

Preparation of fenofibrate microparticles by continuous congealing hot emulsion

Nam V. Dao*, Tuan N. Dang*, Anh Q. Vo**

*Hanoi University of Pharmacy

* Corresponding author, e-mail: anhvq@hup.edu.vn

ABSTRACT

Background: Continuous manufacturing is a new trend in the pharmaceutical industry owing to its advantages in risk management, better quality control, smaller footprint, and economic efficiency.

Aim: To develop a continuous model of congealing fenofibrate (FB) microparticles from hot emulsion.

Method: The experimental parameters (excipients, FB levels and emulsifying conditions) were screened using preliminary experiments (batch-model runs for the preparation of hot emulsions and particle congealation). The Box-Behnken model was employed to design the experiments of continuous congealing FB particles, with the aid of MODDE 8.0 software suite. FB microparticles were collected for the evaluation of particle size distribution (D90, D[4,3] and SPAN), physical characterization (DSC, XRD) and *in - vitro* dissolution.

Results: Lutrol F127 (LF) and glycerin monostearate (GSM) were found to be the most suitable hydrophilic and hydrophobic surfactants. The LF content, GSM content, and FB content (independent variables) significantly affected the particle size distribution of the FB microparticles. Three regression equations correlating independent variables with the output variables (D90, D[4,3], and SPAN) were elaborated. The obtained FB microparticles were spherical and the mean volume-weighted particle size (D[4,3]) was less than 4 μm . FB existed as a partial crystalline form in the FB microparticles and the polymorphism of FB had transformed during the process. The dissolution of the obtained FB microparticles was 8 times higher after 5 min and double that of the raw material after the respective time points.

Conclusions: A continuous model of congealing fenofibrate (FB) microparticles from hot emulsion was successfully developed and can potentially be deployed into a continuous manufacturing process for the production of FB microparticles.

Keywords: microparticle, continuous manufacturing, fenofibrate, dissolution enhancement



Bước đầu nghiên cứu tạo vi hạt fenofibrat bằng phương pháp đông tụ liên tục từ nhũ tương

Đào Văn Nam*, Đặng Ngọc Tuấn*, Võ Quốc Ánh**

* Trường Đại học Dược Hà Nội

** Tác giả liên hệ, email: anhvq@hup.edu.vn

TÓM TẮT

Dẫn nhập: Sản xuất liên tục là một xu hướng mới trong sản xuất dược phẩm do công nghệ này có nhiều lợi thế trong việc kiểm soát sự cố khi sản xuất, giúp kiểm soát chất lượng tốt hơn và hiệu quả kinh tế cao hơn.

Mục tiêu nghiên cứu: Phát triển mô hình đông tụ liên tục tiểu phân fenofibrate (FB) từ nhũ tương nóng.

Phương pháp: Các thông số bào chế (loại tá dược, tỉ lệ tá dược và dược chất, điều kiện nhũ hóa) được sàng lọc dựa trên thí nghiệm tiền khả thi theo mô hình lô mẻ (bao gồm giai đoạn nhũ hóa và đông tụ tiểu phân). Các thí nghiệm đông tụ liên tục FB từ nhũ tương được thiết kế theo mô hình Box-Behnken với sự trợ giúp của phần mềm MODDE 8.0. Vi hạt FB được đánh giá phân bố kích thước tiểu phân (KTTP, bao gồm D90, D[4,3] và SPAN), trạng thái tồn tại và độ hòa tan *in vitro*.

Kết quả: Lutrol F127 (LF) và glycerin monostearate (GMS) được lựa chọn là chất diện hoạt thân nước và chất diện hoạt thân dầu. Tỉ lệ LF, GMS và FB đều có ảnh hưởng đến đặc tính phân bố KTTP của vi hạt FB. Ba mô hình hồi quy mô tả mối tương quan giữa biến đầu vào với biến đầu ra đã được xây dựng. Tiểu phân FB có hình cầu và có kích thước trung bình (D[4,3]) nhỏ hơn 4 μm . Trong quá trình bào chế, FB đã thay đổi dạng thù hình so với nguyên liệu ban đầu và tồn tại một phần ở cấu trúc tinh thể trong vi hạt. Độ hòa tan của vi hạt FB cao hơn 8 lần sau 5 phút và gấp đôi ở các thời điểm khác so với độ hòa tan tương ứng của nguyên liệu.

Kết luận: Kỹ thuật đông tụ liên tục vi hạt FB từ nhũ tương nóng đã được phát triển thành công và có thể được ứng dụng trong sản xuất liên tục vi hạt FB.

Từ khóa: vi hạt, sản xuất liên tục, fenofibrate, cải thiện độ hòa tan

Đặt vấn đề

Sản xuất liên tục (SXL) là mô hình sản xuất theo dòng, trong đó quá trình sản xuất không bị gián đoạn, nguyên liệu được đưa vào dây chuyền và di chuyển một cách liên tục với tốc độ được kiểm soát qua các giai đoạn khác nhau của quy trình sản xuất. Ở cuối dây chuyền, đầu ra thu được sẽ là các sản phẩm hoàn chỉnh đạt yêu cầu chất lượng như thiết kế. So với sản xuất theo lô mẻ, SXL có nhiều ưu điểm nổi trội, như giảm thiểu các rủi ro về chất lượng, giúp kiểm soát chất lượng tốt hơn,

cần ít không gian sản xuất hơn, hiệu quả kinh tế cao hơn [12]. Sự ra đời của nhiều thiết bị phân tích trực tiếp trên quy trình (Process Analysis Technology, PAT) cho kết quả theo thời gian thực đã hỗ trợ cho việc phát triển của SXL nhờ khả năng tự động hóa hoàn toàn việc điều chỉnh thông số quy trình cũng như khả năng phân biệt và tách riêng sản phẩm lỗi. Kết hợp với mô hình đảm bảo chất lượng bởi thiết kế (Quality by Design), SXL cho phép kiểm soát chất lượng thuốc đến từng đơn vị phân liều. Do vậy, sản xuất dược



phẩm theo mô hình SXLT rất được khuyến khích [12]. Hiện nay, trên thế giới, mô hình SXLT đã được ứng dụng vào thực tế sản xuất ở một số tập đoàn dược phẩm lớn và đang được triển khai rộng ở các nước có nền công nghiệp dược phát triển.

