metronidazol (500 mg) cộng với PPI, tất cả 02 lần/ngày x 7 ngày tiếp theo (tổng cộng 14 ngày)
Liệu pháp lai	Amoxicillin (1 g) cộng với PPI 02 lần mỗi ngày (tương đương 40 mg omeprazole mỗi liều) trong 7 ngày, tiếp theo là amoxicillin (1 g), CLA (500 mg) và metronidazol (500 mg) cộng với PPI 02 lần/ngày x 7 ngày tiếp theo (tổng cộng 14 ngày)
Phác đồ 4 thuốc có Bismuth	Bismuth subsalicylate hoặc bismuth subcitrate 02 viên và tetracycline hydrochloride (500 mg) cả 02 lần mỗi ngày trong bữa ăn và trước khi đi ngủ cộng với metronidazol/tinidazol (500 mg) ba lần mỗi ngày trong bữa ăn và PPI hai lần mỗi ngày trong 14 ngày

Phác đồ 4 thuốc có bismuth mới (amoxicillin, tetracycline)	Bismuth hai viên hai đến bốn lần mỗi ngày với bữa ăn và trước khi đi ngủ cộng với metronidazol/tinidazol (500 mg) ba lần mỗi ngày với bữa ăn và amoxicillin 1 mg và PPI hai lần mỗi ngày trong 14 ngày
Phác đồ 4 thuốc có bismuth đóng gói sẵn	PYLERA trong 14 ngày, thêm một giá thầu PPI (tương đương 40 mg omeprazol mỗi liều)
Trị liệu phù hợp	(dựa trên thử nghiệm tính nhạy cảm đã biết)
Liệu pháp ba thuốc khi nhiễm <i>H. pylori</i> được biết là nhạy cảm với CLA	Amoxicillin (1 g) và CLA (500 mg) hoặc tinidazol (500 mg) hoặc metronidazol (500 mg) cộng với PPI, tất cả được dùng hai lần mỗi ngày trong 14 ngày (tương đương 40 mg omeprazol mỗi liều)
Liệu pháp ba thuốc fluoroquinolone khi <i>H. pylori</i> được biết là nhạy cảm với fluoroquinolone	Fluoroquinolone (ví dụ levofloxacin 500 mg một lần mỗi ngày), cộng với PPI và amoxicillin 1 g hai lần mỗi ngày trong 14 ngày
Phác đồ cứu vãn theo kinh nghiệm	Sự đề kháng đã biết hoặc chưa biết ở vùng kháng cao
Phác đồ 4 thuốc có furazolidone với tetracycline	Bismuth subsalicylate hoặc bismuth subcitrate hai viên và tetracycline hydrochloric (500 mg) cả hai lần bốn lần mỗi ngày trong bữa ăn và trước khi đi ngủ cộng với furazolidone 100 mg ba lần, với phương tiện và PPI hai lần mỗi ngày trong 14 ngày
Phác đồ 4 thuốc có furazolidone với amoxicillin	Bismuth subsalicylate hoặc bismuth subcitrate từ 2-4 lần mỗi ngày trong bữa ăn và trước khi đi ngủ cộng với furazolidone 100 mg và amoxicillin 1 g ba lần, trong bữa ăn cộng với PPI 2 lần/ngày trong 14 ngày
Phác đồ 3 thuốc có Rifabutin	Rifabutin (150 mg mỗi ngày), amoxicillin (1,5 g mỗi 8 giờ) và pantoprazole 80 mg (hoặc PPI tương đương) mỗi 8 giờ. trong 12 - 14 ngày (công thức Borody)

Phác đồ kép PPI-amoxicillin liều cao	PPI (ví dụ: rabeprazole 20 mg, esomeprazole 40 mg) cộng với amoxicillin (500–750 mg) tất cả bốn lần mỗi ngày cách nhau khoảng 6 giờ trong 14 ngày (có thể sử dụng cách nhau 8 giờ vào ban đêm)
--------------------------------------	--

1.1.6.2. Cập nhật tình hình *H. pylori* đề kháng với CLA

Trên thế giới, giai đoạn 2009-2014, theo tổng hợp của tác giả Ghotaslou R¹⁹ nhận định tỷ lệ *H. pylori* đề kháng CLA chung là 19,74%, ở kè ngưỡng tối đa $\geq 15-20\%$, và theo Megraud F (2013), việc sử dụng các thuốc nhóm macrolid lâu dài trong điều trị cho bệnh nhân ngoại trú có liên quan đến tỷ lệ đề kháng CLA nguyên phát.

Tại Việt Nam, tỷ lệ đề kháng của *H. pylori* với CLA ở nước ta còn thấp dưới 20% (năm 2000 là 11,8% và năm 2001 là 18,9%), nhưng phần lớn các nghiên cứu kể từ năm 2002 đến nay trên cả nước đều cao hơn 20%. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ *H. pylori* đề kháng với CLA là 41,5% ở nhóm bệnh nhân viêm dạ dày; đề kháng chung dao động từ 25,8 - 44,7%, đề kháng nguyên phát dao động từ 0,2-33,0% và đề kháng thứ phát dao động từ 56,9 - 84,6%. Đây là điều đáng lo ngại vì hiện tượng *H. pylori* đề kháng CLA sẽ làm giảm rõ rệt hiệu quả của phác đồ có CLA. Do đó, việc phát triển một dạng bào chế có thể giúp giảm số lần dùng thuốc và tối ưu hóa nồng độ thuốc trong huyết tương trên cơ thể sống là một tiếp cận khả thi nhằm góp phần hạn chế tỷ lệ đề kháng kháng sinh CLA tương lai.

1.2. Phương pháp định lượng CLA

CLA có thể định lượng bằng nhiều phương pháp khác nhau như phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)^{7,111}, quang phổ UV-Vis có hoặc không có thuốc thử^{21,22}, các phương pháp phân tích CLA được trình bày trong Bảng 1.2.

Bảng 1.2. Các phương pháp phân tích CLA

Tác giả	Năm	Phương pháp
Nama M ²¹	2013	HPLC (MZ- C8 125×4.0 mm, đệm (40:6:54,v/v), pH 7,5)
Sanjai S.Patel, S.Ray ²²	2011	UV – Vis (bước sóng 260 nm, pH 1.2)

Timucin Urgurlu, Ugur Karacicek ²⁴	2014	UV – Vis (thuốc thử Folin Ciocalteu’s, bước sóng 760 nm)
Lagnajit M ²⁵	2014	UV – Vis (50 µg/ml) bước sóng ở 760 nm
Mahbubul Alam1 ²⁶	2017	RP-HPL; cột C18 (150 mm × 4.6 mm, 5 µm), đầu dò UV ở bước sóng 210 nm

Ngoài ra, CLA trong huyết tương được định lượng bằng nhiều phương pháp:

Theo tác giả Syed N Alvi và cộng sự (2016) ¹¹⁸, CLA được định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép đầu dò khối phổ, dùng erythromycin là chất chuẩn nội (IS). Điều kiện phân tích được thực hiện ở nhiệt độ phòng, sử dụng cột đảo C18 (2,1 × 100 mm; 3 µm), sau đó được ion hóa bằng các phương pháp thích hợp, quét ion dương (+) bằng ion hóa tia điện sử dụng chuyển tiếp tương ứng là 749 → 158,4 và 719,3 → 158,2 cho CLA và IS. Định lượng và giới hạn phát hiện tương ứng là 5 ng/ml và 2 ng/ml. CLA trong huyết tương người ổn định ít nhất trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng và sau ba chu kỳ đóng đông - rã - đông. Phương pháp này đã sử dụng thành công để xác định nồng độ CLA trong huyết tương người. Điều kiện sắc ký C18 (2,1 × 100 mm, 3 µm) pha đảo được tiến hành bởi cột C18 (3,9 × 20 mm, 5 µm). Pha động, chứa 0,05% trimethylamine (pH=4,0, được điều chỉnh bằng axit phosphoric) và acetonitril (65:35, v:v), được lọc qua màng lọc 0,22 µm, được khử khí, tốc độ dòng chảy 0,25 ml/phút. Nguồn ion hóa phun điện được vận hành ở chế độ ion dương có điện áp với mao dẫn 4,0 kV và điện áp 30 V. Nitơ được sử dụng làm khí phun sương và khí khử hòa tan với tốc độ dòng chảy lần lượt là 60 và 600 lít/giờ. Argon được sử dụng làm khí ở áp suất $1,28 \times 10^{-3}$ mbar. Năng lượng va chạm tối ưu cho CLA và erythromycin (chuẩn nội, IS) là 25 eV. Nguồn ion và nhiệt độ khử hòa tan lần lượt được duy trì ở 125 và 350 °C.⁷⁰

Hay theo tác giả Wael A. Dayyih (2019)¹¹⁹, CLA được định lượng trong huyết tương bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ hiệu năng cao (HPLC/MS), phân tích có tính lặp lại và nhanh bằng cách sử dụng với độ phân giải và độ nhạy cao. Hệ thống pha động với rửa giải gradient bao gồm methanol và 0,1% axit formic và cột ACE 5 C18 (50 x 2,1 mm, 5µm) được sử dụng với tốc độ dòng 1,0 ml/phút. Độ thu hồi

(97,75%) và (96,0%) tương ứng với CLA và metronidazol, với độ đúng và độ chính xác cao. Hệ số xác định của các đường cong chuẩn trong khoảng 0,9986 và 0,9998.

1.3. Hệ thống phân phối thuốc nổi trong dạ dày

Trong ba thập kỷ qua, có nhiều phương pháp khác nhau đã được nghiên cứu để tăng khả năng lưu giữ thuốc trong dạ dày bằng đường uống.^{13,100}

Các khái niệm đầu tiên về hệ thống phân phối thuốc trong dạ dày đã được phát triển, mặc dù đã có nhiều nghiên cứu sâu rộng trong lĩnh vực này. Tuy nhiên, một trong những lý do chính của những thất bại là thiếu phương pháp đánh giá mô hình *in vitro* và *in vivo* theo nhận định của tác giả Felix Schneider và cộng sự²⁰. Các nghiên cứu lâm sàng trên con người vẫn là tiêu chuẩn vàng để đánh giá khả năng lưu thuốc tại dạ dày, nhưng chi phí cao liên quan đến các nghiên cứu *in vivo* cũng như do những sai sót khác nhau có thể ảnh hưởng đến việc giải thích dữ liệu trong nghiên cứu *in vivo*.¹¹⁰ Do đó, các phương pháp đánh giá *in vitro* hiệu quả là cần thiết để đánh giá sớm hoạt động của các hệ thống lưu tại dạ dày. Có một vài phương pháp có thể đánh giá hiệu quả kéo dài thời gian lưu giữ thuốc như: hệ thống nổi (FDDS), hệ thống trương phồng^{56,58}, hệ thống kết dính sinh học, hệ thống thay đổi hình dạng thuốc, hệ thống tỷ trọng cao và thiết bị làm rộng dạ dày bị trì hoãn.

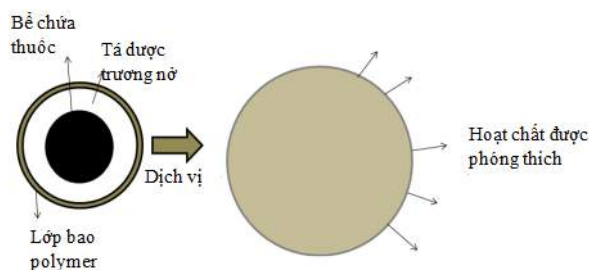
- Dạng trầm tích hay chìm trong dạ dày: hệ thống thuốc có khối lượng riêng khá lớn vượt quá khối lượng riêng của dịch tiêu hóa (khoảng 1,004 g/cm³). Lõi của dạng thuốc này là những kim loại nặng hoặc vật liệu trơ như: bột sắt, bari sulfat, kẽm oxid, titan oxid... Chính lõi nặng này mà tỉ trọng của dạng thuốc tăng lên đến 1,5 - 2,4 g/cm³. Tỉ trọng càng gần 2,5 càng làm tăng thời gian lưu giữ ở dạ dày. Tuy nhiên, dạng thuốc này vẫn trong giai đoạn nghiên cứu và chưa có sản phẩm nào trên thị trường.

- Dạng thuốc nổi: đây là một dạng thuốc hứa hẹn nhiều triển vọng đem lại hiệu quả trị liệu bằng tối đa hóa sự lưu giữ thuốc ở dạ dày, tăng sinh khả dụng của thuốc đặc biệt là những thuốc có cửa sổ hấp thu tại dạ dày và hồng tràng⁸.

- Dạng bám dính: những chất kết dính sinh học (Axid acrylic, chitosan, cholestyramin, natri alginat, hydroxypropyl methyl xenlulôzơ, tragacanth, dextrin, polyethylen glycol,

các acid polylactic) được sử dụng giúp dạng thuốc bám dính vào bề mặt biểu mô dạ dày theo những cơ chế khác nhau: sự thấm ướt (polymer hút nước, trương nở tăng diện tích tiếp xúc với lớp biểu mô), sự khuếch tán (có sự đan xen của các phân tử mucin vào chuỗi polymer hoặc mucin len lỏi vào cấu trúc polymer xốp), sự hấp thu (lực tương tác mới xuất hiện là lực Vanders Waal và liên kết hydro), tương tác điện tử của các glycoprotein mucin và polymer. Tuy nhiên, khuynh hướng lớp biểu mô đẩy các chất kết dính sinh học làm hạn chế hiệu quả sự lưu giữ tại dạ dày của dạng thuốc.

- Dạng trương phòng: khi ở dạ dày, thuốc tăng kích thước lớn hơn lỗ môn vị, do đó không bị đẩy nhanh ra khỏi dạ dày. Chính vì thế thuốc phải có độ bền cao, chịu được nhu động ruột và sự co thắt của dạ dày. Mặt khác kích thước của dạng thuốc phải đủ nhỏ để có thể dùng được, không bị tắc nghẽn trên đường tiêu hóa và cuối cùng sau một khoảng thời gian phải có một kích thước nhỏ để được đào thải ra ngoài cơ thể. Những bất tiện khi dùng thường gặp phải là sự tắc nghẽn, dính chắc vào lớp màng nhầy, gây ra các bệnh lý tiêu hóa. Quá trình phóng thích được trình bày trong Hình 1.2.



Hình 1.2. Quá trình phóng thích hoạt chất của dạng trương phòng¹⁹

- Hệ thống lõi gel xốp: kích thước ban đầu các lõi gel $>100 \mu\text{m}$. Khi tiếp xúc dịch tiêu hóa, nước khuếch tán, dạng thuốc trương phòng tới 100 lần hoặc hơn, đạt sự cân bằng trong khoảng 1 phút giúp dạng thuốc chịu được tác động của nhu động của dạ dày.

- Dạng thuốc từ tính: thuốc chứa nam châm nhỏ được bệnh nhân uống vào. Một nam châm bên ngoài đặt tại vị trí dạ dày giúp thuốc ở lại dạ dày một thời gian dài.

- Hệ thống hình dạng thay đổi: các hệ thống có hình dạng thay đổi là các dạng hình học không tan rã được tạo từ chất đàn hồi silastic hoặc ép đùn từ hỗn hợp polyetylen, giúp kéo dài GRT tùy thuộc vào kích thước, hình dạng thuốc.

- Thiết bị làm rộng dạ dày bị trì hoãn khác: Các phương pháp làm trì hoãn quá trình rộng dạ dày khác được quan tâm như cho dùng giả dược là các polymer khó tiêu hoặc muối acid béo làm thay đổi mô hình vận động dạ dày sang trạng thái no, do đó làm giảm tốc độ làm rộng dạ dày và cho phép kéo dài đáng kể quá trình phóng thích thuốc.

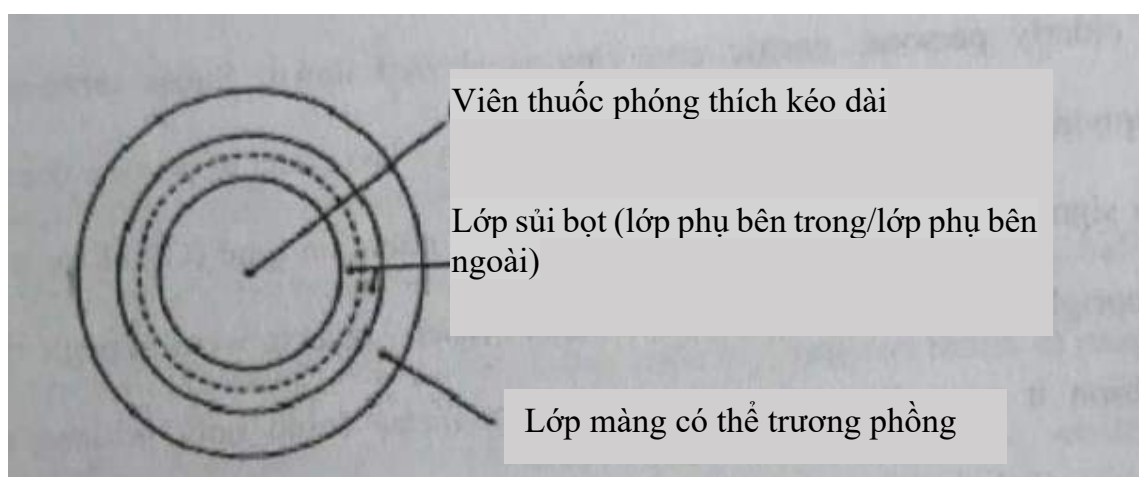
1.3.1. Khái niệm dạng thuốc nổi

Dạng thuốc nổi hay còn gọi là hệ thống trị liệu kiểm soát thủy động lực được mô tả đầu tiên bởi Davis (1968). Đây là dạng thuốc có tỉ trọng thấp hơn dịch vị nên có khả năng nổi trong dịch dạ dày ở một khoảng thời gian dài mà không bị tác động bởi quá trình làm rộng dạ dày. Khi thuốc nổi trên bề mặt dịch dạ dày, dược chất sẽ phóng thích theo tỉ lệ kiểm soát, chính vì vậy, dạng thuốc nổi sẽ tăng thời gian lưu giữ tại dạ dày, tối thiểu hóa sự dao động nồng độ thuốc trong huyết tương. Tuy nhiên, dạng thuốc này cần một lượng dịch vị và một lực (F) tối thiểu để thuốc có thể nổi lên bề mặt của dịch dạ dày^{17,19,20}.

1.3.2. Phân loại thuốc nổi

1.3.2.1. Dạng thuốc nổi sủi bọt

Hệ thống chất nền được bào chế với sự trợ giúp của các polymer có thể trương phồng như methylcellulose và chitosan và các hợp chất sủi bọt khác nhau, ví dụ: natri bicarbonat, acid tartaric và acid citric^{96,110}. Chúng được bào chế theo cách sao cho khi tiếp xúc với trong môi trường trong dạ dày có tính acid, CO₂ được phóng thích và bị giữ lại trong các hydrocolloid trương phồng, giúp viên nổi trong dạ dày. Shweta và cộng sự đã phát triển một hệ thống định lượng thuốc nổi với một hoặc nhiều đơn vị phân liều bao gồm các lớp sủi bọt và các lớp màng có thể trương phồng được bao trên các viên thuốc phóng thích kéo dài.^{14,116} hệ thống phân phối thuốc nổi với nhiều đơn vị được trình bày trong Hình 1.3.



Hình 1.3. Hệ thống phân phối thuốc nổi với nhiều đơn vị phân liều qua đường uống

“Nguồn: Shweta Arora, Javed Ali, Alka Ahuja, et al (2005)²⁰”

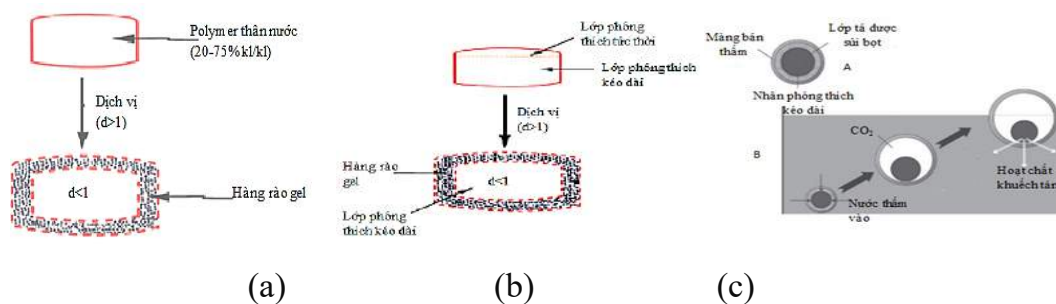
Lớp trong cùng của chất sủi bọt chứa natri bicarbonat và axít tartaric được chia thành 2 lớp nhỏ bên trong để tránh 2 chất tiếp xúc trực tiếp với nhau. Những lớp nhỏ này được bao quanh bởi một màng polymer có thể trương phồng chứa polyvinyl acetat và shellac tinh khiết. Khi ngâm vào hệ đệm ở 37 °C, hệ thống thuốc lắng xuống và dung dịch thấm vào lớp sủi bọt qua lớp màng trương phồng bên ngoài. CO₂ được tạo ra từ phản ứng trung hòa giữa 2 chất có tác dụng làm viên sủi bọt, tạo ra những viên thuốc trương phồng (như bóng bay) với tỷ trọng nhỏ hơn 1,0 g/cm.³ Hệ thống có khả năng nổi tốt không phụ thuộc vào pH, độ nhớt và dược chất (acid para-amino benzoic) kéo dài sự phóng thích thuốc.^{14,59}

Dựa vào cơ chế sinh khí, dạng thuốc này được chia thành 2 loại: Hệ thống sinh khí CO₂ và hệ thống nổi nhờ chân không hoặc chất lỏng dễ bay hơi.

* Hệ thống sinh khí CO₂

Hệ thống sinh khí CO₂ bao gồm:

Viên nổi 1 lớp hay hệ thống cân bằng thủy động học và viên nổi 2 lớp hay dạng nhiều vi hạt đóng trong 1 đơn vị phân liều được mô phỏng theo Hình 1.4.



Hình 1.4. Hệ thống sinh khí CO₂

(a) Viên nổi 1 lớp (b) Viên nổi 2 lớp

(c) Cấu trúc 1 vi hạt (A) và quá trình phóng thích hoạt chất (B)

“Nguồn: Sanjay S, et al, (2012)²² và Zate S (2010)¹⁶”

• Dạng màng bè hay thuốc với cấu trúc các hạt nhựa resin trao đổi ion¹⁹:

- Thuốc với cấu trúc các hạt nhựa resin trao đổi ion: Hạt nhựa resin chứa dược chất và NaHCO₃ được bao bọc bởi một lớp màng bán thấm. Acid thâm nhập vào hạt nhựa, có sự trao đổi giữa ion bicarbonat và ion chlorid tạo ra khí CO₂, bị giữ lại trong lớp bao ngoài và kết quả là từ từ thuốc nổi lên.

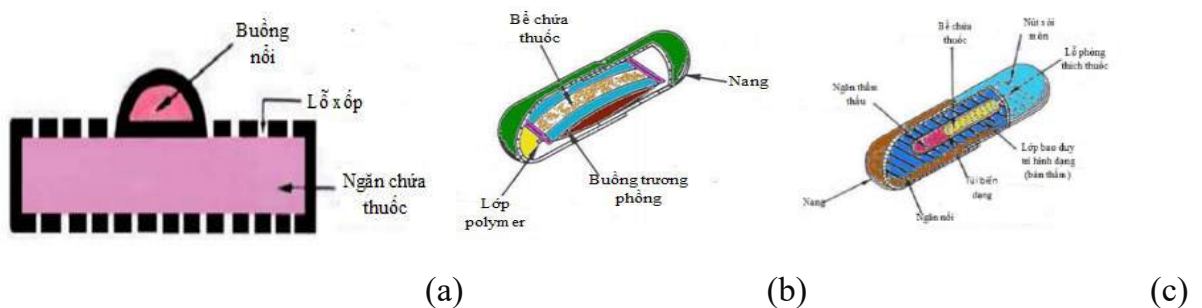
- Thuốc là các antacid: Nhôm hydroxyd, canxi carbonat sử dụng chất tạo gel (natri alginat) chứa muối carbonat hoặc bicarbonat. Khi tiếp xúc với dịch vị, khí CO₂ sinh ra cùng với lớp gel trương nở tạo thành lớp bong bóng nổi trên bề mặt dịch tiêu hóa như màng bè.

- Thuốc có cấu trúc buồng nổi: Là sự kết hợp giữa một buồng nổi và một bề chứa thuốc. Buồng nổi chứa chân không, không khí hoặc chất khí, lỏng, rắn trơ và có tỉ trọng đặc biệt. Còn bề chứa thuốc bao gồm nhân thuốc được bao bọc bởi một lớp màng có khả năng tạo lỗ xốp ở thành trên và dưới. Môi trường hòa tan khuếch tán qua 2 thành này giúp thuốc hòa tan, hai thành bên kín giữ thuốc lại trong bề chứa. Hệ thống nổi trong dạ dày một thời gian dài nhờ vào buồng nổi. Sau khi phóng thích thuốc hoàn toàn thì lớp màng bị phân hủy, đào thải ra ngoài cơ thể.

- Thuốc có cấu trúc buồng trương phòng: Cấu trúc có buồng chứa ether, cyclopentan dạng lỏng có thể hóa khí tại nhiệt độ cơ thể làm buồng chứa trương phòng lên và nổi trong dạ dày. Khi tiếp xúc dịch dạ dày, lớp gelatin bao ngoài tan rã phóng

thích bể chứa thuốc cùng buồng trương phòng. Buồng này trương phòng dần, giữ cho toàn bộ hệ thống thuốc nổi lên và được chất được phóng thích từ từ vào môi trường.

- Cấu trúc kết hợp áp suất thẩm thấu kiểm soát khả năng phóng thích hoạt chất: Nang chứa nhân thuốc và túi polymer rỗng có khả năng biến dạng chứa chất lỏng hóa khí tại nhiệt độ cơ thể. Khí hình thành giúp túi polymer trương phòng và thuốc sẽ nổi trong dạ dày. Nhân thuốc có 2 ngăn gồm bể chứa thuốc đi kèm túi biến dạng theo áp suất dùng để bay hơi chất lỏng, đẩy thuốc qua lỗ phân phối; ngăn thứ hai chứa muối, chất điện giải có khả năng tạo áp suất thẩm thấu bởi một màng bán thấm. Khi tiếp xúc dịch tiêu hóa, nang nở nhanh phóng thích nhân thuốc, nước khuếch tán qua màng bán thấm vào ngăn thẩm thấu hòa tan muối và các chất điện giải. Áp suất thẩm thấu hình thành tác động vào túi biến dạng, lực ép cơ học làm ngăn chứa thuốc co lại, phóng thích thuốc qua lỗ phân phối. Đầu xói mòn trên túi polymer trương phòng hoạt động theo thời gian định trước để phân hủy túi, đào thải ra khỏi cơ thể. Hệ thống sinh khí CO₂ được trình bày trong Hình 1.5.



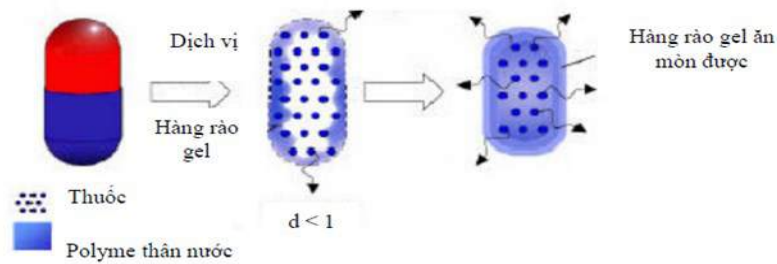
Hình 1.5. Hệ thống sinh khí CO₂

(a) Buồng nổi (b) Buồng trương phòng (c) Kết hợp áp suất thẩm thấu

“Nguồn: Pal P. et al, (2012)²² và Zate S (2010)¹⁶”

1.3.2.2. Dạng thuốc nổi không sủi bọt¹⁷

Cơ chế chính của thuốc này là sự trương nở và bám dính vào lớp màng nhầy tiêu hóa. Các tá dược được sử dụng là polymer thân nước có khả năng tạo màng gel và trương nở cao như cellulose hoặc các polysaccharid, tá dược tạo khung matrix như polycarbonat, polyacrylat, polymethacrylat, polystyren... và cả polymer bám dính như carbopol, hydroxypropyl methylcellulose và chitosan. Cấu trúc dạng thuốc nổi không sủi bọt được trình bày trong Hình 1.6.



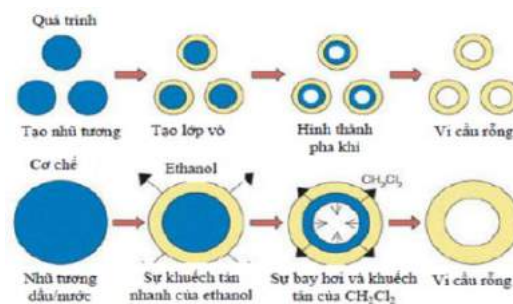
Hình 1.6. Dạng thuốc nổi không có sỏi bọt khí

“Nguồn: Vivek. Et al (2011)”¹⁷

- Viên có cấu trúc hàng rào gel: Có thể 1 lớp hay 2 lớp nhưng chủ yếu viên nổi được do tá dược thân nước tiếp xúc dịch tiêu hóa, trương phồng, tạo lớp gel và khi đó cả viên thuốc có khối lượng riêng sẽ giảm xuống.

- Hạt alginat: Nhỏ từ từ dung dịch natri alginat vào dung dịch calci clorid, các hạt calci alginat đường kính 2,5 mm có kết tủa lắng xuống đáy tạo thành hệ thống lỗ xốp và duy trì lực nổi trên 12 giờ.

- Vi cầu rỗng: Những vi hạt hình cầu rỗng chứa thuốc trong lớp polymer ngoài được bào chế bằng phương pháp khuếch tán dung dịch – nhũ tương. Dung dịch ethanol, dicloromethan chứa thuốc và polymer acrylic nhỏ giọt vào dung dịch polyvinyl acrylic (PVA) đang khuấy và đun nóng ở 40 °C. Pha khí hình thành phân tán trong từng giọt polymer trong khoang vi cầu rỗng nhờ sự bốc hơi dicloromethan. Vi cầu rỗng có thể nổi trên bề mặt dịch tiêu hóa trên 12 giờ. Phương pháp khuếch tán dung môi và bay hơi để tạo vi cầu rỗng được trình bày trong Hình 1.7.



Hình 1.7. Phương pháp khuếch tán dung môi và bay hơi để tạo vi cầu rỗng

“Nguồn: Vivek. Et al (2011)¹⁷ và Pal P. et al, (2012)²²”

1.3.3. Các yếu tố tác động thuốc nổi trong dạ dày

*Sinh lý quá trình tiêu hóa ở dạ dày*¹³

Về mặt chức năng, dạ dày chia làm 4 phần: tâm vị, đáy vị, thân vị và môn vị. Giữa dạ dày và tá tràng có cơ thắt môn vị, ở trạng thái nghỉ, dạ dày chứa khoảng 50 ml dịch, khi thức ăn vào đến dạ dày, dạ dày giãn ra chứa một thể tích thức ăn lên đến 1,5 lít. Ở phần giữa thân vị xuất hiện các sóng nhu động có tần số 3 - 4 lần/phút. Nhu động di chuyển về phía môn vị mạnh hơn để đẩy thức ăn qua cơ thắt môn vị, sự thoát thức ăn ra khỏi dạ dày chỉ xảy ra khi các hạt trong đường trấp đã đủ nhỏ, đường kính 1 - 2 mm. Khi dạ dày đã trống một thời gian dài (12 - 24 giờ sau lần ăn cuối cùng), ở thân vị xuất hiện các sóng co thắt lưu động khoảng 60 - 90 phút/lần, các sóng này sau đó sẽ lan truyền xuống ruột non và hoạt động này thường được chia làm 4 giai đoạn liên tiếp:

- Giai đoạn 1 (giai đoạn căn bản): Kéo dài 30 – 60 phút với những cơn co thắt không thường xuyên;

- Giai đoạn 2 (giai đoạn tiền đốt cháy): Kéo dài 20 – 40 phút với tiềm năng hoạt động và những cơn co thắt bất thường không liên tục theo sự phát triển của giai đoạn, tần số và cường độ cũng tăng dần;

- Giai đoạn 3 (giai đoạn đốt cháy): Kéo dài 10 – 20 phút gồm những cơn co thắt nghiêm trọng và thường xuyên trong thời gian ngắn, do những cơn co thắt này mà những vật liệu không tiêu hóa được sẽ được đẩy từ dạ dày xuống ruột non;

- Giai đoạn 4: Kéo dài 0 – 5 phút, xảy ra giữa giai đoạn 3 và 1 trong 2 chu kỳ liên tiếp.

Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình làm rỗng dạ dày

Có một số yếu tố có thể ảnh hưởng đến quá trình làm rỗng dạ dày (do đó ảnh hưởng đến GRT) của dạng bào chế đường uống. Các yếu tố bao gồm tỷ trọng, kích thước và hình dạng của dạng bào chế, lượng thức ăn và thuốc dùng đồng thời như thuốc kháng cholinergic (atropin, propanthelin), thuốc phiện (codein) và thuốc kích thích vận động (metoclopramid, cisaprid) và các yếu tố sinh học như giới tính, tư thế, tuổi tác, chỉ số khối cơ thể và tình trạng bệnh (bệnh đái tháo đường, bệnh Crohn) ²⁰.

Để đi qua van môn vị vào ruột non, kích thước hạt phải nằm trong khoảng từ 1,0 – 2,0 mm. Độ pH của dạ dày ở trạng thái đói 1,5- 2,0 và ở trạng thái no 2,0- 6,0.

Một lượng lớn nước được dùng với dạng bào chế đường uống làm tăng độ pH của dịch dạ dày lên 6,0 -9,0. Dạ dày không có thời gian để sản xuất đủ acid khi chất lỏng làm trống dạ dày; do đó thông thường các loại thuốc cơ bản hòa tan tốt hơn ở trạng thái no hơn là ở trạng thái đói.

Tỉ trọng: Các dạng bào chế có tỷ trọng thấp hơn tỷ trọng của dịch dạ dày sẽ có hiện tượng nổi và do đó bị giữ lại trong dạ dày. Cần có tỷ trọng $< 1,0 \text{ g/cm}^3$ để thể hiện đặc tính nổi vì nó cách xa cơ thắt môn vị nên đơn vị liều lượng được giữ lại trong dạ dày một thời gian dài. Tuy nhiên, xu hướng nổi của dạng bào chế thường giảm theo thời gian, khi dạng bào chế được ngậm trong chất lỏng, là kết quả của quá trình phát triển của trạng thái cân bằng thủy động¹³.

Hình dạng và kích cỡ: Hình dạng và kích thước của các dạng bào chế rất quan trọng khi thiết kế các dạng bào chế rắn với một đơn vị phân liều. Thời gian lưu lại trung bình trong dạ dày của các dạng bào chế không nổi rất khác nhau và phụ thuộc nhiều vào kích thước của chúng, có thể là lớn, trung bình và nhỏ. Trong hầu hết các trường hợp, dạng bào chế càng lớn thì thời gian lưu lại trong dạ dày (GRT) càng lớn do kích thước lớn hơn của dạng bào chế sẽ không cho phép nó nhanh chóng đi qua hàng vi môn vị vào ruột. Các dạng bào chế có đường kính lớn hơn 7,5 mm cho thấy thời gian lưu lại trong dạ dày tốt hơn so với các dạng bào chế có đường kính 9,9 mm. Viên thuốc hình vòng và hình tứ diện có thời gian lưu lại trong dạ dày tốt hơn so với thiết bị có hình dạng khác¹⁹.

Dạng một hay nhiều đơn vị: Khả năng giải phóng hoạt chất được kiểm soát tốt hơn với dạng thuốc nhiều đơn vị, đồng thời sự tắc nghẽn, kích ứng của dạng đơn liều cũng được cải thiện.

Tình trạng no đói: Khi đói lâu, nhu động ruột tăng mạnh kèm các sóng co thắt lưu động (MMC) xuất hiện khoảng 2-3 giờ/lần, đẩy thức ăn không tiêu hóa ra khỏi dạ dày. Nếu uống thuốc trùng vào thời điểm xảy ra MMC thì thuốc nhanh chóng bị đẩy xuống ruột non, tuy nhiên, ở trạng thái no, MMC giảm, thuốc nổi trong dạ dày lâu hơn.

Thành phần thức ăn: Thuốc lưu lại dạ dày từ 4 - 10 giờ khi bữa ăn có nhiều protein và chất béo.

Khoảng cách giữa các bữa ăn: Ăn nhiều bữa trong ngày làm tăng thời gian thuốc ở lại dạ dày, thuốc có thể nổi hơn 400 phút.

Giới tính: Nữ giới có tốc độ làm rỗng dạ dày chậm hơn nam giới. GRT của nữ là $3,4 \pm 0,6$ giờ trong khi nam giới cùng tuổi, chủng tộc là $4,6 \pm 1,2$ giờ.

Tuổi: Càng lớn tuổi, quá trình đẩy thức ăn ra khỏi dạ dày diễn ra càng chậm.

Ảnh hưởng của giới tính, tư thế và tuổi tác: Thông thường, nữ giới có tốc độ làm rỗng dạ dày chậm hơn nam giới. Đối với người cao tuổi, quá trình làm rỗng dạ dày bị chậm lại, căng thẳng làm tăng tốc độ làm rỗng dạ dày trong khi trầm cảm ngược lại, làm chậm tốc độ làm rỗng dạ dày². Tư thế không có bất kỳ ảnh hưởng khác biệt đáng kể nào đến thời gian lưu lại trong dạ dày trung bình (GRT) đối với những người ở tư thế thẳng đứng, đi lại được và nằm ngửa.¹⁹

Thuốc đi kèm: Khi dùng cùng lúc với thuốc kháng cholinergic (atropin, propanthelin), opiat (codein) làm tăng thời gian nổi của thuốc do làm chậm tốc độ làm rỗng dạ dày. Ngược lại, thuốc chống nôn (metoclopramid, cisaprid), erythromycin, octreotid đẩy nhanh thức ăn xuống ruột non.⁶⁷

Bệnh lý: Một số bệnh lý như đái tháo đường, hội chứng Crohn đều ảnh hưởng đến khả năng lưu lại thuốc ở dạ dày.

1.3.3.1. Ưu điểm, tiềm năng và hạn chế của FDDS^{17,19}

Hệ thống phân phối thuốc phóng thích kiểm soát

Hấp thụ thuốc từ dạng bào chế CR đường uống thường bị hạn chế bởi GRT ngắn. Tuy nhiên, các dạng bào chế có thể tồn tại ở dạ dày trong vài giờ và do đó, kéo dài đáng kể GRT của nhiều loại thuốc là mục tiêu mong muốn. Tuy nhiên, các dạng bào chế đặc biệt này có kích thước tương đối lớn và không dễ dàng đi qua môn vị có độ rộng khoảng 0,9-1,9 cm.¹³

Phân phối thuốc tại vị trí cụ thể

Các hệ thống này đặc biệt thuận lợi cho các loại thuốc được hấp thụ đặc biệt từ dạ dày hoặc phần gần của ruột non, ví dụ như riboflavin và furosemid.

Furosemid được hấp thụ chủ yếu từ dạ dày, sau đó là tá tràng. Các nhà khoa học báo cáo rằng một dạng bào chế nổi nguyên khối với thời gian lưu lại trong dạ dày kéo

dài đã được phát triển và có sự tăng sinh khả dụng. AUC thu được với viên nén nổi cao hơn xấp xỉ 1,8 lần so với viên nén furosemide dạng bào chế thông thường.

Một viên nang nổi hai lớp được phát triển để phân phối tại chỗ như misoprostol, một chất tương tự tổng hợp của prostaglandin E1 được sử dụng như một chất bảo vệ loét dạ dày do sử dụng NSAID bởi sự phân phối chậm misoprostol đến dạ dày, có thể đạt được mức điều trị mong muốn và giảm lãng phí thuốc.³

Tăng cường khả năng hấp thụ

Các loại thuốc có sinh khả dụng kém do hấp thụ tại chỗ cụ thể từ phân trên của đường tiêu hóa là những đối tượng tiềm năng để bào chế dưới dạng hệ thống phân phối thuốc nổi, do đó sẽ tối đa hóa khả năng hấp thụ của chúng. Ví dụ, có thể đạt được sự cải thiện đáng kể về sinh khả dụng của các dạng bào chế nổi là (42,9%) so với viên nén trên thị trường (33,4%) và sản phẩm có đặc tính kéo dài sự phóng thích thuốc trên thị trường như viên bao tan trong ruột (29,5%).³

1.3.3.2. Những hạn chế của phân phối thuốc nổi³

Thuốc gây kích ứng niêm mạc, thuốc có nhiều vị trí hấp thụ trong đường tiêu hóa và thuốc không ổn định ở pH dạ dày thì đây không phải là đối tượng thích hợp để bào chế dưới dạng viên nổi. Cơ chế nổi như một cơ chế lưu giữ đòi hỏi phải có một lượng chất lỏng mà trên đó viên có thể nổi trên các chất chứa trong dạ dày. Để khắc phục hạn chế này, một polyme kết dính sinh học có thể được sử dụng giúp bám vào niêm mạc dạ dày, hoặc dạng bào chế có thể được dùng với một lượng nước đủ để giúp viên nổi lên trong giai đoạn đầu.

1.3.3.3. Ưu điểm dược động học và tiềm năng trong tương lai¹³

Bao gồm hệ thống phóng thích kéo dài, các dạng bào chế nổi mang lại nhiều ưu điểm tiềm năng khác nhau rõ ràng từ một số công bố gần đây. Các loại thuốc có sinh khả dụng kém do khả năng hấp thụ của chúng bị hạn chế ở đường tiêu hóa trên có thể được phân phối một cách hiệu quả, do đó, tối đa hóa khả năng hấp thụ và cải thiện sinh khả dụng tuyệt đối.⁶⁸

FDDS trở thành một ưu điểm bổ sung cho các loại thuốc được hấp thu chủ yếu ở đoạn trên của đường tiêu hóa, tức là dạ dày, tá tràng và hỗng tràng. Một số vấn đề quan trọng, chưa được giải quyết liên quan đến phát triển hợp lý FDDS bao gồm:

1. Hiệu quả của lưu giữ thuốc hệ thống phân phối nổi ở trạng thái đói và no.
2. Vai trò của độ nổi trong tăng cường GRT.
3. Mối tương quan giữa GRT kéo dài và đặc điểm phóng thích.

Cuối cùng, với hiểu biết ngày càng tăng về công dụng của polymer và vai trò của các yếu tố sinh học được đề cập ở trên, có ý kiến cho rằng công việc nghiên cứu trong tương lai về các hệ thống phân phối thuốc nổi nên nhằm mục đích khám phá các phương tiện để kiểm soát chính xác tốc độ đưa thuốc vào đường tiêu hóa để tối ưu hóa các đặc điểm dược động học và độc tính của thuốc.

1.4. Cập nhật tình hình nghiên cứu thuốc nổi trong dạ dày

1.4.1. Tình hình nghiên cứu thuốc nổi trên thế giới

Hiện nay, trên thị trường có các sản phẩm được bào chế dựa trên nguyên lý dạng bào chế viên nổi được trình bày trong Bảng 1.3.

Bảng 1.3. Các sản phẩm thuốc nổi trong dạ dày trên thị trường ²⁰

Sản phẩm	Hoạt chất	Dạng bào chế	Nhà sản xuất
Madopar	L- Dopa+ Benserazid	Viên nén nổi	Roche, Thụy Sĩ
Valrelease	Diazepam	Viên nang nổi	Hoffmann-LaRoche
Convicon	Sắt (II) sulfat	Gel nổi	Ranbany, India
Cytotech	Misoprostol	Viên nang nổi	Pharmacia, USA

Từ Bảng 1.3 cho thấy bào chế dạng thuốc nổi trong dạ dày đã được ứng dụng ở các nước, tuy nhiên CLA vẫn chưa được ứng dụng trong dạng bào chế viên nổi đến ngày nay, CLA đang được bào chế dạng viên là viên phóng thích chậm (Klacid 500 mg MR) và viên phóng thích tức thời (PTTT) (Klacid Forte 500 mg), bên cạnh các thành phẩm đ CLA ở các dạng bào chế khác nhau trên thị trường được trình bày trong Bảng 1.4.

Bảng 1.4. Các thành phẩm CLA ở các dạng bào chế khác nhau trên thị trường

Sản phẩm	Dạng bào chế	Nước sản xuất
Claricin- 500	Viên nén bao phim	Ấn Độ
Fromiliduno MR tablet	Viên nén bao phim PTKD	KRKA D.D Novo Mesto
CLA Stada	Viên nén bao phim	Stada
Klacid 500mg MR	Viên nén bao phim PTKD	Abbott
Klacid 500 mg	Viên nén bao phim	Abbott
Klacid Forte 500 mg	Viên nén bao phim	Abbott

CLA thường được bào chế dạng viên nén PTTT và viên PTKD, do đó, cách tiếp cận bào chế viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày là một dạng bào chế mới. Khi đề cập dạng bào chế thuốc nổi trong dạ dày, có khá nhiều công trình nghiên cứu cũng đạt được những thành tựu đáng kể, phải kể đến là công trình công bố độc quyền của 4 bằng độc quyền sáng chế tại 2 quốc gia là Mỹ và Nhật, đặc điểm của các bằng sáng chế được tóm tắt như sau:

Bằng độc quyền sáng chế US 5.651.985,⁴³ cấp ngày 29/07/1997 đề cập đến chế phẩm có thể kéo dài thời gian lưu giữ trong dạ dày. Cụ thể chế phẩm chứa hỗn hợp của polyvinyl-lactam và polyacrylat, có đặc điểm trương nở mạnh trong môi trường dạ dày và kéo dài thời gian lưu giữ trong dạ dày. Thời gian này còn được kéo dài thêm nhờ việc bổ sung hỗn hợp chất sinh khí, khí sinh ra làm giảm tỷ trọng của chế phẩm, do đó, chế phẩm nổi trong dạ dày.

Bằng độc quyền sáng chế số WO/2001/010419²⁷ của Mỹ, ngày 15/02/2001 đề cập tới hệ thống phóng thích thuốc uống có tính năng kéo dài thời gian lưu giữ thuốc trong dạ dày bao gồm khung xốp trơ gồm ít nhất một hoạt chất, đường, chất sinh khí và tá dược khác được sử dụng.

Bằng độc quyền sáng chế số WO/2000/015198²⁸ của Mỹ, ngày 23/03/2000 đề cập đến chế phẩm thuốc dạng viên nén hoặc viên nang kiểm soát được thời gian phóng thích hoạt chất với mục tiêu tăng hiệu quả điều trị. Cụ thể, chế phẩm bao gồm hoạt chất, chất sinh khí tạo CO₂, chất trương nở, chất tạo nhớt và polymer tạo gel. Cơ chế

viên được tạo ra có cấu trúc khung matrix và làm viên tạo CO₂ giúp viên nổi lên, do đó kéo dài thời gian lưu trong dạ dày.

Từ các bằng sáng chế đề cập trên cho nhận định nguyên tắc để giúp viên nổi trong dạ dày, bằng cách sử dụng các thành phần tá dược như acid citric, NaHCO₃ để sinh ra khí CO₂, ngoài ra, dùng các nhóm chất polymer làm trương nở chất mang hoạt chất và kiểm soát sự phóng thích như mong muốn. Tuy nhiên, tất cả các công bố đều tập trung trên đối tượng nghiên cứu là nhóm tá dược tải vào với hoạt chất được ứng dụng như ciprofloxacin hay trên giả dược, CLA chưa được đề cập. Ngoài ra, các bằng sáng chế được thực hiện trên hàm lượng viên nhỏ dưới 80 mg.

Tiếp theo bằng sáng chế trên một thành quả được công bố từ Nhật JP2015-0020971 (2015). Cụ thể, mô tả của sáng chế về cơ chế nổi của thuốc bằng cách làm giảm trọng lực của chế phẩm chứa CLA 250 mg, giúp viên có tỷ trọng nhẹ hơn môi trường dịch dạ dày, do đó, duy trì được đặc tính nổi trong thời gian dài. Cơ chế làm nổi trong công bố này là khác so với các chế phẩm đã đề cập trong các tài liệu nêu trên là về việc thay đổi hình dạng viên, điểm khó trong sáng chế này là trình sản xuất với trang thiết bị hiện đại như cần một áp suất lớn khi điều chế viên nhằm tạo các lỗ rỗng trong viên để tăng việc giữ không khí bên trong. Điều này khó có thể kiểm soát bởi cần trang thiết bị hiện đại và tuân thủ nghiêm ngặt áp lực nén khi tạo viên.

Tiếp theo các công trình được cấp bằng sáng chế trên, các nhà nghiên cứu trên thế giới tiếp tục nghiên cứu bào chế viên nổi trong dạ dày như sau:

Prabhu P và cộng sự²⁹ đã bào chế hệ thống phân phối thuốc nổi có kiểm soát lưu giữ trong dạ dày có chứa glipizid ở dạng viên nén và đánh giá các thông số như khả năng phóng thích thuốc *in vitro*. Viên nén vẫn nổi hơn 8 giờ, công thức sử dụng lượng natri carbonat để làm viên độ nổi mà không làm viên nén tan rã. Viên phóng thích dược chất trong môi trường HCl 0,1N. Các chế phẩm của viên nén đã được nhận thấy là khắc phục được những nhược điểm liên quan đến thuốc trong quá trình hấp thụ.²⁹

Khan F và cộng sự đã bào chế viên nén nổi lưu giữ trong dạ dày với theophyllin bằng cách sử dụng polymer ưa nước Methocel K4M để tạo gel và kiểm soát khả năng phóng thích. Natri bicarbonat và acid citric được kết hợp làm chất tạo khí CO₂. Kết

quả ghi nhận nếu lượng tá dược sử dụng chất nổi tăng sẽ làm giảm tiềm thời nổi. Tăng tải theophyllin làm tăng tiềm thời nổi và kết luận của công trình là Theophyllin không phụ thuộc vào chất tạo khả năng nổi của viên.³⁰

Havaladar và cộng sự đã phát triển các viên nén nổi chứa atenolol để kéo dài thời gian lưu lại trong dạ dày bằng cách sử dụng polymer bán tổng hợp, HPMC K4M, HPMC K100M và polymer tự nhiên như xanthan gum nhằm làm chậm quá trình phóng thích. Natri bicarbonat được sử dụng làm chất tạo khí CO₂ và dicanxi photphat được sử dụng làm chất tạo nền. Viên nén nổi có bao một lớp màng mỏng, đặc biệt atenolol được bào chế bằng phương pháp nén trực tiếp. Kết quả thu được cho thấy nồng độ natri bicarbonat sử dụng là 10%. Kết quả nồng độ natri bicarbonat dưới 10% có thể viên kéo dài tiềm thời nổi lên đến 1,5 giờ. Các nghiên cứu về độ trương phồng của tất cả các chế phẩm cho thấy các chế phẩm chứa xanthan gum có chỉ số trương phồng cao hơn khi sử dụng với HPMC K100M và HPMC K4M.⁵⁶

Theo Patel và cộng sự, cuộc điều tra mô tả quá trình phát triển hệ thống phân phối thuốc nổi trong dạ dày đối với cefuroxim axetil. Các thiết kế theo mô hình đầy đủ 3² được sử dụng tối ưu hóa tỷ lệ hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) K4M/HPMC K100 LV (hỗn hợp polymer) và natri lauryl sulfat đối với quá trình phóng thích dược chất từ chất nền HPMC. Viên nén được bào chế bằng kỹ thuật nén trực tiếp. Các chế phẩm được đánh giá về độ nổi và khả năng phóng thích dược chất *in vitro* bằng cách sử dụng thiết bị hòa tan kiểu cánh khuấy theo USP 24 sử dụng HCl 0,1N làm môi trường hòa tan. Phân tích hồi quy được thực hiện cho các lô thử nghiệm, tất cả các chế phẩm có tiềm thời nổi dưới 2 phút và liên tục nổi trên môi trường hòa tan trong hơn 8 giờ. Hỗn hợp polymer ảnh hưởng đáng kể đến thời gian cần thiết để phóng thích 50% thuốc sau 12 giờ, hằng số tốc độ phóng thích và số mũ khuếch tán ($P < 0,5$). Ngoài ra, có mối quan hệ tuyến tính giữa lượng HPMC K100 LV và số mũ khuếch tán cũng như hằng số tốc độ phóng thích. Động học thuốc theo kiểu khuếch tán thụ động, chủ yếu phụ thuộc vào hai biến độc lập.³²

Bomma và cộng sự³⁴ đã phát triển các viên nén có bao một lớp màng mỏng nổi đặc biệt của norfloxacin để kéo dài thời gian lưu lại trong dạ dày, dẫn đến tăng sinh

khả dụng của thuốc. Viên nén được bào chế bằng kỹ thuật xát hạt ướt, sử dụng các polymer như HPMC K4M, HPMC K100M và xanthan gum. Viên nén được đánh giá về các đặc tính vật lý như độ cứng, độ dày, độ mài mòn, hàm lượng dược chất và đặc tính nổi. Hơn nữa, viên nén đã được nghiên cứu về đặc tính phóng thích dược chất *in vitro* trong 9 giờ. Viên nén phóng thích dược chất có kiểm soát và kéo dài, đồng thời nổi trên môi trường hòa tan. Khuếch tán Fickian đã được xác nhận là cơ chế phóng thích thuốc công thức, cho thấy rằng polymer đóng vai trò thiết yếu trong quá trình phóng thích thuốc. Chế phẩm tốt nhất (F4) đã được lựa chọn dựa trên các đặc điểm trên *in vitro* và được sử dụng kỹ thuật chụp X - quang trên *cơ thể sống* để ghi nhận hình ảnh thuốc trong dạ dày, sử dụng chất cản quang BaSO₄.³⁴

Bên cạnh đó, các công trình nghiên cứu viên nổi chứa CLA đã được công bố trên thế giới với hàm lượng, cấu trúc, tá dược, phương pháp điều chế và tổng hợp các nghiên cứu về CLA nổi trong dạ dày được trình bày trong Bảng 1.5.

Bảng 1.5. Tổng hợp các nghiên cứu về CLA nổi trong dạ dày

	Các công trình công bố CLA				
	Sanjay S. Patel, S. Ray And R. S. Thakur (2006) ³⁵	Inderbir Singh và Vikrant Saini, (2016) ³⁶	Timucin uurlu và erkan rayaman, (2014) ²⁴	N Prakash Kawade, Vaibhav và Changediya (2021) ³⁷	M Nama,1 C Sekhar Gonugunta,(2008) ³⁸
Hàm lượng	CLA 250 mg – 500 mg				
Cấu trúc/ Thiết kế công thức mô tả	Viên nén matrix nổi/Tối ưu hóa công thức D-Optimal	Thiết kế mạng Simplex	Thiết kế mạng simplex - Phần mềm Minitab 16Æ	Hệ thống phân phối nổi (FDDS)	Hệ thống phân phối cân bằng thủy động lực học của CLA
Tá dược	HPMC, natri bicarbonat	HPMC và Ethyl Cellulose; natri	HPMC K100, K4M, K15M	Natri bicarbonat và Chitosan, HPMC K4M	Natri bicarbonat ,polymer

		bicarbonat và axit citric		và Ethyl cellulose	
Tiềm thời nổi	<30 giây		< 15 giây		< 3 phút
Thời gian nổi	> 10 giờ	12 giờ	> 10 giờ		12 giờ
Kết luận	Cấu hình phóng thích <i>in vitro</i> và phóng thích tuân theo sự khuếch tán bất thường cũng như mô hình bậc không.	Thiết kế mạng Simplex được báo cáo là một kỹ thuật tối ưu hóa hiệu quả cho tối ưu hóa các công thức được phẩm so với mục tiêu.	Sử dụng thiết kế mạng simplex (một lớp phụ của thiết kế hỗn hợp) với Phần mềm Minitab 16Æ. Natri bicarbonat và axit citric khan được sử dụng làm chất tạo khí.		Công thức được phát triển bằng cách sử dụng 66,2% CLA, 12% HPMC K4M polymer, 8% natri bicarbonat đã cho tiềm thời nổi dưới 3 phút với, thời gian nổi là 12 giờ
<i>In vivo</i>	Chưa đề cập	X - quang	Chưa đề cập	Chưa đề cập	X - quang

Từ các công trình nghiên cứu trên cho thấy viên CLA được tạo bằng phương pháp xát hạt ướt và dập thẳng. Thêm vào đó, chế phẩm được đánh giá về tiềm thời nổi và thời gian nổi trên mô hình thử nghiệm là ly thủy tinh, không có lực khuấy. Kết quả xác định tiềm thời nổi là từ 15 giây đến dưới 3 phút. Có 1 nghiên cứu thử *in vivo* trên Người cho kết quả là viên có khả năng nổi trong 220 phút³⁷. Các công trình đã công bố có giá trị trong định hướng nghiên cứu của luận án, mặc dù còn nhiều điểm cần tiếp tục tiếp cận như xây dựng mô hình thử nghiệm *in vitro* trên thiết bị được mô phỏng như trong dạ dày là máy đo độ hòa tan hay trên mô hình *in vivo trên cơ thể sống*. Đáng

giá thời gian lưu giữ thuốc và ghi nhận nồng độ thuốc được hấp thu trong huyết tương khi sử dụng viên nổi trong dạ dày và viên PTTT⁴⁹.

Tại Việt Nam, một số nghiên cứu về dạng thuốc nổi trong dạ dày như: luận án tiến sĩ nghiên cứu bào chế và đánh giá tác dụng kháng ung thư của viên nén nổi chứa curcumin⁴⁵ và nghiên cứu bào chế viên nổi trong dạ dày chứa metronidazol 250 mg⁴⁶, viên được bào chế bằng phương pháp xát hạt ướt, cơ chế viên nổi bằng cách dùng tá dược tạo khí CO₂. Hay nghiên cứu thăm dò bào chế viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày⁹³ với phương pháp dập thẳng.

Tóm lại, từ những công trình đã công bố trong và ngoài nước cho thấy dạng bào chế thuốc nổi trong dạ dày còn tồn đọng các khoảng trống mà luận án cần tiếp cận để phát triển như xây dựng quy trình bào chế và tối ưu hóa công thức để viên đạt thời gian nổi và kiểm soát sự phóng thích thuốc trong 12 giờ đối với hoạt chất CLA 500 mg bằng phương pháp tạo viên phù hợp, dễ uống. Bên cạnh đó, cần xây dựng mô hình đánh giá thời gian lưu giữ thuốc *in vitro* và *in vivo*^{6,610} để xác định tiềm thời nổi và thời gian nổi. Trong nghiên cứu *in vivo* thời gian nổi của thuốc được ghi nhận bằng kỹ thuật phù hợp – phương pháp chụp X- quang có so sánh giữa thuốc có thành phần giúp viên nổi và viên có thành phần không có đặc tính nổi. Hơn nữa, nồng độ của thuốc trong huyết tương trên *cơ thể sống* được đánh giá trong 24 giờ, có so sánh giữa viên nổi và viên PTTT có chứa CLA 500 mg.⁵³

Khi đề cập đến dạng thuốc nổi trong dạ dày, các công bố kết quả nghiên cứu trên tạp chí thế giới cũng đề cập đến các nhóm dược chất có đặc tính phù hợp để nghiên cứu dạng bào chế này được trình bày trong Bảng 1.6.

Bảng 1.6. Một số đặc tính của dược chất phù hợp bào chế dạng thuốc nổi

Đặc tính	Dược chất/Tác giả/Năm công bố
Thời gian bán hủy thấp	Amoxicillin (Rajinikanth et al,2007) ³⁹
	Metronidazol (Ishak et al.,2007) ⁴⁰
	CLA (Nama et al.,2008) ⁴⁹
Độ tan thấp trong môi trường pH	Ofloxacin (Chavanpatil et al.,2006) ⁴¹
	Carvedilol (M V Nila, et al,2010) ⁵⁴

Tóm lại, việc phát triển các hệ thống phóng thích có kiểm soát qua đường uống là một thách thức đối với các nhà khoa học về lập công thức vì vấn đề được đề cập là không có khả năng kiểm soát và định vị hệ thống trong vùng mục tiêu của đường tiêu hóa.¹⁶ Tổng hợp ưu và nhược điểm của các nghiên cứu được trình bày trong Bảng 1.7.

