

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ QUỐC PHÒNG

HỌC VIỆN QUÂN Y

VŨ VĂN TUẤN

**NGHIÊN CỨU BẢO CHẾ VÀ SINH KHẢ DỤNG VIÊN NỔI
VERAPAMIL 120MG GIẢI PHÓNG KÉO DÀI**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

HÀ NỘI – NĂM 2025

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ QUỐC PHÒNG

HỌC VIỆN QUÂN Y

VŨ VĂN TUẤN

**NGHIÊN CỨU BẢO CHẾ VÀ SINH KHẢ DỤNG VIÊN NỔI
VERAPAMIL 120MG GIẢI PHÓNG KÉO DÀI**

Ngành: Công nghệ Dược phẩm và Bào chế Thuốc

Mã số: 972 02 02

LUẬN ÁN TIẾN SĨ DƯỢC HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

- PGS. TS. Trịnh Nam Trung
- TS. Nguyễn Văn Bạch

HÀ NỘI – NĂM 2025

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi với sự hướng dẫn khoa học của tập thể cán bộ hướng dẫn.

Các kết quả nêu trong luận án là trung thực và được công bố một phần trong các bài báo khoa học. Luận án chưa từng được công bố. Nếu có điều gì sai tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm.

TÁC GIẢ

Vũ Văn Tuấn

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN.....	3
1.1. TỔNG QUAN VỀ VERAPAMIL	3
1.1.1. Công thức cấu tạo và danh pháp.....	3
1.1.2. Tính chất lý hoá	3
1.1.3. Dược động học.....	5
1.1.4. Cơ chế tác dụng	5
1.1.5. Tương tác thuốc	5
1.1.6. Chỉ định, chống chỉ định và liều dùng.....	6
1.1.7. Tác dụng không mong muốn.....	7
1.2. HỆ KIỂM SOÁT GIẢI PHÓNG THUỐC TẠI DẠ DÀY	7
1.2.1. Khái niệm và ứng dụng.....	7
1.2.2. Cơ chế lưu thuốc tại dạ dày	8
1.2.3. Phương pháp đánh giá khả năng lưu thuốc tại dạ dày của hệ nổi	17
1.2.4. Một số nghiên cứu bào chế hệ lưu thuốc ở dạ dày chứa verapamil ..	20
1.3. TỔNG QUAN VỀ NGHIÊN CỨU SINH KHẢ DỤNG.....	26
1.3.1. Định lượng thuốc trong dịch sinh học	26
1.3.2. Một số nghiên cứu sinh khả dụng <i>in vivo</i> của verapamil	29
CHƯƠNG 2. NGUYÊN LIỆU, THIẾT BỊ, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	31
2.1. NGUYÊN LIỆU, THIẾT BỊ VÀ ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU.....	31
2.1.1. Nguyên liệu, hóa chất	31

2.1.2. Dụng cụ và thiết bị.....	32
2.1.3. Thuốc đối chứng.....	34
2.1.4. Động vật thí nghiệm	34
2.1.5. Địa điểm và thời gian nghiên cứu.....	34
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	34
2.2.1. Phương pháp nghiên cứu bào chế viên nổi verapamil 120 mg	34
2.2.2. Phương pháp đánh giá chất lượng trong quá trình bào chế và nghiên cứu độ ổn định của viên nổi verapamil.....	36
2.2.3. Phương pháp đánh giá khả năng nổi <i>in vivo</i>	41
2.2.4. Phương pháp đánh giá sinh khả dụng của viên nổi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài trên chó thực nghiệm	42
2.2.5. Công cụ tính toán số liệu, thiết kế thí nghiệm và tối ưu hoá.....	49
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	50
3.1. KẾT QUẢ XÂY DỰNG CÔNG THỨC VÀ QUY TRÌNH BÀO CHẾ. 50	
3.1.1. Phương pháp định lượng verapamil	50
3.1.2. Kết quả nghiên cứu tương tác dược chất – tá dược.....	52
3.1.3. Kết quả xây dựng công thức bào chế cơ bản.....	54
3.1.4. Kết quả tối ưu hóa công thức bào chế	61
3.1.5. Nâng cấp và thẩm định quy trình bào chế viên nổi verapamil 120 mg quy mô 10.000 viên/lô	71
3.2. KẾT QUẢ XÂY DỰNG TIÊU CHUẨN CƠ SỞ VÀ nghiên cứu ĐỘ ỔN ĐỊNH CỦA VIÊN NỔI VERAPAMIL GIẢI PHÓNG KÉO DÀI	74
3.2.1. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của viên nổi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài.....	74

3.2.2. Kết quả nghiên cứu độ ổn định của viên nõi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài.....	77
3.3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG NỎI VÀ SINH KHẢ DỤNG <i>IN VIVO</i>	80
3.3.1. Khả năng nõi <i>in vivo</i> của của viên verapamil bào chế	80
3.3.2. Xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng verapamil trong huyết tương chó bằng sắc ký lỏng khối phổ	81
3.3.3. Kết quả đánh giá sinh khả dụng của viên nõi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài trên chó.....	83
CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN.....	87
4.1. VỀ NGHIÊN CỨU VÀO CHẾ VIÊN NỎI VERAPAMIL 120 MG GIẢI PHÓNG KÉO DÀI.....	87
4.1.1. Bàn luận về kết quả khảo sát tương tác dược chất – tá dược	87
4.1.2. Bàn luận về công thức bào chế cơ bản	90
4.1.3. Bàn luận về tối ưu hóa công thức bào chế.....	94
4.1.4. Bàn luận về nâng cấp và thẩm định quy trình bào chế quy mô 10 000 viên/lô	97
4.2. VỀ XÂY DỰNG TIÊU CHUẨN CƠ SỞ VÀ ĐÁNH GIÁ ĐỘ ỔN ĐỊNH	100
4.2.1. Bàn luận về tiêu chuẩn cơ sở và chất lượng của viên nõi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài.....	100
4.2.2. Bàn luận về độ ổn định của viên nõi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài.....	105
4.3. VỀ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU <i>IN VIVO</i>	107
4.3.1. Bàn luận về đánh giá khả năng nõi <i>in vivo</i>	107

4.3.2. Bàn luận về thẩm định phương pháp định lượng verapamil trong huyết tương chó bằng sắc ký lỏng khối phổ.....	108
4.3.3. Bàn luận về nghiên cứu sinh khả dụng <i>in vivo</i> trên chó thực nghiệm	110
KẾT LUẬN	114

DANH MỤC CÁC CHỮ, KÝ HIỆU VIẾT TẮT TRONG LUẬN ÁN

TT	Phần viết tắt	Phần viết đầy đủ
1	ADR	Adverse Drug Reaction Phản ứng có hại của thuốc
2	AF	Assymetry Factor Hệ số bất đối
3	AIC	Akaike Information Criterion Tiêu chuẩn thông tin Akaike
4	AUC	Area Under the Curve Diện tích dưới đường cong nồng độ - thời gian
5	CCF	Central Composite Face-centered
6	CI	Carr index chỉ số Carr
7	Cmax	Nồng độ cực đại
8	CV	Coefficient of Variation Hệ số biến thiên
9	ĐĐVN V	Dược điển Việt Nam V
10	DIL	Diltiazem hydroclorid
12	ĐKGP	Điều khiển giải phóng
11	DSC	Differential Scanning Calorimetry Nhiệt vi sai
13	EC	Ethylcellulose
14	EFDDS	Effervescent Floating Drug Delivery System Hệ thuốc nổi sinh khí
15	EMA	European Medicines Agency Hội đồng thuốc Châu Âu
16	ESI	Electrospray ionization Ion hóa phun điện tử
17	FA	Lực đẩy Archimedes

TT	Phần viết tắt	Phần viết đầy đủ
18	FDA	U. S. Food and Drug Administration Ủy ban thuốc và thực phẩm Hoa Kỳ
19	FDDS	Floating Drug Delivery Systems Hệ thuốc nổi
20	FT	Floating Time Tổng thời gian nổi
21	FT-IR	Fourier transform infrared spectroscopy Quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier
22	GPKD	Giải Phóng Kéo Dài
23	GRDDS	Gastro retentive drug delivery systems Hệ lưu thuốc ở dạ dày
24	GRT	Gastric Residence Time Thời gian lưu thuốc trong dạ dày
25	HB-capsule	Nang thủy động lực
26	HLB	Hydrophilic–Lipophilic Balance Chỉ số cân bằng ưa nước – ưa dầu
27	HPC	Hydroxypropyl Cellulose
28	HPLC	High Performance Liquid Chromatography Sắc ký lỏng hiệu năng cao
29	HPLC-FD	High Performance Liquid Chromatography – Fluorescence Detection Sắc ký lỏng hiệu năng cao - đầu rò huỳnh quang
30	HPLC-UV	High Performance Liquid Chromatography – Ultraviolet Sắc ký lỏng hiệu năng cao - đầu rò tử ngoại
31	HPLC-UV/Vis	High Performance Liquid Chromatography – Ultraviolet/Visible Detection Sắc ký lỏng hiệu năng cao - đầu rò tử ngoại và khả kiến
32	HPMC	Hydroxy Propyl Methyl Cellulose

TT	Phân viết tắt	Phân viết đầy đủ
33	HQC	High Quality Control Mẫu kiểm tra nồng độ cao
34	ICH	The International Council for Harmonisation of Technical Requyirements for Pharmaceuticals for Human Use Hội nghị quốc tế về hài hòa các thủ tục đăng ký dược phẩm sử dụng cho con người.
35	IPC	In-Process Control Kiểm tra trong quá trình sản xuất
36	IR	Infrared (Spectroscopy) Phổ hồng ngoại
37	KLTB	Khối lượng trung bình
39	KNTTW	Kiểm nghiệm thuốc trung ương
38	KNV	Kiểm nghiệm viên
40	KSV	Kiểm soát viên
41	KTV	Kỹ thuật viên
42	LC-MS	Liquid chromatography–mass spectrometry Sắc ký lỏng kết nối khối phổ
43	LC-MS/MS	Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Sắc ký lỏng kết nối 2 lần khối phổ
44	LC-UV	Liquid Chromatography with ultraviolet Detector Sắc ký lỏng kết nối đầu dò tử ngoại
45	LGVV	Lực gây vỡ viên
46	LHCT	Lão hóa cấp tốc
47	LLOQ	Giới hạn định lượng dưới
48	LOQ	Limit of Quantitation Giới hạn định lượng
49	LQC	Low Quality Control Mẫu kiểm tra nồng độ thấp

TT	Phân viết tắt	Phân viết đầy đủ
50	MC	Methyl Cellulose
51	MQC	Medium Quality Control Mẫu kiểm tra nồng độ trung
52	MRI	Magnetic Resonance Imaging Chụp cộng hưởng từ
53	MRT	Mean Residence Time Thời gian lưu trung bình
54	N	Số đĩa lý thuyết
55	NFDDS	Non-Effervescent Floating Drug Delivery System hệ nổi không sinh khí
56	non-Fick	Khuếch tán không theo cơ chế Fick
57	P	Trọng lực
58	PVP	Polyvinyl Pyrrolidone
59	QC	Quality Control Kiểm tra chất lượng
60	R2	Bình phương hệ số tương quan
61	R2hc	Bình phương hệ số tương quan hiệu chỉnh
62	RH	Relative humidity Độ ẩm tương đối
63	RSD	Relative standard deviation Độ lệch chuẩn tương đối
64	SD	Standard deviation Độ lệch chuẩn
65	SKD	Sinh khả dụng
66	SR, CR	Sustained Release / Controlled Release Giải phóng kéo dài / Giải phóng có kiểm soát
67	SX	Sản xuất
68	T1/2	Thời gian bán thải

TT	Phân viết tắt	Phân viết đầy đủ
69	TB	Trung bình
70	TCCS	Tiêu chuẩn cơ sở
71	TĐSH	Tương đương sinh học
72	TKHH	Tinh khiết hóa học
73	Tlag	Lag Time Thời gian trì hoãn nổi
74	Tmax	Thời gian để nồng độ thuốc đạt cực đại
75	TNV	Tình nguyện viên
76	ULOQ	Upper Limit of Quantitation Giới hạn định lượng trên
77	USP	United States Pharmacopeia Dược điển Mỹ
78	UV-Vis	Ultraviolet - Visible Tử ngoại và khả kiến
79	VER	Verapamil hydroclorid
80	WHO	World Health Organization Tổ chức y tế thế giới
81	$\lambda_{\max}$	Cực đại hấp thụ
82	λ_z	Hằng số tốc độ thải trừ pha cuối

DANH MỤC CÁC HÌNH, SƠ ĐỒ

Hình	Tên hình	Trang
Hình 1. 1.	Công thức cấu tạo của Verapamil hydroclorid	3
Hình 1. 2.	Cấu tạo và cơ chế hoạt động của hệ sinh khí	10
Hình 3. 1.	Đường chuẩn của VER trong HCl 0,1N	50
Hình 3. 2.	Sắc ký đồ dung dịch chuẩn VER	51
Hình 3. 3.	Sự phụ thuộc của diện tích pic theo nồng độ VER	51
Hình 3. 4.	Sự suy giảm hàm lượng VER trong các mẫu khảo sát sau một tháng bảo quản ở điều kiện thực và lão hóa cấp tốc	52
Hình 3. 5.	Mặt đáp của các biến phụ thuộc theo HPMC K4M và HPMC E6	66
Hình 3. 6.	Mặt đáp của các biến phụ thuộc theo HPMC K4M và NaHCO ₃	67
Hình 3. 7.	Đồ thị giải phóng dược chất của viên nổi bào chế theo công thức tối ưu	69
Hình 3. 8.	Mô hình động học giải phóng của viên verapamil 120 mg GPKD.....	71
Hình 3. 9.	Ảnh X-quang chứng minh khả năng lưu thuốc ở dạ dày chó	81
Hình 3. 10.	Sắc ký đồ mẫu huyết tương trắng và LLOQ	82
Hình 3. 11.	Đồ thị biểu diễn sự tương quan giữ tỷ lệ diện tích pic và nồng độ verapamil trong huyết tương.	83
Hình 3. 12.	Đường cong nồng độ VER theo thời gian trong huyết tương chó sau khi uống viên nén verapamil 120 mg GPKD và viên nén Verapamil MYLAN L.P 120mg.....	84

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng	Tên bảng	Trang
Bảng 2. 1.	Các nguyên liệu, hoá chất sử dụng trong nghiên cứu.....	31
Bảng 2. 2.	Các thiết bị sử dụng trong nghiên cứu.....	32
Bảng 2. 3.	Mối tương quan giữa chỉ số Carr và khả năng trơn chảy	37
Bảng 2. 4.	Cách chuẩn bị các mẫu đường chuẩn trong huyết tương	44
Bảng 2. 5.	Cách chuẩn bị các mẫu kiểm tra trong huyết tương trắng.....	44
Bảng 2. 6.	Bố trí thử theo phương pháp chéo đôi	48
Bảng 3. 1.	Tỉ lệ (%) VER giải phóng từ các công thức khảo sát lựa chọn tá dược ĐKGP (n=6, TB±SD).....	54
Bảng 3. 2.	Tỉ lệ (%) VER giải phóng từ các công thức khảo sát tỉ lệ tá dược ĐKGP (n=6, TB±SD).....	55
Bảng 3. 3.	Tỉ lệ (%) VER giải phóng từ các công thức khảo sát phối hợp tá dược ĐKGP (n=6, TB±SD).....	56
Bảng 3. 4.	Tỉ lệ (%) VER giải phóng từ các công thức khảo sát tá dược sinh khí (n=6, TB±SD).....	57
Bảng 3. 5.	Các công thức khảo sát tá dược độn.....	58
Bảng 3. 6.	Tỉ lệ (%) VER giải phóng từ các công thức khảo sát tá dược độn (n=6, TB±SD)	58
Bảng 3. 7.	Tỉ lệ (%) VER giải phóng từ các công thức khảo sát LGVV (n=6, TB±SD)	59
Bảng 3. 8.	Công thức bào chế cơ bản viên nổi VER 120 mg GPKD	60
Bảng 3. 9.	Các biến độc lập và khoảng biến thiên.....	61
Bảng 3. 10.	Các biến phụ thuộc và yêu cầu	61

Bảng	Tên bảng	Trang
Bảng 3. 11.	Các công thức thực nghiệm	62
Bảng 3. 12.	Hàm lượng VER trong viên nõi VER GPKD bào chế theo các công thức thực nghiệm (n=6, TB±SD)	63
Bảng 3. 13.	Tỉ lệ VER giải phóng từ viên bào chế theo các công thức thực nghiệm (n=6, TB±SD).....	63
Bảng 3. 14.	Các thông số thiết lập mô hình INForm 3.1	65
Bảng 3. 15.	Kết quả R ² luyện và R ² thử của INForm 3.1.....	66
Bảng 3. 16.	Tỉ lệ (%) VER giải phóng từ viên nõi verapamil 120 mg GPKD bào chế theo công thức tối ưu (n=6, TB±SD).....	70
Bảng 3. 17.	Giá trị AIC và R ² _{hc} theo mô hình động học giải phóng dược chất...70	
Bảng 3. 18.	Công thức bào chế và công thức lô 10 000 viên	72
Bảng 3. 19.	Kết quả khảo sát thông số sản xuất trên lô L01	73
Bảng 3. 20.	Kết quả thẩm định quy trình sản xuất quy mô 10000 viên/lô	73
Bảng 3. 21.	Kết quả khảo sát hàm lượng viên 3 lô sản xuất.....	74
Bảng 3. 22.	Tỉ lệ (%) VER được giải phóng từ viên nõi verapamil 120 mg GPKD (n = 6; TB± SD)	75
Bảng 3. 23.	Tóm tắt nội dung tiêu chuẩn cơ sở	75
Bảng 3. 24.	Độ hoà tan của viên nõi verapamil 120 mg GPKD bảo quản ở điều kiện thực (n=6; TB± SD)	77
Bảng 3. 25.	Độ hoà tan của viên nõi verapamil 120 mg GPKD bảo quản ở điều kiện lão hóa cấp tốc (n=6; TB± SD)	78
Bảng 3. 26.	Hàm lượng (%) VER trong viên nõi verapamil 120 mg GPKD bảo quản ở điều kiện thực (n = 6; TB± SD).....	79

Bảng	Tên bảng	Trang
Bảng 3. 27.	Hàm lượng (%) VER trong viên nõi verapamil 120 mg GPKD bảo quản ở điều kiện lão hoá cấp tốc (n = 6; TB± SD)	79
Bảng 3. 28.	Nồng độ VER trong huyết tương chó theo thời gian (n = 6).....	84
Bảng 3. 29.	Các thông số sinh khả dụng in vivo trên chó (n = 6).....	85
Bảng 3. 30.	Kết quả so sánh thống kê AUC và Cmax	85
Bảng 3. 31.	So sánh giá trị T _{max} của viên nén verapamil 120 mg giải phóng kéo dài và viên nén verapamil MYLAN L.P 120mg	86
Bảng 4. 1.	So sánh kết của thử độ hòa tan với các công bố khác	102
Bảng 4. 2.	So sánh khả năng nõi in vitro với các công bố khác	103
Bảng 4. 3.	So sánh điều kiện bảo quản và tiêu chí theo dõi độ ổn định của viên nén nõi verapamil HCl	105

ĐẶT VẤN ĐỀ

Verapamil là một thuốc nhóm ức chế kênh calci sử dụng trong điều trị đau thắt ngực, tăng huyết áp và rối loạn nhịp tim. Dạng dược dụng của nó là muối verapamil hydroclorid (VER) có độ tan tốt ở pH thấp (pH dạ dày), tan kém ở pH cao hơn (pH ruột) nên có thể hòa tan và hấp thu tốt ở tá tràng [1], có cửa sổ hấp thu hẹp. Dạng bào chế đường uống của VER có sinh khả dụng thấp, đạt khoảng 20% do thuốc bị chuyển hóa mạnh lần đầu tại gan. VER có thời gian bán thải ngắn, từ 2 đến 8 giờ. Do sinh khả dụng thấp và thải trừ nhanh, nên khi sử dụng các dạng thuốc uống giải phóng tức thời, bệnh nhân phải uống nhiều lần trong ngày dẫn đến khó tuân thủ điều trị hoặc cần sử dụng liều cao (240-480 mg/ngày) để duy trì nồng độ điều trị trong thời gian dài làm tăng độc tính và các tác dụng không mong muốn [2], [3].

Để giải quyết vấn đề này, các dạng bào chế giải phóng kéo dài đã được phát triển. Cơ chế giải phóng thuốc có thể gồm: Cốt thân nước, bao kiểm soát giải phóng, bơm thẩm thấu hoặc hệ lưu thuốc ở dạ dày (GRDDS) [4], [5], [6], [7]. Các GRDDS có đặc điểm làm tăng thời gian lưu thuốc ở dạ dày và giải phóng dược chất từ từ để thuận lợi cho việc hấp thu của VER ở đoạn đầu của ruột non. Do đó, nồng độ thuốc trong máu luôn đảm bảo nồng độ điều trị trong thời gian dài, nồng độ thuốc và các sản phẩm chuyển hóa không tăng quá cao nên hạn chế được quá liều và giảm áp lực cho các cơ quan chuyển hóa, thải trừ thuốc. GRDDS cũng phù hợp với các thuốc tác dụng tại dạ dày, các loại thuốc hòa tan kém, thuốc bị phân hủy bởi pH cao ở phần sau của ruột non và các loại thuốc có khả năng hấp thu có thể bị thay đổi do thay đổi thời gian làm rỗng dạ dày [8], [9]. Khi bào chế dưới dạng GRDDS, VER được hấp thu hầu hết ở tá tràng mà không xuống đến phần sau của ruột non như các dạng thuốc GPKD khác, do đó hạn chế được các rủi ro xảy ra khi thuốc lưu thời gian dài trong ruột – nơi có nhiều hệ enzym, thức ăn và vi sinh vật [10]. Hệ nổi ở dạ dày là một trong

những GRDDS tiềm năng được nghiên cứu trong thời gian gần đây và đã có một số biệt dược được đưa vào sử dụng trong điều trị như: Zanosin OD[®] (ofloxacin), Riomet OD[®] (metformin hydroclorid), Cifran OD[®] (ciprofloxacin), ... [11]. Bên cạnh những ưu điểm của GRDDS, viên nổi còn có ưu điểm giải phóng dược chất tại vùng tối ưu, giúp cải thiện sinh khả dụng của dược chất nhưng không gây ảnh hưởng đến hoạt động sinh lý bình thường của dạ dày [12], [13], [14].

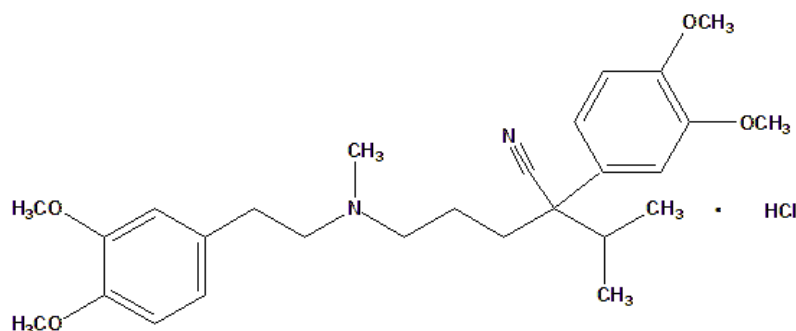
Hiện nay, một số nghiên cứu bào chế viên nén nổi chứa VER đã được thực hiện với các cơ chế lưu thuốc ở dạ dày đa dạng, như hệ nổi sinh khí, hệ thủy động lực học hoặc kết hợp hệ nổi - kết dính[8], [15], [16], [17] [18]. Các kết quả bước đầu cho thấy tính khả thi của viên nén nổi verapamil trong việc kéo dài thời gian lưu thuốc ở dạ dày và kiểm soát giải phóng dược chất theo yêu cầu. Tuy nhiên, các nghiên cứu này mới chỉ dừng ở quy mô nhỏ chưa thể hiện được tính ổn định của quy trình bào chế ở quy mô lớn và chưa có nhiều dữ liệu về sinh khả dụng *in vivo* trên cơ thể sống. Do đó, việc thực hiện đề tài **“Nghiên cứu bào chế và sinh khả dụng viên nổi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài”** sẽ tối ưu công thức và quy trình bào chế viên nổi VER ở quy mô pilot, làm tiền đề cho sản xuất ở quy mô thương mại. Đồng thời, các kết quả đánh giá sinh khả dụng *in vivo* có thể chứng minh tiềm năng ứng dụng của viên nổi trong việc giải quyết các vấn đề về sinh khả dụng và điều trị của VER. Vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành với ba mục tiêu:

1. *Xây dựng được công thức và quy trình bào chế viên nổi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài 12 giờ ở quy mô 10 000 viên/lô.*
2. *Xây dựng được tiêu chuẩn chất lượng và bước đầu theo dõi được độ ổn định của chế phẩm.*
3. *Bước đầu đánh giá được khả năng nổi in vivo và sinh khả dụng của viên nổi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài trên chó thực nghiệm.*

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. TỔNG QUAN VỀ VERAPAMIL

1.1.1. Công thức cấu tạo và danh pháp



Hình 1. 1. Công thức cấu tạo của Verapamil hydroclorid

**Nguồn: Theo Dược điển Việt Nam (2018), [19]*

Verapamil hydroclorid (VER) có tên khoa học là (2RS)-2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-[[2-(3,4-dimethoxyphenyl)ethyl](methyl)amino]-2-(propan-2-yl)pentanenitril hydroclorid [19]. Nó có công thức phân tử là $C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$ với phân tử khối 491,07 đvC [20], [21].