Fenofibrat (FB) là dược chất thuộc nhóm fibrat được dùng phổ biến để điều trị chứng rối loạn lipid máu. Tuy nhiên, nguyên liệu FB hầu như không tan trong nước và các dung dịch đậm, sinh khả dụng của thuốc dạng quy ước thường thấp và có sự dao động lớn giữa các cá thể. Điều này dẫn đến tần suất gặp phải tác dụng phụ của thuốc cao (lên đến 10 %) và là nguyên nhân chính khiến bệnh nhân phải dừng thuốc [8]. Kết quả của nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng khi được bào chế ở dạng vi hạt hoặc dạng siêu vi tiểu phân, sinh khả dụng và hiệu quả điều trị của thuốc được cải thiện rõ rệt, thể hiện ở giảm liều dùng, giảm sự biến động nồng độ thuốc trong máu, giảm biến động giữa các cá thể và do đó giảm được tần suất gặp phải tác dụng phụ nghiêm trọng của thuốc [3], [5]. Một trong các kĩ thuật có thể được sử dụng để bào chế vi hạt chứa FB là kĩ thuật đông tụ từ nhũ tương [2], trong đó nhũ tương nóng được làm lạnh để rắn hóa các tiểu phân phân tán. Kĩ thuật này có nhiều ưu điểm khi áp dụng cho FB do dược chất có nhiệt độ nóng chảy thấp (~ 80 °C), có tính thân dầu cao (logP = 5,2), do vậy có thể tạo thành pha dầu của nhũ tương mà không yêu cầu dung môi hữu cơ. Tuy nhiên khi nâng cấp quy mô sản xuất, cần kiểm soát chặt chẽ giai đoạn làm lạnh nhũ tương, các thông số thiết bị và hiệu suất làm lạnh ở giai đoạn này ảnh hưởng trực tiếp đến đặc tính của sản phẩm giữa các lô sản xuất khác nhau.

Trong nghiên cứu này, mô hình SXLT được thiết kế và ứng dụng để bào chế vi hạt fenofibrat (FB) theo phương pháp đông tụ từ nhũ tương. Một số yếu tố chính ảnh hưởng đến đặc tính vi hạt tạo ra đã được khảo sát và đánh giá. Sản phẩm vi hạt tạo ra đã được phân tích đặc tính liên quan đến hình

thái, phân bố kích thước tiểu phân, dạng thù hình và độ hòa tan của dược chất. Kết quả nghiên cứu cho thấy có thể ứng dụng mô hình SXLT để bào chế vi hạt FB.

Nguyên vật liệu, thiết bị và phương pháp nghiên cứu

Nguyên vật liệu

Fenofibrat đạt tiêu chuẩn USP 42, nguồn gốc Zhejiang Excel Pharmaceutical Co., Ltd (Trung Quốc). Các tá dược glycerol monostearat (Geleol), Gelucire 48/16 nguồn gốc từ Gattefosse - Pháp; Poloxamer F127 (Lutrol F127, Đức), Polyoxyl 40 hydrogenated castor oil (Cremophor RH 40, Đức), natri lauryl sulfat (Singapore), Span 80 (Singapore), Tween 80 (Singapore); hydroxypropyl methylcellulose (HPMC E6, Mỹ), polyvinyl alcohol (PVA 205, Singapore), Span 60 (Trung Quốc). Các tá dược đều đạt tiêu chuẩn dược dụng của dược điển Mỹ (USP) hoặc dược điển Anh (BP). Ethanol tuyệt đối (Trung Quốc) đạt tiêu chuẩn phân tích; nước thẩm thấu ngược (nước RO) đạt tiêu chuẩn ĐVN V.

Phương pháp nghiên cứu

Tạo vi hạt FB theo mô hình đông tụ liên tục từ nhũ tương

Tạo nhũ tương D/N

Đun chảy và hòa tan/phân tán FB và tá dược thân dầu bằng máy khuấy từ gia nhiệt (WiseStir MSH-20A Daihan Scientific, Đài Loan) và duy trì ở nhiệt độ 80 – 85 °C (pha dầu). Hòa tan chất điện hoạt (CDH) thân nước trong nước RO, đun nóng và duy trì ở nhiệt độ 85 – 95 °C (pha nước 1) sử dụng máy khuấy từ gia nhiệt (WiseStir MSH-20A).

- Phối hợp pha dầu vào pha nước 1 trong khi vẫn duy trì nhiệt độ ở 85 – 95 °C. Đồng nhất hóa bằng thiết bị siêu âm trực tiếp (Handheld Ultrasonic Homogenizer UP200Ht, Hielscher - Đức) với các thông số công suất 100W, biên độ 100 %, tần số 26kHz, tần suất nghỉ 50 %, thời gian 10 phút, nhiệt độ của hệ 85 – 95 °C duy trì bằng máy khuấy từ gia nhiệt.

Đông tụ nhũ tương

Chuẩn bị dung dịch làm lạnh: hòa tan chất điện hoạt, ngâm trương nở và hòa tan polyme trong nước. Làm lạnh dung dịch bằng bể điều



hiệt được cài đặt nhiệt độ 2 °C (sử dụng bể điều nhiệt WiseCircu WCR-P12, Refrigerated Bath Circulator, Daihan Scientific, Đà Loan).

Bơm đồng thời nhũ tương nóng và dung dịch làm lạnh vào hai nhánh đối nhau của thiết bị chữ T (3 ống mao quản thông nhau) với cùng tốc độ 5 mL/phút (tỷ lệ pha trộn 1:1). Hỗn dịch tạo thành sau khi phối trộn sẽ chảy ra theo nhánh còn lại của thiết bị chữ T nối với hệ thống làm lạnh. Nhờ áp lực tạo ra từ 2 bơm nói trên, hỗn dịch này được đẩy qua hệ thống ống làm lạnh là cuộn ống đồng dài 5m có đường kính trong 0,5 mm được nhúng ngập trong bể điều nhiệt WiseCircu WCR-P12 được cài đặt ở 2 °C.

Sản phẩm là hỗn dịch vi hạt fenofibrate đã được đông rắn hoàn toàn thu được ở đầu ra của hệ thống làm lạnh. Các mẫu hỗn dịch chứa vi hạt FB được tiếp tục xử lý, bảo quản bằng phương pháp phù hợp.