Bảng 1.7. Tổng hợp ưu điểm và nhược điểm các công trình công bố viên nổi

Nội dung	Ưu điểm	Nhược điểm
Ứng dụng (Hoạt chất)	Có nhiều nghiên cứu trên nhiều nhóm hoạt chất khác nhau	Hàm lượng viên nhỏ, không quá 250 mg. Hoạt chất CLA 500 mg chỉ được nghiên cứu trong vài năm lại đây
Kỹ thuật bào chế	Nhiều phương pháp được áp dụng làm tăng thời gian nổi	Trang thiết bị hiện đại Khối lượng trung bình viên thường lớn 1.000 mg.
Tá dược giúp viên nổi và kiểm soát sự phóng thích hoạt chất	NaHCO ₃ , axid citric, nhóm HPMC,...	Tỷ lệ sử dụng là khác nhau và tỷ lệ lớn của tá dược giúp viên nổi từ 12% trở lên và các mô hình để tối ưu hóa tỷ lệ tá dược có sử dụng nhưng đa số bằng kỹ thuật thăm dò và mô hình toán học.
Mô hình <i>in vitro</i>	Đơn giản hoặc dùng ly thủy tinh, hoặc dùng máy đo độ hòa tan	Chưa có mô hình chuẩn, chưa biện luận cho việc lựa chọn mô hình phù hợp
Mô hình <i>in vivo</i>	Đánh giá trên nhiều đối tượng khác nhau như chuột, thỏ, Ghi nhận hình ảnh viên thuốc bằng Phương pháp chụp MRI,	Chưa có mô hình chuẩn cũng như chưa thử nghiệm mô hình trên Chó cỏ

	X-Quang	
Nồng độ thuốc trong huyết tương	Rất ít	Chưa có so sánh giữa viên nổi và viên PTTT

Từ bản tóm tắt trên của các nghiên cứu viên nổi trong dạ dày cho thấy cần tối ưu hóa thành phần công thức và quy trình điều chế phù hợp. Bên cạnh xây dựng mô hình đánh giá viên nổi trong dạ dày *in vivo* và *in vitro* phù hợp và nồng độ thuốc trong huyết tương để có cái nhìn cụ thể nồng độ thuốc giữa viên có đặc tính nổi trong dạ dày và viên PTTT.

Các tá dược được sử dụng là các nhóm polymer tan trong nước hoặc hợp chất thân dầu có tính chất kéo dài thời gian thuốc lưu trong dạ dày và kiểm soát sự phóng thích của thuốc trong khoảng thời gian. Các tá dược không chỉ bảo vệ hoạt chất trong suốt quá trình di chuyển trong cơ thể mà còn giúp duy trì tác dụng của thuốc trong khoảng thời gian mong muốn hoặc làm giảm tốc độ phóng thích thuốc bằng cách làm chậm sự tiếp xúc của các phân tử thuốc với môi trường nước xung quanh hệ thống phân phối thuốc.^{42,105}

Nhóm thân nước

Cơ chế hoạt động của polymer thân nước là trương nở, tạo gel, làm tăng độ nhớt, giúp hạn chế tốc độ PTHC hoặc tạo các khung xốp tan dần theo thời gian.¹⁰⁴

Hydroxypropyl Methylcellulose

Danh pháp

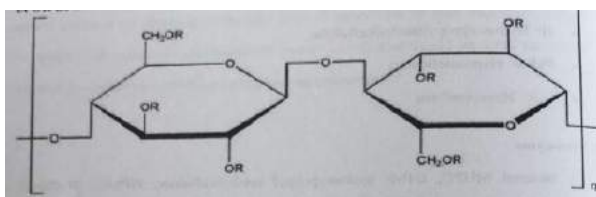
- BP: Hypromellose
- JP: Hydroxypropylmethylcellulose
- PhEur: Hypromellose
- USP: Hypromellose

Từ đồng nghĩa: Benecel MHPC; E464; hydroxypropyl methylcellulose; HPMC; Methocel; Methylcellulose propylene glycol ether; methyl hydroxypropylcellulose; Metolose; Tylopur.

Tên hóa chất, số đăng ký CAS: Cellulose hydroxypropyl methyl ether [9004-65-3]

Công thức thực nghiệm và trọng lượng phân tử

Dược điển Châu Âu 2006 mô tả hypromellose là một cellulose O-methylated và O-(2- hydroxypropylated) có sẵn ở một số loại khác nhau về độ nhớt và mức độ thay thế. Các loại có thể được phân biệt bằng cách thêm một số chỉ thị độ nhớt biểu kiến, tính bằng mPa, của dung dịch nước 2% w/w ở 20°C. Hypromellose được xác định trong USP 28 chỉ định loại thay thế bằng cách thêm một số có bốn chữ số vào danh pháp ví dụ: hypromellose 1828. Hai chữ số đầu tiên chỉ hàm lượng phần trăm gần đúng của nhóm methoxy (OCH₃). Hai chữ số thứ hai chỉ hàm lượng phần trăm gần đúng của nhóm hydroxypropoxy (OCH₂CH(OH)CH₃), được tính trên cơ sở khô, chứa các nhóm methoxy và hydroxypropoxy. Trọng lượng phân tử xấp xỉ 10.000 – 500.000. Dược điển Nhật Bản 2001 bao gồm 3 chuyên khảo riêng biệt về hypromellose: hydroxypropylmethylcellulose 2208, 2906 và 2910. Công thức cấu tạo của Hypromellose được trình bày trong Hình 1.8.



Hình 1.8. Công thức cấu tạo của Hypromellose ⁴²

Trong đó R là H, CH₃ hoặc CH₃CH(OH)CH₂.

Chức năng: Chất phủ; chất tạo màng; polymer kiểm soát tốc độ phóng thích dược chất; chất ổn định; chất tạo hỗn dịch; chất kết dính viên nén; chất tăng độ nhớt.

Ứng dụng

Hypromellose được sử dụng rộng rãi trong các chế phẩm thuốc uống, nhỏ mắt và bôi ngoài da. Trong các sản phẩm uống, hypromellose chủ yếu được sử dụng làm chất kết dính viên nén, bao phim và làm chất nền để sử dụng trong chế phẩm viên nén phóng thích kéo dài. Nồng độ từ 2% - 5% w/w có thể được sử dụng làm chất kết dính trong quy trình tạo hạt ướt hoặc khô. Các loại có độ nhớt cao có thể được sử dụng để làm chậm quá trình phóng thích thuốc từ chất nền ở nồng độ 10-80% w/w trong viên nén và viên nang.

Tùy thuộc vào cấp độ nhớt, nồng độ 2-20% w/w được sử dụng làm dung dịch tạo màng cho viên nén bao phim. Các loại có độ nhớt thấp hơn được sử dụng trong dung dịch phủ màng nước, trong khi các loại có độ nhớt cao hơn được sử dụng trong dung môi hữu cơ. So với methylcellulose, hypromellose tạo ra dung dịch nước có độ trong cao hơn, có ít sợi không phân tán hơn và do đó được ưu tiên trong các chế phẩm dùng cho nhãn khoa. Hypromellose ở nồng độ từ 0,45-1,0% w/w có thể được thêm vào làm chất làm đặc cho các tá dược dùng cho thuốc nhỏ mắt và dung dịch nước mắt nhân tạo. Hypromellose cũng được sử dụng làm chất nhũ hóa, chất tạo huyền phù và chất ổn định trong gel bôi và thuốc mỡ.

Mô tả: Hypromellose là một loại bột dạng sợi hoặc dạng hạt không mùi và không vị, màu trắng hoặc trắng kem, độ acid/kiềm pH = 5,5-8,0 đối với dung dịch nước 1% w/w, nhiệt độ tự bốc cháy: 360°C, tỷ trọng riêng (đồng): 0,341 g/cm³, tỷ trọng riêng (hạt): 0,557 g/cm³.

Độ ẩm: Hypromellose hút ẩm từ khí quyển; lượng nước hấp thụ phụ thuộc vào độ ẩm ban đầu, nhiệt độ và độ ẩm tương đối của không khí xung quanh.

Độ hòa tan: Hòa tan trong nước lạnh, tạo thành dung dịch keo nhớt; thực tế không hòa tan trong chloroform, ethanol (95%) và ete, nhưng hòa tan trong hỗn hợp ethanol và dichloromethan, hỗn hợp methanol và dichloromethan, và hỗn hợp nước và rượu. Một số loại hypromellose hòa tan trong dung dịch nước acetone, hỗn hợp dichloromethan và propan-2-ol và các dung môi hữu cơ khác.

Trọng lượng riêng: 1,26

Độ nhớt: Các dung dịch nước thường được bào chế nhiều nhất, mặc dù hypromellose cũng có thể được hòa tan trong các dung dịch cồn như ethanol và propan-2-ol với điều kiện là hàm lượng cồn nhỏ hơn 50% w/w. Giá trị độ nhớt điển hình cho dung dịch nước 2% (w/v) của Methocel) được trình bày trong Bảng 1.8.

Bảng 1.8. Giá trị độ nhớt điển hình cho dung dịch nước 2% (w/v) của Methocel)

Sản phẩm Methocel	Tên gọi theo USP 28	Độ nhớt danh định (mPa s)
Methocel K15M	2208	15000
Methocel K100M	2208	100000

Natri Bicarbonat ⁴²*Danh pháp*

- BP: Sodium bicarbonate
- JP: Sodium bicarbonate
- PhEur: Natri hydrogenocarbonas
- USP: Sodium bicarbonate

Từ đồng nghĩa: Baking Soda; E500; Effer-Soda; mononatri carbonat; Sal de Vichy; natri acid carbonat; natri hydro carbonat.

Tên hóa chất và số đăng ký CAS: Muối mononatri acid carbonic [144-55-8]

Công thức thực nghiệm và trọng lượng phân tử: NaHCO₃ và 84.01

Công thức cấu tạo: NaHCO₃

Ứng dụng trong chế phẩm hoặc công nghệ dược phẩm: Natri bicarbonat thường được sử dụng trong các chế phẩm dược phẩm như một nguồn carbon dioxid trong viên nén và thuốc cốm sủi bọt. Nó cũng được sử dụng rộng rãi để tạo ra hoặc duy trì độ pH kiềm trong chế phẩm. Ở dạng viên nén và thuốc cốm sủi bọt, natri bicarbonat thường được bào chế với axit citric ^{42,101} và/hoặc acid tartaric; hỗn hợp axit citric và acid tartaric thường được ưu tiên trong các chế phẩm vì chỉ sử dụng riêng axit citric sẽ tạo ra một hỗn hợp dính khó tạo hạt, trong khi nếu chỉ sử dụng riêng axit tartaric sẽ làm mất độ cứng của thuốc cốm. Khi viên nén hoặc thuốc cốm tiếp xúc với nước, phản ứng hóa học xảy ra, carbon dioxid được phóng thích và sản phẩm tan rã. Tạo hạt nóng chảy trong máy sấy tầng sôi đã được đề xuất như một phương pháp một bước để sản xuất thuốc cốm sủi bọt bao gồm axit citric khan và natri bicarbonat, để sau đó nén thành viên nén. Viên nén cũng có thể được bào chế chỉ với natri bicarbonat vì acid của dịch dạ dày đủ để gây sủi bọt và tan rã. Natri bicarbonat cũng được sử dụng trong các chế phẩm viên nén để đệm các phân tử thuốc là acid yếu, do đó làm tăng tốc độ hòa tan của viên thuốc và giảm kích ứng dạ dày.

Natri bicarbonat được sử dụng ở các nồng độ khác nhau với các vai trò sử dụng khác nhau được trình bày trong Bảng 1.9.

Bảng 1.9. Công dụng của natri bicarbonat.

Công dụng	Nồng độ (%)
Dung dịch đệm trong viên nén	10-40
Viên nén sủi bọt	25-50
Tiêm/truyền đẳng trương	1,39

Natri bicarbonat dạng bột tinh thể màu trắng, không mùi với vị mặn, hơi kiềm, có cấu trúc tinh thể là lăng trụ đơn hình. Các loại có kích thước hạt khác nhau, từ bột mịn đến hạt đồng nhất chảy tự do, đều có sẵn trên thị trường.

Đặc tính điển hình: Độ acid/kiềm: pH = 8,3 đối với dung dịch nước 0,1 M mới bào chế ở 25 °C; độ kiềm tăng lên khi đứng yên, khuấy động, hoặc đun nóng.

Tỷ trọng riêng (hạt): 1,369 g/cm³.

Độ ẩm: Độ ẩm tương đối dưới 80%, độ ẩm nhỏ hơn 1% w/w. Độ ẩm tương đối trên 85%, natri bicarbonat nhanh chóng hấp thụ lượng nước dư thừa và có thể bắt đầu phân hủy khi mất khí carbon dioxide.

An toàn: Natri bicarbonat được sử dụng trong một số chế phẩm dược phẩm bao gồm thuốc tiêm và thuốc nhỏ mắt, tai, thuốc bôi và thuốc uống. Natri bicarbonat được chuyển hóa thành cation natri, được loại bỏ khỏi cơ thể bằng cách bài tiết qua thận và anion bicarbonat, trở thành một phần của kho dự trữ bicarbonat của cơ thể. Khi được sử dụng dạng tá dược, natri bicarbonat thường được coi là một vật liệu về cơ bản không độc hại và không gây kích ứng.

1.4.2. Phát triển công thức thuốc với sự trợ giúp của máy tính

Phát triển thuốc với sự trợ giúp của vi tính (Computer – Aided Drug Development) là một ứng dụng đã đem lại nhiều thuận lợi trong việc nghiên cứu và phát triển thuốc ⁴⁷. Trên thế giới các nước tiên tiến đã và đang ứng dụng công nghệ thông tin cho quá trình nghiên cứu như phần mềm INForm. Ở Vương Quốc Anh trong hỗ trợ thiết kế và tối ưu hóa công thức, quy trình sản xuất. Phần mềm được ứng dụng tại nhiều nhà máy lớn như AstraZenaca, Pfizer, Dow Chemical và Việt Nam cũng đã ứng dụng phần mềm INForm khá phổ biến. Tuy nhiên, khi áp dụng phần mềm trên có một số hạn chế nhất định như bản quyền, luận án tiếp cận phần mềm BCPharSolf

OPT⁴⁸ để ứng dụng mạng neuron, thuật giải di truyền kết hợp với logic mờ trong tối ưu hóa công thức, phần mềm này của Việt Nam do đó sẽ là cách thuận lợi khi phát triển công thức khác tương lai.⁵⁰

Khi tối ưu hóa, các biến độc lập (x_1, x_2, \dots) có thể được chọn để sao cho biến phụ thuộc (y_1, y_2, \dots) được tối đa hoặc tối thiểu. Đối với thuốc, mỗi sản phẩm thường có nhiều tính chất (y_j) nên phải có sự dung hòa để cho các giá trị y_1, y_2, \dots đạt được tối ưu thay vì các biến (y) tối thiểu hoặc tối đa.

Sự kết hợp hai công nghệ thông minh gồm mạng thần kinh (với mạng thần kinh như hộp đen hay gặp là mạng thần kinh đa lớp) với thuật toán di truyền, là công cụ rất hiệu quả để tối ưu hóa các thông số:

- Mạng thần kinh có công dụng xác lập mối liên quan nhân quả; dự đoán tính chất sản phẩm giữa thành phần công thức và/ hoặc điều kiện sản xuất.

- Thuật toán di truyền có khả năng tối ưu hóa các thông số dựa trên mô hình liên quan nhân quả nêu trên.

Ngoài sự kết hợp hai công nghệ nêu trên, logic mờ cũng được áp dụng tăng cường nên mạng thần kinh hiệu quả hơn trong việc thiết lập mô hình liên quan nhân quả đối với các dữ liệu phức tạp và thuật toán di truyền thuận tiện hơn trong sự tối ưu hóa nhờ các hàm mục tiêu trực quan. Nhờ đó, phương pháp tối ưu hóa bằng phần mềm vi tính có nhiều ưu điểm hơn các phương pháp tối ưu hóa truyền thống như:

- Không giới hạn về số biến x_1, x_2, \dots, x_k : Đáp ứng yêu cầu nghiên cứu với nhiều biến về thành phần công thức và/ hoặc điều kiện sản xuất.

- Có thể tối ưu đồng thời nhiều biến y_1, y_2, \dots, y_k : Phù hợp với thực tế kết quả cần đáp ứng nhiều mặt như chỉ tiêu kiểm nghiệm.

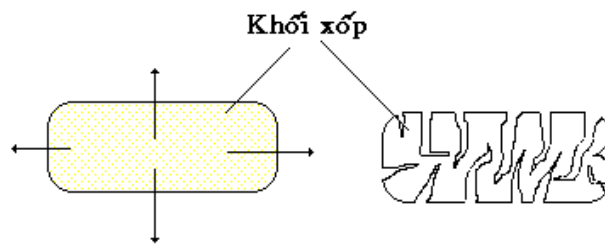
- Không phụ thuộc mô hình toán học mà dựa vào khả năng luyện mạng với sự lựa chọn nhiều thông số phù hợp.

- Phù hợp với loại dữ liệu phức tạp, phi tuyến, không dùng số, định tính hay thiếu trị số.

- Áp dụng một cách dễ dàng nhờ các hàm tối ưu hóa trực quan: Tent, Up, Down, Flat hay Flat-Tent.⁵⁰

1.4.3. Thiết kế công thức có cấu trúc khung matrix kiểm soát sự PTHC

Đối với dạng thuốc nổi trong dạ dày, tá dược sinh ra khí tạo CO₂ giúp viên có thể kéo dài được thời lưu giữ thuốc trong dạ dày, tuy nhiên, để viên PTHC theo mong muốn thì cấu trúc khung khí tạo viên để kiểm soát sự phóng thích là quan trọng và điển hình là tạo thuốc có cấu trúc kiểu khung xốp (matrix devices)⁴⁹ - được thiết kế nhiều do quy trình bào chế không phức tạp và ít gây sự phóng thích liều đột ngột nên dễ dàng kiểm soát. Hệ thống PTKD có cấu trúc khung xốp⁵² được trình bày Hình 1.9.



Hình 1.9. Hệ thống PTKD có cấu trúc khung xốp

“*Nguồn: Nikhotchi A. et al.(2012)*”⁵²

Dạng thuốc có cấu trúc khung xốp thường được thiết kế bằng nhóm polymer không tan, dược chất dạng hòa tan hay tiểu phân rắn được phân tán đồng nhất trong khối polymer.⁵¹ Sự phóng thích dược chất phụ thuộc vào độ tan của dược chất và sự phóng thích dược chất ra ngoài qua các đường mao dẫn trong khung xốp. Khi thuốc vào cơ thể, bề mặt của thuốc bị hydrat hóa bởi dịch tiêu hóa tạo thành một lớp gel bao lấy viên thuốc, hoạt chất ở bề mặt viên sẽ được khuếch tán ra ngoài. Nước càng thấm vào sâu bên trong, làm tăng bề dày của lớp gel, dược chất tiếp tục được khuếch tán ra ngoài qua các ống mao quản tạo bởi lớp gel polymer. Khi hết hoạt chất, khung không chứa thuốc sẽ được đào thải theo phân ra ngoài. Ngoài ra, đối với một số dược chất không tan, khung matrix¹¹⁴ sẽ được thiết kế sao cho khung sẽ bào mòn dần dưới tác dụng của dịch tiêu hóa để phóng thích hoạt chất.^{51,114}

Thuốc phóng thích theo cơ chế khuếch tán hay thẩm thấu thường sẽ đạt được sự phóng thích thuốc liên tục, ổn định, thuốc phóng thích giảm dần có thể cung cấp sự phóng thích duy trì và tuân theo động học bậc 1. Còn với thuốc phóng thích kiểu hai

đỉnh thường xảy ra vì sự hấp thu không đồng nhất ở các vị trí trên đường tiêu hóa. Vì thế sự phóng thích hoạt chất cần phải chậm hơn sự hấp thu để kiểm soát được lượng thuốc hấp thu. Để đạt được điều này cần thiết kế hệ thống cung cấp sự giải phóng hoạt chất nhanh chóng có tác động giai đoạn đầu và tiếp theo sau là sự phóng thích chậm ở các thời điểm sau. ^{49,53}

1.5. Phương pháp đánh giá thời gian nổi *in vitro* và *in vivo*

1.5.1. Phương pháp đánh giá thời gian nổi *in vitro*

Thời gian nổi của thuốc là thông số quan trọng quyết định thời gian lưu giữ thuốc tại dạ dày, thuốc có thời gian nổi *in vitro* được xác định bởi tiềm thời nổi (FLT) và tổng thời gian nổi (TFT).⁵⁵ Thử nghiệm này được thực hiện bằng phương pháp đưa viên thuốc vào các cốc trong máy thử nghiệm độ hòa tan, thực hiện theo USP loại thiết bị II (cánh khuấy). Thiết bị hòa tan mô phỏng như dịch dạ dày với 900 ml HCl 0,1N; duy trì ở nhiệt độ $37 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$, tốc độ cánh khuấy 50 vòng/phút, (Pornsak S. và cộng sự, 2022) ⁶³. Các kết quả được đánh giá khả năng nổi bao gồm FLT và TFT (Patel và cộng sự 2006 ³²; Muhammad, 2022 ⁶²), FLT là thời gian cần thiết để viên thuốc nổi lên trên bề mặt và TFT là thời gian tính đến thời điểm mà viên vẫn nổi được xác định là nổi hoàn toàn.^{60,62}

Ngoài ra, thử nghiệm về thời gian nổi cũng có thể được thiết kế thực nghiệm với dụng cụ là ly thủy tinh chứa 200 ml dung dịch HCl 0,1N, kết quả được ghi nhận về tiềm thời nổi và thời gian nổi của viên.⁶⁴

1.5.2. Phương pháp đánh giá thời gian nổi *in vivo*

Các nghiên cứu trên động vật *cơ thể sống* là bước đầu tiên ghi nhận hình ảnh khả năng lưu giữ thuốc tại dạ dày và thí nghiệm trên động vật có thể được sử dụng như một phương pháp tiếp cận sàng lọc tốt nhất hiện tại ⁶¹. Bên cạnh đó, đối tượng thử nghiệm có thể là trên Người ^{81,117}, Chó Cỏ ^{73,77} và Thỏ ^{60,119}. Ở Việt Nam thì Chó cỏ hay còn gọi là Chó ta được gọi chung là Chó Việt Nam - là các giống Chó cỏ đã được thuần chủng được nuôi khá phổ biến ⁷³. Do đó, luận án sử dụng *cơ thể sống* là Chó có trưởng thành, giống đực (Việt nam), khỏe mạnh, cân nặng 10-12 kg được nuôi dưỡng trong điều kiện chế độ ăn uống đầy đủ và có kiểm soát ⁷⁷ phù hợp đường uống hơn so

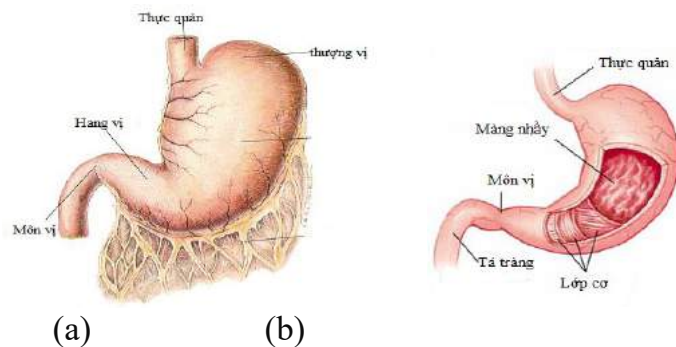
với Thỏ hay Chuột khi uống thuốc thử nghiệm. Bên cạnh đó, Chó cỏ khá tương đồng về mặt giải phẫu học (kích thước đường tiêu hóa) với mô hình trên Người ⁷⁴, dưới đây là bảng so sánh mô phỏng dạ dày và hình thể Chó cỏ và Người được trình bày lần lượt ở Bảng 1.10 và Hình 1.10.

Bảng 1.10. Mô hình và hình thể mô phỏng trên dạ dày Chó cỏ và Người

Tính chất	Thời gian (phút)	
	Trên Chó	Trên người
Thời gian hoạt động của pha 3	19 ± 2	$18,6 \pm 4$
Chu kỳ hoạt động của pha 3	106 ± 8	$112 \pm 11,4$
Ở trạng thái đói, thời gian làm rỗng dạ dày	$18,6 \pm 4$	19 ± 2
Kích thước dạ dày (rộng)	13 cm	15,2 cm
Thể tích chứa của dạ dày (dạ dày rỗng: dạ dày lúc no)	0,5 – 4 (lít)	0,8 – 4 (lít)
Kích thước lỗ môn vị	16,3 mm	11 mm

“Nguồn: Luis P. (2018)⁷⁴ và Marylyn N. et al.(2021)⁷⁶”

Ở trạng thái đói, pH dạ dày có tính acid tương đương như ở người. Ở Chó cỏ, pH lúc đói nằm trung bình khoảng 7.3 ± 0.09 và pH dạ dày ở Người $6 \pm 0,14$.



Hình 1.10. Mô phỏng dạ dày

(a) trên Chó cỏ (b) trên Người “Nguồn: Marylyn N. et al.(2021)⁷⁶ và Luis P. (2018)⁷⁴”

Theo Bảng 1.10 hình thể dạ dày của Người và Chó khá tương đồng, ngoài ra phần lớn sinh lý dạ dày ở trạng thái đối giống nhau về nhu động, pH dạ dày. Do đó, kết quả từ thực nghiệm trên Chó có sẽ giúp dự đoán trên Người chính xác.^{71,72}

Có nhiều phương pháp để theo dõi thời gian thuốc lưu giữ trong dạ dày bằng cách ghi nhận hình ảnh thuốc như bằng phương pháp như xạ hình (Scintigraphy)⁶⁶, chụp cộng hưởng từ (MRI) hay X- quang⁶⁵. X - quang là một loại bức xạ năng lượng cao, đây là phương pháp đáng tin cậy và cho kết quả về hình ảnh có độ phân giải khá rõ nét, là phương pháp chẩn đoán hình ảnh trong y khoa để tạo hình ảnh bộ phận bên trong cơ thể⁶⁹. Phương pháp được hoạt động dựa trên nguyên lý dùng chất có tính chất cản quang như bari sulfat^{65,66}, đây là một muối kim loại nặng không hòa tan trong nước và trong dung môi hữu cơ, rất ít tan trong acid và hydroxyd kiềm. Bari sulfat là một chất trơ về tác dụng dược lý, thuốc đóng vai trò một chất cản quang, nghĩa là hấp thu tia X mạnh hơn nhiều so với các mô xung quanh. Do đó, CLA phát triển FDSS với các rào cản của dạng bào chế, nhưng với cách tiếp cận để kéo dài thời gian lưu giữ thuốc được chứng minh bằng cách xác định hình ảnh viên với phương pháp X- quang được lựa chọn trong nghiên cứu.^{69,86}

Sơ lược về phương pháp X- quang và chất cản quang

Nguyên tắc: Cơ thể là vật chất nên hấp thu tia X, sau đó tia X được khuếch tán, bị thay đổi và giảm cường độ, cường độ của chùm tia ló thay đổi theo kích thước và bản chất của môi trường mà nó đi qua. Những hình ảnh nhận được của vật chất khi được chiếu bằng tia X được thể hiện trên phim gọi là chụp X- quang.⁶⁵

Sự hấp thu tia X của một nguyên tố tùy thuộc số thứ tự của nguyên tử và độc lập với trạng thái của nguyên tử (tự do hay kết hợp). Trong cơ thể, những mô mềm được tạo thành từ những phân tử hữu cơ có thành phần là nguyên tố “nhẹ” H, C, N, O sẽ không hấp thu tia X, được gọi là “trong suốt” đối với tia X, còn xương được tạo thành từ Ca và P là những nguyên tố “nặng” hơn nên hấp thu tia X (cản quang), được gọi là “đục” với tia X.

Để khảo sát một cơ quan mà tự nó không có khả năng hấp thu tia X hoặc hấp thu kém, người ta phải dùng đến chất có thành phần là nguyên tố “nặng” để cơ quan trở nên “đục” hơn với tia X là chất cản quang.

Bình thường trong ổ bụng không có hình cản quang riêng biệt dễ lẫn lộn với nhau. Do đó, để có hình rõ của từng bộ phận trên hệ tiêu hóa người ta thường dùng chất cản quang qua đường miệng hoặc đường hậu môn.

Phương pháp dùng chất cản quang dạ dày- tá tràng để đánh dấu vị trí thuốc lưu giữ tại dạ dày thì thuốc cản quang Iod hay Bari sulfat thường được sử dụng. Tuy nhiên, Bari sulfat được dùng phổ biến như đề cập trên.

*Bari sulfat*⁶⁶

Dược lý và cơ chế tác dụng: Bari sulfat là một muối kim loại nặng không hòa tan trong nước và trong dung môi hữu cơ, rất ít tan trong acid và hydroxyd kiềm. Bari sulfat là một chất trợ về tác dụng dược lý, thuốc đóng vai trò một chất cản quang, nghĩa là hấp thu tia X mạnh hơn nhiều so với các mô xung quanh. Cần có tính chất cản quang khác nhau này để làm hiện rõ sự tương phản giữa các mô trên phim chụp X- quang.

- Chỉ định: Chụp X- quang thực quản, dạ dày, ruột.

- Quá liều và xử trí: Khi chỉ định nhầm hoặc do quá trình chụp gây thủng, dẫn đến tình trạng nhiễm khuẩn (do vi khuẩn trong ống tiêu hóa), làm nghẽn mạch (trong trường hợp xuất huyết) cần phải mổ cấp cứu, làm sạch tại chỗ càng sớm càng tốt.

Kỹ thuật chụp X- quang

Các tư thế trong chụp X- quang

Trong X- quang thường sử dụng ba hướng chụp sau:

- Hướng bụng- lưng: Đặt nằm ngửa, tia X đi vuông góc với mặt đất, khi đó tia X đi qua cơ thể theo hướng bụng- lưng.

- Hướng lưng- bụng: Tư thế đứng, tia X vuông góc mặt đất.

- Hướng bên- bên: Đặt nằm nghiêng.

Chụp có thuốc cản quang

Đối với dạ dày và ruột: Ngoại trừ trường hợp khẩn cấp, trong chẩn đoán X - quang con vật cần phải nhịn ăn, uống 12 giờ trước khi chụp. Bari sulfat được pha trong

nước và tùy theo kích cỡ con vật mà ta sẽ cho uống trong khoảng từ 75 – 250 ml hoặc đưa lượng Bari sulfat vào trong thuốc nghiên cứu như một chỉ điểm.

Tư thế: Để con vật nằm nghiêng tiếp xúc trực tiếp với cassette, vị trí cần chụp nằm ở trung tâm, giữ chặt 4 chân. Hướng bụng nghiêng, tia đi theo chiều dọc. Dạ dày: khoảng xương sườn thứ 12. Ruột: khoảng đốt sống hông thứ 3;

Để con vật nằm ngửa trên cassette, vị trí cần chụp nằm ở trung tâm. Hướng bụng lưng, tia đi theo chiều dọc. Dạ dày ở khoảng đốt sống ngực 12; Ruột ở khoảng đốt sống hông thứ 2;

Để con vật đứng song song với cassette, vị trí cần chụp nằm ở vị trí trung tâm. Hướng bụng nghiêng, tia đi theo chiều ngang;

Để con vật nằm sấp trên cassette, vị trí cần chụp nằm ở vị trí trung tâm. Hướng lưng bụng, tia đi theo chiều dọc.

1.5.3. Đánh giá nồng độ thuốc CLA trong huyết tương Chó cỏ

Nồng độ CLA trong huyết tương^{67,68} được đánh giá và so sánh giữa 2 dạng bào chế là viên nổi trong dạ dày và viên PTTT. Khi đề cập đến phương pháp định lượng CLA⁸⁸ thì phương pháp LC/MS IT-TOF^{70,87} được thực hiện, bởi phương pháp có độ đặc hiệu cao, đạt tuyến tính và độ đúng. Kết quả ghi nhận nồng độ tối đa trong huyết tương của thuốc (C_{max}), thời gian để đạt được nồng độ tối đa trong huyết tương (T_{max}) trên *cơ thể sống* là Chó cỏ. Kết quả sẽ đánh giá mối liên quan giữa nồng độ thuốc trong huyết tương của 2 dạng bào chế theo thời gian.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Công thức, quy trình bào chế viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày.
- Hình ảnh viên thuốc và nồng độ thuốc trong huyết tương trên Chó cỏ trưởng thành, giống đực, khỏe mạnh, cân nặng 10-12 kg, 23 – 24 tháng tuổi, được nuôi dưỡng trong điều kiện chế độ ăn uống đầy đủ và có kiểm soát.
- Phát triển công thức dược học, độ hòa tan, mô hình động học phóng thích¹⁰⁴ và nồng độ thuốc trong huyết tương.

Quy mô thiết kế thử nghiệm

- Quy mô phòng thí nghiệm: 1.000 viên/lô.
- Quy mô nâng cấp cỡ lô: 30.000 viên/lô.

Nơi nghiên cứu

- Khoa Dược Đại Học Y Dược Tp. HCM – 41-43 Đinh Tiên Hoàng, phường Bến Nghé, Quận 1, Thành phố Hồ Chí Minh.
- Công ty Cổ phần Dược phẩm Trường Thọ: Số 93, Linh Lang, Phường Cống Vị, Quận Ba Đình, Hà Nội.
- Viện kiểm nghiệm thuốc TP. Hồ Chí Minh: 200 Cô Bắc, Phường Cô Giang, Quận 1, Tp.HCM, Việt Nam.
- Trung tâm bệnh xá Đại học Y Dược Tp. Cần Thơ: Số 179, Đường Nguyễn Văn Cừ, Phường An Khánh, Quận Ninh Kiều, Thành phố Cần Thơ.

2.2. Nguyên vật liệu, trang thiết bị nghiên cứu

Các nguyên liệu, hóa chất, dung môi dùng trong bào chế và kiểm nghiệm được trình bày trong Bảng 2.1.

Bảng 2.1. Các nguyên liệu, hóa chất, dung môi dùng trong bào chế và kiểm nghiệm

Nguyên liệu – Hóa chất – Dung môi	Đặc tính/công suất	Nguồn gốc
<i>Nguyên liệu, hóa chất dùng trong bào chế</i>		
CLA	USP 40	Jejiang - Trung Quốc
HPMC K100M	BP 2016	Dow Chemical - Mỹ

HPMC K15M	BP 2016	Dow Chemical - Mỹ
Opadry® II, yellow	BP 2016	Colorcon - Mỹ
NaHCO ₃	BP 2016	Solvay - Đức
Magnesi stearat	ĐĐVN V	Sigma - Trung Quốc
Nước RO	ĐĐVN V	Việt Nam
Talc	ĐĐVN V	Ấn Độ
PVP K30	ĐĐVN V	Ấn Độ
Avicel pH 101	ĐĐVN V	Ấn Độ
<i>Nguyên liệu, hóa chất dùng trong kiểm nghiệm</i>		
CLA chuẩn	USP 40	Châu Âu
Chuẩn tạp A	BP 16	Châu Âu
Roxithromycin	TCCS	LGC - Châu Âu
Acid phosphoric	TCCS	Trung Quốc
Kali dihydrophosphat	TCCS	Trung Quốc
Natri carbonat khan	Tinh khiết	Trung Quốc
Acid hydrochlorid đậm đặc	Tinh khiết	Trung Quốc
Acetonitril	Dùng cho LC-MS	Merck - Đức
Methanol	Dùng cho LC-MS	Merck - Đức
Acid formic	Tinh khiết	Bespoke - Đức
Natri hydroxid	Tinh khiết	Trung Quốc
n – hexan	Tinh khiết	Ấn Độ
n – butanol	Tinh khiết	Ấn Độ
<i>Các thiết bị dùng trong bào chế và kiểm nghiệm qui mô phòng thí nghiệm</i>		
Bể siêu âm	Sonorex RK 510H	Đức
Cân kỹ thuật	600-1,200-30,000g	Đức
Cân kỹ thuật	500 – 1000 g	Đức
Cân phân tích	Precisa XB220A	Thụy Sĩ
Cân vi phân tích		Đức

Cấp chính xác I d = 0,002 mg	5 g	
Cân xác định độ ẩm	OHaus MB45	Đức
Máy dập viên xoay tròn	ZPW12 (12 chày)	Trung Quốc
Máy sửa hạt TS 250	DP138	Việt Nam
Máy trộn lập phương	10 kg/m ³	Đức
Máy đo độ cứng	Erweka OCE9	Đức
Máy đo độ hòa tan 6 cốc	DT1700	Đức
Máy thử độ mài mòn	Erweka 31969	Đức
Máy bao phim	Công suất 40 kg	Thái Lan
Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao	Shimadzu SPD-M20A	Nhật
Máy đo pH	Mettler Toledo AG8603	Thụy Sĩ
Micropipet	10 µl - 1000 ml	Đức
Máy quang phổ UV-VIS	Shimadzu UV1700	Nhật
Máy ly tâm lạnh	220R	Trung Quốc
Máy lắc ống nghiệm	TalBoys	Trung Quốc
Tủ đông -20 °C	Alaska	Mỹ
Tủ lạnh 2-8 °C	LG	Hàn Quốc
Cột sắc ký lỏng Gemini C18 (15 cm x 4,6 mm, 5 µm)	Phenomenex	Mỹ
Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao	QC002-LC2030	Mỹ
Máy khối phổ phân giải cao HPLC-IT-TOF	m/z 50~3200	Đức
Tủ vi khí hậu	ICH 110	Đức
Các thiết bị dùng trong điều chế và kiểm nghiệm quy mô sản xuất		
Máy dập viên xoay tròn	ZP31D (31 chày)	Đài Loan
Máy trộn siêu tốc	Thể tích 4 - 180 lít	Việt Nam

Máy bao phim	BG50 (50 kg)	Thái Lan
Máy đo pH	(0 -14) pH	Rumani
Quang phổ tử ngoại	T110+	Đức
Máy đo độ hòa tan	DIS 600i	Anh
Cân kỹ thuật 1 số lẻ ES-8200D	20 kg	Đức
Cân kỹ thuật 2 số lẻ JB 410C	410 gam	Đức
Cân 3 số lẻ Model ES 320M	ES 320M	Đức
Cân điện tử A,cell Din III	60 kg	Trung Quốc
Cân phân tích 4 số	LS220A	Đức
Cân phân tích 5 số	EP25SM	Đức
Cân xác định độ ẩm	OHaus MB45	Đức
Máy đo tỷ trọng	PT-TD 200	Trung Quốc
Máy đo độ cứng, độ dày, đường kính	PTZ Auto	Trung Quốc
Máy đo độ mài mòn	PTF E/ER	Đức
Máy rây – sữa hạt UCM 3HP	350 kg/giờ	Trung Quốc
Máy trộn cao tốc RMG	15 lít	Ấn Độ
Máy sạt hạt và sữa hạt Lab cone Mill	10 kg/giờ	Ấn Độ
Máy trộn cuối HSD-50	max 100 vòng/phút	Trung Quốc
Máy sấy tầng sôi Smart Lab	12 lít	Đức
Máy đồng hóa T18 Digital Ultra	-	Đức
Máy bao phim tự động BLC90	130 KG	Trung Quốc
Thùng khuấy dịch SOL 50	90 lít	Trung Quốc
Máy ép vỉ bấm tự động EV-250	50 spm (nhịp/phút)	Ấn Độ
Máy X-Quang cao tần	Multix Swing	Đức
<i>Phần mềm sử dụng trong thiết kế công thức</i>		
Design-Expert v7.0 (Trial)	Thiết kế công thức	Mỹ
BCPharSoft OPT	Tối ưu hóa	Việt Nam

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Xây dựng và thẩm định được quy trình định lượng CLA nguyên liệu và thành phẩm

2.3.1.1. Quy trình định lượng CLA

Tiến hành định lượng CLA bằng phương pháp HPLC theo DĐVN V^{78,80}.

Xử lý mẫu

- Pha động: Hỗn hợp methanol (TT) và dung dịch kali dihydrophosphat 0,067 M (13:7), điều chỉnh đến pH 4,0 bằng acid phosphoric (TT), tỷ lệ dung môi nếu cần.

- Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng tương ứng với 0,2 g CLA vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 35 ml methanol (TT), lắc trong 30 phút rồi thêm methanol (TT) vừa đủ, lắc đều, lọc. Lấy 3 ml dịch trên thêm pha động vể 100 ml, trộn đều.

- Dung dịch chuẩn: Cân chính xác lượng CLA chuẩn pha trong methanol (TT), lắc, siêu âm nếu cần để có dung dịch gốc có nồng độ CLA chuẩn chính xác khoảng 625 µg/ml. Pha loãng 10 ml dung dịch này thành 50 ml bằng pha động, lắc đều.

- Dung dịch phân giải: Pha hợp chất A chuẩn (6,11-di-O-methyl erythromycin A, C₃₉H₇₁NO₁₃) của CLA trong methanol (TT) để được dung dịch có nồng độ khoảng 625 µg/ml. Lấy 10 ml dung dịch này và 10 ml dung dịch chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm pha động đến vạch và lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

- Cột: Geminise C18 (5µm x 4,6mm);
- Nhiệt độ duy trì ở khoảng 50 °C;
- Bước sóng phát hiện: 210 nm;
- Tốc độ dòng: 1,0 ml/min;
- Thể tích tiêm: 20 ml/phút.

Tiến hành sắc ký và tính toán kết quả:

- Kiểm tra khả năng thích hợp hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải và dung dịch chuẩn, xác định trên pic CLA, số đĩa lý thuyết của cột không

được nhỏ hơn 750; hệ số đối xứng không nhỏ hơn 0,9 và không lớn hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic CLA từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

- Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

- Tính hàm lượng CLA - $C_{38}H_{69}NO_{13}$ trong một viên dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử và hàm lượng $C_{38}H_{69}NO_{13}$ trong CLA chuẩn.

$$X = (S_t/S_c) \times (C\% \times m_c/m_t) \times (n_t/n_c) \times 100\%$$

Trong đó: S_t , S_c : Lần lượt là diện tích pic của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ;

m_t : Lượng CLA tương ứng trong mẫu thử (mg);

m_c : Lượng cân mẫu chuẩn (mg);

C%: Hàm lượng CLA trong chất chuẩn nguyên trạng (%);

n_t : Độ pha loãng mẫu thử;

n_c : Độ pha loãng mẫu chuẩn.

Quy định: Hàm lượng CLA phải trong khoảng 90% - 110% hàm lượng ghi trên nhãn.

2.3.1.2. Thẩm định quy trình định lượng CLA của nguyên liệu

Quy trình định lượng được thẩm định theo hướng dẫn của ICH^{79,83,84,85}

Tính tương thích hệ thống

Tính tương thích hệ thống được xác định bằng cách tiêm lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn CLA trong pha động, có nồng độ CLA khoảng 125 $\mu\text{g/ml}$ vào hệ thống sắc ký và ghi nhận kết quả.

Tính tương thích hệ thống được xác định bằng cách tiêm lặp lại 6 lần dung dịch hỗn hợp chuẩn CLA 125 $\mu\text{g/ml}$ và CLA tạp A 125 $\mu\text{g/ml}$.

Tính RSD (%) của thời gian lưu và diện tích pic.

Tính đặc hiệu

Để đảm bảo kết quả định lượng hàm lượng chất cần phân tích là chính xác, tránh sự nhiễu của các thành phần khác có trong mẫu.

Chuẩn bị mẫu: mẫu chuẩn, mẫu thử (chứa dược chất cần phân tích) và mẫu placebo (bao gồm thành phần như công thức cơ bản nhưng không chứa dược chất).

Ghi lại sắc ký đồ, xác định thời gian lưu của hoạt chất cần phân tích.

Yêu cầu: Sắc ký đồ mẫu placebo không xuất hiện pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của chất chuẩn.

Sắc ký đồ của mẫu thử cho pic có thời gian lưu tương tự với pic CLA trong sắc ký đồ của dung dịch chuẩn CLA. Trên sắc ký đồ mẫu thử nếu xuất hiện các pic tạp thì pic của hoạt chất phải tách hoàn toàn khỏi các pic tạp và đáp ứng các yêu cầu chung của phương pháp HPLC được quy định trong Dược điển.

Tính tuyến tính

Xác định sự tương quan giữa nồng độ và diện tích đỉnh của các dung dịch.

- Từ dung dịch gốc pha dãy dung dịch có nồng độ khoảng từ 2 - 200 $\mu\text{g/ml}$ CLA. Tiến hành hệ thống sắc ký và ghi nhận kết quả.

- Vẽ đường biểu diễn tương quan giữa nồng độ và diện tích pic. Mỗi tương quan tuyến tính được thiết lập bằng cách xác định phương trình $\hat{y} = ax + b$, xác định R^2 , đánh giá tính tương thích của phương trình và ý nghĩa của hệ số hồi quy.

Yêu cầu: $R^2 \geq 0,995$.

Độ chính xác

- Độ lặp lại

Tiến hành phân tích tối thiểu 6 mẫu thử ở nồng độ 100%. Xác định hàm lượng hoạt chất có trong các mẫu.

Yêu cầu: Phương pháp đạt độ chính xác khi $RSD \leq 2\%$.

- Độ chính xác trung gian

Tiến hành phân tích 6 mẫu thử ở nồng độ 100% tương tự như độ lặp lại nhưng tiến hành ở thời điểm khác. Xác định hàm lượng hoạt chất có trong mẫu.

Yêu cầu: Phương pháp đạt độ chính xác khi $RSD \leq 2\%$.

Độ đúng

Độ đúng thực hiện bằng cách thêm chuẩn vào mẫu placebo với 3 nồng độ nồng độ 80%, 100%, 120% so với nồng độ định lượng. Lấy chính xác 3 ml cho vào bình định mức 100 ml thêm pha động vừa đủ thể tích. Mỗi nồng độ thực hiện 3 lần.

Định lượng CLA theo quy trình phân tích mục 2.3.1.1 và tính toán tỷ lệ phục hồi.

$$\text{Tỷ lệ hồi phục} = \frac{\text{Hàm lượng chuẩn tìm lại}}{\text{Hàm lượng chuẩn thêm}} \times 100\%$$

Yêu cầu: Đạt độ đúng khi tỷ lệ phục hồi có giá trị khoảng 98 – 102%.

2.3.1.3. Quy trình xác định tạp liên quan CLA nguyên liệu bằng phương pháp HPLC

Tạp CLA trong nguyên liệu được kiểm soát và khảo sát sự tương thích của các tá dược trong công thức.

Mô tả phương pháp thực hiện và kết quả liên quan được trình bày trong Phụ lục 1.

2.3.1.4. Xây dựng quy trình thử độ hòa tan viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày

Hiện nay, chưa có Dược điển và chuyên luận đề cập đến khả năng phóng thích hoạt chất theo thời gian của dạng bào chế viên nổi trong dạ dày, chỉ có viên PTTT và viên PTKD. Do đó, luận án xây dựng chỉ tiêu giải phóng hoạt chất ở các thời điểm dựa trên tài liệu tham khảo USP 40 (test 4)⁸⁰ và từ các công bố nghiên cứu viên CLA nổi trong dạ dày.^{35,36,37,38,49,53,90,96}

Quy trình thử độ hòa tan của viên nổi trong dạ dày CLA 500 mg

Điều kiện thử:

- Thiết bị: Kiểu cánh khuấy;
- Nhiệt độ: 37 °C ± 0,5 °C;
- Tốc độ vòng khuấy: 50 vòng/phút ;
- Thời gian lấy mẫu: 2 giờ, 4 giờ, 8 giờ và 12 giờ;
- Môi trường thử: 900 ml dung dịch HCl 0,1 N.

Xử lý mẫu

- Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 28 mg CLA cho vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 30 ml môi trường hòa tan lắc kỹ cho tan hoàn toàn, sau đó thêm môi trường hòa tan vừa đủ thể tích, lắc đều. Lọc qua giấy lọc millipore 0,45 µm.

- Dung dịch thử: Thử trên 6 viên, mỗi viên cho vào 1 cốc thử. Sau các thời điểm hòa tan, lấy dung dịch hòa tan trong mỗi cốc thử ra và lọc qua giấy lọc 0,45 µm.

Tiến hành sắc ký và tính toán kết quả như mục 2.3.1.1

- Tiến hành sắc ký và tính toán kết quả GPHC

Mẫu thực hiện: Dung dịch chuẩn và dung dịch thử, xác định nồng độ (mg/ml) của CLA trong mẫu chuẩn ở từng thời điểm.

$$X = (r_u/r_s) \times C_s$$

Trong đó:

r_u, r_s : Lần lượt là diện tích pic của dung dịch thử và dung dịch chuẩn

C_s : Nồng độ của dung dịch chuẩn (mg/ml)

Tính toán % hàm lượng CLA trên nhãn ở từng thời điểm

$$Q_2 = (r_u/r_s) \times (C_s/L) \times V \times 100$$

$$Q_4 = [Q_2 \times (V_s/V)] + [(r_u/r_s) \times (C_s/L) \times (V-V_s) \times 100]$$

$$Q_{12} = [Q_2 \times (V_s/V)] + [Q_4 \times V_s/(V-2V_s)] + [(r_u/r_s) \times (C_s/L) \times (V-2V_s) \times 100]$$

Trong đó, r_u, r_s : Lần lượt là diện tích pic của dung dịch thử, và dung dịch chuẩn

C_s : Nồng độ CLA trong dung dịch chuẩn;

V : Thể tích môi trường (900 ml);

L : hàm lượng trên nhãn (mg/1 viên).

Yêu cầu: % độ hòa tan của CLA theo USP và viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày được trình bày trong Bảng 2.2.

Bảng 2.2. Độ hòa tan viên CLA theo USP 40 và viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày

Thời gian (giờ)	USP 40	CLA 500 mg nổi trong dạ dày
2	≤ 25	≤ 25
4	20 – 40	20 – 40
8	45 – 75	45 - 75
12	≥ 80	≥ 80

2.3.1.5. Thẩm định phương pháp định lượng CLA trong môi trường hòa tan

Tiến hành thẩm định quy trình định lượng CLA trong thử độ hòa tan bằng phương pháp HPLC.^{84,85} được trình bày trong Phụ lục 2.

2.3.1.6. Phương pháp kiểm nghiệm nguyên liệu, bán thành phẩm và thành phẩm

Kiểm nghiệm nguyên liệu

Tiến hành kiểm nghiệm nguyên liệu CLA theo Dược điển Việt Nam V⁷⁸ với các chỉ tiêu: Tính chất cảm quan, độ ẩm, định tính, định lượng, tạp chất liên quan:

- Cảm quan: Bột kết tinh màu trắng, gần như trắng, vị đắng, không mùi.
- Độ ẩm: Không quá 2%.

- Định tính: Quang phổ hồng ngoại IR - Phổ hồng ngoại của nguyên liệu phải phù hợp với phổ hồng ngoại của CLA chuẩn.

- Định lượng: CLA phải chứa hàm lượng 90 - 110% tính trên chế phẩm khô.

- Tạp liên quan: Xác định tạp liên quan CLA nguyên liệu.

Kiểm nghiệm bán thành phẩm

Đánh giá trước khi nén

Trước khi nén, hỗn hợp bột công thức được đánh giá về tỷ trọng riêng (đồng) và tỷ trọng riêng từng hạt và từ các giá trị này, chỉ số khả năng nén và tỷ lệ Hausner được tính toán. Trong khi các thuộc tính dòng chảy của bột chảy ra được đánh giá từ góc nghỉ.

Tỷ trọng riêng và tỷ trọng riêng từng hạt

Cả tỷ trọng riêng (LBD) và tỷ trọng riêng từng hạt (TBD) đều được xác định. Lượng hạt được cân chính xác được lấy trong ống đong 25ml và đo/ghi lại khối lượng bao bì, sau đó gõ 100 lần trên bề mặt gỗ cứng phẳng và ghi lại khối lượng sau gõ. LBD và TBD được tính theo công thức sau:

$$\text{LBD - Tỷ trọng riêng rời} = \frac{\text{Khối lượng của bột}}{\text{Khối lượng bao bì}}$$

$$\text{TBD - Tỷ trọng riêng từng hạt} = \frac{\text{Khối lượng của bột}}{\text{Khối lượng bao bì từng hạt}}$$

Chỉ số nén:

Tỷ lệ phần trăm nén của hỗn hợp bột được xác định bằng chỉ số nén Carr's. Phân loại bột cho các đặc tính chảy của chúng theo chỉ số Carr's được tính theo công thức sau:

$$\% \text{ chỉ số Carr's} = \frac{\text{TBD} - \text{LBD}}{\text{TBD}} \times 100$$

Khả năng nén và khả năng chảy của tá dược

% Khả năng nén	Khả năng chảy
----------------	---------------

5-15	Tuyệt vời
12- 16	Tốt
18-21	Trung bình - khá
23-35	Kém
33-38	Rất kém
<40	Rất rất kém

Góc nghiêng (Θ):

Lực ma sát trong bột hoặc hạt rời có thể được đo bằng góc nghiêng. Đây là góc tối đa có thể giữa bề mặt của đồng bột hoặc hạt và mặt phẳng nằm ngang.

$$\tan \Theta = h/r$$

$$\Theta = \tan^{-1} (h/r)$$

Trong đó: Θ là góc nghiêng, h là chiều cao, và r là bán kính.

Các hạt được phép chảy qua phễu cố định vào giá đỡ ở độ cao xác định, góc nghiêng sau đó được tính toán bằng cách đo chiều cao và bán kính của đồng hạt được hình thành.

Tỷ số Hausner

Tỷ trọng riêng hạt và tỷ trọng riêng đồng được đo và tỷ số Hausner được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ số Hausner} = D_o/D_f$$

Trong đó: D_o = Tỷ trọng riêng hạt và D_f = Tỷ trọng riêng đồng

Thông số sau nén

Hình dạng viên nén

Viên nén trực tiếp được kiểm tra bằng cảm quan biết hình dạng của viên nén.

Kích thước viên nén

Độ dày và đường kính của viên nén được đo bằng thước cặp quay số đã hiệu chuẩn. Ba viên nén của mỗi công thức được chọn ngẫu nhiên và kích thước được xác định, được biểu thị bằng mm và độ lệch chuẩn được tính toán.

Thử nghiệm thay đổi trọng lượng

Trọng lượng trung bình của viên nén được xác định bằng cân kỹ thuật: 10 viên nén được chọn ngẫu nhiên từ mỗi lô và cân riêng lẻ, tính trọng lượng trung bình và so sánh trọng lượng của từng viên nén với trọng lượng trung bình. Từ đó, phần trăm chênh lệch trọng lượng đã được tính toán và sau đó được kiểm tra các thông số kỹ thuật, % độ lệch thay đổi trọng lượng dưới đây được cho phép 5%.

Đo độ cứng

Độ cứng cho biết khả năng chịu được các va đập cơ học khi xử lý viên nén. Độ cứng của viên nén được xác định bằng máy đo độ cứng, được biểu thị bằng KN/N. Mười viên nén được chọn ngẫu nhiên từ mỗi lô và được phân tích độ cứng. Giá trị trung bình và độ lệch chuẩn cũng được tính toán.

Đo độ mài mòn⁸²

Đây là hiện tượng bề mặt viên nén bị hư hỏng và/hoặc có dấu hiệu phân lớp hoặc vỡ khi chịu va đập hoặc mài mòn cơ học. Độ mài mòn của viên nén được xác định bằng máy đo độ mài mòn, được thể hiện bằng tỷ lệ phần trăm (%). Ban đầu, mười viên nén được cân (W1) và chuyển vào máy đo độ mài mòn. Máy đo độ mài mòn được vận hành ở tốc độ 25 vòng / phút trong 4 phút hoặc chạy tới 100 vòng quay. Các viên nén được cân lại (W2), % độ mài mòn sau đó được tính bằng công thức:

$$\text{Độ mài mòn của F} = \frac{W1 - W2}{W1} \times 100\%$$

Viên nén nhỏ hơn 1% là chấp nhận được.

Kiểm tra tính đồng đều hàm lượng: tiến hành theo mục 2.3.1.1

Nghiên cứu thời gian nổi in vitro²¹

Khả năng nổi được mô tả bởi Rosa và cộng sự là các viên nén được đặt trong cốc thủy tinh chứa 200 mL HCl 0,1 N. Thời gian cần thiết để viên nén nổi lên mặt nước được xác định là tiềm thời nổi (FLT) và khoảng thời gian mà viên nén vẫn nổi được xác định là tổng thời gian nổi (TFT).

Đo độ phóng của viên^{58,59}

Các viên nổi được cân riêng (W_0) và đặt riêng trong cốc thủy tinh chứa 200 mL HCl 0,1 N và ở nhiệt độ $37\text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5\text{ }^\circ\text{C}$. Trong khoảng thời gian 1 giờ đều đặn cho đến 12 giờ, các viên nổi được lấy ra khỏi cốc và chất lỏng bề mặt dư thừa được loại bỏ cẩn thận bằng khăn giấy. Sau đó, các viên nổi phồng lên được cân lại (W_t) và % chỉ số trương phồng (SI) được tính theo công thức sau: $SI (\%) = (W_t - W_0 / W_0) \times 100$ ^{56,59}

Đánh giá dịch bao phim:

Tính chất: Cảm quan.

Màng bao phim: Lấy 1 ml dung dịch để lên trên một đĩa thủy tinh và để yên đến khô. Lớp màng màu trắng, dẻo được hình thành.

Cẩn sau khi bay hơi: Dùng một chén cân có nắp mài làm bì đựng chế phẩm, sấy bì trong 30 phút trong dụng cụ sấy ở nhiệt độ $110\text{ }^\circ\text{C}$, sau đó cân để xác định khối lượng bì (m_1).

Cân khoảng 1,0 g ($\pm 10\%$) (m) chế phẩm cho vào bì, dàn mỏng đem sấy trong dụng cụ sấy ở $110\text{ }^\circ\text{C}$ trong 5 giờ, để nguội trong bình hút ẩm có silicagel tới nhiệt độ phòng, cân ngay, ta được m_2

$$\% \text{ Cẩn} = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100\%$$

pH: Lấy 50 ml dịch bao lót sau khi pha tiến hành đo pH.

Thử độ kín vỉ:

- Cho 3 lít dung dịch xanh methylen (0,1%) vào bình hút chân không.
- Cho số vỉ cần thử độ kín vào trong bình, dùng lưới nhôm đặt lên các vỉ sao cho vỉ ngập trong dung dịch xanh methylen (0,1%), đậy nắp bình lại.
- Khóa van, bật công tắc motor điện.
- Tiến hành hút chân không cho tới khi kim đồng hồ từ -35 cmHg -40 cmHg .
- Tắt công tắc motor điện, để yên 4-5 phút, sau đó mở van từ từ cho không khí vào trong nồi đến khi kim đồng hồ trở về 0 cmHg .
- Mở nắp bình, lấy lưới nhôm ra, lấy các vỉ đã thử, dùng khăn sạch lau khô.
- Đối với vỉ Alu/alu: bóc vỉ ra, vỉ đạt độ kín khi không có viên nào bị dính hoặc thấm dung dịch màu xanh.

Kiểm nghiệm CLA trong chế phẩm

Viên nôi trong dạ dày CLA 500 mg được đánh giá các chỉ tiêu TCCS xây dựng.

2.3.2. Xây dựng công thức và quy trình bào chế viên nén CLA 500 mg có đặc tính nôi để kéo dài thời gian lưu giữ trong dạ dày và kiểm soát sự phóng thích thuốc 12 giờ

2.3.2.1. Tiền nghiên cứu

Tiền nghiên cứu là bước đầu tiên trong quá trình phát triển hợp lý các dạng bào chế của một dược chất, các đặc tính vật lý và hóa học của dược chất riêng lẻ hoặc khi được kết hợp với các tá dược được khảo sát. Mục đích của bước thử nghiệm là cung cấp thông tin hữu ích cho người bào chế để phát triển dạng bào chế ổn định, hiệu quả và an toàn. Các nội dung cần khảo sát như sau:

Điểm nóng chảy của CLA

Điểm nóng chảy của CLA được xác định bằng phương pháp mao mạch mở.

Nhận dạng thuốc⁸⁸

Mẫu thu được được kiểm tra bằng phân tích phổ hấp thụ hồng ngoại và được so sánh với phổ IR chuẩn đối chứng của CLA.

Nghiên cứu về khả năng tương thích⁸⁸

Khả năng tương thích giữa CLA và polymer trong điều kiện thí nghiệm là điều kiện quan trọng trước khi bào chế. Tính không tương thích giữa thuốc và tá dược có thể làm thay đổi độ ổn định và sinh khả dụng của thuốc, do đó ảnh hưởng đến tính an toàn và/hoặc hiệu quả của thuốc. Nghiên cứu về khả năng tương thích giữa thuốc-tá dược là một quá trình quan trọng trong phát triển dạng bào chế rắn ổn định. Thử nghiệm khả năng tương thích giữa thuốc-tá dược ở giai đoạn đầu giúp lựa chọn tá dược làm tăng khả năng phát triển dạng bào chế ổn định.

Phương pháp: Phổ IR của thuốc và hỗn hợp thuốc-tá dược được ghi nhận trên máy đo quang phổ IR trong khoảng 4000-500 cm⁻¹ sử dụng đĩa kali bromid.

