

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: 62 720 402

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

TP. Hồ Chí Minh, năm 2023

Công trình được hoàn thành tại:

Đại Học Y Dược Thành Phố Hồ Chí Minh

Người hướng dẫn khoa học:

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

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ tại Hội đồng chấm luận án cấp trường tại Đại Học Y Dược Thành Phố Hồ Chí Minh vào hồi giờ ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Thư viện Khoa học Tổng hợp TP. HCM
- Thư viện Đại học Y Dược TP. HCM

1. GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

a. Lý do và tính cần thiết của nghiên cứu

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 có đường dùng 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 chế. 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 thuốc. 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.

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 cách tiếp cận khả thi để đạt được khả năng phân phối thuốc kéo dài và kiểm soát thời gian lưu lại trong dạ dày (GRT), cung cấp một lựa chọn điều trị quan trọng. Những cách tiếp cận trong Phương pháp 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.

Clarithromycin (CLA) 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, dùng trong phác đồ điều trị nhiễm vi khuẩn *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). 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, bên cạnh đó, *H. pylori* đề kháng CLA trên thế giới ở kê ngưỡng $\geq 15-20\%$, tại Việt Nam là 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 tối ưu hóa nồng độ thuốc trong huyết tương cũng là cách tiếp cận mang tính khả thi nhằm góp phần hạn chế tỷ lệ đề kháng kháng sinh CLA.

Do đó, luận án “ Nghiên cứu bào chế hệ thống nổi và PTKD chứa CLA với mục tiêu tổng quát là xây dựng công thức, quy trình bào chế viên nén CLA 500 mg có đặc tính nổi để kéo dài thời gian lưu giữ trong dạ dày *trên cơ thể sống* và kiểm soát sự phóng thích thuốc trong 12 giờ” sẽ giúp cung cấp cơ sở lý luận khoa học – là cách tiếp cận hiệu quả trong điều trị đối với CLA.

b. Mục tiêu nghiên cứu

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 trong 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.

c. Những đóng góp mới của nghiên cứu về lý luận và thực tiễn

- Lần đầu tiên xây dựng dạng bào chế viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày.

- Lần đầu tiên 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 $\geq 80\%$.

- Lần đầu tiên xây dựng mô hình thử nghiệm thời gian nổi *in vitro* viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày.

- Lần đầu tiên 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.

d. Bố cục của luận án

Luận án gồm 125 trang: Mở đầu 2 trang, tổng quan tài liệu 38 trang, đối tượng và phương pháp nghiên cứu 25 trang, kết quả nghiên cứu 32 trang, Bàn luận 25 trang. Luận án có 30 bảng, 17 hình, 01 sơ đồ, 119 tài liệu tham khảo gồm 3 tài liệu tiếng việt, 109 tài liệu tiếng Anh và 7 trang web; 16 phụ lục thể hiện các kết quả thực nghiệm.

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.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.

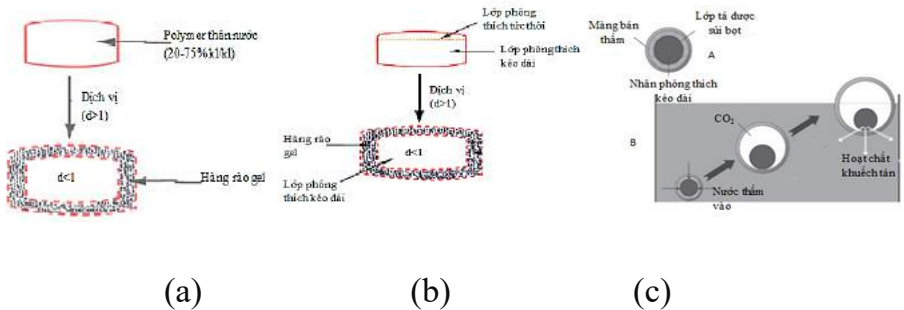
Dạng thuốc nổi sủi bọt

Dựa vào cơ chế sinh khí, dạng thuốc này được chia thành 2 loại:

* Hệ thống sinh khí CO₂ và không sinh khí CO₂

* *Hệ thống sinh khí CO₂*

Hệ thống 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)

2.3. Ưu điểm, tiềm năng và hạn chế của FDSS

Các loại thuốc có sinh khả dụng kém do hấp thụ tại chỗ cụ thể từ phần 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 thuốc.