Phương pháp thiết kế thí nghiệm

Các thí nghiệm khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến đặc tính của vi hạt FB được thiết kế theo mô hình Box-Behnken [9] với sự trợ giúp của phần mềm MODDE 8.0. Các biến đầu vào cùng với khoảng biến thiên phù hợp được xác định thông qua các thí nghiệm tiền khả thi. Biến đầu ra là các thông số mô tả phân bố kích thước của vi hạt FB bao gồm: phân vị 90 % phân bố kích thước tiểu phân (D90), kích thước tiểu phân trung bình (D[4,3]), độ rộng dải phân bố kích thước (SPAN). Vi hạt FB được bào chế theo các công thức đã được xác định bởi quy hoạch thực nghiệm, sau đó được đánh giá phân bố kích thước tiểu phân và xác định giá trị các biến đầu ra của mô hình. Tương quan giữa các biến đầu vào và biến đầu ra được thiết lập bằng với sự hỗ trợ của phần mềm MODDE 8.0 với dạng tương quan hồi quy là các phương trình bậc 2.

$$Y = b + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3$$

Ảnh hưởng của các biến đầu vào với các biến đầu ra được mô tả thông qua các phương trình hồi quy, các thông số thống kê,

các đồ thị đường đồng mức hoặc các đồ thị mặt đáp trích xuất được từ phần mềm.

Phương pháp đánh giá dạng thù hình của dược chất

Dạng thù hình của FB trong các mẫu nguyên liệu, tá dược, hỗn hợp vật lý và mẫu vi hạt được khảo sát bằng phương pháp quét nhiệt lượng vi sai và phương pháp phân tích phổ nhiễu xạ tia X. Đối với mẫu vi hạt, hỗn dịch chứa vi hạt FB được lọc qua giấy lọc sau đó được làm khô bằng cách cho vào bình hút ẩm chứa silicagel trong 48 giờ.

Phương pháp quét nhiệt lượng vi sai (DSC): Phép đo này được thực hiện trên máy DSC 1 - StarSystem (Mettler Toledo, Mỹ). Cân chính xác một lượng mẫu tương ứng khoảng 3-4 mg FB và chuyển vào vào đĩa DSC chuyên dụng, đậy nắp và hàn kín. Dùng kim nhọn tạo một lỗ nhỏ để thoát khí trên nắp đĩa. Tiến hành phân tích DSC với các thông số như sau: Ổn nhiệt mẫu ở 25°C trong thời gian 3 phút; sau đó nâng nhiệt độ trong khoảng 25 - 150°C với tốc độ gia nhiệt: 10°C /phút; lưu lượng khí N₂: 50 ml/phút.

Phương pháp phân tích phổ nhiễu xạ tia X (XRD): Phép đo này được thực hiện trên thiết bị nhiễu xạ tia X (D8 Advance Bruker, Mỹ). Mẫu cần phân tích (khoảng 0,5 g) được làm nhỏ nhẹ nhàng, nếu cần, và dàn đều lên các đĩa chuyên dụng chứa mẫu trước khi được đưa vào buồng đo. Thực hiện phân tích XRD với các thông số như sau: nhiệt độ: 25°C; khoảng đo: góc đo 2θ từ 5° đến 50°; độ phân giải: 0,02°; tốc độ quét góc 2θ: 0,020°/giây.

Phương pháp xác định kích thước và hình dạng tiểu phân

Hình dạng tiểu phân được xác định bằng kính hiển vi quang học có gắn camera Eclipse Ci-L (Nikon, Nhật). Mẫu hỗn dịch chứa vi hạt FB được pha loãng và quan sát trên kính hiển vi quang học, hình dạng tiểu phân và kích thước tiểu phân được phân tích bằng trên các hình ảnh chụp được của mẫu. Kích thước tiểu phân được xác định theo chiều rộng nhất bằng thước đo tích hợp trong phần mềm NIS Elements D 4.2 của thiết bị.

Phân bố kích thước tiểu phân được xác



định bằng phương pháp tán xạ laser, sử dụng thiết bị Mastersizer 3000 E series (Malvern, Anh) với các thông số như sau: chỉ số khúc xạ: 1,55 [6] với FB và 1,33 với nước RO; hệ số hấp thụ: 1; tỷ trọng: 1,18 g/ml [7]; tốc độ khuấy trộn: 1750 - 1800v/p. Kết quả thu được của phép đo là đồ thị phân bố kích thước tiểu phân; phân vị 10 %, 50 %, 90 % phân bố kích thước tiểu phân; kích thước trung bình (D[4,3]) và độ rộng của dải phân bố KTTT (SPAN).

Phương pháp định lượng dược chất

Nồng độ FB trong các mẫu được xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ UV, đo độ hấp thụ tại bước sóng 291 nm [4], và được thực hiện trên máy quang phổ U1900 (Hitachi, Nhật); Mẫu được hòa tan trong methanol trước khi pha loãng bằng dung dịch natri laurylsulfat (SLS) 1,5% đến nồng độ thích hợp, nằm trong khoảng đường chuẩn định lượng đã được xây dựng trước. Các mẫu có nồng độ thích hợp được lọc qua màng lọc 0,45 µm trước khi đo độ hấp thụ, mẫu trắng là dung dịch SLS có nồng độ bằng nồng độ SLS trong mẫu cần đo.

Phương pháp đánh giá độ hòa tan

Độ hòa tan của các mẫu vi hạt và nguyên liệu FB được đánh giá trên hệ thống thử hòa tan 8 cốc kết nối với hệ thống hút mẫu tự động (PTWS - 610, Pharmatest - Mỹ) sử dụng cánh khuấy (thiết bị USP II) [10]. Các thông số thử hòa tan gồm có: môi trường hòa tan 900 ml dung dịch SLS 1,5 %; nhiệt độ: 37±0,5 °C; tốc độ khuấy: 75 v/phút; mẫu thử là hỗn dịch hoặc mẫu bột chứa lượng dược chất tương đương 200 mg FB; tại các thời điểm 5, 10, 15, 30, 45, 60 phút hút 5 mL dịch thử hòa tan để định lượng, đồng thời bổ sung 5 mL môi trường mới vào cốc thử.