2.3.2.2. Xây dựng công thức và quy trình bào chế viên CLA 500 mg nôi trong dạ dày

Thiết kế mô hình công thức và tối ưu hóa công thức

Thiết kế và tối ưu hóa công thức^{90,91} gồm 5 giai đoạn chính như sau:

(1) Thiết kế mô hình công thức bằng phần mềm Design Expert v7.0⁹⁰: Mô hình thực nghiệm là mô hình D-Optimal⁹¹ gồm 14 công thức với biến độc lập (tá dược) bao gồm: x_1 , x_2 là lượng (mg) các polymer tạo khung matrix; x_3 là lượng (mg) tá dược nổi¹³ và biến phụ thuộc (tính chất sản phẩm) bao gồm: y_1 , y_2 , y_3 , y_4 lần lượt độ hòa tan ở thời điểm 2 giờ, 4 giờ, 12 giờ (%) và thời gian nổi (giờ);^{94,95}

(2) Bào chế 14 công thức theo mô hình trên;

(3) Thực nghiệm đo độ hòa tan;⁵⁷

(4) Tối ưu hóa công thức bằng phần mềm BCPharSoft OPT^{47,48}.

Khi luyện mạng, mô hình được thiết lập từ nhóm luyện sẽ được dùng để dự đoán các tính chất của những công thức trong nhóm thử. Hai giá trị R^2 luyện và R^2 thử. Thông thường giá trị R^2 luyện và giá trị R^2 thử càng cao thì khả năng dự đoán của mô hình càng tốt;

(5) Kiểm chứng tính lặp lại của công thức tối ưu trên 3 lô liên tiếp.

Đánh giá mô hình thiết kế

Đánh giá mô hình (y_1 , y_2 , y_3 và y_4). Kết quả cho giá trị thống kê của R^2 luyện và R^2 thử của mô hình không được dưới 90%⁴⁷.

Phân tích liên quan nhân quả

Dựa vào dữ liệu thực nghiệm sẽ đánh giá mức độ và quy luật liên quan nhân quả giữa các giá trị X_i với giá trị Y_i . Từ đó, cho xu hướng ảnh hưởng của các thành phần tá dược đến kết quả như thế nào.

Tối ưu hóa công thức

Dữ liệu thực nghiệm được dùng làm đầu vào cho phần mềm thông minh BCPharSoft OPT để tối ưu hóa các thông số của thành phần công thức.

Đánh giá chéo

Khi luyện mạng, mô hình được thiết lập từ nhóm luyện sẽ được dùng để dự đoán các tính chất của những công thức trong nhóm thử. Hai giá trị R^2 luyện và R^2 thử được tính bởi phần mềm BCPharSoft OPT – kỹ thuật luyện BackPropagation.

Thông thường giá trị R^2 luyện > 90% và R^2 thử > 70% thì mô hình được chấp nhận. Giá trị R^2 thử càng tiến tới 100 thì khả năng dự đoán của mô hình càng tốt.

Phân tích phương sai (Anova)

Phương pháp phân tích phương sai Anova dùng để so sánh giá trị thực nghiệm trung bình của tính chất sản phẩm (độ phóng thích hoạt chất).

Kết quả phân tích phương sai Anova, nếu $F_{\alpha} < F_{0,05}$ thì giá trị thực nghiệm trung bình của tính chất sản phẩm trong các trường hợp khác nhau không có ý nghĩa

Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở (TCCS) viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày

Tiêu chuẩn chất lượng thành phẩm

Tính chất: Viên nén bao phim màu vàng, mặt lồi, viên hình bầu dục, viên có đường kính 18 mm.

Định tính: Chế phẩm phải có phản ứng của CLA.

Độ đồng đều khối lượng: $\pm 5\%$ so với KLTB viên

Thời gian nổi: ≥ 4 giờ

Độ hòa tan: Lượng CLA hòa tan

- Sau 2 giờ phải không quá 25%;
- Sau 4 giờ phải từ 20 – 40%;
- Sau 8 giờ phải từ 45 – 75%;
- Sau 12 giờ phải ít nhất 80%.

Định lượng: Chế phẩm phải chứa từ 90,0% - 110,0% CLA ($C_{38}H_{69}NO_{13}$) so với hàm lượng ghi trên nhãn.

Quy trình bào chế viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày

Viên nén nổi trong dạ dày chứa CLA 500 mg được thiết kế dưới dạng đơn liều với mục tiêu kiểm soát khả năng phóng thích hoạt chất trong 12 giờ và kéo dài thời gian lưu giữ trong dạ dày. Thành phần hoạt chất và vai trò của các tá dược sử dụng trong công thức được trình bày trong Bảng 2.3.

Bảng 2.3. Thành phần công thức và vai trò các tá dược

Thành phần	Đơn vị tính/viên	Vai trò các thành phần
CLA	Gam	Hoạt chất
HPMC K100M	Gam	Tá dược kiểm soát sự phóng thích
HPMC K15M	Gam	Tá dược kiểm soát sự phóng thích

NaHCO ₃	Gam	Tá dược giúp viên tạo CO ₂
PVP K30	Gam	Tá dược dính
Talc	Gam	Tá dược trơn, bóng
Magnesi stearat	Gam	Tá dược trơn, bóng
Avicel pH 101	Gam	Tá dược độn, rã
Opadry® II, yellow	ml	Tá dược bao phim
Cồn 96%*	ml	Dung môi bao phim
RO *	ml	Dung môi bao phim

*Các dung môi sẽ bị bay hơi trong quá trình bào chế

Phương pháp bào chế: Dựa trên đặc tính lý hóa, sinh học của CLA và tá dược để chọn phương pháp bào chế phù hợp, CLA bào chế bằng phương pháp xát hạt ướt.^{89,94,}

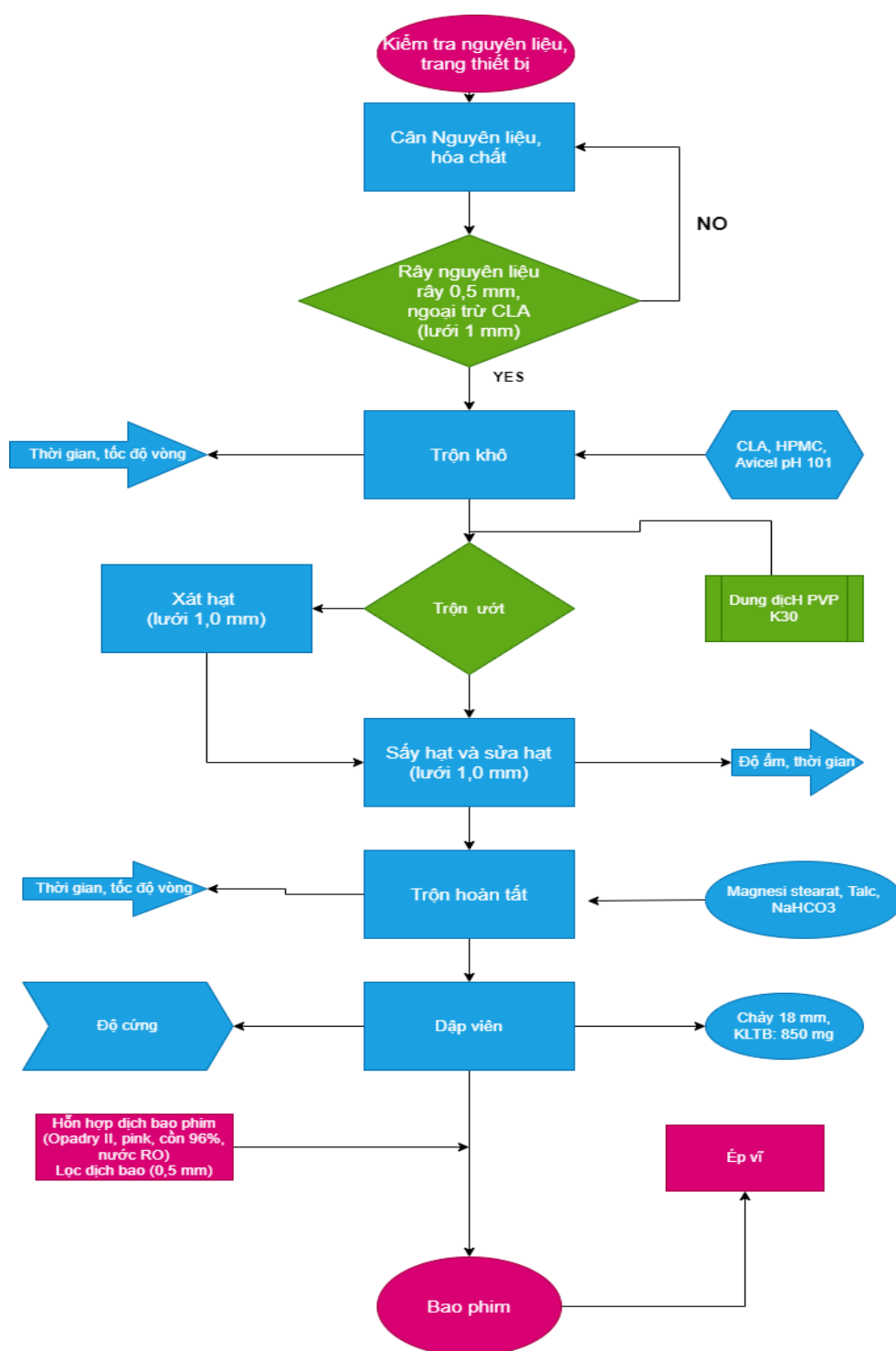
Quy trình bào chế gồm 6 giai đoạn: Chuẩn bị, pha chế, dập viên, bao phim, đóng gói cấp 1 (ép vỉ) và đóng gói cấp 2.

- *Kiểm nghiệm:* Kiểm nghiệm nguyên liệu, bán thành phẩm và thành phẩm.

• *Sơ đồ và mô tả quy trình bào chế*

Viên nén nổi trong dạ dày và PTKD chứa CLA 500 mg được thiết kế công thức dưới dạng đơn liều. Viên được tạo ra qua 2 công đoạn chính là tạo viên nén bằng phương pháp xát hạt ướt và bao phim viên nén.⁷⁵

Sơ đồ quy trình điều chế viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày quy mô phòng thí nghiệm, được trình bày trong Sơ đồ 2.1.



Sơ đồ 2.1. Quy trình bào chế viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày

Mô tả quy trình bào chế phòng thí nghiệm

*Giai đoạn 1: Tạo viên nén chứa CLA 500 mg

- Kiểm tra phòng nghiên cứu và trang thiết bị dụng cụ;

- Xử lý nguyên liệu: Cân các thành phần có trong công thức, rây nguyên liệu qua rây 0,5 mm, ngoại trừ CLA qua rây 1,0 mm;

- Pha tá dược dính: Lấy dung dịch ethanol 96⁰ và hòa tan vào trong nước RO, cho tiếp PVP K30 vào dụng cụ thủy tinh khuấy cho đến khi tan hoàn toàn;

- Trộn bột: Trộn CLA, HPMC với avicel pH 101 theo nguyên tắc đồng lượng bằng máy trộn bột hình lập phương (năng suất tối đa 10 kg) đến khi hỗn hợp bột đồng nhất, rây qua rây 2,0 mm (1);

- Trộn ướt: Cho tá dược dính từ từ vào hỗn hợp bột trong (1), vận hành máy trộn ở tốc độ truyền động 25 vòng/phút đến khi khối bột đồng đều;

- Xát hạt và sấy hạt: Hỗn hợp được xát hạt qua máy sát hạt TS250, cỡ lưới 1 mm, chuyển hạt vào sấy (tủ sấy Memmert model UN110) nhiệt độ cài đặt 45 °C trong thời gian 15 – 25 phút. Kiểm tra độ ẩm của hạt < 2%, lấy hỗn hợp ra sửa hạt qua máy sát hạt TS250, lưới 1,0 mm, chuyển hạt chờ trộn ngoài (2);

- Trộn hoàn tất: Các thành phần còn lại lần lượt NaHCO₃, magnesi stearat, talc, cho vào (2) đến hỗn hợp đồng nhất;

- Lấy mẫu lưu vào trong túi an toàn, để nơi khô ráo, tránh ẩm, kiểm tra bán thành phẩm;

- Dập viên: Viên được tạo bằng máy dập viên xoay tròn (ZPW12), cối chày hình bầu dục, đường kính 18 mm; Khối lượng trung bình viên 850 mg ± 5%;

- Kiểm soát trong quá trình dập viên:

✓ Hình thức cảm quan: Bằng cảm quan, viên có hình bầu dục, cạnh và thành viên lành lặn, không sứt mẻ;

✓ Độ mài mòn: Cân 10 viên bất kỳ (đã được làm sạch bụi trước đó) kiểm tra độ mài mòn. Cho máy vận hành trong 4 phút với tốc độ quay 25 vòng/phút. Sau đó viên được lấy ra, làm sạch bụi trên bề mặt, cân lại và tính độ mài mòn. Độ mài mòn mục tiêu < 1% khối lượng viên;

✓ Độ cứng: viên đạt độ cứng. Đo độ cứng riêng biệt 20 viên, tính độ cứng trung bình và độ lệch chuẩn.

✓ Sai số khối lượng viên: Cân riêng biệt 20 đơn vị lấy ngẫu nhiên, tính khối lượng trung bình. Không được có quá 2 đơn vị có khối lượng nằm ngoài giới hạn chênh lệch số khối lượng trung bình là 5% và không có đơn vị nào có khối lượng gấp đôi giới hạn đó.

✓ Người vận hành 5 phút kiểm tra KLTB viên một lần;

✓ Viên thuốc được làm sạch đựng trong 2 lần túi PE có nhãn đúng quy định, cho vào thùng dậy kín chờ bao phim;

✓ Kiểm nghiệm bán thành phẩm

Quy trình bao phim viên nén CLA 500 mg

Bao phim viên nén nhằm mục đích che dấu mùi vị của dược chất CLA⁷¹.

Chuẩn bị dịch bao phim:

Khối lượng viên sau khi bao dự kiến tăng là 3%, lượng hao hụt dự kiến 5% và hàm lượng chất rắn là 10%. Công thức và thành phần dịch bao bao gồm: Opadry® II Yellow là 10%; Cồn 96% chiếm 15% và RO là 75%. Opadry® II Yellow có thời gian xử lý ngắn và lớp bao đẹp, bột rắn mịn hòa tan trong nước và có chứa polymer, chất hóa dẻo và cho phép phân hủy ngay lập tức khi giải phóng hoạt chất.

- Điều chế dịch bao phim: Phân tán lượng bột Opadry® II màu vàng, khuấy đều với dịch bao đã chuẩn bị trong 40 phút, tốc độ quay 200 vòng/phút cho hết lượng cồn vào hỗn hợp đang khuấy, khuấy đều trong 5 phút. Tiến hành bao phim, thực hiện được khuấy liên tục 1 giờ trong suốt quá trình bao giúp tránh hiện tượng lắng các tiểu phân (tổng thời gian khuấy dịch liên tục được ghi nhận trước và sau khi phun dịch bao).

Quy trình bao phim

Viên nén được sàng sạch, loại những viên không đạt (mềm, nứt cạnh, bong mặt...) rồi cho viên vào nồi bao.

Vận hành máy bao phim theo các thông số kỹ thuật thực nghiệm như sau:

- Máy bao phim tự động 6 cánh đảo;

- Nhiệt độ viên khoảng: 35 – 45 °C

- Dầu phun: LB 20;

- Lỗ phun: 1,8 mm;

- Năng lực sản xuất: lô 3,000 viên, dùng máy tối đa 10 kg; 30,000 viên, dùng máy có công suất 35 kg/m²

- Cài đặt nhiệt độ gió vào từ 60 - 70 °C;
- Cài đặt cửa gió vào ở vị trí từ 3 - 4;
- Cài đặt cửa gió ra ở vị trí từ 2 - 3;
- Cài đặt tốc độ nồi bao từ 2 - 6 vòng/phút;
- Cài đặt tần số bơm từ 25 - 35;
- Áp suất súng phun từ 4-5 at;
- Bề rộng dải phun: phủ hết bề rộng khối viên;
- Khoảng cách từ súng phun đến bề mặt khối viên: 14-18 cm;
- Sấy nóng viên trong thời gian khoảng 5 phút ở tốc độ nồi bao 1 vòng/ phút;
- Quá trình bao lúc đầu tốc độ phun dịch và nồi bao ở tốc độ thấp sau đó tăng dần tốc độ phun dịch vào nồi bao;
- Tổng thời gian phun dịch từ 1,0 - 4,0 giờ;
- Khi đã phun hết lượng dịch cần bao, tháo súng phun rồi tiếp tục chạy máy sấy viên từ 5-7 phút cho khô viên;
- Viên sau khi bao được đựng trong 2 lần túi PE có nhãn đúng quy định;
- Túi viên được mở cho đến khi viên nguội hoàn toàn mới buộc miệng túi;
- Viên thuốc được đựng trong 2 lần túi PE có nhãn đúng qui định, cho vào thùng dậy kín nắp chờ ép vỉ;
- Lấy mẫu kiểm tra theo TCCS.

2.3.3. Nâng cấp cỡ lô và theo dõi độ ổn định của thành phẩm

Đánh giá tính lặp lại của công thức khi chuyển từ quy mô phòng thí nghiệm sang quy mô sản xuất, cần khảo sát lại các điều kiện về thông số của trang thiết bị trong thử nghiệm và điều chỉnh các thông số phù hợp nếu có. Trong nghiên cứu, các thiết bị dùng bào chế lô 30.000 viên có sự điều chỉnh và cơ chế hoạt động của các thiết bị là trong cùng điều kiện. Lô công thức tối ưu (được mã hóa là NC001) được dùng để khảo sát thông số quy trình và áp dụng cho 2 lô còn lại. Các thông số kiểm soát trong

quy trình bào chế được thực hiện theo quy định và cũng tương tự như khi điều chế lô ở phòng thí nghiệm.

Số lô đánh giá: 3 lô, 30.000 viên/lô sản xuất.

Theo dõi độ ổn định của thuốc

Theo hướng dẫn của ICH nghiên cứu độ ổn định được thực hiện với 3 lô được bào chế ở quy mô sản xuất.^{84,97}

Thiết kế

- Tên sản phẩm: Viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày;
- Dạng bào chế: Viên nén bao phim;
- Số lô: 3 lô; Hàm lượng: 500 mg
- Quy cách đóng gói: Sản phẩm được đóng trong vỉ alu/alu; Hộp 2 vỉ x10 viên nén bao phim;
- Hồ sơ lô thử nghiệm trình bày trong Bảng 2.4.

Bảng 2.4. Hồ sơ số lô, đóng gói và thời hạn bảo quản thuốc

Lô số	Kiểu đóng gói	Điều kiện/thời hạn bảo quản
001 NC	Vỉ 10 viên	Điều kiện thực (24 tháng); lão hóa cấp tốc (6 tháng)
002 NC	Vỉ 10 viên	
003 NC	Vỉ 10 viên	

- Điều kiện bảo quản và khoảng thời gian lấy mẫu trình bày trong Bảng 2.5.

Bảng 2.5. Điều kiện bảo quản và thời gian lấy mẫu^{85,86}

Điều kiện bảo quản	Khoảng thời gian lấy mẫu
Bảo quản ở điều kiện dài hạn: Nhiệt độ 30 °C, độ ẩm tương đối 75%	0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 tháng
Lão hóa cấp tốc: Nhiệt độ 40 °C, độ ẩm tương đối 75%	0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 tháng

- Thử nghiệm và tiêu chuẩn thử: Các mẫu được lấy ra khỏi nơi bảo quản ngay trong ngày thử như đã ghi trong thời gian biểu phân tích. Quy trình thử: Các chỉ tiêu như TCCS.

2.3.4. Xây dựng quy trình thử nghiệm *in vivo* trên Chó cỏ

2.3.4.1. Tóm tắt đạo đức trong nghiên cứu trên động vật sống trong thực nghiệm

Những thí nghiệm trên động vật đem đến những lợi ích thiết thực, thậm chí không thể thiếu để bảo vệ sức khỏe của con người. Thử nghiệm trên động vật là bất kỳ thử nghiệm hoặc thử nghiệm khoa học nào được thực hiện trên động vật sống nhằm mục đích nghiên cứu sinh học cơ bản và bệnh tật, đánh giá hiệu quả của thuốc, vắc-xin và các sản phẩm mới và kiểm tra sức khỏe con người và/hoặc an toàn môi trường của các sản phẩm tiêu dùng và công nghiệp như mỹ phẩm, chất tẩy rửa gia dụng, phụ gia thực phẩm, dược phẩm và hóa chất công nghiệp hoặc nông nghiệp. Tất cả các quy trình, ngay cả những quy trình được phân loại là "nhẹ", có khả năng gây ra đau khổ và đau đớn về thể chất cũng như tâm lý cho động vật, thường các thủ tục thử nghiệm này có thể gây ra rất nhiều đau khổ. Hầu hết các động vật bị giết khi kết thúc thí nghiệm, nhưng một số có thể được sử dụng lại trong các thí nghiệm tiếp theo.

Do đó, luận án thực hiện trên sơ sở tôn trọng ở cấp độ cao nhất đối với động vật, từ nghiên cứu viên của Trung tâm thử nghiệm là người chịu trách nhiệm chính, phối hợp thực hiện và giám sát cùng Người nghiên cứu tại địa điểm nghiên cứu. Nhóm nghiên cứu chính của luận án chịu trách nhiệm chỉ đạo trực tiếp cho việc hoàn thành nghiên cứu, báo cáo quá trình thực hiện, kiểm tra và giám sát số liệu mỗi thời gian trước, trong và sau thực nghiệm.

Ban điều hành Trung tâm nghiên cứu và đại diện nhóm nghiên cứu luôn giám sát chặt chẽ nghiên cứu, theo dõi tình trạng sức khỏe của động vật, khi cho động vật dùng thuốc, tiêm thuốc tiền mê theo đúng liều lượng. Có sự giám sát và theo dõi sức khỏe của Bác sĩ chuyên ngành Thú y của Trung tâm điều phối, luận án được đánh giá, chọn lựa và có những điểm lưu ý như:

- Đánh giá rủi ro thực nghiệm: Các biến cố có thể xảy ra như động vật không đáp ứng về cân nặng, sức khỏe khi dùng thuốc.

- Số lượng động vật thực nghiệm: Ưu tiên lựa chọn những phương pháp đáp ứng tốt nhất các yêu cầu sau: Sử dụng số lượng động vật tối thiểu nhằm hạn chế đến mức thấp nhất việc gây ra vết thương, sự đau đớn và tổn hại về lâu dài cho động vật mà kết quả vẫn đảm bảo.
- Hạn chế tối đa số lượng động vật chết là tối thiểu và sau thực nghiệm động vật Trong trường hợp động vật được giữ còn sống, nó phải được chăm sóc và cung cấp chỗ ở phù hợp với tình trạng sức khỏe, hay quyết định giữ động vật sống phải được đưa ra bởi bác sĩ thú y hoặc người có thẩm quyền và động vật thực nghiệm không được phép tiếp tục thực nghiệm các thí nghiệm tiếp theo khác (nếu có).
- Kiểm soát quá trình gây mê: Quy trình gây ra tổn thương cho động vật phải được thực hiện dưới điều kiện gây mê. Trong thực nghiệm cần lưu ý việc gây mê có thực sự cần thiết cho quy trình thí nghiệm hay không? Việc gây mê có gây ra nhiều tổn thương cho động vật hơn quy trình thí nghiệm hay không? Không được sử dụng các loại thuốc trên động vật có tác dụng ngăn chặn hoặc hạn chế sự biểu hiện đau đớn do mức độ gây mê hay gây tê chưa đầy đủ.

2.3.4.2. Xây dựng quy trình thử nghiệm thời gian nổi *in vivo* viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày

Mô hình và điều kiện thử nghiệm:

- Đối tượng thử nghiệm: Chó cỏ, giống đực khỏe mạnh, trọng lượng 10-12 kg; 22-24 tháng tuổi.⁷³

- Nhóm thử nghiệm: Nhóm thử (Viên nổi) và Nhóm chứng (Viên nén có thành phần công thức của viên nổi nhưng không có NaHCO₃).

- Số lượng thử: 08 Chó cỏ/nhóm;

Mô hình thử nghiệm thời gian nổi trong dạ dày *in vivo* được trình bày trong Bảng 2.6.

Bảng 2.6. Mô hình thử nghiệm thời gian nổi *in vivo*

Thông tin thực nghiệm	Nhóm chứng	Nhóm thử*
Chất cản quan	Bari sulfat	
Công thức viên	Không chứa NaHCO ₃	Có NaHCO ₃

Số lượng thử (con)	08	08
Tình trạng ăn	Nhịn ăn 12 giờ	
Dùng thuốc tiền mê	Chó cỏ được dùng thuốc Combistress® (acepromazin maleat), liều 1ml/20 kg	
Tư thế chụp	Nằm nghiêng trái	
Phương pháp chụp	X- quang	
Thời gian chụp	0,15,30,45,60,90,120,150,180,240,270,285,300,..phút	

*8 Chó cỏ trong thử nghiệm tiến hành song song lấy mẫu máu để đánh giá nồng độ CLA trong huyết tương.

Cách uống thuốc: Thuốc được cho uống bằng cách đặt vào phần sau của lưỡi chó để thuốc không bị vỡ hoặc bị chó nhai trước khi nuốt. Sau đó, cho uống ngay với 250 ml nước.

Quy trình chụp X quang:

- Chuẩn bị phim;
- Bật công tắc máy và điều chỉnh đèn phát tia;
- Đưa cassette vào phòng X quang, đặt Chó cỏ thử nghiệm nằm trên cassette, vị trí cần chụp nằm giữa nguồn phát tia X và cassette. Cố định con vật bằng cách cột cổ định, tiến hành chụp và ghi nhận hình ảnh.

2.3.4.3. Xây dựng quy trình đánh giá nồng độ CLA trong huyết tương

- Thiết kế mô hình thử nghiệm (Xem Phụ lục 18);¹¹¹.
- Thuốc thử nghiệm: Viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày;
- Thuốc đối chứng: Klacid Forte 500 mg;
- Đối tượng thử nghiệm: Chó cỏ bao gồm nhóm thử 8 Chó cỏ* trong thử nghiệm thời gian nổi và nhóm đối chứng là 8 Chó cỏ;
- Mô tả thực nghiệm: Chó cho nhịn ăn qua đêm, không tiếp xúc với thức ăn ít nhất 12 giờ, được uống 250 ml nước. Chó sau khi lấy máu ở các thời điểm được bổ sung nước thường xuyên nhằm tránh hiện tượng suy tuần hoàn máu.
- Lấy mẫu và bảo quản mẫu sinh học: Máu được lấy từ tĩnh mạch chân trước vào các thời điểm: 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 12,0; 18,0 và

24,0 giờ sau khi uống thuốc. Mỗi lần lấy máu khoảng 5 ml cho vào các ống đã có sẵn chất chống đông EDTA, đậy nắp và lắc bằng cách lật ngược ống 3 - 4 lần ngay sau khi cho máu vào, ly tâm và tách lớp huyết tương, bảo quản huyết tương ở nhiệt độ $-20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ cho đến khi phân tích; Xử lý mẫu máu để tách huyết tương bằng cách ly tâm trong 10 phút với 4000 rpm, sau đó lấy dịch huyết tương ở lớp trên và bảo quản ở $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ cho đến khi phân tích.

- Xử lý mẫu và xác định nồng độ CLA trong huyết tương Chó cỏ bằng phương pháp LCMS IT-TOF⁸⁷. Chiết và định lượng CLA trong huyết tương: Nồng độ CLA trong huyết tương Chó cỏ được xác định bằng phương pháp lập đường chuẩn. Các đường chuẩn được xây dựng mỗi ngày song song với việc định lượng mẫu huyết tương. Xác định các thông số C_{\max} theo thời gian được ghi nhận trực tiếp từ kết quả phân tích và AUC_{0-24} được tính toán bằng phương pháp ngoại suy quy tắc hình thang.

Quy trình định lượng CLA trong huyết tương Chó cỏ bằng phương pháp LCMS IT-TOF xem Phụ lục 14.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng CLA nguyên liệu và thành phẩm

3.1.1. Kết quả phương pháp định lượng CLA

Thành phần công thức cho 1 viên nén và viên placebo được trình bày trong Bảng 3.1.

Bảng 3.1. Thành phần công thức và viên placebo

STT	Thành phần	Đạt tiêu chuẩn	Công thức 1 viên (mg/viên)	Placebo (mg/viên)
1	CLA	USP 40	500	0
2	HPMC K100M	BP 2016	65	65
3	HPMC K15M	BP 2016	40	40
4	NaHCO ₃	BP 2016	62,05	62,05
6	PVP K30	ĐĐVN V	15	15
7	Talc	BP 2016	30	30
8	Magnesi stearat	ĐĐVN V	27	27
9	Avicel pH 101 vđ	BP 2016	850	850

3.1.1.1. Tính phù hợp hệ thống

Tính phù hợp hệ thống được xác định bằng cách tiêm lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn CLA trong pha động có nồng độ CLA khoảng 125 µg/ml. Kết quả phù hợp hệ thống của dung dịch chuẩn CLA được trình bày trong Bảng 3.2.

Bảng 3.2. Kết quả phù hợp hệ thống (Dung dịch chuẩn CLA) (n = 6)

Số lần tiêm	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic	Hệ số đối xứng	Số đĩa lý thuyết
1	4,730	313136	1,318	3615
2	4,729	311842	1,319	3605
3	4,722	309417	1,315	3585
4	4,728	310858	1,322	3624

5	4,726	307245	1,345	3582
6	4,717	313950	1,316	3590
TB	4,725	311075	1,323	3600
RSD (%)	0,11	0,80		

Tính phù hợp hệ thống được xác định bằng cách tiêm lặp lại 6 lần dung dịch hỗn hợp chuẩn CLA và CLA tạp A với nồng độ 125 µg/ml. Kết quả phù hợp hệ thống của dung dịch chuẩn CLA và CLA tạp A được trình bày trong Bảng 3.3.

Bảng 3.3. Kết quả phù hợp hệ thống (Dung dịch chuẩn CLA và CLA tạp A)

0	Thời gian lưu (phút)		Diện tích pic		Hệ số đối xứng	Số đĩa lý thuyết	Độ phân giải
	CLA	Tạp A	CLA	Tạp A			
1	4,745	6,666	308632	523309	1,285	2637	4,582
2	4,722	6,637	311181	521286	1,273	2583	4,551
3	4,725	6,638	313396	522860	1,280	2570	4,541
4	4,714	6,626	315205	525079	1,258	2551	4,530
5	4,718	6,629	316453	521137	1,216	2565	4,533
6	4,708	6,616	316594	521074	1,256	2501	4,503
TB	4,722	6,635	313577	522458	1,262	2568	4,540
RSD(%)	0,27	0,26	1,01	0,31			

Kết quả cho thấy hệ thống phù hợp trong phương pháp phân tích CLA

- Diện tích pic: $RSD \leq 2\%$;
- Thời gian lưu: $RSD \leq 2\%$;
- Hệ số đối xứng: $0.8 \leq AS \leq 1.8$;
- Độ phân giải giữa pic CLA và CLA tạp A ≥ 2.0 .

Như vậy quy trình định lượng CLA có tính phù hợp của hệ thống.

Sắc ký đồ Kết quả phương pháp định lượng CLA xem Phụ lục 1.

3.1.1.2. Tính đặc hiệu

Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn, dung dịch thử, dung dịch placebo.

Kết quả ghi nhận:

- Thời gian lưu của pic CLA trong dung dịch chuẩn: 4,745 phút;
- Thời gian lưu của pic CLA trong dung dịch thử: 4,681 phút;
- Thời gian lưu của pic tạp: 6,635 phút.

Mẫu placebo không có pic có thời gian lưu trùng với thời gian lưu của pic CLA trong dung dịch chuẩn và thử;

Độ lệch thời gian lưu trung bình giữa chuẩn và thử: 0,65%.

Sắc ký đồ Kết quả phương pháp định lượng CLA xem Phụ lục 14.

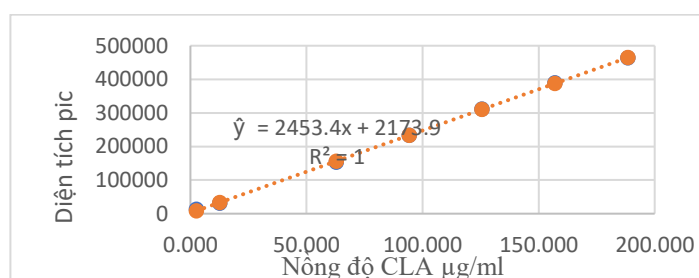
3.1.1.3. Khoảng tuyến tính

Từ dung dịch gốc pha dãy dung dịch có nồng độ trong khoảng 2 µg/ml - 200 µg/ml CLA, kết quả được trình bày trong Bảng 3.4.

Bảng 3.4. Khoảng tuyến tính

Dung dịch	Nồng độ CLA (µg/ml)	Diện tích pic		
		Lần 1	Lần 2	Trung bình
1	2,51	12254	12883	12569
2	12,56	30577	30579	30578
3	62,79	153368	152145	152757
4	94,18	232285	233337	232811
5	125,57	311842	310858	311350
6	156,96	389079	389099	389089
7	188,36	463328	464035	463682

Khảo sát sự tương quan giữa x (nồng độ) và y (diện tích pic) bằng phương pháp bình phương cực tiểu, kết quả cho thấy có sự tương quan giữa nồng độ và diện tích pic với phương trình hồi $\hat{y} = 2453,4x$ và $R^2 = 1,0$.



Hình 3.1. Sự tương quan giữa nồng độ CLA và diện tích pic

3.1.1.4. Độ đúng

Độ đúng được thực hiện bằng cách thêm chuẩn với nồng độ khoảng 80%, 100%, 120% vào mẫu placebo, mỗi nồng độ thực hiện 6 lần. Kết quả thực hiện được trình bày trong Bảng 3.5.

Bảng 3.5. Kết quả độ đúng

STT	Tỷ lệ thêm vào (%)	Khối lượng mẫu placebo (g)	Lượng chuẩn CLA thêm vào (mg)	Diện tích pic	Lượng chuẩn CLA tìm lại (mg)	Tỷ lệ phục hồi (%)	% RSD
1	80	93,07	102,78	256805	103,66	100,86	0,22
2		92,89	102,83	256892	103,70	100,84	
3		93,12	102,62	257425	103,91	101,26	
4		92,78	102,98	256638	103,60	100,60	
5		93,10	102,82	256988	103,74	100,89	
6		93,12	102,84	257642	104,00	101,03	
1	100	93,27	126,92	315028	127,17	100,19	0,48
2		93,89	126,53	318130	128,42	101,49	
3		93,21	126,35	315717	127,44	100,87	
4		92,67	126,21	315493	127,35	100,91	
5		92,71	126,63	316795	127,88	100,99	
6		93,32	126,32	317706	128,25	101,53	
1		92,57	151,81	380608	153,64	101,20	

2		92,19	151,62	378591	152,82	100,79	
3		93,31	151,77	378940	152,96	100,79	
4	120	92,21	151,98	378755	152,89	100,60	0,25
5		92,98	151,76	377730	152,48	100,47	
6		93,42	151,32	377750	152,48	100,77	

Phương pháp đạt độ đúng yêu cầu quy định 98 - 102%.

3.1.1.5. Độ chính xác

Độ lặp lại

Tiến hành định lượng 6 mẫu thử đã được chuẩn bị, kết quả ghi nhận trình bày trong Bảng 3.6

Bảng 3.6. Độ lặp lại ngày 1

Mẫu	Ngày 1		
	Khối lượng mẫu thử (g)	Diện tích pic	Hàm lượng (%)
1	217,56	317672	102,59
2	216,61	308162	99,95
3	216,37	307922	99,99
4	217,26	313794	101,48
5	217,34	312931	101,16
6	217,57	312620	100,95
Trung bình	101,02		
RSD (%)	0,98		

Phương pháp đạt độ lặp lại RSD = 0,98%.

Độ chính xác trung gian

Tiến hành định lượng trên 6 mẫu thử, kết quả ghi nhận trong Bảng 3.7

Bảng 3.7. Độ lặp lại ngày 2

Mẫu	Ngày 2			Ngày 1
	Khối lượng mẫu thử (g)	Diện tích pic	Hàm lượng (%)	
1	217,62	313728	101,20	102,59
2	218,09	314034	101,08	99,95

3	217,41	312795	100,99	99,99
4	217,27	313343	101,24	101,48
5	217,26	316265	102,18	101,16
6	217,50	313895	101,31	100,95
Trung bình	101,33			
RSD (%)	0,43			

Phương pháp đạt độ chính xác RSD = 0,43%% (n = 6)

Sắc ký đồ trong quy trình thử nghiệm được trình bày trong Phụ lục 1.

3.1.2. Kết quả xác định giới hạn tạp liên quan của CLA nguyên liệu

Theo ĐĐVN V xác định tạp liên quan đối với CLA nguyên liệu. Kết quả thực nghiệm được ghi nhận ở Phụ lục 2.

3.1.2.1. Tính phù hợp hệ thống

Tính phù hợp hệ thống được xác định bằng cách tiêm lặp lại 6 lần dung dịch đối chiếu CLA (2), kết quả trình bày trong Bảng 3.8.

Bảng 3.8. Tính phù hợp hệ thống (Dung dịch đối chiếu 2)

Số lần tiêm	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic	Hệ số đối xứng	Số đĩa lý thuyết
1	13,578	50324	1,153	85046
2	13,577	50523	1,136	81888
3	13,440	50135	1,131	85674
4	13,440	50406	1,138	84037
5	13,389	49993	1,120	81668
6	13,408	50102	1,153	85599
TB	13,472	50247	1,139	83985
RSD (%)	0,622	0,403		

Tính phù hợp hệ thống cũng được xác định bằng cách tiêm lặp lại 6 lần dung dịch hỗn hợp các tạp chuẩn CLA (dung dịch đối chiếu (4)), kết quả phương pháp là phù hợp.

3.1.2.2. Tính đặc hiệu

Dung dịch mẫu trắng và dung dịch placebo không có pic có thời gian lưu trùng với thời gian lưu của các pic tạp và pic CLA trong dung dịch (4).

Kết luận: Phương pháp có tính đặc hiệu.

3.1.2.3. Giới hạn phát hiện (LOD)

LOD của CLA thực hiện bằng cách pha loãng dần từ dung dịch đối chiếu (1)

Kết quả xác định giới hạn phát hiện CLA là 1,499 ($\mu\text{g/ml}$).

3.1.2.4. Độ lặp lại

Chuẩn bị 6 dung dịch thử theo quy trình. Kết quả cho % tổng tạp đạt theo tiêu chuẩn nên quy trình định lượng CLA đạt tính phù hợp của hệ thống và tính đặc hiệu, mẫu placebo không có pic có thời gian lưu trùng với thời gian lưu của pic CLA trong dung dịch chuẩn và thử, độ lệch thời gian lưu trung bình giữa chuẩn và thử là 0,65%. Ngoài ra, phương pháp đạt độ đúng và độ chính xác ngày thứ 1 và ngày thứ 2 trong khoảng tuyến tính có nồng độ từ 2- 200 $\mu\text{g/ml}$.

Tất cả sắc ký đồ, kết quả phương pháp được trình bày trong Phụ lục 1.

3.1.3. Kết quả thẩm định quy trình định lượng CLA trong thử độ hòa tan

Quy trình định lượng CLA được thẩm định về tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính, độ đúng, độ chính xác (độ lặp lại và độ chính xác trung gian). Độ hòa tan được định lượng sau mỗi thời gian 2 giờ, 4 giờ, 8 giờ và 12 giờ, mẫu sẽ được rút ra và xử lý theo mục 2.3.2.1. Kết quả thẩm định quy trình định lượng CLA được tóm tắt ở Bảng 3.9.

Bảng 3.9. Kết quả thẩm định quy trình định lượng CLA trong thử độ hòa tan

STT	Chỉ tiêu	Yêu cầu	Kết quả	Kết luận
1	Tính tương thích hệ thống	Diện tích: $\text{RSD} \leq 2 \%$	$\text{RSD} = 0,43 \%$	Đạt
2	Tính đặc hiệu	Mẫu placebo không có pic trùng với thời gian lưu pic CLA	Thời gian lưu CLA dung dịch chuẩn: 10,098 phút	Đạt

			Thời gian lưu dung dịch thử: 10,050 phút	
3	Tính tuyến tính	R = 0,990	R = 0,9998	Đạt
4	Độ đúng	98 % - 102 % RSD ≤ 2 %	99,42 % RSD = 0,99 %	Đạt
5	Độ chính xác			
5.1	Độ lặp lại	RSD ≤ 2 % (n = 6)	RSD = 0,50 %	Đạt
5.2	Độ chính xác trung gian	RSD ≤ 2 % (n = 12)	RSD = 1,14 %	Đạt

3.1.3.1. Tính tương thích hệ thống

Tính tương thích hệ thống được xác định bằng cách đo lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn có nồng độ CLA khoảng 0,56 mg/ml, độ pha loãng 50 lần. Kết quả tương thích hệ thống trong môi trường độ hòa tan được trình bày trong Bảng 3.10.

Bảng 3.10. Kết quả tương thích hệ thống trong môi trường độ hòa tan

STT	Lượng chuẩn cân (mg)	Độ pha loãng chuẩn	Diện tích	Thời gian lưu (phút)
1	29,04	50	220662	10,032
2			221101	10,005
3			221611	10,041
4			223654	10,101
5			223543	10,065
6			226548	10,024
Trung bình			222853	10,044
RSD (%)			0,99	

Kết quả thu được cho thấy hệ thống phù hợp ($RSD (0,99) \leq 2\%$).

3.1.3.2. Tính đặc hiệu

Tiến hành tiêm dung dịch chuẩn, dung dịch thử và dung dịch placebo vào hệ thống sắc ký.

Kết quả ghi nhận:

- Dung dịch placebo không có pic trùng với thời gian lưu pic CLA;

- Thời gian lưu pic CLA trong dung dịch chuẩn: 10,098 phút;
- Thời gian lưu pic CLA trong dung dịch thử: 10,050 phút.

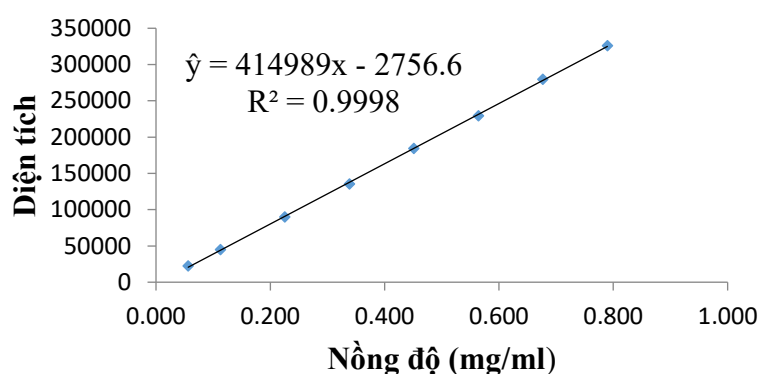
Phương pháp xác định có tính đặc hiệu.

3.1.3.3. Tính tuyến tính

Dung dịch chuẩn gốc: Cân chính xác khoảng 28 mg CLA chuẩn cho vào bình định mức 10 ml thêm dung dịch đệm HCl 0,1 N vừa đủ thể tích, lắc đều.

Từ dung dịch gốc pha một dãy dung dịch có nồng độ khoảng từ 0,056– 0,784 mg/ml CLA trong dung dịch HCl 0,1 N được trình bày trong Phụ lục 3.

Khảo sát sự tương quan giữa x (nồng độ) và y (diện tích) bằng phương pháp bình phương cực tiểu, kết quả cho thấy có sự tương quan giữa nồng độ và diện tích với $R^2 = 0,9998$. Đồ thị sự tương quan giữa nồng độ và diện tích được trình bày ở Hình 3.2.



Hình 3.2. Đồ thị sự tương quan giữa nồng độ và diện tích

3.1.3.4. Độ đúng

Độ đúng được thực hiện bằng cách thêm chuẩn vào placebo, lượng chuẩn được thêm vào mẫu placebo ở 4 mức nồng độ 20%, 40%, 80% và 120% so với nồng độ định lượng, sau đó tiến hành xử lý mẫu và quy trình theo mục 2.3.1.1, kết quả độ đúng phương pháp được trình bày trong Bảng 3.11.

Bảng 3.11. Độ đúng phương pháp (n=3)

STT	Tỷ lệ thêm vào (%)	Khối lượng placebo (mg)	Lượng CLA thêm vào (mg)	Diện tích	Lượng CLA tìm lại (mg)	Tỷ lệ phục hồi (%)

1		18,26	5,644	47275	5,696	100,91
2	20	18,43	5,783	48469	5,840	100,98
3		18,29	5,727	47667	5,743	100,28
1		18,54	11,384	95326	11,485	100,89
2	40	18,61	11,483	96766	11,659	101,53
3		18,21	11,392	94384	11,372	99,83
1		18,69	23,254	195503	23,555	101,30
2	80	18,61	23,723	198083	23,866	100,61
3		18,52	23,354	193406	23,303	99,78
1		18,63	36,174	301160	36,285	100,31
2	120	18,43	36,174	298951	36,019	99,19
3		18,24	35,897	302153	36,405	101,42
Trung bình						100,58
RSD (%)						0,72

Kết luận: Phương pháp đạt độ đúng (RSD = 0,72% ≤ 2% (Đạt: 98-102%)).

3.1.3.5. Độ chính xác

Độ lặp lại

Cân một lượng bột viên tương đương 56 mg CLA cho vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 50 ml dung dịch HCl 0,1 N, lắc kỹ cho tan, thêm dung dịch HCl 0,1 N vừa đủ đến vạch, lắc đều. Chuẩn bị 6 mẫu thử và tiến hành sắc ký, kết quả độ lặp lại được trình bày trong Bảng 3.12.

Bảng 3.12. Độ lặp lại (n = 6)

Mẫu	Khối lượng cân (mg)	Diện tích mẫu thử	Hàm lượng (%)
1	94,08	213759	90,48
2	94,25	215880	91,21
3	93,03	212800	91,09
4	92,84	211631	90,77
5	92,54	212492	91,44

6	93,46	212494	90,54
Trung bình		90,92	
RSD (%)		0,42	

Phương pháp đạt độ lặp lại $RSD = 0,42 \% \leq 2 \%$.

Độ chính xác trung gian

Cân một lượng bột viên tương đương 56 mg CLA cho vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 50 ml dung dịch HCl 0,1 N, lắc kỹ cho tan, thêm dung dịch HCl 0,1 N vừa đủ đến vạch, lắc đều. Chuẩn bị 6 mẫu thử và tiến hành sắc ký, kết quả độ chính xác trung gian được trình bày trong Bảng 3.13.

Bảng 3.13. Kết quả độ chính xác trung gian (n = 6)

Mẫu	Ngày thứ hai					Ngày thứ nhất
	Khối lượng mẫu chuẩn (mg)	Khối lượng mẫu thử (mg)	Diện tích mẫu chuẩn	Diện tích mẫu thử	Hàm lượng (%)	Hàm lượng (%)
1	29,45	94,15	243819	222150	90,82	90,48
2		90,15		213490	91,15	91,21
3		91,19		217414	91,77	91,09
4		93,03		219817	90,95	90,77
5		90,55		213146	90,60	91,44
6		91,38		217391	91,57	90,54
Trung bình (%)					91,14	90,92
RSD (%)					0,49	0,42

Phương pháp đạt độ chính xác trung bình ngày thứ 1 và ngày thứ 2 ($RSD \leq 2\%$).

Sắc ký để kết quả thẩm định phương pháp HPLC trong định lượng độ hòa tan CLA xem Phụ lục 2.

3.2. Xây dựng công thức và quy trình bào chế viên nén CLA 500 mg có đặc tính nổi để kéo dài thời gian lưu giữ trong dạ dày và kiểm soát sự phóng thích thuốc 12 giờ

3.2.1. Tiền nghiên cứu

3.2.1.1. Khảo sát viên Klacid 500 mg MR

Tính chất viên:

- Tá dược: Microcrystallin, cellulose, talc, hydromellos, stearic acid, magnesium stearate, propylen glycol, vanillin, titanium và magnesi stearat⁷⁹;

- Khối lượng viên: 1,000 mg;

- Thời gian nổi: không đề cập;

- Cảm quan: Viên nén bao phim, viên hình bầu dục, hàm lượng CLA 500 mg, lớp bao màu vàng với tá dược bao phim là HPMC, kích thước viên 18 mm, bề mặt viên nhẵn bóng. Các chi tiết về số lô, ngày sản xuất, hạn dùng, hàm lượng, độ cứng và khối lượng trung bình viên được trình bày trong Bảng 3.14.

Bảng 3.14. Thông tin thuốc tham khảo (n = 6)

Lô	Hạn dùng	Hàm lượng (mg)	Độ cứng (N)	KLTB (mg)
VN-0713-04	06/2018	501,5 ± 1,2	14 ± 0,83	987,7 ± 2,1
VN-21161-14	02/2018	502,1 ± 0,4	12 ± 0,16	991,2 ± 1,8

Độ hòa tan viên Klacid 500 mg MR được thực nghiệm theo USP 40 (Test 4), kết quả độ hòa tan ở 4 thời điểm là 2 giờ, 4 giờ, 8 giờ và 12 giờ được trình bày trong Phụ lục 3.

Xác định mô hình động học phóng thích thuốc – để xác định xu hướng thuốc được phóng thích theo thời gian phù hợp mô hình nào nhằm dự đoán được cơ chế thuốc⁹³. Kết quả đánh giá hệ số tương quan của viên Klacid 500 mg MR được trình bày trong Bảng 3.15.

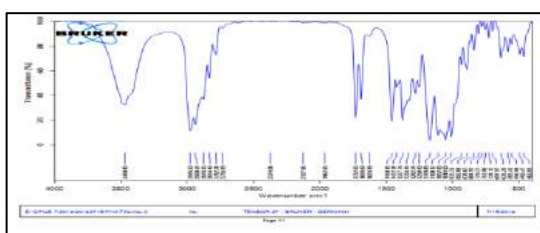
Bảng 3.15. Hệ số tương quan các mô hình động học phóng thích CLA (n = 6)

Mô hình	Bậc 0	Bậc 1	Higuchi	Hixson	Korsmeyer
Hệ số tương quan	0,8425	0,9207	0,9932	0,9911	0,9091

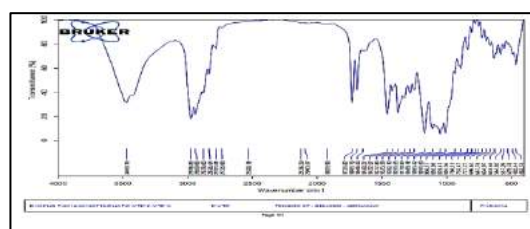
Kết quả cho thấy chế phẩm Klacid 500 mg MR tuân theo mô hình phóng thích Higuchi - cơ chế chủ yếu là viên được khuếch tán và hòa tan một phần theo mô hình của Hixson. Các mô hình động học như bậc 0, bậc 1, Kormeyer không có sự tương quan tuyến tính. Do đó, thuốc nghiên cứu được định hướng xây dựng công thức với các thành phần để viên phóng thích theo mô hình như Klacid 500 mg MR.

Nhận dạng công thức

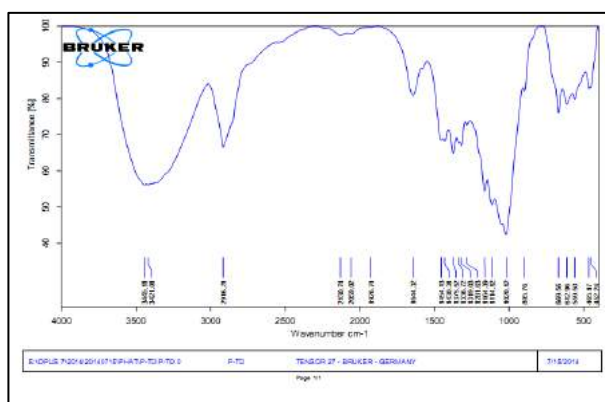
Định tính CLA bằng phương pháp quang phổ hồng ngoại nhằm đánh giá nguyên liệu và thành phẩm so với phổ chuẩn CLA, kết quả được trình bày ở Hình 3.3.



(a)



(b)



(c)

Hình 3.3. Phổ IR CLA nguyên liệu (A), thành phẩm (B), và tá dược (C)

Xác định điểm nóng chảy

Điểm nóng chảy của CLA được tìm thấy nằm trong khoảng 217- 220 °C như trong tiêu chuẩn nhà sản xuất, do đó cho thấy độ tinh khiết của mẫu thuốc.

Thành phần công thức cơ bản CLA 500 mg nổi trong dạ dày

Thành phần công thức cơ bản dựa trên các tiền nghiên cứu⁹⁴ và các công trình công bố^{95,96,97} của các tác giả được trình bày trong Bảng 3.16.

Bảng 3.16. Thành phần công thức cơ bản A

STT	Thành phần	Đơn vị (mg/viên)	Tỷ lệ (%)	Lô 1.000 viên (g)
1	CLA	500	58,82	500
2	HPMC K100M	65	7,65	65
3	HPMC K15M	40	4,70	40
4	NaHCO ₃	62,05	7,30	62,05
6	PVP K30	15	1,76	15
7	Talc	30	3,52	30
8	Magnesi stearat	27	3,17	27
9	Avicel pH 101	71	8,35	71
<i>Tổng viên nén</i>		<i>850</i>	<i>100 %</i>	<i>850</i>
10	Opadry® II, yellow	26,8	3 %	26,8
11	Cồn 96%* (ml)	40,2		40,2 l
12	RO (ml) *	200,8		200,8 l
Tổng viên nén bao phim				876,8

**Dung môi bay hơi trong quá trình bào chế*

3.2.1.2. Kiểm nghiệm nguyên liệu CLA

Các tiêu chuẩn theo USP 40, kết quả kiểm nghiệm nguyên liệu và COA nguồn gốc nguyên liệu CLA và các thành phần tá dược, thông số kỹ thuật, tính tương thích được trình bày trong Phụ lục 4.

Thông số kỹ thuật nguyên liệu

Các thông số kỹ thuật như tỉ trọng, tỉ số Hausner, chỉ số Carr's index để đánh giá sự phù hợp với phương pháp điều chế.

Kết quả đánh giá các thông số các nguyên liệu và tá dược phù hợp cho điều chế bằng phương pháp xát hạt ướt.

Tính tương thích

Các nghiên cứu về tính tương thích của hoạt chất CLA với các tá dược được kiểm soát. Ghi nhận phổ IR của hoạt chất CLA và hỗn hợp CLA với các tá dược. Tất cả các pic đặc trưng của CLA đều có mặt trong phổ, do đó cho thấy có tính tương thích giữa thuốc và các tá dược. Kết quả cho thấy không có sự thay đổi đáng và đạt tính toàn vẹn hóa học của thuốc.

Kết quả đánh giá các mối liên quan ảnh hưởng đến tính chất sản phẩm

Độ cứng có ảnh hưởng đến lực nén của khối bột sẽ ảnh hưởng đến khả năng phóng thích hoạt chất ở mỗi thời điểm.

Kết quả khảo sát độ cứng viên ở 4 khoảng: 80-100 N, 100-120 N, 120-140 N và 140-160 N tương ứng với ghi nhận tiềm thời nổi, độ hòa tan ở 4 thời điểm: 2 giờ, 4 giờ, 8 giờ và 12 giờ, kết quả được trình bày trong Bảng 3.17.

Bảng 3.17. Kết quả khảo sát độ cứng – tiềm thời nổi - độ hòa tan viên (n=6)

Độ cứng (N)	Tiềm thời nổi (s)	Độ hòa tan			
		2 giờ	4 giờ	8 giờ	12 giờ
100-120	52 ± 2	36,88 ± 0,71	65,25 ± 0,17	79,01 ± 1,25	89,06 ± 0,32
120-140	71 ± 1	22,12 ± 1,13	61,27 ± 0,12	68,56 ± 2,32	85,15 ± 0,12
140-160	136 ± 1	18,56 ± 0,70	64,05 ± 0,5	72,31 ± 1,80	83,90 ± 0,18

Kết quả khảo sát ảnh hưởng giữa độ cứng, tiềm thời nổi cho thấy độ cứng ảnh hưởng đến tiềm thời nổi và khả năng phóng thích CLA. Độ cứng càng lớn thì tiềm thời nổi càng lâu – do đó, độ cứng và tiềm thời nổi tỷ lệ nghịch với nhau. Khi xét đến tiềm thời nổi và độ hòa tan thì ở thời điểm 2 giờ và 12 giờ thì tiềm thời nổi càng lớn thì % hoạt chất phóng thích càng thấp, bên cạnh đó, độ cứng 120-140 N thì thời điểm 4 giờ và 8 giờ như không có sự khác biệt về mặt thống kê ($p = 0,08 > 0,05$). Ngoài ra, độ cứng viên 140-160 N có độ hòa tan ở 12 giờ tiệm cận giới hạn dưới theo TCCS dự

kiến và lực nén khá lớn sẽ khó trong quy trình điều chế. Do đó, nghiên cứu chọn lực nén trong khoảng 100 -120 N làm nền tảng cho các nghiên cứu tiếp theo.

Ảnh hưởng độ cứng của viên và chỉ số trương phồng

Chỉ số trương phồng là yếu tố giúp khả năng nổi của viên và ảnh hưởng đến độ hòa tan⁵⁹. Viên trương phồng hơn so ban đầu do viên được bao bởi một lớp màng mỏng đặc biệt như polymer – các polymer tạo ra lớp gel xung quanh phần lõi của viên nén khi viên được tiếp xúc với môi trường dạ dày. Lớp gel ảnh hưởng quá trình phóng thích của thuốc, chỉ số % trương phồng mô tả lượng nước chứa trong hydrogel ở trạng thái cân bằng¹⁰⁸ và là chức năng của cấu trúc matrix - tính ưa nước và ion hóa của các nhóm chức¹¹⁴. Kết quả đánh giá chỉ số trương phồng trong 12 giờ, kết quả được trình bày trong Bảng 3.18.

Bảng 3.18. Chỉ số trương phồng của viên (n = 6)

Độ cứng (N)	Chỉ số trương phồng (%)					
	1 giờ	2 giờ	4 giờ	6 giờ	8 giờ	12 giờ
100-120	53,17± 0,8	70,15± 0,2	83,26 ± 1,1	90,55± 0,7	75,85± 1,1	61,33± 0,9
120-140	53,50± 1,2	68,27± 0,4	80,47± 0,4	82,67± 1,3	78,91± 0,4	62,87± 0,6
140-160	53,42± 0,4	65,18± 1,1	80,85± 0,7	75,12± 0,2	70,62± 0,2	59,17± 0,5

Kết quả bảng 3.18. cho thấy có sự liên quan giữa độ cứng và chỉ số % trương phồng theo thời gian, sự khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê với giá trị $p > 0,05$. Tại thời điểm đầu, độ cứng có ảnh hưởng nhưng không nhiều tới chỉ số trương phồng, tuy nhiên, bắt đầu từ thời điểm 2 giờ viên có độ cứng lớn thì khả năng trương phồng ít hơn, đạt giá trị cực đại ở 6 giờ và bắt đầu từ 8 giờ thì chỉ số trương phồng giảm dần. Như vậy, độ cứng viên càng lớn càng hạn chế khả năng sự khuếch tán tạo khả năng nổi để làm tăng tiềm thời nổi của viên. Mặt khác, độ cứng lớn viên xảy ra sự xói mòn nhiều nên chỉ số trương phồng viên giảm¹¹⁴.

Từ kết quả Bảng 3.17 và Bảng 3.18 cho thấy chỉ số % trương phòng tăng theo thời gian vì polymer hấp thụ nước do tính ưa nước và đến một thời điểm sẽ giảm xuống. Lớp ngoài cùng của polymer bị hydrat hóa, trương phòng và một hàng rào gel được hình thành ở bề mặt bên ngoài, lớp bên ngoài bắt đầu hòa tan và/hoặc phân tán. Quá trình hydrat hóa, trương phòng và phóng thích được lặp lại trên các bề mặt tiếp xúc mới, do đó duy trì tính toàn vẹn của dạng bào chế. Do đó, độ cứng của viên nén phù hợp cho phát triển công thức tiếp theo là 100-120 N.

Ảnh hưởng của lớp bao phim

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của lớp bao phim đến tính chất của viên trước và sau khi bao được trình bày trong Bảng 3.19 và Bảng 3.20.