1.1.2. Tính chất lý hoá

VER có dạng bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng [22]. Cả dạng base hay dạng muối clorid đều có độ tan thay đổi theo pH của môi trường hoà tan, khi pH tăng thì độ tan trong nước giảm và ngược lại. Ở pH từ 2,3 – 6,4 thì độ tan khoảng 80 – 90 mg/mL và độ tan giảm còn 0,025 mg/mL trong dung dịch NaOH 0,1N (pH = 12,6). Ở nhiệt độ phòng, độ tan của verapamil hydroclorid trong các dung môi khác nhau như sau: 83 mg/mL trong nước, 93 mg/mL trong propylen glycol, trên 100 mg/mL trong methanol và không dưới 100 mg/mL trong ethanol 90% [23].

Nhiệt độ nóng chảy của VER khoảng 140°C đến 144°C. Ngoài ra, VER khá ít hút ẩm, mẫu đặt trong môi trường có độ ẩm 79% ở nhiệt độ phòng sau một đêm độ ẩm chỉ tăng 0,47% [23]. Dung dịch VER 0,002% trong methanol

khi quét phổ UV cho hai cực đại hấp thụ ở 230 nm ($E_1^{1\text{cm}} = 16700$) và 278 nm ($E_1^{1\text{cm}} = 6090$). Dung dịch VER trong nước hấp thụ huỳnh quang với $\lambda_{\text{kt}} = 272$ nm do đó VER có thể được định lượng bằng một số phương pháp như UV-Vis, HPLC với detector UV hoặc detector huỳnh quang [23].

Độ ổn định: Ở trạng thái rắn, VER rất ổn định với các điều kiện ánh sáng và nhiệt độ cao. Đồng thời nó cũng ổn định cả trong ba môi trường: Acid, trung tính và kiềm. Tuy nhiên, khi được chất ở trong dung môi ethanol và chiếu tia UV trong 2 giờ thì nó bị phân huỷ khoảng 52% [23].

Về phân loại sinh dược học: VER là dược chất thấm tốt với kết quả công bố từ $2,25 \cdot 10^{-4}$ - $6,70 \cdot 10^{-4}$ cm/s ở cả dạng R và S với các nồng độ khảo sát từ 4-400mg/ml (cao hơn giới hạn $2 \cdot 10^{-4}$ cm/s). Nhưng về độ tan, ở pH 7,32, độ tan tương đương với độ tan cần thiết tối thiểu là 0,48 mg/mL (120 mg/250 mL), khi pH tăng lên, độ tan của VER giảm đi và không còn đạt yêu cầu của nhóm tan tốt (thể tích nước hòa tan một đơn vị liệu cao nhất, 120 mg) nên có thể được xếp vào nhóm II. Tuy nhiên, trong cơ thể sống, độ hòa tan hạn chế trong khoảng pH này sẽ không phải là vấn đề do pH đoạn đầu của ống tiêu hóa nhỏ hơn 7. Do vậy, trong phân loại tạm thời về thuốc thiết yếu của WHO, verapamil lại được phân loại là nhóm I, tan tốt, thấm tốt [24]. Như vậy, VER có đặc tính sinh dược học “giống nhóm I khi ở dạ dày” và “giống nhóm II khi ở ruột”. Do đó, VER thích hợp với việc bào chế ở dạng thuốc lưu ở dạ dày hơn so với các dạng bào chế không lưu ở dạ dày.

Nhìn chung, dạng dược dụng của VER bền với các tác động như pH, nhiệt độ, ánh sáng thuận lợi cho việc bào chế và phân tích. Đồng thời, VER có khả năng tan và thấm tốt ở phần đầu của ống tiêu hóa. Do đó, phù hợp khi bào chế ở dạng thuốc giải phóng kéo dài theo cơ chế lưu ở dạ dày.

1.1.3. Dược động học

Khi dùng đường uống, trên 90% liều dùng được hấp thu, tuy nhiên do chuyển hoá qua gan lần đầu nhanh nên sinh khả dụng của thuốc chỉ đạt 20 %. Thuốc có khả năng liên kết nhiều với protein huyết tương (khoảng 90%). Nếu uống 1 liều thì thời gian bán thải của thuốc từ 2 – 8 giờ. Thuốc được đào thải qua thận dưới dạng chuyển hoá chiếm 70%, dạng không chuyển hoá 4%, qua đường gan mật 16% [2], [25].

1.1.4. Cơ chế tác dụng

Verapamil là thuốc chẹn kênh calci và chống loạn nhịp nhóm IV. Nó làm chậm dẫn truyền qua nút nhĩ thất và do đó làm chậm tốc độ đáp ứng của tâm thất tăng lên xảy ra trong rung tâm nhĩ và cuồng nhĩ. Tác dụng chống đau thắt ngực của nó chủ yếu là do giãn mạch vành và mạch ngoại biên, mặc dù nó cũng ức chế co thắt động mạch vành. Sự giảm sức cản mạch máu ngoại vi làm giảm áp lực lên tim, do đó có tác dụng tiết kiệm đối với việc tiêu thụ oxy nội bào của cơ tim. Sự giảm sức cản mạch máu ngoại vi cũng có thể giải thích tác dụng hạ huyết áp của nó. Verapamil được dùng để kiểm soát loạn nhịp trên thất và kiểm soát cơn đau thắt ngực và làm hạ huyết áp. Nó cũng có thể được sử dụng trong điều trị nhồi máu cơ tim [26], [27].

1.1.5. Tương tác thuốc

Verapamil nên được sử dụng thận trọng với các thuốc có tác dụng chống loạn nhịp hoặc chẹn beta. Mặt khác, verapamil được chuyển hóa chủ yếu ở gan và tương tác có thể xảy ra với các thuốc ức chế hoặc tăng cường chuyển hóa ở gan [27].

Ngoài ra, verapamil còn có khả năng tương tác với các digitalis, thuốc giãn mạch, clindamycin, phenobarbital, phenytoin, thuốc lợi tiểu, thuốc ức chế men chuyển angiotensin [2], [27].

1.1.6. Chỉ định, chống chỉ định và liều dùng

Chỉ định gồm có: Đau thắt ngực các dạng, cơn đau do gắng sức, cơn đau không ổn định, cơn đau Prinzmetal. Chữa cơn tim nhanh kịch phát trên thất và phòng tái diễn. Nhịp thất nhanh trong cuồng động nhĩ hoặc rung nhĩ và tăng huyết áp vô căn [2], [27].

Chống chỉ định: Rối loạn dẫn truyền nặng như block nhĩ thất độ 2 và 3 (trừ khi người bệnh có đặt máy tạo nhịp); block xoang nhĩ; hội chứng suy nút xoang (hội chứng tim chậm - tim nhanh). Suy tim mất bù, nhịp chậm (dưới 50 nhịp/phút). Hạ huyết áp (huyết áp tâm thu < 90 mmHg), sốc do tim. Rung hoặc cuồng động nhĩ kèm hội chứng Wolf - Parkinson - White (hội chứng tiền kích thích): Nguy cơ gây nhịp nhanh thất. Nhồi máu cơ tim cấp có biến chứng: Tim chậm, hạ huyết áp nhiều, suy thất trái. Dị ứng với verapamil, không dùng verapamil tiêm tĩnh mạch cùng với thuốc chẹn β -adrenergic [2].

Liều lượng khi dùng viên nén trong chỉ định đau thắt ngực thường là 80 - 120 mg x 3 lần/ngày. Liều 40 mg x 3 lần/ngày cho những người bệnh tăng đáp ứng với verapamil (người suy chức năng gan, tuổi già...). Sự phân định liều phải dựa trên hiệu quả điều trị và độ an toàn sau 8 giờ dùng thuốc. Liều lượng có thể tăng lên từng ngày, chẳng hạn với người bệnh đau thắt ngực không ổn định, hoặc hàng tuần cho đến khi có đáp ứng lâm sàng tốt nhất.

Trong chỉ định loạn nhịp: Liều đối với người bệnh bị rung nhĩ mạn đã điều trị digitalis là 240 - 320 mg/ngày, chia 3 - 4 lần. Liều điều trị cơn nhịp nhanh kịch phát trên thất (người bệnh không dùng digitalis) là 240 - 480 mg, chia 3 - 4 lần. Nhìn chung, tác dụng tối đa của bất cứ liều nào đã cho đều đạt được trong 48 giờ đầu điều trị. Trường hợp tăng huyết áp: Liều phụ thuộc vào từng người bệnh. Liều pháp với một thuốc thường dùng ban đầu 80 mg x 3 lần/ngày. Người bệnh cao tuổi, người bệnh tâm vóc nhỏ: 40 mg x 3 lần/ngày. Tác dụng hạ huyết áp xuất hiện trong tuần đầu điều trị.

Liều dùng với viên nén tác dụng kéo dài cho chỉ định đau thắt ngực và tăng huyết áp: Liều ban đầu 180 mg/ngày. Thuốc phải nuốt, không nhai. Người bệnh cao tuổi và người tầm vóc nhỏ: Liều ban đầu 120 mg/ngày. Tùy theo đáp ứng của người bệnh, liều có thể tăng dần theo công thức:

- 240 mg cho mỗi buổi sáng.
- 180 mg/sáng + 180 mg/tối.
- 240 mg/sáng + 180 mg/tối.
- 240 mg cứ 12 giờ/lần [2], [28].

1.1.7. Tác dụng không mong muốn

Thường gặp, với tỉ lệ $> 1/100$ gồm: Hạ huyết áp, nhịp tim chậm (< 50 lần/phút), block nhĩ thất hoàn toàn, đau đầu, mệt mỏi, chóng mặt, khó thở, táo bón, buồn nôn, phát ban. Ít gặp, $1/1000 < ADR < 1/100$, bao gồm: Đỏ bừng toàn thân, block nhĩ thất độ 2 và độ 3, hạ huyết áp thể đứng. các ADR hiếm gặp với tỉ lệ $< 1/1000$ gồm có: Nhịp tim nhanh, co giật (thường thấy với đường tiêm) [2].

1.2. HỆ KIỂM SOÁT GIẢI PHÓNG THUỐC TẠI DẠ DÀY

1.2.1. Khái niệm và ứng dụng

Những thuốc có đặc tính sinh dược học phù hợp với dạng bào chế giải phóng có kiểm soát lưu tại dạ dày bao gồm: Thuốc có tác dụng tại chỗ ở dạ dày (Các thuốc điều trị vi khuẩn *Helicobacter Pylori*, thuốc kháng acid); các thuốc hấp thu không hoàn toàn do có vùng hấp thu hẹp tại vùng đầu ruột non (cyclosporin, ciprofloxacin, furosemid, levodopa, acid p-aminobenzoic và riboflavin); các dược chất không ổn định ở môi trường pH cao như ruột non và đại tràng (captopril); các thuốc có độ tan thấp ở pH của môi trường ruột non, (verapamil, diazepam và clodiazepoxid). Tuy nhiên, hệ này không phù hợp với

những dược chất có khả năng gây tổn thương dạ dày như các thuốc chống viêm không steroid và các dược chất không bền trong môi trường dịch vị [29].

1.2.2. Cơ chế lưu thuốc tại dạ dày

Đã có nhiều nghiên cứu với những cách tiếp cận khác nhau nhằm kéo dài thời gian lưu của dạng thuốc tại dạ dày. Uống thuốc cùng với tác nhân làm chậm nhu động dạ dày là một phương pháp đơn giản. Các tác nhân này thường là các polymer hoặc muối của acid béo. Sau khi vào trong dạ dày, các tác nhân này tác động làm quá trình nhu động của dạ dày chậm lại như ở trạng thái no, do đó làm kéo dài quá trình giải phóng của thuốc tại dạ dày [30]. Tuy nhiên, giải pháp có hạn chế là làm thay đổi thời gian tháo rỗng của dạ dày. Ngoài cách này, để nâng cao khả năng lưu giữ và giải phóng dược chất tại dạ dày một cách chủ động, nhiều dạng bào chế mới đã được nghiên cứu và thử nghiệm, bao gồm: Hệ nổi, hệ sa lắng, hệ kết dính, hệ giãn nở và hệ từ tính.

*** Hệ nổi**

Khái niệm hệ nổi giải phóng dược chất lần đầu tiên được mô tả trong tài liệu vào năm 1968 khi Davis phát triển một phương pháp để giúp những bệnh nhân dễ bị nghẹn hoặc nghẹt thở khi nuốt viên thuốc. Tác giả cho rằng khó khăn đó có thể khắc phục bằng cách bào chế các viên thuốc có tỷ trọng dưới 1 g/cm³ để có khả năng nổi trên mặt nước. Ý tưởng này là cơ sở cho các nghiên cứu phát triển hệ nổi giải phóng dược chất có kiểm soát sau này [31].

Hệ nổi có tỷ trọng thấp hơn tỷ trọng dịch dạ dày, có thể trôi nổi trong dạ dày mà không ảnh hưởng đến quá trình rỗng dạ dày trong một khoảng thời gian dài. Dược chất được giải phóng có kiểm soát trong thời gian hệ lưu tại dạ dày. Sau khi hoàn thành quá trình giải phóng, phần còn lại của hệ sẽ bị đẩy ra khỏi dạ dày [31], [32]. Dựa trên cơ chế nổi, hệ nổi giải phóng dược chất tại dạ dày phân chia làm hai loại: Hệ nổi sinh khí (Effervescent Floating Drug Delivery

System - EFDDS), hệ nổi không sinh khí (Non-Effervescent Floating Drug Delivery System - NFDDS) và hệ giãn nở [31].

1.2.2.1. Hệ nổi sinh khí

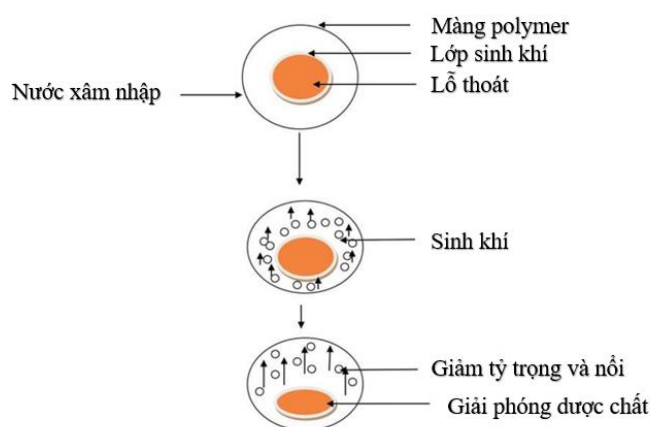
EFDDS được bào chế bằng nhiều phương pháp khác nhau. Phương pháp hiện đại nhất hiện nay là tạo cốt có khoang chứa chất lỏng hóa khí ở nhiệt độ cơ thể tuy nhiên phương pháp này đòi hỏi nhiều kỹ thuật bào chế phức tạp. Một phương pháp khác được nhiều nhà nghiên cứu sử dụng là phối hợp các tá dược gồm các polymer có thể trương nở hoặc các polysaccharid kết hợp với các thành phần tạo bọt gồm natri hydrocarbonat/natri carbonat và acid citric/acid tartaric. Ngoài ra còn có phương pháp bào chế hệ nổi sinh khí bằng nhựa trao đổi ion [31].

a. Hệ sinh khí do hóa hơi dung môi hoặc do chứa chất lỏng dễ bay hơi

Kiểu hệ này gồm hai khoang phân chia bởi một bong bóng có màng không thấm, chịu được áp lực và có thể di động được. Khoang thứ nhất chứa thuốc, khoang thứ hai chứa chất lỏng dễ bay hơi. GRT có thể kéo dài nhờ vào sự hóa khí của chất lỏng dễ bay hơi ở nhiệt độ cơ thể (ether, cyclopentan...) làm phồng khoang chứa do đó làm hệ giảm tỷ trọng, nổi lên và giải phóng dược chất dần dần từ khoang chứa vào dịch vị. Hệ có thể có thêm một “nút” có đặc tính bị ăn mòn sinh học được làm bằng poly vinyl alcohol, polyethylen, nút này hòa tan dần từng lớp khi hệ tiếp xúc với dịch vị. Sau khoảng thời gian giải phóng dược chất được xác định từ trước, nút bị ăn mòn hết, khí trong khoang phồng sẽ giải phóng ra ngoài và khoang xẹp xuống cho phép hệ được đẩy ra khỏi dạ dày một cách tự nhiên [31], [33].

b. Hệ nổi sinh khí carbonic

Nguyên lý hoạt động dựa trên phản ứng sinh khí carbon dioxyd giữa muối carbonat/hydrocarbonat và acid citric/tartaric, những bọt khí này bị giữ lại ở lớp gel thân nước do đó làm giảm khối lượng riêng của toàn hệ, làm hệ nổi lên trên dịch dạ dày. Hệ nổi sinh khí thường sử dụng các cốt được bào chế từ các polymer có khả năng trương nở như MC, HPMC [33].



Hình 1. 2. Cấu tạo và cơ chế hoạt động của hệ sinh khí

**Nguồn: Theo Madhukar Akkala, (2018) [33]*

Nhiều loại hệ nổi sinh khí kiểu mới được cấu tạo bởi nhiều lớp, gồm lớp màng có thể trương nở ở ngoài, tiếp đến là lớp sinh khí, bên trong là viên nhân giải phóng kéo dài. Lớp sinh khí được chia thành hai lớp tách biệt, một lớp chứa natri hydrocarbonat, lớp còn lại chứa acid hữu cơ với mục đích không cho hai tác nhân sinh khí tiếp xúc trực tiếp với nhau. Lớp màng có thể trương nở bên ngoài thường được tạo bởi các tá dược tạo màng như hỗn hợp polyvinyl acetat và shellac tinh chế, Eudragit® (polymethacrylate), ethylcellulose, ... Sau khi uống, dịch vị thấm qua lớp màng, kích hoạt phản ứng sinh khí trong lớp tạo bọt làm cho hệ phồng lên, khối lượng riêng giảm xuống (dưới $1,0 \text{ g/cm}^3$) và hệ nổi lên. Với cấu tạo như trên, hệ có khả năng nổi tốt và không phụ thuộc vào pH, độ nhớt dịch vị, do đó giúp cho dược chất được giải phóng từ từ và ổn định

[31], [33], [34]. Hệ nổi sinh khí cũng có thể bào chế bằng cách sử dụng các loại nhựa trao đổi ion như cholestyramine khan. Các hạt nhựa được nạp dược chất (mang điện tích âm) và ion hydrocarbonat, sau đó được bao hoặc đóng trong một lớp màng bán thấm có vai trò giữ lại các bọt khí. Khi tiếp xúc với môi trường dịch vị, ion clorid sẽ thấm qua màng và trao đổi với ion hydrocarbonat, khí carbon dioxyd được giải phóng và giữ lại trong hệ làm hệ giảm tỷ trọng và nổi lên [31].

1.2.2.2. Hệ nổi không sinh khí

a. Hệ cân bằng thủy động lực học

Cấu tạo của hệ thường ở dạng liều đơn một đơn vị, chứa một hoặc nhiều polymer tạo gel keo thân nước như: HPMC, hydroxy ethyl cellulose, hydroxy propyl cellulose, polycarbophil, polyacrylat, polystyren, agar...Hệ được bào chế bằng cách trộn đều dược chất với tá dược tạo gel keo thân nước, hỗn hợp này khi tiếp xúc với dịch vị sau khi uống sẽ trương nở, tạo thành khối ổn định có khối lượng riêng thấp, ngoài ra polyme trương nở sẽ giữ lại không khí trong lớp gel, tỷ trọng của toàn hệ giảm mạnh sẽ giúp hệ nổi lên trên dịch vị, đồng thời lớp gel cũng đóng vai trò hàng rào kiểm soát giải phóng, dược chất được giải phóng dần dần và kéo dài qua lớp gel [35]. Polymer trộn với dược chất thường được đưa vào nang thủy động lực (HB-capsule). Sau khi uống, vỏ nang bị hòa tan khi tiếp xúc với nước, hỗn hợp hút nước trương nở tạo hàng rào gel đồng thời duy trì quá trình nổi nang. Sheth và Tossounian cho rằng, khi hệ tiếp xúc với môi trường nước, tá dược tạo keo thân nước bắt đầu hydrat hóa tạo thành lớp gel ở bề mặt. Cấu trúc gel này kiểm soát tốc độ khuếch tán của nước vào trong và của dược chất ra ngoài hệ. Khi bề mặt bị hòa tan thì ngay lập tức lớp liền kề hydrat hóa, như vậy lớp gel tiếp tục được duy trì liên tục. Kết quả là

được chất được hòa tan bên trong và khuếch tán ra môi trường bên ngoài qua lớp gel [33], [36].

b. Hệ tiểu khoang xốp

Hệ nổi tiểu khoang xốp được biết đến như là một dạng thuốc nổi tiềm năng trong kiểm soát giải phóng dược chất ở dạ dày. Hệ bao gồm một ngăn chứa thuốc được đóng bao cùng với một khoang xốp nhỏ, có các lỗ nhỏ ở bề mặt trên và dưới. Thành của ngăn chứa thuốc được bao kín để ngăn sự tiếp xúc giữa dược chất với thành dạ dày. Khoang nổi sẽ giúp cho toàn bộ hệ nổi lên trên dịch dạ dày [31], [37].

c. Vi cầu rỗng

Một trong những phương pháp cải thiện và kiểm soát tốt thời gian nổi và tốc độ giải phóng dược chất ổn định là bào chế hệ nổi giải phóng dược chất dạng vi cầu rỗng [38]. Thanoo B.C. và cộng sự đã nghiên cứu bào chế hệ vi cầu nạp thuốc bằng phương pháp bốc hơi dung môi, kết quả cho thấy polycarbonat là polyme thích hợp nhất để bào chế vi cầu rỗng có thể nổi trên dịch vị so với một số polyme khác (polymethylmethacrylat và polystyren). Khi tăng lượng dược chất nạp vào vi cầu sẽ làm tăng kích thước trung bình của vi cầu và tốc độ giải phóng dược chất [39]. Whitehead L. và cộng sự đã bào chế một dạng hệ nổi đa đơn vị từ calci alginat đông khô. Các vi cầu đường kính trung bình khoảng 2,5 mm được bào chế bằng cách nhỏ giọt dung dịch natri alginat vào dung dịch calci clorid trong nước. Sau khi kết thúc quá trình đông đặc, các hạt đã được tách ra khỏi dung dịch và để đông lạnh trong nitơ lỏng trước khi được đông khô ở -40°C trong 24 giờ. Kết quả đánh giá khả năng nổi cho thấy các vi cầu này duy trì được khả năng nổi trong hơn 12 giờ. Thử nghiệm *in vivo* trên nam giới khỏe mạnh, GRT kéo dài trên 5,5 giờ đã đạt được ở tất cả các đối tượng thử nghiệm [40].

c. Hệ *in situ* gel

Hệ nổi *in situ* gel thường được bào chế dưới dạng dung dịch, bằng cách hòa tan dược chất và polymer trong nước. Tại điều kiện bảo quản, hệ ở thể sol (dung dịch), các phân tử polyme tồn tại ở dạng tự do, linh động trong dung môi. Sau khi vào cơ thể, các chuỗi polymer liên kết với nhau tạo thành một mạng lưới polymer rộng lớn, giam giữ dung môi trong đó. Hệ chuyển sang thể gel, có hình dạng cố định và thể chất đặc đặc. Sự gia tăng về thể tích làm giảm tỷ trọng của hệ, giúp hệ nổi trên bề mặt dịch dạ dày. Quá trình chuyển từ thể sol sang thể gel nhờ vào các cơ chế [41]:

1. Thay đổi tính chất vật lý: Sự trương nở polymer, sự khuếch tán của dung môi ra môi trường xung quanh.
2. Tác nhân hóa học: Một số polysaccharid nhạy cảm với ion như: natri alginat, thạch carragean, gellan gum, pectin, ... Khi các polymer này tiếp xúc với ion trong dịch cơ thể (Ca^{2+} , Mg^{2+} ...) sẽ hình thành các liên kết cầu nối, tạo phức hợp 3 chiều bền vững. Ví dụ gel alginat được hình thành nhờ các liên kết chéo giữa chuỗi alginat với ion calci.
3. Thay đổi về sinh lý (nhiệt độ, pH).

d. Hệ tạo màng

Hệ tạo màng là sự kết hợp của hệ nổi sinh khí và hệ *in situ* gel. Thành phần công thức của hệ gồm tá dược sinh khí (muối carbonat hoặc bicarbonat) và các polyme tạo gel *in situ* (acid alginic, gồm gellan, xyloglucan, pectin, chitosan, carbopol, HPMC...). Khi tiếp xúc với dịch vị, polyme trương nở và tạo thành gel dính nhót. Đồng thời, acid dịch vị phản ứng với muối carbonat hoặc bicarbonat sinh ra khí CO_2 . Lượng khí sinh ra lưu giữ bởi lớp gel giúp hệ tạo thành màng có tỷ trọng thấp, hệ nổi trên dịch vị. Do đặc điểm này, dạng bào chế tạo màng nổi thường được sử dụng để điều trị trào ngược dạ dày thực quản,

ví dụ như sản phẩm Liquid Gaviscon của hãng dược phẩm GlaxoSmithkline [41].