Nhược điểm : Thuốc gây kích ứng niêm mạc và 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.

Ưu điểm dược động học và tiềm năng trong tương lai : Bao gồm hệ thống phóng thích kéo dài, các dạng bào chế nổi mang lại nhiều ưu điểm tiềm năng khác nhau. 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. FDDS trở thành một ưu điểm bổ sung cho các loại thuốc được hấp thụ chủ yếu ở đoạn trên của đường tiêu hóa, tức là dạ dày, tá tràng và hồng tràng.

2.4. Tổng hợp tình hình nghiên cứu thuốc nổi trong dạ dày

Khi đề cập đến dạng thuốc nổi trong dạ dày cập nhật từ năm 1997 có 5 bằng sáng chế, các công trình công bố về các dạng bào chế thuốc nổi ứng dụng để kéo dài thời gian lưu giữ trong dạ dày như dùng các chất tạo CO₂ giúp viên giảm được tỷ trọng của thuốc; hay các tá dược kết hợp tạo khung matrix và axít citric, NaHCO₃; hay công bố về Ciprofloxacin cũng sử dụng cách bào chế như 2 công trình trên, nhưng tất cả công trình được công bố dưới hàm lượng hoạt chất thấp không quá 80 mg. Bên cạnh đó, có một bằng sáng chế của Nhật công bố trên CLA 250 mg bằng cơ chế làm thay đổi hình dạng của viên, Phương pháp này đòi hỏi trang thiết bị hiện đại. Những năm gần đây, các công trình công bố về CLA 250-500 mg được quan tâm, tuy nhiên, vẫn còn mặt hạn chế như chưa xây dựng mô hình *đánh giá thời gian lưu giữ thuốc in vitro* và

in vivo trên Chó và chưa có sự so sánh giữa các phương pháp cũng như ghi nhận nồng độ, AUC₀₋₂₄ giữa 2 dạng bào chế như viên nổi trong dạ dày và viên PTTT.

2.5. 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 ghi nhận bởi tiềm thời nổi (FLT) và tổng thời gian nổi (TFT). Thử nghiệm được thực hiện trên 2 mô hình: (1) thuốc được cho vào bể chứa thuốc như quy trình thử độ hòa tan theo USP 24 loại thiết bị II (cánh khuấy, tốc độ cánh khuấy 50 vòng/phút), 900 ml dung dịch HCl 0,1N; nhiệt độ $37 \pm 0,5$ °C; (2) thuốc được cho vào ly thủy tinh với 200 ml dung dịch HCl 0,1N. Kết quả ghi nhận được mô tả dưới dạng FLT và TFT, so sánh thống kê các kết quả.

2.6. Phương pháp đánh giá thời gian nổi *in vivo* và nồng độ thuốc trong huyết tương

Các nghiên cứu trên động vật *cơ thể sống – in vivo* là bước đầu tiên ghi nhận hình ảnh khả năng lưu giữ thuốc tại dạ dày và thí nghiệm trên động vật là phương pháp tiếp cận sàng lọc cần thiết. Luận án sử dụng *cơ thể sống* là Chó cỏ (Chó Việt Nam thuần chủng) được nuôi dưỡng trong điều kiện chế độ ăn uống đầy đủ và có kiểm soát. Chó cỏ được chọn trong thử nghiệm bởi mô hình, hình thể dạ dày của Chó cỏ và Người được trình bày Bảng 1.10.

Bảng 1.10 Mô hình và hình thể dạ dày của Chó 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 ± 11,4
Ở trạng thái đói, thời gian làm rỗng dạ dày	18,6 ± 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 m

Bên cạnh đó, nồng độ CLA trong huyết tương được đánh giá và so sánh giữa 2 dạng bào chế là viên nổi trong dạ dày và viên PTTT. CLA định lượng bằng phương pháp LC/MS IT-TOF được thực hiện. 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}). Kết quả đánh giá mối liên quan nồng độ thuốc trong huyết tương của 2 dạng bào chế theo thời gian.

3. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Đối tượng nghiên cứu

3.1.1. Nguyên vật liệu: Clarithromycin, HPMC K100M, HPMC K15M (Colorcon), Opadry® II, yellow (Colorcon), NaHCO₃(S.D Fine Chem), Magnesi stearat, Nước RO, Talc, PVP K30 (BASF), Avicel pH 101 (BASF).

3.1.2. Hóa chất và dung môi: Dung môi đạt tiêu chuẩn phân tích dùng cho HPLC, LCMS, CLA chuẩn, Chuẩn tạp A, MeOH, Roxithromycin; Axit phosphoric; Kali dihydrophosphat; HCl đậm đặc; Acetonitril; Methanol và Axit formic.

Động vật thử nghiệm: Chó cỏ giống đực khỏe mạnh, chủng Việt Nam, 22 – 24 tháng tuổi, trọng lượng 10-12 kg.

3.1.3. Thiết bị và phần mềm dùng trong nghiên cứu

Máy dập viên xoay tròn; Máy sửa hạt TS 250; Máy trộn lập phương; Máy đo phổ NMR, MS; HPLC; Máy khối phổ phân giải cao HPLC-IT-TOF, Máy đo độ hòa tan 6 -12 cốc; Máy ly tâm; cột C₁₈ (5 cm × 4,6 mm; 5 μm); Máy thử độ mài mòn; Máy đo phổ UV; Máy đo pH; Micropipet; Máy ly tâm; Máy lắc ống nghiệm; Tủ đông -20 °C; Tủ lạnh 2-8 °C; Tủ vi khí hậu; Máy trộn siêu tốc; Máy bao phim; Máy đo độ cứng; Máy đồng hóa T18 Digital Ultra; Cân phân tích, cân kỹ thuật; phần mềm: Design-Expert v7.0 (Trial), BCPharSoft OPT, Máy X-Quang.

3.1.4. Nơi nghiên cứu

Khoa Dược - ĐH Y Dược TP. HCM; Trung tâm Khoa học công nghệ Dược Sài Gòn; Viện Kiểm nghiệm thuốc TP. HCM; Công ty cổ phần Dược phẩm Trường Thọ và Trung tâm bệnh xá Đại học Y Dược Tp. Cần Thơ.

3.2. Phương pháp nghiên cứu

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

Quy trình định lượng CLA: CLA định lượng phương pháp HPLC theo DĐVN V. Tiến hành sắc ký và tính toán kết quả, hàm lượng CLA phải trong khoảng 90 - 110% hàm lượng ghi trên nhãn.

Thẩm định quy trình định lượng CLA của nguyên liệu: *được thẩm định theo hướng dẫn của ICH và DĐVN V.*

Quy trình xác định tạp liên quan CLA nguyên liệu

Tiến hành sắc ký với dung dịch mẫu trắng, dung dịch thử, dung dịch đối chiếu với chương trình gradient dung môi (thời gian, pha động A và pha động B)

Xây dựng và thẩm định quy trình thử độ hòa tan viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày

Hiện nay, chưa có Dược điển và chuyên luận nào đề cập đến PTHC của viên nổi trong dạ dày chứa CLA 500 mg.

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

Điều kiện thử: Máy thử độ hòa tan kiểu cánh khuấy; Nhiệt độ: $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$; tốc độ cánh khuấy 50 vòng/phút; thời gian lấy mẫu: 2 giờ, 4 giờ, 8 giờ và 12 giờ; 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 millipore 0,45 μm .

- Tiến hành sắc ký và tính toán kết quả GPHC, % độ hòa tan CLA ở 4 thời điểm 2 giờ, 4 giờ, 8 giờ và 12 giờ.

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

Thẩm định quy trình định lượng CLA trong thử độ hòa tan bằng phương pháp HPLC theo hướng dẫn.

3.2.2. 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 trong 12 giờ

3.2.2.1. Tiền nghiên cứu

Tiền nghiên cứu là bước đầu tiên trong quá trình phát 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 để phát triển dạng bào chế ổn định, hiệu quả và an toàn bên cạnh tham khảo các tài liệu đã công bố và viên tham khảo Klacid 500 mg MR và Klacid Forte 500 mg.