Lượng dược chất giải phóng và tỉ lệ FB hòa tan tại thời điểm n là:

$$m_n = 5 \cdot \sum_{i=1}^{n-1} C_i + C_n \cdot 900; \quad \% GP_n = \frac{m_n}{m} \cdot 100$$

Trong đó C_n là nồng độ FB ở lần hút thứ n; m là hàm lượng dược chất có trong mẫu thử.

Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả thực nghiệm được xử lý trên phần mềm Microsoft Excel 2021 và được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (TB ± SD).

Kết quả nghiên cứu và bàn luận

Các thí nghiệm tiền khả thi

Các yếu tố thuộc về công thức và quy trình bào chế được sàng lọc dựa trên các thí nghiệm tiền khả thi. Các thành phần công thức được khảo sát gồm tỉ lệ dược chất, loại tá dược và tỉ lệ CDH thân nước, loại tá dược và tỉ lệ CDH thân dầu. Các đặc tính kĩ thuật được khảo sát là nhiệt độ quá trình nhũ hóa và điều kiện bảo quản sản phẩm. Bào chế và xác định ảnh hưởng của các yếu tố đến đặc tính kích thước, trạng thái và độ bền ngắn hạn của sản phẩm tạo ra.

Thông số lựa chọn: KTTB của tiểu phân tạo ra < 10 µm, tiểu phân có cấu trúc vi cầu; không có hoặc có rất ít tiểu phân (< 10 %) có cấu trúc tinh thể hình que.

Lựa chọn thông số kĩ thuật cho quá trình bào chế

Dựa trên tính chất fenofibrate gần như không tan trong nước và có nhiệt độ nóng chảy thấp (80 - 81°C), chúng tôi giả thuyết rằng có thể tạo nhũ tương nóng chảy với pha dầu là hỗn hợp chứa FB nóng chảy, sau đó làm lạnh để các giọt pha dầu đông rắn tạo thành các tiểu phân có kích thước cỡ micromet hoặc nhỏ hơn. Vì vậy, nhiệt độ của pha dầu và quá trình tạo nhũ tương được lựa chọn từ 85-95 °C nhằm đảm bảo nhiệt độ đủ cao để FB ở trạng thái nóng chảy trong khi không vượt quá nhiệt độ sôi của môi trường phân tán nhằm giúp ổn định và kiểm soát được thành phần của hệ trong quá trình thí nghiệm.

Do thí nghiệm cần gia nhiệt và duy trì nhiệt độ ổn định, với điều kiện sẵn có của phòng thí nghiệm, thiết bị siêu âm trực tiếp được sử dụng để đồng nhất hóa tạo nhũ tương do khả năng nhũ hóa tốt và nhiệt độ của hệ trong quá trình bào chế có thể được kiểm soát ổn định. Các thông số siêu âm được giữ hằng định, đảm bảo đồng nhất đối với tất cả các mẫu thí nghiệm.



Các thí nghiệm tiền khả thi để lựa chọn thông số kỹ thuật, thành phần và khoảng biến thiên của các biến đầu vào được thực hiện với các thay đổi về chất nhũ hóa thân nước, chất nhũ hóa dầu và tỷ lệ của các tá dược này trong hệ.

Chất nhũ hóa thân nước

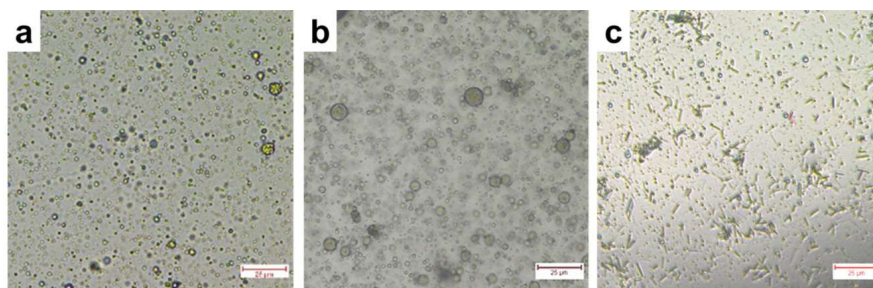
Tiến hành khảo sát với các CDH thân nước PVA 205; HMPC E6; Cremophor RH40; SLS; Tween 80; Lutrol F127 (LF). Kết quả cho thấy trong các tá dược khảo sát, LF có tác dụng tốt nhất với việc bào chế vi hạt FB, đa số tiểu phân đều có dạng cầu; sau khi bảo quản 2 ngày ở nhiệt độ 5 °C, vi hạt vẫn có dạng hình cầu, kích thước không tăng lên, gần như không có tinh thể hình kim xuất hiện như các mẫu khác. Khoảng biến thiên phù hợp của LF được lựa chọn là 2-6 %.

Bảng 1. Ký hiệu và khoảng biến thiên của biến độc lập

Tên biến	Ký hiệu	Các mức biến thiên (%)		
		Giới hạn trên	Giới hạn dưới	Mức trung tâm
Tỉ lệ FB	X1	10	6	8
Tỉ lệ GMS	X2	10	6	8
Tỉ lệ LF	X3	6	2	4

Chất nhũ hóa thân dầu

Các CDH thân dầu được khảo sát gồm GMS; Gelucire 48/16; Span 80 và Span 60. Chỉ có mẫu thử được bào chế với GMS có tiểu phân kích thước nhỏ, hình cầu và đồng đều, không có tiểu phân hình que, chứng tỏ không / ít có sự kết tinh lại trong quá trình đông tụ. Do vậy, GMS được lựa chọn là tá dược nhũ hóa



Hình 1. Hình ảnh trên kính hiển vi của một số mẫu đại diện khi thay đổi công thức: a) LF 4%, GMS 8%, FB 8%; b) PVA205-4%, GMS 8%, FB 8%; c) LF 4%, Span80-8%, FB 8%. Scale bar: 25 μm.