Bảng 3.19. Kiểm nghiệm viên thành phẩm sau khi bao (n = 6)

Chỉ tiêu	A1	A2	A3
Hình thức	Viên màu vàng nhạt, hình bầu dục, cạnh và thành viên lành lặn, đường kính 18 mm		
Đồng đều khối lượng	Đạt	Đạt	Đạt
Độ cứng (N)	111 ± 2,5	113 ± 3,1	113 ± 2,6
Độ mài mòn (%)	0,2 %	0,15%	0,14%
Định tính	Đúng	Đúng	Đúng
Định lượng (%)	Đạt 101,02 % ± 1,51%	Đạt 101,33 % ± 0,72%	Đạt 102,15 % ± 1,14%

Viên sau khi bao đạt yêu cầu các chỉ tiêu cho thành phẩm

Bảng 3.20. Kết quả ảnh hưởng của lớp bao đến tính chất viên (n = 6)

Thời gian	Viên nén trước khi bao			Viên sau khi bao		
	% GPHC			% GPHC		
	A1	A 2	A3	A1	A 2	A3
Độ hoà tan (%)						
2 giờ	18,74 ± 1,54	20,12 ± 2,26	21,56 ± 1,52	17,25 ± 0,12	18,87 ± 0,43	16,21 ± 0,77

4 giờ	36,12 ± 2,64	37,25 ± 1,44	35,16 ± 1,02	31,87 ± 1,04	29,09 ± 0,25	32,07 ± 1,06
8 giờ	52,24 ± 0,35	51,86 ± 1,18	50,78 ± 0,29	51,32 ± 0,75	50,12 ± 0,54	49,53 ± 1,76
12 giờ	74,26 ± 3,74	74,09 ± 1,30	75,52 ± 1,05	68,92 ± 1,13	65,14 ± 1,28	75,44 ± 0,45
Thời gian nổi (giờ)	8,00 ± 0,85	8,00 ± 1,21	9,15 ± 0,32	8,00 ± 1,35	8,00 ± 0,37	9,00 ± 0,52

Kết quả thống kê phân tích Anova cho thấy lớp bao không ảnh hưởng đến tính chất của viên trước và sau khi bao lần lượt với giá trị F (0,003; 0,013 và 0,0003).

3.2.1.3. Đánh giá các thông số trọng yếu và các ảnh hưởng đến chất lượng viên

Kết quả đánh giá các thông số trọng yếu của viên quy mô phòng thí nghiệm

Kết quả khảo sát thời gian trộn khô, trộn ướt và trộn hoàn tất được tổng hợp trình bày trong Bảng 3.21.

Bảng 3.21. Thời gian trộn bột (n = 6)

Mẫu	Hàm lượng hoạt chất trong mẫu bột (%)								
	Trộn khô (phút)			Trộn ướt (phút)			Trộn hoàn tất (phút)		
	5	10	15	2	3	4	10	15	20
1	61,43	61,03	61,82	61,09	60,03	60,68	61,79	61,43	62,24
2	62,54	62,21	62,88	61,16	60,26	61,58	60,15	61,17	60,34
3	62,04	61,56	62,47	61,38	60,86	61,82	61,12	62,19	62,67
4	61,75	61,62	62,15	60,58	60,22	62,86	61,32	61,89	61,89
5	65,41	62,37	62,22	60,23	59,65	59,21	61,54	61,25	62,46
6	61,89	62,53	62,32	60,81	60,28	60,52	62,34	62,65	62,78
TB	62,51	61,87	62,31	60,88	60,22	61,11	61,38	61,76	62,06
RSD %	2,35	0,93	0,57	0,69	0,66	2,06	0,89	0,54	1,16

Kết quả giai đoạn trộn bột khô trên máy trộn lập phương với tốc độ trộn 15 – 20 vòng/phút trong thời gian 10 phút và 15 phút có độ phân tán hàm lượng của các mẫu bột có RSD% < 2%. Tuy nhiên, trong quá trình sản xuất thì thời gian và năng

lượng cần tối ưu hóa, vì vậy thời gian trộn bột ban đầu lựa chọn là 10 phút. Bên cạnh đó, thời gian trộn ướt 3 phút, thời gian trộn hoàn tất 15 phút. Do đó, tổng thời gian cho quy trình ở quy mô thí nghiệm là 33 phút.

Bảng tóm tắt kết quả các giai đoạn trong yêu trong quy trình điều chế ở quy mô PTN được trình bày trong Phụ lục 5.

3.2.1.4. Xác định mô hình động học viên nổi trong dạ dày và PTKD CLA 500 mg

Động học phóng thích của viên được xác định dựa vào dữ liệu GPHC của 3 lô A1-1; A1-2; A1-3 được trình bày trong Bảng 3.22 và kết quả xác định mô hình động học phóng thích được trình bày trong Bảng 3.23.

Bảng 3.22. Độ hòa tan 3 lô ở quy mô PTN (n=6)

Thời gian (giờ)	Độ hòa tan (%)			
	A1-1	A1-2	A1-3	Trung bình
1	9,71 ± 0,15	11,03 ± 0,42	8,74 ± 0,37	9,83 ± 0,31
2	19,90 ± 0,83	20,05 ± 0,53	17,61 ± 1,12	19,20 ± 0,83
4	38,55 ± 1,01	34,81 ± 0,24	36,44 ± 0,53	36,60 ± 0,59
6	50,16 ± 0,22	48,32 ± 0,15	49,24 ± 0,20	49,24 ± 0,19
8	65,47 ± 0,31	63,48 ± 0,62	61,99 ± 0,15	63,65 ± 0,36
12	81,45 ± 0,18	82,16 ± 1,04	82,24 ± 0,21	81,95 ± 0,48

Kết quả hệ số tương quan các mô hình được trình bày trong Bảng 3.23.

Bảng 3.23. Hệ số tương quan các mô hình

Mô hình phóng thích	R ²	K	Biểu thức
Bậc 0	0,9795	6,5104	$C_0 - C = 6,5104.t$
Bậc 1	0,9920	0,1407	$\log C = -0,0611.t + 2,0379$
Higuchi	0,9972	29,456	$C_0 - C = 29,456.t - 21,346$
Hixson-Crowell	0,9991	0,1653	$3C_0 - 3C = 0,1653.t - 0,0142$

Trong đó: C₀: Phần trăm hoạt chất ban đầu có trong viên, C: Phần trăm hoạt chất còn lại trong viên.

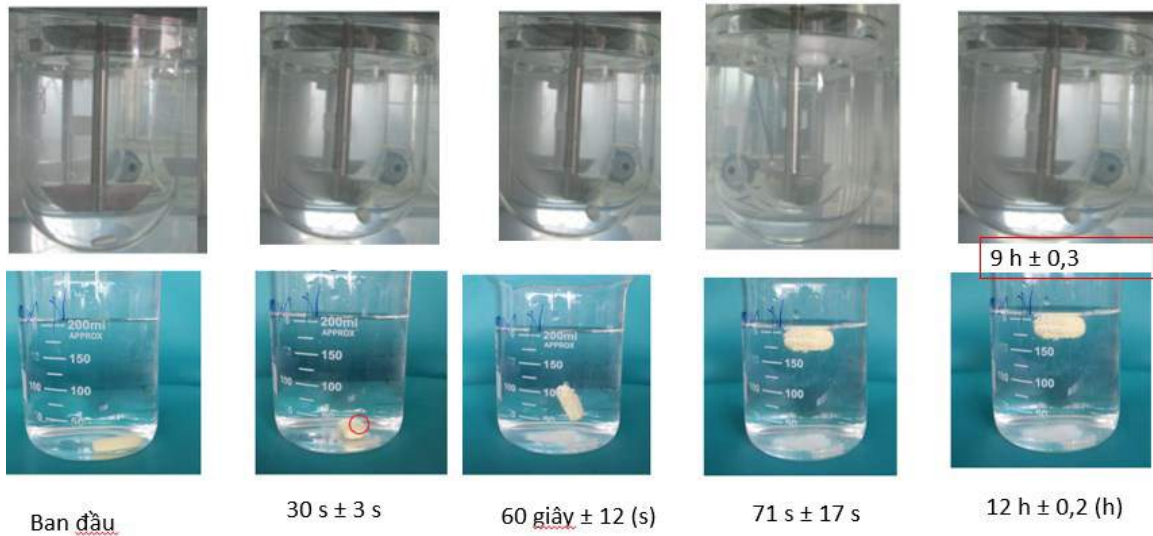
Hệ số tương quan cho thấy mức độ phù hợp với từng mô hình^{51,92}. Viên thành phẩm có động học phóng thích phù hợp với mô hình Higuchi ($R^2 = 0,9972$) cho thấy sự giải phóng hoạt chất phụ thuộc vào căn bậc hai thời gian và cơ chế tuân theo định luật khuếch tán Fick. Sự phù hợp với mô hình Hixson-Crowell ($R^2 = 0,9991$) thể hiện sự thay đổi diện tích bề mặt và đường kính viên trong quá trình giải phóng hoạt chất. Bên cạnh đó, khi xét đến thành phần công thức của viên chứa 2 tá dược kiểm soát sự phóng thích là HPMC K100M và HPMC K15M nên sự giải phóng hoạt chất của viên được dự đoán bởi cơ chế phóng thích khuếch tán, trương nở và ăn mòn. Do đó với CLA 500 mg nổi trong dạ dày dự kiến cơ chế phóng thích của viên sẽ tuân theo mô hình động học Hixson-Crowell và Higuchi.^{86,88,94}

Mô hình đánh giá khả năng nổi *in vitro* viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày

Kết quả ghi nhận tiềm thời nổi và tổng thời gian nổi mô hình *in vitro* được trình bày trong Bảng 3.24.

Bảng 3.24. Tiềm thời nổi và thời gian nổi của công thức cơ bản A1

Mã	Mô hình 1: Máy độ hòa tan		Mô hình 2: Ly thủy tinh	
	Tiềm thời nổi (giây)	Thời gian nổi (giờ)	Tiềm thời nổi (giây)	Thời gian nổi (giờ)
A1-1	71 ± 17	9,0 ± 0,3	71 ± 5	12,0 ± 0,2
A1-2	85 ± 6	8,7 ± 0,1	73 ± 7	11,5 ± 0,1
A1-3	78 ± 10	9,2 ± 0,3	70 ± 4	12,0 ± 0,2
p	0,545	0,26	0,545	0,26



Hình 3.4. Nghiên cứu khả năng nổi *in vitro* của viên nén CLA (A1-1)

Từ kết quả so sánh mô hình thử nghiệm khả năng nổi của viên CLA 500 mg kết quả khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê về tiềm thời nổi ($p=0,545>0,05$) và tổng thời gian nổi ($p=0,26>0,05$), kết quả tổng thời gian nổi lần lượt là trung bình 9 giờ ± 0,3 giờ và 12 giờ ± 0,2 giờ lần lượt của 2 mô hình. Do đó, luận án đề xuất khi thử nghiệm khả năng nổi sẽ thực hiện theo mô hình như trong thiết bị thử nghiệm độ hòa tan cho kết quả gần với điều kiện sinh lý dạ dày trên *in vitro* hơn.³⁰

Khi đề cập đến tiềm thời nổi thì có liên quan đến tổng thời gian nổi. Bởi tiềm thời nổi càng nhanh là do lượng tỷ lệ tá dược trong viên và khi viên tạo CO₂ giúp viên nổi lên dẫn đến có thể giúp viên giảm được tỷ trọng nhanh hơn và viên nhanh chóng nổi lên trên bề mặt dạ dày. Đây là cách tiếp cận mới giúp viên có tổng thời gian lưu giữ thuốc tại dạ dày lâu hơn.

3.2.2. Thiết kế và tối ưu hóa công thức viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày

Mô hình thiết kế thực nghiệm công thức dựa trên kết quả các tiền nghiên cứu cũng như các công trình đã công bố được trình bày trong Bảng 3.25.

Bảng 3.25. Thành phần công thức viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày

Thành phần	Cho 1 viên (mg)	Tỷ lệ (%)	Vai trò
CLA	500	58,8	Hoạt chất

HPMC K100M	X ₁	7,6 - 14,7	Tá dược kiểm soát sự PTHC
HPMC K15M	X ₂	4,7 - 16.5	Tá dược kiểm soát sự PTHC
NaHCO ₃	X ₃	6 - 12	Tá dược nổi
PVP K30	15	1,7	Tá dược dính
Talc	30	3,4	Tá dược trơn bóng
Magnesi stearat	27	3,1	Tá dược trơn bóng
Avicel pH 101 vđ	850	100%	Tá dược độn

3.2.2.1. Thiết kế mô hình và tối ưu hóa công thức

Thiết kế mô hình thực nghiệm

- Mô hình thực nghiệm với 3 biến độc lập X₁, X₂, X₃ tương ứng HPMC K100M, HPMC K15M, NaHCO₃, mỗi biến 3 mức X₁: 65 – 95 – 125 (mg);

X₂: 40 – 80 - 120 (mg); X₃: 51 – 76 – 102 (mg). Mô hình gồm 14 công thức được trình bày trong Bảng 3.26.

Bảng 3.26. Mô hình thực nghiệm (n=14) và kết quả thực nghiệm (n=6)

Công thức	X ₁	X ₂	X ₃	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄
N ₁	65	120	51	22,51	32,57	76,89	7,30
N ₂	65	120	102	24,78	36,79	81,89	12,00
N ₃	125	120	76	13,37	28,98	53,67	11,30
N ₄	95	120	102	20,56	47,89	83,76	8,00
N ₅	125	40	102	23,65	40,79	64,23	11,00
N ₆	95	40	51	46,46	76,43	99,54	8,40
N ₇	65	40	76	19,30	37,15	61,33	10,30
N ₈	95	120	51	17,62	31,89	64,94	7,35
N ₉	125	80	102	13,65	45,56	70,35	10,20
N ₁₀	65	80	51	66,63	91,64	107,74	7,50
N ₁₁	125	120	76	12,80	30,08	55,7	8,30

N ₁₂	125	80	51	24,78	42,17	75,89	9,20
N ₁₃	95	80	76	22,70	37,97	69,8	8,30
N ₁₄	125	40	51	18,87	33,89	60,07	9,00

Ghi Chú: Y₁: % GPHC thời điểm sau 2 giờ; Y₂: % GPHC thời điểm sau 4 giờ; Y₃: % GPHC thời điểm sau 12 giờ; và Y₄: Thời gian nổi (giờ).

Kết quả thực nghiệm Bảng 3.26 làm dữ liệu cho phần mềm BCPharSoft OPT⁴⁸ để tối ưu hóa công thức và phân tích xu hướng, mức độ, mối liên quan nhân quả giữa các thành phần trong công thức được trình bày trong Phụ lục 6.

Tối ưu hóa công thức

Dữ liệu thực nghiệm trong Bảng 3.26 được dùng làm đầu vào cho phần mềm BCPharSoft OPT để tối ưu hóa các thông số của thành phần công thức.

Biến độc lập và điều kiện:

$65 \leq x_1 \leq 125$: Lượng HPMC K100M (mg);

$40 \leq x_2 \leq 120$: Lượng HPMC K15M (mg);

$51 \leq x_3 \leq 102$: Lượng NaHCO₃ (mg).

Biến phụ thuộc và điều kiện:

y₁: Phần trăm GPHC sau 2 giờ ($y_1 \leq 25\%$);

y₂: Phần trăm GPHC sau 4 giờ ($20\% \leq y_2 \leq 40\%$);

y₃: Phần trăm GPHC sau 12 giờ ($y_3 \geq 80\%$);

y₄: Thời gian nổi ($y_4 \geq 8$ giờ).

Kết quả tối ưu hóa công thức

Kết quả tối ưu hóa bởi phần mềm BCPharSoft OPT bao gồm các thông số tối ưu của các thành phần nguyên liệu và giá trị dự đoán của các tính chất sản phẩm được tóm tắt như trong Bảng 3.27.

Bảng 3.27. Công thức tối ưu

Thành phần công thức		Tính chất sản phẩm	
Xi	Giá trị tìm được (mg)	Yi	Giá trị dự đoán
X ₁	109,6	Y ₁	19,26
X ₂	62,1	Y ₂	39,56

X ₃	73,5	Y ₃	82,43
		Y ₄	8,18

Thực nghiệm kiểm chứng

Kết quả tối ưu dự đoán bởi phần mềm BCPharSoft được thẩm định tính lặp lại của quy trình bào chế ở 3 lô (3.000 viên/lô được mã hóa OC-1, OC-2, OC-3), thành phần công thức được trình bày trong Bảng 3.28. Kết quả tính lặp lại 3 lô của công thức tối ưu được trình bày trong Phụ lục 8. Kết quả thử độ hòa tan, thời gian nổi, hàm lượng của 3 lô đạt yêu cầu và khác nhau không có ý nghĩa về mặt thống kê.

3.3. Nâng cấp cỡ lô và theo dõi độ ổn định

Nghiên cứu nâng cỡ lô được thực hiện trên 3 lô ở quy mô 30.000 viên/lô từ công thức tối ưu. Trong đó, lô OC- 1 được dùng để khảo sát các thông số của quy trình được trình bày trong Bảng 3.28.

Bảng 3.28. Thành phần công thức tối ưu và nâng cấp cỡ lô 30.000 viên

STT	Thành phần	Công thức/ viên (mg)	Công thức/ 3.000 viên (g)	Công thức/ 30.000 viên (Kg)
<i>Thành phần công thức lô tối ưu (OC)</i>				
1	CLA	500	15	15
2	HPMC K100M	109,6	3,29	3,29
3	HPMC K15M	62,1	1,86	1,86
4	NaHCO ₃	73,5	2,21	2,21
5	PVP K30	15	1,53	1,53
6	Talc	30	1,20	1,20
7	Magnesi stearat	27	0,81	0,81
8	Avicel pH 101	32,8	0,98	0,98
Khối lượng viên		850 mg	850 mg	850 mg
<i>Thành phần dịch bao phim (khối lượng thực tế bù hao hụt 10%)</i>				
9	Opadry® II, yellow	26,8 ml	80,3 ml	803 ml

10	Cồn 96%*	40,2 ml	1,21 lít	1,21 lít
11	RO (ml) *	200,8 ml	6,03 lít	6,03 lít
Khối lượng viên nén bao phim		875,5 mg	875,5 mg	875,5 mg

* Thành phần bay hơi trong quá trình sản xuất

Kết quả kiểm soát các thông số trọng yếu của quy trình được trình bày trong Phụ lục 7 và hình ảnh viên thành phẩm trình bày Hình 3.5.



Hình 3.5. Thành phẩm viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày

3.3.1. Quy trình sản xuất viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày

Sơ đồ quy trình sản xuất được trình bày trong Phụ lục 8.

Mô tả quy trình sản xuất lô 30.000 viên.

- Cân rây nguyên liệu: Sàng nguyên liệu qua rây thích hợp với cỡ rây 0,5 mm, ngoại trừ CLA qua rây 1,0 mm, các thành phần cân theo công thức lô 30.000 viên trình bày trong Bảng 3.28 vào các thùng nhựa sạch có lót bao PE sạch. Khối lượng của nguyên liệu được kiểm tra 2 lần trước khi sản xuất;
- Pha tá dược dính: Lấy dung dịch ethanol 96⁰ và hòa tan vào trong nước RO, cho tiếp PVP K30 vào dụng cụ thủy tinh khuấy cho đến khi tan hoàn toàn;
- Trộn khô: Kiểm tra vệ sinh máy trước khi trộn, trộn CLA, HPMC với avicel pH 101 vào máy trộn trong thời gian 15 phút đến khi hỗn hợp bột đồng nhất, hết thời gian trộn khô tiếp tục cho tá dược dính vào khối bột để tạo khối ẩm.
- Trộn ướt: Trong khi máy đang vận hành, thêm tá dược dính từ từ 5 phút. Đóng nắp, tiếp tục cho máy chạy thêm 2 phút (thời gian từ khi bắt đầu thêm tá dược dính đến tắt máy là 7 phút). Thu được khối ẩm đồng nhất, cho ra thùng nhựa sạch có lót 2 lần bao PE sạch, chuẩn bị qua phòng xét hạt ướt.

- Xát hạt ướt: Trước khi vận hành máy, kiểm tra vệ sinh máy xát hạt ướt. Kiểm tra tình trạng lưới và lắp lưới với cỡ rây 1 mm, đúng theo quy trình vận hành máy. Cho từ từ khối bột vào máy, côm xát thu được cho vào máy sấy tầng sôi.
- Sửa hạt: Lấy hỗn hợp ra sửa hạt qua máy sát hạt TS250, lưới 1,0 mm, chuyển hạt chờ trộn ngoài (2);
- Trộn hoàn tất: Tiến hành trộn đồng lượng bên ngoài các thành phần còn lại lần lượt NaHCO_3 , magnesi stearat, talc và 1 phần côm đã sửa hạt được hỗn hợp (1). Cho lượng côm sửa hạt còn lại vào thùng trộn, cho hỗn hợp (1) vào đóng nắp thùng trộn, cho máy chạy 15 phút, tốc độ máy 20 vòng/phút. Tắt máy, lấy côm cho vào thùng có lót túi PE sạch, lấy mẫu kiểm tra chất lượng côm bán thành phẩm, dán nhãn côm bán thành phẩm và chờ dập viên. Các kết quả đều đạt yêu cầu và chuyển sang tiến hành dập viên.
- Dập viên: Kiểm tra trang thiết bị, chày cối, lắp ráp máy theo quy trình, tiến hành cho côm (kiểm tra chất lượng côm đạt về các chỉ tiêu: Độ trơn chảy có tốc độ chảy của côm không nhỏ hơn 5,0g/s; tỷ trọng biểu kiến trong khoảng 0,7-0,78; khối lượng trung bình viên nén dự kiến 850 mg; Hàm lượng CLA phải 90,0 -110,0% so với hàm lượng ghi trên nhãn) vào phễu. Cho máy chạy, điều chỉnh trọng lượng viên. Trong quá trình dập viên sẽ kiểm tra thường xuyên mỗi 15 phút/lần về các chỉ tiêu tính chất viên phải đạt theo TCCS, độ đồng đều khối lượng viên trung bình $\pm 5,0\%$.
- Bao phim:
 - *Chuẩn bị dịch bao phim:* Khối lượng viên sau khi bao dự kiến tăng là 3%, lượng hao hụt dự kiến 5% và hàm lượng chất rắn là 10%. Công thức và thành phần dịch bao gồm: Opadry® II, yellow là 10%; Cồn 96% chiếm 15% và RO là 75%. Opadry® II, yellow có thời gian xử lý ngắn và lớp bao đẹp, bột rắn mịn hòa tan trong nước và có chứa polymer, chất hóa dẻo và cho phép phân hủy ngay lập tức khi giải phóng hoạt chất. Điều chế dịch bao phim: Phân tán lượng bột Opadry® II ,yellow, khuấy đều với dịch bao đã chuẩn bị trong 40 phút, tốc độ quay 200 vòng/phút cho hết lượng còn vào hỗn hợp đang khuấy, khuấy đều trong 5 phút. Tiến hành bao phim, thực

hiện được khuấy liên tục 1 giờ trong suốt quá trình bao giúp tránh hiện tượng lắng các tiểu phân. *Lưu ý:* Khi cho viên vào nồi, sấy viên nóng khoảng 35 °C mới bắt đầu phun dịch bao, viên sau khi bao xong cũng sấy ở 35 °C trong vòng 30 phút bằng cách để cho nồi bao tiếp tục quay cấp nhiệt và khí. Viên sau khi bao được đựng trong 2 lần túi PE có nhãn đúng quy định; Túi viên được mở cho đến khi viên nguội hoàn toàn mới buộc miệng túi; Viên thuốc được đựng trong 2 lần túi PE có nhãn đúng quy định, cho vào thùng đậy kín nắp chờ ép vỉ;

- Lấy mẫu kiểm tra theo TCCS.
- Ép vỉ: kiểm tra nhiệt độ, tốc độ máy ép vỉ, kiểm tra độ kín của vỉ 15 phút/lần.
- Đóng gói thành phẩm: Thuốc đã ép vỉ đóng vào hộp trung gian.
- Quy cách: Ép vỉ Alu/PVC, vỉ 10 viên, hộp 2 vỉ.

3.3.1.1. Kiểm soát các thông số quan trọng yếu

Kết quả kiểm soát các thông số trọng yếu của quy trình ảnh hưởng đến chất lượng của sản phẩm được trình bày trong Phụ lục 7.

Từ kết quả đánh giá 3 lô ở quy mô sản xuất cho thấy có 1 sự khác biệt và điều chỉnh về thời gian bởi các thông số trên mỗi máy là khác nhau. Tuy nhiên, kết quả giữa 3 lô là phù hợp không có sự thay đổi.

Ngoài ra đánh giá nguy cơ trong quy trình bào chế với các thông số trọng yếu cần được kiểm soát để đánh giá về nguy cơ, xác suất có thể xảy ra, mức độ ảnh hưởng được trình bày Phụ lục 9.

3.3.1.2. Các chỉ tiêu đánh giá và thẩm định quy trình lô sản xuất

Các chỉ tiêu và yêu cầu đánh giá trong thẩm định quy trình sản xuất, kết quả kiểm soát thành phẩm được trình bày trong Phụ lục 10.

Kết quả thực nghiệm cho thấy 3 lô sản xuất ở quy mô 30.000 viên đạt các chỉ tiêu về cảm quan, định tính, định lượng, độ hòa tan ở 4 thời điểm và tổng thời gian nổi của viên.

Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở và theo dõi độ ổn định thuốc

Từ kết quả thực nghiệm công thức ở quy mô phòng thí nghiệm và quy mô sản xuất 30.000 viên/lô, tham khảo Klacid 500 mg MR và chuyên luận về tiêu chuẩn trong

thử độ hòa tan viên nén chứa CLA và PTKD theo USP 40 và chuyên luận về tiêu chuẩn tạp chất liên quan. TCCS được xây dựng với các chỉ tiêu chất lượng và phương pháp thử được trình bày theo Phụ lục 11.

3.3.2. Kết quả theo dõi độ ổn định của thuốc

Tiến hành đánh giá độ ổn định các lô nghiên cứu, thông tin các lô thuốc được đánh giá xem Phụ lục 12.

3.3.2.1. Độ ổn định vật lý

Nghiên cứu độ ổn định vật lý của viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày đã chứng tỏ không bị biến đổi sau 24 tháng bảo quản ở nhiệt độ $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}/75\% \pm 5\% \text{ RH}$ và sau 6 tháng trong điều kiện lão hóa cấp tốc ở nhiệt độ $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}/75\% \pm 5\% \text{ RH}$.

Cảm quan: Tính chất viên không có biến đổi đáng kể.

3.3.2.2. Độ ổn định hóa học

Độ ổn định ở điều kiện dài hạn

Bảo quản sau 24 tháng ở nhiệt độ $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}/75\% \pm 5\%$ không có ảnh hưởng đáng kể lên tính ổn định hóa học của thành phẩm thuốc: hàm lượng và độ hòa tan ở các thời điểm chỉ có sự thay đổi nhỏ trong khoảng cho phép.

Độ ổn định ở điều kiện lão hóa cấp tốc

Bảo quản ở điều kiện lão hóa cấp tốc trong 6 tháng không ảnh hưởng đến độ ổn định hóa học. Hàm lượng và độ hòa tan ở các thời điểm không thay đổi đáng kể so với giá trị ban đầu của các lô.

Kết quả số liệu trong đánh giá độ ổn định và sự thay đổi hàm lượng của 3 lô nghiên cứu xem Phụ lục_12.

Kết quả số liệu về độ ổn định của viên nén bao phim CLA 500 mg nổi trong dạ dày có tuổi thọ 24 tháng trong bao bì đóng gói. Mọi biến đổi đổi liên quan xảy ra trong sản phẩm cuối cùng đã được theo dõi, các phép thử kiểm tra độ ổn định là theo tiêu chuẩn cụ thể của dạng bào chế. Hướng dẫn bảo quản: bảo quản nơi khô, nhiệt độ không quá $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, tránh ánh sáng trực tiếp"





3.4. Xây dựng quy trình thử nghiệm *in vivo* trên Chó cỏ








3.4.1. Kết quả đặc tính nổi *in vivo* của viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày




Kết quả ghi nhận thời gian lưu giữ thuốc trong dạ dày của nhóm chứng trước và sau khi sử dụng viên không có đặc tính nổi ở 8 Chó cỏ từ 15 phút đến 30 phút, trong đó, 6 con thuốc chỉ tồn lưu trong dạ dày là 15 phút và 2 con số 5 và số 6 là 30 phút như trong trình bày kết quả Phụ lục 13.

Bên cạnh đó, khi ghi nhận thời gian nổi của nhóm thử là viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày thì khả năng thuốc lưu giữ trong dạ dày trong khoảng 195 - 270 phút ($234,38 \pm 32,99$ phút). Do đó, viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày sẽ có khả năng lưu giữ tại dạ dày dài hơn trong khoảng 3,5 - 4,5 giờ trong khi chỉ 15 – 30 phút đối với viên PTTT, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$, kết quả được trình bày trong Phụ lục 13.

* Kết quả ghi nhận hình ảnh X-Quang về thời gian nổi trong dạ dày theo thời gian của nhóm chứng và nhóm thử được trình bày trên và hình ảnh đặc trưng của nhóm thử của Chó cỏ số 1 trước và sau khi uống thuốc được trình bày trong Hình 3.6.

Thời điểm	Nhóm thử	Nhóm chứng
Dạ dày Rỗng		
15 phút		

30 phút		
60 phút		
90 phút		Kết thúc
120 phút		Kết thúc
150 phút		Kết thúc

180 phút		Kết thúc
195 phút		Kết thúc
210 phút		Kết thúc

Hình 3.6. Nhóm Chó cỏ thử nghiệm số 1 trước và sau khi uống thuốc nhóm thử và nhóm chứng

* Kết quả ghi nhận thời gian lưu giữ thuốc tại dạ dày và hình ảnh viên (n=8) từ kết quả X – quang: thời gian tồn lưu thuốc ở dạ dày của nhóm thử nghiệm trong khoảng 195 phút đến 270 phút, với thời gian trung bình là $234,38 \pm 32,99$ phút. Nếu có chất tạo cơ chế nổi trong dạ dày thì có khả năng lưu giữ tại dạ dày từ 3,5 - 4,5 giờ. Với nhóm chứng, thời gian tồn lưu thuốc ở dạ dày chỉ trong khoảng 15 – 30 phút, trung bình là $18,75 \pm 6,94$ phút. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

3.4.2. Kết quả đánh giá nồng độ CLA trong huyết tương

3.4.2.1. Định lượng CLA trong huyết tương Chó cỏ bằng phương pháp LCMS IT-TOF

Tiến hành xử lý và phân tích, ghi lại tín hiệu đáp ứng. Từ tỉ số diện tích đỉnh CLA/roxithromycin của mẫu thử, dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính, tính nồng độ CLA trong mẫu thử.

Kết quả tính tương thích hệ thống được trình bày trong Bảng 3.29.

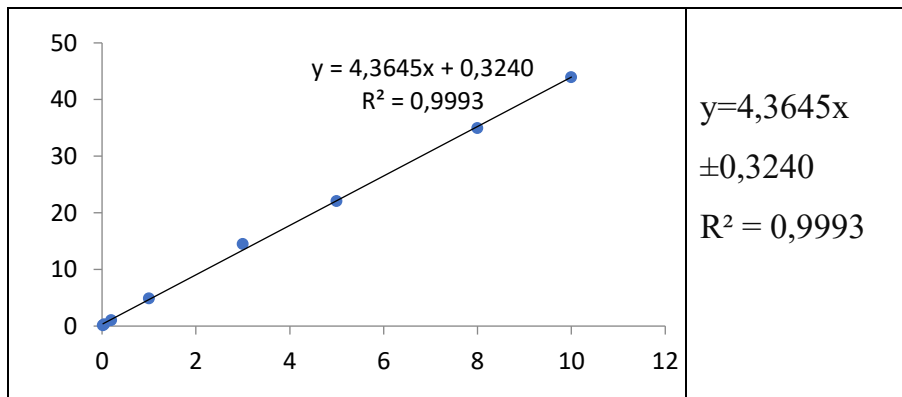
Bảng 3.29. Tính tương thích hệ thống

Mẫu	AS		IS		Tỷ lệ AS/IS	
	t _R	Diện tích	t _R	Area	t _R	Diện tích
1	3.37	16226002	3,87	616841	0,87	26,30
2	3.38	16670812	3,88	600662	0,87	27,75
3	3.37	16002933	3,89	647651	0,87	24,71
4	3.38	17473268	3,88	647300	0,87	26,99
5	3.36	16644349	3,85	639263	0,87	26,04
6	3.36	16319313	3,87	636610	0,87	25,63
Trung Bình	3.37	16556113	3,87	631388	0,87	26,24
RSD (%)	0.27	3.12	0,36	2.97	0,29	4,04

AS: CLA

IS: Roxithromycin

Tính tuyến tính



Hình 3.7. Đồ thị sự tương quan của nồng độ CLA và tỉ số diện tích đỉnh (CLA/roxithromycin) đo được của mẫu chuẩn

3.4.2.2. Kết quả định lượng nồng độ thuốc trong huyết tương

Nồng độ thuốc trong huyết tương được định lượng trực tiếp và dựa trên đường chuẩn để tính toán, kết quả được trình bày Bảng 3.30.

Bảng 3.30. Nồng độ thuốc trong huyết tương nhóm chứng (n=8) và nhóm thử (n=8)

Thời gian (giờ)	Nồng độ (ng/ml)		p
	Nhóm thử (viên nén bao phim CLA 500 mg nổi)	Nhóm chứng (Klacid Forte 500 mg)	
0	-	-	-
0.25	100,00 ± 18,97	99,25 ± 17,77	> 0,05
0.5	150,50 ± 22,99	200,13 ± 30,65	< 0,001
1.0	200,50 ± 31,95	394,13 ± 57,60	< 0,001
1.5	250,50 ± 28,16	657,13 ± 63,00	< 0,001
2.0	351,13 ± 32,04	937,63 ± 65,82	< 0,001
2.5	615,00 ± 65,35	1169,88 ± 109,42	< 0,001
3.0	776,00 ± 63,46	1982,63 ± 266,48	< 0,001
4.0	964,75 ± 73,61	813,25 ± 76,14	< 0,001
6.0	1964,00 ± 104,25	642,88 ± 75,33	< 0,001
8.0	1203,00 ± 191,68	567,00 ± 80,60	< 0,001
12.0	870,75 ± 79,29	450,75 ± 71,60	< 0,001
18.0	702,25 ± 64,08	346,00 ± 60,91	< 0,001
24.0	217,13 ± 12,64	248,00 ± 44,24	> 0,05

Kết quả giá trị AUC₀₋₂₄, C_{max} đối với nhóm thử nghiệm là 19.562,27; 1.964,00 ± 104,25 (±5,3%) và nhóm chứng là 12.434,2; 1.982,63 ± 266,48 (±13,44%), tỉ lệ AUC₀₋₂₄ là 157,33%, chi tiết xem Phụ lục 15 và đồ thị biểu diễn nồng độ thuốc trong huyết tương theo thời gian. Bên cạnh đó, khi so sánh về nồng độ thuốc trong huyết tương ở 2 nhóm thì cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở tất cả các thời điểm với p < 0,001, trừ 2 thời điểm là 0,25 giờ và 24 giờ p > 0,05 là khác biệt không có ý nghĩa. Do đó, phát triển công thức có đặc tính nổi trong dạ dày sẽ giúp viên có khả năng kiểm soát được tốc độ giải phóng hoạt chất chậm hơn so với viên phóng thích tức thời và duy trì được nồng độ hoạt chất cao hơn 40% so với C_{max} cho đến 18 giờ sau khi uống thuốc. Đây là một lợi điểm đặc biệt để giảm được số lần dùng thuốc trong ngày, ngoài ra, việc kiểm soát sự phóng thích chậm của thuốc cũng là một điểm mạnh có thể làm tăng sinh khả dụng khi sử dụng trong phác đồ điều trị diệt trừ vi khuẩn *H. pylori* với nhóm ức chế bơm proton như omeprazol.

CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN

CLA là một kháng sinh được sử dụng trong điều trị viêm xoang, viêm phổi và trong điều trị nhiễm vi khuẩn *H. pylori*, CLA có đặc tính phù hợp ứng dụng bào chế dạng thuốc mới – thuốc nổi trong dạ dày^{23,37}. Sự phát triển các dạng bào chế có thể kéo dài thời gian lưu giữ thuốc tại dạ dày được các nhà khoa học quan tâm trong hơn nửa thế kỷ qua³ bởi có nhiều lợi ích về điều trị và sinh dược học ở các khía cạnh khác nhau^{17,22}, bao gồm cải thiện hoạt động thuốc cục bộ trong dạ dày, giảm biến động nồng độ thuốc trong huyết tương và cải thiện sự tuân thủ của bệnh nhân do tần suất dùng thuốc giảm hoặc cải thiện sinh khả dụng đối với một số loại thuốc có cửa sổ hấp thu trên ruột non². Nghiên cứu này có ý nghĩa đặc biệt trên bệnh nhân nhiễm vi khuẩn *H. pylori*²³ vì CLA là cần thiết trong phác đồ điều trị *H. pylori* và dạng bào chế mới sẽ tối ưu hóa hiệu quả điều trị hơn so với dạng PTTT. Ngoài ra, tốc độ phóng thích thuốc theo thời gian của CLA cũng được xem xét và xây dựng công thức để kéo dài thời gian lưu giữ thuốc trong dạ dày bằng cách kết hợp các polymer thân nước như HPMC K100M, HPMC K15M bên cạnh NaHCO₃ giúp viên sinh CO₂ để viên nổi lên³⁷. Kết quả thực nghiệm đạt được các mục tiêu của luận án xây dựng công thức và quy trình điều chế viên có cấu trúc nổi trong dạ dày chứa CLA 500 mg đạt tiêu chuẩn cơ sở, kết quả được ghi nhận và thảo luận như sau:

4.1. Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng CLA nguyên liệu và thành phẩm

Khi đề cập đến CLA nguyên liệu, quy trình định lượng CLA được mô tả trong ĐĐVN V⁷⁹. Độ hòa tan của CLA có các phép thử khác nhau được hướng dẫn theo USP 40⁸⁰ – đối với viên PTKD và PTTT. Tuy nhiên, với viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày chưa có trong chuyên luận hay Dược điển.

CLA có thể định lượng bằng nhiều phương pháp như HPLC⁶⁸ hay UV-Vis⁸⁸, có hoặc không sử dụng thuốc thử Folin - Ciocalteu. Cực đại hấp thu của CLA thuốc thử Folin – Ciocalteu ở bước 760,5 nm, phương pháp tuân theo định luật Beer trong khoảng tuyến tính 20- 120 µg/ml. Kết quả tỷ lệ phục hồi và có giả dược cho thấy phương pháp này không bị ảnh hưởng bởi sự có mặt của các tá dược. Tuy nhiên, với

phương pháp dùng thuốc thử Folin– Ciocalteu do là chất chỉ thị khá nhạy với ánh sáng, do đó, phương pháp này có độ đặc hiệu không cao và khi xét đến tạp CLA thì phương pháp này có giới hạn phát hiện lớn nên là một thách thức⁹³. Vì vậy, luận án chọn phương pháp định lượng CLA bằng HPLC với cột pha đảo C18 (5 cm x 4,6mm), nhiệt độ duy trì ở khoảng 50 °C, bước sóng phát hiện ở 210 nm và tốc độ dòng 1,0 ml/phút. Kết quả của phương pháp là chính xác, đặc hiệu, độ đúng, và độ lặp lại trong khoảng tuyến tính 2 – 200 µg/ml. Khi đề cập tính chính xác của 2 phương pháp thì kết quả lần lượt có RSD là 0,43% và RSD là 1,63%. Hay khi so sánh với với công trình công bố của tác giả Mahbubul Alam và cộng sự²⁶ – các tác giả đã áp dụng kỹ thuật RP- HPLC cột pha đảo C18 (150 mm x 4,6mm), tốc độ dòng 0,6 ml/phút, kết quả tuyến tính khoảng nồng độ 320- 480 µg/ml ($R^2 = 0,9993$). Ngoài ra, hầu như tất cả các loại hợp chất hữu cơ có thể được phân tách bằng HPLC theo tài liệu của Dennis J.R, Hamilton R.J¹¹² và sự phân tách tốt hơn (độ phân giải cao hơn). Một điểm của luận án là thời gian phân tích ngắn hơn với trung bình là $4,3 \pm 1,2$ phút thay vì là $6,7 \pm 0,8$ phút theo các công trình đã công bố¹¹¹. Do đó, nghiên cứu thực hiện với điều kiện phù hợp: rút ngắn được thời gian phân tích, tiết kiệm dung môi sử dụng như kali dihydrophosphat, acid phosphoric, kali hydroxyd, acetonitril và methanol. Kết quả cho thấy hệ thống phù hợp trong phương pháp phân tích CLA: đạt độ đặc hiệu, độ đúng trong khoảng tuyến tính - kết quả cho thấy có sự tương quan giữa nồng độ và diện tích pic với phương trình hồi quy $y = 2453,4x$ và $R^2 = 1,0$. Thời gian lưu CLA 4,722 phút, Tạp A 6,635 có RSD lần lượt là 0,27% và 0,26%

Khi đề cập đến tạp chất liên quan đến nguyên liệu CLA, theo DĐVN V có hướng dẫn xác định tạp liên quan đối với nguyên liệu CLA. Do đó, luận án đã xác định lượng tạp CLA trong nguyên liệu, kết quả đạt được tính phù hợp hệ thống, độ chính xác và các thành phần tá dược trong công thức không ảnh hưởng đến CLA nguyên chất. Tuy nhiên, chưa có chuyên luận hướng dẫn cần xác định tạp CLA trong thành phẩm, do đó, luận án nhằm đảm bảo nguồn nguyên liệu đạt tiêu chuẩn nên kiểm soát tạp nguyên liệu. Và đối với thành phẩm CLA thì tạp CLA trong chỉ kiểm soát nội bộ trong quy trình sản xuất và trước khi xuất thành phẩm. Kết quả cho thấy phương pháp thử đạt tính phù hợp hệ thống, tính đặc hiệu, giới hạn phát hiện của CLA (1.499 µg/ml) và đạt độ đúng,

độ chính xác ngày thứ 1 và ngày thứ 2 trong khoảng tuyến tính có nồng độ từ 2- 200 µg/ml. Phương pháp đã được thẩm định.

Khi đề cập đến phương pháp định lượng CLA trong thử nghiệm độ hòa tan cho viên nổi trong dạ dày thì chưa có hướng dẫn cụ thể, do đó, luận án xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng CLA trong điều kiện thử độ hòa tan theo USP kiểu thiết bị II (cánh khuấy), nhiệt độ duy trì ở $37 \pm 0,5$ °C, tốc độ khuấy 50 vòng/phút, thời gian lấy mẫu ở 4 thời điểm 2 giờ, 4 giờ, 8 giờ và 12 giờ trong môi trường thử nghiệm 900 ml HCl 0,1 N^{23,61}. Kết quả của phương pháp đạt tính tương thích hệ thống có RSD (0,43 %), tính đặc hiệu có thời gian lưu CLA chuẩn/thử (10,098 phút/10,050 phút), độ đúng (99,42 %) và độ chính xác trong ngày/liên ngày (0,50%/1,14 %), khoảng tuyến tính có phương trình hồi quy $y = 414988,73x - 2756.6$ ($R^2 = 0,9998$). Khi so với công trình được công bố của tác giả Nitija PK và cộng sự V (2021)³⁷ thì quy trình thử nghiệm độ hòa tan là giống nhau, chỉ khác biệt so với luận án về quy trình định lượng bằng quang phổ UV-Vis thay vì HPLC, điều này cho thấy cách tiếp cận của luận án có độ tin cậy và độ chính xác cao. Bên cạnh đó, khi nói về độ hòa tan là nói đến nồng độ hoạt chất được phóng thích theo thời gian – là một trong những cách tiếp cận giúp viên có thể kiểm soát được nồng độ thuốc trong huyết tương, khi đề cập dạng bào chế viên nổi trong dạ dày có nhiều công trình nghiên cứu đánh giá thời gian phóng thích ở nhiều thời điểm khác nhau, một số nghiên cứu xét ở 3 thời điểm là 2 giờ, 4 giờ và 8 giờ, vài công trình xét ở 4 thời điểm là 1 giờ, 2 giờ, 4 giờ, 8 giờ, 12 giờ^{20,23,29,31,49}... Trong nghiên cứu này, TCCS về độ hòa tan viên nổi trong dạ dày dựa trên tài liệu tham khảo USP 40 và các công trình đã công bố do đó, phần trăm thuốc phóng thích thuốc là 2 giờ ($\leq 25\%$), 4 giờ (20 – 40%), 8 giờ (45 – 75%) và 12 giờ ($\geq 80\%$). Một khía cạnh khác của luận án là đã xây dựng quy trình và thẩm định CLA trong thử độ hòa tan cho viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày là mới. Khi xét đến thuốc tham khảo của luận án, Klacid 500 mg MR của nhà cung cấp Abbot – Anh được đánh giá về độ hòa tan bên cạnh động học phóng thích của thuốc. Tuy nhiên, dạng bào chế là khác nhau giữa viên nổi trong dạ dày và viên PTKD, do đó, Klacid 500 mg MR được áp dụng là thuốc tham khảo, không phải thuốc đối chiếu.

Tóm lại, phương pháp định lượng CLA 500 mg đã được xây dựng và thẩm định quy trình là phù hợp về độ đặc hiệu, độ chính xác, độ đúng trong khoảng tuyến tính trong nguyên liệu và thành phẩm với Phương pháp HPLC và điều kiện sắc ký, dung môi phù hợp.

4.2. Xây dựng công thức và quy trình bào chế viên nén CLA 500 mg có đặc tính nổi để kéo dài thời gian lưu giữ trong dạ dày và kiểm soát sự phóng thích thuốc 12 giờ

Xây dựng công thức và quy trình bào chế gồm 04 bước cơ bản bao gồm (1) giai đoạn tiền nghiên cứu - đây là bước quan trọng được khảo sát; (2) Xây dựng công thức và tối ưu hóa thành phần; (3) thẩm định quy trình sản xuất và (4) cuối cùng là hệ thống bao bì đóng gói và độ ổn định thành phẩm.....Thành phẩm của viên đạt TCCS – TCCS được xây dựng cho viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày.

Khi đề cập đến giai đoạn tiền nghiên cứu thì vai trò của các thành phần công thức cho 1 viên nén bao phim CLA 500 mg nổi trong dạ dày được khảo sát với vai trò từng thành phần trong công thức phù hợp như: (1) Povidon K30 được sử dụng chủ yếu trong dạng bào chế rắn, trong viên nén được sử dụng như tá dược dính trong quá trình tạo hạt ướt. Povidon cũng có thể được thêm vào trong quá trình trộn bột ở dạng khô hoặc sau khi tạo hạt bằng các dung môi nước, alcol hoặc các dung môi thân nước khác. Bên cạnh đó, povidon đã được chứng minh làm cải thiện khả năng hòa tan của các dược chất kém tan từ dạng bào chế rắn và cũng có thể sử dụng như là tác nhân bao ⁴²; (2) Magnesi stearate được sử dụng rộng rãi trong mỹ phẩm, thực phẩm và dược phẩm, chủ yếu làm tá dược trơn trong sản xuất viên nén và viên nang ở nồng độ 0,25% - 5% w/w; Opadry® II, yellow (thành phần: polyvinyl alcohol, talc, natri lauryl sulfat, titan dioxid, glyceryl monocarpylocaprat) cũng được sử dụng trong công thức làm tá dược bao bảo vệ chống ẩm với môi trường và tạo tính thẩm mỹ cho viên; (3) NaHCO₃ thường được sử dụng trong các chế phẩm dược phẩm như một nguồn carbon dioxid trong viên nén và thuốc cốm sủi bọt.^{24,33,34} NaHCO₃ cũng được sử dụng rộng rãi để tạo hoặc duy trì độ pH kiềm trong chế phẩm. Ở dạng viên nén và thuốc cốm sủi bọt, NaHCO₃ thường được phối hợp với acid citric và/hoặc acid tartatic ¹¹⁰; hỗn hợp acid citric và acid

tartaric thường được ưu tiên trong các chế phẩm vì chỉ sử dụng riêng acid citric sẽ tạo ra một hỗn hợp dính khó tạo hạt¹¹⁵, trong khi nếu chỉ sử dụng riêng acid tartaric sẽ làm mất độ cứng của thuốc cốm. Khi viên nén hoặc thuốc cốm tiếp xúc với nước, phản ứng hóa học xảy ra, carbon dioxide được phóng thích và sản phẩm tan rã. Tạo hạt nóng chảy trong máy sấy tầng sôi đã được đề xuất như một phương pháp để sản xuất thuốc cốm sủi bọt bao gồm acid citric khan và NaHCO_3 , để sau đó nén thành viên nén. Viên nén cũng có thể được bào chế chỉ với NaHCO_3 vì acid của dịch dạ dày đủ để sinh khí CO_2 và tan rã. NaHCO_3 cũng được sử dụng trong các chế phẩm viên nén để đệm các phân tử thuốc là acid yếu, do đó làm tăng tốc độ hòa tan của thuốc và giảm tính kích ứng dạ dày. Ngoài ra, NaHCO_3 cũng được sử dụng trong các dung dịch làm dung dịch đệm cho erythromycin, lidocain, dung dịch gây tê cục bộ. Trong một số chế phẩm dùng ngoài ruột, ví dụ: niacin, NaHCO_3 được sử dụng để tạo ra muối natri của thành phần hoạt tính có khả năng hòa tan cao hơn. Gần đây, NaHCO_3 đã được sử dụng như một chất tạo khí trong các hệ thống bè alginate^{64,114}. Chế phẩm viên nén chứa NaHCO_3 đã được chứng minh làm tăng hấp thu paracetamol và cải thiện độ ổn định của levothyroxin.¹¹⁴ Về mặt điều trị, NaHCO_3 có thể được sử dụng làm thuốc kháng axit và là nguồn cung cấp anion bicarbonat trong điều trị nhiễm toan chuyển hóa. NaHCO_3 cũng có thể được sử dụng như một thành phần của muối bù nước đường uống và là nguồn cung cấp bicarbonat trong dịch lọc máu. NaHCO_3 được sử dụng trong các sản phẩm thực phẩm dưới dạng chất kiềm hoặc chất tạo men, ví dụ: baking soda.¹¹⁵

Khi xét đến các tá dược trong nghiên cứu thì một khía cạnh của luận án đã đề cập phân tổng quan về các công trình nghiên cứu, hay từ kết quả tiền nghiên cứu và các công bố trên các tạp chí thế giới của các tác giả như: Shishu và cộng sự đã phát triển một hệ thống phân phối thuốc nội (FDDS) của 5-fluorouracil sử dụng các chất tạo khí, như NaHCO_3 , acid citric và hydroclorid, HPMC và carbopol 934P. Kết quả *in vitro* cho thấy chế phẩm được tối ưu hóa duy trì khả năng phóng thích dược chất trong 24 giờ và duy trì trạng thái nội trong 16 giờ. Kết quả thu được cho thấy tỷ lệ khối u đã giảm 75% khi sử dụng FDDS của 5-FU trong khi chỉ giảm 25% khi sử dụng dạng viên nén thông thường của 5-FU.³³

Hay tác giả Havaladar VD và cộng sự đã phát triển viên nén nôi chứa atenolol để kéo dài thời gian lưu giữ trong dạ dày bằng cách sử dụng polymer bán tổng hợp, HPMC K4M, HPMC K100M và polymer tự nhiên, gum xanthan làm chậm quá trình phóng thích. NaHCO_3 được sử dụng làm chất tạo khí và dicanxi photphat được sử dụng làm chất tạo nền. Viên nén nôi được bao phim và atenolol được bào chế bằng phương pháp dập thẳng. Kết quả thu được cho thấy nồng độ NaHCO_3 10% là tối ưu để viên nôi. Kết quả thấy rằng nồng độ NaHCO_3 dưới 10% dẫn đến phản ứng chậm, kéo dài tiềm thời nôi lên đến 1,5 giờ. Các nghiên cứu về độ trương phòng của tất cả các chế phẩm cho thấy các chế phẩm chứa xanthan gum có chỉ số trương phòng cao hơn HPMC K100M và HPMC K4M.^{31,102}

Hay theo tác giả Jaimini M và cộng sự đã bào chế một hệ thống phân phối thuốc lưu giữ trong dạ dày của famotidin. Viên nén nôi của famotidin được bào chế sử dụng 2 loại HPMC K100M và HPMC K15M khác nhau bằng kỹ thuật tạo khí giúp viên sủi bọt; các loại methocel này được đánh giá về đặc tính tạo gel, NaHCO_3 được kết hợp như một chất tạo khí. Viên nén nôi được đánh giá độ đồng nhất về trọng lượng, độ cứng, độ mài mòn, hàm lượng dược chất, nghiên cứu khả năng nôi và độ hòa *in vitro*. Tất cả các lô đã bào chế cho thấy khả năng nôi trong *in vitro* tốt, viên nén phồng lên theo hướng tâm và hướng trục trong các nghiên cứu về độ nôi *in vitro*, kết quả thấy rằng viên nén nôi từ 6-10 giờ. Việc giảm nồng độ acid citric làm tăng tiềm thời nôi tuy nhiên viên nén nôi trong thời gian dài hơn, hỗn hợp NaHCO_3 (130 mg) và acid citric (10 mg) đã được tìm thấy giúp đạt được khả năng nôi *in vitro*. Viên nén chứa HPMC K100M nôi trong thời gian lâu hơn so với chế phẩm chứa HPMC K15M, thuốc phóng thích tuân theo định luật Fickian đã được xác nhận.³⁴

Ngoài ra, theo Patel và cộng sự, kết quả cho thấy quá trình phát triển hệ thống phân phối thuốc trong dạ dày chứa cefuroxim axetil với các thiết kế giai thừa đầy đủ 3² được sử dụng để đánh giá tỷ lệ sử dụng (HPMC) K4M/HPMC K100 LV và natri lauryl sulphate (SLS) đối với quá trình phóng thích dược chất từ chất nền HPMC. Viên nén được bào chế bằng kỹ thuật dập thẳng. Các chế phẩm được đánh giá cho nghiên cứu về độ nôi và khả năng phóng thích dược chất *in vitro* bằng cách sử dụng thiết bị

hòa tan kiểu cánh khuấy (USP 24) với HCl 0,1N làm môi trường hòa tan. Phân tích hồi quy được thực hiện cho các lô thiết kế giai thừa để đánh giá kết quả và tất cả các chế phẩm có tiềm thời nổi dưới 2 phút và liên tục nổi trên môi trường hòa tan trong suốt 8 giờ. Kết quả cũng thấy rằng hỗn hợp polymer và SLS ảnh hưởng đáng kể đến thời gian cần thiết để phóng thích 50% thuốc, phần trăm phóng thích thuốc sau 12 giờ, hằng số tốc độ phóng thích và số mũ khuếch tán có ($p < 0,05$). Ngoài ra, có sự tương quan tuyến tính giữa lượng HPMC K100 LV và số mũ khuếch tán cũng như hằng số tốc độ phóng thích.³²

Tóm lại, từ những kết quả mà các công trình đã công bố cho thấy các thành phần trong công thức viên nén nổi chứa CLA 500 mg của công thức tiền nghiên cứu với các thành phần như HPMC K100M, HPMC K15M, NaHCO₃ là đủ cơ sở cho các bước tiếp theo để xây dựng công thức tối ưu với các chỉ tiêu như tiềm thời nổi của viên được lựa chọn không quá 2 phút³² hay hàm mục tiêu để tối ưu hóa được thời gian lưu trong dạ dày *in vitro* của thuốc là không ít hơn 180 phút. Điểm mới của luận án là xây dựng thời gian lưu dài hơn với tiềm thời nổi bằng nhau nhưng trong điều kiện thử nghiệm của luận án là mô hình thử độ hòa tan thay vì mô hình thường được các tác giả công bố sử dụng là thử khả năng nổi trong ly thủy tinh.

Khi đề cập đến quy trình điều chế viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày với dạng bào chế là viên nén bao phim. Quy trình tạo viên bằng cốm CLA sau đó dập viên bằng phương pháp xát hạt ướt với các thành phần như: Tá dược độn, tá dược độn, rã (Avicel pH 101); tá dược kiểm soát sự phóng thích hoạt chất (HPMC K15M, HPMC K100M); tá dược nổi (NaHCO₃); tá dược dính (povidon K30); tá dược trơn, bóng (magnesi stearat, talc); tá dược bao phim (Opadry® II, yellow) và nước tinh khiết, còn 96%. Thêm vào đó, trong tiền nghiên cứu đánh giá khả năng tương thích của CLA với tá dược được thực hiện và thu được phổ IR của CLA và hỗn hợp CLA với tá dược, kết quả cho thấy tất cả các pic đặc trưng của CLA đều có mặt trong phổ, do đó có sự tương thích giữa dược chất và tá dược, điều đó cho thấy không có thay đổi đáng kể trong tính toàn vẹn hóa học của thuốc.

CLA có thể tạo viên ngoài phương pháp xát hạt ướt còn có dập trực tiếp, thật vậy, trong giai đoạn tiền nghiên cứu luận án cũng đã khảo sát quy trình tạo viên bằng dập thẳng,..Kết quả cho thấy CLA có thể thực hiện được ở cả 2 phương pháp. Quy trình tạo viên bằng phương pháp dập thẳng cũng cho kết quả viên ổn định, kết quả đã được ghi nhận trong công bố giải pháp hữu ích cho quy trình điều chế viên CLA nổi trong dạ dày bởi Cục sở hữu trí tuệ. Tuy nhiên, khi xét đến khía cạnh trong sản xuất, thì quy trình điều chế bằng phương pháp xát hạt ướt có nhiều ưu điểm hơn như tỷ lệ tạo viên ít bị hao hụt hơn, thành phẩm viên cũng khá ổn định và dễ kiểm soát. Ngoài ra, phương pháp dập trực tiếp thì trang thiết bị đơn giản nhưng tỷ lệ hao hụt cao và khả năng kiểm soát phóng thích hoạt chất theo thời gian khó kiểm soát⁹⁴, kết quả này được kết luận từ công bố của nghiên cứu sinh đã công bố trên Tạp chí Y Học Tp. Hồ Chí Minh. Viên CLA được tạo bằng phương pháp xát hạt ướt được lựa chọn bởi ưu điểm của phương pháp dễ đảm bảo độ bền cơ học cho viên, tăng khả năng trơn chảy và khả năng chịu nén của khối bột, dễ phân phối được dược chất đều trong viên giúp viên đạt độ đồng đều khối lượng, đồng đều hàm lượng và tăng khả năng thấm ướt của khối bột.

Tiếp đến khi xét đến TCCS cho viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày – đây là một tiêu chuẩn lần đầu tiên tại Việt Nam và trên thế giới. Luận án có đề cập đến sản phẩm thương mại đang lưu hành trên thị trường Klacid Forte 500 mg (PTTT) và Klacid 500 mg MR (PTKD), tuy nhiên đây là 2 sản phẩm có đặc tính hoặc kiểm soát sự PTHC bằng cách bào chế dạng viên PTKD hoặc sản phẩm được đề nghị sử dụng chuyên biệt trong điều trị *H. pylori* ở dạng bào chế PTTT. Do đó, luận án chỉ chọn 2 dạng bào chế này như tài liệu tham khảo để nghiên cứu về độ hòa tan và so sánh sự khác biệt về nồng độ thuốc hấp thu theo thời gian, AUC_{0-24} giữa viên có đặc tính nổi và viên PTTT. Kết quả tham khảo viên Klacid 500 mg MR với các thông tin như: viên nén bao phim, lớp bao có màu vàng, các tá dược sử dụng là microcrystallin, cellulose, talc, hydromellos, stearic acid, magnesi stearat, propylen glycol, vanillin, titanium. Viên có khối lượng tịnh là 1.000 mg, kích thước đường kính viên 18 mm, bề mặt nhẵn bóng, viên có cấu trúc khung matrix nhằm kiểm soát phần trăm phóng thích theo thời gian, độ hòa tan viên Klacid 500 mg MR đạt theo tiêu chuẩn UPS 40 đã công bố. Ngoài ra,

số liệu độ hòa tan được sử dụng để dự đoán xu hướng phóng thích của thuốc bằng cách sử dụng mô hình toán học, kết quả là viên Klacid 500 mg MR có độ hòa tan tuân theo mô hình động học Higuchi – đây là mô hình được mô tả là sự phóng thích thuốc theo cơ chế chủ yếu là khuếch tán và hòa tan là một phần động học Hixson-Crowell. Luận án cũng khảo sát, so sánh về cơ chế phóng thích thuốc của Klacid 500 mg MR so với công trình nghiên cứu của Ghufran Ullah (2022) là khác nhau, công trình của Ghufran Ullah chỉ tuân theo mô hình động học Hixson-Crowell. Và trong luận án, viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày với công thức tiền nghiên cứu cho kết quả khảo sát mô hình động học có hệ số tương quan phù hợp với mô hình Higuchi ($R^2 = 0,9972$), mô hình này mô tả về sự giải phóng hoạt chất phụ thuộc vào căn bậc hai thời gian và cơ chế tuân theo định luật khuếch tán Fick, bên cạnh sự phù hợp với mô hình Hixson-Crowell ($R^2 = 0,9991$) - thể hiện có sự thay đổi diện tích bề mặt trong quá trình giải phóng hoạt chất. Do đó, công thức viên nổi trong dạ dày CLA 500 mg có thể dự đoán được cơ chế phóng thích của thuốc như viên Klacid 500 mg MR, trong đó, có sự thay đổi diện tích bề mặt của viên và đây được cho là phù hợp với dạng bào chế thuốc nổi trong dạ dày nói chung hay viên CLA 500 mg nói riêng.^{105,108}

Khi đề cập đến khả năng chịu nén khi tạo viên hay các chỉ tiêu về bán thành phẩm trước khi nén thì hỗn hợp bột đã được xác định tính chất trơn chảy. Các kết quả của đánh giá trước khi nén như các hạt của các công thức khác nhau được đánh giá về tỷ trọng riêng khối bột đồng và tỷ trọng riêng hạt lần lượt từ 0,3571 - 0,5000 g/ml và 0,4545 - 0,6250 g/ml. Các giá trị thu được nằm trong phạm vi chấp nhận và không có khác biệt lớn giữa tỷ trọng riêng đồng và tỷ trọng riêng hạt. Kết quả này giúp tính toán phần trăm nén của bột, tỷ lệ phần trăm khả năng nén của bột được xác định bằng chỉ số nén Carr's. Chỉ số Carr's nằm trong khoảng từ 15,37 - 21,43 % ở tất cả các công thức đều có khả năng nén tốt, bên cạnh đó, tất cả các công thức cho thấy góc nghỉ dưới 30° ($24^\circ 30' - 29^\circ 65'$) và tỷ số Hausner là 1,18 đến 1,27 chứng minh khả năng chảy tốt của các hạt.