Kiểm nghiệm nguyên liệu, bán thành phẩm và thành phẩm

Tiến hành kiểm nghiệm nguyên liệu và bán thành phẩm CLA theo ĐĐVN V với các chỉ tiêu: Tính chất cảm quan, độ ẩm, định tính, định lượng, tạp chất liên quan. Kiểm nghiệm bán thành phẩm: Đánh giá trước khi nén: Tỷ trọng riêng đồng; Tỷ trọng riêng từng hạt; Chỉ số nén; Khả năng nén; Khả năng chảy của tá dược; Góc nghỉ (Θ) và tỷ số Hausner.

Thành phẩm theo TCCS: các chỉ tiêu của viên nén theo tiêu chuẩn ĐĐVN, bên cạnh đó, thời gian nổi không ít hơn 4 giờ và thời gian PTHC ở 4 thời điểm: 2 giờ, 4 giờ, 8 giờ và 12 giờ.

3.2.2.2. Thiết kế mô hình và tối ưu hóa quy trình bào chế viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày

Thiết kế và tối ưu hóa công thức gồm 5 giai đoạn chính như sau:

(1) Thiết kế mô hình công thức bằng phần mềm Design - Expert v7.0: Mô hình thực nghiệm là mô hình D-Optimal gồm 14 công thức với biến độc lập bao gồm: x_1 , x_2 là lượng (mg) các polymer tạo khung matrix; x_3 là lượng (mg) tá dược nổi và biến phụ thuộc 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);

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

(3) Thực nghiệm đo độ hòa tan và thời gian nổi ;

(4) Tối ưu hóa công thức bằng phần mềm BCPharSoft OPT.

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

Đánh giá chéo và phân tích phương sai (Anova).

Mô tả quy trình sản xuất viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày

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 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 sát hạt ướt.

Sát hạt ướt: Trước khi vận hành máy, kiểm tra vệ sinh máy sát 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 sát 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 NaHCO₃, 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 cốm bán thành phẩm, dán nhãn cốm 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 cốm (kiểm tra chất lượng cốm đạt về các chỉ tiêu: Độ trơn chảy có tốc độ chảy của cốm không nhỏ hơn 5,0 g/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 bao gồm: Opadry® II, yellow là 10%; Còn 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 đưng

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: Thuốc đã ép vỉ đóng vào hộp trung gian.

Quy cách: Ép vỉ Alu/PVC, vỉ 10 viên, hộp 2 vỉ.

3.2.3. Nâng cấp cơ sở và theo dõi độ ổn định của thành phẩm

Kiểm soát các thông số trọng yếu và thẩm định quy trình 3 lô sản xuất 30.000 viên/lô để đánh giá tính lặp lại và ổn định quy trình.

Theo dõi độ ổn định của thuốc

Theo hướng dẫn của ICH nghiên cứu độ ổn định được thực hiện với 3 lô ở quy mô sản xuất, điều kiện bảo quản $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\%/75\% \pm 5\%$ trong 24 tháng và $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\%/75\% \pm 5\%$ trong 6 tháng.

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

3.2.4.1. Mô hình đánh giá thời gian nổi *in vivo*

Mô hình và điều kiện thử nghiệm được trình bày trong Bảng 2.6.

Bảng 2.6. Mô hình thử nghiệm

Thông tin thực nghiệm	Nhóm Chứng	Thuốc nghiên cứu
Chất cần quan	Bari sulfat	
Công thức viên	Không chứa NaHCO_3	Có NaHCO_3
Số lượng thử	08	08
Tình trạng ăn	Nhịn ăn 12 giờ	
Dùng thuốc tiền mê	Chó cỏ được dùng thuốc Combistress® (acepromazine maleate), liều 1 ml/20 kg sau khi uống	
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

Thuốc được cho uống bằng cách đặt vào phần sau của lưỡi để thuốc không bị vỡ hoặc bị chó nhai trước khi nuốt. Sau đó, cho uống ngay với 250 ml nước, ghi nhận hình ảnh bằng chụp X- quang có dùng chất cản quang Bari sulfat.

3.2.4.2. Đánh giá nồng độ CLA trong huyết tương

Mô hình thử nghiệm:

- Nhóm thử nghiệm: Viên nén CLA 500 mg nổi trong dạ dày; Nhóm đối chứng: Klacid Forte 500 mg; Đối tượng thử nghiệm: Chó cỏ bao gồm nhóm chứng 8 con trong thử nghiệm thời gian nổi và nhóm đối chứng là 8 con; Cách dùng thuốc: uống 1 viên/nhóm/con cùng với 250 ml nước. Lấy mẫu và bảo quản mẫu sinh học trong 24,0 giờ (0; 0,25; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 12,0; 18,0 và 24 giờ). Xử lý mẫu và xác định nồng độ CLA trong huyết tương Chó cỏ bằng phương pháp LCMS IT-TOF.