Bảng 2. Các công thức thí nghiệm Box-Behnken và giá trị của các biến đầu ra tương ứng

Công thức	Giá trị các biến (%)			D90 (μm) Y1	D[4,3] (μm) Y2	SPAN Y3
	X1	X2	X3			
N1	6	6	4	3,560	1,820	2,214
N2	10	10	4	8,030	3,350	3,766
N3	6	10	4	5,680	2,430	3,200
N4	10	6	4	6,110	2,560	3,374
N5	6	8	2	5,580	2,550	2,913
N6	10	8	2	6,890	2,920	3,484
N7	8	6	2	6,550	2,750	3,460
N8	8	10	2	8,090	3,200	4,231
N9	6	8	6	3,450	1,860	2,143
N10	10	8	6	3,410	1,780	2,041
N11	8	6	6	3,030	1,650	1,870
N12	8	10	6	4,170	2,060	2,373
N13	8	8	4	6,300	2,850	3,006
N14	8	8	4	6,710	2,880	3,632
N15	8	8	4	6,680	2,830	3,337



thân dầu. Kết quả khảo sát cho thấy, khi sử dụng CDH thân nước LF, khoảng nồng độ của GMS 6-10 % là phù hợp để tạo được vi hạt đều và nhỏ. Hình 1 minh họa sản phẩm thu được khi thay đổi thành phần khác nhau trong công thức bào chế.

Phân tích ảnh hưởng của thành phần công thức đến đặc tính vi hạt FB

Thiết kế thí nghiệm mô hình Box-Behnken với các biến độc lập được lựa chọn bao gồm tỉ lệ FB, tỉ lệ GMS và tỉ lệ LF. Ký hiệu và khoảng biến thiên của các biến độc lập được trình bày ở Bảng 1. Các biến phụ thuộc được lựa chọn là các thông số mô tả phân bố KTTT của vi hạt FB bao gồm D90 (Y1); D[4,3] (Y2); và SPAN (Y3).

Chi tiết các công thức thực nghiệm theo mô hình Box-Behnken được trình bày trong Bảng 2. 15 công thức thực nghiệm được bào chế theo phương pháp mô tả ở trên. Xác định phân bố kích thước tiểu phân của các mẫu vi hạt FB thu được, từ đó xác định giá trị của các biến đầu ra tương ứng với mỗi công thức. Kết quả thí nghiệm được tổng hợp ở Bảng 2.

Phân bố KTTT của các mẫu vi hạt phụ thuộc vào thành phần công thức bào chế. Nhìn chung, kích thước tiểu phân có tương quan tỷ lệ thuận với nồng độ LF. Tuy nhiên, một số công thức có nồng độ LF thấp (mẫu N1, LF 4 %) vẫn cho vi hạt có kích thước nhỏ hơn mẫu có nồng độ LF cao (mẫu N12, LF 6 %). Phân bố

KTTT của các mẫu lặp lại công thức trung tâm (N13, N14, N15) tương đối giống nhau, chúng tỏ quy trình bào chế có độ lặp lại cao.

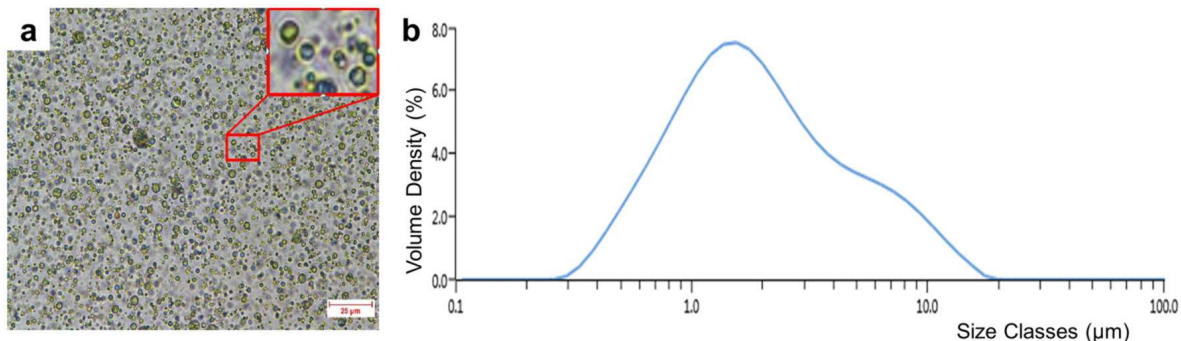
Phân tích ảnh hưởng của các yếu tố sử dụng phương trình hồi quy

Mối tương quan giữa các biến độc lập và biến phụ thuộc được thiết lập bằng phương pháp phân tích tương quan hồi quy và được mô tả bằng các phương trình đa thức bậc 2. Các hệ số của phương trình hồi quy và kết quả phân tích thống kê được trình bày ở Bảng 3.

Các phương trình hồi quy đều có giá trị $R^2 > 0,9$ và $R^2_{hc} > 0,75$ chứng tỏ sự phù hợp của mô hình hồi quy trong việc mô tả tương quan giữa các biến đầu vào với các biến đầu ra. Giá trị Q^2 của mô hình hồi quy đối với cả 3 biến đầu ra đều lớn hơn 0,3 gợi ý rằng các mô hình này có khả năng dự đoán giá trị của các biến đầu ra khi biết được giá trị của biến đầu vào. Với khoảng tin cậy 95 %, cả 3 biến đầu vào và bình phương tỷ lệ LF ($X_3.X_3$) đều ảnh hưởng có thống kê đến kích thước tiểu phân trung bình và phân vị 90 % phân bố KTTT của vi hạt. Chỉ có tỷ lệ LF và GSM ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến độ rộng phân bố KTTT của vi hạt với độ tin cậy 95 %, tuy nhiên tỷ lệ FB có ảnh hưởng lớn nhất trong số các biến còn lại và ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê ở mức 90 %. Phương trình mô tả sự ảnh hưởng của biến đầu vào đến từng biến đầu ra với các mức có ý nghĩa tương ứng có thể được viết lại như sau:

Bảng 3. Các hệ số phương trình hồi quy và giá trị p-value tương ứng

Hệ số	Y1		Y2		Y3	
	Giá trị	p	Giá trị	p	Giá trị	p
b	6,5108		2,8270		3,2827	
a ₁	0,5837	0,0262	0,1974	0,0345	0,2172	0,0723
a ₂	0,6260	0,0204	0,1882	0,0404	0,2826	0,0317
a ₃	-1,2418	0,0012	-0,3881	0,0024	-0,5300	0,0026
a ₁₁	-0,3486	0,1547	-0,1184	0,1809	-0,1286	0,2808
a ₂₂	0,0010	0,9967	-0,0200	0,8040	0,0432	0,7012
a ₃₃	-0,6110	0,0324	-0,2127	0,0384	-0,2144	0,1000
a ₁₂	-0,0304	0,8852	0,0027	0,9718	-0,0388	0,7196
a ₁₃	-0,1887	0,3885	-0,0541	0,4931	-0,0908	0,4150
a ₂₃	-0,0160	0,9393	0,0063	0,9353	-0,0307	0,7762
R ²	0,939		0,921		0,911	
R ² _{hc}	0,829		0,778		0,751	
Q ²	0,339		0,335		0,314	