1.2.2.3. Hệ giãn nở

Hệ duy trì khả năng lưu dạng thuốc trong dạ dày bằng cách tăng kích thước sau khi uống vào trong dạ dày và kích thước của hệ phải đủ lớn để không đi qua được cơ thắt môn vị. Kích thước của cơ thắt môn vị thay đổi theo từng cá thể, thông thường đường kính khoảng $12,8 \pm 7$ mm ở người. Để tạo thuận lợi cho việc uống, dạng thuốc thường có kích thước ban đầu nhỏ, sau khi vào trong dạ dày, dạng thuốc sẽ nhanh chóng gia tăng kích thước để không bị đẩy qua môn vị. Dạng thuốc sẽ được giải phóng khỏi dạ dày sau một khoảng thời gian xác định trước để tránh sự tích lũy sau khi uống nhiều lần [42]. Bào chế hệ tăng kích thước chủ yếu dựa trên việc sử dụng các tá dược có khả năng trương nở hoặc có khả năng giãn nở hoặc thay đổi hình dạng trong dạ dày.

a. Hệ giãn nở do polymer trương nở

Sự trương nở của hệ nhờ vào các thành phần tạo gel thân nước. Sau khi tiếp xúc với nước trong dịch vị, hệ bắt đầu trương nở và tăng nhanh kích thước so với ban đầu, hệ sẽ được lưu tại dạ dày trong một thời gian xác định trước khi bị vỡ thành nhiều mảnh nhỏ và đi xuống ruột non [43], [44]. Deshpande A.A. và cộng sự (1997) đã bào chế hệ trương nở tăng kích thước lưu tại dạ dày chứa clopheniramin với thiết kế dạng thuốc gồm viên nhân cốt matrix được bao bằng lớp màng thấm gồm Eudragits® và triethyl citrat. Polyvinyl pyrrolidon XL, Carbopol® 934P, natri hydrocarbonat được dùng để bào chế viên nhân, trong đó polyvinyl pyrrolidon XL là tác nhân trương nở. Thử nghiệm *in vitro* cho thấy hệ có khả năng trương nở gấp 2-3 lần thể tích ban đầu [45]. Gröning R. và cộng sự (2007) đã nghiên cứu bào chế viên nén riboflavin lưu tại dạ dày bào chế từ xốp collagen nén. Xốp collagen được chế tạo bằng phương pháp đông

khô dung dịch collagen chứa riboflavin thành từng tấm có kích thước 30x1,5x6,5 cm, sau đó tấm xốp collagen nén từ chiều cao 6,5 cm xuống 1,0 cm và phủ lên một lớp magnesi stearat để chống dính đồng thời tránh viên hút nước và trương nở quá sớm khi uống. Tấm xốp collagen nén được đột dập để tạo thành viên nén dài với kích thước 3,5x9x18 mm. Thử nghiệm *in vitro*, ở pH 1,2 viên trương nở tới kích thước 6x1,8x0,8 cm và giải phóng trên 90% dược chất sau 12 giờ [46], [47].

b. Hệ giãn nở do nở bung

Đây là những cấu trúc không rõ được tạo thành từ chất dẻo đàn hồi hoặc hỗn hợp polyetylen. Thời gian lưu tại dạ dày phụ thuộc vào kích thước, hình dạng và độ dẻo của hệ. Hệ có nhiều hình dạng và cấu trúc khác nhau đã được nghiên cứu như hình que liên tục, hình tứ diện, hình vòng, hình cỏ ba lá, hình đĩa bào, chuỗi, hình cầu, ... Thành phần của hệ bao gồm ít nhất một polyme có thể ăn mòn (như Eudragit[®], hydroxypropyl cellulose), một polyme không rõ (như polyamid, polyolefin, polyurethan) và dược chất được phân tán trong cốt polyme [48]. Hệ được nén với kích thước thích hợp để có thể đóng vào trong vỏ nang, khi vào trong dạ dày vỏ nang bị phá vỡ và hệ tự mở rộng đến kích thước có thể ngăn cản việc đi qua cơ thắt môn vị. Bên cạnh đó, hệ cũng có khả năng chống lại sức co bóp của dạ dày và lưu ở dạ dày trong một thời gian xác định. Dưới tác động của dịch vị, hệ bị ăn mòn dần dần đến một kích thước nhất định và bị đẩy ra khỏi dạ dày [49]. Cargill R. và cộng sự (1988) đã nghiên cứu thực nghiệm *in vivo* trên chó beagle để đánh giá ảnh hưởng của các đặc tính vật lý như kích thước, hình dạng, độ dẻo của hệ giãn nở lên thời gian rỗng của dạ dày. Kết quả cho thấy hệ có hình tứ diện có thể duy trì thời gian lưu tại dạ dày trong một khoảng thời gian dài trong khi các dạng khác như chuỗi, hình cầu bị đẩy ra khá nhanh [50].

Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu cho kết quả khả quan nhưng khi sự co bóp của dạ dày tăng mạnh thì dạng thuốc vẫn có thể bị đẩy khỏi dạ dày qua cơ thắt môn vị. Bên cạnh đó, hệ tiêu hóa nguy cơ giãn nở sớm ngay trong thực quản trong khi nuốt và gây ra các biến chứng nghiêm trọng. Ngược lại, khi hệ tiêu hóa quá chậm hoặc giãn nở không hoàn toàn sẽ không thể lưu lại dạ dày và nhanh chóng bị đẩy ra [51].

*** Hệ sa lắng**

Khi tỷ trọng của dạng thuốc cao hơn tỷ trọng của dịch dạ dày ($\sim 1,004 \text{ g/cm}^3$), chế phẩm sẽ bị lắng xuống đáy dạ dày và ở dưới cửa môn vị sau khi uống. Hệ tỷ trọng cao sử dụng các tá dược trơ có tỷ trọng cao như kẽm oxyd, titan dioxyd, sắt oxyd hoặc bari sulfat tạo nhân pellet hoặc bao pellet. Các tá dược này có thể làm tăng tỷ trọng hệ lên đến $1,5\text{-}2,4 \text{ g/cm}^3$ [52], [53]. Tuy nhiên, một số báo cáo cho rằng hệ tỷ trọng cao không làm tăng đáng kể thời gian lưu tại dạ dày của dạng thuốc [53].

*** Hệ kết dính**

Hệ kết dính sinh học là hệ có khả năng tương tác với ống tiêu hóa và bám dính trên bề mặt ống tiêu hóa trong một khoảng thời gian nhất định. Hệ sử dụng các polyme có khả năng kết dính với biểu mô bề mặt ống tiêu hóa. Các tá dược thường có khối lượng phân tử lớn, có khả năng gel hóa kiểu keo thân nước với nhiều liên kết hydro, có các nhóm carboxyl, hydroxyl, amid và sulfat như acid polyacrylic, natri carboxymethyl cellulose, natri alginat... Các nghiên cứu về khả năng kết dính của các polyme, trong đó các polyme ion âm cho khả năng kết dính tốt hơn các polyme trung tính [54]. Hệ kết dính sinh học đã được nghiên cứu bào chế để sử dụng ở nhiều đường dùng khác như mũi, miệng, mắt, trực tràng,... tuy nhiên quá trình bám dính tại dạ dày gặp nhiều khó khăn do tác động của dịch vị, lớp niêm mạc dày và sự co bóp khiến quá trình lưu và giải phóng không ổn định [55], [56], [51]. Mặt khác, rất khó để định hướng cho

polyme của hệ chỉ kết dính với lớp niêm mạc dạ dày mà không kết dính với bề mặt khác của ống tiêu hóa như thực quản. Các polyme như polycarbophil và Carbopol® dễ dàng kết dính với các bề mặt khác nhau ống tiêu hóa khi tiếp xúc [57]. Điều này có thể dẫn tới nguy cơ dính và tổn thương thực quản do thuốc [58]. Vì vậy, hệ kết dính sinh học lưu tại dạ dày vẫn cần tiếp tục được nghiên cứu để khắc phục các bất lợi và khó khăn trên.

* Hệ từ tính

Hệ từ tính thường được bào chế dưới dạng viên nén với thành phần gồm dược chất, polyme (HPMC, HPC, PVP...) và một lượng nhỏ chất nhiễm từ (Fe_2O_3 , MnFe_2O_4). Khả năng lưu thuốc trong dạ dày của hệ được kiểm soát bởi vị trí, cường độ của nam châm đặt bên ngoài cơ thể. Mặc dù đã được đề cập từ lâu, tuy nhiên những nghiên cứu về hệ từ tính hiện còn rất ít và tính ứng dụng không cao do khó có thể xác định chính xác vị trí cần đặt nam châm để hệ lưu tại dạ dày một cách hiệu quả. Đồng thời, hệ gây bất tiện cho người bệnh vì phải luôn đeo nam châm bên người [43], [41].

1.2.3. Phương pháp đánh giá khả năng lưu thuốc tại dạ dày của hệ nổi

1.2.3.1. Phương pháp đánh giá *in vitro*

Nghiên cứu lâm sàng trên người là tiêu chuẩn vàng để xác định hiệu quả thuốc, nhưng do chi phí và thủ tục phức tạp, nghiên cứu *in vivo* ít được áp dụng ở giai đoạn phát triển công thức; thay vào đó, đánh giá đặc tính chất lượng thường dựa trên nghiên cứu *in vitro*.

Chất lượng hệ lưu thuốc nổi tại dạ dày được kiểm tra theo các tiêu chí của thuốc rắn như độ bền cơ học, hàm lượng và độ đồng đều, khả năng giải phóng dược chất. Bên cạnh đó, còn đánh giá theo các tiêu chí đặc hiệu dựa trên cơ chế lưu thuốc của hệ nổi như thời gian trì hoãn nổi, tổng thời gian nổi, lực nổi.

Phương pháp đánh giá thời gian trì hoãn nổi (floating lag time) và tổng thời gian nổi (total floating time)

Thời gian trì hoãn nổi (T_{lag}) là khoảng thời gian từ khi đưa hệ vào môi trường thử nghiệm cho tới khi nổi lên bề mặt dung dịch. Thông số này phụ thuộc đáng kể vào đặc tính của hệ. Với các hệ không sinh khí, nhờ có tỷ trọng thấp, chế phẩm thường nổi ngay hoặc có T_{lag} rất ngắn. Ngược lại, ở các hệ sinh khí, T_{lag} thường dài hơn do cần thời gian xảy ra phản ứng tạo khí và tích lũy đủ lượng khí để giúp hệ nổi [41].

Tổng thời gian nổi phản ánh thời gian hệ duy trì trạng thái nổi trên bề mặt môi trường thử nghiệm. Cả T_{lag} và tổng thời gian nổi thường được đo đồng thời với phép thử độ hòa tan. Với hệ nổi đa đơn vị, một phần tiểu phân có thể chìm trong quá trình đánh giá, do đó khả năng nổi được biểu thị bằng tỷ lệ phần trăm tiểu phân còn nổi theo thời gian. Tỷ lệ này có thể được xác định bằng cách thu thập các tiểu phân nổi hoặc các tiểu phân đã sa lắng tại những thời điểm nhất định, sau đó sấy khô, cân và so sánh với khối lượng ban đầu [59].

Phương pháp đo lực nổi – “resultant weight”

Mặc dù T_{lag} và tổng thời gian nổi là những chỉ số quan trọng để đánh giá khả năng nổi, chúng chỉ phản ánh trạng thái nổi/chìm mà không cung cấp thông tin định lượng về sức nổi. Timmermans J. và cộng sự đã phát triển một thiết bị đo lực nổi (buoyant force) theo thời gian, còn được gọi là phương pháp “resultant weight”, dựa trên nguyên lý đòn bẩy [60]. Phương pháp này đã được cải tiến trong những năm gần đây. Thiết bị bao gồm: cốc chứa mẫu và môi trường thử (thường là dung dịch mô phỏng dịch dạ dày), bộ truyền lực dạng mũ chụp hình nón có đục lỗ, đòn bẩy, quả cân đối trọng và cân phân tích. Trong quá trình đo, chế phẩm được nhúng ngập trong chất lỏng nhờ bộ truyền lực. Hệ chịu tác động của lực đẩy Archimedes (F_A) hướng lên và trọng lực (P) hướng xuống. Khi $F_T = F_A - P > 0$, lực đẩy thắng trọng lực, khiến chế phẩm nổi lên. Lực F_T này được truyền qua đòn bẩy làm quả cân đối trọng dịch chuyển xuống

cân phân tích, tạo giá trị khối lượng đối trọng (“resultant weight”). Số liệu này giúp xác định lực nổi, và đồ thị lực nổi theo thời gian là công cụ hữu ích để đánh giá khả năng nổi và tối ưu hóa công thức [61], [62].

1.2.3.2. Phương pháp đánh giá *in vivo*

Nghiên cứu *in vivo* trên mô hình động vật hoặc người tình nguyện được xem là phương pháp tối ưu để chứng minh hiệu quả của hệ lưu thuốc tại dạ dày. Những nghiên cứu này cung cấp dữ liệu về thời gian lưu giữ và sinh khả dụng của chế phẩm. Để đánh giá khả năng lưu giữ tại dạ dày *in vivo*, có thể áp dụng các kỹ thuật chẩn đoán hình ảnh như xạ hình gamma, chụp X quang, nội soi, siêu âm và chụp cộng hưởng từ (MRI).

Xạ hình gamma

Kỹ thuật này cho phép xác định vị trí và theo dõi hành trình di chuyển của chế phẩm trong đường tiêu hóa. Một lượng nhỏ đồng vị phóng xạ (ví dụ technetium $99\text{m-}^{99\text{m}}\text{Tc}$) được phối hợp vào chế phẩm, sau đó người tình nguyện hoặc động vật thử nghiệm uống thuốc cùng nhiều nước. Tiếp theo, đối tượng được chiếu nguồn neutron, khiến đồng vị phóng xạ phân rã và phát ra tia gamma. Tín hiệu này được detector ghi nhận và xử lý bằng phần mềm để tạo ảnh [63]. Dựa trên hình ảnh thu được, có thể xác định vị trí và ước tính thời gian lưu thuốc tại dạ dày. Ưu điểm của phương pháp là độ chính xác cao và liều phóng xạ thấp.

Chụp X quang

Tương tự xạ hình gama, X quang cũng được ứng dụng để đánh giá *in vivo*, cho phép theo dõi vị trí và sự thay đổi kích thước chế phẩm do hòa tan trong đường tiêu hóa [64]. Khi thực hiện, chất cản quang như bari sulfat được phối hợp vào chế phẩm và chụp X quang tại các thời điểm khác nhau. Kỹ thuật này đơn giản, chi phí thấp hơn xạ hình và đã áp dụng thành công ở người tình

nguyên. Tuy nhiên, việc cần chụp nhiều lần làm tăng nguy cơ phơi nhiễm tia X, đặt ra vấn đề an toàn nếu thực hiện trên người.

Chụp cộng hưởng từ (MRI)

MRI là kỹ thuật dựng ảnh cắt lớp bằng sóng từ trường và sóng radio, cho phép xác định cấu trúc giải phẫu và vị trí chế phẩm đường uống. Để tăng tương phản, thường kết hợp các chất siêu thuận từ như oxit sắt Fe_3O_4 . Steingoetter A. và cộng sự đã áp dụng thành công MRI để xác định vị trí và thời gian lưu của hệ nổi trong dạ dày người tình nguyện [65]. Phương pháp này an toàn, không xâm lấn, cung cấp hình ảnh giải phẫu chi tiết, độ phân giải cao nhưng chi phí lớn nên ứng dụng nghiên cứu còn hạn chế.

1.2.4. Một số nghiên cứu bào chế hệ lưu thuốc ở dạ dày chứa verapamil

Nhiều nghiên cứu đã được tiến hành nhằm phát triển hệ thuốc viên nén nổi trong dạ dày chứa verapamil để kéo dài thời gian lưu của thuốc trong dạ dày và kiểm soát tốc độ giải phóng dược chất. Các công thức viên nổi verapamil thường sử dụng cơ chế sinh khí với tá dược sinh khí như natri hydrocarbonat kết hợp acid hữu cơ (acid citric) để tạo ra khí CO_2 , giúp viên nổi lên trên dịch dạ dày. Bên cạnh đó, các polymer trương nở (như HPMC và một số loại gôm tự nhiên) được dùng làm tá dược điều khiển giải phóng (ĐKGP) nhằm tạo hệ gel kiểm soát tốc độ phóng thích hoạt chất. Ngoài ra, một số hướng tiếp cận khác cũng đã được khảo sát, bao gồm viên nén hai lớp (kết hợp giải phóng tức thì và kéo dài), vi cầu nổi và kết hợp cơ chế nổi - bám dính.

Viên nén nổi giải phóng kéo dài theo cơ chế sinh khí

Phương pháp tạo hạt ướt: Patel A. và cộng sự (2009) đã bào chế viên nén nổi verapamil bằng phương pháp tạo hạt ướt và đánh giá khả năng nổi *in vivo* trên chó. Công thức tối ưu sử dụng HPMC K4M kết hợp gôm xanthan tỷ lệ 3:2 làm polymer trương nở tạo gel, cùng với natri hydrocarbonat và acid citric khan làm tác nhân sinh khí. Viên được dập với tá dược dính PVP K30

(trong ethanol 96%). Kết quả cho thấy viên đạt 95,39% lượng thuốc giải phóng trong 24 giờ *in vitro*, thời gian trì hoãn nổi (T_{lag}) trung bình 36,2 giây và duy trì nổi trên 24 giờ. Động học giải phóng tuân theo mô hình bậc 0 và cơ chế khuếch tán không theo Fick (non-Fick). Nghiên cứu này cũng chứng minh viên nén nổi có thể lưu lại trong dạ dày chó thí nghiệm hơn 4 giờ nhờ cơ chế nổi [8]. Tương tự, Abbaraju P.L. và cộng sự (2012) đã bào chế viên nén nổi verapamil bằng tạo hạt ướt với HPMC K4M và gôm kondagogu (tỷ lệ 2:5) làm tá dược ĐKGP, kết hợp natri hydrocarbonat và acid citric (tỷ lệ 4:1) sinh khí. Công thức tối ưu của nhóm này kiểm soát giải phóng được chất trong 24 giờ và có $T_{lag} \sim 38,6$ giây. Mô hình giải phóng tuân theo bậc 1 và cơ chế khuếch tán không tuân theo Fick (non-Fick) [15]. Sadhana R.S. và cộng sự (2013) cũng áp dụng phương pháp tạo hạt ướt, sử dụng 15% HPMC làm tá dược ĐKGP và 3% hỗn hợp acid citric – natri hydrocarbonat làm tá dược sinh khí. Viên nén nổi của họ có T_{lag} rất ngắn (~ 19 giây) và giải phóng 103,9% được chất sau 24 giờ. Dữ liệu động học cho thấy mô hình giải phóng phù hợp là Hixson-Crowell và cơ chế non-Fick [66].

Phương pháp dập thẳng: Nhiều nghiên cứu khác đã lựa chọn dập thẳng để bào chế viên nổi verapamil do ưu điểm quy trình đơn giản. Tá dược sinh khí phổ biến vẫn là natri hydrocarbonat (thường phối hợp một lượng nhỏ acid citric), trong khi tá dược ĐKGP thường kết hợp HPMC với các gôm thiên nhiên. Gangadharappa H.V. và cộng sự (2010) sử dụng 23,3% gôm karaya cùng 13,3% HPMC K15M làm polymer trương nở, kết hợp natri hydrocarbonat, để bào chế viên nổi verapamil dập thẳng. Viên nén thu được có T_{lag} trung bình 64 giây và thời gian nổi kéo dài khoảng 8 giờ. Mô hình động học giải phóng phù hợp với phương trình Korsmeyer-Peppas và cơ chế giải phóng non-Fick. Nghiên cứu này cũng nhấn mạnh gôm karaya là tá dược thiên nhiên phù hợp giúp kiểm soát giải phóng thuốc trong hệ nổi dạ dày [67]. Cũng sử dụng gôm karaya, Kumar R. và cộng sự (2021) phối hợp gôm karaya với HPMC K15M

tỷ lệ 2:1 để bào chế viên nổi verapamil dập thẳng. Công thức tối ưu của họ giải phóng khoảng 30% dược chất trong giờ đầu và kéo dài đến 12 giờ, với T_{lag} ~62 giây và thời gian nổi lên tới 21 giờ. Mô hình động học giải phóng của công thức này cũng tuân theo Korsmeyer-Peppas và cơ chế khuếch tán Fick [68].

Bên cạnh gồm karaya, gồm xanthan cũng được nghiên cứu rộng rãi trong viên nổi verapamil: Patidar D. và cộng sự (2016) kết hợp gồm xanthan với HPMC K15M (tỷ lệ 2:1) trong công thức viên nổi dập thẳng. Thành phẩm thu được có T_{lag} ~62 giây, tỷ lệ giải phóng đạt ~30% trong giờ đầu và duy trì ổn định trong 12 giờ. Động học giải phóng tuân theo mô hình Korsmeyer-Peppas với cơ chế khuếch tán Fick [69]. Gần đây hơn, Mahmoud Z.H. và cộng sự (2023) cũng tối ưu hóa công thức viên nổi verapamil dập thẳng chứa HPMC K4M và gồm xanthan (tỷ lệ 1:2). Công thức của họ giải phóng khoảng 30% lượng thuốc trong giờ đầu tiên và kéo dài đến 12 giờ, tuân theo động học Korsmeyer-Peppas nhưng cơ chế giải phóng được xác định là theo quy tắc Fick [7]. Ngoài ra, Dawange S.R. và cộng sự (2015) đã thử nghiệm kết hợp HPMC K15M với natri alginate làm polymer tạo gel, cùng hệ sinh khí là NaHCO_3 và acid citric. Viên nén thu được có T_{lag} khoảng 78 giây, giải phóng đạt 92,85% dược chất sau 12 giờ. Quá trình phóng thích dược chất tuân theo mô hình Korsmeyer-Peppas và cơ chế non-Fickian [7], cho thấy vừa khuếch tán vừa trương nở kiểm soát quá trình giải phóng.

Nguyễn Phương Đông và cộng sự (2018) đã sử dụng HPMC K4M và carbopol® 940P để kiểm soát giải phóng, natri bicarbonat và acid citric làm tá dược sinh khí, các tá dược khác gồm PVP K30, lactose và magnesi stearat. Viên đạt thời gian trì hoãn nổi (T_{lag}) khoảng 10 giây, duy trì nổi trên 12 giờ, giải phóng 12% verapamil sau 1 giờ, 87% sau 8 giờ và trên 99% sau 12 giờ *in vitro* [16].

Một số nghiên cứu tập trung vào phối hợp nhiều polymer để cải thiện đặc tính hệ nổi. Krishnan S.K. và cộng sự (2012) đã sử dụng đồng lượng

chitosan, HPMC K100M và Carbopol 934P trong viên nén nổi verapamil dập thẳng. Công thức này cho thấy viên nổi bền vững đến 12 giờ và mô hình giải phóng thuốc tuân theo phương trình Korsmeyer-Peppas [70]. Trong khi đó, Arpna I. và cộng sự (2023) kết hợp một tá dược thân dầu (Compritol® 888 ATO) với HPMC K15M trong viên nén nổi giải phóng kéo dài verapamil. Compritol® 888 ATO là glyceryl behenate, giúp tạo hệ cốt kỵ nước làm chậm phóng thích, đồng thời nhóm nghiên cứu vẫn bổ sung natri hydrocarbonat để đảm bảo đặc tính nổi. Công thức tối ưu của Arpna I. et al đạt T_{lag} trung bình 3,12 phút và kiểm soát giải phóng được chất đến 24 giờ, với mức độ giải phóng đạt ~97,15% sau 24 giờ (Q24). Động học phóng thích phù hợp với mô hình Higuchi ($R^2 = 0,999$) và Korsmeyer-Peppas ($R^2 = 0,998$), cơ chế giải phóng được xác định là bất thuận Fick (khuếch tán bất đối xứng) [71]. Kết quả này cho thấy việc phối hợp tá dược kỵ nước và ưa nước có thể tạo viên nổi kiểm soát giải phóng kéo dài hiệu quả.