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

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%

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

Kết quả cho thấy phương pháp thử đạt tính phù hợp hệ thống, tính đặc hiệu, giới hạn phát hiện của CLA (1.499 $\mu\text{g/ml}$) và đạt độ đúng, độ chính xác ngày thứ 1 và ngày thứ 2 trong khoảng tuyến tính có nồng độ từ 2- 200 $\mu\text{g/ml}$. Phương pháp đã được thẩm định.

1.1.1. 3.1.3. Kết quả thẩm định quy trình định lượng CLA trong thử độ hòa tan

Kết quả thẩm định được trình bày trong 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: RSD $\leq 2\%$	RSD = 0,43 %	Đạt
2	Tính đặc hiệu	Mẫu placebo không có pic trùng với thời gian lưu pic CLA	Thời gian lưu CLA dd chuẩn: 10,098 phút Thời gian lưu dd thử: 10,050 phút	Đạt
3	Tính tuyến tính	R = 0,990	R = 0,9998	Đạt
4	Độ đúng	98 % - 102 % RSD $\leq 2\%$	99,42 % RSD = 0,99 %	Đạt
5	Độ chính xác			
5.1	Độ lặp lại	RSD $\leq 2\%$ (n = 6)	RSD = 0,50 %	Đạt
5.2	Độ chính xác trung gian	RSD $\leq 2\%$ (n = 12)	RSD = 1,14 %	Đạt

Kết quả thẩm định quy trình định lượng đều đạt.

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 trong 12 giờ

3.2.1. Tham khảo độ hòa tan viên Klacid 500 mg MR

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 đạt theo tiêu chuẩn. Ngoài ra, Klacid 500 mg MR tuân theo động học phóng thích Higuchi phóng thích theo cơ chế chủ yếu là khuếch tán, và hòa tan một phần (Hixson).

Thành phần công thức cơ bản CLA 500 mg nổi trong dạ dày dựa trên các tiền nghiên cứu và công trình công bố tham khảo được trình bày Bảng 3.16.

Bảng 3.16. Thành phần công thức cơ bản A (tiền nghiên cứu)

STT	Thành phần	Đơn vị tính (mg/viên)	Tỷ lệ (%)	Đơn vị tính (g/1.000viên)
1	Clarithromycin	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	Magnes stearat	27	3,17	27
9	Avicel pH 101	71	8,35	71
Khối lượng viên nén (mg)		850	100 %	850
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
Khối lượng viên bao phim (mg)		876,8		876,8

**Bay hơi trong quy trình điều chế*

Ảnh hưởng độ cứng lên tính chất sản phẩm 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

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 3.20. 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 $p > 0,05$.

Ngoài ra, đánh giá ảnh hưởng của lớp bao phim đến tính chất thành phẩm viên nén cho kết quả viên trước và sau khi bao phim khác nhau không có ý nghĩa về mặt thống kê F (0,003; 0,013 và 0,0003).

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

Mô hình thiết kế với 3 biến độc lập x_1, x_2, x_3 HPMC K100M, HPMC K15M, NaHCO_3 được trình bày trong Bảng 3.26.

Bảng 3.26. Kết quả mô hình thực nghiệm

Công thức	X_1	X_2	X_3	y_1	y_2	y_3	y_4
N1	65	120	51	22,51	32,57	76,89	7,30
N2	65	120	102	24,78	36,79	81,89	12,00
N3	125	120	76	13,37	28,98	53,67	11,30
N4	95	120	102	20,56	47,89	83,76	8,00
N5	125	40	102	23,65	40,79	64,23	11,00
N6	95	40	51	46,46	76,43	99,54	8,40
N7	65	40	76	19,3	37,15	61,33	10,30
N8	95	120	51	17,62	31,89	64,94	7,35
N9	125	80	102	13,65	45,56	70,35	10,20
N10	65	80	51	66,63	91,64	107,74	7,50
N11	125	120	76	12,8	30,08	55,7	8,30

N12	125	80	51	24,78	42,17	75,89	9,20
N13	95	80	76	22,7	37,97	69,8	8,30
N14	125	40	51	18,87	33,89	60,07	9,00

Ghi Chú: y_1 : % GPHC thời điểm 2 giờ; y_2 : % GPHC thời điểm 4 giờ; y_3 : % GPHC thời điểm 12 giờ; và y_4 : Thời gian nổi (giờ).