Một cách tiếp cận khác của luận án là đánh giá phần trăm chỉ số trương phồng theo độ cứng của viên, đây cũng là một yếu tố quan trọng đảm bảo độ nổi và độ hòa

tan của chế phẩm. Các viên nén CLA bao gồm các lớp màng mỏng, polymer tạo ra một lớp gel xung quanh lõi viên nén khi chúng tiếp xúc với môi trường đệm^{58,59,114}. Lớp gel này chi phối quá trình phóng thích dược chất, tỷ lệ trương phồng mô tả lượng nước chứa trong hydrogel ở trạng thái cân bằng và là một chức năng của cấu trúc matrix, tính ưa nước và ion hóa của các nhóm chức. Nghiên cứu về độ trương phồng được thực hiện trong 12 giờ, cách tiếp cận này giống với các tác giả đã công bố^{115,117} trước đó và tại Việt Nam thì đây là cách tiếp cận đầu tiên. Kết quả của nghiên cứu được công bố cho thấy có sự liên quan giữa độ cứng và chỉ số % trương phồng theo thời gian, sự khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê với giá trị $p > 0,05$. Nghiên cứu được cho là có giá trị khi ứng dụng để điều chỉnh phần trăm phóng thích của viên có dạng PTTT và cả viên PTKD. Thật vậy, kết quả cho thấy chỉ số trương phồng bị ảnh hưởng bởi độ nhớt của polymer - ảnh hưởng đến tính toàn vẹn của chất nền cũng như khả năng nổi. Độ trương phồng tăng theo thời gian vì polymer hấp thụ nước do tính ưa nước, lớp ngoài cùng của polymer bị hydrat hóa, trương phồng và một hàng rào gel được hình thành ở bề mặt bên ngoài, viên bắt đầu hòa tan và/hoặc phân tán, quá trình hydrat hóa, trương phồng và phóng thích được lặp lại trên các bề mặt tiếp xúc mới, do đó duy trì tính toàn vẹn của dạng bào chế. Trong nghiên cứu này, chỉ số trương phồng cao hơn được tìm thấy đối với công thức có nồng độ polymer cao. Do đó, độ nhớt của polymer có ảnh hưởng lớn đến quá trình trương phồng, tính toàn vẹn của chất nền cũng như khả năng nổi. Do đó, từ các kết quả trên có thể kết luận rằng tồn tại mối quan hệ tuyến tính giữa quá trình trương phồng và thời gian, viên nén phồng lên hướng tâm vào hướng trục trong thử nghiệm độ hòa tan.

Khi đề cập đến các Phương pháp để kéo dài thời gian lưu giữ thuốc trong dạ dày nói chung có nhiều cách tiếp cận khác nhau, nhưng với viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày thì công trình công bố của các tác giả có quy trình tạo viên có cơ chế nổi bằng cách tạo CO₂ - khi thuốc tiếp xúc với dung dịch HCl 0,1 N ở nhiệt độ $37 \pm 0,5$ °C, các viên nén sủi bọt nổi lên trong môi trường dạ dày và duy trì trạng thái nổi trong ít nhất 8 giờ mà không bị rã, viên nguyên vẹn. Thử nghiệm quan sát thấy rằng khí CO₂ sinh ra được giữ lại trong viên nén và được bảo vệ trong lớp gel được hình thành do

quá trình hydrat hóa các polymer, do đó, làm giảm tỷ trọng của viên nén xuống dưới 1 và viên sẽ nổi lên. Về quy trình đánh giá thời gian nổi *in vitro* nói chung và viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày nói riêng chưa có hướng dẫn cụ thể, trong luận án đã thiết kế có so sánh 2 mô hình thử nghiệm khả năng nổi của viên CLA 500 mg là (1) viên được cho vào cốc trong máy độ hòa tan (có thiết bị cánh khuấy 50 vòng/phút, 900 ml HCl 0,1N) và mô hình (2) viên cho vào ly thủy tinh chứa 200 ml HCl 0,1N. Kết quả nghiên cứu đánh giá khả năng nổi *in vitro* cho thấy tiềm thời nổi là không khác nhau có ý nghĩa ở các thời điểm đầu, nhưng tổng thời gian nổi là khác nhau lần lượt trung bình $9 \pm 0,3$ giờ và $12 \pm 0,2$ giờ, kết quả cho thấy khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê. Do đó, luận án đề xuất khi thử nghiệm khả năng nổi *in vitro* nên thực hiện theo mô hình như trong thử nghiệm độ hòa tan cho kết quả khả thi hơn. Ngoài ra, khi so với các công trình được công bố trên thế giới, nghiên cứu của Sanjay S Patel thử theo mô hình viên cho vào ly thủy tinh với 250 ml HCl 0,1N, kết quả tổng thời gian nổi trung bình 8 giờ, điều này cho thấy công thức viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày của nghiên cứu có thời gian nổi trung bình dài hơn so với các công trình đã công bố³⁵. Tuy nhiên, có một khía cạnh khác khi so sánh khả năng nổi giữa mô hình *in vitro* và *in vivo* thì kết quả lại có sự khác biệt đáng kể, kết quả sẽ được đề cập trong các phần tiếp theo.

Ngoài ra, khi đề cập đến hàm lượng hoạt chất CLA 500 mg - đây là hàm lượng phổ biến và có hiệu quả đặc biệt trong phác đồ điều trị *H.pylori* nhưng khi áp dụng trong nghiên cứu công thức viên nổi trong dạ dày sẽ có nhược điểm: khi tải viên có hàm lượng lớn thường sẽ cần lượng tá dược đủ để kiểm soát khả năng phóng thích của thuốc và khả năng nổi của viên. Các thành phẩm trên thị trường và cả trong các công trình thường có khối lượng tịnh viên 1.000 mg (Klacid 500 mg MR, Klacid Forte 500 mg, Klacid Forte 500 mg). Do đó, luận án đã thành công khi xây dựng công thức CLA 500 mg viên nổi trong dạ dày với thành phần các tá dược vừa đủ cho viên nén là 850 mg và $\pm 3\%$ sau khi bao phim - kết quả của nghiên cứu sẽ giúp người bệnh dễ uống hơn (ví dụ như ứng dụng CLA trong điều trị diệt khuẩn *H. pylori* trong dạ dày, bệnh nhân dùng liều 500 mg/lần x 2 lần uống trong ngày, đây cũng là 1 trong

những nguyên nhân bệnh nhân không tuân thủ việc điều trị. Công thức được phát triển nhằm tối ưu hóa lượng tá dược mà vẫn đạt được thời gian lưu giữ thuốc trong dạ dày và kiểm soát được sự phóng thích hoạt chất trong suốt 12 giờ bằng cách dùng phần mềm Design -Expert và BCPharsolf OTP, kết quả thành phẩm công thức tối ưu đạt TCCS xây dựng. Một điểm khác được bàn luận là hàm lượng CLA 500 mg - chiếm 58,8% trên khối lượng viên nhân 850 mg. Với khối lượng 850 mg cho viên có hàm lượng lớn 500 mg là một thách thức vì trong các nghiên cứu công bố về thuốc nổi trong dạ dày thường nghiên cứu trước đây với hàm lượng nhỏ không quá 80 mg, hay đối với CLA thường 250 mg và một ít công trình gần đây CLA 500 mg.

Một khía cạnh khác của luận án cần bàn luận là tỷ lệ thành phần tá dược trong công thức nhằm kéo dài thời gian lưu thuốc trong dạ dày không ít hơn 8 giờ mà vừa kiểm soát được sự phóng thích hoạt chất trong suốt 12 giờ. Kết quả của nghiên cứu cho công thức tối ưu với thành phần HPMC K100M, HPMC K15M và NaHCO_3 ở các tỷ lệ lần lượt là 12,9%; 7,3% và 8,6%. Kết quả thực nghiệm của 3 lô tối ưu có tính lặp lại và khác nhau không có ý nghĩa về mặt thống kê. Cụ thể, tổng thời gian nổi trung bình $9 \pm 0,3$ giờ và phần trăm phóng thích thuốc trong 12 giờ lần lượt là $17,45\% \pm 2,15\%$ (sau 2 giờ phải $\leq 25\%$), $32,95\% \pm 2,07\%$ (sau 4 giờ phải trong khoảng 20-40%), $67,32\% \pm 0,97\%$ (sau 8 giờ phải trong khoảng 45-75%) và $86,28\% \pm 2,91\%$ (sau 12 giờ $\geq 80\%$). Cơ chế làm thuốc nổi trong dạ dày bằng các kỹ thuật khác nhau, trong đó, giảm tỷ trọng viên sau khi viên tiếp xúc với môi trường thường được ứng dụng, tuy nhiên, với cơ chế này thì các công trình nghiên cứu lại thường áp dụng với các nhóm hoạt chất có hàm lượng thấp không quá 250 mg. Theo 4 tài liệu sáng chế đã công bố đều đề cập tới chế phẩm thuốc có khả năng nổi trong dạ dày và kéo dài thời gian phóng thích hoạt chất dùng CO_2 là một chất sinh khí làm chế phẩm nổi lên phía trên trong dạ dày. Tuy nhiên, tất cả các chế phẩm này trong bản mô tả trong danh sách các hoạt chất được liệt kê không có CLA. Do đó, nghiên cứu đã thành công khi ứng dụng nhóm tá dược này để giúp viên kiểm soát được thời gian lưu giữ thuốc trong dạ dày trong thử nghiệm *in vitro*.

Một điểm cần bàn luận của luận án là như theo công bố đơn sáng chế số JP2015-0020971 đề cập đến thành phẩm phẩm chứa CLA có thể nổi trong dạ dày và kéo dài thời gian phóng thích hoạt chất trong dạ dày. Tuy nhiên, cơ chế làm nổi trong dạ dày không sử dụng chất tạo bọt hay bất kỳ chất phụ gia nào khác, mà chỉ sử dụng tinh thể CLA và một chất mang dược dụng nhằm dịch chuyển tinh thể CLA loại 0 hoặc loại I thành tinh thể loại IV là CLA monohydrat. Cơ chế làm giảm trọng lực của thuốc nhẹ hơn do đó duy trì được việc chế phẩm nổi trong thời gian dài bằng cách chú trọng tới áp suất khi tạo hình chế phẩm để cải thiện các lỗ rỗng trong chế phẩm để tăng việc giữ khí bên trong. Do đó, với kỹ thuật này rất khó trong quá trình sản xuất trong thực tế vì cần tạo 1 lực nén tạo hình nhằm tạo các lỗ rỗng trong chế phẩm để có thể giữ khí bên trong. Do đó, luận án đã thành công khi ứng dụng quy trình điều chế là phương pháp xát hạt ướt, trong đó, sử dụng chất tạo cơ chế nổi cho viên là NaHCO_3 . Thêm một khía cạnh của nghiên cứu được đề cập bên cạnh tá dược tạo cơ chế nổi cho viên, thì kiểm soát sự PTHC lại là 1 vấn đề, do đó, thành phần công thức để kiểm soát sự phóng thích được quan tâm, đầu tiên tham khảo viên Klacid 500 mg MR (Abbott) về độ hòa tan ở các thời điểm, từ đó, dự đoán về mô hình phóng thích của viên CLA, theo kết quả thì Klacid 500 mg MR theo mô hình động học Higuchi và Hixon. Do đó, xây dựng thành phần công thức để đạt mô hình phóng thích hoạt chất tương tự Klacid 500 mg MR, khung xốp thân nước được lựa chọn nhằm phóng thích thuốc theo cơ chế tương tự với thuốc tham khảo bên cạnh khung xốp thân nước với ưu điểm nổi bật như tá dược sử dụng giá thành hợp lý. Từ đó, luận án đã xây dựng thành phần công thức để kiểm soát được sự phóng thích trong suốt 12 giờ. Kết quả của nghiên cứu là trong thành phần nên có chứa ít nhất hai polymer là HPMC K15M, HPMC K100M, và luận án cũng đưa ra luận điểm bởi tiền nghiên cứu trước đây cho kết quả có thể sử dụng nhóm khác như HPMC K4M. HPMC là một este cellulose không ion được sản xuất từ cellulose tự nhiên, là tá dược ảnh hưởng đến khả năng giải phóng và hấp thu dược chất trong cơ thể. Theo luận điểm từ kết quả nghiên cứu, tổng tỉ lệ HPMC sử dụng có thể chiếm từ 5% đến 25% trên khối lượng viên. Ngoài ra, tá dược NaHCO_3 được đưa vào công thức làm tá dược

tạo viên sinh ra khí CO₂ duy nhất với lượng nằm trong khoảng 5% đến 10% trên khối lượng viên, và khi được sử dụng chung với tá dược khác ví dụ như axit citric thì trong khoảng 3% đến 6% trên khối lượng viên theo tiền nghiên cứu của tác giả. Đây được coi là tỷ lệ thích hợp bởi khi NaHCO₃ được sử dụng làm tá dược tạo CO₂ duy nhất vì nếu hàm lượng thấp hơn 5% thì chế phẩm sẽ không đạt được tiềm thời nổi, hàm lượng cao hơn 10% sẽ ảnh hưởng đến hàm lượng hoạt chất được phóng thích trong dạ dày. Trong thiết kế công thức thuốc nổi trong dạ dày^{89,103}, hoạt chất được phân tán đồng nhất trong polymer có khả năng trương nở, phối hợp thêm tá dược tạo CO₂ cho viên như NaHCO₃ sẽ tạo khả năng nổi cho viên trong môi trường dạ dày. Khi tá dược tiếp xúc với acid dịch vị sẽ sinh ra khí CO₂, khí CO₂ tạo ra bị giữ lại trong khung gel trương nở làm giảm tỉ trọng của thuốc xuống nhỏ hơn tỉ trọng của dịch dạ dày làm chế phẩm thuốc nổi lên trên không bị dịch dạ dày tác động. Và luận án cũng cho thấy có sự phóng thích hoạt chất CLA tuân theo động học Higuchi và Hixon, kết quả cho thấy, quá trình khuếch tán giữ vai trò chủ đạo trong sự phóng thích hoạt chất và với viên nén dạng khung xốp, cơ chế phóng thích hoạt chất thường dựa trên quá trình khuếch tán hoặc quá trình bào mòn¹¹⁴ hoặc sự phối hợp cả hai quá trình. Đối với hoạt chất tan tốt trong nước, quá trình khuếch tán chiếm ưu thế nhưng đối với hoạt chất kém tan, quá trình bào mòn là chủ yếu^{114,116}. CLA tan kém hoặc không tan trong nước nên cơ chế phóng thích chủ đạo sẽ là khuếch tán. Cuối cùng, luận án cũng góp phần khẳng định kết quả với giá trị của đề tài chính là tác giả đã đăng ký được “bằng độc quyền giải pháp hữu ích” theo quyết định số 45332/QĐ-SHTT, ngày 29/04/2020 của Cục Sở Hữu Trí Tuệ.

Trong quy trình điều chế, việc chọn lựa tá dược khác như talc, magnesi stearat bởi các tính chất nổi bật như độ trơn chảy tốt, dạng bột định hình, mịn, tỷ trọng nhẹ và diện tích bề mặt tiếp xúc khá lớn 172 m²/g. Ngoài ra, các tính chất như an toàn, trơ được dùng phổ biến trong công nghệ sản xuất dược phẩm, mỹ phẩm và cả thực phẩm với vai trò là tá dược trơn, bóng, thậm chí nhằm mục đích hút ẩm,... và tỷ lệ sử dụng nhỏ so với khối lượng viên (< 10%). Viên được tạo ra bằng cách phối hợp CLA, avicel pH 101 (có kích thước tiểu phân 50 µm, tỷ trọng 0,26 – 0,3 g/ml), đây là cellulose vi

tinh thể tồn tại dạng tinh thể màu trắng, không mùi, không vị, có chứa nhiều lỗ xốp và có tính hút ẩm. Avicel được sử dụng rộng rãi trong dược phẩm và thực phẩm, tương đối không độc hại và không gây nguy hiểm cho người sử dụng do cellulose vi tinh thể không được hấp thu khi uống. Sau đó, phối hợp và trộn đều, tạo hạt với các tá dược dính PVP K30, xát hạt, sửa hạt và trộn hoàn tất với các thành phần như HPMC và các thành phần còn lại vào. Bên cạnh đó, để đạt được sự phân tán đồng nhất giữa CLA và tá dược trong thành phẩm, do đó, trong quy trình có đánh giá thời gian tốt nhất để hỗn hợp đồng nhất ở các giai đoạn bào chế. Ngoài ra, độ ẩm cũng là yếu tố được quan tâm phải không vượt quá 1% ở mức giới hạn an toàn. Như vậy, với quy trình điều chế dùng các kỹ thuật thường quy như trộn, sấy, rây,.. với 1 hàm lượng lớn dược đưa vào thì đây là một thành công, vì với quy trình này dễ dàng nâng cấp lên quy mô sản xuất. Hơn nữa, CLA có thể ở dạng nguyên liệu khác nhau như bột hay tinh thể, thì việc chọn một phương pháp bào chế phù hợp là cần thiết và trong trường hợp, nếu CLA dạng tinh thể, theo các tiền nghiên cứu của luận án thì đưa ra đề xuất bào chế bằng phương pháp xát hạt ướt, vì nếu sử dụng phương pháp dập trực tiếp thì viên rất khó kiểm soát ở thời gian đầu và nguyên liệu bị hao hụt cao.

Về bao phim với mục đích hạn chế tính đắng của CLA bên cạnh vì trong thành phần công thức chứa một lượng khá lớn các polymer, mà các polymer rất dễ hút ẩm ở môi trường khí hậu nhiệt đới như Việt Nam. Do đó, việc lựa chọn tá dược phù hợp để bao phim cho CLA nhằm mục đích bao bảo vệ và che đắng cho viên nhân cũng là một việc khá quan trọng, cũng như làm sao lớp bao không ảnh hưởng đến tính chất của viên. Luận án đã chọn Opadry® II, yellow, màu vàng với đặc tính cung cấp thời gian xử lý ngắn và lớp màng vượt trội, tá dược là một hỗn hợp đã hoàn chỉnh bao gồm HPMC 2910, triacetin, titanium dioxide và iron oxide. Opadry® II, yellow tan trong nước, có chứa polymer, chất hóa dẻo và bột màu cho phép phân hủy ngay lập tức để giải phóng nhanh chóng. Kết quả đánh giá sự ảnh hưởng của lớp bao trước và sau khi bao khác nhau không có ý nghĩa về mặt thống kê. Trên cơ sở kết quả nghiên cứu, tỷ lệ Opadry® II yellow để bao phim chống ẩm và khối lượng viên tăng sau khi bao là 3% so với khối lượng viên nhân.

Tóm lại, đề tài đã thành công khi xây dựng công thức và tối ưu hóa công thức với thành phần cho 1 đơn vị nhỏ nhất viên nén bao phim như sau:

STT	Thành phần	Công thức cho 1 viên (mg)	Vai trò	Tiêu chuẩn
1	CLA	500	Hoạt chất	PB 2016/TC NSX
2	HPMC K100M	109,6	Tá dược kiểm soát sự phóng thích	PB 2016
3	HPMC K15M	62,1	Tá dược kiểm soát sự phóng thích	PB 2016
4	NaHCO ₃	73,5	Tá dược giúp viên nổi	DĐVN V
5	PVP K30	15	Tá dược dính	DĐVN V
6	Talc	30	Tá dược trơn, bóng	DĐVN V
7	Magnesi stearat	27	Tá dược trơn, bóng	DĐVN V
8	Avicel pH 101	32,8	Tá dược độn, rã	DĐVN V
9	Opadry® II, yellow	26,8 ml	Tá dược bao Phim	PB 2016/TC NSX
10	Cồn 96%*	40,2 ml	Dung môi bao phim	DĐVN V
11	RO *	200,8 ml	Dung môi bao phim, xát hạt	DĐVN V
Khối lượng viên nén bao phim (mg)		876,8		

Dạng bào chế: viên nén bao phim

Về quy trình thử độ hòa tan thì độ phóng thích được xây dựng trên ít nhất 3 thời điểm, mỗi thời điểm là một khoảng giới hạn phần trăm hoạt chất phóng thích so với hàm lượng ghi trên nhãn. Ở các thời điểm đầu thường là 1 giờ, 2 giờ, 4 giờ và thời điểm cuối thường là 8 giờ, 12 giờ hoặc 24 giờ tùy đặc tính của hoạt chất và phần trăm hoạt chất phóng thích thường ở mức tối thiểu là 75% hoặc 80% nhằm đảm bảo hàm lượng hoạt chất đủ để có hiệu quả trong trị liệu. Hay trong khuyến cáo của FDA (2018) cũng đưa ra hướng dẫn là chưa có quy định cụ thể nào cho các thời điểm, chỉ đưa ra luận điểm nên lấy ở 1 hay 2 giờ đầu và sau đó cứ mỗi 2 giờ là có thể lấy và điểm cuối nên là có ít nhất 80% hàm lượng viên được phóng thích. Tuy nhiên, với viên nổi trong dạ dày thì chưa có chuyên luận riêng, chỉ có chuyên luận cho PTKD. Do đó, cụ thể với viên nổi trong dạ dày và PTKD sẽ tham khảo thời gian phóng thích của viên CLA 500 mg MR và thời điểm lấy mẫu sẽ là 2 giờ, 4 giờ, 8 giờ và 12 giờ, tương ứng với khoảng

phóng thích lần lượt là không quá 25%, từ 20 – 40%; 45 – 75% và không ít hơn 80% so với hàm lượng ghi trên nhãn.

Tóm lại, đóng góp cho thành công của nghiên cứu là cho đến hiện nay, đối với viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày thì Việt Nam vẫn chưa sản xuất và thành công của luận án là viên có thể kiểm soát được sự phóng thích hoạt chất trong 12 giờ không ít hơn 80% hoạt chất được phóng thích và kiểm soát được thời gian nổi trong dạ dày. Mặt khác, Klacid Forte 500 mg được giới thiệu là sản phẩm dùng trong điều trị chuyên biệt diệt trừ *H.pylori*, được mô tả ở dạng bào chế viên nén bao phim. Theo tài liệu công bố cho viên Klacid Forte 500 mg có chứng minh trong khoảng thời gian 30 phút viên sẽ phóng thích hoạt chất từ 80% trở lên nhằm giúp viên tăng được nồng độ trị liệu tại nơi hấp thu. Tuy nhiên, đối với viên PTTT thì thời gian lưu giữ thuốc tại dạ dày chỉ ở một thời gian ngắn là 30 phút. Cụ thể, luận án đã thiết kế mô hình thử nghiệm *in vivo* trên Chó cỏ sau khi dùng viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày và viên không có đặc tính nổi trong dạ dày (công thức viên giống như viên nổi trong dạ dày, chỉ khác về thành phần NaHCO_3 không được cho vào công thức). Kết quả cho thấy viên không có đặc tính nổi có thời gian lưu giữ trong dạ dày rất ngắn, cao nhất là 30 phút.

Điểm tiếp theo của nghiên cứu là việc xây dựng TCCS viên nén nổi trong dạ dày chứa CLA 500 mg, đây là TCCS đề xuất bởi hiện tại chưa có viên nổi trong dạ dày, các chỉ tiêu cho viên nổi trong dạ dày bao gồm: hình thức cảm quan, độ đồng đều hàm lượng, định tính, thời gian nổi, độ hòa tan và định lượng. Về thời gian nổi là không ít hơn 4 giờ, khi đề cập đến khả năng nổi trong tiêu chuẩn cơ sở là 4 giờ, không phải là 8 giờ như trong thử nghiệm *in vitro*. Khi đề cập đến điểm này, luận án cho rằng đây là một phát hiện mới về sự không tương đồng về thời gian nổi của viên giữa kết quả nghiên cứu *in vivo* (4 giờ 30 phút) và *in vitro* \geq (8 giờ), có thể kết luận rằng đây là một tiêu chuẩn mới được xây dựng cho viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày tại Việt Nam và trên thế giới cho đến thời điểm này. Luận án cũng bàn luận về sự không tương đồng này, kết quả của luận án cho rằng có những yếu tố đã ảnh hưởng đến thời gian tồn lưu của thuốc trong dạ dày như: Nhu động đường tiêu hóa và thời gian vận chuyển vì rào

cản lớn nhất đối với các hệ thống lưu tại dạ dày là sóng nhu động³⁹. Đây là những sóng co thắt mạnh lan truyền qua phần xa của dạ dày để đảm bảo rằng ngay cả những vật thể lớn, khó tiêu vẫn còn trong dạ dày sẽ bị cuốn đi sau khi tiêu hóa. Tuy nhiên, những chuyển động nhu động mạnh mẽ của thành dạ dày được giới hạn trong giai đoạn III của phức hợp vận động di chuyển liên tiêu hóa, một chu kỳ sẽ lặp lại sau mỗi 90-120 phút khi đói²⁹. Vì các cơn co thắt này có thể làm trống những vật thể rất lớn, thời gian vận chuyển dạ dày sau khi uống thuốc lúc đói thường không quá 1-2 giờ. Do đó, mô hình đánh giá thời gian nôi *in vitro* mặc dù đã sử dụng tốc độ quay của cánh khuấy được mô phỏng như sóng nhu động nhưng kết quả cho thấy vẫn có sự khác biệt có ý nghĩa. Hay các yếu tố có thể ảnh hưởng đến quá trình làm rỗng dạ dày như độ pH của dạ dày ở trạng thái đói là 1,5 - 2,0 và ở trạng thái no là 2,0 - 6,0. Dạ dày không có thời gian để sản xuất đủ acid khi chất lỏng làm trống dạ dày; do đó thông thường các loại thuốc cơ bản hòa tan tốt hơn ở trạng thái no hơn là ở trạng thái đói. Ở trạng thái đói (tức là sau thời gian đói ít nhất 8 giờ), dạ dày được coi là "trống rỗng". Trên thực tế, dạ dày lúc đó thường chứa khoảng 10–50 ml hàm lượng acid (pH 1–2). Việc sử dụng một dạng bào chế cùng với 240 mL nước dẫn đến tăng thể tích, nhưng cũng làm tăng pH ban đầu lên đến các giá trị lên đến pH 4,6. Sau đó, pH giảm nhanh chóng và chất lỏng được làm trống khỏi dạ dày tương đối nhanh trong vòng khoảng 30 phút. Ngoài ra, tốc độ làm rỗng dạ dày chủ yếu phụ thuộc vào độ nhớt, thể tích và hàm lượng calo của bữa ăn. Tuy nhiên, gia tăng nồng độ acid và giá trị calo sẽ làm chậm thời gian làm rỗng dạ dày. Thể tích nghỉ ngơi của dạ dày là 25 đến 50 ml. Thể tích chất lỏng đưa vào ảnh hưởng đến thời gian làm rỗng dạ dày, khi thể tích lớn, thời gian làm rỗng nhanh hơn. Chất lỏng được uống ở nhiệt độ cơ thể sẽ rời khỏi dạ dày nhanh hơn chất lỏng lạnh hơn hoặc ấm hơn. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng quá trình làm rỗng dạ dày của một dạng bào chế ở trạng thái no cũng có thể bị ảnh hưởng bởi kích thước của nó. Những viên nén kích thước nhỏ rời khỏi dạ dày trong giai đoạn tiêu hóa trong khi những viên nén kích thước lớn được làm trống trong các đợt vệ sinh.

Khi đề cập đến chế độ ăn uống như ăn một bữa ăn giàu calo cũng làm tăng lượng chất trong dạ dày và tăng giá trị pH, nhưng, trong trường hợp này, động học của thể

tích tiếp theo và thay đổi pH rõ ràng khác với điều kiện trạng thái đói. So với việc uống một ly nước, có thể mất đến vài giờ cho đến khi thể tích và độ pH trở lại các giá trị quan sát được trước bữa ăn. Động học chủ yếu phụ thuộc vào giá trị calo và thành phần của bữa ăn. Nó đã được chứng minh trong các nghiên cứu khác nhau rằng tốc độ làm rỗng các thành phần giàu calo được mở rộng đáng kể và thường là 2-4 kcal / phút. Do đó, lượng thức ăn ăn vào, bản chất của thức ăn, hàm lượng calo và tần suất ăn có ảnh hưởng rất lớn đến thời gian giữ lại các dạng bào chế trong dạ dày. Hay như có thể sẽ bị ảnh hưởng của giới tính, tư thế và tuổi tác: thông thường, nữ giới có tốc độ làm rỗng dạ dày chậm hơn nam giới. Đối với người cao tuổi, quá trình làm rỗng dạ dày bị chậm lại. Căng thẳng làm tăng tốc độ làm rỗng dạ dày trong khi trầm cảm ngược lại, làm chậm tốc độ làm rỗng dạ dày. Tư thế không có bất kỳ ảnh hưởng khác biệt đáng kể nào đến thời gian lưu lại trong dạ dày trung bình (GRT) đối với những người ở tư thế thẳng đứng, đi lại được và nằm ngửa.¹⁹

Tóm lại, đối với chỉ tiêu về thời gian nổi của viên, luận án xét thấy không chỉ dựa vào thử nghiệm *in vitro* mà cần phải phối hợp với kết quả đánh giá *in vivo* trên cơ thể sống để xây dựng tiêu chuẩn, bởi đã có sự khác biệt trong sinh lý cơ thể và trong mô phỏng. Điều này cũng cho thấy rằng, kết quả của nghiên cứu có giá trị về mặt thực tiễn và xây dựng được mô hình đánh giá tối ưu nhất trong điều kiện hiện tại.

4.3. Nâng cấp cơ sở lô và theo dõi độ ổn định thành phẩm

Quy trình phát triển công thức từ quy mô phòng thí nghiệm lên quy mô sản xuất cần được thẩm định và lập hồ sơ tài liệu những thay đổi dự nếu có. Cần có đủ dữ liệu làm bằng chứng cho thấy quy trình sửa đổi vẫn đảm bảo sản phẩm đạt chất lượng như mong muốn và theo đúng tiêu chuẩn đã được đề xuất. Các thay đổi nhỏ trong các quy trình thao tác chuẩn, môi trường, trang thiết bị nhà sản xuất sẽ tự quản lý. Những dạng thay đổi khác có ảnh hưởng rõ rệt tới chất lượng thành phẩm cần có sự điều chỉnh trước khi thay đổi. Những thay đổi này bao gồm quy trình (ví dụ thời gian trộn, nhiệt độ sấy,...), thay đổi về trang thiết bị liên quan đến thiết kế và thông số hoạt động khác nhau. Khi nâng cấp cơ sở ở quy mô 30.000 viên, nghiên cứu đã sử dụng các trang thiết bị phù hợp như máy trộn cao tốc để trộn khô và và trộn ướt hỗn hợp bột CLA; máy

trộn lập phương để trộn khô và trộn hoàn tất cốm CLA; máy sấy tầng sôi để sấy cốm CLA giúp rút ngắn thời gian nghiên cứu đồng thời giúp hỗn hợp đạt độ đồng nhất cao. Ở giai đoạn sấy khô quy mô 30.000 viên/lô, để đảm bảo an toàn trong sản xuất cần có giai đoạn thổi gió mát khoảng 15 phút để làm bay hơi còn, sau đó tiến hành sấy để đạt độ ẩm quy định. Thời gian sấy là 45 phút. Nếu so với dùng tủ sấy- thời gian tối thiểu 8 giờ thì quy mô sản xuất rút ngắn được thời gian sấy rất nhiều. Tóm lại, quy trình sản xuất các giai đoạn trộn khô tổng cộng 37 phút, sấy cốm 45 phút, thời gian chuẩn bị dịch bao phim 50 phút.

Những lô được dùng trong giai đoạn tối ưu hóa thì cỡ lô thử nghiệm tối thiểu phải bằng 10% lô ở quy mô sản xuất công nghiệp như trong luận án quy trình thử nghiệm từ 3.000 viên/lô lên thành 30.000 viên/lô cho 3 lô liên tiếp. Một lô được chất hoặc thành phẩm thuốc được sản xuất ở quy mô sản xuất bằng cách sử dụng các trang thiết bị sản xuất tại cơ sở sản xuất.

Các biến số được kiểm soát và các chỉ tiêu đặc trưng trong sản xuất những dạng bào chế thông thường đối với dạng viên nén bao phim như: Kích thước tiểu phân dược chất, tỉ trọng thô của dược chất / tá dược; khối lượng và nồng độ tá dược dính; tốc độ trộn và thời gian trộn; độ ẩm của hạt; thời gian trộn tá dược trơn; lực dập viên và tốc độ phun của dịch bao. Ngoài ra, các chỉ tiêu đặc trưng cũng được đánh giá như: Tính chất trơn chảy của khối bột, độ mài mòn, độ cứng của viên; độ đồng đều hàm lượng; hàm lượng ẩm; định lượng; độ hòa tan và hình thức cảm quan của viên. Như trong kết quả thực hiện nâng cấp cỡ lô ở quy mô 30.000 viên, luận án sử dụng các máy móc chuyên dụng như máy trộn cao tốc để trộn khô và trộn ướt hỗn hợp và đánh giá sự thay đổi các thông số trong quy trình. Bằng cách tiến hành khảo sát thời gian trộn bột cho kết quả ở phút thứ 10 độ phân tán của CLA trong khối bột đạt yêu cầu < 2%. Ở giai đoạn dập viên việc kiểm soát quy trình được thực hiện định kỳ 10 phút 1 lần trong suốt quá trình dập lượng trung bình của viên được kiểm soát, ngoài ra, được kiểm tra độ đồng đều khối lượng ở đầu, giữa và cuối lô đạt yêu cầu cho thấy khối lượng viên trung bình 850 mg/viên được kiểm soát tốt. Vì là hoạt chất CLA có tính chất rất đắng, cùng với viên dễ bị oxy hóa trong quá trình bảo quản do đó, quy trình bao phim để

mục đích bao bảo vệ và tạo giá trị thẩm mỹ cho viên được đề xuất và áp dụng cho thấy chế phẩm bao đạt yêu cầu về hình thức cảm quan, thời gian nổi và độ hòa tan thay đổi không đáng kể so với viên nhân cho thấy sự phù hợp của quy trình.

Như vậy, quy trình sản xuất quy mô 30.000 viên/lô thì trong quá trình phát triển từ quy mô phòng thí nghiệm lên quy mô sản xuất, nghiên cứu có áp dụng kết hợp thực nghiệm và đánh giá các thông số và quy trình sản xuất. Quy trình đã sử dụng các máy móc có công suất cao sẽ ứng dụng thực tế trong quy trình sản xuất mà vẫn đạt các yêu cầu kiểm tra bán thành phẩm và thành phẩm cho viên nổi và PTKD.

Khi đề cập đến độ ổn định của viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày khi nâng cấp từ quy mô phòng thí nghiệm lên quy mô sản xuất, 3 lô được đánh giá và thành phẩm viên được đóng trong hộp 2 vỉ x 10 viên, có nhãn mác đúng quy chế theo điều kiện bảo quản, thử nghiệm được đánh giá trong 2 điều kiện là $30 \pm 2^\circ\text{C}/75\%\text{RH} \pm 5\%$ trong 24 tháng và ở điều kiện lão hóa cấp tốc là $40 \pm 2^\circ\text{C}/75\%\text{RH} \pm 5\%$. Kết quả cho thấy ở điều kiện thực không nhận thấy có sự biến đổi đáng kể nào so với độ ổn định so với các chỉ tiêu được xây dựng trong TCCS. Bên cạnh đó, bảo quản ở điều kiện lão hóa cấp tốc kết quả không ảnh hưởng đáng kể đến các đặc tính của viên. Căn cứ vào dữ liệu về kết quả nghiên cứu đã xác định tuổi thọ của thuốc là 24 tháng, hướng dẫn bảo quản được ghi nhận là để nơi khô, thoáng, tránh ánh sáng mặt trời trực tiếp, nhiệt độ dưới 30°C . Kết quả này cũng cho thấy công thức viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày phù hợp lưu hành trên thị trường có vùng khí hậu nhiệt đới mà không ảnh hưởng đến tính chất của thành phẩm, viên vẫn đạt TCCS sau thời gian lưu hành.

4.4. Xây dựng quy trình thử nghiệm *in vivo* trên Chó cỏ

Hai vấn đề trong nghiên cứu về thời gian nổi của thuốc trên mô hình *in vivo* được đề cập đến, đầu tiên là việc chọn lựa đối tượng thử nghiệm là Chó cỏ, thay vì là Thỏ và Chuột. Bởi có 2 lý do để chọn Chó cỏ: mô hình dạ dày giữa Chó cỏ và Người khá giống nhau, đặc biệt đối với lỗ môn vị Của Người và Chó cỏ có kích thước khoảng đường kính 16 ± 1 mm, trong khi đó, với thuốc nghiên cứu có đường kính viên 18 mm, điều này hợp lý vì đường kính viên sẽ là yếu tố ảnh hưởng đến thời gian thuốc lưu giữ trong dạ dày. Ngoài ra, các viên thử nghiệm trên Thỏ và Chuột là với viên có hàm

lượng thấp nhỏ hơn 250 mg và khối lượng viên thấp hơn 500 mg. Lý do thứ 2 là sinh lý mô phỏng giữa dạ dày Chó cỏ và Người gần giống nhất cả về kích thước dạ dày, lượng dịch tiêu hóa trong dạ dày. Do đó, luận án đã tiếp cận phương pháp đánh giá thời gian nổi *trên cơ thể sống* là Chó cỏ có thể gọi chúng Chó Việt Nam (Chó ta) thuần chủng. Chó cỏ được lựa chọn là Chó đực, trưởng thành, cân nặng 10 – 12 kg, Chó cỏ được tiêm ngừa và nuôi dưỡng theo chế độ đầy đủ dinh dưỡng, 22-24 tháng tuổi. Luận án cũng đề cập đến đạo đức trong thử nghiệm trên động vật, thật vậy việc dùng *cơ thể sống* trong một số trường hợp là không cần thiết cho một nghiên cứu, tuy nhiên, đây là dạng thuốc mới và đánh giá chỉ tiêu về thời gian nổi trong dạ dày mà kết quả lại bị ảnh hưởng nhiều đến sinh lý, cơ chế làm rỗng dạ dày,...song song đó, mô hình đánh giá thử nghiệm thời gian nổi *in vitro* – *in vivo* chưa được thống nhất. Do đó, luận án tiến hành thực nghiệm trên Chó cỏ như một bước cần thiết của nghiên cứu và vì quá trình chuẩn bị thực hiện sớm vào năm 2017 – chưa có hướng dẫn về lập Hội đồng y đức. Tuy nhiên, luận án có nguyên tắc đánh giá nội bộ về việc chăm sóc sức khỏe, điều kiện thử nghiệm và xử lý vật thử nghiệm sau đó hợp với quy chuẩn đạo đức đối với một *cơ thể sống* như Chó Việt Nam nói chung.

Một khía cạnh khác được đề cập là thiết kế mô hình thử nghiệm *in vivo* để so sánh viên có và không có đặc tính nổi. Luận án đã xây dựng mô hình thử nghiệm thời gian nổi của thuốc trên Chó cỏ với 2 công thức khác nhau về thành phần NaHCO_3 , ghi nhận hình ảnh thuốc bằng phương pháp chụp X- quang có dùng chất cản quang với 10% Bari sulfat được đưa vào công thức. Kết quả ghi nhận thời gian lưu giữ thuốc tại dạ dày và hình ảnh viên (n=8) từ kết quả X – quang: nhóm thử nghiệm trong khoảng 195 phút đến 270 phút, với thời gian trung bình là $234,38 \pm 32,99$ phút. Với nhóm chứng – nhóm sử dụng viên không có tá dược giúp viên nổi có thời gian tồn lưu thuốc ở dạ dày chỉ trong khoảng 15 – 30 phút, trung bình là $18,75 \pm 6,94$ phút. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Kết quả của thử nghiệm cho thấy để thuốc có thể kéo dài được thời gian lưu giữ trong dạ dày có nhiều cách tiếp cận khác nhau nhưng cách tiếp cận để tạo hệ thống nổi của viên là hiệu quả trong công thức viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày.

Một điểm khác của luận án được đề cập là đánh giá nồng độ thuốc trong huyết tương Chó cỏ bằng phương pháp phù hợp. Với kỹ thuật dùng HPLC với đầu dò UV-Vis gặp một số khó khăn về giới hạn phát hiện, do đó kỹ thuật HPLC với đầu dò LCMS IT-TOF¹¹² được sử dụng. Bởi hệ thống khối phổ có độ phân giải cao cho phép xác định chính xác khối lượng phân tử của các tiểu phân tử sai số dưới 3 ppm trong khoảng khối lượng phân tử rộng m/z 50 – 3200. Kỹ thuật này có rất nhiều ưu điểm như độ nhạy và tính đặc hiệu cao nhưng cũng có một số hạn chế là độ lặp lại của phương pháp phụ thuộc vào điều kiện ion hóa, chế độ ghi phổ. Thêm vào đó huyết tương Chó cỏ là nền mẫu phức tạp, quy trình chiết, hiệu suất chiết dễ bị ảnh hưởng nếu nồng độ chất phân tích thấp. Do đó, để khắc phục nhược điểm này, chuẩn nội luôn được sử dụng trong phân tích mẫu là khối phổ LCMS IT-TOF. Roxithromycin được lựa chọn làm chất chuẩn nội bởi roxithromycin có cấu trúc tương tự với CLA (chất cần xác định nhưng đáp ứng được không quá tương tự để hai pic của hai chất không bị trùng lặp lên nhau) và nằm trong khoảng thời gian lưu không quá lâu hoặc quá sớm so với thời gian lưu của CLA.

Nghiên cứu thực hiện điều kiện khối phổ và sắc ký cho thời gian lưu của CLA (AS), và chuẩn nội (IS) lần lượt khoảng 3,37 và 3,87 phút. Phương pháp xử lý mẫu đơn giản, ít tốn thời gian, ít làm mất mẫu quan trọng đối với phân tích dịch sinh học. Nhiều phương pháp xử lý mẫu khác nhau đã được thực hiện khảo sát trong các tiền nghiên cứu là phương pháp chiết lỏng – lỏng, phương pháp tủa protein. Hay tham khảo phương pháp dựa vào kết quả thăm dò tỉ lệ plasma:dung môi nhằm mục đích loại bỏ hoàn toàn protein và đảm bảo sự pha loãng nồng độ CLA của đề tài “Định lượng CLA trong chế phẩm viên và trong huyết tương bằng phương pháp HPLC” (2005) của Nguyễn Thị Ngọc Minh đã nhận thấy quy trình định lượng CLA sau khi chiết tách từ plasma bằng MeOH là quy trình tối ưu nhất. Tuy nhiên, kết quả thực nghiệm của luận án cho thấy quy trình xử lý mẫu bằng MeOH, chiết 2 lần với dung môi n-hexan-n-butanol (98:2) cho hiệu suất chiết hoạt chất cao nhất, cường độ tín hiệu hoạt chất cao và ổn định, hình dạng pic khá cân đối và ổn định, thời gian xử lý một mẫu nhanh và

đơn giản hơn. Phương pháp phân tích thực hiện các chỉ tiêu: tính phù hợp hệ thống, tính đặc hiệu, đường chuẩn và khoảng tuyến tính.

Kết quả ghi nhận diện tích dưới đường cong AUC_{0-24} , C_{max} đối với nhóm thử viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày là 19.562,27; 1.964,00 \pm 104,25 (\pm 5,3%) và nhóm chứng Klacid Forte 500 mg là 12.434,20; 1.982,63 \pm 266,48 (\pm 13,44%). Tỷ lệ AUC_{0-24} giữa 2 nhóm là 157,33%. Ngoài ra, từ kết quả trên cho thấy viên nổi trong dạ dày giúp duy trì nồng độ hoạt chất cao hơn 40% so với C_{max} cho đến 18 giờ sau khi uống. Kết quả thực nghiệm này có giá trị lớn trong hiệu quả điều trị của CLA như giảm được số lần dùng thuốc trong ngày, tối ưu hóa hiệu quả sử dụng đối với các bệnh lý dùng CLA nói chung. Bên cạnh đó, khi đề cập đến phác đồ điều trị *H.pylori*, bởi tỷ lệ đề kháng CLA cao, ngay cả các nước Châu Âu như Pháp đã xác định để điều trị tốt hơn thì cần có nhiều thay đổi, cải tiến trong điều trị nhiễm *H. pylori* như dùng liệu pháp điều trị 4 thuốc có chứa bismuth thay thế cho phác đồ điều trị tuần tự và phác đồ điều trị ba thuốc cổ điển với vị trí phác đồ lựa chọn đầu tay. Do đó, thành công của luận án sẽ góp phần giảm tình trạng đề kháng kháng sinh đang có xu hướng gia tăng, có thể góp phần thay đổi cả chiến lược điều trị được cải tiến và thay đổi trong quản lý các bệnh lý loét, biến chứng của bệnh lý ác tính, cũng như trong dự phòng ung thư dạ dày. Vai trò của điều trị tệt trừ vi khuẩn một cách thường quy sẽ được khẳng định trong tương lai. Mặt khác, tỷ lệ nhiễm *H. pylori* lớn trong cộng đồng, mức độ dung nạp và chi phí của phác đồ điều trị sẽ được giảm gánh nặng bởi chi phí sử dụng thuốc được đề cập như trên cũng như công thức viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày được đưa vào ứng dụng thực tiễn.

KẾT LUẬN

Hệ thống phân phối thuốc nổi lưu giữ trong dạ dày dựa trên cơ chế sủi bọt – sinh khí CO₂ là một phương pháp đầy hứa hẹn, để giữ thuốc lại trong dạ dày trong một thời gian dài hơn bên cạnh có sự kiểm soát sự phóng thích thuốc theo thời gian.

Điểm mới của luận án:

- Lần đầu tiên xây dựng và tối ưu hóa công thức viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày đạt TCCS với thời gian nổi *in vitro* không ít hơn 4 giờ và kiểm soát sự phóng thích thuốc ở 4 thời điểm 2 giờ, 4 giờ, 8 giờ và 12 giờ lần lượt là $\leq 25\%$; 20% – 40%; 45%-75% và $\geq 80\%$.
- Đã xây dựng mô hình thử nghiệm thời gian nổi *in vitro* và *in vivo* trên Chó cỏ và ghi nhận hình ảnh viên tồn lưu trong dạ dày bằng kỹ thuật X- quang. Đã đánh giá nồng độ CLA trong huyết tương và AUC 0-24 của viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày và Klacid Forte 500 mg.

- Lần đầu tiên công bố giải pháp hữu ích cho quy trình bào chế viên CLA nổi trong dạ dày tại Việt Nam.

- Tóm lại, luận án với mục tiêu bào chế hệ thống nổi trong dạ dày và phóng thích kéo dài với CLA đã hoàn thành các mục tiêu:

1. Đã xây dựng và thẩm định quy trình định lượng CLA nguyên liệu và thành phẩm.
2. Đã xây dựng công thức và quy trình bào chế viên nén CLA 500 mg có đặc tính nổi để kéo dài thời gian lưu giữ trong dạ dày và kiểm soát sự phóng thích thuốc trong 12 giờ đạt TCCS.
3. Đã nâng cấp cỡ lô quy mô sản xuất 30.000 viên và thành phẩm có tính ổn định ở điều kiện dài hạn và lão hóa cấp tốc, tuổi thọ đề xuất 24 tháng ở nhiệt độ không quá 30 °C và tránh ánh sáng trực tiếp.
4. Đã xây dựng mô hình thử thời gian nổi *in vitro* và *in vivo trên cơ thể sống* Chó cỏ, ghi nhận hình ảnh thuốc bằng phương pháp chụp X- quang. Kết quả tổng thời gian nổi *in vitro* là $9,0 \pm 0,3$ giờ và *in vivo* 3,9 giờ $\pm 0,5$ giờ. AUC₀₋₂₄ lần lượt là 19.562,27 và 12.434, của viên nổi trong dạ dày và PTTT, bên cạnh đó, viên nổi trong dạ dày giúp duy trì nồng độ hoạt chất cao hơn 40% so với C_{max} cho đến 18 giờ sau khi uống.

KIẾN NGHỊ

Để hoàn thiện đề tài, nội dung được đề nghị:

Đánh giá lâm sàng sinh khả dụng khi sử dụng viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày trong phác đồ điều trị *H.pylori*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thakur RS, Patel SS, Ray S (2006), “Formulation and evaluation of floating drug delivery system containing clarithromycin for helicobacter pylori”, *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug research*, 63 (1), pp. 53-61.
2. Davis S.S. (2005), "Formulation strategies for absorption windows", *Drug Discovery Today*, 10 (4), pp. 249–257.
3. Khan FN, Dehghan MHG (2009), “Gastroretentive drug delivery system: a patent perspective”, *Int J of Health Research*, 2 (1), pp. 23-44.
4. Kamila G, Sonia A, Teresa A (2018), “Helicobacter pylory treatment: antibiotics and probiotics”, *National Library of Medicine*, 102 (1), pp. 1-7.
5. “Expandable pharmaceutical forms”, *US 5651985 patents*.
URL: <https://patents.justia.com/patent/5651985>
6. Gunther Penners, Leverkusen, Klemens Lustig (1997), “Expandable pharmaceutical forms”, *US 5651985 patents*.
URL: <https://patents.justia.com/patent/5651985>
7. Gunjal A., Vidyasagar G., Ghule S. (2016), "Formulation and Evaluation of Clarithromycin Bioadhesive Tablets", *Asian Journal of Chemistry*, 28 (9), pp. 1944-1948.
8. Hoffman A., Stepensky D., Lavy E., et al. (2004), "Pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of gastroretentive dosage forms", *International Journal of Pharmaceutics*, 277 (1-2), pp. 141-153.
9. URL: [Clarithromycin | C38H69NO13 - PubChem \(nih.gov\)](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Clarithromycin)
10. URL: [Clinical pharmacokinetics of clarithromycin - PubMed \(nih.gov\)](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10111111/)
11. John Hopkins medicine, Helicobacter pylori. URL: [https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/helicobacter pylori](https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/helicobacter-pylori), Access in 2021.
12. P.Malfertheiner, F.Megraud, C.A.Morain, et al. (2016), “Guidelines Management of *Helicobacter pylori* infection”—the Maastricht V/Florence Consensus Report, *BMJ Journal*, 66 (1).

URL: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2016-312288>

13. Singh BN, Kim KH (2000), "Floating drug delivery system: an approach to oral controlled drug delivery via gastric retention", *J Control Release*, 63, pp. 235-259

14. Maastricht VI Consensus (2022): <https://gut.bmj.com/content/71/9/1724>

15. Quyết định 708/QĐ-BYT 02/03/2015 của Bộ Y tế về việc ban hành Tài liệu chuyên môn Hướng dẫn sử dụng kháng sinh: <https://luatvietnam.vn/y-te/quyet-dinh-708-qd-byt-bo-y-te-93000-d1.html>

16. Zate S, Kothawade P, Mahale G, et al (2010), "Gastro retentive bioadhesive drug delivery system", *Int Journal Pharmaceutical technology res*, 2 (2), pp. 1227-1235.

17. Vivek K, Shaswat K, Garima G (2011), "Gastroretentive dosage forms: A review with special emphasis on floating drug delivery systems", *Drug delivery*, 18 (2), pp. 97-110.

URL: <https://doi.org/10.3109/10717544.2010.520354>

18. Garg R, Gupta GD (2008), "Progress in controlled gastroretentive delivery systems", *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7 (3), pp. 1055-1066.

19. Nayak AK, Maja R, Das B (2010), "Gastroretentive drug delivery systems: a review", *Asean Journal of pharmaceutical and Clinic research*, 3 (1), pp. 2-10.

20. Felix Schneider, Mirko Koziolk, Werner Weitschies (2019), "In vitro and in vivo test methods for the evaluation of Gastroretentive Dosage Form.", *Pharmaceutics*, 11(8):416. doi: [10.3390/pharmaceutics11080416](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11080416).

21. Nama M., Gonugunta C. S. R., Veerareddy P. R. (2008), "Formulation and Evaluation of Gastroretentive Dosage Forms of Clarithromycin", *AAPS PharmSciTech*, 9, pp. 231-237.

22. San Zate S jay S. Patel, S. Ray, R. S. Thaku (2006), "Formulation And Evaluation of Floating Drug Delivery System Containing Clarithromycin For Helicobacter Pylori", *Acta Poloniae Pharmaceutica and Drug Research*, 63(1), pp. 53-6.

23. Bathini Sree Tejaswi, Durgaramani Sivadasan and Shalini Devi (2011), "Formulation and *in vitro* evaluation of clarithromycin floating microspheres for eradication of Helicobacter Pylori", *Scholars Research Library, Der Pharmacia Lettre*, 3 (6), pp. 90-101.

URL: <http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>

24. Timucin U, Uur karaklık and Erkan R (2014), "Optimization and evaluation of clarithromycin floating tablets using experimental mixture design", *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*, 71 (2), pp. 311-321.

25. Lagnajit M, G.Vidyasagar (2014), "Optimization of the Gastroretentive Controlled Release Drug Delivery System of Clarithromycin", *International Journal of Pharma Research and Health Sciences*, 2 (5), pp. 393-401.

26. Md. Mahbubul Alam, Md. Shahadat Hossain, Subrata Bhadra, Uttom Kumar, and Abu Shara Shamsur Rouf (2017), "Development and Validation of RP-HPLC Method for Quantitation of Clarithromycin in Matrix Tablet Dosage Form", *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*.

27. Naresh Talwar, John N. Staniforth, Michael J. Toby (2001), "Hydrodynamically balancing oral drug delivery system", *International Application*.

28. Ghufran Ullah, Asif Nawaz, Muhammad Shahid Latif, et al (2023), "Clarithromycin and Pantoprazole Gastro-Retentive Floating Bilayer Tablet for the Treatment of Helicobacter Pylori: Formulation and Characterization", *MDPI*.

29. Prabhu P, Mayari HM, Ahmed GM, et al (2008), "Formulation and *in vitro* evaluation of gastric oral floating tablets of glipizide", *Indian J Pharm Educ res*, 42 (2), pp. 174-183.

30. Khan F, Razzak SM, Khan ZR, et al (2008), "Preparation and *in vitro* evaluation of theophylline loaded gastroretentive floating tablets of Methocel K4M", *J Pharm Sci*, 7 (1), pp. 65-70.

31. Havalda VD, Kulkarni AS, Dias RJ (2008), "Optimization and *in vitro* evaluation of floating tablet of atenolol", *J Pharmacy research*, 1 (1), pp. 73-78.

32. Patel VF, Patel NM (2006), "Intragastric floating drug delivery system of axetil: *in vitro* evaluation", *AAPS Pharm Sci Tech*, 7 (1), pp. 1-7.

33. Shishu, Gupta N, Aggarwal N (2007), "A gastro-retentive floating delivery system for 5-fluorouracil", *Asian J Pharm*, 2(4), pp. 143-149.

34. R Bomma, R Appala, Madhusudan R, et al (2009), "Development and evaluation of gastroretentive norfloxacin floating tablets", *National Library of Medicine*. URL: <https://doi.org/10.2478/v10007-009-0019-6>

35. Sanjay S Patel 1, S Ray, RS Thakur (2006), "Formualtion and evaluation of floating drug delivery system containing clarithromycin for Helicobacter pylori", *National Library of Medicine*.

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>.

36. Inderbir Singh 1, Vikrant Saini (2016), "Formulation and optimization of floating matrix tablets of clarithromycin using simplex lattice design", *Pak J Pharm Sci*, 29 (2), pp. 511-9.

37. Nitija Prakash Kawade and Vaibhav V. Chagediya (2021), "Formulation and characterization of clarithromycin floating tablets by using various polymers", *Int. J. Adv*, 9 (10), pp. 766-776.

URL: <https://www.journalijar.com/>

38. Muralidhar N, Chandra S, Prabhakar R (2008), "Formulation and evaluation of gastroretentive dosage forms of Clarithromycin", *AAPS PharmSciTech*, 9 (1), pp. 231-237.

URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18446486/>

39. Laurence L. Goodman and Gilman's (2006), "The Pharmacological Basic of Therapeutics 11th ed. McGaw-Hill: *Medical Publishing division*, pp. 1487.

40. P Malfertheiner, F Megraud, C O'Morain, F Bazzoli, et al. "The European Helicobacter Study Group (EHSG). Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht III Consensus Report". *Gut* 2007; 56:772-781.

41. Peter Malfertheiner, Francis Megraud, Colm A O’Morain, et al., “The European Helicobacter Study Group (EHSg). Management of Helicobacter pylori infection the Maastricht IV/Florence Consensus Report”. *Gut* 2012; 61:646 -664.
42. Rowe RC, Pate LD, Patel DM (2008), “Handbook of Pharmaceutical Excipients”, *Royal pharmaceutical society of Britain*, 6th ed, RPS Publishers.
43. “Expandable pharmaceutical forms”, *US 5651985 Patents*.
URL: <https://patents.google.com/patent/US5651985>
44. Wenming Wu, Yunsheng Yang, and Gang Sun. “Review Article:Recent Insights into Antibiotic Resistance in Helicobacter pylori Eradication. *Gastroenterology Research and Practice*”, Volume 2012 (2012).
45. Huỳnh Thị Mỹ Duyên (2020), *Nghiên Cứu Bào Chế Và Đánh Giá Tác Dụng Kháng Ung Thư Của Viên Nén Nổi Chứa Curcumin*, Luận văn Tiến sỹ Dược học, Đại học Y Dược TP.Hồ Chí Minh.
46. Lê Hậu, Nguyễn Hoài Thanh Tâm, Lê Thị Thu Vân (2014), “Nghiên cứu bào chế viên metronidazole 250 mg nổi trong dạ dày”, *Tạp chí Y Học TP. Hồ Chí Minh*, 18 (2), tr. 218-224.
47. Đặng Văn Giáp (2006), “*Genetic programming for formulation design*”, PhD. Thesis, University of Bradford.
48. Đỗ Quang Dương, Rowe R. C., York P. (2008), "Modelling drug dissolution from controlled release products using genetic programming", *Int J Pharm*, 351 (1-2), pp. 194-200.
49. Murad Alam, Kifayat U Shah, Kamran A Khan, et. (2021), "Formulation and *in vitro* Evaluation of Effervescent Bilayer Floating Controlled Release Tablets of Clarithromycin and Famotidine", *Research J.Pharm. and Tech*, 14 (8).
50. Roberts R. J., Rowe R. (updated 2018), “Intelligent Software for Product Formulation”, *CRC Press London*, 1st ed, pp. 264.
51. Grassi M., Grassi G. (2005), "Mathematical modeling and controlled drug delivery: matrix systems", *Drug Delivery*, 2, pp. 97–116.

52. Nokhodchi A., Raja S., Patel P. et al. (2012), "The role of oral controlled release matrix tablets in drug delivery systems", *BioImpacts: BI*, 2 (4), pp. 175-187.

53. Timucin Uğurlu, Uğur Karaçiçek, Erkan Rayaman (2014), "Optimization and evaluation of clarithromycin floating tablets using experimental mixture design", *National Library of Medicine*, 71(2):311-21.

54. M V Nila 1, M R Sudhir, T A Cinu, N A Aleykutty, S Jose "Floating microspheres of carvedilol as gastro retentive drug delivery system: 3(2) full factorial design and *in vitro* evaluation", *PMID: 24028280*.

55. Ali M. H., Bhuiyan M. A., Reza M. S., et al. (2016), "Formulation and *In vitro* Evaluation of Oral Floating Tablets of Salbutamol Sulphate: Comparison with Effervescent Tablets", *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15 (2), pp. 203.

56. Berner B, Louie-Helm J. (2002), "Tablet shapes to enhance gastric retention of swellable controlled release oral dosage forms", *US 6488962 Patents*.

57. Atul D Karande. (2006), " Comparative Assessment of Different Dissolution Apparatus for Floating Drug Delivery Systems, February 2006, [Dissolution Technologies](#) 13(1). DOI:[10.14227/DT130106P20](#).

58. Chen Y.-C., Ho H.-O., Lee T.-Y., et al. (2013), "Physical characterizations and sustained release profiling of gastroretentive drug delivery systems with improved floating and swelling capabilities", *International of Journal Pharmaceutics*, 441 (1-2), pp. 162–169.