Hệ nổi không sinh khí

Bên cạnh các nghiên cứu sử dụng cơ chế sinh khí để tạo hệ nổi, cũng có cách tiếp cận hệ nổi không sinh khí dựa trên sự cân bằng thủy động lực học (hydrodynamically balanced system). Molke M.M. và cộng sự (2010) đã phát triển viên nén nổi chứa verapamil không dùng chất sinh khí, mà thay vào đó dựa vào sự trương nở và tỷ trọng thấp của hệ phân tán rắn kỵ nước. Cụ thể, verapamil được tạo hệ phân tán rắn với tá dược thân dầu Compritol® 888 ATO và lactose (hoặc HPMC K100LV) bằng kỹ thuật nóng chảy, sau đó hỗn hợp rắn này được trộn với tá dược độn, chất trơn và dập thành viên. Viên nén thu được có khả năng nổi liên tục trên môi trường dịch vị *in vitro* hơn 8 giờ mà không cần sinh khí. Tốc độ giải phóng thuốc tuân theo cơ chế khuếch tán Fick và mô hình giải phóng phù hợp nhất là mô hình Higuchi [17]. Cách làm này cho thấy tiềm năng của hệ nổi dựa trên chất béo/hydrophobic trong kiểm soát giải phóng thuốc, tránh được việc dùng acid-kiềm để sinh khí.

Viên nén hai lớp (kết hợp giải phóng tức thì và kéo dài)

Để đạt được hiệu quả điều trị nhanh chóng đồng thời duy trì nồng độ thuốc ổn định, hệ viên nén hai lớp đã được nghiên cứu. Asha S.K.M. và cộng sự (2013) đã thiết kế viên nén verapamil nổi gồm hai lớp: lớp thứ nhất chứa liều verapamil giải phóng tức thì, lớp thứ hai là lớp giải phóng kéo dài và có khả năng nổi trong dạ dày. Tá dược ĐKGP sử dụng cho lớp kéo dài gồm HPMC K100 và Carbopol® 940, còn tác nhân sinh khí là natri hydrocarbonat kết hợp acid citric. Viên hai lớp được bào chế bằng phương pháp dập thẳng hai giai đoạn. Kết quả cho thấy lớp kiểm soát kéo dài có thời gian bắt đầu nổi ~65 giây và duy trì nổi trên 13 giờ trong môi trường dạ dày mô phỏng. Phần verapamil ở lớp thứ hai được giải phóng kéo dài, tuân theo cơ chế khuếch tán Fick và mô hình động học Korsmeyer-Peppas. Thiết kế hai lớp cho phép thuốc đạt nồng độ điều trị nhanh (nhờ lớp thứ nhất giải phóng tức thì), đồng thời duy trì tác dụng kéo dài nhờ lớp nổi ở dạ dày [72].

Hệ vi cầu nổi

Bên cạnh dạng viên nén, dạng vi hạt/vi cầu nổi cũng được phát triển nhằm tăng diện tích tiếp xúc và tính linh động trong dạ dày. Reddy B.V. và cộng sự (2015) đã bào chế vi cầu nổi chứa verapamil bằng kỹ thuật nhũ hóa – bay hơi dung môi. Ethylcellulose (EC) được chọn làm polymer tạo vi cầu không tan trong nước, và tỷ lệ tối ưu giữa dược chất:polymer là 1:2 (w/w) trong hệ dung môi dicloromethan:ethanol = 1:1. Các vi cầu thu được có kích thước nhỏ và tỷ trọng thấp, cho phép nổi được trong môi trường dịch dạ dày. Công thức vi cầu tối ưu giải phóng được 98,65% lượng verapamil trong khoảng 12 giờ. Động học giải phóng của vi cầu tuân theo mô hình bậc 0, cho thấy tốc độ phóng thích tương đối ổn định theo thời gian, và cơ chế giải phóng thuốc được xác định là bất thuận Fick [73]. Hệ vi cầu nổi mở ra hướng mới cho phép phân liều linh hoạt và có thể cải thiện sinh khả dụng do phân tán rộng trong dạ dày.

Hệ thuốc nổi kết hợp cơ chế bám dính dạ dày

Một giải pháp khác nhằm kéo dài thời gian lưu thuốc tại chỗ là kết hợp cơ chế nổi và cơ chế bám dính niêm mạc dạ dày. Kailas K.M. và cộng sự (2016) đã nghiên cứu viên nén verapamil vừa nổi vừa có tính chất bám dính nhằm tăng cường độ lưu giữ tại dạ dày. Công thức sử dụng HPMC K15M kết hợp carboxymethyl gôm me (tamarind) với tỷ lệ 5:1 làm tá dược ĐKGP, cùng natri hydrocarbonat sinh khí để viên có thể nổi. Đặc tính sinh dính được đánh giá thông qua lực dính của viên trên niêm mạc mô phỏng, đạt 17,23 g đối với công thức tối ưu. Viên nén này có thời gian trương nở đáng kể (độ trương nở 74,83% sau 5 giờ) và bắt đầu nổi sau khoảng 6,14 phút. Nhờ kết hợp hai cơ chế, viên có thể bám vào thành dạ dày và đồng thời nổi trong dịch vị, giúp duy trì vị trí lưu. Thử nghiệm hòa tan *in vitro* cho thấy viên giải phóng được 75,48% dược chất sau 10 giờ, và cơ chế giải phóng non-Fick [18]. Hệ kết hợp nổi – bám dính được kỳ vọng sẽ tối ưu hóa thời gian lưu thuốc hơn so với chỉ một cơ chế đơn thuần.

Nhìn chung, các nghiên cứu chứng minh tính khả thi của viên nén nổi verapamil trong việc kéo dài thời gian lưu thuốc ở dạ dày và kiểm soát giải phóng dược chất theo yêu cầu. Nhiều loại polymer hydrophilic tự nhiên (gôm karaya, gôm xanthan, gôm kondagogu, chitosan, alginat, v.v.) cũng như polymer bán tổng hợp (HPMC các cấp độ nhớt khác nhau, Carbopol, ethylcellulose) đã được sử dụng thành công để tạo hệ cốt gel trương nở hoặc hệ không tan trơ nổi. Hầu hết các công thức tối ưu đạt thời gian nổi từ 8 đến >24 giờ, với mô hình động học Korsmeyer-Peppas thường gặp, cho thấy cơ chế khuếch tán qua matrix là chủ đạo (kết hợp sự trương nở/erosion của polymer) [67], [68], [69]. Một số công thức đạt được tốc độ giải phóng gần như tuyến tính (bậc 0) [8],[73] hoặc khuếch tán Fick [68], [7], tùy thuộc vào loại và tỷ lệ polymer sử dụng. Mặc dù đạt nhiều kết quả khả quan *in vitro*, điểm hạn chế chung của các nghiên cứu này là quy mô thực nghiệm còn nhỏ nên chưa đánh giá được rủi ro khi nâng cấp lên quy mô lớn cũng như chưa có dữ liệu sinh khả

dụng *in vivo*. Hầu hết các công trình mới dừng lại ở đánh giá khả năng nổi và tốc độ phóng thích dược chất trong phòng thí nghiệm; chỉ có rất ít nghiên cứu tiến hành thử nghiệm *in vivo*, chủ yếu dừng ở quan sát viên nổi trong đường tiêu hóa (như nghiên cứu của Patel A., 2009 trên chó) [8]. Chưa có nghiên cứu nào công bố dữ liệu về sinh khả dụng *in vivo*. Ngoài ra, tính ổn định của quy trình bào chế ở quy mô lớn cũng chưa được kiểm chứng trong các công bố hiện có.

1.3. TỔNG QUAN VỀ NGHIÊN CỨU SINH KHẢ DỤNG

Khái niệm sinh khả dụng được định nghĩa là tốc độ và mức độ hấp thu dược chất từ chế phẩm thuốc vào hệ tuần hoàn chung ở dạng còn hoạt tính hoặc đến được nơi tác dụng của dược chất. Các đại lượng được sử dụng để biểu thị tốc độ và mức độ hấp thu dược chất vào hệ tuần hoàn chung được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: C_{max} (nồng độ đỉnh); T_{max} (thời gian từ khi bắt đầu dùng thuốc đến khi đạt đến nồng độ đỉnh) và AUC (diện tích dưới đường cong nồng độ - thời gian) [74], [75], [76].

1.3.1. Định lượng thuốc trong dịch sinh học

1.3.1.1. Phương pháp xử lý mẫu dịch sinh học

Mẫu dịch sinh học có thể bao gồm máu, huyết thanh, huyết tương, dịch não tủy, dịch dạ dày, nước tiểu hoặc dịch chiết mô, tạng..., nhưng trong nghiên cứu sinh khả dụng thuốc, huyết thanh và huyết tương được sử dụng phổ biến. Các mẫu này thường có thể tích nhỏ (vài mL), số lượng lớn do thu từ nhiều đối tượng và nhiều thời điểm, nồng độ biến thiên rộng tùy thuộc đặc điểm dược động học. Nền mẫu phức tạp chứa protein, lipid, chất dinh dưỡng với tỉ lệ lớn (cỡ $\mu\text{g/mL}$ hoặc mg/mL) và sản phẩm chuyển hóa, trong khi chất phân tích thường có nồng độ nhỏ (cỡ ng/mL , thậm chí pg/mL) [77] và độ ổn định của thuốc kém, nên việc xử lý mẫu là bước bắt buộc và then chốt. Trước khi phân tích bằng sắc ký, mẫu phải được xử lý nhằm loại bỏ tác nhân cản trở nhưng

không làm mất chất phân tích. Chuẩn bị mẫu phù hợp giúp loại bỏ các thành phần như protein, lipid, muối, hợp chất nội sinh..., tránh tắc cột, đồng thời nâng cao độ nhạy, độ chọn lọc và độ tin cậy phép đo. Nền mẫu có thể gây nhiễu pic khi dùng HPLC-UV/Vis hoặc huỳnh quang, nhưng ảnh hưởng này giảm đáng kể với LC-MS/MS nên yêu cầu làm sạch mẫu thường ít nghiêm ngặt hơn. Ba kỹ thuật xử lý mẫu được ứng dụng rộng rãi gồm kết tủa protein, chiết lỏng-lỏng và chiết pha rắn [78]. Tuy nhiên, phương pháp kết tủa protein thường cho độ tinh sạch không tốt. Chiết pha rắn và chiết lỏng-lỏng có nhược điểm tốn thời gian và sử dụng nhiều dung môi độc hại. Một số tác giả đã sử dụng phương pháp QuEChERS để chuẩn bị mẫu đơn giản hơn, tiết kiệm thời gian và giảm việc sử dụng dung môi hữu cơ [79], [80].

1.3.1.2. Phương pháp HPLC dùng phát hiện thuốc trong dịch sinh học

Có nhiều phương pháp phân tích khác nhau đã được nghiên cứu nhưng trong đó phương pháp sắc ký lỏng được sử dụng nhiều nhất với các loại máy dò khác như HPLC-UV, LC-MS, LC-MS/MS, HPLC-FD [81], [82]. Từ năm 1976 đến năm 2019 đã có 71 nghiên cứu về định lượng VER đơn lẻ hoặc đồng thời với các chất khác trong mẫu dịch sinh học và dạng bào chế được công bố [83].

Borges C. và cộng sự (2005) đã phát triển một phương pháp LC-MS/MS sử dụng chiết lỏng-lỏng để định lượng verapamil trong huyết tương người. Phương pháp này sử dụng metoprolol làm nội chuẩn, cột C8 và pha động methanol-nước (70:30) chứa 12 mM acid formic. Phương pháp có thời gian phân tích ngắn (3,5 phút), tuyến tính trong khoảng 1–500 ng/mL, độ lặp lại và độ chính xác cao, và đã được ứng dụng thành công trong nghiên cứu tương đương sinh học hai chế phẩm viên nén verapamil [84].

Ivanova V. và cộng sự (2008) đã phát triển một phương pháp HPLC-UV sử dụng chiết pha rắn với cột HLB để định lượng verapamil trong huyết tương

người. Phương pháp này đạt độ hồi phục từ 94,7% đến 103,7%, tuyến tính trong khoảng 10–500 ng/mL và sử dụng diltiazem làm nội chuẩn [85].

Về kỹ thuật sắc ký, Ivanova V. và cộng sự (2008) sử dụng HPLC với đầu dò UV để định lượng verapamil trong huyết tương người. Phương pháp này sử dụng cột Lichrospher 60 RP-select B, pha động gồm 40% acetonitrile và 0,025 mol/L KH_2PO_4 với pH 2,5, tốc độ dòng 1 ml/phút, và bước sóng phát hiện 200 nm [85]. LC–MS/MS là kỹ thuật sắc ký hiện đại, cho phép định lượng verapamil với độ nhạy và độ chọn lọc cao. Borges C. và cộng sự (2005) đã phát triển một phương pháp LC–MS/MS sử dụng electrospray ionization (ESI) dương tính để định lượng verapamil trong huyết tương người. Phương pháp này có thời gian phân tích ngắn (3,5 phút), tuyến tính trong khoảng 1–500 ng/mL, và đã được ứng dụng thành công trong nghiên cứu tương đương sinh học [84]. Nghiên cứu của Jhee O. và cộng sự (2005), ứng dụng HPLC microbore ghép nối cột (coupled column HPLC) cho phép tiêm trực tiếp huyết tương mà không cần xử lý mẫu phức tạp [86].

Ngoài ra, việc phân tích riêng từng đồng phân quang học của verapamil cũng được quan tâm do sự khác biệt về dược động học và dược lực học giữa hai dạng R- và S-verapamil. Rasymas A.K. và cộng sự (1992) đã xây dựng quy trình HPLC kết hợp cột sắc ký đối quang (chiral HPLC) để định lượng riêng rẽ hai đồng phân quang học sau khi tiêm racemic verapamil [87]. Gần đây, Hefnawy M. và cộng sự (2021) phát triển phương pháp LC-MS/MS sử dụng cột chiral isopropyl-cyclofructan, để phân tích nhanh và nhạy, ứng dụng trong nghiên cứu dược động học của đồng phân VER trên chuột [88]. Một số phương pháp khác như sắc ký khí lỏng kết hợp đầu dò nitơ–phospho cũng được phát triển. Shin H.S. và cộng sự (1996) đã mô tả phương pháp cho phép xác định verapamil trong huyết tương người với giới hạn phát hiện 2 ng/mL [89].

Các kết quả nghiên cứu trên cho thấy, sắc ký lỏng kết nối khối phổ thích hợp để định lượng verapamil trong dịch sinh học khi nghiên cứu sinh khả dụng

in vivo của verapamil. Phương pháp có ưu điểm cho kết quả tin cậy, thời gian phân tích ngắn, đồng thời không đòi hỏi quá cao về độ tinh sạch khi xử lý mẫu.

1.3.2. Một số nghiên cứu sinh khả dụng *in vivo* của verapamil

1.3.2.1. Nghiên cứu trong nước

Năm 2021, Trương Đức Mạnh đã đánh giá sinh khả dụng của viên nang chứa pellet verapamil GPKD trên chó thực nghiệm theo phương pháp chéo đôi, ngẫu nhiên, đơn liều, 2 giai đoạn, bố trí 2 đợt cách nhau 7 - 10 ngày. Thực hiện trên 6 cá thể chó đực, khỏe mạnh được chia ngẫu nhiên thành 2 nhóm, mỗi nhóm 3 con. Thí nghiệm sử dụng thuốc đối chứng là biệt dược MYLAN có dạng viên nén GPKD 120mg. Nồng độ verapamil trong huyết tương được xác định bằng HPLC với detector quang phổ huỳnh quang. Kết quả nghiên cứu cho thấy các thông số dược động của viên nang verapamil 120 mg GPKD và viên đối chiếu MYLAN L.P 120mg như: AUC_{0-24h} , $AUC_{0-\infty}$, C_{max} , T_{max} , $T_{1/2}$, λ_Z , $AUMC_{0-\infty}$, MRT. Giá trị C_{max} của VER khi uống viên nang verapamil 120 mg GPKD và viên MYLAN L.P 120mg là tương đương nhau. Nhưng các giá trị $AUC_{0-\infty}$, T_{max} và MRT giữa hai thuốc là khác nhau [90].

1.3.2.2. Nghiên cứu nước ngoài

Các nghiên cứu quốc tế về sinh khả dụng *in vivo* của VER cho đến nay đều được thực hiện trên đối tượng người tình nguyện hoặc bệnh nhân, chưa ghi nhận báo cáo nào đánh giá trên mô hình động vật. Nội dung các nghiên cứu chủ yếu tập trung so sánh giữa các công thức bào chế khác nhau, từ dạng giải phóng tức thì (IR), giải phóng kéo dài (SR, CR), nhằm đánh giá tác động của công thức đến đặc tính dược động học và dược lực học.

Năm 1987, Hla K.K. và cộng sự (1987) cho thấy dạng SR kéo dài T_{max} và làm giảm hằng số tốc độ hấp thu so với dạng thông thường, nhưng sinh khả dụng tổng thể sau 10 ngày không khác biệt đáng kể. Dạng SR cũng duy trì tỷ lệ nồng độ đỉnh/đáy thấp hơn, giúp ổn định nồng độ huyết tương [91]. McEwen

J. và cộng sự (1989) khẳng định các liều SR 120 mg, 240 mg và dạng bẻ đôi viên 240 mg đều giữ nguyên đặc tính giải phóng kéo dài, với Cmax, Tmax và AUC tương đương [92].

So sánh giữa các chế phẩm SR, Devane J.G. và cộng sự (1990) ghi nhận AUC của Verelan SR và Isoptin SR tương đương, nhưng Cmax của Isoptin SR cao hơn và Tmax của Verelan SR dài hơn; khả năng hấp thu từ Verelan SR không bị ảnh hưởng bởi thức ăn [93]. Trong khi đó, Fuenmayor N.T. và cộng sự (1992) chứng minh AUC và Cmax của IR cao hơn 10–20%, còn Tmax của SR kéo dài hơn khoảng 2,7–2,8 lần, tạo ra đáp ứng hạ huyết áp chậm hơn nhưng bền vững hơn [94].

Một số nghiên cứu ảnh hưởng của đồng phân quang học và yếu tố cá thể. Masood B.M. và cộng sự (1995) phát hiện tỷ lệ R:S của verapamil khác nhau giữa dạng IR và CR, cùng với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về dao động nồng độ giữa các khoảng liều [95]. Krecic-Shepard E. và cộng sự (2000) cho thấy ở nữ, sinh khả dụng verapamil SR cao hơn nam nhưng vẫn thấp hơn IR; tốc độ thanh thải đường uống ở nam nhanh hơn nữ, trái ngược với dạng tiêm tĩnh mạch [96].

Sawicki W. và cộng sự (2002) nghiên cứu sinh khả dụng của pellet nổi giải phóng kéo dài trên người tình nguyện khỏe mạnh, kết quả cho thấy tỷ lệ hấp thu và đặc tính dược động học của verapamil và norverapamil được cải thiện rõ rệt so với viên nén giải phóng tức thời [97].

Tổng hợp lại, các công bố đến hiện tại đã đưa ra khá nhiều công thức bào chế viên nổi VER ở quy mô nhỏ, đồng thời cũng cung cấp các dữ liệu về khả năng giải phóng thuốc *in vitro*. Tuy nhiên, các nghiên cứu nào về sinh khả dụng của VER chủ yếu thực hiện trên người, rất ít dữ liệu về sinh khả dụng *in vivo* của verapamil trên mô hình động vật, đặc biệt với dạng viên nén VER giải phóng kéo dài theo cơ chế nổi ở dạ dày thì chưa có tác giả nào công bố.

CHƯƠNG 2. NGUYÊN LIỆU, THIẾT BỊ, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. NGUYÊN LIỆU, THIẾT BỊ VÀ ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

2.1.1. Nguyên liệu, hóa chất

Các nguyên liệu và hoá chất chính sử dụng trong các nội dung nghiên cứu của luận án được trình bày ở bảng 2.1.

Bảng 2. 1. Các nguyên liệu, hoá chất sử dụng trong nghiên cứu

STT	Nguyên liệu	Nguồn gốc	Tiêu chuẩn
<i>Nguyên liệu dùng trong bào chế</i>			
1	Verapamil hydroclorid	Ấn Độ	USP 43
2	HPMC K4M	Bỉ	BP 2020
3	HPMC K100M	Bỉ	BP 2020
4	HPMC E6	Bỉ	BP 2020
5	Ethyl Cellulose	Trung Quốc	BP 2020
6	Gôm Guar	Trung Quốc	BP 2020
7	Carbopol 940	Trung Quốc	BP 2020
8	Natri hydrocarbonat	Ấn độ	BP 2020
9	Lactose khan	Trung Quốc	USP 43
10	Avicel PH 101	Mỹ	USP 43
11	PVP K30	Trung Quốc	BP 2020
12	Ethanol 96%	Việt Nam	DĐVN V
13	Magnesi stearat	Việt Nam	DĐVN V
14	Bari sulfat	Việt Nam	DĐVN V
<i>Nguyên liệu dùng trong kiểm nghiệm</i>			
15	Verapamil hydroclorid chuẩn, SKS: QT 060909 hàm lượng 100,52 % tính theo nguyên trạng	Viện KNTTW	TCCS

STT	Nguyên liệu	Nguồn gốc	Tiêu chuẩn
16	Diltiazem hydroclorid SKS: C0221218 hàm lượng 99,60 % tính theo nguyên trạng	Viện KNTTW	TCCS
17	Methanol	Merck/Đức	Dùng cho HPLC
18	Acetonitril	Merck/Đức	Dùng cho HPLC
19	Kali dihydro phosphat	Trung Quốc	TKHH
20	Acid hydrocloric	Trung Quốc	TKHH
21	Magnesi sulfat	Trung Quốc	TKHH
22	Natri clorid	Trung Quốc	TKHH
23	Nước cất	Việt Nam	TCCS

2.1.2. Dụng cụ và thiết bị

Các dụng cụ thí nghiệm được sử dụng trong nghiên cứu như: Ống nghiệm, bình định mức, pipet, cốc có mỏ, ống đong, ... đạt tiêu chuẩn phân tích và kiểm nghiệm. Các thiết bị chính sử dụng trong các nội dung nghiên cứu của luận án được thể hiện trong bảng 2.2.

Bảng 2. 2. Các thiết bị sử dụng trong nghiên cứu

STT	Thiết bị	Hãng	Xuất xứ
1	Máy trộn lập phương, công suất tối đa 5kg/ mẻ	Shakti	Ấn Độ
2	Máy nhào trộn cánh chữ Z, thể tích buồng trộn 5L	Shakti	Ấn Độ
3	Máy xát hạt đu đưa, công suất tối đa 20 kg/ giờ	Shakti	Ấn Độ
4	Tủ sấy tĩnh UN750 plus	Memmert	Đức
5	Máy nhào trộn & tạo hạt cao tốc HMG – 10, dung tích nồi tạo hạt 10L, dung tích làm việc 2,5-7L	Công ty TNHH chế tạo máy	Việt Nam

STT	Thiết bị	Hãng	Xuất xứ
		được phẩm Tiền Tuấn	
6	Máy sấy tầng sôi FBDG – 5, công suất tối đa 5 kg/mẻ	Công ty TNHH chế tạo máy được phẩm Tiền Tuấn	Việt Nam
7	Máy xát trục ngang YK-160, công suất tối đa 100 kg/giờ	Công ty Tianfeng Thượng Hải	Trung Quốc
8	Cân kỹ thuật độ chính xác 0,01 g	Sartorius	Anh
9	Máy dập viên quay tròn 8 chày	Shakti	Ấn Độ
10	Máy đo lực gây vỡ viên	Pharmatest	Đức
11	Máy đo tỉ trọng biểu kiến	Coplay	Anh
12	Máy thử độ hoà tan	Coplay	Anh
13	Máy quang phổ UV – Vis	Labomed	Mỹ
14	Máy đo pH	Mettler Toledo	Thụy Sĩ
15	Cân phân tích độ chính xác 0,1 mg	Mettler Toledo	Thụy Sĩ
16	Máy siêu âm	Soniclean	Australia
17	Cân hàm ẩm	Prescisa	Thụy Điển
18	Máy đo độ trơn chảy	Erweka	Đức
19	Hệ thống HPLC Alliance Waters 2695D	Waters	Mỹ
20	Hệ thống HPLC Agilent 1290 Infinity II kết nối với hệ phổ khối Agilent 6475 Triple Quadrupole (LC/MS)	Agilent	Singapore

STT	Thiết bị	Hãng	Xuất xứ
21	Tủ vi khí hậu	Daeyang	Hàn Quốc

2.1.3. Thuốc đối chứng

Viên nén GPKD Verapamil MYLAN LP 120mg (Mylan Pharmaceutical, USA), Lot: 3156723 Hạn dùng: 07/2025, giải phóng kéo dài theo cơ chế cốt thân nước.

2.1.4. Động vật thí nghiệm

Chó ta, giống đực khoẻ mạnh, cân nặng 10 - 12 kg, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm (theo dõi và đảm bảo chó không bị ốm, khoẻ mạnh, không có biểu hiện bệnh truyền nhiễm. Được nuôi bằng thức ăn sạch, không sử dụng thức ăn thừa, chất cấm, chất kích thích tăng trưởng).

2.1.5. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

a. Địa điểm nghiên cứu

- Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân y.
- Khoa Dược, Trường Đại học Đại Nam.
- Công ty TNHH tư vấn TAKA.
- Bệnh Viện Thú Y Tropicpet.

b. Thời gian thực hiện luận án: Từ năm 2020 đến 2025.