Công thức tối ưu được trình bày trong Bảng 3.32 và được thẩm định tính lặp lại đạt các chỉ tiêu về thời gian nổi, hàm lượng và độ hòa tan ở 4 thời điểm.

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

Nghiên cứu nâng cỡ lô được trình bày trong Bảng 3.32.

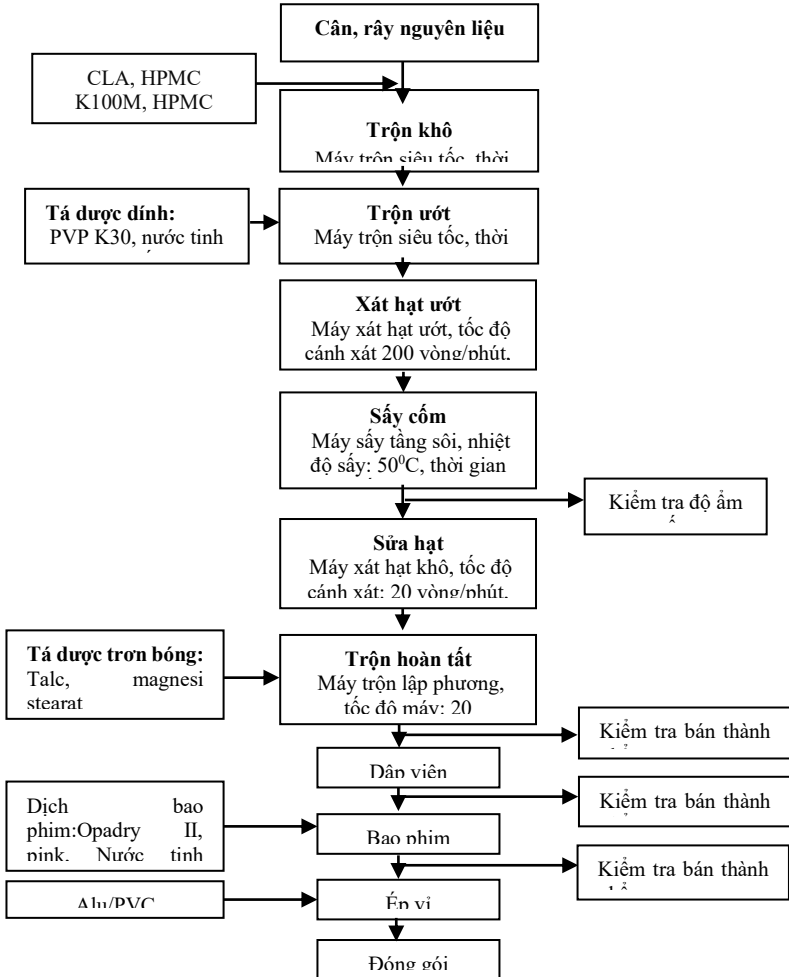
Bảng 3.32. Thành phần công thức tối ưu và nâng cấp cỡ lô

STT	Thành phần	Công thức/ viên (mg)	Công thức/ 30.000 viên (Kg)
<i>Thành phần công thức lô tối ưu (OC)</i>			
1	CLA	500	15
2	HPMC K100M	109,6	3,29
3	HPMC K15M	62,1	1,86
4	NaHCO ₃	73,5	2,21
5	PVP K30	15	1,53
6	Talc	30	1,20
7	Magnesi stearat	27	0,81
8	Avicel pH 101	32,8	0,98
Khối lượng viên		850 mg	850 mg
Thành phần dịch bao phim (khối lượng thực tế bù hao hụt 10%)			
9	Opadry® II, yellow	26,8 ml	803 ml
10	Cồn 96%*	40,2 ml	1,21 lít