Hình 2. a. Hình ảnh vi hạt FB (N15) trên kính hiển vi quang học (vật kính 40x).
b. Phân bố kích thước tiểu phân của mẫu vi hạt (N15) đo bằng tán xạ laser.

$$Y1 = 6,5108 + 0,5837 \cdot X1 + 0,6260 \cdot X2 - 1,2418 \cdot X3 - 0,6110 \cdot X3^2 \quad (\alpha = 0,05)$$

$$Y2 = 2,8270 + 0,1974 \cdot X1 + 0,1882 \cdot X2 - 0,3881 \cdot X3 - 0,2127 \cdot X3^2 \quad (\alpha = 0,05)$$

$$Y3 = 3,2827 + 0,2172 \cdot X1 + 0,2826 \cdot X2 - 0,5300 \cdot X3 \quad (\alpha = 0,1)$$

Các phương trình hồi quy này cũng có thể được máy móc sử dụng để tính giá trị của các biến đầu vào để thu được giá trị của biến đầu ra mong muốn trong mô hình sản xuất liên tục, hay xác định công thức tối ưu để đảm bảo đạt được một số điều kiện nhất định của biến đầu ra.

Đánh giá các đặc tính của sản phẩm vi hạt FB

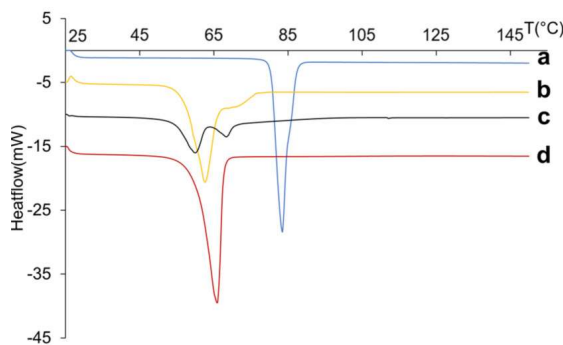
Hình thái tiểu phân

Quan sát các mẫu vi hạt FB thu được trên kính hiển vi quang học cho thấy các tiểu phân có dạng hình cầu hoặc gần cầu, kích thước tiểu phân phổ biến < 10 micrometers và có rất nhiều tiểu phân có kích thước rất nhỏ, xuất hiện trên vi trường kính hiển vi dưới dạng các chấm tròn (Hình 2a). Kết quả này phù hợp với phân bố KTTP khi xác định bằng phương pháp tán xạ laser trên thiết bị Mastersizer 3000E, D90 = 6,710 micrometers; D[4,3] = 2,880 micrometers; SPAN = 3,632 (Mẫu N15). Hình trên kính hiển vi của tất cả các mẫu đều không có tiểu phân hình que, chủ yếu ở dạng vi cầu.

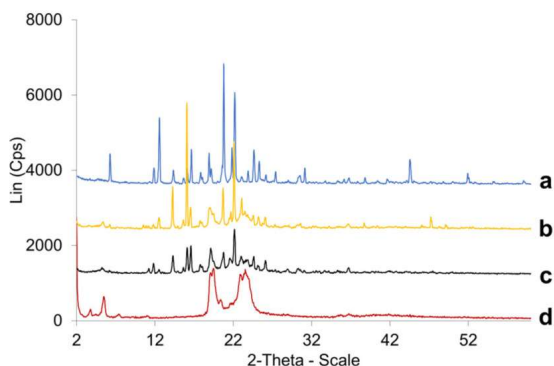
Phân tích dạng thù hình của vi hạt FB

Dạng thù hình của FB trong các mẫu được khảo sát bằng hai kỹ thuật khác nhau quét

lượng vi sai (DSC) và nhiễu xạ tia X. Kết quả phân tích DSC cho thấy nguyên liệu FB ở dạng tinh thể với pic thu nhiệt sắc gọn ở 84 °C, nguyên liệu GMS cũng tồn tại ở dạng tinh thể thể hiện pic nóng chảy gọn ở 66 °C (Hình 3). Trên giản đồ nhiệt của hỗn hợp vật lý tương ứng với công thức N15 không có pic thu nhiệt của FB ở 84 °C như mẫu nguyên liệu mà xuất hiện dấu hiệu khác với cả 2 nguyên liệu ban đầu là vùng doãng thu nhiệt ở khoảng 70 °C, giống như vai của pic GMS. Trong khi đó, trên giản đồ nhiệt của vi hạt FB có 2 pic thu nhiệt tương đối rõ, tách rời nhau có thể tương ứng với GMS và FB, tuy nhiên pic mới xuất hiện ở nhiệt độ thấp hơn so với pic của nguyên liệu FB ban đầu. Các kết quả này gợi ý rằng quá trình bào chế vi hạt có thể đã làm thay đổi dạng thù hình của FB.



Hình 3. Giản đồ DSC của các mẫu a) Nguyên liệu FB, b) Hỗn hợp vật lý, c) Công thức trung tâm N15, và d) GMS.

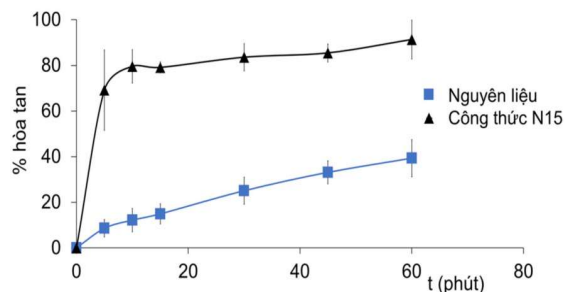


Hình 4. Phổ nhiễu xạ tia X của các mẫu a) Nguyên liệu FB, b) Hỗn hợp vật lý, c) Công thức trung tâm N15, và d) GMS.