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu bào chế viên nổi verapamil 120 mg

2.2.1.1. Nghiên cứu tương tác dược chất – tá dược

Dược chất và tá dược được rây qua rây 0,25 mm, sau đó trộn với nhau theo tỉ lệ 1:1 (1 gam dược chất và 1 gam tá dược). Hỗn hợp bột được cho vào lọ thủy tinh kín, không màu, bọc màng nhôm để tránh sáng. Bảo quản mẫu ở 2 điều kiện: Điều kiện thực phòng thí nghiệm và điều kiện lão hóa cấp tốc trong tủ vi khí hậu $40 \pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm tương đối $75 \pm 5\%$ trong 1 tháng.

Quan sát sự biến đổi về cảm quan, kết quả nhiệt vi sai, phổ hồng ngoại và hàm lượng VER tại thời điểm ban đầu và sau 1 tháng theo dõi.

2.2.1.2. *Khảo sát công thức bào chế*

Viên nôi VER được bào chế theo phương pháp tạo hạt ướt, với công thức có thành phần cơ bản như sau:

Thành phần	1 viên (mg)	100 viên (g)
Verapamil hydroclorid	120	12
<i>Tá dược ĐKGP</i>	<i>Thay đổi</i>	<i>Thay đổi</i>
<i>Avicel PH 101</i>	<i>Thay đổi</i>	<i>Thay đổi</i>
Natri hydrocarbonat	<i>Thay đổi</i>	<i>Thay đổi</i>
Lactose	Vừa đủ	Vừa đủ
Magnesi stearat	8	0,8
PVP K30	Vừa đủ	Vừa đủ
Tổng khối lượng viên	400	40

Các bước tiến hành bào chế viên nôi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài bằng phương pháp tạo hạt ướt như sau:

- Cân lượng VER, các tá dược ĐKGP, natri hydrocarbonat, Avicel PH 101 và lactose tương đương với mẻ 100 viên bằng cân kỹ thuật. Nghiền bột đơn, rây bột đơn qua cỡ rây 0,35 mm, trộn bột kép theo phương pháp đồng lượng. Thêm từ từ tá dược dính là dung dịch PVP K30 10% trong ethanol, trộn đều đến khi vừa đủ ẩm tạo thành khối ẩm. Ủ trong 10 phút.

- Xát hạt qua cỡ rây 0,71 mm, sấy cốm ở 50-60°C trong 10 phút, rồi rửa cốm qua cỡ rây 0,8 mm, sau đó tiếp tục sấy cốm thêm 45 phút. Khi cốm nguội, tiến hành xác định chỉ số Carr.

- Rây magnesi stearat qua cỡ rây 0,25 mm vào cốm, trộn đều. Dập viên trên máy dập viên tam sai bộ chày cối đường kính ϕ 11 mm. Độ cứng dự kiến khoảng 10 kp.

- Bảo quản viên trong túi PE 2 lớp, thêm gói hút ẩm silicagel và để trong bình hút ẩm.

2.2.1.2. Phương pháp bào chế viên nổi verapamil 120 mg quy mô 10 000 viên

Sử dụng các thiết bị sản xuất quy mô thử nghiệm, tạo hạt VER với các tá dược bằng phương pháp tạo hạt ướt. Ủ ẩm và sấy se rồi sàng hạt qua rây 0,8 mm, sau đó tiếp tục sấy khô. Hạt khô được trộn với tá dược trơn rồi dập viên trên máy dập viên quay tròn. Dựa trên kết quả nghiên cứu công thức tối ưu và thông số thiết bị quy mô pilot để tính các thành phần và đề xuất quy trình bào chế cho công thức lô 10 000 viên/lô. 3 lô thử nghiệm quy mô 10 000 viên/lô được tiến hành trên các thiết bị tại khoa Dược, trường đại học Đại Nam.

2.2.1.3. Phương pháp thẩm định quy trình sản xuất

* Kế hoạch thẩm định quy trình bào chế viên nổi VER quy mô 10 000 viên/lô:

- Với lô L01: Tiến hành khảo sát ở các giai đoạn:

+ Trộn khô: Khảo sát thời gian trộn (đồng đều hàm lượng).

+ Tạo hạt ướt: Thời gian tạo hạt (đồng đều ẩm).

+ Sấy hạt khô: Thời gian sấy (độ ẩm).

+ Trộn hoàn tất: Trên máy trộn lập phương, khảo sát thời gian trộn (đồng đều hàm lượng, tốc độ trơn chảy, chỉ số Carr).

+ Dập viên: Tốc độ dập viên (khối lượng trung bình viên, độ cứng)

- Với lô L02 và lô L03: Việc bào chế và thẩm định được tiến hành theo các thông số lựa chọn từ lô L01 và mô tả trong quy trình bào chế ở trên.

- Phân tích thống kê: Vẽ và biện luận các biểu đồ Shewhart, Cusum, tính toán các chỉ báo hiệu năng bằng cách sử dụng phần mềm minitab 19.

2.2.2. Phương pháp đánh giá chất lượng trong quá trình bào chế và nghiên cứu độ ổn định của viên nổi verapamil

2.2.2.1. Đánh giá chất lượng của hạt và viên

a. Xác định chỉ số Carr – CI

Đo trên máy ERWEKA SVM và tính kết quả thông qua chỉ số Carr (Carr index) - CI (%). Cân khoảng 30-50 g hạt, cho vào ống đong 100 mL khô sạch. Đọc thể tích thô - V_0 (ml). Vận hành máy (gõ 100 lần) và đọc thể tích sau gõ - V_f (ml). Chỉ số Carr (%) tính theo biểu thức:

$$CI = \frac{V_0 - V_f}{V_0} \cdot 100$$

Độ trơn chảy theo chỉ số Carr được trình bày dưới bảng 2.3.

Bảng 2. 3. Mối tương quan giữa chỉ số Carr và khả năng trơn chảy

STT	Chỉ số Carr – CI (%)	Đặc tính trơn chảy
1	<10	Rất tốt
2	11-15	Tốt
3	16-20	Khá
4	21-25	Trơn chảy được
5	26-31	Kém trơn chảy
6	32-37	Rất kém
7	>38	Rất, rất kém

**Nguồn: Theo Dược điển Châu Âu (2023) [98]*

b. Xác định hàm ẩm

Tiến hành như phép thử xác định mất khối lượng do làm khô, thực hiện trên cân xác định độ ẩm nhanh PRESCISA XM 60.

c. Độ đồng đều khối lượng

Theo chỉ dẫn của ĐĐVN V, phụ lục 11.3.

d. Lực gây vỡ viên

Trên máy đo độ cứng ERWEKA, tiến hành thử 10 viên. Yêu cầu: Lực gây vỡ viên đạt 9-11 kp.

e. Định lượng VER trong mẫu hạt, viên nghiên cứu

VER được định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) [19], [20] như sau:

Chuẩn bị dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg chất chuẩn vào bình định mức 100 mL, hòa tan vừa đủ 100 mL bằng methanol. Lấy chính xác 1,0 mL dung dịch vừa pha vào bình định mức 10 mL, pha loãng vừa đủ 10,0 mL bằng methanol, lọc qua màng lọc đường kính 0,45 μm được dung dịch chuẩn có nồng độ khoảng 20 $\mu\text{g/mL}$.

Chuẩn bị dung dịch thử: Cân chính xác lượng mẫu thử (đã nghiền mịn) tương ứng khoảng 20 mg VER vào bình định mức 100mL, thêm 50 mL methanol, lắc siêu âm 30 phút, để ổn định về nhiệt độ phòng, thêm methanol vừa đủ 100,0 mL, lọc qua giấy lọc, bỏ 20 mL dịch lọc đầu. Lấy 1,0 mL dịch lọc vào bình định mức 10 mL, thêm đến vừa đủ bằng methanol, lắc đều, lọc qua màng lọc đường kính 0,45 μm được dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

- + Pha động: Acetonitril : Đệm KH_2PO_4 0,05M pH 3,6 (44 : 56)
- + Cột SunFire™ RP, C18 (250 x 4,6 mm; 5 μm).
- + Detector 2998 PDA đặt ở bước sóng 278 nm.
- + Tốc độ dòng: 1,0 mL/phút.
- + Thể tích tiêm: 20 μL .

Đối với viên thành phẩm, tỉ lệ hàm lượng VER của viên kiểm tra so với lượng ghi trên nhãn (P) được tính theo công thức sau :

$$P = \frac{S_t \cdot C_s \cdot m_{20}}{20 \cdot S_s \cdot m_t \cdot 120} \cdot 100 \quad (\%)$$

Trong đó: S_t , S_s là diện tích pic VER trên sắc kí đồ dung dịch thử, chuẩn ($\mu\text{V.s}$); C_s là nồng độ thực tế của dung dịch chuẩn tiêm sắc kí ($\mu\text{g/mL}$); m_t là khối lượng bột viên đã cân (g); m_{20} là khối lượng của 20 viên ngẫu nhiên dùng để định lượng (g).

Phương pháp được thẩm định theo hướng dẫn của ICH để đảm bảo độ tin cậy. Các chỉ tiêu thẩm định gồm: Tính thích hợp hệ thống, độ đặc hiệu, đường chuẩn và khoảng tuyến tính, độ đúng, độ lặp lại, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng.

f. Định lượng VER trong môi trường hòa tan bằng phương pháp quang phổ UV-Vis

Xác định bước sóng hấp thụ cực đại: Pha dung dịch VER chuẩn có nồng độ khoảng 40 µg/mL trong môi trường HCl 0,1N. Tiến hành quét phổ trong vùng có bước sóng từ 200-400 nm. Xác định cực đại hấp thụ ($\lambda_{\max}$) của dung dịch VER.

Xây dựng đường chuẩn VER: Pha dãy dung dịch VER chuẩn trong môi trường HCl 0,1N có nồng độ 15 đến 65 µg/ml. Đo độ hấp thụ của các dung dịch này tại $\lambda_{\max}$. Vẽ đồ thị biểu diễn mối tương quan giữa độ hấp thụ và nồng độ dung dịch. Dựa vào độ lệch chuẩn tương đối (RSD %) và hệ số tương quan để đánh giá độ lặp lại và độ tuyến tính của phương pháp.

Thử độ hòa tan: Tiến hành trên máy thử hòa tan Coplay, tham khảo test 3, chuyên luận “Viên nén VER giải phóng kéo dài” của USP 43, điều kiện cụ thể như sau:

- + Kiểu thiết bị: Loại cánh khuấy.
- + Tốc độ quay: 50 vòng/phút.
- + Môi trường hòa tan: 900 mL dung dịch HCl 0,1 N.
- + Nhiệt độ môi trường thử: $37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.
- + Các thời điểm lấy mẫu: 1; 2; 3,5; 5 và 8 giờ.

+ Định lượng dược chất giải phóng ở các thời điểm bằng phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng $\lambda_{\max}$, mẫu trắng là dung dịch HCl 0,1N. Tính tỉ lệ dược chất giải phóng dựa vào đường chuẩn của VER trong môi trường HCl 0,1 N. Khoảng chấp nhận như sau:

Thời điểm (h)	Độ hòa tan (%)
1	8-20
2	15-35
3,5	27-57
5	45-75
8	≥ 80

g. Phương pháp đánh giá khả năng nổi in vitro

Khả năng nổi *in vitro* của viên được đánh giá song song với quá trình thử độ hòa tan. Thời gian trì hoãn nổi (T_{lag}) không quá 180 giây, tổng thời gian nổi (FT) không dưới 12 giờ.

Trong đó, T_{lag} (giây) là khoảng thời gian đo được từ khi viên tiếp xúc với môi trường thử đến khi viên nổi ổn định trên bề mặt môi trường (hay còn gọi là thời gian tiền nổi). FT (giờ) là khoảng thời gian tính từ khi viên nổi ổn định lên trên bề mặt môi trường thử đến khi viên bị hòa tan/rã hết hoặc chìm xuống.

2.2.2.2. Phương pháp nghiên cứu độ ổn định

Nghiên cứu độ ổn định được thực hiện theo hướng dẫn của ICH Q1 với khu vực IVB [99].

** Đối tượng thử*

Các mẫu viên nén nổi verapamil 120 mg GPKD của 3 lô khác nhau (mỗi lô khoảng 10 000 viên) được ép vỉ nhôm – PVC 10 viên, đóng trong hộp carton, mỗi hộp 2 vỉ.

** Điều kiện và thời gian bảo quản:*

Nghiên cứu ở điều kiện thực: Mẫu được bảo quản trong tủ kính, phòng nghiên cứu khoa học, trung tâm thực hành ngành dược, Đại học Đại Nam, thời gian bảo quản 18 tháng.

Nghiên cứu lão hoá cấp tốc: Mẫu bảo quản trong tủ vi khí hậu, nhiệt độ: $40 \pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm: $75 \pm 5\%$. Thời gian bảo quản 6 tháng.

* *Thời gian lấy mẫu:*

Sau khi bảo quản 0, 3, 6, 9, 12 và 18 tháng (đối với điều kiện thực) và 1, 3, 6 tháng (đối với điều kiện lão hoá cấp tốc).

* *Các chỉ tiêu kiểm tra:*

Đánh giá các chỉ tiêu bao gồm hình thức, độ hoà tan, khả năng nổi *in vitro* và hàm lượng theo TCCS.

2.2.3. Phương pháp đánh giá khả năng nổi *in vivo*

Động vật thí nghiệm: Thí nghiệm được thực hiện trên một chó trưởng thành, khỏe mạnh, giống đực, trọng lượng từ 10–12 kg, được nuôi dưỡng với chế độ ăn đầy đủ dinh dưỡng và kiểm soát. Động vật phải được nhịn đói qua đêm (10–12 giờ), nhưng vẫn được uống nước tự do trước khi thí nghiệm.

Chuẩn bị viên thử: Để theo dõi trên X-quang, sử dụng 12 % bari sulfat (tính theo khối lượng viên) làm chất đánh dấu, thay thế cho một phần tỉ lệ được chất trong công thức. Viên thử được bào chế theo các thông số tối ưu đã nghiên cứu [8].

Đưa thuốc vào cơ thể động vật: Dùng dụng cụ đặt viên thuốc vào phần sau của lưỡi chó để tránh việc viên bị vỡ hay nhai. Ngay sau đó, cho chó uống với 100 mL nước để đưa viên xuống dạ dày.

Tiến hành chụp X-quang: Chuẩn bị máy X-quang, cài đặt các thông số kỹ thuật phù hợp. Cố định chó thử nghiệm trên bàn chụp, đảm bảo vùng bụng nằm giữa nguồn phát tia X và bàn cố định. Chụp hình ảnh X-quang tại các thời điểm: Sau khi uống thuốc tại các thời điểm 30 phút, 1, 2, 4, 6 và 8 giờ hoặc cho đến khi viên nén không còn trong dạ dày.

2.2.4. Phương pháp đánh giá sinh khả dụng của viên nõi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài trên chó thực nghiệm

2.2.4.1. Xây dựng và thẩm định phương pháp HPLC để định lượng verapamil trong huyết tương chó

a. Xây dựng phương pháp

Xử lý mẫu huyết tương chó: Hút chính xác 0,5 mL huyết tương cho vào ống ly tâm 2ml. Thêm 50 µl dung dịch diltiazem 1 µg/mL và 0,5 mL acetonitril. Tiến hành lắc xoáy trong vòng 1 phút để tạo hỗn hợp, đồng nhất. Tiếp tục thêm 0,2 g MgSO₄ và 0,05 g NaCl. Lắc xoáy trong vòng 1 phút sau đó ly tâm với tốc độ 16000 ref trong vòng 10 phút. Hút lớp dịch lỏng trên cùng để định lượng bằng LC-MS/MS [80].

Điều kiện sắc ký:

Cột sắc ký Hypersil Gold RP C18 (150 x 2,1 mm; 3µm); nhiệt độ cột 40°C; tốc độ dòng 0,25 ml/phút; Detector MS/MS; nhiệt độ autosampler 15°C. Pha động gồm hỗn hợp Methanol:Acid formic 0,1% (48:52, tt/tt); Thể tích tiêm: 0,4 µl. Các điều kiện này được tối ưu dựa trên nghiên cứu của Borges N.C.C. và cộng sự [84].

Điều kiện khối phổ

Với kiểu khối phổ hai lần MS/MS, chế độ ion hóa ESI(+), chế độ ghi phổ MRM, tiến hành tiêm các dung dịch phân tích sau xử lý (như mô tả phần xử lý mẫu huyết tương chó) vào trong hệ thống sắc ký khối phổ. Xác định các ion mẹ, ion con có cường độ tín hiệu cao và ổn định cho VER và nội chuẩn nhờ phần mềm Optimizer được tích hợp sẵn của thiết bị.

<i>Thông số</i>	<i>Hoạt chất</i>	<i>Verapamil</i>	<i>Diltiazem</i>
<i>Precursor m/z</i>		455,3	415,2
<i>Product m/z</i>		165,1	178,0
<i>Fragmentor (V)</i>		188	152
<i>CAV (V)</i>		5	5
<i>CE (V)</i>		30	26
<i>Polarity</i>		Positive	Positive

<i>Thông số</i> \ <i>Hoạt chất</i>	<i>Verapamil</i>	<i>Diltiazem</i>
<i>Gas Flow (L/min)</i>	13,0	
<i>Nebulizer (psi)</i>	35,0	
<i>Sheath Gas Flow (L/min)</i>	11,0	
<i>Gas Temperature (°C)</i>	300	
<i>Sheath Gas Temperature (°C)</i>	300	
<i>Capillary Voltage (V) Positive Setpoint</i>	5200	
<i>Nozzle Voltage (V) Positive Setpoint</i>	200	

b. Thăm định phương pháp định lượng VER trong huyết tương

Theo hướng dẫn của FDA về thăm định phương pháp phân tích sinh học [100] cần chuẩn bị mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, chuẩn và mẫu kiểm chứng.

* *Chuẩn bị mẫu chuẩn tự tạo:*

Dung dịch nội chuẩn diltiazem hydroclorid gốc: Hòa tan 25 mg DIL chuẩn trong vừa đủ 25,0 mL methanol được dung dịch nồng độ 1.000.000 ng/mL.

Dung dịch chuẩn VER gốc: Hòa tan 25 mg VER chuẩn trong vừa đủ 25,0 mL methanol được dung dịch nồng độ 1.000.000 ng/mL (C0).

Dung dịch nội chuẩn làm việc (WIS): Pha loãng chính xác dung dịch nội chuẩn DIL gốc với nước để được nồng độ 1000 ng/mL.

Dung dịch chuẩn làm việc nồng độ 1 (C1): Pha loãng chính xác dung dịch chuẩn gốc VER bằng nước để được nồng độ VER 1000 ng/mL.

Dung dịch chuẩn làm việc nồng độ 2 (C2): Pha loãng chính xác 10 lần dung dịch chuẩn làm việc nồng độ 1 bằng nước để được nồng độ VER 100 ng/mL.

Từ các dung dịch chuẩn làm việc, pha các mẫu VER trong huyết tương trắng bằng cách phối hợp các dung dịch chuẩn làm việc tương ứng với huyết tương trắng theo bảng 2.4.

Bảng 2. 4. Cách chuẩn bị các mẫu đường chuẩn trong huyết tương

Mẫu	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
Nồng độ VER (ng/ml)	5	10	25	50	150	200	300	500
Thể tích chuẩn C₁ (μL)	0	0	0	0	150	200	300	500
Thể tích chuẩn C₂ (μL)	50	100	250	500	0	0	0	0
Thể tích huyết tương trắng (μL)	950	900	750	500	850	800	700	500

* *Chuẩn bị mẫu kiểm tra (QC):* Chuẩn bị độc lập với mẫu chuẩn

Dung dịch chuẩn VER gốc: Hòa tan 25 mg VER chuẩn trong vừa đủ 25,0 mL methanol được dung dịch nồng độ 1.000.000 ng/mL (C₀).

Chuẩn làm việc nồng độ 1 (C₁): Pha loãng chính xác dung dịch chuẩn gốc VER bằng nước để được nồng độ VER 1000 ng/ml.

Chuẩn làm việc nồng độ 2 (C₂): Pha loãng chính xác 10 lần dung dịch chuẩn làm việc nồng độ 1 bằng nước để được nồng độ VER 100 ng/ml.

Từ các dung dịch chuẩn làm việc, pha với huyết tương để tạo thành các mẫu QC chứa VER chuẩn: LQC = 3 LOQ; MQC = 50 – 80% C_{max}; HQC = 60 – 80% ULOQ theo bảng 2.5.

Bảng 2. 5. Cách chuẩn bị các mẫu kiểm tra trong huyết tương trắng

Mẫu	LQC	MQC	HQC
Nồng độ VER (ng/ml)	15	175	375
Thể tích chuẩn C₁ (μL)	0	175	375
Thể tích chuẩn C₂ (μL)	150	0	0
Thể tích huyết tương trắng (μL)	850	825	625

Mẫu đường chuẩn và mẫu QC được chuẩn bị từ các dung dịch chuẩn làm việc độc lập.

Các chỉ tiêu cần phải thẩm định theo hướng dẫn của FDA [100] và được điển Việt Nam V [19] gồm:

- Tính tương thích của hệ thống:

Tiến hành tiêm lặp lại 6 lần cùng một dung dịch chuẩn VER vào hệ thống sắc ký theo chương trình đã chọn. Độ tương thích của hệ thống HPLC được biểu thị qua độ lệch chuẩn tương đối, RSD (%) của thời gian lưu t_R , diện tích pic.

- Độ đặc hiệu - chọn lọc của phương pháp:

Chuẩn bị các mẫu gồm: 6 mẫu huyết tương trắng, 6 mẫu huyết tương có VER ở nồng độ LLOQ. Tiến hành xử lý mẫu và chạy sắc ký với các điều kiện đã lựa chọn. Ghi lại các sắc ký đồ và diện tích pic tại các vị trí ứng với thời gian lưu của được chất. Quy trình phân tích phải đảm bảo có khả năng nhận diện, phân biệt được VER và không bị ảnh hưởng bởi các tạp chất có trong mẫu. Diện tích của mẫu trắng tại thời điểm trùng với thời gian lưu so với mẫu LLOQ không quá 20 % với VER và không quá 5 % với DIL.

- Đường chuẩn và khoảng tuyến tính:

Pha dãy dung dịch chuẩn VER trong huyết tương trắng có nồng độ trong khoảng từ 5 - 500 ng/ml. Tiến hành xử lý mẫu theo quy trình xây dựng rồi chạy sắc ký theo điều kiện đã chọn. Từ diện tích pic của VER và DIL thu được tại các nồng độ tương ứng, xây dựng phương trình hồi quy tuyến tính giữa tỉ lệ diện tích pic của VER/DIL và nồng độ được chất trong mẫu. Đường chuẩn phải có hệ số tương quan $R^2 \geq 0,99$ và các mẫu có độ đúng nằm trong khoảng từ 85% đến 115%.

- Xác định giới hạn định lượng dưới (LLOQ):

Tiến hành xử lý mẫu theo quy trình xây dựng rồi phân tích sắc ký theo điều kiện đã chọn các mẫu huyết tương trắng và mẫu chuẩn VER trong huyết tương trắng có nồng độ khoảng 5 ng/mL với 6 mẫu độc lập. Ghi lại diện tích pic của mẫu trắng và mẫu chuẩn. Xác định độ đúng của phương pháp bằng cách so sánh giá trị định lượng được (tính từ đường chuẩn) với giá trị thực pha được có trong mẫu. Nồng độ được coi là giới hạn định lượng dưới của phương pháp

nếu trên sắc ký đồ mẫu chuẩn ở nồng độ đó cho pic VER tách biệt với các pic tạp, có độ đúng từ 80 – 120%; độ chính xác $\leq 20\%$ và diện tích pic VER ≥ 5 lần diện tích của mẫu trắng.

- *Độ đúng và độ chính xác trong ngày và khác ngày:*

Tiến hành xử lý mẫu rồi chạy sắc ký theo điều kiện đã chọn các lô mẫu QC bao gồm LQC, MQC và HQC, mỗi lô mẫu gồm ít nhất 5 mẫu độc lập có cùng nồng độ. Ghi lại kết quả diện tích pic thu được. Xác định độ đúng trong ngày bằng cách tính tỉ lệ % tìm lại (tính theo đường chuẩn) so với giá trị thực pha được của các mẫu trong cùng 1 ngày. Độ đúng của phương pháp tại mỗi nồng độ phải nằm trong khoảng từ 85% đến 115%. Độ chính xác trong ngày thể hiện qua hệ số biến thiên, CV (%) giữa giá trị các lần định lượng của mỗi nồng độ được phân tích trong cùng một ngày. Yêu cầu giá trị CV phải $\leq 15\%$. Độ đúng và độ chính xác khác ngày: Tiến hành tương tự như xác định độ đúng và độ chính xác trong ngày. Tính giá trị tỉ lệ tìm thấy và CV của kết quả định lượng cho mỗi nồng độ trong ít nhất 3 ngày phân tích khác nhau. Giá trị CV phải $\leq 15\%$, độ đúng nằm trong khoảng 85 – 115%.