59. Chen Y.-C., Ho H.-O., Liu D.-Z., et al. (2015), "Swelling/floating capability and drug release characterizations of gastroretentive drug delivery system based on a combination of hydroxyethyl cellulose and sodium carboxymethyl cellulose", *Plos one*, 10 (1).

60. Muhammad S, Munazza K, Jahanzeb M, et al (2022), "Optimization, *in vitro* and *in-vivo* evaluation of levofloxacin hemihydrate Floating Tablets", *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*.

URL: <http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902022e18630>.

61. VF Patent, N Maheshbhi, P.G Yeole (2022), “In-Vitro, In-Vivo Evaluation of Floating Tablets of Clarithromycin”, APhP, 12(3), DOI: [10.52711/2231-5713.2022.00037](https://doi.org/10.52711/2231-5713.2022.00037) .

62. Muhammad Israr, Nicola Pugliese, Arshad Farid (2022), “Preparation and Characterization of Controlled-Release Floating Bilayer Tablets of Esomeprazole and Clarithromycin”, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*.

63. Pornsak Sriamornsak, Kampanart Huanbutta, Tanikan Sangnim, (2022), “Recent advances in 3D printing for floating drug delivery platforms”, *Science, Engineering and Health Studies*, Vol.16. ISSN (online)-2630-0087.

64. Md. Abdul Motaleb Bhuiya , Kishor Mazumder , Irin Dewan, et al. (2022), “Design and Development of Clarithromycin Floating Pellets Using Sodium Alginate and HPMC”, *Bangladesh Journal Online*.

65. Peter Dios. (2016), "Influence of Barium sulfate X – Ray imaging contrast material on properties of floating drug delivery tablets", *European Journal of pharmaceutical*.

URL: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.09.034>

66. SH Y., Hartmann J. (2003), "Growth and self - assembly of BaCrO₄ and BaSO₄ nanofibers toward hierarchical and repetitive superstructures by polymer-controlled mineralization reactions", *Nano Lett*, 3, pp. 379–382.

67. J. Peris-Vicente, Ester Peris-Garcia, Jaume Albio-Chva, et al. (2022), "Liquid chromatography, a valuable tool in the determination of antibiotics in biological, food and environmental samples", *ScienceDirect*, Vol.177.

68. I Niopas, A C Daftsios (2001), “Determination of clarithromycin in human plasma by HPLC with electrochemical detection: validation and application in pharmacokinetic study”, *International Journal of Pharmaceutics*, 15 (8), pp. 507-8.

69. Weitschies W., Wilson C. G. (2011), "In vivo imaging of drug delivery systems in the gastrointestinal tract", *International Journal of Pharmaceutics*, 417 (1-2), pp. 216–226.

70. Yao Jiang, Jiang Wang, Hao Li, Yingwu Wang, Jingkai Gu, (2007), "Determination of clarithromycin in human plasma by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry", *Journal Pharm Biomed anal*, 143 (4), pp. 4-1460.

71. Arun B., Narendar D (2017), "Development of Multiple-Unit Floating Drug Delivery System of Clarithromycin: Formulation, *in vitro* Dissolution by Modified Dissolution Apparatus, *in vivo* Radiographic Studies in Human Volunteers", *National Library of Medicine*, 67 (7), pp. 412-418.

URL: <https://doi.org/10.1055/s-0043-102952>

72. Arun B. Reddy , Narendar D. Reddy (2017), "Development of Multiple-Unit Floating Drug Delivery System of Clarithromycin: Formulation, *in vitro* Dissolution by Modified Dissolution Apparatus, *in vivo* Radiographic Studies in Human Volunteers", *Thieme*, 67(07), p.p 412-418.

73. C Y Lui, G L Amidon. (2017), "Comparison of gastrointestinal pH in dogs and humans: implications on the use of the beagle dog as a model for oral absorption in human". URL: <https://doi.org/10.1002/jps.2600750313>

74. Luis P. Coelho, Jens R. Kultima, Paul I Costea, et al. (2018), " Similarity of the dog and human gut microbiomes in gene content and response to diet", *Springer*. DOI:[10.1186/s40168-018-0450-3](https://doi.org/10.1186/s40168-018-0450-3).

75. Prakash Thapa, Seong H Jeong. (2018), " Effects of Formulation and Process Variables on Gastroretentive Floating Tablets with A High-Dose Soluble Drug and Experimental Design Approach", *MDPI*, doi: [10.3390/pharmaceutics10030161](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10030161).

76. Marilyn N. Martinez, Jonathan P. Mochel, Sibylle Neuhoff, et al (2021), " Comparison of Canine and Human Physiological Factors: Understanding Interspecies Differences that Impact Drug Pharmacokinetics, *The AAPS Journal*, pp. 23-59, DOI: 10.1208/s12248-021-00590-0.

77. Y Ruyi, Z Tao, Y Jiang, L Yan, et al (2019), “*In vitro/vivo* assessment of praziquantel nanocrystals: Formulation, characterization, and pharmacokinetics in beagle dogs”, *Science Direct*, 14 (3), pp. 321-328

78. Dược điển Việt Nam V (2018), Bộ Y tế. URL: <https://vnras.com/>

79. ICH Harmonised Guideline (2019), URL: <https://database.ich.org/>

80. The United State Pharmacopeial 40 (2017), URL: <https://www.uspnf.com/>

81. Li-Ying Kam 1 , Jia-Woei Wong 2 and Kah-Hay Yuen, (2023), “In Vivo Evaluation of Thiamine Hydrochloride with Gastro-Retentive Drug Delivery in Healthy Human Volunteers Using Gamma Scintigraphy”, *MDPI*. 15, pp. 691. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020691>.

82. Rahim B Najafi, Abolfazl Mostafavi, Naser Tavakoli, et al (2017), “Preparation and *in vitro-in vivo* evaluation of acyclovir floating tablets”, *Research in Pharmaceutical Sciences*, 12(2), pp. 128–136.

83. ICH guidelines for the stability (2019).

84. ICH Q1A (R2) (2003), “Stability testing of new drug substances and drug products – Scientific guideline, step 5, *European Medicines Agency*.

85. ICH Guidline Q2(R2) on validation of analytical pcedures, Step 2b. *European Medicines Agency*.

86. Muhammad Sohail Arshad1 , Munazza Kiran , Jahanzeb Mudassir, et al. (2022), “Formulation, Optimization, *in vitro* and *in-vivo* evaluation of levofloxacin hemihydrate Floating Tablets”, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*.

87. Alena S. (2014), “*Application of ft-ir spectroscopy for determination of clarithromycin in pharmaceuticals*”.

URL: <https://www.researchgate.net/>

88. Putta R., Somashekar S., S.M. Shanta Kumar, et al, “A Sensitive UV Spectrophotometric Analytical Method Development, Validation and Preformulation Studies of Clarithromycin”, *Department of Pharmaceutics and*

Pharmaceutical Chemistry, V.L.College of Pharmacy, Raichur – 584103, Karnataka, India.

89. Uğurlu T., Uğur Karaçiçek, Rayaman E. (2014), "Optimization and evaluation of clarithromycin floating tablets using experimental mixture design", *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 71 (2), pp. 311-321.

90. Design-Expert® 7.0 (Trial)

URL: [Design-Expert® 7.0 Download - DX8Trial.EXE \(informal.com\)](http://www.informal.com/Design-Expert-7.0-Download-DX8Trial.EXE)

91. D-Optimal designs, National Institute of Standards and technology.

92. Paolo Trucilo (2022), "Drug Carriers: A Review on the Most Used Mathematical Models for Drug Release", *MDPI*, <https://doi.org/10.3390/pr10061094>.

93. Nguyễn Thị Phương, Cao Thị Thanh Thảo (2014), "Nghiên cứu thăm dò công thức viên nổi trong dạ dày chứa clarithromycin 500 mg", *Tạp chí Y Học TP. Hồ Chí Minh*, 18 (2), tr. 27-31.

94. Muralidhar Nama, Chandra Sekhar Rao Gonugunta, and Prabhakar Reddy Veerareddy "Formulation and Evaluation of Gastroretentive Dosage Forms of Clarithromycin", *AAPS PharmSciTech*, 9 (1).

URL: <https://doi.org/10.1208/s12249-008-9038-8>

95. Darkes M. J. M., Perry C. M. (2003), "Clarithromycin extended-release tablet: A review of its use in the management of respiratory tract infections", *American Journal of Respiratory Medicine*. 2 (2), pp. 175-201.

96. Strübing S., Abbouda T., Renata C. et al. (2008), "New insights on poly (vinyl acetate) based coated floating tablets: characterisation of hydration and CO₂ generation by benchtop MRI and its relation to drug release and floating strength", *European journal pharmaceutical and biopharm*, 69, pp. 708-717.

97. Asean (2013), "Asean guideline on stability study of drug product", pp. 3-40.

98. A., P., et al. (2008), "Formulation and Evaluation of Effervescent Floating Tablet of Amlodipine besylate.", *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 1 (3), pp. 255-258.
99. Conway B. R. (2005), "Drug delivery strategies for the treatment of helicobacter pylori infections", *Current pharmaceutical design*, 11, pp. 775–790.
100. Dube J., Verma N. (2013), "Floating drug delivery system: a review", *International Journal Pharmaceutical Science Res*, 4, pp. 2893–2899.
101. Adeleke O. A. (2019), "Design and statistical optimization of an ervescent floating drug delivery system of theophylline using response surface methodology", *Acta pharm*, 66, pp. 35–51.
102. Bhosale U. V., Devi V. K., Nimisha J. et al. (2010), "Effect of polymer concentration and viscosity grade on atenolol release from gastric floating drug delivery systems", *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 44, pp. 267–273.
103. Nagigoti J., Shayed (2009), "Floating drug delivery system", *International Journal Pharmaceutical Science nano*, 2, pp. 595.
104. Brazel C. S., Peppas. N. A. (2000), "Modeling of drug release from swellable polymers. ", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 49 (1), pp. 47–58.
105. Brittain H. G. (2002), "Analytical profiles of drug substances and excipients", *Science direct Drug Substances and Excipients*, 29, pp. 8-45.
106. Chaturvedi K., Umadevi S., Vaghani S. (2010), "Floating matrix dosage form for propranolol hydrochloride based on gas formation technique: development and *in vitro* evaluation", *Scientia Pharmaceutica*, 78 (3), pp. 927-939.
107. Chavanpatil M. D., Jain P., Chaudhari S. et al. (2006), "Novel sustained release, swellable and bioadhesive gastroretentive drug delivery system for ofloxacin", *International journal pharmaceutical*, 316 (1-2), pp. 86–92.

108. Chelikani Ram Venkatesh (2022), " *In-vivo* study of quetiapine fumarate superporous hydrogels", *Int. Journal Of Health Sciences*, <https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS3.7146>.

109. Vivek K. Pawar, Shaswat Kansal, Garima Garg, Rajendra Awasthi, Deepak Singodia & Giriraj T. Kulkarni (2011) "Gastroretentive dosage forms: A review with special emphasis".

110. Stops F., Fell J. T., Collett J. H. (2006), "The use of citric acid to prolong the *in vivo* gastro-retention of a floating dosage form in the fasted state", *International Journal of Pharmaceutics*, 308 (1-2), pp. 8-13.

111. Haifa Tawfeeq, Abu Tbeekh (2013), "Validation and determination of clarithromycin and metronidazole in rat plasma by using high performance liquid chromatography/mass spectrometry (HPLC/MS) in presence of pomegranate juice", *Faculty of pharmacy and medical sciences amman – jordan*.

112. Alvi S., Dither S. A. (2016), "Rapid determination of clarithromycin in human plasma by LCMs/MS assay", *Pharm anal chem open access ISSN*, pp. 2471-2698.

113. Kuchekar B. S., Singavi A. A., Late S. G., et al. (2003), "Spectrophotometric estimation of roxithromycin and clarithromycin in pharmaceutical dosage forms", *Indian Drugs*, 40 (1), pp. 44–45.

114. Sriamornsak P., Thirawong N., Korkerd K. (2007), "Swelling erosion and release behavior of NaHCO₃ -based matrix tablets", *European. J. Pharm. Biopharm*, 66 (3), pp. 435–450.

115. Maria Lanbros, Thac Tran, Qinqin Fei. et al. (2022), "Citric Acid: A Multifunctional Pharmaceutical Excipient", *MDPI*.

116. Zuleger S., Lippold B. C. (2001), "Polymer particle erosion controlling drug release. I. Factors influencing drug release and characterization of the release mechanism", *International Journal of Pharmaceutics*, pp. 139–152.

117. ZHANG Wei, QIN Yuhua, WANG Bin., “Studies on Pharmacokinetics of Clarithromycin Granules in Healthy Volunteers”, *Henan Provincial Hospital, Zhengzhou 450003*.

118. Syed N Alvi, Saleh Al Dgither and Muhammad M Hammami (2016), “Rapid Determination of Clarithromycin in Human Plasma by LCMS/MS Assay”, *Pharm Anal Chem Open Access*, 2(10), DOI: 10.4172/2471-2698.1000110.

119. Wael A Dayyih, (2019). “Validation and determination of macrolides as clarithromycin and metronidazole in rat plasma using high performance liquid chromatography/mass-spectrometry in presence of pomegranate beverage”, *10th European Organic Chemistry Congress, Italy*.

PHỤ LỤC

Phụ lục 1. Quy trình xác định tạp liên quan CLA nguyên liệu bằng phương pháp HPLC và Sắc ký đồ của phương pháp.

Phụ lục 2. Quy trình và thẩm định phương pháp định lượng CLA trong môi trường hòa tan và Sắc ký đồ của phương pháp.

Phụ lục 3. Kết quả khảo sát độ hòa tan của Klacid 500 mg MR.

Phụ lục 4. COA nguyên liệu CLA, HPMC, Magnesi stearat, talc, NaHCO₃ và kết quả khảo sát tính chất lý hóa của các thành phần nguyên liệu.

Phụ lục 5. Bảng tóm tắt kết quả các giai đoạn trong yếu tố trong quy trình điều chế ở quy mô phòng thí nghiệm.

Phụ lục 6. Biểu đồ mối liên quan nhân quả của tá dược đến tính chất sản phẩm.

Phụ lục 7. Bảng tóm tắt kết quả các giai đoạn trong yếu tố trong quy trình điều chế ở quy mô sản xuất.

Phụ lục 8. Sơ đồ quy trình sản xuất viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày.

Phụ lục 9. Đánh giá nguy cơ, xác suất có thể xảy ra, mức độ ảnh hưởng đến tính chất viên trong quy trình sản xuất.

Phụ lục 10. Các chỉ tiêu, giới hạn và yêu cầu giai đoạn sản xuất.

Phụ lục 11. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày.

Phụ lục 12. Kết quả độ ổn định thành phẩm viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày.

Phụ lục 13. Kết quả đánh giá thời gian nổi *in vivo* của viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày

Phụ lục 14. Quy trình định lượng CLA trong huyết tương Chó cỏ bằng phương pháp LCMS IT-TOF.

Phụ lục 15. Bảng kết quả AUC₀₋₂₄ và đồ thị biểu diễn nồng độ thuốc trong huyết tương *in vivo* sau khi uống viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày hoặc viên Klacid Forte 500 mg.

Phụ lục 16. Bảng độc quyền giải pháp hữu ích

Phụ lục 1. Quy trình xác định tạp liên quan CLA nguyên liệu bằng phương pháp HPLC và Sắc ký đồ của phương pháp.

Xử lý mẫu

- Hàm lượng nhãn: 500 mg;
- Khối lượng trung bình viên sau khi bao phim: 862,25 mg;
- Pha động A: Dung dịch có chứa kali dihydrophosphat 0.476%, điều chỉnh pH đến 4,4 bằng dung dịch acid phosphoric loãng hoặc bằng dung dịch kali hydroxyd 4,5%. Lọc qua giấy lọc millipore 0,45 μm ;
- Pha động B: Acetonitril;
- Dung dịch thử: Hòa tan 75,0 mg CLA trong 25 ml acetonitril, pha loãng thành 50,0 ml với nước;
- Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan khoảng 75,0 mg CLA chuẩn trong 25 ml acetonitril, pha loãng thành 50,0 ml với nước;
- Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml với hỗn hợp đồng thể tích của acetonitril và nước;
- Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10,0 ml với hỗn hợp đồng thể tích của acetonitril và nước;
- Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan khoảng 15,0 mg hỗn hợp các tạp chuẩn của CLA trong 5,0 ml acetonitril, pha loãng thành 10,0 ml với nước;
- Dung dịch mẫu trắng: Pha loãng 25,0 ml acetonitril thành 50,0 ml với nước.

Điều kiện sắc ký:

- Cột thép không gỉ (5 cm \times 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là octadecylsilyl silica gel (3,0 μm). Duy trì nhiệt độ cột ở 40 °C.
- Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
- Thể tích tiêm: 10 μl .
- Tốc độ dòng: 1.1 ml/phút với chương trình dung môi trình bày như sau:

Chương trình gradient dung môi

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 – 32	75 \rightarrow 40	25 \rightarrow 60

32 – 34	40	60
34 – 36	40 → 75	60 → 25
36 – 42	75	25

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch mẫu trắng, dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2), (3) và (4).

Tính phù hợp hệ thống:

Tính phù hợp hệ thống được xác định bằng cách tiêm 6 lần dung dịch đối chiếu (2); độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic và thời gian lưu $\leq 2\%$; hệ số đối xứng của pic $0,8 \leq AS \leq 1,8$.

Yêu cầu:

- Hệ số hiệu chỉnh: Để tính toán hàm lượng các tạp chất, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng.

- Từng tạp chất có diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (1,0%) và không được có quá 4 pic tạp chất lớn hơn 0,8 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (0,4%).

- Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 7 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (3,5%).

- Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0.2 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (0,1%). Bỏ qua các pic rửa giải ra trước tạp chất I và pic rửa giải ra sau tạp chất.

Tính đặc hiệu

Phương pháp có tính đặc hiệu khi dung dịch mẫu trắng và dung dịch placebo không có pic có thời gian lưu trùng với thời gian lưu của các pic tạp và pic CLA trong dung dịch (4).

Giới hạn phát hiện (LOD)

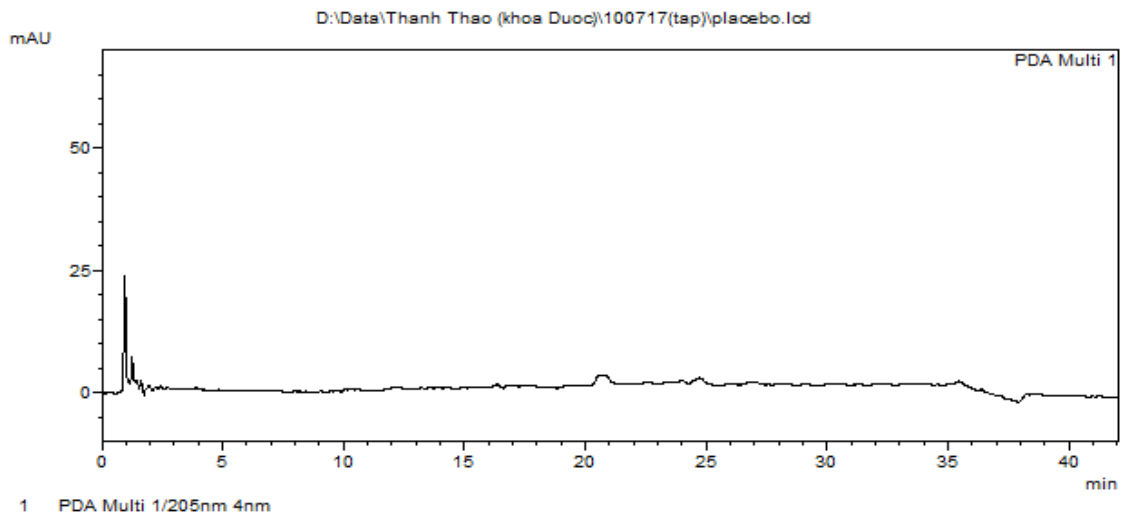
LOD của CLA thực hiện bằng cách pha loãng dần từ dung dịch đối chiếu (1), dãy dung dịch chuẩn bị được trình bày:

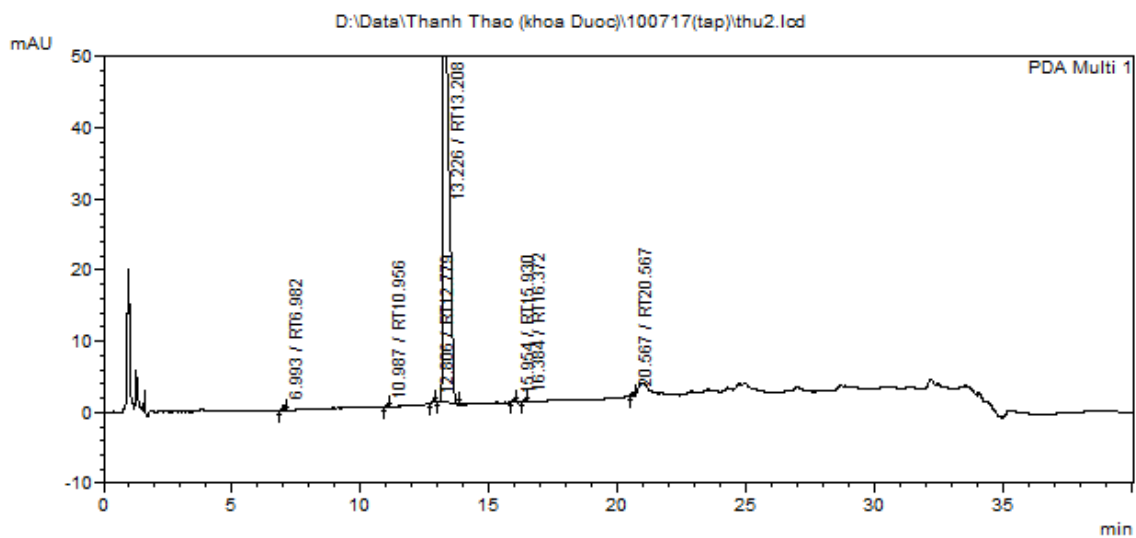
Giới hạn phát hiện

Dung dịch đối chiếu (1)	Dãy dung dịch	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)
-------------------------	---------------	------------------------------

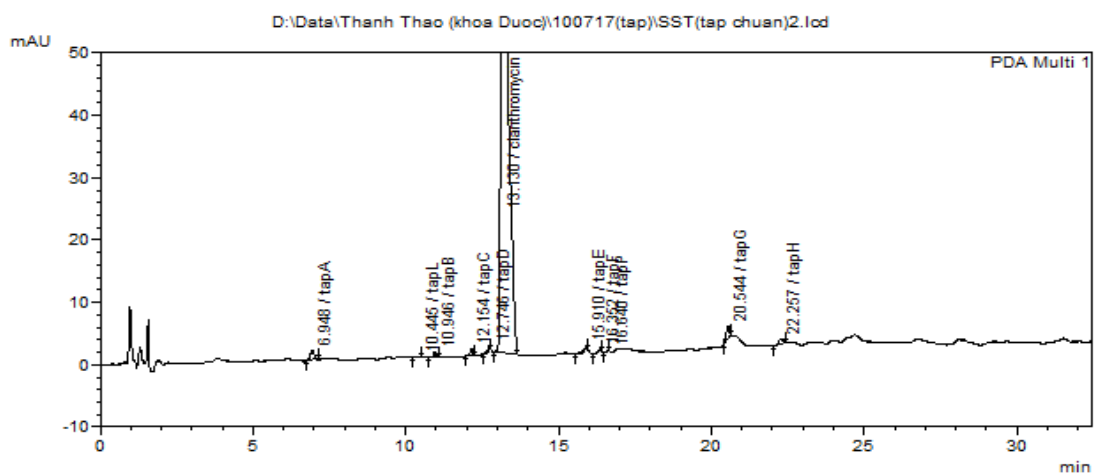
Lượng cân (mg)	Độ pha loãng (ml)		
74,96	50	Dung dịch 1	14,992
		Dung dịch 2	7,496
		Dung dịch 3	3,748
		Dung dịch 4	1,499
		Dung dịch 5	0,750

1.1. Sắc ký đồ tạp liên quan

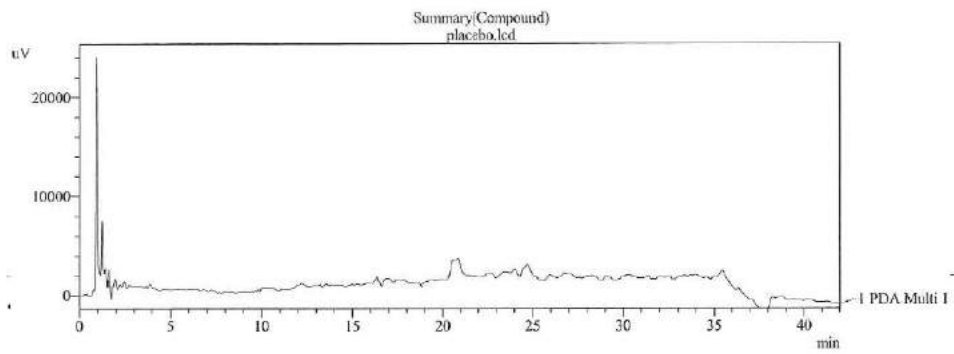




1 PDA Multi 1/205nm 4nm



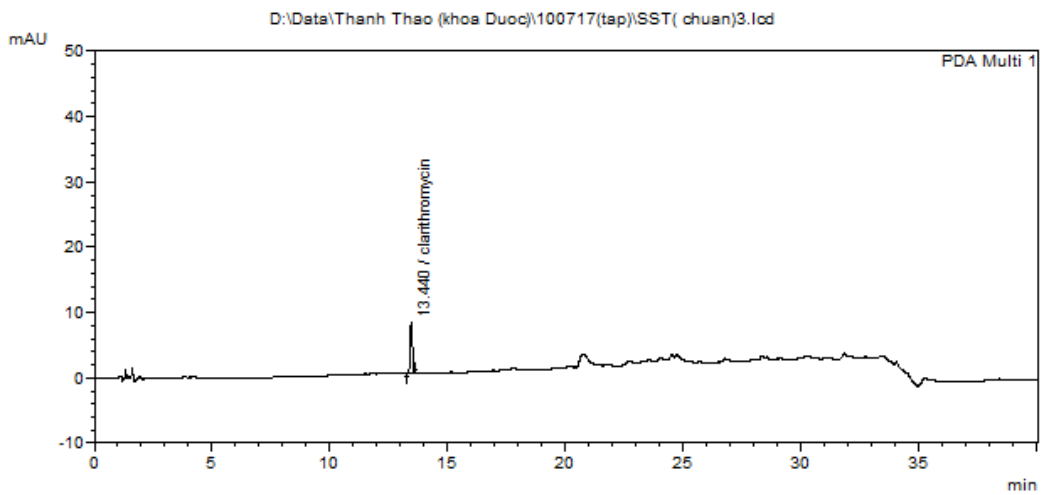
1 PDA Multi 1/205nm 4nm



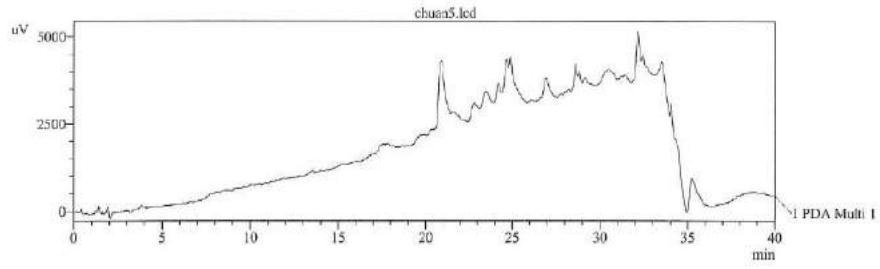
<< PDA >>

ID#1 Compound Name: Caffein

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Tailing Factor	theoretical Plat
placebo.lcd	tap	tap	0.000	0	0.000	0.000
Average			0.000	0	0.000	0.000
%RSD			0.000	0.000	0.000	0.000
Maximum			0.000	0	0.000	0.000
Minimum			0.000	0	0.000	0.000
Standard Deviation			0.000	0	0.000	0.000



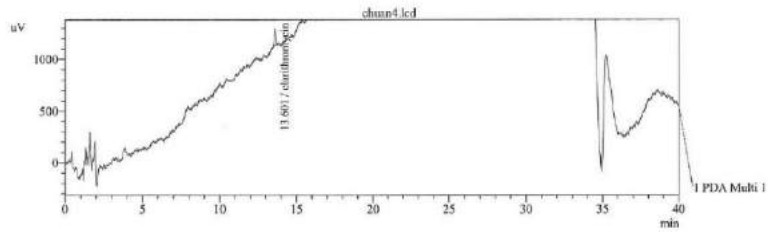
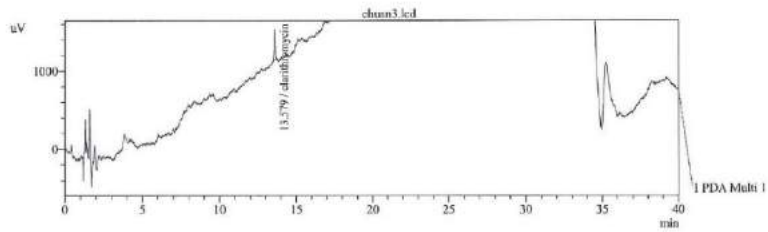
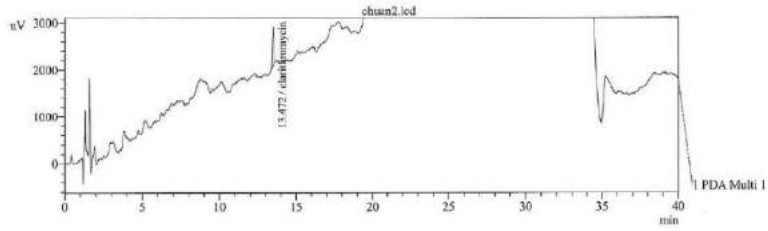
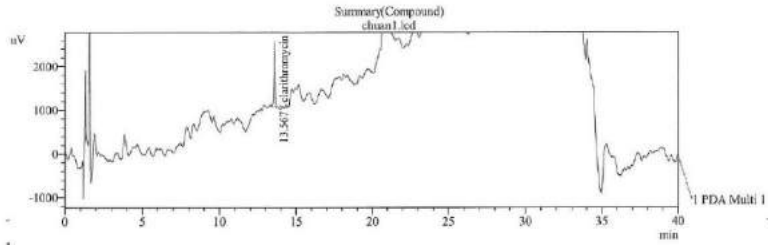
1 PDA Multi 1/205nm 4nm



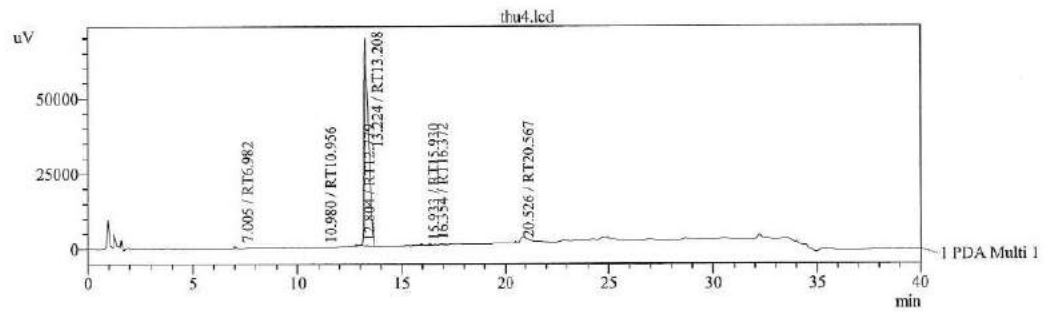
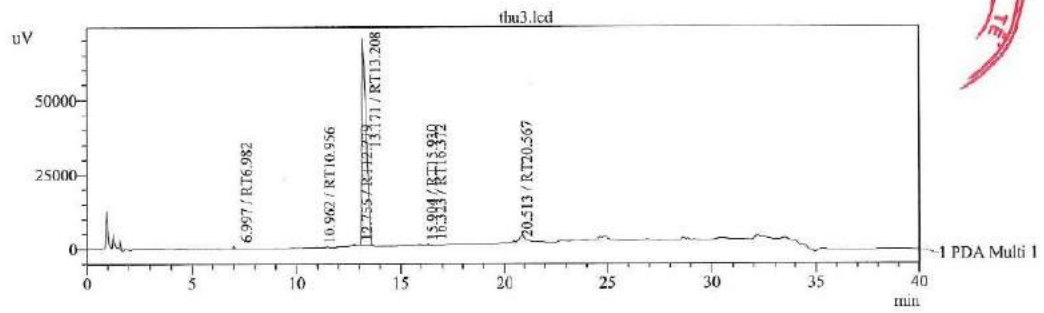
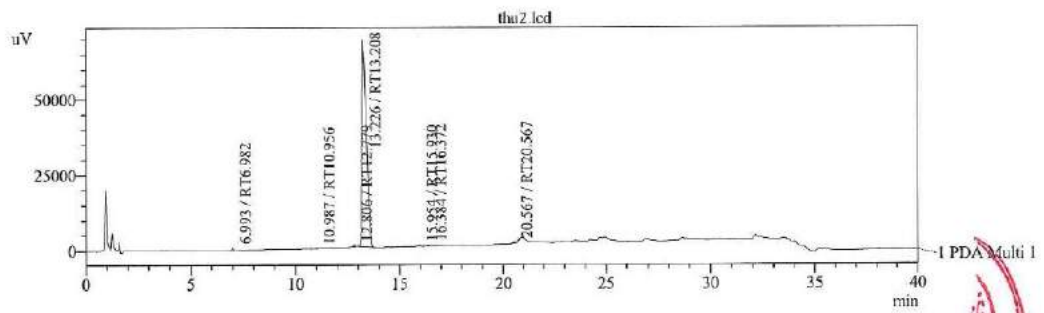
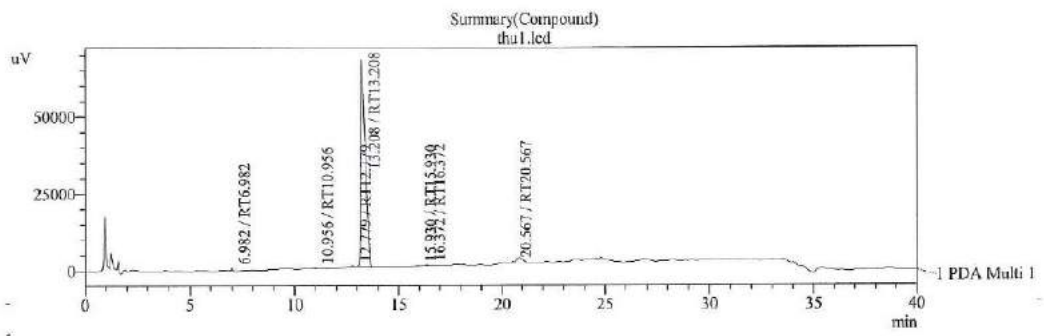
<< PDA >>

ID#1 Compound Name: clarithromycin

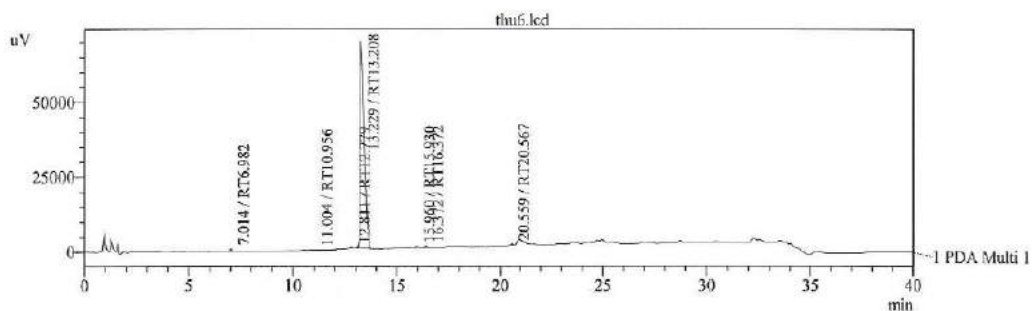
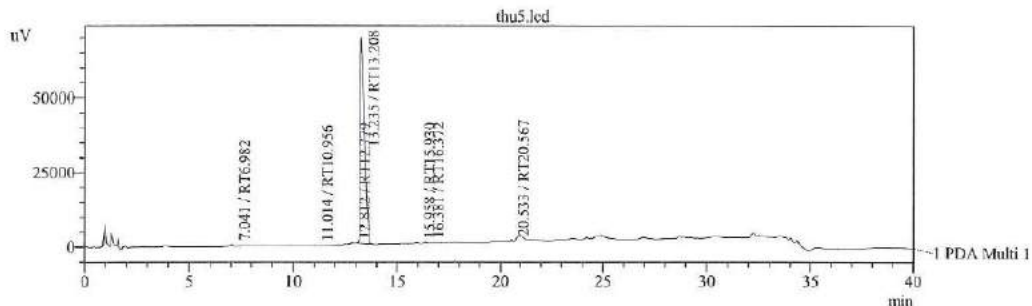
Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Tailing Factor	theoretical Plate
chuan1.lcd	clarithromycin	clarithromycin	13.567	9569	0.912	90128.831
chuan2.lcd	clarithromycin	clarithromycin	13.472	5120	1.027	88988.081
chuan3.lcd	clarithromycin	clarithromycin	13.579	2254	0.931	101391.502
chuan4.lcd	clarithromycin	clarithromycin	13.601	1107	0.953	64964.763
chuan5.lcd	clarithromycin	clarithromycin	0.000	0	0.000	0.000
Average			13.555	4512	0.956	86368.294
%RSD			0.419	83.545	5.302	17.747
Maximum			13.601	9569	1.027	101391.502
Minimum			13.472	1107	0.912	64964.763
Standard Deviation			0.057	3770	0.051	15327.674



1
2
3
4
5



TE
C



<< PDA >>

ID#1 Compound Name: RT6.982

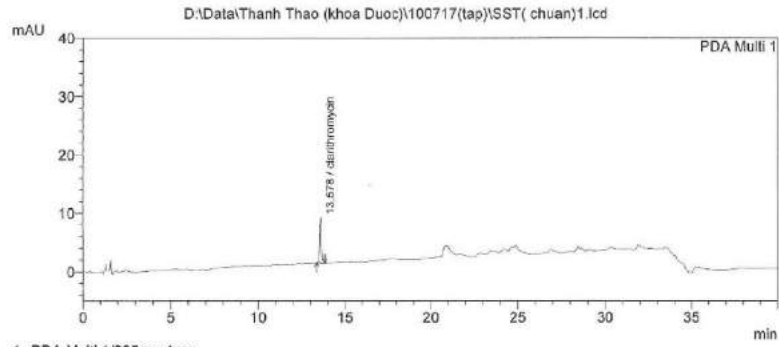
Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Tailing Factor	theoretical Plate
thu1.led	clarithromycin	clarithromycin	6.982	4406	0.979	28300.968
thu2.led	clarithromycin	clarithromycin	6.993	3637	1.012	33695.355
thu3.led	clarithromycin	clarithromycin	6.997	3866	0.973	36342.408
thu4.led	clarithromycin	clarithromycin	7.005	3572	0.937	36351.414
thu5.led	clarithromycin	clarithromycin	7.041	624	0.979	71395.772
thu6.led	clarithromycin	clarithromycin	7.014	3353	0.927	41572.721
Average			7.005	3243	0.968	41276.440
%RSD			0.293	41.082	3.200	37.245
Maximum			7.041	4406	1.012	71395.772
Minimum			6.982	624	0.927	28300.968
Standard Deviation			0.021	1332	0.031	15373.342

ID#2 Compound Name: RT10.956

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Tailing Factor	theoretical Plate
thu1.led	clarithromycin	clarithromycin	10.956	1569	1.389	57503.209
thu2.led	clarithromycin	clarithromycin	10.987	724	0.930	75569.506
thu3.led	clarithromycin	clarithromycin	10.962	867	1.085	76545.182
thu4.led	clarithromycin	clarithromycin	10.980	650	1.297	75124.800
thu5.led	clarithromycin	clarithromycin	11.014	671	0.925	96230.287
thu6.led	clarithromycin	clarithromycin	11.004	672	0.931	67257.887
Average			10.984	859	1.093	74705.145
%RSD			0.207	41.551	18.767	17.132
Maximum			11.014	1569	1.389	96230.287
Minimum			10.956	650	0.925	57503.209
Standard Deviation			0.023	357	0.205	12798.507

ID#3 Compound Name: RT12.779

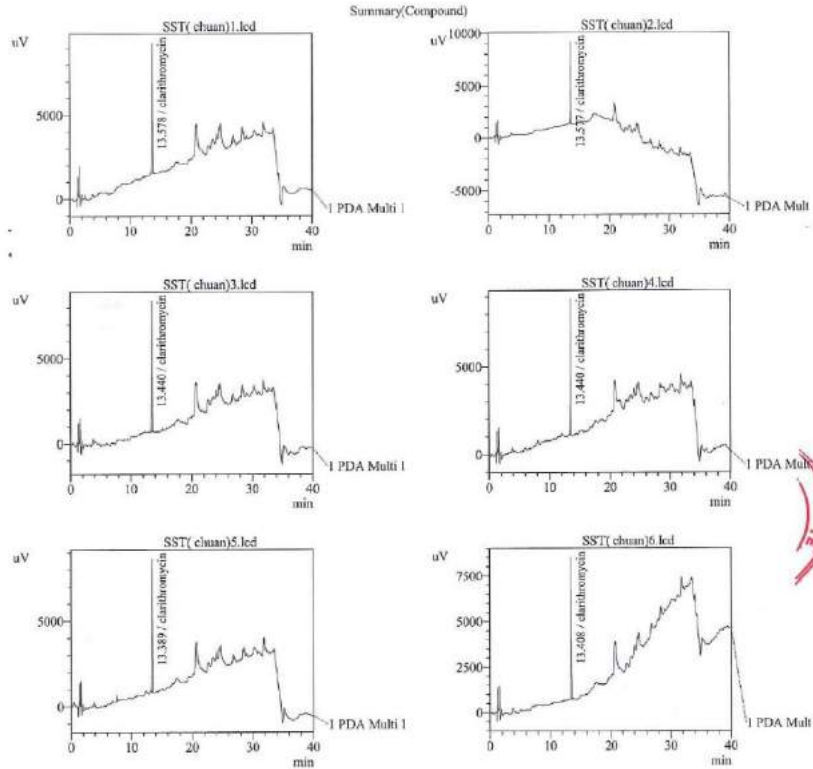
Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Tailing Factor	theoretical Plate
thu1.led	clarithromycin	clarithromycin	12.779	2308	0.987	93402.080
thu2.led	clarithromycin	clarithromycin	12.806	2219	0.945	98837.944
thu3.led	clarithromycin	clarithromycin	12.755	1957	1.318	117450.933
thu4.led	clarithromycin	clarithromycin	12.804	2134	0.960	97130.211
thu5.led	clarithromycin	clarithromycin	12.812	1986	1.004	122589.928
thu6.led	clarithromycin	clarithromycin	12.811	2245	0.835	105404.788
Average			12.794	2142	1.008	105802.647
%RSD			0.179	6.693	16.178	11.144
Maximum			12.812	2308	1.318	122589.928
Minimum			12.755	1957	0.835	93402.080
Standard Deviation			0.023	143	0.163	11791.064



1 PDA Multi 1/205nm 4nm

PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Area %	Theoretical Plate#	Tailing Factor	Resolution
1	13.578	50324	100.000	85046.093	1.153	0.000
Total		50324	100.000			



<< PDA >>

ED#1 Compound Name: clarithromycin

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Tailing Factor	theoretical Plat
SST(chuan)1.lcd	clarithromycin	clarithromycin	13.578	50324	1.153	85046.093
SST(chuan)2.lcd	clarithromycin	clarithromycin	13.577	50523	1.138	84036.645
SST(chuan)3.lcd	clarithromycin	clarithromycin	13.440	50135	1.120	81668.443
SST(chuan)4.lcd	clarithromycin	clarithromycin	13.440	50406	1.156	81887.976
SST(chuan)5.lcd	clarithromycin	clarithromycin	13.389	49993	1.153	82599.746
SST(chuan)6.lcd	clarithromycin	clarithromycin	13.408	50102	1.131	82674.366
Average			13.472	50247	1.139	81985.545
%RSD			0.622	0.403	1.133	2.153
Maximum			13.578	50523	1.153	82674.366
Minimum			13.389	49993	1.120	81668.443

PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Area %	Theoretical Plate#	Tailing Factor	Resolution
1	6.901	12600	0.902	13244.745	0.891	0.000
2	10.396	1359	0.097	49600.216	1.006	16.387
3	10.903	5329	0.381	54823.859	1.011	2.721
4	12.122	6766	0.484	77371.313	0.916	6.758
5	12.730	4375	0.313	161464.232	0.927	4.037
6	13.112	1355484	96.989	9857.177	3.533	1.168
7	15.907	2402	0.172	176306.515	0.889	8.222
8	16.347	1458	0.104	242328.283	0.916	3.099
9	16.644	337	0.024	325252.968	0.682	2.373
10	20.552	6275	0.449	285761.216	0.961	28.895
11	22.376	1181	0.084	248620.664	1.032	10.944
Total		1397566	100.000			

1.2. Xác định tạp chất liên quan CLA nguyên liệu

Bảng Kết quả phù hợp hệ thống (Dung dịch hỗn hợp các tạp chuẩn CLA)

Tạp	Thời gian lưu (phút)						Trung bình	RSD (%)
	1	2	3	4	5	6		
A	6.948	6.926	6.958	6.959	6.948	6.901	6.940	0.324
L	10.445	10.395	10.222	10.450	10.406	10.396	10.386	0.806
B	10.946	10.891	10.941	10.937	10.898	10.903	10.919	0.225
C	12.154	12.085	12.134	12.140	12.100	12.122	12.123	0.213
D	12.746	12.666	12.725	12.733	12.694	12.730	12.716	0.235
CLA	13.130	13.046	13.108	13.115	13.073	13.112	13.097	0.240
E	15.190	15.827	15.895	15.872	15.825	15.907	15.753	1.763
F	16.352	16.268	16.339	16.316	16.262	16.347	16.314	0.245
P	16.640	16.545	16.634	16.591	16.551	16.644	16.601	0.272
G	20.544	20.506	20.562	20.527	20.475	20.552	20.528	0,158
H	22.257	22.200	22.309	22.321	22.283	22.376	22.291	0.269

Từ kết quả phân tích xác định tạp chất liên quan đến CLA cho nhận định:

Thời gian lưu tương đối so với CLA của tạp chất I khoảng 0,38; của tạp chất A khoảng 0,42; của tạp chất J khoảng 0,63; của tạp chất L khoảng 0,74; của tạp chất B khoảng 0,79; của tạp chất M khoảng 0,81; của tạp chất C khoảng 0,89; của tạp chất D khoảng 0,96; của tạp chất N khoảng 1,15; của tạp chất E khoảng 1,27; của tạp chất F khoảng 1,33; của tạp chất P khoảng 1,35; của tạp chất O khoảng 1,41; của tạp chất K khoảng 1,59; của tạp chất G khoảng 1,72 và của tạp chất H khoảng 1,82.

Kết quả xác định được tính hệ thống phù hợp trong phân tích tạp CLA trong nguyên liệu có $RSD \leq 2\%$.

Kết quả hệ số hiệu chỉnh:

Để tính toán hàm lượng các tạp chất, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng. Tạp chất G có hệ số hiệu chỉnh bằng 0.27; tạp chất H có hệ số hiệu chỉnh bằng 0,15. Dùng dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất G và H.

Từng tạp chất có diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (1.0%) và không được có quá 4 pic tạp chất lớn hơn 0.8 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (0.4%).

Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 7 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (3.5%).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (0,1%). Bỏ qua các pic rửa giải ra trước tạp chất I và các pic rửa giải ra sau tạp chất H.

Ghi chú các tạp chất xác định:

- Tạp chất A: CLA F;
- Tạp chất B: 6-O-methyl-15-norerythromycin A;
- Tạp chất C: 6-O-methylerythromycin A (E)-9-oxim;
- Tạp chất D: 3''-N-demethyl-6-O-methylerythromycin A;
- Tạp chất E: 6,11-di-O-methylerythromycin A;
- Tạp chất F: 6,12-di-O-methylerythromycin A;
- Tạp chất G: (6-O-methylerythromycin A (E)-9-(O-methyloxim));
- Tạp chất H: 3''-N-demethyl-3'-N-formyl-6-O-methylerythromycin A;
- Tạp chất I: 3-O-decladinosyl-6-O-methylerythromycin A;
- Tạp chất J: Erythromycin A (E)-9-oxim;
- Tạp chất K: (1S,2R,5R,6S,7S,8R,9R,11Z)-2-ethyl-6-hydroxy-9-methoxy-1,5,7,9,11,13-hexamethyl-8-[[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-β-D-xylo-hexopy-

ranosyl]-oxy]-3,15-dioxabicyclo[10.2.1]pentadeca-11,13-dien-4-on (3-O-decladinosyl-8,9:10,11-dianhydro-6-O-methylerythromycin A-9,12-hemiketal;

- Tạp chất L: 6-O-methylerythromycin A (Z)-9-oxim;
- Tạp chất M: 3''-N-demethyl-6-O-methylerythromycin A (E)-9-oxim;
- Tạp chất N: (10E)-10,11-didehydro-11-deoxy-6-O-methylerythromycin A;
- Tạp chất O: 6-O-methylerythromycin A (Z)-9-(O-methyloxim);
- Tạp chất P: 4',6-di-O-methylerythromycin A.

1.2. Giới hạn phát hiện CLA và độ lặp lại

Giới hạn phát hiện

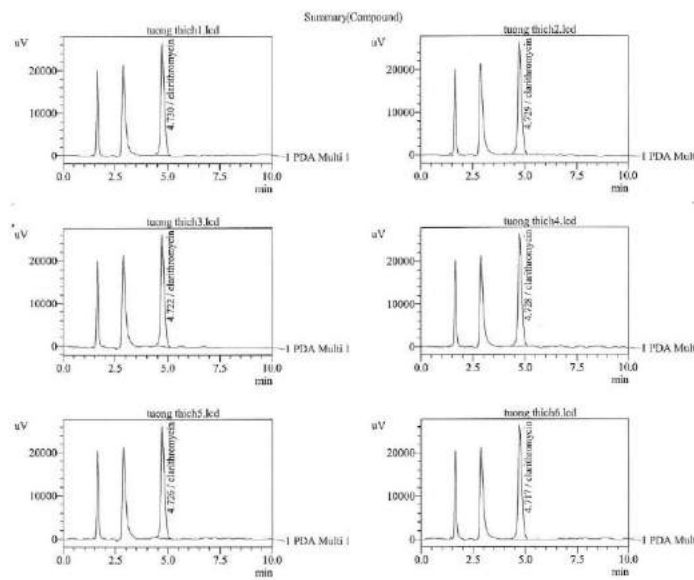
Dung dịch đối chiếu (1)		Dãy dung dịch	Nồng độ (µg/ml)	Diện tích pic	LOD (µg/ml)
Lượng cân (mg)	Độ pha loãng (ml)				
74.96	50	Dung dịch 1	14,992	9569	1,499
		Dung dịch 2	7,496	5120	
		Dung dịch 3	3,748	2254	
		Dung dịch 4	1,499	1107	
		Dung dịch 5	0,750	Không phát hiện	

Độ lặp lại

Mẫu	Đối chiếu		Tạp						Tổng tạp (%)
			A	B	D	E	F	G	
Mẫu 1	5120	Diện tích	4406	1569	2308	1618	2568	1839	0,025
		% tạp	0,008	0,003	0,005	0,003	0,005	0,001	
Mẫu 2		Diện tích	3637	724	2219	1808	3309	2568	

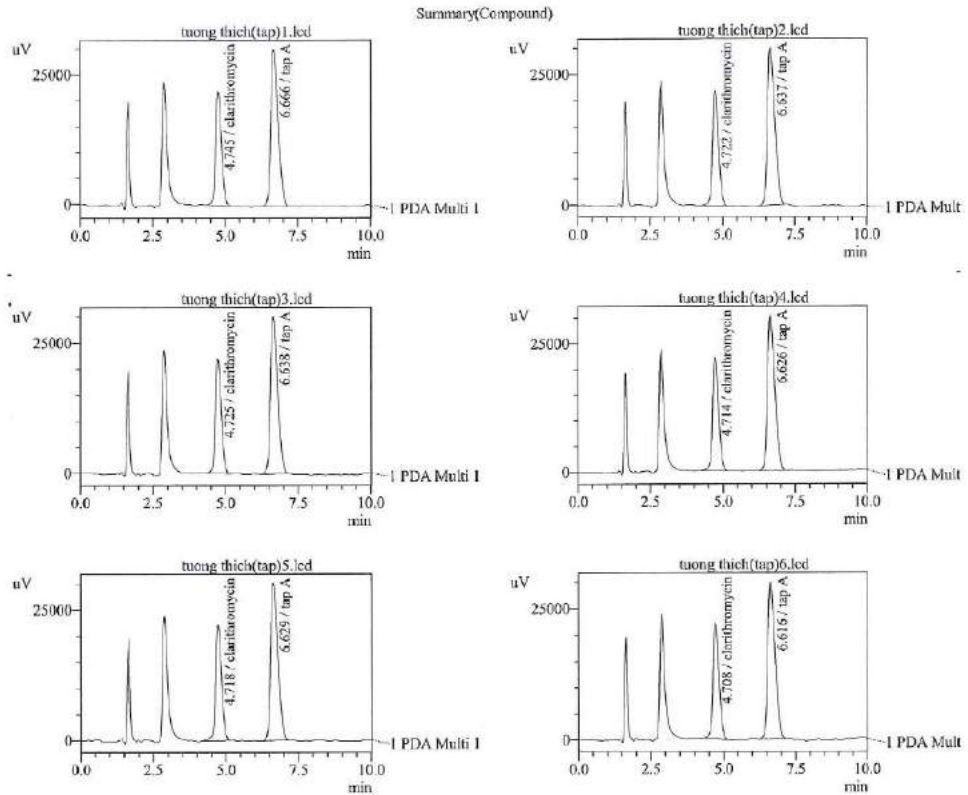
		% tạp	0,007	-	0,004	0,004	0,006	0,001	0,022
Mẫu 3	Diện tích		3866	867	1957	1695	1985	295	
	% tạp		0,008	-	0,004	0,003	0,004	-	0,019
Mẫu 4	Diện tích		3572	650	2134	2178	3188	1502	
	% tạp		0,007	-	0,004	0,004	0,006	0,0008	0,022
Mẫu 5	Diện tích		624	671	1986	1637	3275	2141	
	% tạp		-	-	0,004	0,003	0,006	0,001	0,015
Mẫu 6	Diện tích		3353	672	2245	1826	3230	2758	
	% tạp		0,006	-	0,004	0,004	0,006	0,001	0,021

Kết quả thẩm định định tính, định lượng CLA bằng phương pháp HPLC



<< PDA >>
ID#1 Compound Name: clarithromycin

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Tailing Factor	Corrected Plat
tuong thich1_led	clarithromycin	clarithromycin	4.730	311836	1.318	3615.219
tuong thich2_led	clarithromycin	clarithromycin	4.729	311842	1.319	3604.962
tuong thich3_led	clarithromycin	clarithromycin	4.722	309417	1.315	3504.715
tuong thich4_led	clarithromycin	clarithromycin	4.728	310858	1.322	3624.925
tuong thich5_led	clarithromycin	clarithromycin	4.726	307245	1.345	3582.114
tuong thich6_led	clarithromycin	clarithromycin	4.717	313950	1.316	3590.098
Average			4.722	311075	1.323	3600.331
%RSD			0.168	0.795	0.858	0.485
Maximum			4.730	313950	1.345	3624.925
Minimum			4.717	307245	1.315	3582.114
Standard Deviation			0.005	2472	0.011	17.479



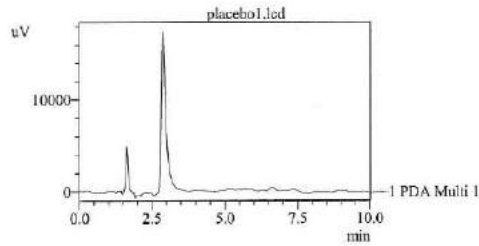
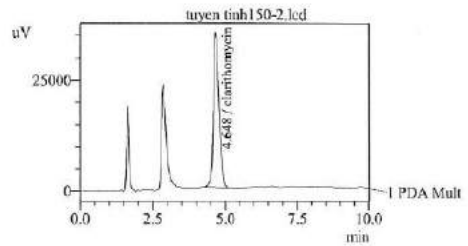
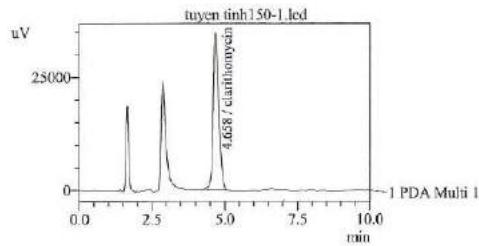
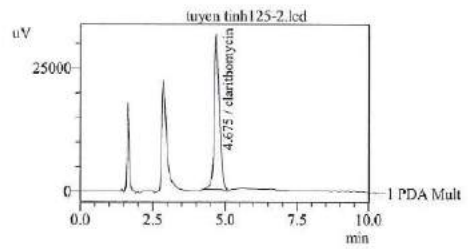
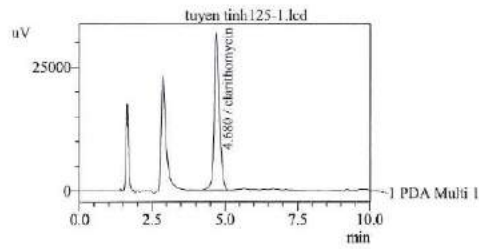
<< PDA >>

ID#1 Compound Name: clarithromycin

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Tailing Factor	theoretical Peak
tuong thich(tap)1.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.745	308632	1.285	2637.003
tuong thich(tap)2.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.722	311181	1.273	2583.853
tuong thich(tap)3.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.725	313396	1.280	2569.938
tuong thich(tap)4.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.714	315205	1.258	2550.509
tuong thich(tap)5.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.718	316453	1.216	2565.649
tuong thich(tap)6.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.708	316594	1.256	2500.991
Average			4.722	313577	1.262	2567.991
%RSD			0.269	1.011	1.985	1.726
Maximum			4.745	316594	1.285	2637.003
Minimum			4.708	308632	1.216	2500.991
Standard Deviation			0.013	3170	0.025	44.313

ID#2 Compound Name: tap A

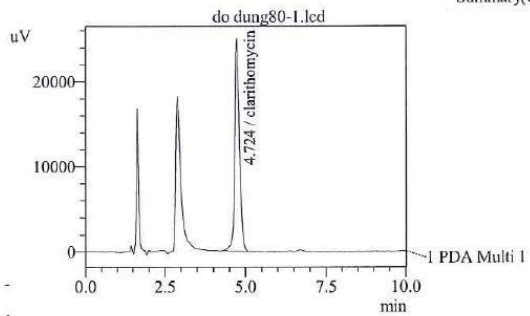
Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Tailing Factor	secretion Peak
tuong thich(tap)1.lcd	clarithromycin	clarithromycin	6.666	523309	1.454	3232.428
tuong thich(tap)2.lcd	clarithromycin	clarithromycin	6.637	521286	1.456	3186.237
tuong thich(tap)3.lcd	clarithromycin	clarithromycin	6.638	522860	1.448	3197.697
tuong thich(tap)4.lcd	clarithromycin	clarithromycin	6.626	525079	1.437	3167.631
tuong thich(tap)5.lcd	clarithromycin	clarithromycin	6.629	521137	1.441	3179.094
tuong thich(tap)6.lcd	clarithromycin	clarithromycin	6.616	521074	1.451	3163.899
Average			6.635	522458	1.448	3187.831
%RSD			0.258	0.306	0.501	0.787
Maximum			6.666	525079	1.456	3232.428
Minimum			6.616	521074	1.437	3163.899
Standard Deviation			0.017	1599	0.007	25.083



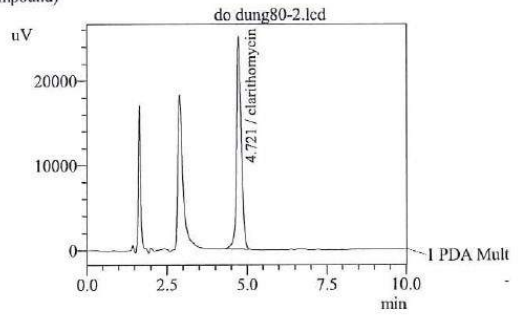
<< PDA >>

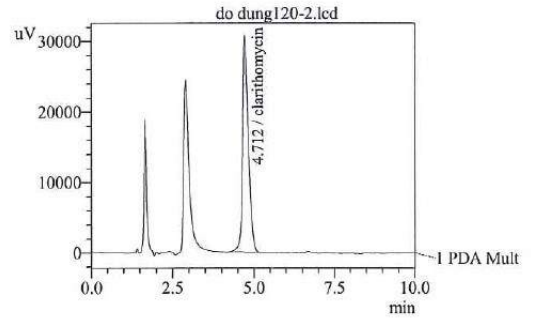
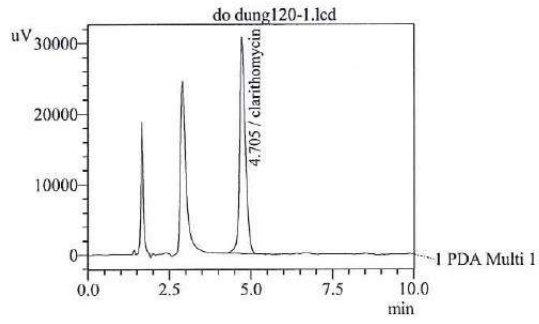
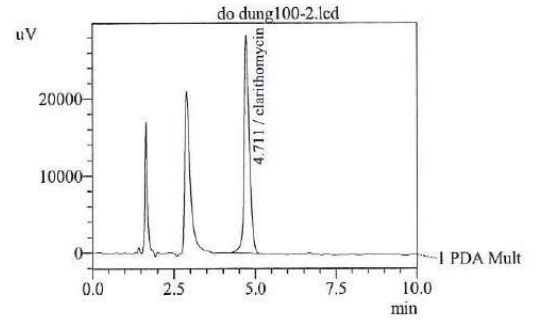
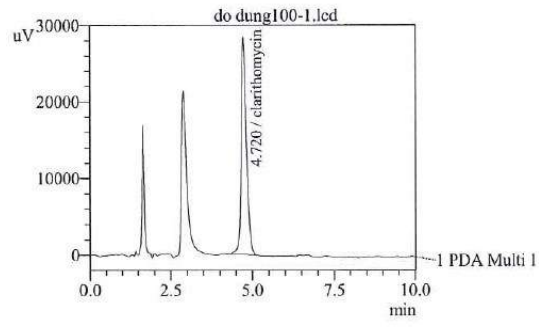
ID#1 Compound Name: clarithromycin

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Tailing Factor	theoretical Plate
tuyen tinh 2-1.led	clarithromycin	clarithromycin	4.728	12254	0.962	9403.265
tuyen tinh 2-2.led	clarithromycin	clarithromycin	4.726	12883	1.012	8817.207
tuyen tinh 10-1.led	clarithromycin	clarithromycin	4.750	30577	0.885	9323.115
tuyen tinh 10-2.led	clarithromycin	clarithromycin	4.747	30579	0.895	9139.277
tuyen tinh 50-1.led	clarithromycin	clarithromycin	4.733	153368	1.138	6142.346
tuyen tinh 50-2.led	clarithromycin	clarithromycin	4.728	152145	1.126	6057.257
tuyen tinh 75-1.led	clarithromycin	clarithromycin	4.700	232285	1.288	4531.265
tuyen tinh 75-2.led	clarithromycin	clarithromycin	4.692	233337	1.263	4531.723
tuyen tinh 125-1.led	clarithromycin	clarithromycin	4.680	389079	1.364	3278.691
tuyen tinh 125-2.led	clarithromycin	clarithromycin	4.675	389099	1.348	3278.543
tuyen tinh 150-1.led	clarithromycin	clarithromycin	4.658	463328	1.381	2742.880
tuyen tinh 150-2.led	clarithromycin	clarithromycin	4.648	464035	1.395	2735.788
placebo.led	clarithromycin	clarithromycin	0.000	0	0.000	0.000
Average			4.705	213581	1.172	5831.780
%RSD			0.735	82.634	16.577	46.384
Maximum			4.750	464035	1.395	9403.265
Minimum			4.648	12254	0.885	2735.788
Standard Deviation			0.035	176491	0.194	2705.042



Summary(Compound)

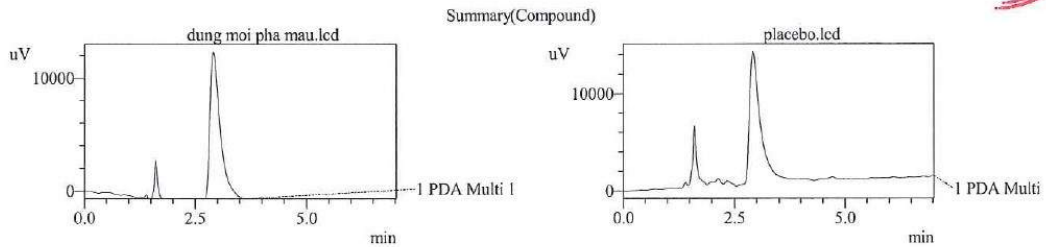




<< PDA >>

ID#1 Compound Name: clarithromycin

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Tailing Factor	theoretical Plat
do dung80-1.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.724	256805	1.229	4730.782
do dung80-2.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.721	256892	1.229	4749.516
do dung80-3.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.726	257425	1.231	4740.272
do dung80-4.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.724	256638	1.223	4725.520
do dung80-5.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.717	256988	1.227	4731.487
do dung80-6.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.723	257624	1.222	4732.886
do dung100-1.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.720	315028	1.312	4008.539
do dung100-2.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.711	318130	1.308	3965.127
do dung100-3.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.722	315717	1.307	4007.531
do dung100-4.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.717	315493	1.304	4005.604
do dung100-5.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.706	316795	1.315	3994.755
do dung100-6.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.709	317706	1.319	3992.572
do dung120-1.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.705	380608	1.370	3269.891
do dung120-2.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.712	378591	1.377	3312.964
do dung120-3.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.699	378940	1.376	3289.880
do dung120-4.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.707	378755	1.383	3305.437
do dung120-5.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.710	377730	1.390	3315.685
do dung120-6.lcd	clarithromycin	clarithromycin	4.730	377750	1.374	3363.834
Average			4.716	317423	1.305	4013.460
%RSD			0.184	16.106	4.894	14.932
Maximum			4.730	380608	1.390	4749.516
Minimum			4.699	256638	1.222	3269.891
Standard Deviation			0.009	51123	0.064	599.282



<< PDA >>

ID#1 Compound Name: Caffein

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Height	Conc.
dung moi pha mau.lcd	Clarithromycin	Clarithromycin	0.000	0	0	0.000
placebo.lcd	Clarithromycin	Clarithromycin	0.000	0	0	0.000
Average			0.000	0	0	0.000
%RSD			0.000	0.000	0.000	0.000
Maximum			0.000	0	0	0.000
Minimum			0.000	0	0	0.000
Standard Deviation			0.000	0	0	0.000

Phụ lục 2. Quy trình và thẩm định quy trình định lượng CLA bằng phương pháp HPLC trong độ hòa tan và kết quả các sắc ký đồ liên quan

2.1. Quy trình và thẩm định quy trình định lượng CLA bằng Phương pháp HPLC trong độ hòa tan

Tính tương thích hệ thống

Tính tương thích hệ thống được xác định bằng cách đo lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn có nồng độ CLA khoảng 0,56 mg/ml, lượng cân và độ pha loãng được thực hiện với độ pha loãng 50 lần.