Nhận định về sự thay đổi dạng thù hình của FB dựa trên kết quả DSC được khẳng định bằng phổ nhiễu xạ tia X của các mẫu tương ứng (Hình 4). Phổ XRD của nguyên liệu FB có các pic sắc nhọn chứng tỏ nguyên liệu ở dạng kết tinh. Đa số các đỉnh đặc trưng của nguyên liệu FB đều xuất hiện trên phổ XRD của hỗn hợp vật lý. Đối với mẫu vi hạt, các đỉnh trong phổ nhiễu xạ tia X tù hơn chứng tỏ một phần FB đã chuyển sang trạng thái vô định hình trong quá trình bào chế. Kết quả cho thấy có sự khác biệt về các pic ở vị trí $6,2^\circ$; $31,1^\circ$; $44,2^\circ$ cũng như sự thay đổi tỉ lệ tương đối về cường độ các pic ở trong vùng $12-32^\circ$ trên giản đồ XRD của nguyên liệu so với mẫu vi hạt. Điều đó gợi ý rằng có sự thay đổi về dạng tinh thể của hoạt chất hoặc có sự tương tác giữa FB và GMS làm thay đổi một phần cấu trúc tinh thể.

Độ hòa tan của vi hạt

Độ hòa tan của nguyên liệu FB và của mẫu vi hạt N15 được đánh giá trong môi trường hòa tan SLS 1,5%. Có thể thấy rằng độ hòa tan của mẫu vi hạt cao hơn nhiều so với mẫu nguyên liệu (Hình 5). Sau 5 phút, lượng dược chất giải phóng từ mẫu bào chế gấp 8 lần so với mẫu nguyên liệu (69,16% và 8,58% tương ứng). Sau 60 phút, lượng FB giải phóng từ mẫu vi hạt đạt trên 90%, trong khi độ hòa tan của nguyên liệu < 40%. Điều đó chứng tỏ vi hạt FB có thể cải thiện đáng kể độ hòa tan của dược chất so với nguyên liệu ban đầu.



Hình 5. Độ hòa tan của mẫu vi hạt N15 so với nguyên liệu trong môi trường SLS 1,5% ($n=3$; $\pm SD$).

Bàn luận

Giảm kích thước tiểu phân có thể làm tăng độ hòa tan và sinh khả dụng của FB. Tuy vậy, dược chất này có nhiệt độ nóng chảy thấp ($80-82^\circ\text{C}$) nên rất khó giảm kích thước bằng các phương pháp xay nghiền do dược chất dễ bị nóng chảy và dính bết dưới tác động của nhiệt ma sát. Phương pháp tạo vi hạt bằng đông tụ nhũ tương có thể khắc phục được khó khăn này. Các vi hạt tạo ra có kích thước trung bình chỉ vài micromet, có thể làm cải thiện độ hòa tan của dược chất lên nhiều lần. Quy trình đã phát triển trong nghiên cứu này có thể được nâng quy mô bằng nhiều cách như tăng tốc độ dòng chảy, tăng quy mô thiết bị hoặc tăng số lượng bộ phối trộn hai pha. Ở quy mô nhỏ, phương pháp sản xuất theo lô mẻ có thể thu được các vi hạt không khác nhiều so với việc áp dụng mô hình sản xuất liên tục. Tuy nhiên, khi thực hiện ở quy mô lớn, việc làm lạnh nhũ tương nóng gặp nhiều khó khăn do cần thiết bị làm lạnh với công suất lớn, có thời gian trễ và khó kiểm soát đồng nhất nhiệt trong toàn hệ khi làm lạnh. Điều này tạo điều kiện để các hạt nhũ tương FB nóng chảy sát nhập vào nhau tạo thành các tiểu phân lớn hơn trước khi được đông lạnh. Đối lập với nó, việc làm lạnh ở quy mô rất nhỏ trong sản xuất liên tục đảm bảo rằng các giọt FB nóng chảy được làm lạnh và đông rắn tức thì, tránh được hiện tượng sát nhập các giọt FB nóng chảy, và nhờ đó có thể thu được các vi hạt nhỏ hơn và đồng nhất hơn về kích thước. Việc nâng quy mô đối với mô hình SXLT đã đề cập cũng có tính khả thi cao hơn so với



khi nâng cấp quy mô của mô hình sản xuất theo lô mẻ.

Mặc dù đã có rất nhiều công bố về cải thiện đặc tính và KTTP của FB, nhưng cho đến nay chỉ có một số nhỏ nghiên cứu ứng dụng mô hình SXLT được công bố [1],[11]. Trong nghiên cứu của Patil [1], tiểu phân nano lipid FB được bào chế trên hệ thống kết nối gồm máy đun nóng chảy (tạo nhũ tương thô) và máy đồng nhất hóa áp suất cao (tạo tiểu phân nano). Tuy nhiên, đó không phải là quy trình liên tục thực sự do giai đoạn đồng nhất hóa áp suất cao phải tuần hoàn nhiều chu kỳ. Thêm vào đó tỷ lệ dược chất trong hạt lipid rất nhỏ (khoảng 8 %), nên tổng khối lượng của đơn vị bào chế tương đối lớn, khó có thể làm thành viên nén hoặc viên nang, là dạng bào chế phổ biến, dễ dùng. Ngoài ra, việc rắn hóa các vi tiểu phân sẽ khó khăn và rất tốn kém do hỗn dịch nanolipid rất khó cô đặc và nồng độ quá thấp. Trong nghiên cứu khác, Dong và cộng sự [11] sử dụng microfluid kết hợp với phun sấy để bào chế tiểu phân nano FB. Kết quả cho thấy tiểu phân tạo ra có kích thước 196-296 nm, tuy nhiên đòi hỏi yêu cầu cao về mặt thiết bị, và năng lượng để phun sấy. Ngoài ra tỉ lệ FB trong sản phẩm rất thấp, chỉ khoảng 20 %.

Giải pháp đề xuất trong nghiên cứu này có thể khắc phục được các nhược điểm trên, như có thể phát triển thành quy trình sản xuất liên tục thực sự, hàm lượng dược chất trong vi hạt cao hơn và dễ dàng rắn hóa hơn. Hỗn dịch vi

hạt FB có thể cô đặc thành bột nhão bằng ly tâm sau đó rắn hóa bằng cách sấy dưới áp suất giảm, phun sấy, hấp phụ lên tá dược xốp, phun lên bề mặt tiểu phân tá dược, hoặc đông khô. Như vậy, xét về ứng dụng, phương pháp đề xuất này có tính khả thi hơn và hiệu quả kinh tế hơn.