- *Hiệu suất chiết:*

Tiến hành trên các mẫu LQC, MQC, HQC và mẫu spike (tự tạo, không xử lý) có nồng độ tương ứng pha trong huyết tương trắng đã xử lý (mỗi nồng độ 6 mẫu). Xử lý các mẫu QC theo phương pháp đã xây dựng. Tiến hành sắc ký theo điều kiện đã chọn, xác định diện tích pic VER có trong các mẫu QC và mẫu spike. Xác định tỉ lệ thu hồi bằng cách so sánh kết quả lượng VER của mẫu thử có qua chiết tách – với mẫu spike. Tỉ lệ thu hồi (H%) VER được xác định bằng công thức:

$$H(\%) = \frac{S_T \times n}{S_C} \times 100\%$$

Trong đó: - S_T : Diện tích pic của VER có trong mẫu đã qua chiết tách.

- Sc: Diện tích pic VER của mẫu spike.
- n: Hệ số pha loãng của mẫu xử lý qua chiết tách.

Kỹ thuật chiết tách, xử lý mẫu là thích hợp khi tỉ lệ thu hồi không quá 110% và không thấp hơn 30%; hiệu suất chiết không khác nhau quá 15%. Giá trị CV giữa các đáp ứng của VER trong các mẫu QC có qua chiết tách ở mỗi nồng độ không lớn hơn 15%. Giá trị CV giữa các đáp ứng của VER trong các mẫu QC không qua chiết tách ở mỗi nồng độ không lớn hơn 10%.

- Độ ổn định:

Xác định độ ổn định của VER trong huyết tương sau ba chu kỳ đông – rã đông; trong quá trình xử lý mẫu và trong quá trình bảo quản dài ngày và sau xử lý mẫu trên các mẫu LQC và HQC. Ở mỗi nồng độ, tiến hành xử lý tối thiểu 5 mẫu. Tính nồng độ của các mẫu dựa vào đường chuẩn.

Độ ổn định sau ba chu kỳ đông – rã đông: Khảo sát độ ổn định sau ba chu kỳ đông - rã thực hiện trên 2 nồng độ LQC và HQC. Bảo quản mẫu ở nhiệt độ -40°C và để rã đông ở nhiệt độ phòng. Sau khi đã tan chảy hoàn toàn, để mẫu trở lại đông lạnh trong 12 – 24 giờ. Sau 3 chu kỳ đông – rã, tiến hành phân tích xác định nồng độ VER có trong mẫu. So sánh với kết quả xác định nồng độ VER có trong các mẫu tiến hành phân tích ngay sau khi pha (nồng độ ban đầu). Kết quả xác định nồng độ VER có trong mẫu sau 3 chu kỳ đông – rã đông phải tương đương với lượng VER có trong mẫu phân tích ngay sau khi để rã đông.

Độ ổn định ở nhiệt độ phòng trong thời gian ngắn: So sánh lượng VER có trong mẫu được chiết tách ngay sau khi rã đông và mẫu có nồng độ tương ứng chỉ được chiết tách sau khi đã rã đông và để ở nhiệt độ phòng 6 giờ.

Độ ổn định dài ngày: Bảo quản mẫu trong điều kiện -40°C . Phân tích xác định nồng độ VER trong các mẫu sau từng khoảng thời gian, ban đầu và sau 14 đến 29 ngày. So sánh kết quả định lượng của các mẫu tại từng thời điểm trong quá trình theo dõi với giá trị định lượng ban đầu.

Yêu cầu: Độ ổn định của VER trong các mẫu bảo quản nằm trong giới hạn cho phép 85 %-115%. Các giá trị CV tại mỗi nồng độ đều không quá 5%.

- *Độ nhiễm chéo:*

Chuẩn bị 6 mẫu huyết tương trắng và 6 mẫu huyết tương có nồng độ LLOQ và 1 mẫu ULOQ. Tiến hành xử lý mẫu theo quy trình và phân tích xen kẽ nhau 6 lần giữa mẫu trắng và LLOQ sau khi phân tích mẫu ULOQ. Tại thời gian lưu của VER, tín hiệu ghi của mẫu trắng so với LLOQ không được quá 20%. Tại thời gian lưu của DIL, tín hiệu ghi của mẫu trắng so với LLOQ không vượt 5%.

2.2.4.2. Nghiên cứu sinh khả dụng trên chó

a. Thiết kế nghiên cứu - bố trí thí nghiệm

Tiến hành nghiên cứu theo thiết kế chéo đôi, ngẫu nhiên, đơn liều, hai giai đoạn của FDA để đánh giá SKD và TĐSH. Thực hiện trên 6 cá thể chó đực, khỏe mạnh được chia ngẫu nhiên thành 2 nhóm, mỗi nhóm 3 con. Bố trí thí nghiệm theo phương pháp chéo đôi, ngẫu nhiên, đơn liều, 2 giai đoạn, bố trí 2 đợt cách nhau 14 ngày [19]. Thiết kế giai đoạn thử được thể hiện ở bảng 2.6.

Bảng 2. 6. Bố trí thử theo phương pháp chéo đôi

Động vật thí nghiệm	Giai đoạn 1	Giai đoạn 2
Nhóm 1	Thuốc thử T	Thuốc đối chứng R
Nhóm 2	Thuốc đối chứng R	Thuốc thử T

Chọn cá thể chó đực khỏe mạnh, cân nặng 10 - 12 kg/con, được theo dõi trước khi tiến hành thí nghiệm 1 tuần. Bữa tối trước ngày dùng thuốc, cho chó ăn nhẹ trước 10 giờ đêm. Ngày dùng thuốc, không cho chó ăn sáng, cho chó uống 1 viên thuốc còn nguyên vẹn với 50 mL nước (trong tình trạng không gây mê) và cho chó ăn vào thời điểm 8 giờ kể từ sau khi uống thuốc.

b. Lấy và bảo quản mẫu huyết tương

Mẫu máu được thu thập tại các thời điểm: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 16 và 24 giờ sau khi dùng thuốc. Tại mỗi thời điểm, lấy khoảng 3 ml máu

từ tĩnh mạch chi sau và cho vào các ống đựng máu chứa sẵn chất chống đông heparin (BD Vacutainer® Heparin), lắc nhẹ 8-10 lần. Ly tâm ở tốc độ 5000 vòng/phút trong 10 phút ở nhiệt độ phòng (22-24°C) để thu huyết tương. Huyết tương thu được được bảo quản ở -40°C cho đến khi phân tích bằng phương pháp LC-MS/MS.

c. Xác định các thông số dược động học và đánh giá kết quả

Định lượng VER trong các mẫu huyết tương chó sau khi uống thuốc bằng phương pháp phân tích đã được thẩm định. Phân tích mẫu được bắt đầu ngay sau khi lấy đủ các mẫu. Quá trình phân tích tuân thủ theo hướng dẫn về phân tích mẫu trong dịch sinh học của FDA và dược điển Việt Nam V. Từ nồng độ thuốc đã định lượng được trong các mẫu huyết tương, vẽ đường cong nồng độ thuốc – thời gian của từng cá thể. Xác định các thông số dược động học (C_{max} , T_{max} , AUC) của thuốc thử và thuốc chứng bằng phần mềm Phoenix 8.3.4.

So sánh sinh khả dụng, C_{max} , T_{max} , AUC được so sánh giá trị trung bình bằng t-test và xác định khoảng tin cậy 90 % CI. T_{max} được so sánh theo phương pháp thống kê phi tham số (Wincoxon signed rank test). Các phân tích thống kê thực hiện trên phần mềm SPSS 20. Hai chế phẩm được coi là tương đương sinh khả dụng nếu CI của C_{max} và AUC nằm trong khoảng (0,8 - 1,25) và T_{max} khác nhau không có ý nghĩa thống kê [19].

2.2.5. Công cụ tính toán số liệu, thiết kế thí nghiệm và tối ưu hoá

Bố trí thí nghiệm: Theo mô hình CCF sử dụng phần mềm Modde Pro 13.1.

Tối ưu hoá: Bằng phần mềm Inform 3.1.

Tính toán các thông số dược động học: Bằng phần mềm Phoenix 8.3.4.

Các số liệu thống kê: Bằng phần mềm microsoft excel hoặc SPSS 20.

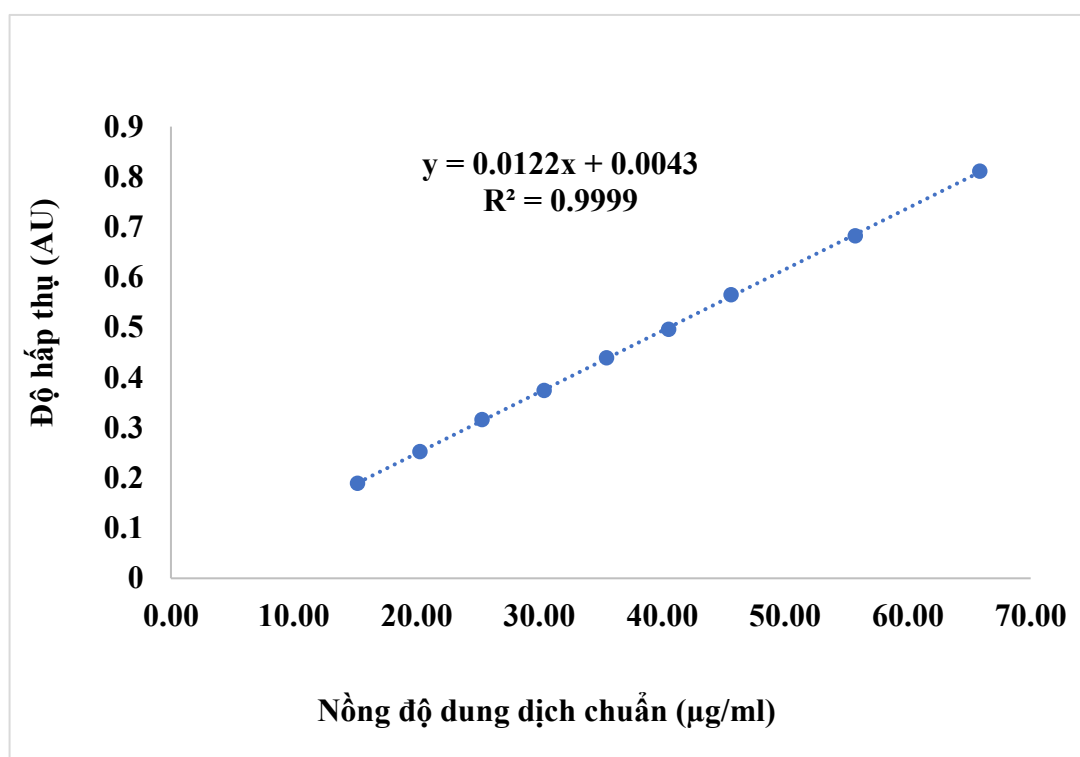
Các kết quả được xử lý và biểu thị trong luận án dưới dạng: Giá trị trung bình (TB), độ lệch chuẩn (SD) và độ lệch chuẩn tương đối (RSD, %).

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. KẾT QUẢ XÂY DỰNG CÔNG THỨC VÀ QUY TRÌNH BÀO CHẾ

3.1.1. Phương pháp định lượng verapamil

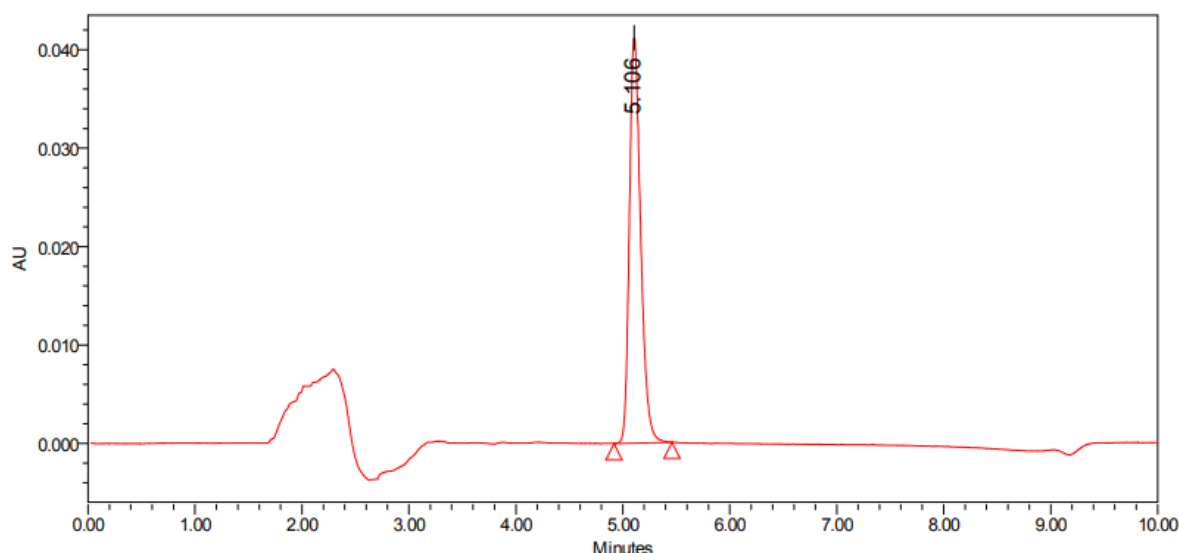
Quang phổ UV-Vis được sử dụng để định lượng VER trong môi trường hòa tan. Dây dung dịch chuẩn VER trong HCl 0,1N có nồng độ 15 – 65 µg/mL được đo độ hấp thụ tại bước sóng 278 nm. Đồ thị tương quan giữa độ hấp thụ và nồng độ VER được thể hiện trong hình 3.1.



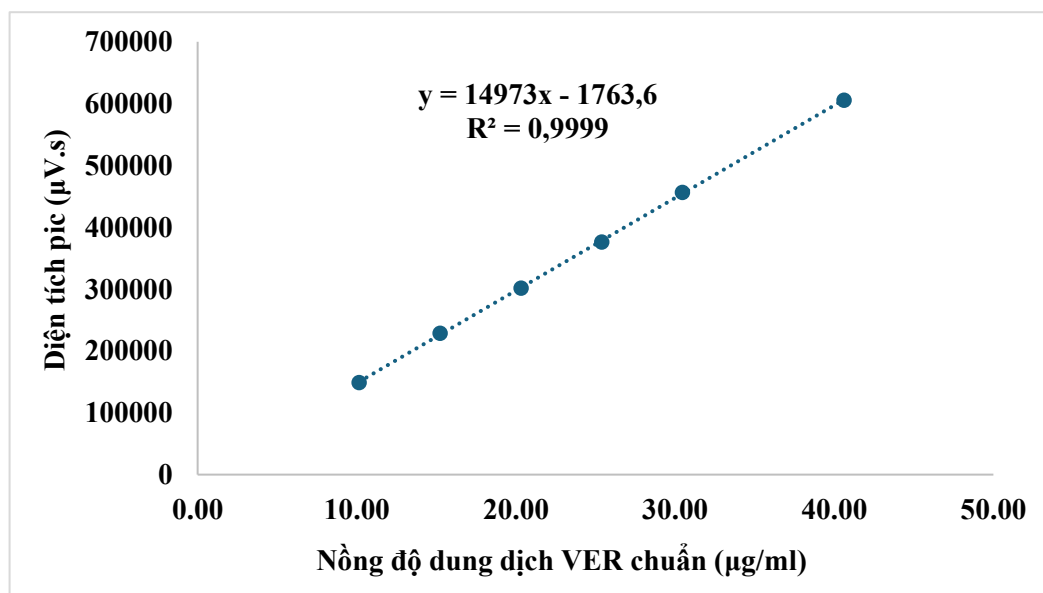
Hình 3. 1. Đường chuẩn của VER trong HCl 0,1N

Kết quả hình 3.1 cho thấy: Trong khoảng nồng độ khảo sát từ 15-65 µg/mL, đường chuẩn của VER tuyến tính theo hàm bậc một, có phương trình hồi quy $y=0,0122.x+0,0043$ với hệ số $R^2=0,9999$. Như vậy, có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa độ hấp thụ và nồng độ dung dịch trong khoảng khảo sát. Do đó, có thể sử dụng phương pháp quang phổ hấp thụ UV đo tại bước sóng 278 nm để định lượng VER giải phóng trong quá trình thử độ hoà tan của viên thành phẩm.

Phương pháp HPLC được sử dụng để định lượng VER trong các mẫu bột hoặc viên thành phẩm. Hình ảnh sắc ký đồ dung dịch chuẩn VER được thể hiện trong hình 3.2. Kết quả khảo sát sự phụ thuộc tuyến tính giữa nồng độ với diện tích pic của VER trong khoảng 50 - 200% nồng độ làm việc (từ 10 µg/mL đến 40 µg/ml) và xây dựng đường chuẩn được thể hiện trong hình 3.3.



Hình 3. 2. Sắc ký đồ dung dịch chuẩn VER



Hình 3. 3. Sự phụ thuộc của diện tích pic theo nồng độ VER

Kết quả hình 3.2 và 3.3 cho thấy: Trên sắc ký đồ, VER có thời gian lưu khoảng 5,1 phút, thời gian phân tích là 10 phút. Trong khoảng nồng độ khảo

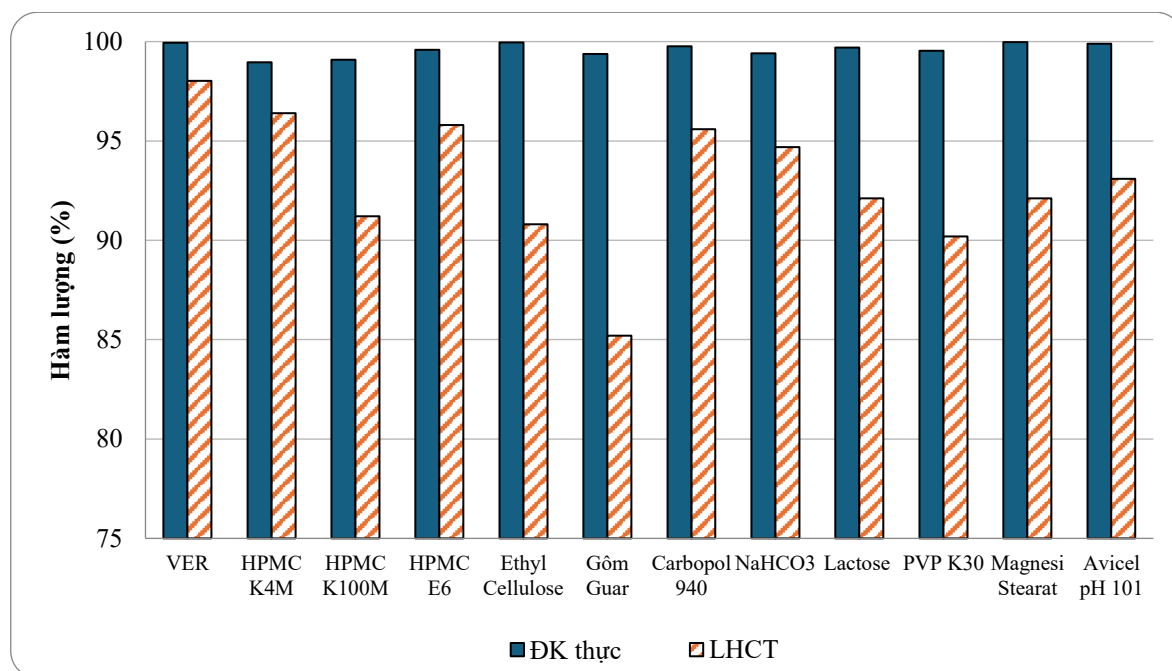
sát, diện tích pic thu được trên sắc ký đồ tỉ lệ thuận với nồng độ VER, sự phụ thuộc thể hiện qua phương trình hồi quy tuyến tính bậc 1 $y = 14973x - 1763,6$ và hệ số $R^2 = 0,9999$. Như vậy, phương pháp HPLC có thể sử dụng để định lượng với khoảng nồng độ làm việc từ 10 $\mu\text{g/mL}$ đến 40 $\mu\text{g/mL}$. Phương pháp định lượng HPLC cũng được thẩm định đầy đủ theo hướng dẫn của ICH, dữ liệu chi tiết thể hiện trong **phụ lục 1** cho thấy phương pháp đảm tin cậy và đáp ứng các yêu cầu của ICH để đánh giá chất lượng trong quá trình nghiên cứu bào chế.

3.1.2. Kết quả nghiên cứu tương tác dược chất – tá dược

* *Cảm quan*

Kết quả theo dõi sự thay đổi cảm quan của dược chất và tá dược sau thời gian bảo quản cho thấy không có sự thay đổi màu sắc và các tính chất cảm quan của hỗn hợp sau một tháng bảo quản, ở điều kiện thực và lão hóa cấp tốc.

* *Hàm lượng*



Hình 3. 4. Sự suy giảm hàm lượng VER trong các mẫu khảo sát sau một tháng bảo quản ở điều kiện thực và lão hóa cấp tốc

Hình 3.4. cho thấy hàm lượng dược chất trong hỗn hợp với các tá dược thay đổi không đáng kể, đều đạt trên 99% ở các mẫu khảo sát khi bảo quản ở điều kiện thực. Ở điều kiện lão hóa cấp tốc, hàm lượng dược chất còn lại trong đa số các mẫu đều đạt trên 90% sau 1 tháng bảo quản, trừ mẫu chứa hỗn hợp dược chất và **gôm Guar** xuống còn 85,52 %.

*Quét nhiệt vi sai và phổ IR

Kết quả đánh giá tương tác dược chất- tá dược bằng phương pháp nhiệt vi sai và theo dõi phổ IR của hỗn hợp VER và các nhóm tá dược được thể hiện trong **phụ lục 2**. Giảm độ nhiệt vi sai của dược chất ghi nhận đỉnh hấp thụ nhiệt của VER ở 163°C, hỗn hợp VER và tá dược cho thấy đỉnh hấp thụ nhiệt của dược chất trong hỗn hợp với HPMC, lactose, Avicel và PVP K30 không quan sát thấy các dịch chuyển lớn ($\Delta T < 5^\circ\text{C}$). Trên giản đồ nhiệt của hỗn hợp VER và tá dược, ghi nhận 2 dịch chuyển đỉnh lớn của hấp thụ nhiệt đối với **natri hydrocarbonat** và **magnesi stearat**. Sự dịch chuyển tăng của đỉnh hấp thụ nhiệt trong hỗn hợp VER và natri hydrocarbonat (lên 182°C) là do sự phân hủy nhiệt của tá dược này thành natri carbonat và acid carbonic gây hấp thụ nhiệt. Sự dịch chuyển giảm của đỉnh hấp thụ nhiệt (xuống 155°C) ở giản đồ nhiệt hỗn hợp với magnesi stearat cho thấy có tương tác vật lý, tạo eutecti giữa tá dược tron magnesi stearat với dược chất. Đồng thời, cả 2 tương tác này không gây phân hủy dược chất, nên có thể sử dụng chúng trong nghiên cứu khảo sát công thức bào chế. Kết quả phổ IR cho thấy các tần số hấp thụ đặc trưng của các liên kết đặc trưng cho dược chất và tá dược không có sự thay đổi ở tất cả các mẫu khảo sát trước và sau 1 tháng bảo quản (với $\Delta\nu < 4$).

Các kết quả nghiên cứu tiên công thức bước đầu chứng minh tính tương thích giữa dược chất – tá dược. Trường hợp **gôm Guar** không được sử dụng để khảo sát công thức do làm tụt giảm rõ rệt hàm lượng VER ở điều kiện lão hóa cấp tốc (giảm quá 10 %).

3.1.3. Kết quả xây dựng công thức bào chế cơ bản

Công thức có hàm lượng 120 mg, tá dược độn là lactose khan vừa đủ khối lượng viên 400 mg, tá dược trơn là magnesi stearat 8 mg, dung dịch PVP K30 10% trong ethanol 96 % vừa đủ ảm làm tá dược dính. Tiến hành khảo sát để lựa chọn tá dược ĐKGP, tá dược sinh khí, tá dược độn và lực gây vỡ viên (LGVV). Tiêu chí lựa chọn dựa trên tính chất kiểm soát giải phóng dược chất và khả năng nổi của viên.

3.1.3.1. Khảo sát lựa chọn tá dược điều khiển giải phóng

Để lựa chọn tá dược ĐKGP, tiến hành bào chế 5 công thức (100 viên), với tá dược ĐKGP khác nhau gồm HPMC (K100M, K4M, E6), EC, Carbopol®940P với tỉ lệ 110 mg/viên, tá dược sinh khí là 40 mg natri hydrocarbonat, các thành phần khác theo công thức và tá dược độn vừa đủ 400 mg. Kết quả thử hòa tan theo phương pháp ở mục 2.2.2. được thể hiện ở bảng 3.1.