11	RO *	200,8 ml	6,03 lít
Khối lượng viên nén bao phim (mg)		876,8	876,8

* Bay hơi trong quy trình điều chế

3.3.1. Quy trình sản xuất 30.000 viên



3.3.2. Bảng tóm tắt tiêu chuẩn cơ sở










Tiêu chuẩn chất lượng thành phẩm: Tính chất Viên nén bao phim màu vàng, mặt lồi, cạnh và thành viên lành lặn hình bầu dục; **Định tính** Chế phẩm phải có phản ứng của CLA; **Độ đồng đều khối lượng:** $867 \text{ mg} \pm 5\%$; **Thời gian nổi:** ≥ 4 giờ; **Độ hòa tan:** CLA ở 4 thời điểm: Sau 2 giờ $\leq 25\%$; Sau 4 giờ phải từ 20 - 40%; Sau 8 giờ phải từ 45 - 75% và sau 12 giờ phải $\geq 80\%$.



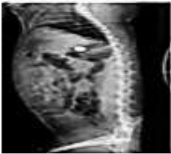


3.3.3. Kết quả theo dõi độ ổn định thành phẩm

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 bảo quản ở nhiệt độ $30 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ / $75 \pm 5\%$ và sau 6 tháng trong điều kiện lão hóa cấp tốc ở nhiệt độ $40 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ / $75 \pm 5\%$ trong bao bì đóng gói. 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

Thời điểm	Nhóm thử nghiệm	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		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. 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 $p < 0,001$.

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

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

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. Điều này có ý nghĩa rất lớn trong thực hành lâm sàng ở những thập niên gần đây, đáp ứng được mục tiêu dược động học/dược lực học của một kháng sinh là đã tối ưu hóa được thời gian tiếp xúc của kháng sinh như CLA 500 mg.

KẾT LUẬN

Hệ thống phân phối thuốc nổi lưu giữ trong dạ dày dựa trên cơ chế sinh khí CO_2 - đây là phương pháp tiếp cận đầy hứa hẹn để giữ thuốc lại trong dạ dày một thời gian dài bên cạnh sự kiểm soát sự phóng thích thuốc theo thời gian.

Điểm mới của luận án:

- Đã 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. Bên cạnh đó, đã đánh giá nồng độ CLA trong huyết tương và AUC₀₋₂₄ của viên CLA 500 mg nổi trong dạ dày và PTTT.

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 *in vivo* bằng phương pháp chụp X- quang; tổng thời gian nổi *in vitro* là $9,0 \pm 0,3$ giờ và *in vivo* $3,9 \text{ giờ} \pm 0,5$ giờ. AUC₀₋₂₄, Cmax 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 $\pm 266,48$ ($\pm 13,44\%$).

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*.

**DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. **Cao Thị Thanh Thảo**, Hồ Hồng Ngọc, Nguyễn Ngọc Khôi, Hoàng Minh Châu (2017), “Nghiên cứu xây dựng công thức viên clarithromycin 500 mg nổi trong dạ dày bằng phương pháp xát hạt ướt và đánh giá sơ bộ thời gian nổi của thuốc trên chó”, *Tạp chí Y học Tp. HCM*, tập 21 (số 5), trang 182-187.
2. **Cao Thị Thanh Thảo**, Hồ Hồng Ngọc, Nguyễn Ngọc Khôi, Lê Thị Thu Cúc (2017), “Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng Clarithromycin 500 mg nổi trong dạ dày”, *Tạp chí Y Học TP. Hồ Chí Minh*, 21(5), tr. 188–195.
3. **Cao Thị Thanh Thảo**, Nguyễn Ngọc Thanh Phương, Trần Văn Thành, Hoàng Minh Châu, Nguyễn Ngọc Khôi (2023), “Phương pháp đánh giá in vivo viên nén nổi trong dạ dày Clarithromycin 500 mg”, *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ - Khoa học Sức khỏe* 2023, 4(1), tr. 535-543.
4. **Cao Thị Thanh Thảo**, Nguyễn Ngọc Thanh Phương, Trần Văn Thành, Hoàng Minh Châu, Nguyễn Ngọc Khôi (2023), “Tối ưu hóa công thức viên nén nổi trong dạ dày Clarithromycin 500 mg”, *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ - Health Science*, 4(1), tr. 1-10.