Tính đặc hiệu

Để đảm bảo kết quả định lượng hàm lượng chất cần phân tích là chính xác, tránh sự nhiễu của các thành phần khác có trong mẫu. Tiến hành sắc ký các loại mẫu sau theo quy trình phân tích.

Cách tiến hành:

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 28 mg CLA cho vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 30 ml dung dịch HCl 0,1 N, lắc kỹ cho tan, thêm dung dịch HCl 0,1 N vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng KLTB viên 862 mg cho vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 50 ml dung dịch HCl 0,1 N, lắc kỹ cho tan, thêm dung dịch HCl 0,1 N vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch placebo: Cân một lượng placebo tương ứng với KLTB viên 862 mg (placebo là các thành phần trong viên trừ hoạt chất CLA) cho vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 50 ml dung dịch HCl 0,1 N, lắc kỹ, thêm dung dịch HCl 0,1 N vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Tiến hành tiêm dung dịch chuẩn, dung dịch thử và dung dịch placebo vào hệ thống sắc ký, ghi nhận thời gian lưu pic CLA các mẫu.

Tính tuyến tính

Xác định sự tương quan giữa nồng độ và diện tích đỉnh của các dung dịch.

Dung dịch chuẩn gốc: Cân chính xác khoảng 28 mg CLA chuẩn cho vào bình định mức 10 ml thêm dung dịch đệm HCl 0,1 N vừa đủ thể tích, lắc đều.

Từ dung dịch gốc pha một dãy dung dịch có nồng độ khoảng từ 0,056 – 0,790 mg/ml CLA trong dung dịch HCl 0,1 N.

Vẽ đường biểu diễn tương quan giữa nồng độ và diện tích pic. Mỗi tương quan tuyến tính được thiết lập bằng cách xác định phương trình $y = ax + b$, xác định R^2 , đánh giá tính tương thích của phương trình.

Yêu cầu: $R^2 \geq 0,995$.

Độ chính xác

- Độ lặp lại

Tiến hành phân tích tối thiểu 6 mẫu thử theo mục 2.3.1.1 ở nồng độ 100%, xác định hàm lượng hoạt chất có trong các mẫu.

- Cân một lượng bột viên tương đương KLTB viên cho vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 50 ml dung dịch HCl 0,1 N, lắc kỹ cho tan, thêm dung dịch HCl 0,1 N vừa đủ đến vạch, lắc đều. Chuẩn bị 6 mẫu thử.

Yêu cầu: Phương pháp đạt độ chính xác khi $RSD \leq 2\%$.

- Độ chính xác trung gian

Tiến hành phân tích 6 mẫu thử ở nồng độ 100% tương tự như độ lặp lại nhưng tiến hành ở thời điểm khác nhau. Xác định hàm lượng hoạt chất có trong mẫu ngày thứ 1 và ngày thứ 2 (thực hiện theo sổ tay đăng ký thuốc).

Cân một lượng bột viên tương đương 56 mg CLA cho vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 50 ml dung dịch HCl 0,1 N, lắc kỹ cho tan, thêm dung dịch HCl 0,1 N vừa đủ đến vạch, lắc đều. Chuẩn bị 6 mẫu thử

Yêu cầu: Phương pháp đạt độ chính xác khi $RSD \leq 2\%$.

Độ đúng

Độ đúng được thực hiện bằng cách thêm chuẩn vào placebo. Lượng chuẩn được thêm vào mẫu placebo ở 4 mức nồng độ khoảng 20%, 40%, 80%, 120% so với nồng độ định lượng, sau đó tiến hành xử lý theo mục 2.3.1.1. Mỗi mức nồng độ tiến hành 3 lần.

Xử lý mẫu:

- Nồng độ 20 %: Cân một lượng chuẩn khoảng 5,6 mg CLA cho vào bình định mức 100 ml có chứa sẵn placebo, thêm dung dịch HCl 0,1 N, lắc kỹ cho tan, thêm dung dịch HCl 0,1 N vừa đủ đến vạch, lắc đều.

- Nồng độ 40 %: Cân một lượng chuẩn khoảng 11,2 mg CLA cho vào bình định mức 100 ml có chứa sẵn placebo, thêm dung dịch HCl 0,1 N, lắc kỹ cho tan, thêm dung dịch HCl 0,1 N vừa đủ đến vạch, lắc đều.

- Nồng độ 80 %: Cân một lượng chuẩn khoảng 22,4 mg CLA cho vào bình định mức 100 ml có chứa sẵn placebo, thêm dung dịch HCl 0,1 N, lắc kỹ cho tan, thêm dung dịch HCl 0,1 N vừa đủ đến vạch, lắc đều.

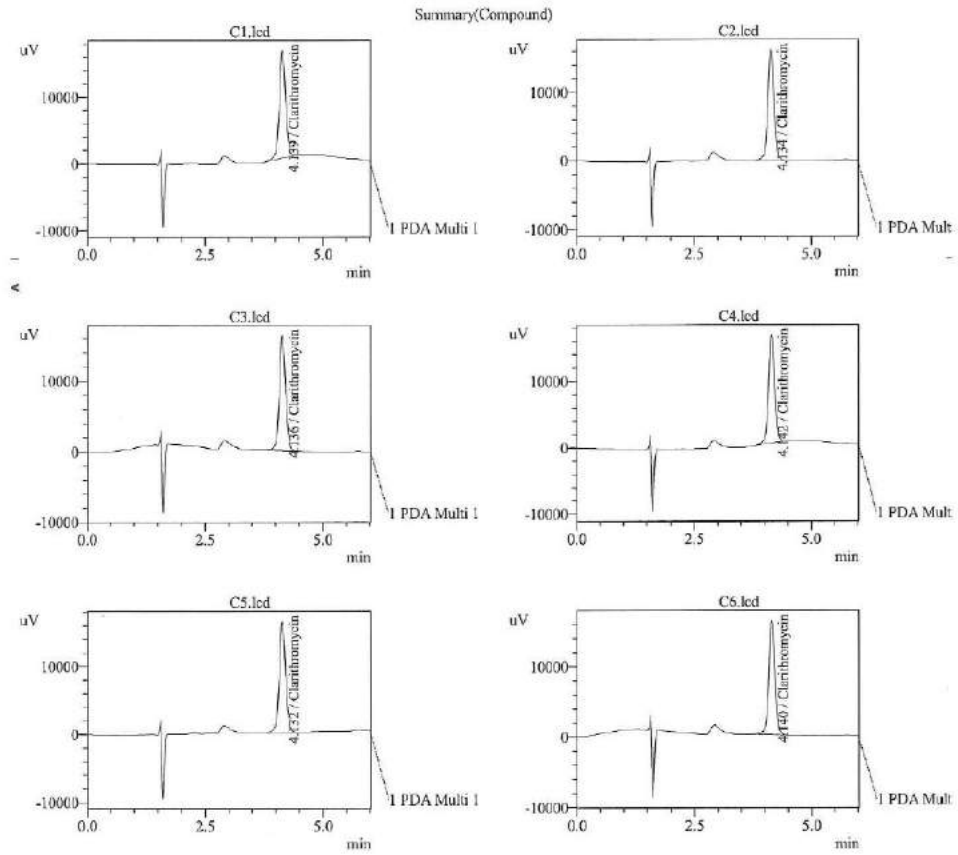
- Nồng độ 120 %: Cân một lượng chuẩn khoảng 33,6 mg CLA cho vào bình định mức 100 ml có chứa sẵn placebo, thêm dung dịch HCl 0,1 N, lắc kỹ cho tan, thêm dung dịch HCl 0,1 N vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Tính tỷ lệ phục hồi:

$$\text{Tỷ lệ hồi phục} = \frac{\text{Hàm lượng chuẩn tìm lại được}}{\text{Hàm lượng chuẩn thêm vào}} \times 100 \%$$

Yêu cầu: Phương pháp đạt độ đúng khi tỷ lệ phục hồi trong khoảng 98 – 102.

2.2. Sắc ký đồ liên quan

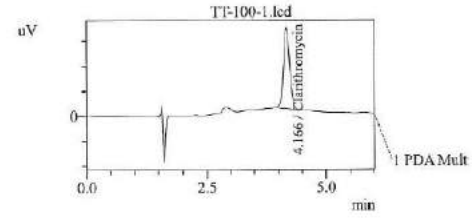
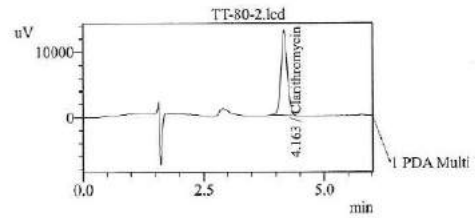
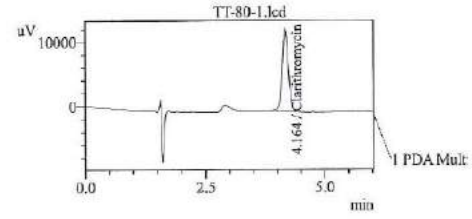
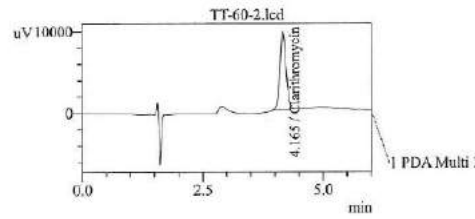
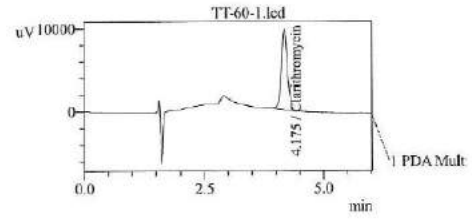
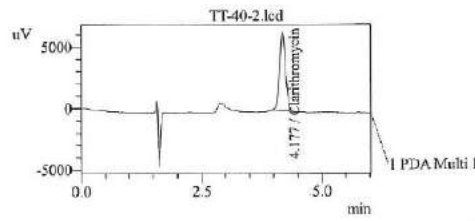
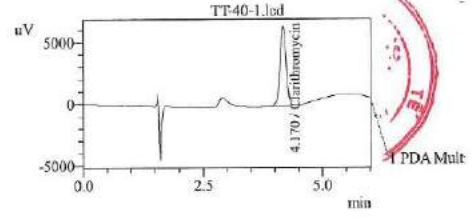
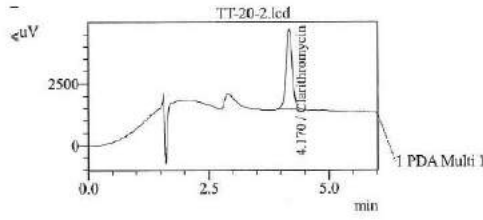
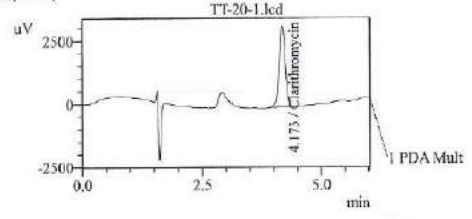
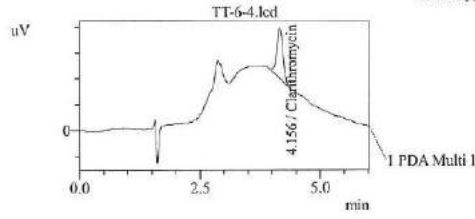


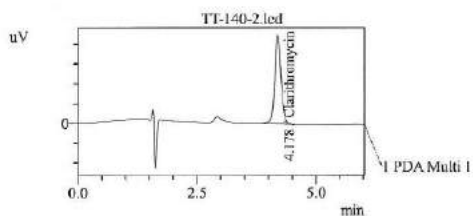
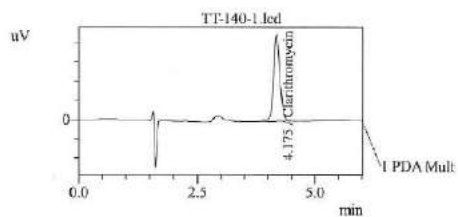
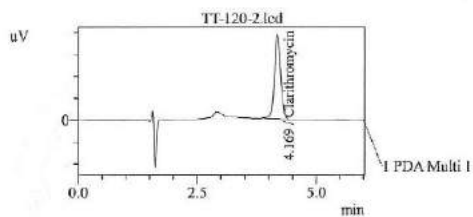
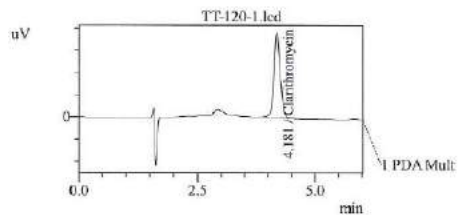
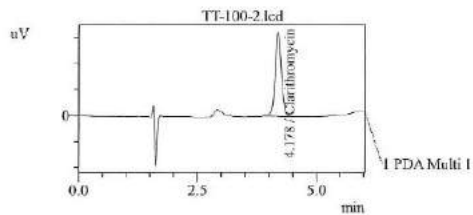
<< PDA >>

ID#1 Compound Name: Clarithromycin

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	heoretical Plat/Tailing Factor
C1.lcd			4.139	146513	4502.451 1.100
C2.lcd			4.134	146935	4484.180 1.110
C3.lcd			4.136	146125	4483.416 1.108
C4.lcd			4.142	145574	4519.571 1.108
C5.lcd			4.132	147388	4458.136 1.095
C6.lcd			4.140	146487	4493.765 1.112
Average			4.137	146505	4490.253 1.106
%RSD			0.096	0.428	0.460 0.581
Maximum			4.142	147388	4519.571 1.112
Minimum			4.132	145574	4458.136 1.095
Standard Deviation			0.004	627	20.668 0.006

Summary(Compound)

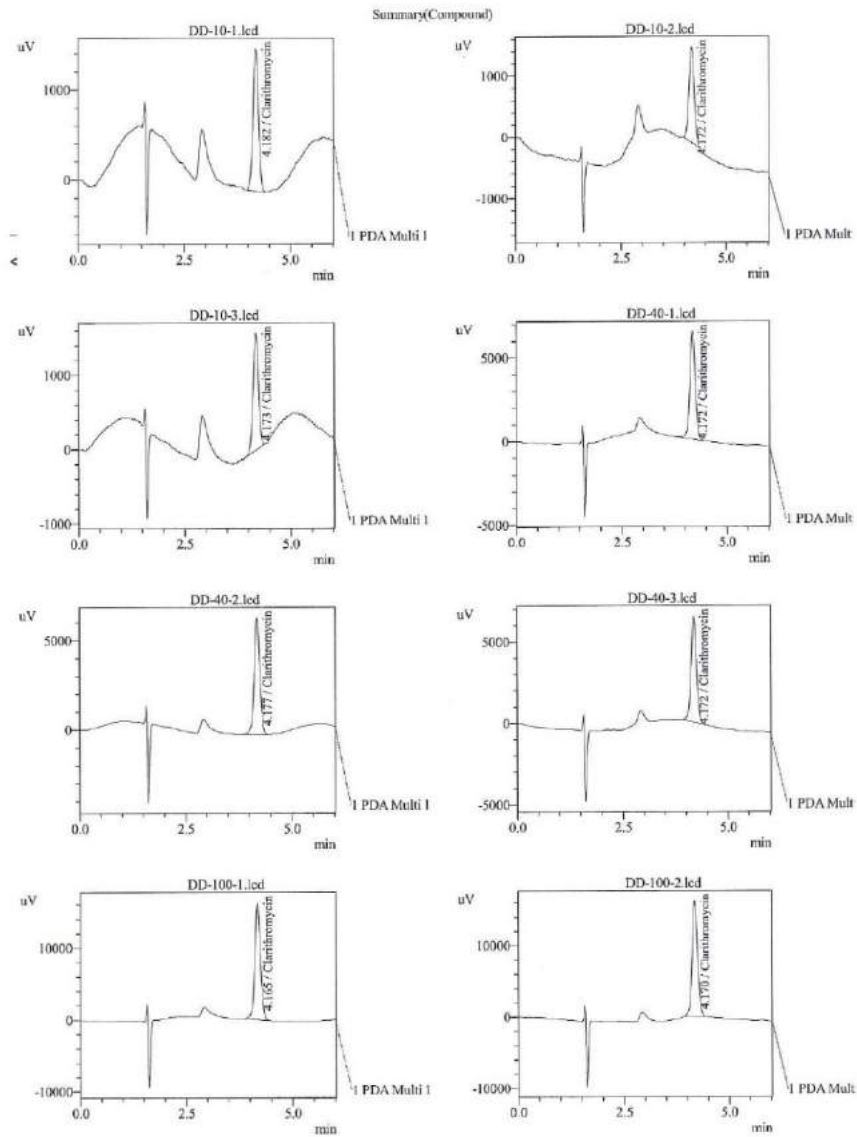




<< PDA >>

ID#1 Compound Name: Clarithromycin

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	theoretical Plot	Tailing Factor
TT-6-4.led			4.156	8525	4571.930	1.082
TT-20-1.led			4.173	28617	4584.952	1.039
TT-20-2.led			4.170	28500	4654.313	1.051
TT-40-1.led			4.170	56293	4646.445	1.049
TT-40-2.led			4.177	56307	4682.138	1.072
TT-60-1.led			4.175	85944	4615.962	1.085
TT-60-2.led			4.165	85329	4643.602	1.087
TT-80-1.led			4.164	116311	4552.468	1.093
TT-80-2.led			4.163	115245	4565.906	1.099
TT-100-1.led			4.166	143837	4525.554	1.140
TT-100-2.led			4.178	145674	4524.862	1.115
TT-120-1.led			4.181	173960	4470.152	1.150
TT-120-2.led			4.169	174235	4469.796	1.143
TT-140-1.led			4.175	205726	4434.301	1.164
TT-140-2.led			4.178	205084	4381.412	1.165
Average			4.171	108639	4554.920	1.102
%RSD			0.166	59.955	1.930	3.807
Maximum			4.181	205726	4682.138	1.165
Minimum			4.156	8525	4381.412	1.039
Standard Deviation			0.007	65135	87.912	0.042

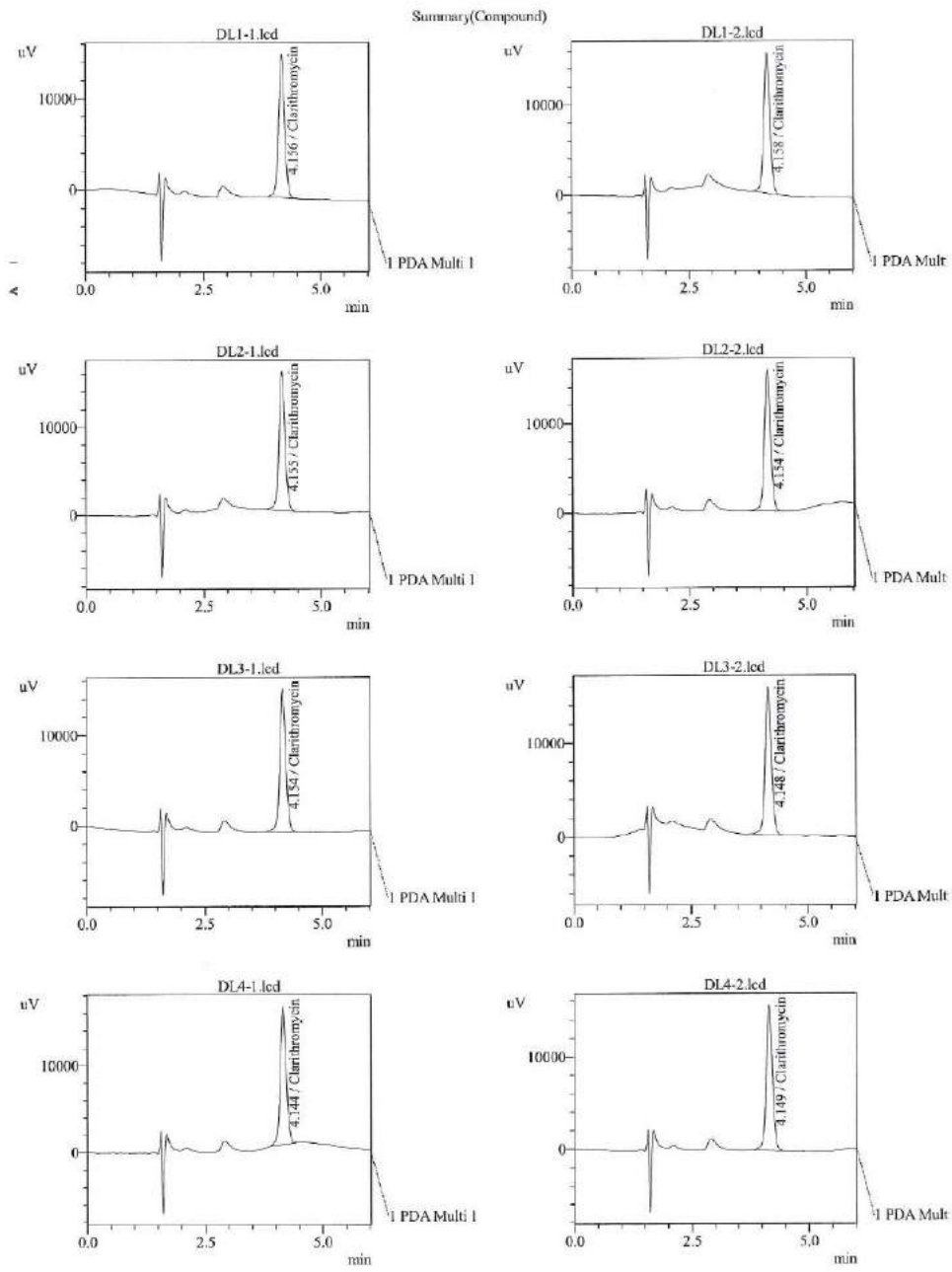


// 0.0000 //

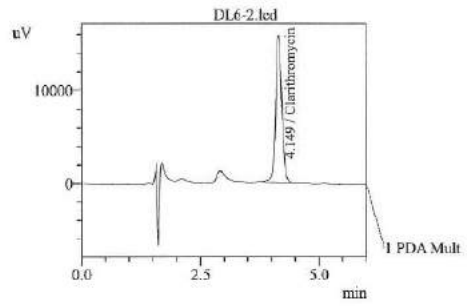
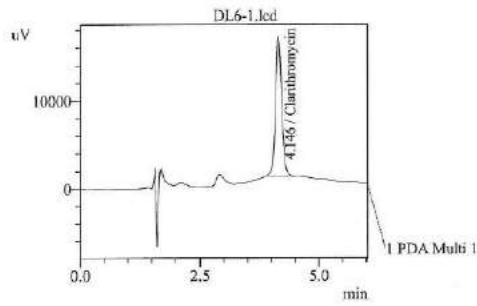
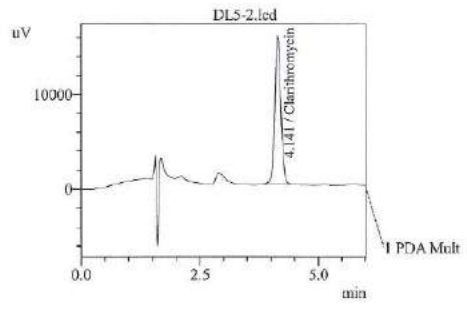
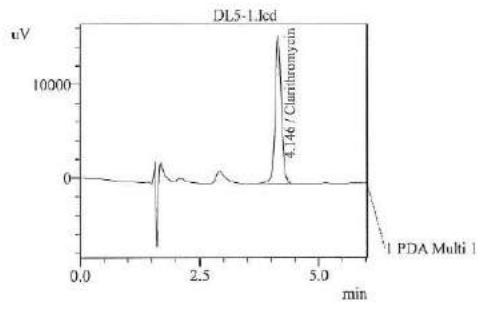
<< PDA >>

ID#1 Compound Name: Clarithromycin

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	heoretical Plat	Tailing Factor
DD-10-1.lcd			4.182	13727	4716.007	1.046
DD-10-2.lcd			4.172	13484	4662.212	1.066
DD-10-3.lcd			4.173	13467	4845.352	1.019
DD-40-1.lcd			4.172	57271	4668.242	1.053
DD-40-2.lcd			4.177	57824	4639.056	1.028
DD-40-3.lcd			4.172	57864	4621.046	1.065
DD-100-1.lcd			4.165	145873	4541.341	1.101
DD-100-2.lcd			4.170	144816	4518.383	1.119
DD-100-3.lcd			4.163	145924	4523.993	1.106
DD-120-1.lcd			4.154	177260	4461.828	1.120
DD-120-2.lcd			4.160	176208	4470.916	1.127
DD-120-3.lcd			4.158	177342	4430.370	1.128
Average			4.168	98422	4591.562	1.082
%RSD			0.198	69.687	2.657	3.675
Maximum			4.182	177342	4845.352	1.128
Minimum			4.154	13467	4430.370	1.019
Standard Deviation			0.008	68587	121.993	0.040



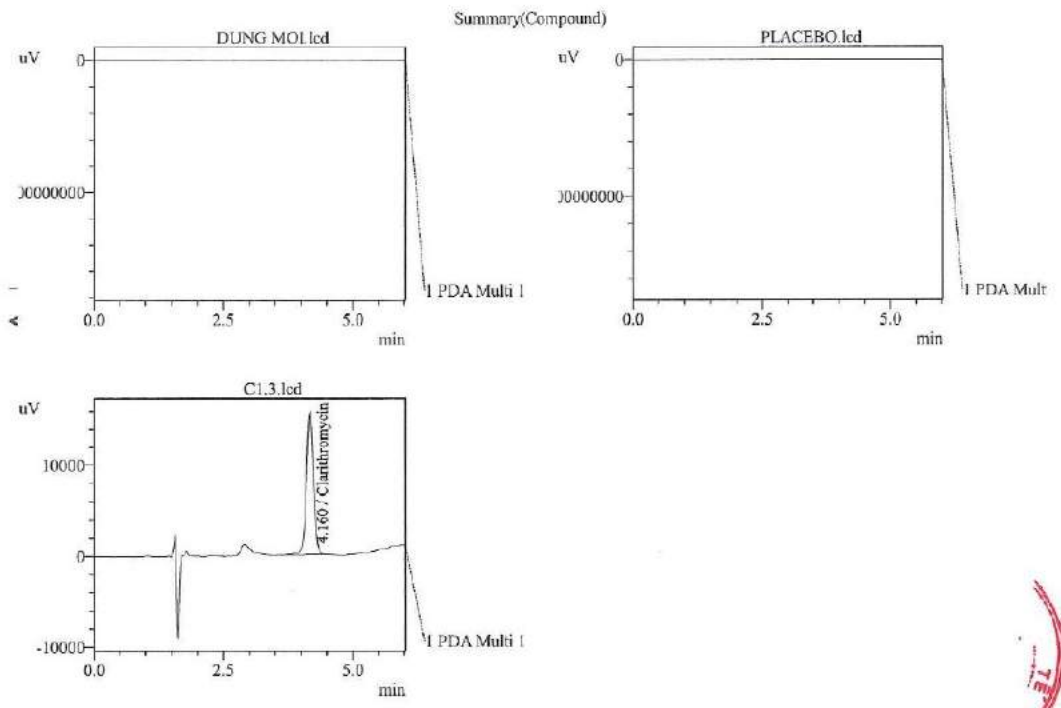
www.ijerph.com



<< PDA >>

ID#1 Compound Name: Clarithromycin

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	theoretical Plate	Tailing Factor
DL1-1.lcd			4.156	141010	4522.309	1.114
DL1-2.lcd			4.158	139719	4516.007	1.126
DL2-1.lcd			4.155	142093	4510.425	1.111
DL2-2.lcd			4.154	141955	4520.264	1.113
DL3-1.lcd			4.154	142950	4512.182	1.107
DL3-2.lcd			4.148	142328	4472.444	1.108
DL4-1.lcd			4.144	142223	4483.544	1.118
DL4-2.lcd			4.149	142159	4504.939	1.110
DL5-1.lcd			4.146	142532	4481.197	1.108
DL5-2.lcd			4.141	142252	4518.844	1.112
DL6-1.lcd			4.146	141690	4482.978	1.130
DL6-2.lcd			4.149	143236	4519.063	1.106
Average			4.150	142012	4503.683	1.114
%RSD			0.126	0.646	0.406	0.675
Maximum			4.158	143236	4522.309	1.130
Minimum			4.141	139719	4472.444	1.106
Standard Deviation			0.005	917	18.278	0.008



<< PDA >>

ID#1 Compound Name: Clarithromycin

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	heoretical Plat	Tailing Factor
DUNG MOL.lcd	Clarithromycin	Clarithromycin	0.000	0	0.000	0.000
PLACEBO.lcd	Clarithromycin	Clarithromycin	0.000	0	0.000	0.000
C1.3.lcd	Clarithromycin	Clarithromycin	4.160	144221	4530.347	1.101
Average			4.160	144221	4530.347	1.101
%RSD			0.000	0.000	0.000	0.000
Maximum			4.160	144221	4530.347	1.101
Minimum			4.160	144221	4530.347	1.101
Standard Deviation			0.000	0	0.000	0.000

Phụ lục 3. Kết quả khảo sát viên Klacid 500 mg MR

STT	Hàm lượng (mg)	Độ cứng (N)	Khối lượng (mg)
1	501,80	14,05	988,10
2	500,90	14,37	987,50
3	501,60	13,89	988,90
4	501,40	14,24	989,30
5	502,40	14,31	988,80
6	500,80	13,78	987,80
7		13,95	986,30
8		14,43	986,90
9		13,65	989,70
10		13,96	986,20
11		14,12	987,70
12		13,81	986,40
13		14,29	987,90
14		14,43	988,90
15		13,55	986,80
16		13,61	986,70
17		14,01	986,80
18		14,06	987,60
19		14,32	986,90
20		13,88	989,40
TB	501,48	14,04	987,73

Thời gian (giờ)	STT viên	% GPHC	TB	USP 40
2	1	19,1	19,2	Không quá 25%
	2	20,1		
	3	19,6		
	4	19,3		
	5	18,8		
	6	18,3		
4	1	33,1	32,8	20 - 40%
	2	32,3		
	3	33,1		
	4	33,6		
	5	31,9		
	6	32,8		
8	1	67,7	68,3	45-75%
	2	69,4		
	3	68,1		
	4	67,5		
	5	68,9		
	6	68,2		
12	1	89,7	90,1	≥ 80%
	2	89,9		
	3	90,3		
	4	90,5		
	5	90,2		
	6	90,0		

Phụ lục 4. COA nguyên liệu và kết quả đánh giá đặc tính của tá dược

4.1. Kết quả kiểm nghiệm nguyên liệu

27265
(1)



**CÔNG TY
TNHH
HÓA DƯỢC
HOÀI PHƯƠNG**



浙江国邦药业有限公司
ZHEJIANG GUOBANG PHARMACEUTICAL CO., LTD.

地址: 中国浙江省杭州湾上虞经济技术开发区五星路6号 邮编: 311369 传真: 056-575-82735575 电话: 056-575-82739355
No.6, Weiwu Road, Hangzhou Gulf Shangyu Economic and Technological Development Zone, Zhejiang, China (311369)
Fax: 056-575-82735575 Tel: 056-575-82739355

质量检验报告书 CERTIFICATE OF ANALYSIS

报告单编号 (COA NO.) TS-QCSA00109001-Report04-02 检字号 (Serial No.) E1282001002

样品名称 Product	克拉霉素 Clarithromycin	批号 Batch No.	128-200207-1
包装 Packaging Size	25kg/桶 (drum)	批量 Batch Size	665.60Kg
生产日期 MFG Date	03/03/2020 (d/m/y)	报告日期 Reporting Date	10/07/2020 (d/m/y)
执行标准 According to	EP9/1/SP42/TP2018	复测日期 Retest Date	02/03/2024 (d/m/y)
发货数量 Shipped quantity			

检验项目 (Tests)		标准规定 (Acceptance Criteria)	结果 (Results)
性状 Characters	外观 Appearance	白色或类白色结晶性粉末 White or almost white, crystalline powder.	白色结晶性粉末 White crystalline powder
	溶解性 Solubility	溶于丙酮、二氯甲烷, 微溶于无水乙醇、甲醇、乙腈和磷酸盐缓冲液 (pH=2~5) 中, 在水中几乎不溶。 Soluble in acetone, methylene chloride; slightly soluble in anhydrous ethanol, is methanol, and in acetonitrile, and in phosphate buffer at pH values of 2 to 5; practically insoluble in water.	/
鉴别 Identification	IR: 红外光谱图应与对照品的图谱一致 IR: Conforms to the spectrum of Clarithromycin RS.		符合 Conforms
	HPLC: 供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致 The retention time of the major peak of the Sample solution corresponds to that of Standard solution, as obtained in the Assay.		符合 Conforms
溶液外观 Appearance of solution	应澄清或不深于 II 号浊度标准液和不深于黄色 7 号比色液。 (0.500g/50.0ml methylene chloride) Clear or not more opalescent than reference suspension II and not more intensely coloured than reference solution Y.		符合 Conforms
比旋度 Specific optical rotation	-94° ~ -102° (Anhydrous substance, 10mg/ml methylene chloride)		-98.8°
水分 Water	≤2.0%		0.15%
灼灼残渣 Residue on ignition	≤0.2%		0.01%
结晶性 Crystallinity	应符合规定 Meets the requirements		符合 Conforms
酸度 pH	8.0 ~ 10.0		8.9
有关物质 (HPLC) Related substances	杂质 A Impurity A	≤1.0%	0.17%
	杂质 B Impurity B	≤1.0%	<0.10%
	杂质 C Impurity C	≤1.0%	<0.10%

报告人: 吴海霞 2020.09.10
Reported by:

审核人: 王... 2020.09.10
Reviewed by:

批准人: 王... 2020.09.10
Approved by:

1 / 2



**QUALITY CONTROL
CERTIFICATE OF ANALYSIS**

Date: 31.12.2020

Product	MAGNESIUM STEARATE USP 40	Batch No. : D312200064
Party Name	VIETNAM CHEMICO-PHARMACEUTICAL I.S.C.	Mfg. Date : 30/12/2020
Grade	MACCEL	Re-evaluation Date: 29/12/2025
MOA	USP/NF,JP,Ph.Eur.,BP	Batch Qty: 2000 Kgs.

Description	White, very fine, light powder, greasy to the touch, Practically insoluble in water & in anhydrous ethanol.
--------------------	---

Pharmacopoeial test items	Batch Results	Specification
Identification A (Freezing point)	Passes	Have to correspond as Ph. Eur.,BP
Identification B (Acid Value)	207	195 to 210 as Ph. Eur.,BP
Identification A (USP), D (BP,Ph.Eur)	Complies	Have to correspond as USP,BP,Ph.Eur
Identification B (USP), C (BP,Ph.Eur)	Complies	Have to correspond as USP,BP,Ph.Eur
Acidity or Alkalinity	Complies	Have to correspond as USP,BP,Ph.Eur
Chloride	Passes	NMT 0.1% as USP/NF,Ph.Eur.,BP
Sulphates	Passes	NMT 0.5% as USP/NF,Ph.Eur.,BP
Cadmium	Complies	NMT 3 PPM as USP/NF,Ph.Eur.,BP
Lead	Complies	NMT 10 PPM as USP/NF,Ph.Eur.,BP
Nickel	Complies	NMT 5 PPM as USP/NF,Ph.Eur.,BP
LOD	2.49 %	NMT 6% as USP/NF,Ph.Eur.,BP
Assay of Magnesium	4.21 %	4.0% to 5.0% as USP/NF,Ph.Eur.,BP
Fatty Acid composition	45.20 % & 97.23 %	NLT 40% of Stearic Acid & NLT 90% of sum of stearic acids & palmitic acid as USP/NF,Ph.Eur.,BP
Bulk Density	0.2280 gm/ml	0.22 to 0.35 gm/ml
Sieve Analysis		
125 mesh(%Passes Through)	99.42 %	NLT 99.00%

MICROBIAL LIMITS		
Total Viable Aerobic Count	Complies	N.M.T. 1000cfu/g as USP/NF,Ph.Eur.,BP
Total yeast & Mould Count	Complies	N.M.T 100cfu/g as USP/NF,Ph.Eur.,BP
Escherichia Coli.	Complies	Absent as USP/NF
Salmonella species	Complies	Absent as USP/NF

The raw materials, manufacturing process, and product do not contain any of solvents listed in Organic Volatile Impurities (USP<467>) & residual solvents (Ph. – Eur<5.4>).

Storage recommendation: Preserve in tight containers.

Quideh
Prepared By

T. Ong
Checked By



Rishale
Approved By

Unit 1 (Parent) Survey No. 83399 Paldi Karol, Prerna Road, In. Daboj,
Dist. Ahmedabad - 382425, Gujarat, India | Phone: +91 79 201011288002
Unit 2 (Daboj) - 382425 | Plot No. 2, 09/01/01 of Daboj-SEZ Limited Park., In. Vagra,
Dist. Bharuch - 382130, Gujarat, India | Phone: +91 79756 09940

Phone: +91 79 40542367/32498888
325220133/40054936
email: info@accentmicrocell.com
www.accentmicrocell.com
CIN : U29230GJ2012PT0281918

Regd. Office
3/4, Shreeganga Arcade,
Suryamal Cross Road, Akashnagar Road,
Saket, Ahmedabad - 380015
Gujarat, India



Product Name:
Plate Number:
Loading Date:

LUZENAC 00
HLXU 356346 3
18/03/19

Certificate of analysis
N° : 25397900001SO1.000

Page - 1 / 3

Lot Number : 1618031
Quantity : 12.000 PL
Lot Start Production Date : 04/03/19
Best to be used before : 04/03/22
Comments : This CoA is generated by system

Testing results on the lot :

Description	Unit of Measure	Method	Result	Min.	Max.	Comments
Moisture						
Tested Moisture	%	MC07	.12	0	.50	
Dry Sieve Residue						
Dry Sieve Residue at 40µ	%	MC05	1.4	0	2.0	
Whitness						
X Whitness	%	MC17	85.3			
Y Whitness	%	MC17	89.9	88.0	91.0	
Z Whitness	%	MC17	97.1			
Yellow Index	%	MC17	.8			
Pharmacopeas hamonized Talc monograph						
A test Identification		EU/US/JP ph armacopoeia	Conform			
Abestas Detection		EU/US/JP ph armacopoeia	Not Detected			
Acidity	ml	Eu/US/JP ph armacopoeia	NMT0.4	0	0.4	
Alkalinity	%	EU/US/JP ph armacopoeia	NMT0.3	0	0.3	
Water Soluble Substances	%	EU/US/JP ph armacopoeia	NMT0.1	0	0.1	
Acid Soluble Substances	%	Japanese Pharmacopia	NMT2.0	0	1.8	



(2)

Certificate of analysis

N° : 25397900001SO1.000

Page - 2 / 3

Description	Unit of Measure	Method	Result	Min.	Max.	Comments
Aluminium	%	Eu/US/JP pharmacopoeia	1.09	0	2.00	
Calcium	%	Eu/US/JP pharmacopoeia	.24	0	.50	
Magnesium	%	Eu/US/JP pharmacopoeia	19.26	17.00	19.50	
Loss of Ignition At 1050 °C	%	Eu/US/JP pharmacopoeia	6.0	0	7.0	
Lead (*)	ppm	Eu/US/JP pharmacopoeia	NMT10	0	10	
Arsenic (*)	ppm	Eu/US/JP pharmacopoeia	NMT4	0	4	
Oral DGAT	CFU	Eu/US/JP pharmacopoeia	NMT1000	0	1000	
Oral DGMT	CFU	Eu/US/JP pharmacopoeia	NMT100	0	100	
Cutaneous DGAT	CFU	Eu/US/JP pharmacopoeia	NMT100	0	100	
Cutaneous DMLT	CFU	Eu/US/JP pharmacopoeia	NMT50	0	50	
Europe: E553b purity criteria						
Water Soluble Substances (*)	%	European Food additive regulat	NMT0.2	0	0.2	
Lead (*)	ppm	EU Food additive regulation	NMT2	0	2	
Arsenic (*)	ppm	EU Food additive regulation	NMT10	0	10	
Acid Soluble Iron (*)	%	Eu/US/JP pharmacopoeia	Not Detected			
Talc purity Criteria - Food Chemical Codex 8						
Water Soluble Substances (*)	%	United States Food additive re	NMT0.2	0	0.2	
Acid Soluble Substances (*)	%	USA Food additive regulation	NMT2.5	0	2.5	
Lead (*)	ppm	USA Food additive regulation	NMT5	0	5	



(3)

Certificate of analysis

N° : 25397900001SO1.000

Page - 3 / 3

Description	Unit of Measure	Method	Result	Min.	Max.	Comments
Arsenic (*)	ppm	United States Food additive re	NMT3	0	3	
Japanese Standard for Food Additive 7						
pH (*)	%	JP Food Additive Regulation	Conform	7.5	9.5	
Water Soluble Substances (*)	%	JP Food Additive Regulation	NMT0.2	0	0.2	
Lead (*)	ppm	JP Food Additive Regulation	NMT10	0	10	
Arsenic (*)	ppm	JP Food Additive Regulation	NMT4	0	4	

For characteristic with *, testing is done at a regular frequency and not on each lot. For all characteristics, we guaranty the compliancy to our specifications and to relevant regulations

Date : 06/05/19

Quality Manager : Maxime Descot

Signatory :

CoA automatically generated. Seller's standard product inspection and testing procedures in effect at the time of testing were used to provide the above information.



浙江国邦药业有限公司

ZHEJIANG GUOBANG PHARMACEUTICAL CO., LTD.

中国浙江省杭州湾上虞经济技术开发区栲五路6号 邮编: 311369 传真: 086-575-82735575 电话: 086-575-82739355
No. 6, Weiva Road, Hangzhou Gulf Shangyu Economic and Technological Development Zone, Zhejiang, China (311369)
Fax: 086-575-82735575 Tel: 086-575-82739355

质量检验报告书
CERTIFICATE OF ANALYSIS

报告单编号 (COA NO.) TS-QCSA00109001-Report04-02

检字号 (Serial No.) E1282003002

检品名称 Product	克拉霉素 Clarithromycin	批号 Batch No.	124-200207-1
包装 Packaging Size	25kg/桶 (drum.)	批量 Batch Size	665.60Kg
生产日期 MFG Date	03/03/2020 (d/m/y)	报告日期 Reporting Date	10/03/2020 (d/m/y)
执行标准 According to	EP9/USP42/IP2018	复测日期 Retest Date	02/05/2024 (d/m/y)
发货数量 Shipped quantity			

检验项目 (Tests)	标准规定 (Acceptance Criteria)		结果 (Results)
有关物质 (HPLC) Related substances	杂质 D Impurity D	≤1.0%	0.18%
	杂质 E Impurity E	≤1.0%	0.21%
	杂质 F Impurity F	≤1.0%	0.15%
	杂质 G Impurity G	≤1.0%	<0.10%
	杂质 H Impurity H	≤1.0%	<0.10%
	杂质 I Impurity I	≤1.0%	未检出 Not detected
	杂质 J Impurity J	≤1.0%	未检出 Not detected
	杂质 K Impurity K	≤1.0%	未检出 Not detected
	杂质 L Impurity L	≤1.0%	未检出 Not detected
	杂质 M Impurity M	≤1.0%	未检出 Not detected
	杂质 N Impurity N	≤1.0%	未检出 Not detected
	杂质 O Impurity O	≤1.0%	未检出 Not detected
	杂质 P Impurity P	≤1.0%	<0.10%
	大于 0.4% 的杂质个数 Any impurity greater than 0.4%	不得超过 4 个 Not more than 4	0
	其他未知杂质 Any unspecified impurity	≤0.10%	<0.10%
总杂质 Total impurities	≤3.5%	0.71%	
含量 (HPLC) Assay	按无水物计 含 C ₁₈ H ₁₉ NO ₅ 应为 96.0%~102.0% (Anhydrous substance)		98.4%
*残留溶剂 Residual solvents (GC)	乙醇 Ethanol ≤5000ppm		未检出 Not detected

结论: 本品按 EP9/USP42/IP2018 版标准检验, 结果符合规定

Conclusion: Conforms to EP9/USP42/IP2018 specification for Clarithromycin.

备注(note): 松密度(Bulk density)0.52g/ml 紧密度 (Tapped density) 0.67g/ml

After risk evaluation, elemental impurities meet the requirements.

报告人: 李树奇 2020.03.10
Reported by: 李树奇 2020.03.10

审核人: 2020.03.10
Reviewed by: 2/2

批准人: 2020.03.10
Approved by: 2020.03.10

Kết quả kiểm tra nguyên liệu CLA

Chỉ tiêu	Yêu cầu	Kết quả
Cảm quan	Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, không mùi, vị đắng	Đạt
Độ ẩm	Không quá 2%	Đạt (1,08% ± 0,3 %)
Định tính	Phổ đồ của mẫu chuẩn và mẫu thử phải chồng khít nhau hoặc chênh lệch độ hấp thu của mẫu thử không quá 2% độ hấp thu của mẫu chuẩn tại bước sóng hấp thu. Phổ hồng ngoại của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của CLA chuẩn (PL)	Đúng
Định lượng	Hàm lượng CLA (C ₃₈ H ₆₉ NO ₁₃) phải đạt từ 98,0-102,0% tính theo chế phẩm khan	Đạt (98,87%)
Tạp chất liên quan	Mẫu tinh khiết	Đạt

Kết quả kiểm tra các đặc tính nguyên liệu và tá dược(n = 6)

Thành phần	Tỉ trọng biểu kiến trước khi gõ (g/cm ³)	Tỉ trọng biểu kiến sau gõ (g/cm ³)	Chỉ số Carr's (%)	Tỉ số Hausner
CLA	0,344	0,445	22,70	1,29
HPMC K100M	0,452	0,551	17,91	1,22
HPMC K15M	0,326	0,439	25,70	1,34
NaHCO ₃	0,876	1,117	22,04	1,15
Avcel pH 101	0,336	0,481	30,10	1,43

Phụ lục 5. Bảng tóm tắt kết quả các giai đoạn trọng yếu của quy trình điều chế ở quy mô phòng thí nghiệm

Giai đoạn	Các thông số trọng yếu			
	Thông số	A1-1	A1-2	A1-3
Cỡ rây	0,5mm, 1mm và 2mm	x	x	x
Trộn khô	Thiết bị: Máy trộn lập phương Thời gian trộn: 5,10,15 phút (P) Cánh trộn: 15-20 vòng/phút Cánh cắt: 2,000 vòng/phút	10	10	10
Trộn ướt	Thiết bị: Trộn cối Thời gian trộn: 2,3,4 phút (P)	3	3	3
Xát hạt	Thiết bị: Máy xát hạt TS25 Cỡ rây: 2,0 mm	x	x	x
Sấy hạt	Thiết bị: Tủ sấy Nhiệt độ cài đặt gió vào: 55 °C Nhiệt độ hiển thị gió vào: < 60 °C Nhiệt độ gió ra: 50 °C Tốc độ quạt hút: 20 - 30 PA Thời gian sấy: 15 - 25 phút (P)	x x x x 25	x x x x 25	x x x x 25
Sửa hạt	Thiết bị: Máy xát hạt TS25 Lưới rây: 1,0 mm	x	x	x
Trộn hoàn tất	Thiết bị: Máy trộn hình lập phương Thời gian trộn: 10,15,20 phút Tốc độ trộn: 15-20 vòng/phút	15	15	15

Phụ lục 6. Biểu đồ mối liên quan nhân quả của tá dược đến tính chất sản phẩm và kết quả tối ưu hóa công thức

6.1. Kết quả luyện mạng mô hình công thức

Luyện mạng

- Thuật toán: BackPropagationLearning; Nhóm thử: 3,6

Giá trị luyện mạng

Biến phụ thuộc	R ² Luyện	R ² Thử
Y ₁	90,32%	90,44%
Y ₂	90,34%	82,59%
Y ₃	96,11%	75,67%
Y ₄	92,42%	88,74%

Nhận xét: Dựa vào giá trị R² luyện cho thấy mô hình có tính tương thích tốt về % GPHC và thời gian nổi.

• Xu hướng

Mối liên quan nhân quả

	y ₁	y ₂	y ₃	y ₄	
x ₁	+	+	+	+	90,32%
x ₂	+	+	+	+	90,34%
x ₃	+	+	+	+	96,11%

• Quy luật

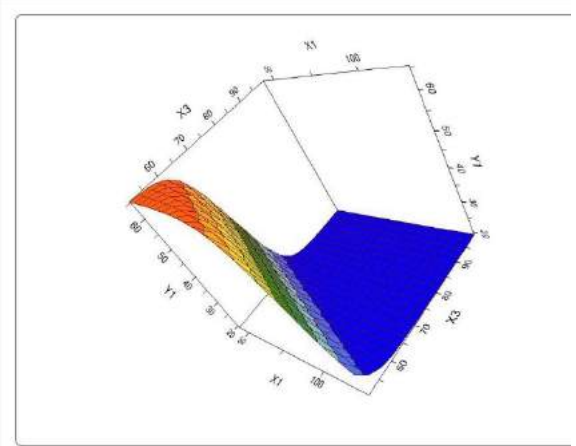
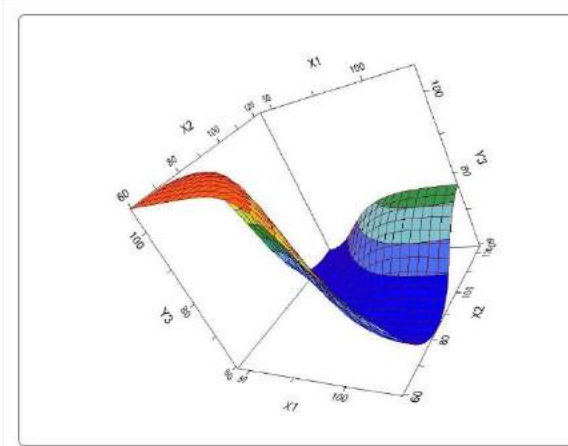
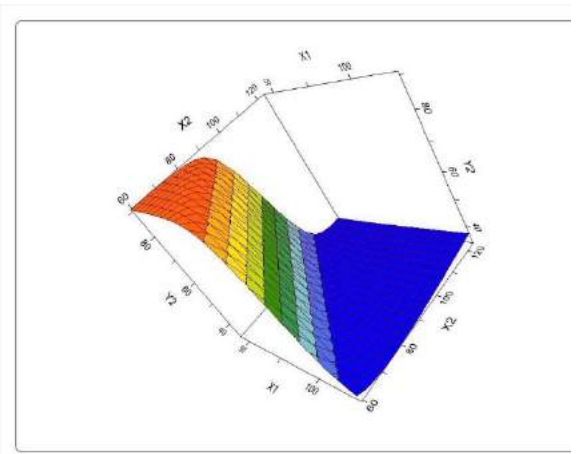
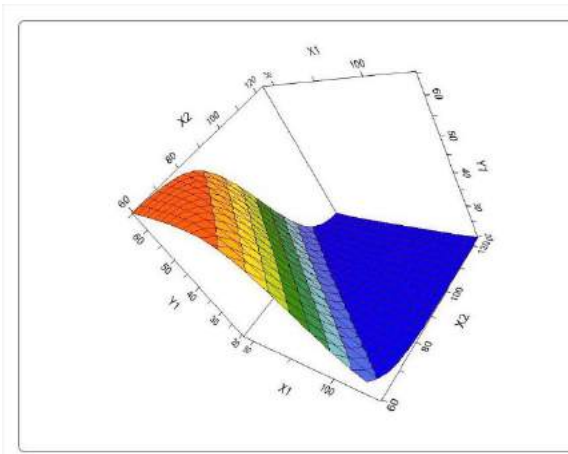
Dựa vào dữ liệu thực nghiệm trong Bảng 3.30, kết quả cho thấy mức độ và quy luật liên quan nhân quả giữa các giá trị X_i với giá trị Y_i. HPMC K100M và HPMC K15M và NaHCO₃ ảnh hưởng đến khả năng phóng thích hoạt chất tại các thời điểm 2, 4, 12 giờ và tổng thời gian nổi của viên.