Bảng 3. 1. Tỉ lệ (%) VER giải phóng từ các công thức khảo sát lựa chọn tá dược ĐKGP (n=6, TB±SD)

Công thức	Tỉ lệ (%) VER giải phóng theo thời gian (giờ)					Chỉ số Carr (%)	T _{lag} (giây); FT(giờ)
	1	2	3,5	5	8		
F1 (HPMC K100M)	14,24 ±0,64	21,63 ±1,30	30,30 ±1,68	37,70 ±1,82	48,91 ±1,97	6,86 ± 0,77	240 ±16; >12 giờ
F2 (HPMC K4M)	17,74 ±1,05	18,16 ±0,93	27,52 ±0,85	37,63 ±0,77	53,65 ±0,85	12,13 ± 0,79	240 ±11; >12 giờ
F3 (HPMC E6)	99,97 ±0,22	-	-	-	-	14,92 ± 0,56	Không nổi
F4 (Carbopol)	99,96 ±0,24	-	-	-	-	14,85 ± 1,19	40 ±7; rã hết trong 1giờ

Công thức	Tỉ lệ (%) VER giải phóng theo thời gian (giờ)					Chỉ số Carr (%)	T _{lag} (giây); FT(giờ)
	1	2	3,5	5	8		
F5 (EC)	16,78 ±0,71	25,12 ±0,95	32,04 ±1,01	38,79 ±1,21	48,95 ±1,04	3,94 ± 0,83	1200 ±46; >12 giờ

Nhận xét: Các công thức từ F3 và F4, viên rã và bùng nổ giải phóng trong 1 giờ đầu. Các công thức F1, F2, F5 kiểm soát giải phóng tốt. Tuy nhiên, T_{lag} của F5 rất lớn (1200 giây). Trong đó, F2 sử dụng HPMC K4M có tính chất giải phóng sát với giới hạn của USP hơn. Vì vậy, lựa chọn HPMC K4M (F2) làm tá dược ĐKGP chính cho viên nổi VER GPKD. Tiếp tục khảo sát các tỉ lệ của HPMC K4M.

3.1.3.2. Khảo sát tỉ lệ tá dược điều khiển giải phóng

Thay đổi tỉ lệ HPMC K4M sử dụng trong công thức bằng cách bào chế 5 công thức với lượng sử dụng 40, 70, 110, 140 và 170 mg HPLC K4M (tương ứng công thức F6, 7, 2, 8, và 9. Kết quả thử độ hòa tan viên thành phẩm được thể hiện ở bảng 3.2.

Bảng 3. 2. Tỉ lệ (%) VER giải phóng từ các công thức khảo sát tỉ lệ tá dược ĐKGP (n=6, TB±SD)

Công thức	Tỉ lệ (%) VER giải phóng theo thời gian (giờ)					Chỉ số Carr (%)	T _{lag} (giây); FT(giờ)
	1	2	3,5	5	8		
F6	20,07 ±0,54	21,87 ±0,68	31,74 ±1,09	42,42 ±1,05	64,43 ±2,46	13,11±0,11	125 ±2; >12 giờ
F7	17,64 ±0,85	23,37 ±0,64	34,48 ±0,79	42,16 ±1,16	56,65 ±1,68	11,6±0,10	200 ±13; >12 giờ
F2	17,64 ±1,04	18,13 ±0,88	27,36 ±0,84	37,62 ±0,81	53,34 ±0,91	12,13±0,79	240 ±5; >12 giờ
F8	12,73 ±1,03	24,48 ±0,62	31,62 ±0,82	37,50 ±0,96	49,30 ±1,34	11,61±0,44	285 ±3; >12 giờ

Công thức	Tỉ lệ (%) VER giải phóng theo thời gian (giờ)					Chỉ số Carr (%)	T _{lag} (giây); FT(giờ)
	1	2	3,5	5	8		
F9	10,39 ±0,49	20,48 ±0,50	27,09 ±0,93	32,75 ±0,73	43,66 ±1,45	13,30±0,65	295 ±9; >12 giờ

Nhận xét: Khi tỉ lệ HPMC K4M tăng lên viên kiểm soát giải phóng tốt hơn. Viên F6 (40 mg HPMC K4M) giải phóng được 20,07 % ở 1 giờ và 64,43 % ở 8 giờ. Viên F9 (170 mg HPMC K4M) giải phóng 10,39 % ở 1 giờ và 43,66 % ở 8 giờ. Tuy nhiên, khi tỉ lệ HPMC tăng thì thời gian trì hoãn nổi của viên cũng tăng theo tỉ lệ polymer. Để cân bằng giữa 2 thông số này, các nghiên cứu tiếp theo cố định tỉ lệ tá dược ĐKGP ở mức 110 mg (F2) và khảo sát phối hợp tá dược ĐKGP.

3.1.3.3. Khảo sát phối hợp tá dược điều khiển giải phóng

Để chủ động điều chỉnh khả năng kiểm soát giải phóng, tiến hành phối hợp sử dụng một tá dược ĐKGP có độ nhớt thấp hơn vào công thức (HPMC E6). Tiến hành bào chế 3 công thức với lượng HPMC K4M 90, 70 và 50 mg. Lượng HPMC E6 được thêm vào lần lượt 20, 40 và 60 mg; tương ứng với các công thức F10, F11, F12. Kết quả thử độ hòa tan được thể hiện ở bảng 3.3.

Bảng 3. 3. Tỉ lệ (%) VER giải phóng từ các công thức khảo sát phối hợp tá dược ĐKGP (n=6, TB±SD)

Công thức	Tỉ lệ (%) VER giải phóng theo thời gian (giờ)					Chỉ số Carr (%)	T _{lag} (giây); FT(giờ)
	1	2	3,5	5	8		
F10	10,97 ±0,37	17,05 ±0,48	28,87 ±0,83	41,22 ±0,86	62,60 ±1,08	10,35±0,09	45 ±2; >12 giờ
F11	15,90 ±0,38	23,19 ±0,48	37,48 ±0,92	52,77 ±0,72	89,76 ±1,23	13,30±0,65	35 ±3; >12 giờ
F12	88,95 ±1,77	91,76 ±1,48	95,09 ±0,89	98,55 ±1,01	99,40 ±0,93	11,83±1,39	20 ±4; rã hết trong 1 giờ

Kết quả bảng 3.3 cho thấy: Cùng lượng 110 mg tá dược ĐKGP, viên kết hợp HPMC K4M và HPMC E6 kiểm soát giải phóng tốt hơn với chỉ dùng

HPMC K4M (F2) trong 1 giờ đầu và giải phóng nhiều hơn sau 8 giờ. Lượng HPMC E6 tăng lên tỉ lệ nghịch với khả năng kiểm soát giải phóng dược chất. Tỉ lệ 70:40 phù hợp nhất (F11) với yêu cầu của USP, đồng thời F11 cũng chịu nén tốt nhất. Vì vậy, tỉ lệ này được lựa chọn để tiếp tục khảo sát cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.1.3.4. Khảo sát tá dược sinh khí

Giữ nguyên tá dược ĐKGP như kết quả khảo sát. Tiến hành bào chế 4 công thức với tỉ lệ natri hydrocarbonat thay đổi từ 20, 40, 60, 80 mg; tương ứng với các công thức F13, F11, F14 và F15. Kết quả theo dõi độ hòa tan được thể hiện ở bảng 3.4.

Bảng 3. 4. Tỉ lệ (%) VER giải phóng từ các công thức khảo sát tá dược sinh khí (n=6, TB $\pm$ SD)

Công thức	Tỉ lệ (%) VER giải phóng theo thời gian (giờ)					Chỉ số Carr (%)	T _{lag} (giây); FT(giờ)
	1	2	3,5	5	8		
F13	14,56 $\pm 0,37$	26,52 $\pm 0,41$	40,03 $\pm 0,89$	49,97 $\pm 0,75$	89,93 $\pm 1,61$	8,26 $\pm$ 0,88	Viên không nổi
F11	15,91 $\pm 0,36$	23,19 $\pm 0,59$	37,48 $\pm 0,73$	52,77 $\pm 0,80$	89,76 $\pm 1,91$	13,30 $\pm$ 0,65	35 $\pm$ 2; >12 giờ
F14	16,63 $\pm 0,44$	19,13 $\pm 0,45$	30,11 $\pm 0,82$	41,43 $\pm 0,63$	81,64 $\pm 2,81$	10,56 $\pm$ 0,34	26 $\pm$ 3; >12 giờ
F15	83,32 $\pm 1,50$	88,87 $\pm 2,37$	92,09 $\pm 3,18$	95,58 $\pm 2,57$	97,09 $\pm 2,07$	5,31 $\pm$ 0,61	27 $\pm$ 2; rã hết trong 1 giờ

Khi tăng tá dược sinh khí thì giảm khả năng kiểm soát giải phóng của viên, tỉ lệ giải phóng tại các thời điểm đều tăng lên. Công thức F13 không đủ khí để nổi còn F15 thì rã trong vòng 1 giờ đầu. Cả công thức F11 và F14 với tỉ lệ tá dược natri hydrocarbonat là 40 và 60 mg đều kiểm soát giải phóng và tạo khả năng nổi tốt. Tuy nhiên, F11 giải phóng dược chất ổn định hơn ở những thời điểm sớm, tăng từ 15,91 lên 23,19% sau 1 giờ. Trong khi, F14 lại giải phóng chậm, tỉ lệ giải phóng tăng từ 16,63 lên 19,13 % trong giờ đầu. Điều này

có thể dẫn đến rủi ro không đạt nồng độ điều trị tại các thời điểm sớm. Vì vậy, lượng natri hydrocarbonat được chọn là 40 mg (**F11**) để tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của tá dược độn lên khả năng giải phóng.

3.1.3.5. Khảo sát tá dược độn

Tá dược độn ảnh hưởng đáng kể đến tính chất kiểm soát giải phóng và khả năng nổi của viên. 5 công thức bào chế với các tỉ lệ tá dược độn phối hợp được Avicel và lactose được khảo sát. Tỉ lệ 2 tá dược độn được trình bày trong bảng 3.5.

Bảng 3. 5. Các công thức khảo sát tá dược độn

Công thức	F11	F16	F17	F18	F19
Avicel PH 101 (mg)	122	100	50	22	0
Lactose (mg)	0	22	72	100	122

Tiến hành bào chế các công thức theo bảng 3.5 theo phương pháp ở mục 2.2.1, mỗi công thức làm mẻ 100 viên, các tá dược khác được giữ nguyên như thí nghiệm trước. Trong quá trình bào chế nhận thấy, kết hợp lactose và Avicel PH 101 giúp quá trình dập dễ dàng hơn, viên đảm bảo khối lượng và chịu nén tốt. Tiếp tục tiến hành thử hòa tan theo phương pháp ở mục 2.2.2. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.6.

Bảng 3. 6. Tỉ lệ (%) VER giải phóng từ các công thức khảo sát tá dược độn ($n=6$, $TB \pm SD$)

Công thức	Tỉ lệ (%) VER giải phóng theo thời gian (giờ)					Chỉ số Carr (%)	T_{lag} (giây); FT(giờ)
	1	2	3,5	5	8		
F11	15,91 $\pm 0,36$	23,19 $\pm 0,59$	37,48 $\pm 0,73$	52,77 $\pm 0,80$	89,76 $\pm 1,91$	13,11 $\pm 0,11$	35 ± 2 ; >12 giờ
F16	15,65 $\pm 1,27$	19,75 $\pm 1,56$	29,65 $\pm 1,86$	39,77 $\pm 1,11$	62,71 $\pm 1,58$	11,65 $\pm 0,10$	26 ± 2 ; >12 giờ
F17	27,13 $\pm 0,57$	30,78 $\pm 0,55$	39,05 $\pm 0,70$	47,98 $\pm 1,22$	71,15 $\pm 1,49$	9,80 $\pm 0,43$	25 ± 3 ; >12 giờ

Công thức	Tỉ lệ (%) VER giải phóng theo thời gian (giờ)					Chỉ số Carr (%)	T _{lag} (giờ); FT(giờ)
	1	2	3,5	5	8		
F18	61,41 ±1,46	73,89 ±1,23	81,84 ±1,83	87,97 ±1,87	95,29 ±2,06	10,12±0,43	12±2; >12 giờ
F19	97,81 ±1,54	98,81 ±1,25	99,41 ±1,11	99,96 ±0,28	100,01 ±0,78	12,31±0,34	5±1; >12 giờ

Các viên kết hợp hai tá được chọn là Avicel PH 101 và lactose đều nổi ổn định trên 12 giờ, có T_{lag} nhỏ, càng tăng lactose, T_{lag} càng giảm. Tuy nhiên, nếu chỉ sử dụng lactose hoặc lactose ở tỉ lệ quá cao thì viên bị rã quá nhanh, (trong 1 giờ đầu tiên, F18 giải phóng 61,41% và F19 giải phóng 97,81%). Do đó, chọn tỉ lệ kết hợp Avicel PH 101: lactose là 50:72 tương ứng với **F17**. Tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của lực gây vỡ viên lên khả năng giải phóng dược chất.

3.1.3.6. Khảo sát lực gây vỡ viên

Thành phần công thức được cố định theo kết quả khảo sát. Tiến hành bào chế 4 công thức F20, 21, 17, 22 tương ứng với LGVV 6, 8, 10, 12 kp. Kết quả cho thấy, ở công thức 6 kp, viên khá bờ, bề mặt viên nhám. Khi tăng lực lên 12 kp, bề mặt viên nhẵn bóng, viên cứng và một vài viên có hiện tượng bong mặt. Tại lực nén 10 kp, viên nhẵn, thành cạnh nguyên vẹn. Kết quả thử độ hòa tan được thể hiện ở bảng 3.7.

Bảng 3. 7. Tỉ lệ (%) VER giải phóng từ các công thức khảo sát LGVV (n=6, TB±SD)

Công thức	Tỉ lệ (%) VER giải phóng theo thời gian (giờ)					Chỉ số Carr (%)	T _{lag} (giờ); FT(giờ)
	1	2	3,5	5	8		
F20	47,08 ±0,71	50,76 ±1,04	64,22 ±0,95	70,28 ±1,73	74,26 ±1,08	12,74±0,70	15±2; >12 giờ
F21	26,92 ±0,39	29,76 ±0,47	37,23 ±0,92	45,20 ±0,91	72,33 ±1,38	12,62±0,90	29±3; >12 giờ

Công thức	Tỉ lệ (%) VER giải phóng theo thời gian (giờ)					Chỉ số Carr (%)	T _{lag} (giây); FT(giờ)
	1	2	3,5	5	8		
F17	27,13 ±0,57	30,78 ±0,55	39,05 ±0,70	47,98 ±1,22	71,15 ±1,49	9,8±0,43	25±3; >12 giờ
F22	20,30 ±0,38	21,51 ±0,40	33,31 ±0,66	43,17 ±0,75	65,94 ±0,69	12,10±1,20	117±6;>12giờ

Công thức có LGVV 6 kp (F20) khi tiếp xúc với môi trường thử, viên bị rã nhanh, giải phóng 47,08 % ngay sau 1 giờ. Khi tăng lực nén từ 8-10 kp, T_{lag} giảm từ 29 giây ở F21 còn 25 giây ở F17. Khi lực nén lên 12 kp (F22), T_{lag} tăng lên 117 giây và khả năng giải phóng được chất giảm mạnh so với 10kp (còn 20,30 % sau 1 giờ và 65,94 % sau 8 giờ). Qua khảo sát, lựa chọn LGVV là 10 kp (**F17**) cho các công thức bào chế thực nghiệm.

Dựa trên kết quả khảo, công thức bào chế cơ bản được xác định trong bảng 3.8 như sau:

Bảng 3. 8. Công thức bào chế cơ bản viên nõi VER 120 mg GPKD

TT	Thành phần	Khối lượng cho 1 viên
1	Verapamil hydroclorid	120 mg
2	HPMC K4M	70 mg
3	HPMC E6	40 mg
4	Natri hydrocarbonat	40 mg
5	Avicel PH 101	50 mg
6	Lactose	Vừa đủ 400 mg
7	Magnesi stearat	8 mg
8	PVP K30 10% trong ethanol 96%	Vừa đủ ẩm

3.1.4. Kết quả tối ưu hóa công thức bào chế

3.1.4.1. Kết quả xây dựng và khảo sát các công thức thực nghiệm

Căn cứ vào các công thức cơ bản, để đánh giá ảnh hưởng của tá dược đến khả năng giải phóng dược chất và T_{lag} của viên, lựa chọn các biến độc lập là: Khối lượng HPMC K4M, khối lượng HPMC E6, khối lượng natri hydrocarbonat. Các mức và khoảng biến thiên của các biến độc lập được thể hiện trong bảng 3.9.

Bảng 3. 9. Các biến độc lập và khoảng biến thiên

Biến độc lập	Ký hiệu	Mức biến thiên			
		Mức trên (+1)	Mức cơ sở (0)	Mức dưới (-1)	Khoảng biến thiên
Khối lượng HPMC K4M (mg)	X1	100	70	40	30
Khối lượng HPMC E6 (mg)	X2	60	40	20	20
Khối lượng Natri hydrocarbonat (mg)	X3	60	40	20	20

Lựa chọn biến phụ thuộc

Mục đích của việc xây dựng các công thức thực nghiệm là tối ưu hóa việc lựa chọn khối lượng các tá dược trong công thức cơ bản. Sao cho viên nổi bào chế được đạt yêu cầu trong chuyên luận: “Viên nén verapamil hydrochlorid giải phóng kéo dài” của USP. Và viên phải có T_{lag} nhỏ hơn 180 giây. Vậy, chọn biến phụ thuộc là: Tỷ lệ (%) dược chất giải phóng được tại các thời điểm 1-2-3,5-5-8 giờ và T_{lag} . Các yêu cầu được thể hiện trong bảng 3.10.

Bảng 3. 10. Các biến phụ thuộc và yêu cầu

Biến phụ thuộc	Ký hiệu	Yêu cầu
Tỷ lệ VER giải phóng sau 1 giờ (%)	Y1	8 - 20
Tỷ lệ VER giải phóng sau 2 giờ (%)	Y2	15 - 35
Tỷ lệ VER giải phóng sau 3,5 giờ (%)	Y3,5	27 - 57
Tỷ lệ VER giải phóng sau 5 giờ (%)	Y5	45 - 75
Tỷ lệ VER giải phóng sau 8 giờ (%)	Y8	≥ 80
T_{lag} (giây)	Y	Nhỏ nhất

Thiết kế và tiến hành thí nghiệm

Bố trí thành phần các công thức bằng phần mềm Modde Pro 13.1. Kết quả bao gồm 17 công thức ở bảng 3.11 với LGVV khoảng 10 kp.

Bảng 3. 11. Các công thức thực nghiệm

Công thức	Thành phần công thức (mg/viên)							
	VER	HPMC K4M	HPMC E6	Natri hydrocarbonat	Avicel PH 101	Lactose	Mg stearat	PVP K30 10%
N1	120	40	20	20	50	142	8	Vđ
N2	120	100	20	20	50	82	8	Vđ
N3	120	40	60	20	50	102	8	Vđ
N4	120	100	60	20	50	42	8	Vđ
N5	120	40	20	60	50	102	8	Vđ
N6	120	100	20	60	50	42	8	Vđ
N7	120	40	60	60	50	62	8	Vđ
N8	120	100	60	60	50	2	8	Vđ
N9	120	40	40	40	50	102	8	Vđ
N10	120	100	40	40	50	42	8	Vđ
N11	120	70	20	40	50	92	8	Vđ
N12	120	70	60	40	50	52	8	Vđ
N13	120	70	40	20	50	92	8	Vđ
N14	120	70	40	60	50	52	8	Vđ
N15	120	70	40	40	50	72	8	Vđ
N16	120	70	40	40	50	72	8	Vđ
N17	120	70	40	40	50	72	8	Vđ

Tiến hành bào chế các công thức trong bảng 3.11 theo phương pháp ở mục 2.2.1, mỗi công thức bào chế mẻ 100 viên. Định lượng theo phương pháp mục 2.2.2, các viên đều đạt giới hạn hàm lượng từ 90,0 – 110,0 % theo USP. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.12.

Bảng 3. 12. Hàm lượng VER trong viên nõi VER GPKD bào chế theo các công thức thực nghiệm (n=6, TB±SD)

Công thức	Hàm lượng VER (%)	Công thức	Hàm lượng VER (%)
N1	99,61 ±0,43	N10	100,96 ±1,15
N2	100,38 ±0,91	N11	97,22 ±1,27
N3	95,22 ±1,05	N12	100,20 ±0,79
N4	93,83 ±0,99	N13	100,78 ±0,76
N5	98,79 ±0,67	N14	100,44 ±1,11
N6	101,09 ±1,02	N15	98,33 ±1,31
N7	91,82 ±0,99	N16	100,21 ±0,41
N8	94,58 ±1,24	N17	90,03 ±0,84
N9	96,87 ±1,05		

Tiến hành thử hòa tan theo phương pháp ở mục 2.2.2. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.13.

Bảng 3. 13. Tỷ lệ VER giải phóng từ viên bào chế theo các công thức thực nghiệm (n=6, TB±SD)

Công thức	Tỷ lệ % VER giải phóng theo thời gian (giờ)					Chỉ số Carr (%)	T _{lag} (giờ); FT(giờ)
	1	2	3,5	5	8		
N1	39,38 ± 1,11	45,38 ± 1,35	64,02 ± 1,43	75,13 ± 1,10	93,03 ± 3,63	14,36±0,44	202 ± 11; 8 giờ
N2	17,86 ± 0,63	22,28 ± 0,77	33,44 ± 1,24	43,89 ± 1,14	74,92 ± 1,35	10,03±0,46	900 ± 15; 5 giờ
N3	26,19 ± 0,50	33,10 ± 0,60	48,82 ± 1,59	64,65 ± 1,70	88,92 ± 1,76	8,87±0,08	Viên không nõi
N4	17,60 ± 0,51	18,82 ± 0,44	28,53 ± 1,00	37,89 ± 1,19	53,46 ± 1,81	13,03±0,54	900 ± 33; >12 giờ

Công thức	Tỉ lệ % VER giải phóng theo thời gian (giờ)					Chỉ số Carr (%)	T _{lag} (giờ); FT(giờ)
	1	2	3,5	5	8		
N5	99,12 ± 1,02	-	-	-	-	7,35±1,27	203 ± 13; 2 giờ
N6	18,03 ± 0,87	17,55 ± 0,60	24,10 ± 0,58	30,97 ± 0,89	47,29 ± 1,39	13,79±0,33	24 ± 4; >12 giờ
N7	92,08 ± 1,51	-	-	-	-	11,01±1,37	145 ± 10; 2 giờ
N8	12,27 ± 0,63	13,15 ± 0,51	22,34 ± 0,77	31,67 ± 0,67	47,18 ± 1,02	9,10 ± 1,23	22 ± 4; >12 giờ
N9	98,71 ± 0,78	-	-	-	-	8,78 ± 0,07	95 ± 5; 2 giờ
N10	14,26 ± 0,60	14,44 ± 0,75	23,25 ± 0,81	32,44 ± 1,23	48,35 ± 1,38	14,45±1,06	130 ± 10; >12 giờ
N11	21,74 ± 0,69	27,20 ± 0,67	37,64 ± 1,49	46,56 ± 1,36	64,27 ± 1,27	11,33±0,76	43 ± 5; >12 giờ
N12	13,83 ± 0,58	17,74 ± 0,62	27,34 ± 1,04	36,08 ± 0,89	54,97 ± 1,64	11,82±0,10	63 ± 2; >12 giờ
N13	16,74 ± 0,70	20,03 ± 0,62	30,96 ± 0,74	41,71 ± 1,18	62,58 ± 2,26	11,83±0,83	1168 ± 23; 5 giờ
N14	61,51 ± 1,13	66,46 ± 1,37	72,43 ± 0,44	78,23 ± 2,52	85,60 ± 1,11	10,56±0,99	42 ± 3; >12 giờ
N15	17,71 ± 0,50	20,08 ± 0,84	29,49 ± 0,75	38,02 ± 0,80	62,71 ± 0,96	9,63±0,76	69 ± 5; >12 giờ
N16	21,27 ± 0,64	22,63 ± 0,52	30,71 ± 0,87	39,72 ± 1,08	62,70 ± 0,66	10,73±1,10	67 ± 4; >12 giờ
N17	20,26 ± 0,51	21,30 ± 0,38	32,58 ± 0,88	42,42 ± 0,89	66,16 ± 1,44	9,86±0,52	60 ± 9; >12 giờ

Nhận xét: Những công thức kiểm soát giải phóng kém gồm N5, N7, N9, N14 là những công thức chứa ít HPMC K4M và nhiều natri hydrocarbonat.

Những công thức N1, N2, N3, N13 nổi không ổn định, FT và T_{lag} không đạt do chứa ít natri hydrocarbonat. Các công thức còn lại đều nổi ổn định và ĐKGP tốt. Kết quả độ hòa tan của 17 công thức thực nghiệm phù hợp với những nguyên lý rút ra trong quá trình khảo sát các công thức cơ bản.

3.1.4.2. Ảnh hưởng của hàm lượng các tá dược đến khả năng giải phóng dược chất và thời gian nổi tiềm tàng của viên

Để khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng tá dược đến khả năng giải phóng dược chất của viên VER GPKG và đưa ra công thức tối ưu, ta sử dụng các số liệu trong bảng 3.13 và phần mềm tối ưu hóa INForm 3.1. Các thông số của mô hình do phần mềm INForm 3.1 xây dựng được thiết lập như bảng 3.14.