Kết luận

Nghiên cứu này đã xây dựng được và thử nghiệm thành công mô hình đồng tụ liên tục vi hạt FB từ nhũ tương. Các yếu tố nồng độ chất nhũ hóa thân nước, nồng độ chất nhũ hóa thân dầu và tỷ lệ dược chất FB đều ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến phân bố KTTP của vi hạt. Ba phương trình hồi quy dạng đa thức bậc 2 mô tả tương quan giữa các yếu tố này và D90 (phân vị 90 % phân bố kích thước tiểu phân), D[4,3] (kích thước tiểu phân trung bình theo thể tích) và độ rộng phân bố kích thước tiểu phân SPAN đã được thiết lập. Vi hạt FB tạo ra bằng phương pháp đồng tụ liên tục từ nhũ tương có dạng hình cầu, kích thước trung bình từ 1,65 đến 3,35 μm . Dược chất trong vi hạt tồn tại ở dạng kết tinh (hoặc kết tinh một phần) và có dạng thù hình thay đổi so với nguyên liệu ban đầu. Độ hòa tan của vi hạt FB đạt trên 60 % sau 5 phút, cao gấp 8 lần so với nguyên liệu. Trên 90 % dược chất được hòa tan sau 60 phút, cao gấp trên 2 lần so với độ hòa tan của nguyên liệu FB tại cùng thời điểm. Mô hình tạo vi hạt liên tục từ nhũ tương có tiềm năng phát triển được thành mô hình sản xuất liên tục vi hạt FB.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Patil H, Feng X, et al. (2015), "Continuous production of fenofibrate solid lipid nanoparticles by hot-melt extrusion technology: a systematic study based on a quality by design approach", *Aaps j*, 17(1), 194-205.
2. Bodmeier R, Wang J, et al. (1992), "Process and formulation variables in the preparation of wax microparticles by a melt dispersion technique. I. Oil-in-water technique for water-insoluble drugs", *J Microencapsul*, 9(1), 89-98.
3. Guichard J, Sauron RL-P (1993), "A comparison of the bioavailability of standard or micronized formulations of fenofibrate", *Current therapeutic research*, 54(5), 610-4.
4. Gupta KR, Askarkar SS, et al. (2010), "Validated spectrophotometric determination of fenofibrate in formulation", *Der Pharmacia Sinica*, 1(1), 173-8.



5. Hens B, Brouwers J, et al. (2015), "Gastrointestinal behavior of nano-and micro-sized fenofibrate: in vivo evaluation in man and in vitro simulation by assessment of the permeation potential", *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 77, 40-7.
6. Kevadiya BD, Barvaliya M, et al. (2018), "Fenofibrate nanocrystals embedded in oral strip-films for bioavailability enhancement", *J Bioengineering*, 5(1), 16.
7. Knieke C, Azad M, et al. (2013), "A study of the physical stability of wet media-milled fenofibrate suspensions using dynamic equilibrium curves", *Chemical Engineering Research Design*, 91(7), 1245-58.
8. Ling H, Luoma JT, et al. (2013), "A review of currently available fenofibrate and fenofibric acid formulations", *Cardiology research*, 4(2), 47.
9. Box GEP, Behnken DW (1960), "Some New Three Level Designs for the Study of Quantitative Variables", *Technometrics*, 2(4), 455-75.
10. The United State Pharmacopeia (2019), "Fenofibrate Capsules", Revision Bulletin.
11. Liu D, Chen L, et al. (2014), "Formulation and characterization of hydrophilic drug diclofenac sodium-loaded solid lipid nanoparticles based on phospholipid complexes technology", *Journal of Liposome Research*, 24(1), 17-26.
12. Nagy ZK, Hagrahy AE, et al. *Continuous Pharmaceutical Processing*, Springer; 2020.

MEDSAFE: CÁC THUỐC "FLOZIN" VÀ NGUY CƠ NHIỄM TOAN CÉTON DO ĐÁI THÁO ĐƯỜNG VÀ HOẠI TỬ FOURNIER

(Xem tiếp trang 62)

các vị trí này. Nếu không được điều trị thích hợp, vi khuẩn có thể xâm nhập gây nhiễm khuẩn ở các vị trí sâu hơn thông qua việc phá vỡ hàng rào niêm mạc hoặc vết rạn nứt trên da. Nhiễm khuẩn sâu ở các mô mềm này sau đó có thể tiến triển thành hoại tử Fournier.

Đái tháo đường và thuốc ức chế SGLT-2 là những yếu tố nguy cơ gây hoại tử Fournier

FG thường gặp ở nam giới, tuy nhiên, cũng có một số trường hợp được ghi nhận ở nữ giới. Bệnh nhân có các bệnh mắc kèm ảnh hưởng đến miễn dịch hoặc bệnh lý vi tuần hoàn có nguy cơ gặp tình trạng này cao hơn. Bệnh nhân mắc đái tháo đường cũng tăng nguy cơ mắc FG, trong số các trường hợp FG có tới 60% bệnh nhân mắc đái tháo đường.

FG cũng đã được ghi nhận khi sử dụng thuốc ức chế SGLT-2. Bệnh nhân điều trị bằng

thuốc ức chế SGLT-2 có biểu hiện đau hoặc nhạy cảm, ban đỏ, sưng tấy ở vùng sinh dục hoặc vùng đáy chậu, có sốt hoặc khó chịu cần được nhanh chóng đánh giá có liên quan đến FG hay không. Ngừng điều trị thuốc ức chế SGLT-2 ngay lập tức nếu nghi ngờ mắc FG.

Khuyến cáo dự phòng hoại tử Fournier

Khuyến cáo các bệnh nhân nên thường xuyên chăm sóc, vệ sinh và kiểm tra vùng cơ quan sinh dục để phát hiện các dấu hiệu hoặc triệu chứng của FG. Liên hệ với nhân viên y tế ngay khi xuất hiện các triệu chứng để được hướng dẫn và hỗ trợ.

Ngoài ra, cần cân nhắc quản lý các yếu tố nguy cơ gây FG khác, ví dụ như hút thuốc lá và béo phì cũng như kiểm soát bệnh đái tháo đường.