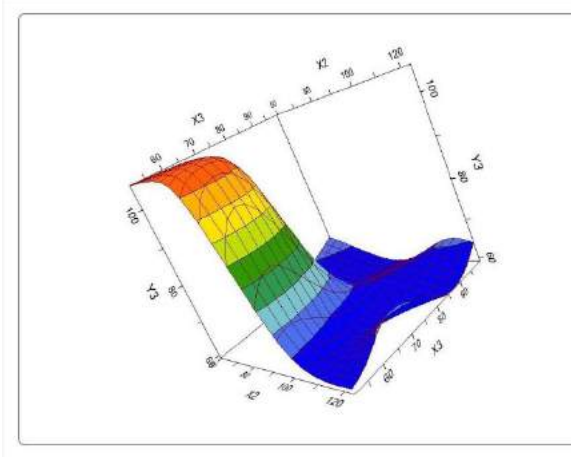
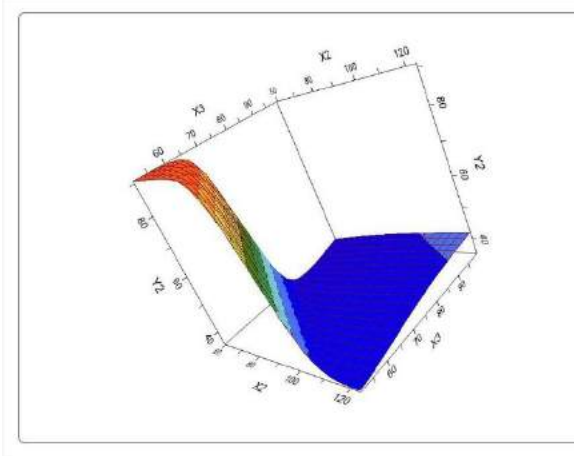
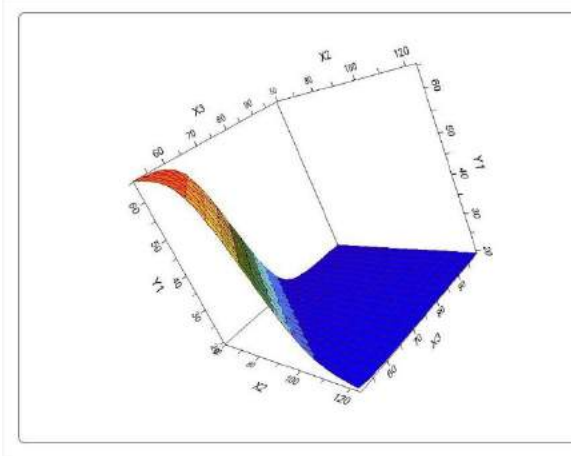
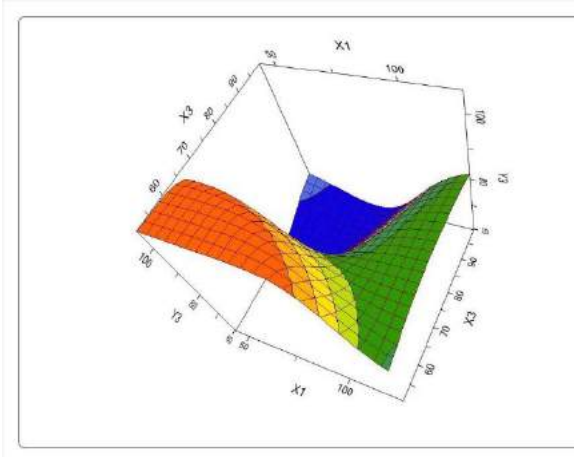
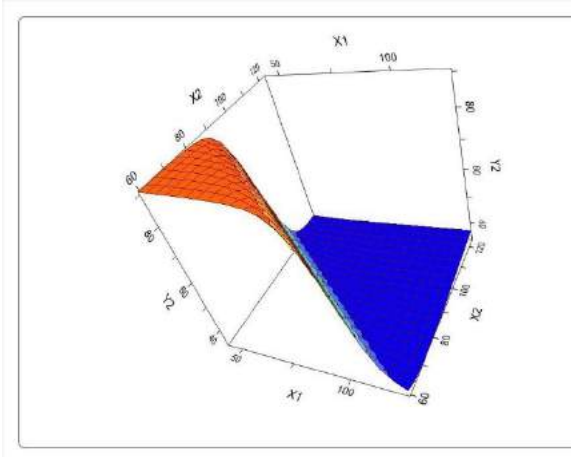
- Tại cả 3 thời điểm 2 giờ, 4 giờ, 12 giờ khi lượng HPMC K15M, HPMC K100M ở mức thấp và NaHCO₃ ở mức cao thì phần trăm GPHC thấp (1,00). Còn lượng polymer HPMC K15M và NaHCO₃ đều ở mức thấp kết hợp lượng tá dược HPMC K100M trung bình thì hoạt chất phóng thích tốt hơn (1,00).

- Thời gian nổi đạt được khi lượng HPMC K100M dùng ở mức trung bình kết hợp lượng cao, thấp luân phiên của mỗi loại polymer HPMC K15M và NaHCO_3 .

- Kết hợp 2 polymer với lượng nhiều mà lượng NaHCO_3 dùng ít sẽ làm tăng thời gian nổi.

- Biểu đồ mô tả mối liên quan nhân quả của tá dược đến tính chất sản phẩm





6.2. Kết quả thẩm định tính lặp lại công thức tối ưu

Lô	Ngày sản xuất	Độ hòa tan (%) n = 6	Thời gian nổi (giờ) n = 6	Hàm lượng (mg) n = 6
OC - 1	05.08.2016	2 giờ: $18,74 \pm 1,35$ 4 giờ: $36,12 \pm 2,03$ 8 giờ: $63,56 \pm 3,12$ 12 giờ: $89,26 \pm 1,35$	$9,25 \pm 0,45$	$495,75 \pm 3,85$
OC - 2	12.08.2016	2 giờ: $20,12 \pm 0,92$ 4 giờ: $37,12 \pm 0,71$ 8 giờ: $65,12 \pm 2,37$ 12 giờ: $94,09 \pm 1,02$	$9,05 \pm 0,27$	$489,48 \pm 4,92$
OC - 3	19.08.2016	2 giờ: $21,56 \pm 0,75$ 4 giờ: $38,27 \pm 0,62$ 8 giờ: $66,24 \pm 1,85$ 12 giờ: $99,76 \pm 0,15$	$9,40 \pm 0,51$	$492,62 \pm 2,11$

Độ cứng và độ đồng đều khối lượng của 3 lô tối ưu hóa

STT	Độ cứng			Khối lượng		
	Lô 1	Lô 2	Lô 3	Lô 1	Lô 2	Lô 3
1	113,0	115,0	112,0	865,34	852,78	856,60
2	112,0	116,0	114,0	862,48	856,38	857,50
3	113,0	115,0	115,0	858,38	854,88	861,08
4	115,0	111,0	109,0	860,35	860,38	858,35
5	114,0	117,0	113,0	859,79	859,58	857,48
6	114,0	108,0	113,0	861,02	860,08	858,23
7	109,0	115,0	116,0	859,80	859,78	857,08
8	112,0	112,0	115,0	863,23	860,88	857,80
9	113,0	118,0	117,0	857,94	858,80	857,80
10	107,0	114,0	125,0	860,37	861,45	858,38
11	111,0	113,0	110,0	857,89	861,35	854,59
12	110,0	116,0	109,0	860,00	860,08	858,32
13	109,0	115,0	115,0	863,91	853,56	860,81
14	111,0	117,0	113,0	859,78	860,80	857,65
15	112,0	113,0	113,0	861,24	853,80	858,40
16	111,0	108,0	116,0	850,89	850,78	856,50
17	108,0	112,0	111,0	858,34	860,03	860,05
18	113,0	114,0	112,0	858,80	857,80	861,22
19	112,0	110,0	116,0	857,48	860,20	858,80
20	113,0	112,0	114,0	858,40	858,45	859,35
TB	111,7	113,6	113,9	859,8	858,1	858,3
RSD%	1,89	1,4	1,25	1,32	0,91	1,24

Thời gian nôi của 3 lô tối ưu hóa (n = 6)

STT	Thời gian nôi (giờ)		
	Lô 1	Lô 2	Lô 3
1	9.35	8.45	8.55
2	9.21	9.02	8.50
3	9.27	8.55	8.43
4	9.42	9.23	8.59
5	9.35	9.21	9.03
6	9.44	9.08	8.57
TB	9.34	9.32	8.53

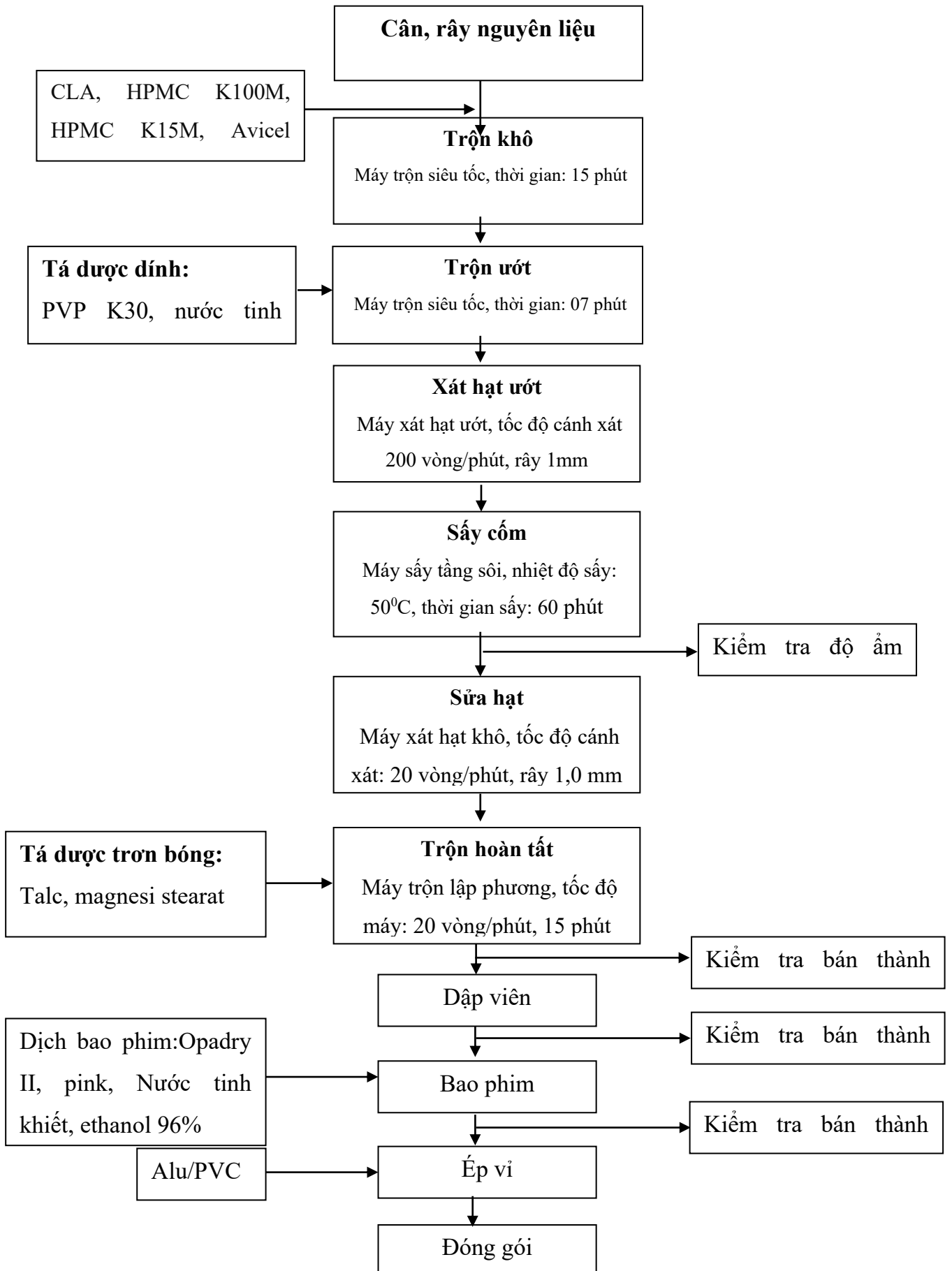
Phụ lục 7. Bảng tóm tắt Kết quả các giai đoạn trọng yếu trong quy trình điều chế ở quy mô sản xuất

Giai đoạn	Các thông số trọng yếu			
	Thông số	Lô OC-1(1)	Lô OC-1(2)	Lô OC-1(3)
Cỡ rây	0,5 mm; 1,0 mm;	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Trộn Khô	<i>Thiết bị: Máy trộn siêu tốc HLSG-200 (T.SX.001), công suất 40 L/ mẻ</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Thời gian trộn: 15 phút	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Cánh trộn: 15-20 vòng/ phút	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Cánh cắt: 2.000 vòng/ phút	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Trộn ướt	<i>Thiết bị: Máy trộn siêu tốc HLSG-200 (T.SX.001), công suất 40 L/ mẻ</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	<i>Trộn với dịch PVP K30:</i>			
	Thời gian trộn: 3- 5 phút	<input checked="" type="checkbox"/> 5 phút	<input checked="" type="checkbox"/> 5 phút	<input checked="" type="checkbox"/> 5 phút
	Cánh trộn: 100 vòng/ phút	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Cánh cắt: 2.800 vòng/ phút	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	<i>Mở nắp, vét bột, trộn tiếp:</i>			
	Thời gian trộn: 1 – 2 phút	<input checked="" type="checkbox"/> 2 phút	<input checked="" type="checkbox"/> 2 phút	<input checked="" type="checkbox"/> 2 phút
	Cánh trộn: 100 vòng/ phút	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Xát hạt	<i>Thiết bị: Máy xát hạt siêu tốc JFZ-50B với công suất: 40 kg/ giờ</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Tốc độ: 300 – 4.500 vòng/ phút	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Cỡ rây: 1,0 - 2,0 mm	<input checked="" type="checkbox"/> 1,0 mm	<input checked="" type="checkbox"/> 1 mm	<input checked="" type="checkbox"/> 1 mm
Sấy cốm	<i>Thiết bị: Máy sấy tầng sôi FL-120 (T.SX.003), công suất 50 kg/ mẻ</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Nhiệt độ cài đặt gió vào: 55°C	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Nhiệt độ hiển thị gió vào: < 60°C	<input checked="" type="checkbox"/> < 60°C	<input checked="" type="checkbox"/> < 60°C	<input checked="" type="checkbox"/> < 60°C
	Nhiệt độ bồn sấy: < 50°C	<input checked="" type="checkbox"/> < 50°C	<input checked="" type="checkbox"/> < 50°C	<input checked="" type="checkbox"/> < 50°C

	Nhiệt độ gió ra: < 50°C	<input checked="" type="checkbox"/> < 50°C	<input checked="" type="checkbox"/> < 50°C	<input checked="" type="checkbox"/> < 50°C
	Tốc độ quạt hút: 20 – 30 PA	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Thời gian sấy: 30 – 45 phút	<input checked="" type="checkbox"/> 45 phút	<input checked="" type="checkbox"/> 45 phút	<input checked="" type="checkbox"/> 45 phút
Sửa hạt	<i>Thiết bị: Máy xát hạt siêu tốc JFZ-50B (T.SX.002), công suất: 50 kg/ giờ</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Lưới rây: 1,0 mm	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Tốc độ sửa hạt: 1.300 – 1.600 vòng/ phút	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Trộn hoàn tất	<i>Thiết bị: Máy trộn đa phương HD-600, công suất 40 kg/ mẻ</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Thời gian trộn: 15 - 25 phút	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Tốc độ trộn: 2020 vòng/ phút	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Dập viên	<i>Thiết bị: Máy dập viên xoay tròn 16 chày, công suất 20.320 viên/ giờ</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Khuôn dập viên:	Dẹt 02	Dẹt 02	Dẹt 02
	Tốc độ dập: 20 – 30 vòng/ phút	30 vòng/ phút	30 vòng/ phút	30 vòng/ phút
	Độ nén máy: < 50 kN	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Bao phim	<i>Thiết bị: Máy bao phim BG-80E, công suất 50 kg/ mẻ</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Vị trí súng phun: 20 – 25 cm	25 cm	25 cm	25 cm
	Khoảng cách 2 súng phun: 15 – 20 cm	20 cm	20 cm	20 cm
	Nhiệt độ gió vào: 65 – 75°C	65°C	65°C	65°C
	<i>Sấy viên:</i>			
	Tốc độ nồi bao: 1 – 2 vòng/ phút	2 vòng/ phút	2 vòng/ phút	2 vòng/ phút
	Thời gian sấy: 5 – 10 phút	10 phút	10 phút	10 phút
	<i>Phun dịch: (cho đến hết dịch bao)</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Tốc độ nồi bao: 4 – 12 vòng/ phút	4 – 6 vòng/ phút	4 – 6 vòng/ phút	4 – 6 vòng/ phút
	Nhiệt độ viên bao: 35 – 40°C	40°C	40°C	40°C
Áp suất phun: 0,04 Mpa	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	

	Tốc độ bơm nhu động: 7 – 10 vòng/ phút	8 vòng/ phút	8 vòng/ phút	8 vòng/ phút
	Lưu lượng phun dịch: 30 – 40 ml/ phút	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Đề viên nguội trong: 5 – 10 phút	<input checked="" type="checkbox"/> 5 phút	<input checked="" type="checkbox"/> 5 phút	<input checked="" type="checkbox"/> 5 phút
Ép vỉ	<i>Thiết bị: Máy ép vỉ EVN-35A (T.SX.030), tốc độ 50 nhịp/ phút</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Khuôn ép vỉ:	40 x 90 mm	40 x 90 mm	40 x 90 mm
	Tốc độ: 20 – 50 nhịp/ phút	30	30	30
	Nhiệt độ trạm dán: 170 – 190 °C	180°C	180°C	180°C

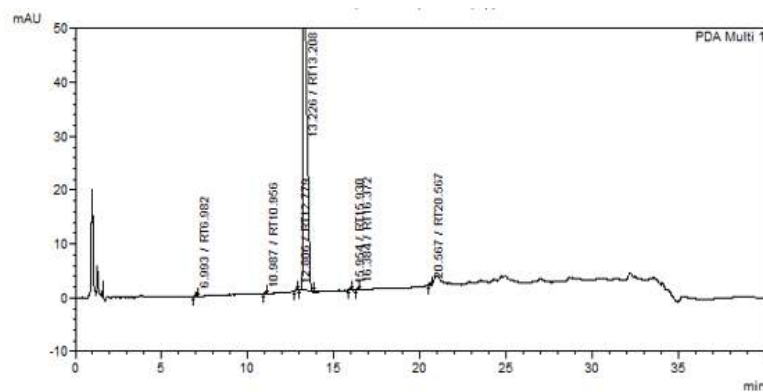
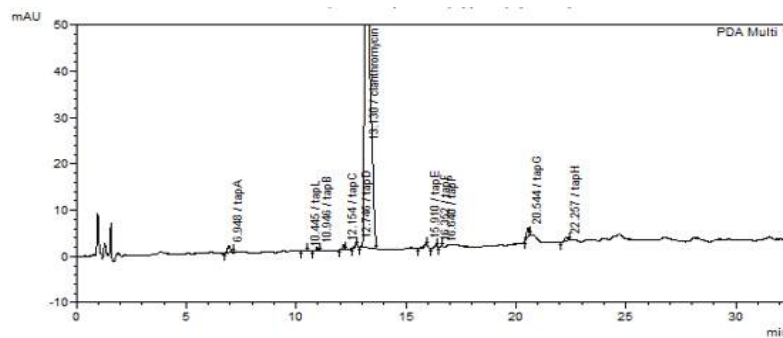
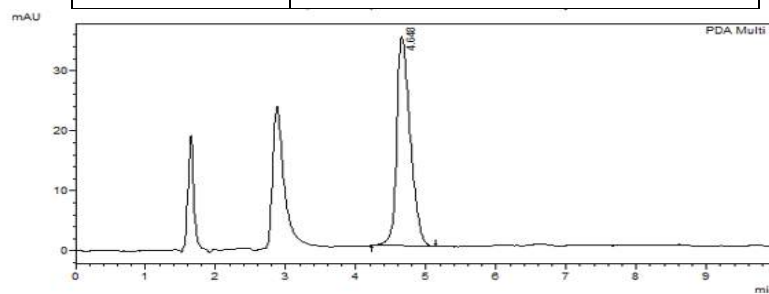
Phụ lục 8. Sơ đồ quy trình sản xuất viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày



Phụ lục 8. Kết quả thẩm định thành phẩm 3 lô sản xuất

Kết quả định lượng CLA trong thử độ hòa tan bằng phương pháp HPLC (n = 8)

Chuẩn	Diện tích
1	202426
2	204215



Mẫu	Viên	Diện tích			Hàm lượng (%)			Trung bình (%)		
		Lô 1	Lô 2	Lô 3	Lô 1	Lô 2	Lô 3	Lô 1	Lô 2	Lô 3
2 giờ	1	38407	45797	42034	19,80	23,61	21,67	18,74	20,12	21,56
	2	36040	35730	37495	18,58	18,42	19,33			
	3	32808	47175	39939	16,73	24,32	20,59			
	4	36671	37088	48183	19,21	19,12	24,84			
	5	31043	40095	44090	15,83	20,67	22,73			
	6	39671	35614	40405	20,23	18,36	20,83			
	7	35533	38892	39407	18,12	20,05	19,81			
	8	42024	31812	44052	21,43	16,40	22,71			
4 giờ	1	74500	76530	75339	38,17	39,21	38,60	36,12	37,25	38,27
	2	73427	69464	70831	37,62	35,59	36,29			
	3	62590	76803	77857	32,07	39,35	38,02			
	4	73017	73505	75183	37,41	37,66	39,89			
	5	59100	74754	74402	30,28	38,30	38,52			
	6	75613	70362	74129	38,74	36,05	38,12			
	7	71280	72743	75534	36,52	37,27	37,98			
	8	74461	67532	75534	38,15	34,60	38,70			
8 giờ	1	128540	130561	127540	68,89	71,06	68,56	70,03	70,67	69,65
	2	120671	128905	123554	70,05	70,01	68,92			
	3	118901	120450	119092	69,67	70,25	69,98			
	4	120672	124780	124404	70,16	70,56	70,45			
	5	130212	119081	130891	70,78	70,01	71,01			
	6	128902	130872	127892	71,04	71,14	68,78			
	7	119761	120090	118943	69,78	69,86	69,76			
	8	123547	116451	128893	70,25	68,78	69,95			
12 giờ	1	193494	194131	193854	93,80	100,04	99,75	89,26	94,09	99,76
	2	187821	166556	181066	91,05	85,83	93,17			
	3	176950	196856	194437	85,78	101,4	100,05			
	4	189368	183616	201569	91,80	94,58	103,72			
	5	167358	192138	195525	81,13	98,97	100,61			
	6	194092	181733	198382	94,09	93,61	102,08			
	7	178394	184800	190220	86,48	95,19	97,88			
	8	185490	161368	195894	89,92	83,12	100,8			

phụ lục 9. bảng tóm tắt đánh giá nguy cơ, xác suất, mức độ, khả năng phát hiện có thể xảy ra trong quy trình sản xuất

Giai đoạn trọng yếu	Nguy cơ dự kiến	Xác suất xảy ra	Mức độ ảnh hưởng	Khả năng phát hiện	Biện pháp phát hiện
<i>Sấy cơm</i>	Độ ẩm cơm không đạt	Rất ít	Vừa	Dễ	Đo bằng máy sấy ẩm
<i>Trộn hoàn tất</i>	Độ phân tán hàm lượng không đạt	Rất ít	Lớn	Khó	HPLC
	Độ trơn chảy không đạt	Rất ít	Vừa	Dễ	Đo độ trơn chảy
<i>Dập viên</i>	Cảm quan không đạt	Rất ít	Vừa	Dễ	Quan sát bằng mắt
	Độ mài mòn không đạt	Rất ít	Vừa	Dễ	Máy thử độ mài mòn
	Độ cứng không đạt	Rất ít	Vừa	Dễ	Máy đo độ cứng
	Khối lượng trung bình viên không đạt	Thường xuyên	Lớn	Dễ	Cân điện tử
	Độ đồng đều khối lượng không đạt	Rất ít	Lớn	Dễ	Cân điện tử
	Hàm lượng không đạt	Rất ít	Lớn	Khó	HPLC
	Độ hòa tan không đạt	Thỉnh thoảng	Lớn	Khó	Máy đo độ hòa tan

<i>Dịch bao phim</i>	Tính chất không đạt	Rất ít	Vừa	Dễ	Quan sát bằng mắt
	Quá đặc	Rất ít	Vừa	Dễ	Cắn sau khi bay hơi
<i>Bao phim</i>	Cảm quan không đạt	Rất ít	Ít	Dễ	Quan sát bằng mắt
	Độ ẩm không đạt	Rất ít	Vừa	Dễ	Đo bằng máy sấy ẩm
	Độ đồng đều hàm lượng không đạt	Rất ít	Lớn	Khó	HPLC
	Độ hòa tan không đạt	Thỉnh thoảng	Lớn	Khó	Máy đo độ hòa tan
	Hàm lượng không đạt	Rất ít	Lớn	Khó	HPLC
<i>Ép vỉ</i>	Cảm quan không đạt	Rất ít	Vừa	Dễ	Quan sát bằng mắt
	Vỉ không kín	Thỉnh thoảng	Vừa	Dễ	Kiểm tra độ kín vỉ

Phụ lục 10. Các chỉ tiêu, giới hạn và yêu cầu giai đoạn sản xuất

GIẢI ĐOẠN	CHỈ TIÊU	GIỚI HẠN – YÊU CẦU
Trộn ban đầu	Tính chất	Cốm màu trắng, đồng nhất
	Độ phân tán hàm lượng: CLA	RSD \leq 5,0%
Sấy cốm	Độ ẩm	< 1%
Trộn hoàn tất	Tính chất	Cốm màu trắng, đồng nhất
	Kích thước hạt	Cốm qua rây 250 μ m: \geq 70% Cốm qua rây 90 μ m: \leq 30%
	Độ trơn chảy của cốm	Góc nghỉ: 25 – 45 ^{0(*)}
	Tỷ trọng cốm	Khả năng trơn chảy Cl: < 25 ^(*) Khả năng chịu nén HR: < 1,34 ^(**)
	Độ phân tán hàm lượng:	
	CLA	RSD \leq 5,0%
Dập viên	Tính chất	Viên nén thuôn dài, màu trắng, mặt trơn
	Độ cứng	100 – 120 N
	Độ mài mòn	Không quá 1%
	Độ đồng đều khối lượng	KLTB mg \pm 5%
	Độ hòa tan	2 giờ, 4 giờ, 8 giờ và 12 giờ
	Định lượng: So với hàm lượng ghi trên nhãn	
	CLA	90,0% - 110%
Dịch bao phim	Tính chất	Dịch lỏng, đồng nhất, màu vàng
	Màng bao phim	Màu vàng, dẻo
	Tính chất	Viên nén thuôn dài, bao phim màu vàng
	Độ tăng khối lượng viên sau bao	3%

Viên sau khi	Độ ẩm viên	≤ 1,0%
Bao phim	Độ hòa tan	2 giờ, 4 giờ, 8 giờ và 12 giờ
	So với hàm lượng ghi trên nhãn Định lượng: CLA	90% - 110,0%
Ép vỉ	Tính chất	Vĩ alu/PVC
	Độ kín vỉ	100% vỉ phải kín

(*)

Mức độ trơn chảy	Góc nghỉ
Chảy rất tốt	25 – 30 ⁰
Chảy tốt	30 – 38 ⁰
Chảy được	38 – 45 ⁰
Kết dính	45 – 55 ⁰
Rất kết dính	> 55 ⁰

(**) Đánh giá khả năng trơn chảy và chịu nén

Mức độ trơn chảy	CI	HR
Rất tốt	< 10	1,00 – 1,11
Tốt	11 – 15	1,12 – 1,18
Khá	16 – 20	1,19 – 1,25
Chảy được	21 – 25	1,26 – 1,34
Kém	26 – 31	1,35 – 1,45
Rất kém	32 – 37	1,46 – 1,59

Kết quả thẩm định 3 lô quy mô sản xuất

Viên nhân	Kết Quả		
Chỉ Tiêu - Yêu Cầu	OC -1	OC -2	OC -3
Độ đồng đều khối lượng (n = 20) KLTB \pm 5%	865,90 \pm 1,36 Đạt	855,12 \pm 0,72 Đạt	867,50 \pm 1,12 Đạt
Định lượng: So với hàm lượng ghi trên nhãn, mỗi viên chứa CLA 500mg: 90,0% - 110,0% (475 - 525 mg/viên)	495,51 \pm 0,45 Đạt	493,51 \pm 1,03 Đạt	508,12 \pm 1,32 Đạt
KẾT LUẬN	ĐẠT	ĐẠT	ĐẠT
Bao Phim			
Dịch Bao Phim			
Tính chất: Dịch lỏng, đồng nhất màu vàng	Đạt	Đạt	Đạt
Màng bao phim: Mạng vàng, dẻo	Đạt	Đạt	Đạt
KẾT LUẬN	ĐẠT	ĐẠT	ĐẠT
Viên nén bao phim			
Chỉ Tiêu - Yêu Cầu	Kết Quả		
	Lô OC - 1	Lô OC - 2	Lô OC - 3
Tính chất: Viên nén thuôn dài bao phim màu vàng	Đạt	Đạt	Đạt
Độ ẩm viên: < 2,0%	1,08 \pm 0,56 Đạt	1,15 \pm 0,32 Đạt	0,85 \pm 0,11 Đạt
Định tính: Chế phẩm phải đáp ứng định tính CLA	Đúng	Đúng	Đúng
Độ tăng khối lượng trung bình viên sau khi bao (%)	2,53 \pm 0,17 Đạt	1,83 \pm 0,53 Đạt	2,05 \pm 0,25 Đạt
Độ cứng viên: 100 – 120 N	117 \pm 2	109 \pm 5	112 \pm 3

<i>(n = 6)</i>	Đạt	Đạt	Đạt
Độ mài mòn: < 1,0%, (<i>n = 10</i>)	Đạt 0,13%	Đạt 0,13%	Đạt 0,12%
Độ hòa tan (%)	Đạt	Đạt	Đạt
Sau 2 giờ ($\leq 25\%$)	19,35 \pm 2,50	15,14 \pm 1,81	17,85 \pm 2,13
Sau 4 giờ (20 - 40%)	35,15 \pm 1,23	32,53 \pm 3,12	31,18 \pm 1,85
Sau 8 giờ (45 - 75%)	67,05 \pm 0,53	68,01 \pm 1,14	66,89 \pm 1,24
Sau 12 giờ ($\geq 80\%$)	85,17 \pm 3,21	84,39 \pm 2,51	89,28 \pm 3,01
Thời gian nổi ≥ 8 giờ	Đạt	Đạt	Đạt
	9,20 \pm 0,35	10,15 \pm 0,24	10,10 \pm 1,35
Đóng vỉ (Alu/alu)	Lô OC - 1	Lô OC - 2	Lô OC - 3
Vỉ cắt đúng vỉ, ngày sản xuất tạm thời đầy đủ	Đạt	Đạt	Đạt
Độ kín vỉ: 100% phải kín vỉ	Đạt	Đạt	Đạt
KẾT LUẬN	ĐẠT	ĐẠT	ĐẠT

Phụ lục 11. TIÊU CHUẨN CƠ SỞ

I. TIÊU CHUẨN KỸ THUẬT

1.1. Công thức

Trong một viên nén bao phim chứa:

- CLA 500,0 mg
- Tá dược vừa đủ 1 viên

Thành phần tá dược bao gồm: Hydroxy propyl methylcellulose (HPMC K 100M, HPMC K15M), natri hydrocarbonate, PVP K30, talc, magnesi stearate, avicel pH 101.

1.2. Nguyên liệu

Tên nguyên liệu	Tiêu chuẩn
CLA	USP 40
HPMC 15 cps	BP 2016
HPMC K100	BP 2016
NaHCO ₃	DĐVN V
Talc	DĐVN V
Magnesi stearat	DĐVN V
PVP K30	DĐVN V
Avicel pH 101	DĐVN V
Opadry II yellow	PB 2016

1.3. Tiêu chuẩn chất lượng thành phẩm

1.3.1. Tính chất: Viên nén bao phim màu vàng, mặt lồi, cạnh và thành viên lành lặn hình bầu dục.

1.3.2. Định tính: Chế phẩm phải có phản ứng của CLA.

1.3.3. Độ đồng đều khối lượng: $\pm 5\%$ so với KLTB viên

1.3.4. Thời gian nổi : ≥ 4 giờ

1.3.5. Độ hòa tan: Lượng CLA hòa tan

- Sau 2 giờ phải nhỏ hơn 25% ;
- Sau 4 giờ phải từ 20 - 40%;

- Sau 8 giờ phải từ 45 – 75%;
- Sau 12 giờ phải lớn hơn 80%.

Định lượng: Chế phẩm phải chứa từ 90,0% - 110,0% CLA ($C_{38}H_{69}NO_{13}$) so với hàm lượng ghi trên nhãn.

II. PHƯƠNG PHÁP THỬ

2.1. Tính chất:

Quan sát bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt yêu cầu quy định.

2.2. Định tính

Trong phần định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic CLA trên sắc ký đồ của dung dịch CLA chuẩn.

2.3. Độ đồng đều khối lượng

Cân riêng biệt 20 đơn vị lấy ngẫu nhiên, tính khối lượng trung bình. Không được có quá 2 đơn vị có khối lượng nằm ngoài giới hạn chênh lệch số không lượng trung bình 5% và không có đơn vị nào có khối lượng gấp đôi giới hạn đó.

2.4. Thời gian nổi:

Điều kiện thử và thiết bị thử như trong thử độ hòa tan với 900 ml HCl 0,1N, nhiệt độ duy trì $37 \pm 0,5$ °C, cánh khuấy tốc độ 50 vòng/phút. Thuốc sau khi cho vào môi trường hòa tan, tất cả các viên thuốc sau khi tiếp xúc với môi trường thử không nhiều hơn 5 phút thuốc sẽ nổi lên trên bề mặt và ghi nhận thời gian nổi của thuốc trong môi trường thử, thời gian được ghi nhận trong điều kiện viên thuốc vẫn còn hình dạng của viên nén.

2.5. Độ hòa tan

2.5.1. Điều kiện thử:

- Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrochloric 0,01N;
- Thiết bị: Kiểu cánh khuấy;
- Nhiệt độ: $37 \text{ °C} \pm 0,5 \text{ °C}$;
- Tốc độ quay: 50 vòng/phút;
- Thời gian: 2 giờ, 4 giờ, 8 giờ và 12 giờ.

Chuẩn bị

- Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 28 mg CLA cho vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 30 ml môi trường hòa tan lắc kỹ cho tan hoàn toàn, sau đó thêm môi trường hòa tan vừa đủ thể tích, lắc đều. Lọc qua giấy lọc millipore 0,45 μm .

- Dung dịch thử: Sau các thời điểm hòa tan, lấy dung dịch trong các cốc hòa tan, lọc qua giấy lọc millipore 0,45 μm .

2.5.2. Tiến hành:

Bằng phương pháp sắc ký lỏng

- *Pha động*: Hỗn hợp methanol và dung dịch kali dihydrophosphat 0,067 M (65 : 35), điều chỉnh đến pH 4,0 bằng.

- *Điều kiện sắc ký*:

+ Cột thép không gỉ (15 cm \times 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm);

+ Nhiệt độ duy trì ở khoảng 50 $^{\circ}\text{C}$;

+ Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm;

+ Tốc độ dòng: 1,0 ml/phút;

+ Thể tích tiêm: 5 μl .

Tiến hành sắc ký và tính toán kết quả GPHC.

Mẫu thực hiện: Dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Xác định nồng độ (mg/ml) của CLA trong mẫu chuẩn ở từng thời điểm.

$$X = (r_u/r_s) \times C_s$$

Trong đó: r_u , r_s : Lần lượt là diện tích pic của dung dịch thử và dung dịch chuẩn

C_s : Nồng độ của dung dịch chuẩn (mg/ml)

Tính toán % hàm lượng CLA trên nhãn ở từng thời điểm

$$Q_2 = (r_u/r_s) \times (C_s/L) \times V \times 100$$

$$Q_4 = [Q_2 \times (V_s/V)] + [(r_u/r_s) \times (C_s/L) \times (V-V_s) \times 100]$$

$$Q_{12} = [Q_2 \times (V_s/V)] + [Q_4 \times V_s/(V-2V_s)] + [(r_u/r_s) \times (C_s/L) \times (V-2V_s) \times 100]$$

Trong đó, r_u , r_s : Lần lượt là diện tích pic của dung dịch thử, và dung dịch chuẩn;

C_s : Nồng độ CLA trong dung dịch chuẩn;

V : Thể tích môi trường (900 ml);

L : hàm lượng trên nhãn (mg/1 viên).

2.6. Định lượng CLA trong thành phẩm

Tiến hành định lượng CLA bằng phương pháp HPLC theo USP 40.

2.6.1. Xử lý mẫu

- Pha động: Hỗn hợp của methanol (TT) và dung dịch kali dihydrophosphat 0,067 M (65:35), điều chỉnh đến pH 4,0 bằng acid phosphoric (TT). Điều chỉnh tỷ lệ dung môi nếu cần.

- Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 0,2 g CLA vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 35 ml methanol (TT), lắc trong 30 phút rồi thêm methanol (TT) vừa đủ, để lắng. Lấy 3 ml dịch ở trên thêm pha động vừa đủ 100 ml, trộn đều.

- Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng CLA chuẩn pha trong methanol (TT), lắc, siêu âm nếu cần để có dung dịch gốc có nồng độ CLA chuẩn chính xác khoảng 625 µg/ml. Pha loãng 10 ml dung dịch này thành 50 ml bằng pha động, trộn đều.

- Dung dịch phân giải: Pha hợp chất A chuẩn (6,11-di-O-methyl erythromycin A, C₃₉H₇₁NO₁₃) của CLA trong methanol (TT) để được dung dịch có nồng độ khoảng 625 µg/ml. Lấy 10 ml dung dịch này và 10 ml dung dịch chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm pha động đến vạch và trộn đều.

2.6.2. Điều kiện sắc ký:

- Cột: Geminise C18 (15 cm x 4.6 mm, 5 µm);
- Nhiệt độ duy trì ở khoảng 50 °C;
- Bước sóng phát hiện: 210 nm;
- Tốc độ dòng: 1.0 ml/min;
- Thể tích tiêm: 20µl.

2.6.3. Tiến hành sắc ký và tính toán kết quả:

- Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của CLA khoảng 0.75 và của tạp chất A là 1.0. Độ phân giải giữa pic của CLA và tạp chất A phải không nhỏ hơn 2.0. Tiến hành sắc

ký với dung dịch chuẩn, xác định trên pic CLA, số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 750; hệ số đối xứng không nhỏ hơn 0.9 và không lớn hơn 2.0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic CLA từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2.0 %.

- Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

- Tính hàm lượng CLA, $C_{38}H_{69}NO_{13}$, trong một viên dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử và hàm lượng $C_{38}H_{69}NO_{13}$ trong CLA chuẩn.

$$X = (S_t/S_c) \times (C\% \times m_c/m_t) \times (n_t/n_c) \times 100\%$$

Trong đó: S_t , S_c : Lần lượt là diện tích pic của dung dịch thử (mAU*phút) và dung dịch chuẩn (mAU*phút);

m_t : Lượng CLA tương ứng trong mẫu thử (mg);

m_c : Lượng cân mẫu chuẩn (mg);

C% : Hàm lượng CLA trong chất chuẩn nguyên trạng (%);

n_t : Độ pha loãng mẫu thử;

n_c : Độ pha loãng mẫu chuẩn.

Quy định: Hàm lượng CLA phải nằm trong khoảng 90% - 110% hàm lượng ghi trên nhãn.

2.7. Đóng gói – bảo quản

Đóng gói : Hộp 2 vỉ, vỉ x10 viên

Bảo quản dưới 30 °C, ở nơi thoáng mát.

**Phụ lục 12. Kết quả theo dõi độ ổn định thành phẩm viên nén CLA 500 mg
nổi trong dạ dày**

Bảo quản		Thời gian biểu		
Thời điểm	Điều kiện	Lô số OC-1	Lô số OC-2	Lô số OC-3
Bắt đầu	Lão hóa cấp tốc	19/01/2017	19/01/2017	19/01/2017
	Dài hạn	19/01/2017	19/01/2017	19/01/2017
1 tháng	Lão hóa cấp tốc	19/02/2017	19/02/2017	19/02/2017
2 tháng	Lão hóa cấp tốc	19/03/2017	19/03/2017	19/03/2017
3 tháng	Lão hóa cấp tốc	19/04/2017	19/04/2017	19/04/2017
	Dài hạn	19/04/2017	19/04/2017	19/04/2017
4 tháng	Lão hóa cấp tốc	19/05/2017	19/05/2017	19/05/2017
5 tháng	Lão hóa cấp tốc	19/06/2017	19/06/2017	19/06/2017
6 tháng	Lão hóa cấp tốc	19/07/2017	19/07/2017	19/07/2017
	Dài hạn	19/07/2017	19/07/2017	19/07/2017
9 tháng	Dài hạn	19/10/2017	19/10/2017	19/10/2017
12 tháng	Dài hạn	19/01/2018	19/01/2018	19/01/2018
18 tháng	Dài hạn	19/07/2018	19/07/2018	19/07/2018
24 tháng	Dài hạn	19/01/2019	19/01/2019	19/01/2019
Ghi chú: Lão hóa cấp tốc : Nhiệt độ 40 °C ± 2 °C/ 75% ± 5% Điều kiện dài hạn : Nhiệt độ 30 °C ± 2 °C/ 75% ± 5% Quy cách đóng gói : Hộp 2 vỉ x 10 viên				

Kết quả độ ổn định ở điều kiện dài hạn: Nhiệt độ 30°C, độ ẩm tương đối 75%.

Chỉ tiêu thử	Tháng						
	0	3	6	9	12	18	24
Tính chất	Viên nén bao phim màu vàng, 2 mặt lõm (Đạt)						
	± 5% /KLTB	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt

Đồng đều khối lượng	001 OC	862,12 ±1,51	860,02 ±2,14	859,51 ±0,78	858,26 ±2,67	860,35 ±1,26	858,35 ±2,08	862,12 ±1,51
	002 OC	857,41 ±2,35	856,35 ±1,64	860,05 ±2,03	859,25 ±2,07	857,31 ±0,78	857,63 ±2,32	860,54 ±2,09
	003 OC	860,75 ±0,57	863,04 ±1,25	860,35 ±1,89	858,46 ±1,36	860,35 ±1,80	859,45 ±2,72	862,35 ±1,36
Độ hòa tan	Sau 2 giờ ≤ 25 %; Sau 4 giờ 20 – 40 %; Sau 8 giờ 45 – 75 %; Sau 12 giờ ≥ 80 %							
	001 OC	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
	Sau 2 giờ	19,63± 0,78	18,08± 0,39	16,55± 0,36	16,01± 1,09	14,48± 0,90	14,09± 1,30	13,78± 0,58
	Sau 4 giờ	39,25± 1,35	38,53± 1,03	37,46± 0,73	34,79± 0,89	32,46± 0,56	32,06± 0,63	30,38± 0,89
	Sau 8 giờ	68,45± 2,06	65,25± 1,87	62,65± 1,50	58,88± 1,47	56,80± 1,70	54,58± 0,77	50,02± 1,25
	Sau 12 giờ	89,14± 1,78	86,66± 2,07	85,79± 1,65	83,51± 1,08	83,06± 2,14	82,25± 2,74	81,67± 2,56
	002 OC	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
	Sau 2 giờ	18,50± 0,35	17,05± 0,78	15,89± 1,23	14,74± 1,78	14,10± 1,56	13,90± 0,87	13,05± 0,77
	Sau 4 giờ	37,78± 1,89	36,65± 1,40	35,05± 2,35	34,82± 2,45	34,43± 1,88	33,46± 1,57	32,56± 1,89
	Sau 8 giờ	68,23± 1,85	65,05± 2,08	62,38± 3,11	61,26± 1,35	59,89± 1,95	58,49± 1,77	55,20± 1,05
	Sau 12 giờ	89,67± 2,88	89,17± 2,54	85,36± 1,98	84,06± 1,77	83,58± 2,04	83,01± 2,80	82,14± 3,12
	003 OC	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
	Sau 2 giờ	19,75± 0,80	18,35± 2,11	17,08± 1,34	16,45± 2,00	16,33± 1,02	15,35± 1,14	14,70± 0,45
	Sau 4 giờ	38,08± 3,02	37,56± 2,89	40,80± 2,56	38,57± 3,23	38,89± 2,55	37,21± 2,46	37,65± 2,06
	Sau 8 giờ	69,45± 2,45	68,14± 2,20	68,02± 2,50	63,15± 1,80	60,28± 1,56	60,01± 1,25	59,35± 1,65
	Sau 12 giờ	89,32± 2,56	87,88± 2,03	87,57± 1,78	86,91± 0,88	86,59± 1,67	85,35± 2,14	84,21± 3,25
	Thời gian nổi của viên ít nhất 4 giờ							

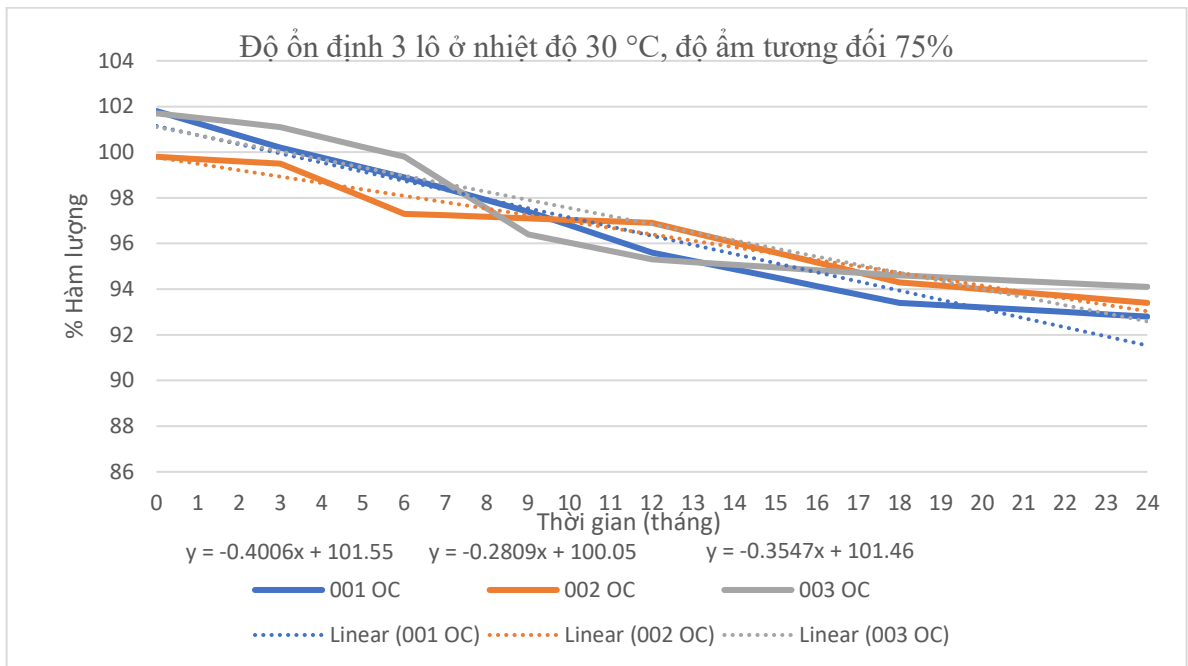
Thời gian nổi (giờ)	001 OC	10,05± 0,75	9,68± 0,80	9,45± 0,50	8,56± 1,23	9,35± 1,06	9,45± 0,80	8,45± 0,91	
		<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	
	002 OC	9,05± 0,25	9,20± 0,50	8,56± 0,32	9,04± 1,02	8,47± 1,12	9,24± 0,78	9,00± 1,03	
		<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	
	003 OC	9,45± 1,20	9,50± 0,90	8,55± 0,82	8,42± 0,70	9,06± 0,66	9,13± 0,54	8,55± 0,82	
		<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	
Định tính	Chế phẩm phải có phép thử định tính của CLA	<i>Đúng</i>	<i>Đúng</i>	<i>Đúng</i>	<i>Đúng</i>	<i>Đúng</i>	<i>Đúng</i>	<i>Đúng</i>	
Định lượng (%)	Hàm lượng CLA phải từ 90,0% đến 110,0% so với hàm lượng ghi trên nhãn								
	001 OC	101,8± 1,06	100,2± 0,82	98,9± 1,34	97,4± 0,98	95,6± 0,78	93,4± 1,07	92,8± 0,78	
	002 OC	99,8± 0,98	99,5± 1,23	97,3± 1,08	97,1± 0,94	96,9± 1,24	94,3± 0,78	93,4± 1,12	
	003 OC	101,7± 0,73	101,1± 1,09	99,8± 0,67	96,4± 0,92	95,3± 1,45	94,6± 1,02	94,1± 0,70	

Kết quả độ ổn định ở điều kiện dài hạn: Nhiệt độ 40 °C, độ ẩm tương đối 75%

Chỉ tiêu thử		Tháng						
		0	3	6	9	12	18	24
Tính chất	Viên nén bao phim màu vàng, 2 mặt lõi (Đạt)							
Đồng đều khối lượng	± 5% /KLTB	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
	001 OC	859,35 ±1,24	862,15 ±2,04	862,13 ±0,90	860,15 ±1,80	859,26 ±1,34	862,12 ±1,80	861,05 ±1,35
	002 OC	856,35 ±1,35	860,21 ±1,20	859,12 ±1,84	858,41 ±1,49	859,35 ±1,02	860,25 ±1,59	861,02 ±1,59
	003 OC	861,20 ±0,80	861,13 ±1,05	862,13 ±1,24	860,31 ±1,25	859,24 ±1,57	860,33 ±2,01	861,13 ±0,79
Độ hòa tan	Sau 2 giờ ≤ 25 %; Sau 4 giờ 20 – 40 %; Sau 8 giờ 45 – 75 %; Sau 12 giờ ≥ 80 %							
	001 OC	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
	Sau 2 giờ	20,24± 0,47	19,83± 0,48	19,20± 1,72	18,43± 0,80	17,83± 0,68	17,19± 0,35	16,48± 0,89
	Sau 4 giờ	38,34± 1,36	38,05± 1,09	36,46± 1,37	34,79± 1,37	33,64± 1,45	33,46± 0,62	31,74± 1,10
	Sau 8 giờ	66,23± 1,25	64,85± 1,22	64,00± 1,34	62,88± 0,75	61,80± 2,08	58,58± 1,24	55,48± 1,37
	Sau 12 giờ	88,39± 1,06	88,35± 1,24	86,45± 1,23	83,44± 1,25	83,00± 1,89	81,48± 1,58	80,65± 1,40
	002 OC	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
	Sau 2 giờ	19,52± 0,49	19,09± 0,57	18,35± 0,20	18,01± 0,57	16,59± 1,25	15,35± 0,48	14,72± 1,08
	Sau 4 giờ	36,51± 1,08	35,89± 1,80	35,00± 1,28	34,82± 2,45	34,43± 1,82	34,05± 1,23	33,23± 0,89
	Sau 8 giờ	67,20± 1,85	65,05± 2,26	61,30± 2,01	61,26± 1,02	59,89± 1,25	58,49± 1,25	57,20± 0,89
	Sau 12 giờ	90,35± 1,56	88,49± 1,68	85,80± 1,48	83,49± 1,23	80,80± 1,58	79,92± 1,57	78,72± 1,89
	003 OC	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
	Sau 2 giờ	19,75± 0,67	19,60± 1,89	18,37± 0,70	16,54± 1,59	15,38± 0,69	15,02± 0,68	14,67± 0,24
	Sau 4 giờ	43,90± 2,58	40,62± 1,50	39,89± 2,03	38,40± 1,45	37,25± 2,00	35,60± 0,90	34,49± 1,58
Sau 8 giờ	69,23± 1,58	68,14± 0,58	68,02± 1,03	63,15± 0,90	60,24± 1,45	59,24± 1,89	54,50± 1,56	

	Sau 12 giờ	90,30± 1,37	88,92± 0,90	87,63± 1,28	86,55± 1,03	86,00± 1,28	85,24± 1,45	84,06± 1,80
Thời gian nồi (giờ)	Thời gian nấu của viên ít nhất 4 giờ							
	001 OC	9,14± 1,05	9,53± 0,68	9,03± 0,72	9,55± 0,85	9,20± 1,03	10,02± 0,54	9,07± 0,76
		<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>
	002 OC	8,57± 1,36	8,90± 0,85	9,23± 0,50	8,78± 0,92	8,90± 0,75	8,95± 1,12	8,78± 0,54
		<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>
	003 OC	9,45± 1,20	9,50± 0,90	8,55± 0,82	8,42± 0,70	9,06± 0,66	9,13± 0,54	8,55± 0,82
<i>Đạt</i>		<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	<i>Đạt</i>	
Định tính	Chế phẩm phải có phép thử định tính của CLA	<i>Đúng</i>	<i>Đúng</i>	<i>Đúng</i>	<i>Đúng</i>	<i>Đúng</i>	<i>Đúng</i>	<i>Đúng</i>
Định lượng (%)	Hàm lượng CLA phải từ 90,0% đến 110,0% so với hàm lượng ghi trên nhãn							
	001 OC	99,62± 1,25	97,30± 0,46	96,47± 0,56	95,3± 0,78	95,00± 0,63	94,7± 0,71	94,1± 0,89
	002 OC	99,7± 0,89	99,2± 1,02	98,67± 0,98	97,46± 1,25	96,7± 1,03	95,2± 0,17	94,4± 1,38
	003 OC	102,0± 0,577	101,3± 0,45	99,4± 0,38	97,3± 1,25	96,8± 1,04	95,2± 0,78	94,90± 1,02

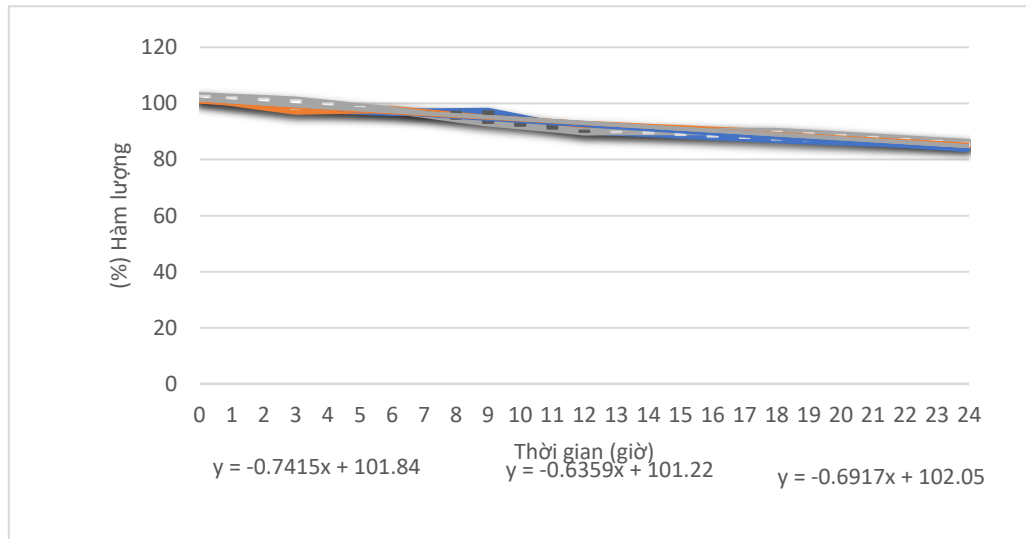
Sự thay đổi hàm lượng CLA theo thời gian được biểu thị trong sơ đồ sau:



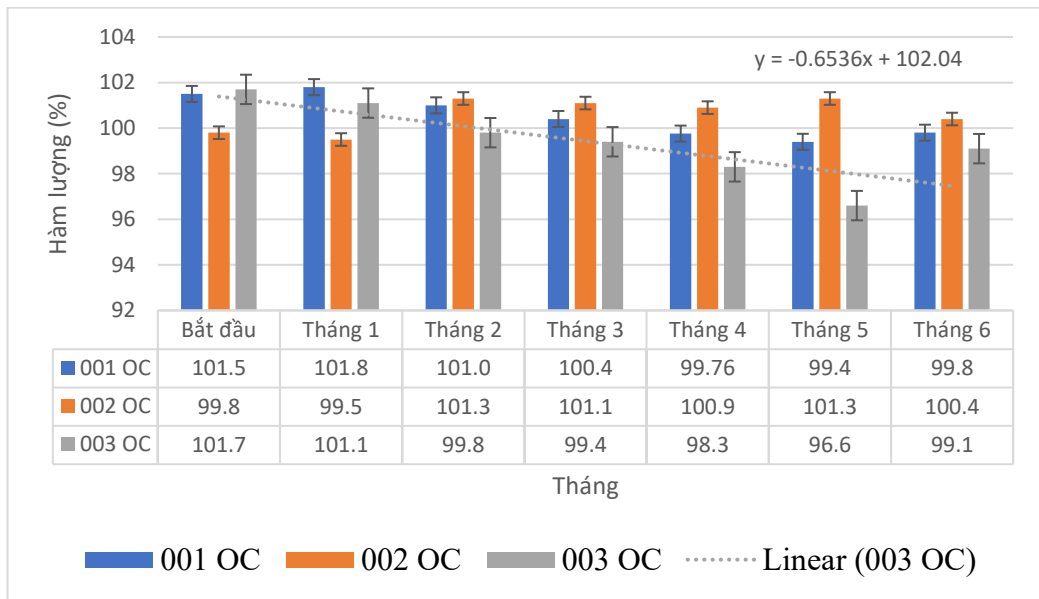
Đồ thị Thời gian để hàm lượng CLA còn lại 90%

Kết quả nghiên cứu độ ổn định ở điều kiện dài hạn

Sự thay đổi hàm lượng CLA theo thời gian được biểu thị trong sơ đồ sau:



Đồ thị Thời gian để hàm lượng CLA còn lại 90%



Biểu đồ hàm lượng 3 công thức theo thời gian

Phụ lục 14. Quy trình định lượng CLA trong huyết tương Chó cỏ
bằng phương pháp LCMS IT-TOF

Qui trình thực hiện

Hóa chất, thuốc thử

- Chất chuẩn: CLA và roxithromycin (nội chuẩn),
- Acetonitril, methanol loại dùng cho LC-MS,
- Acid formic, natri hydroxid, n-hexan, n-butanol loại tinh khiết phân tích,
- Huyết tương chó,

Máy móc, dụng cụ

- Hệ thống máy Shimadzu LCMS IT-TOF;
- Cân kỹ thuật Mettler ML80LE/01, cân phân tích điện tử Mettler ML204/01 và GH 202;

- Máy ly tâm lạnh Hettich Mikro 220R;
- Máy lắc ống nghiệm TalBoys;
- Bể siêu âm Power Sonic;
- Tủ đông -20 °C Alaska, tủ lạnh 2-8 °C LG;
- Micropipet 10 - 100 µL, 100 - 1000 µl;

Điều kiện sắc ký:

- Pha động: Acid formic 0,1% - acetonitrile;
- Cột: C18 (150 x 4,6 mm; 5 µm);
- Nhiệt độ cột: 40 °C;
- Tốc độ dòng: 1,0 ml/ phút;
- Thể tích tiêm: 2 µl;
- Nhiệt độ autosampler: 15 °C,
- Phát hiện:

Đầu dò khối phổ, ESI +

ESI (+), m/z : AS: 720 – 760 → 748,48

IS: 820 – 850 → 837,53

Phương pháp xử lý mẫu:

- Lấy chính xác 0,2 mL huyết tương có chứa CLA cho vào ống nghiệm, thêm 10 µl dung dịch chuẩn nội roxithromycin nồng độ 20 µg/ml trong methanol, thêm 10 µl NaOH 0,1N, lắc 10 giây, Chiết 2 lần với hỗn hợp dung môi n-hexan – n-butanol (98:2), gộp dịch chiết và bốc hơi dung môi tới gần bằng khí nitơ, Hòa cồn trong 200 µl methanol, lắc xoáy 60 giây, siêu âm 5 phút, lọc qua lọc 0,22 µm,

Đường chuẩn:

- Pha các mẫu chuẩn CLA ở các nồng độ chính xác khoảng 0,02 µg/ml, 0,05µg/ml, 0,2 µg/ml, 1 µg/ml, 3 µg/ml, 5 µg/ml, 8 µg/ml và 10 µg/ml trong huyết tương, xử lý các mẫu theo phương pháp trên,

- Tiến hành chạy sắc ký, ghi lại tín hiệu đáp ứng, Vẽ đồ thị biểu diễn sự tương quan giữa nồng độ hoạt chất và tỉ số diện tích đỉnh CLA / roxithromycin đo được của mẫu chuẩn,

Mẫu thử:

- Tiến hành xử lý và phân tích các mẫu theo phương pháp trên, ghi lại tín hiệu đáp ứng, Từ tỉ số diện tích đỉnh CLA / roxithromycin của mẫu thử, dựa vào phương trình hồi qui tuyến tính, tính nồng độ CLA trong mẫu thử,

Kết quả tính tương thích hệ thống định lượng CLA trong huyết tương Chó cỏ bằng phương pháp LCMS IT-TOF

Mẫu	Nồng độ	Diện tích		Tỷ số Diện tích
		AS	IS	
Zero		0	853930	0
S1	0,02	130946	1325138	0,0988
S2	0,05	234330	910728	0,2573
S3	0,20	1228649	1194682	1,0284
S4	1,00	3647701	750269	4,8619
S5	3,00	13804970	955477	14,4483
S6	5,00	21810653	990190	22,0268
S7	8,00	25892225	740748	34,9543
S8	10,00	37431726	851952	43,9364

Phụ lục 15. Kết quả đánh giá diện tích dưới đường cong theo thời gian nhóm thử và nhóm chứng trong 24 giờ

Thời gian	Nồng độ CLA nhóm thử viên nén nổi trong dạ dày	Nồng độ CLA nhóm chứng Klacid forte	AUC nhóm thử	AUC nhóm chứng
0	-	-	-	-
0.25	100	99,25	31.3125	37.4225
0.5	150,5	200,13	87.7500	148.565
1	200,5	394,13	112.7500	262.815
1.5	250,5	657,13	150.4075	398.69
2	351,13	937,63	241.5325	526.8775
2.5	615	1169,88	347.7500	788.1275
3	776	1982,63	870.3750	1397.94
4	964,75	813,25	2928.7500	1456.13
6	1964	642,88	3167.0000	1209.88
8	1203	567,0	4147.5000	2035.5
12	870,75	450,75	4719.0000	2390.25
18	702,25	346,0	2758.1400	1782
24	217,13	248,0		
Tổng AUC			19562.2675	12434.1975