Bảng 3. 14. Các thông số thiết lập mô hình INForm 3.1

Nhóm thử (10%)	N8
Thông số luyện	
Số lớp ẩn	1
Số nút trong lớp ẩn	2
Hàm truyền	Asymmetric Sigmoid
Hàm truyền đầu ra	Linear
Thuật toán lan truyền ngược	RPROP
Số vòng lặp	1,00
Thông số luyện	
Sai số bình phương trung bình	0,0001
Mầm ngẫu nhiên	10,000

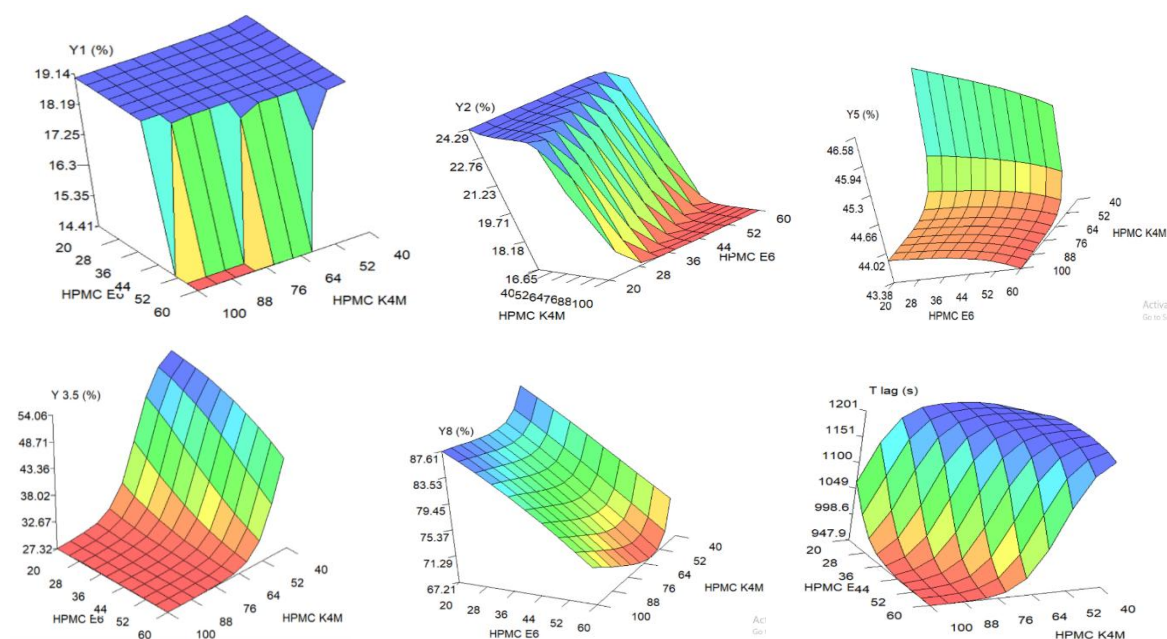
Phân tích kết quả với sự trợ giúp của phần mềm INForm 3.1 với yêu cầu đặt ra là hệ số tương quan R^2 luyện và R^2 thử từ 80-100. Kết quả luyện của phần mềm tối ưu hóa INForm 3.1 thể hiện ở bảng 3.15.

Bảng 3. 15. Kết quả R^2 luyện và R^2 thử của INForm 3.1

	Y1	Y2	Y3,5	Y5	Y8	Y
R^2 luyện	99,76	99,81	99,38	99,88	98,64	97,78
R^2 thử	100	100	100	100	100	100

Bảng 3.15 cho thấy kết quả luyện của chương trình cho các kết quả R^2 luyện và R^2 thử đều nằm trong khoảng 80-100 vì vậy mô hình có sự tương quan giữa các biến độc lập và các biến phụ thuộc. Tiếp tục sử dụng phép phân tích mặt đáp để nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố tới khả năng giải phóng dược chất từ các công thức thực nghiệm và thời gian tiền nổi của viên.

Ảnh hưởng của khối lượng HPMC K4M và HPMC E6 tới khả năng giải phóng dược chất và T_{lag} . Kết quả thể hiện qua các mặt đáp ở hình 3.5. Khối lượng natri hydrocarbonat của 6 hình được cố định ở mức 40 mg.

**Hình 3. 5. Mặt đáp của các biến phụ thuộc theo HPMC K4M và HPMC E6**

Tại thời điểm 1 giờ: Sự ảnh hưởng của khối lượng HPMC K4M và HPMC E6 đến khả năng giải phóng chỉ thể hiện rõ khi khối lượng cả hai polymer đều ở mức cao (HPMC K4M trên 64 mg và HPMC E6 trên 52 mg). Ở công thức N1 (HPMC K4M 40 mg, HPMC E6 20 mg) và N4, N8 (HPMC K4M 100 mg, HPMC E6 60 mg) tỉ lệ giải phóng trong giờ đầu giảm từ 39,38 % còn 17,60 % và 12,27 %.

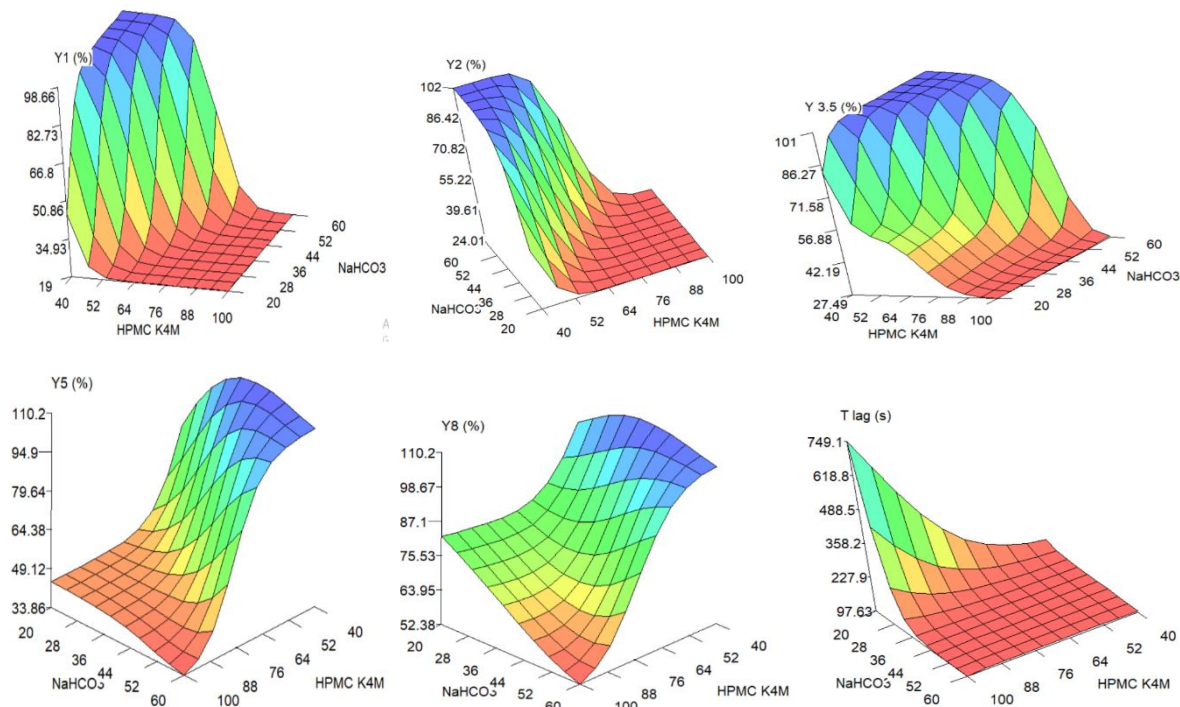
Tại thời điểm 2 giờ và 3,5 giờ: Lượng HPMC K4M ảnh hưởng mạnh đến tỉ lệ được chất giải phóng, HPMC E6 ảnh hưởng rất ít. Hai công thức N4, N6, lượng HPMC K4M là 100 mg, nhưng HPMC E6 thay đổi từ 60 mg đến 20 mg, tỉ lệ giải phóng thay đổi ít từ 18,82 % thành 19,55 %.

Tại thời điểm 5 giờ: Cố định HPMC E6, giảm HPMC K4M từ 100 mg còn 52 mg, ít làm thay đổi tỉ lệ giải phóng. Giảm HPMC K4M xuống dưới 52 mg, tỉ lệ được chất giải phóng tăng vọt.

Tại thời điểm 8 giờ: Lượng HPMC E6 ảnh hưởng mạnh đến tỉ lệ giải phóng. Hai công thức N2 và N4, cùng tỉ lệ HPMC K4M và NaHCO_3 , thay đổi HPMC E6 từ 20 mg đến 40 mg, thì tỉ lệ giải phóng giảm từ 74,92 % còn 53,46 %.

Khi sử dụng tỉ lệ HPMC K4M và HPMC E6 bằng nhau thì T_{lag} giảm. Cố định HPMC E6, giảm HPMC K4M xuống dưới 60 mg thì T_{lag} tăng.

Ảnh hưởng của khối lượng HPMC K4M và NaHCO_3 tới khả năng giải phóng dược chất và T_{lag} . Kết quả thể hiện qua các mặt đáp ở hình 3.6. Giá trị HPMC E6 của 6 hình được cố định ở mức 40 mg.



Hình 3. 6. Mặt đáp của các biến phụ thuộc theo HPMC K4M và NaHCO_3

Tại thời điểm 1 giờ và 2 giờ: Với lượng HPMC K4M trên 75 mg, lượng NaHCO_3 ít ảnh hưởng đến tỉ lệ giải phóng. Khi lượng HPMC K4M dưới 75 mg, thì lượng NaHCO_3 ảnh hưởng rõ đến tỉ lệ giải phóng. công thức N1, N5 có HPMC K4M là 40 mg, HPMC E6 là 20 mg, khi NaHCO_3 tăng từ 20 lên 60 mg, làm tăng tỉ lệ giải phóng từ 39,38 lên 99,12%. Điều này tương tự với hai công thức N3 và N7.

Tại thời điểm 3,5 giờ: Ở lượng HPMC K4M dưới 90 mg thì NaHCO_3 đã thể hiện rõ ảnh hưởng lên tỉ lệ giải phóng. Công thức N13, N14, HPMC K4M 70 mg, HPMC E6 40 mg, khi NaHCO_3 tăng từ 20 lên 60 mg, thì tỉ lệ giải phóng tăng từ 30,96 lên 72,43%.

Tại thời điểm 5 giờ và 8 giờ: Tỉ lệ giải phóng ảnh hưởng chủ yếu từ lượng HPMC K4M. Cố định HPMC K4M trên 80 mg, NaHCO_3 chạy từ 20 – 60 mg tỉ lệ được chất giải phóng không thay đổi nhiều. Hai công thức N4, N8, HPMC K4M 100 mg, tăng lượng NaHCO_3 từ 20 mg lên 60 mg, thì tỉ lệ được chất giảm nhẹ từ 53,46 còn 47,18 %.

Với T_{lag} : Khối lượng NaHCO_3 là yếu tố ảnh hưởng chủ yếu. Nếu cố định khối lượng NaHCO_3 ở mức cao trên 36 mg thì khối lượng HPMC K4M ít ảnh hưởng đến T_{lag} . Chỉ khi giảm NaHCO_3 xuống dưới 28 mg đồng thời tăng lượng HPMC K4M lên trên 76 mg thì T_{lag} mới tăng.

3.1.4.3. Kết quả tối ưu hóa công thức bào chế

Từ các số liệu thực nghiệm, dựa trên USP 43 đặt ra các yêu cầu tối ưu cho các biến phụ thuộc như sau:

$$8\% \leq Y1 \leq 20\% \quad 27\% \leq Y3,5 \leq 57\% \quad Y8 \geq 80\%$$

$$15\% \leq Y2 \leq 35\% \quad 45\% \leq Y5 \leq 75\% \quad Y: \text{Tối thiểu}$$

+ Kết quả tối ưu: $X1=59,0$ mg; $X2=35,0$ mg; $X3=29,3$ mg.

+ Dự đoán biến phụ thuộc:

$$Y1 = 17,96 (\%) \quad Y2 = 30,15 (\%) \quad Y3.5 = 51,94 (\%)$$

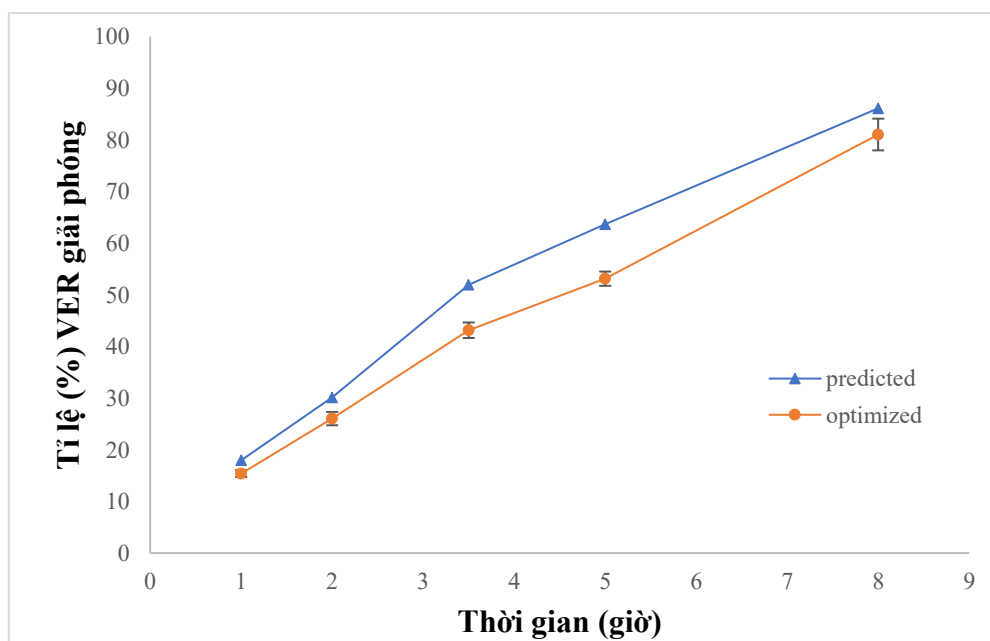
$$Y5 = 63,63 (\%) \quad Y8 = 86,10 (\%) \quad Y = 107,57 (\text{giây})$$

Công thức đưa ra bởi phần mềm INForm 3.1 như sau:

VER	120 (mg)
HPMC K4M	59 (mg)
HPMC E6	35 (mg)
NaHCO ₃	29,3(mg)
Avicel PH101	50 (mg)
Lactose	98,7 (mg)
Mg stearat	8 (mg)
PVP K30 10% trong ethanol 96%	Vừa đủ.

3.1.4.4. Kết quả đánh giá khả năng nổi và giải phóng dược chất *in vitro* của viên nổi verapamil 120 mg bào chế theo công thức tối ưu

Bào chế công thức tối ưu theo phương pháp ở mục 2.2.1. Tiến hành định lượng viên tối ưu theo phương pháp ở mục 2.2.2 cho kết quả là 102 ± 2 (%), đạt tiêu chuẩn USP. Kết quả thử độ hòa tan của viên tối ưu được thể hiện dưới bảng 3.16 và hình 3.7.



Hình 3. 7. Đồ thị giải phóng dược chất của viên nổi bào chế theo công thức tối ưu

Bảng 3. 16. Tỷ lệ (%) VER giải phóng từ viên nõi verapamil 120 mg GPKD bào chế theo công thức tối ưu ($n=6$, $TB \pm SD$)

Tỷ lệ (%) VER giải phóng theo thời gian (giờ)					T_{lag} , $T_{nõi}$
1	2	3,5	5	8	89 ± 4 (giờ), >12 (giờ)
15,38 $\pm 0,66$	26,03 $\pm 1,29$	43,14 $\pm 1,5$	53,12 $\pm 1,38$	81,03 $\pm 3,07$	

Nhận xét: Tỷ lệ (%) được chất giải phóng theo thời gian, thời gian tiền nõi (T_{lag}) và tổng thời gian nõi (FT) của viên bào chế theo công thức tối ưu thỏa mãn yêu cầu của bài toán tối ưu ban đầu.

3.1.4.5. Kết quả đánh giá mô hình động học giải phóng

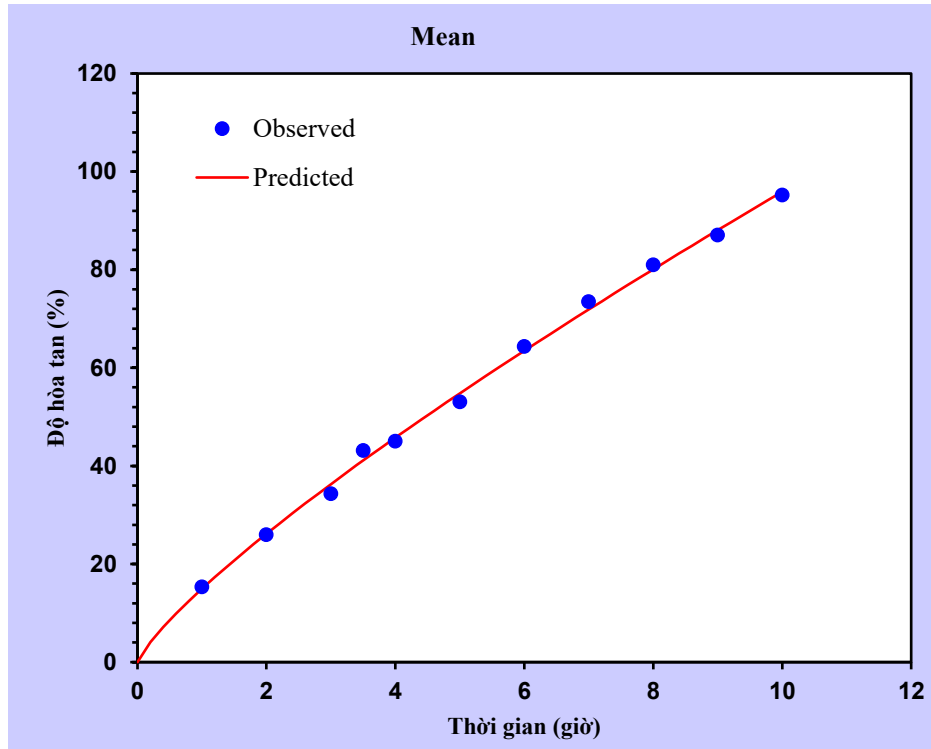
Đánh giá động học giải phóng của viên nõi VER GPKD bào chế theo công thức tối ưu, sử dụng các mô hình động học mô tả như ở mục 2.2.4. Sự phù hợp từng mô hình với sự giải phóng được chất được đánh giá qua 2 thông số AIC và R^2_{hc} thể hiện ở bảng 3.17.

Bảng 3. 17. Giá trị AIC và R^2_{hc} theo mô hình động học giải phóng được chất

Mô hình	Công thức tối ưu	
	AIC	R^2_{hc}
Bậc 0	61,966	0,966
Bậc 1 (Wagner)	67,241	0,945
Higuchi	75,073	0,888
Hixson-Crowell	56,412	0,979
Korsmeyer Peppas	35,179	0,997
Quadratic	40,366	0,996
Hopfenberg	42,113	0,995
Weibull	43,812	0,994
Logistic	67,718	0,947

Kết quả đánh giá mô hình động học giải phóng được chất cho thấy: Với mô hình Korsmeyer Peppas, viên nõi bào chế theo công thức tối ưu nhận giá trị

AIC nhỏ nhất (35,18) và R^2_{hc} lớn nhất (0,997). Như vậy quá trình giải phóng được chất từ viên nổi verapamil 120 mg GPKD bào chế theo công thức tối ưu tuân theo mô hình động học Korsmeyer Peppas (Hình 3.8). Hệ số mũ khuếch tán $n = 0,792$ cho thấy cơ chế giải phóng không theo quy luật Fick.



Hình 3. 8. Mô hình động học giải phóng của viên verapamil 120 mg GPKD

3.1.5. Nâng cấp và thẩm định quy trình bào chế viên nổi verapamil 120 mg quy mô 10.000 viên/lô

Khi sản xuất ở quy mô lớn hơn, các thiết bị sử dụng có dung lượng, công suất và nguyên lý hoạt động thay đổi. Quá trình tạo hạt ướt thực hiện trên thiết bị nhào tạo hạt cao tốc. Vì tính đến khối lượng của tá dược dính và tá dược trơn, khối lượng viên dự kiến ở quy mô này là 430 mg. Công thức lô được thể hiện trong bảng 3.18 như sau:

Bảng 3. 18. Công thức bào chế và công thức lô 10 000 viên

Thành phần	1 viên (mg)	10 000 viên (g)
Verapamil hydroclorid	120	1200
HPMC K4M	59	590
HPMC E6	35	350
Avicel PH 101	50	500
Natri hydrocarbonat	39,3	393
Lactose	98,7	987
Magnesi stearat	8	80
PVP K30	20	200
Ethanol 96%	0,2 mL	2 Lít
Tổng khối lượng	430	4300

Để các chỉ tiêu chất lượng nằm trong giới hạn kiểm soát, khi sản xuất lô đầu tiên (L01) tiến hành khảo sát một số thông số kỹ thuật như mô tả trong mục 2.2.1. trước khi thẩm định đối với 2 lô tiếp theo. Chuẩn bị nguyên liệu, tá dược dính và trộn bột kép với tốc độ cánh trộn 100 vòng/phút. Tạo hạt ướt trong máy tạo hạt cao tốc với tốc độ cánh chính 100 vòng/phút, tốc độ cánh phụ 1200 vòng/phút. Sấy hạt trên máy sấy tầng sôi, nhiệt độ 60°C. Sửa hạt qua rây 0,8mm trên máy xát hạt trực ngang. Thêm tá dược trơn và trộn hoàn tất bằng máy trộn lập phương, tốc độ 20 vòng/phút. Dập viên trên máy quay tròn, chày Ø11, khối lượng viên 430 mg, độ cứng 9-11kp. Kết quả khảo sát lựa chọn các thông số kỹ thuật trong quá trình bào chế lô L01 được thể hiện trong bảng 3.19 như sau:

Bảng 3. 19. Kết quả khảo sát thông số sản xuất trên lô L01

TT	Thông số khảo sát	Kết quả
1	Thời gian trộn bột kép	7 phút
2	Thời gian tạo hạt ướt	5 phút
3	Thời gian sấy	15 phút
4	Thời gian trộn hoàn tất	10 phút
5	Tốc độ dập viên	15 rpm

Sau khi xác định các thông số sản xuất, quy trình bào chế chi tiết được mô tả trong **phụ lục 3**. Kết quả thẩm định 3 lô sản xuất quy mô 10 000 viên/lô được tóm tắt trong bảng 3.20 như sau:

Bảng 3. 20. Kết quả thẩm định quy trình sản xuất quy mô 10000 viên/lô

TT	Giai đoạn	Chỉ tiêu	Giới hạn	Kết quả	Kết luận
1	Trộn bột kép	Đồng đều hàm lượng	$RSD \leq 5 \%$	2,05 %	Đạt
2	Tạo hạt ướt	Đồng đều độ ẩm	$RSD \leq 5 \%$	0,78 %	Đạt
3	Sấy hạt	Độ ẩm	2 - 3 %	2,48 %	Đạt
4	Trộn hoàn tất	Đồng đều hàm lượng	$RSD \leq 5 \%$	1,69 %	Đạt
		Chỉ số Carr	≤ 20	18,25	Đạt
5	Dập viên	Hình thức	Màu trắng, nguyên vẹn	Màu trắng, nguyên vẹn	Đạt
		Đồng đều khối lượng	$\pm 5 \%$ KLTB	$\pm 5 \%$ KLTB	Đạt
		LGVV	9-11 kp	9-11 kp	Đạt
		Độ hòa tan	Test 3, USP	Đạt	Đạt
		Hàm lượng	108-132 mg	119,7-122,9	Đạt
		Thời gian trì hoãn nổi	≤ 180 giây	50-90 giây	Đạt
		Thời gian nổi	≥ 12 giờ	12,5-14,4 giờ	Đạt

Các số liệu thẩm định chứng tỏ quy trình bào chế xây dựng là ổn định và phù hợp để sản xuất viên nổi verapamil 120 mg GPKD. Chất lượng viên thành

phẩm ổn định giữa các lô, các thời điểm sản xuất trong lô và đảm bảo tiêu chuẩn chất lượng đã đề ra. Quy trình bào chế viên nổi verapamil 120 mg GPKD quy mô 10.000 viên/lô được thể hiện trong phụ lục 3. Kết quả chi tiết về khảo sát lô L01 và thẩm định 3 lô pilot được thể hiện trong **phụ lục 4**.

3.2. KẾT QUẢ XÂY DỰNG TIÊU CHUẨN CƠ SỞ VÀ NGHIÊN CỨU ĐỘ ỔN ĐỊNH CỦA VIÊN NỔI VERAPAMIL GIẢI PHÓNG KÉO DÀI

3.2.1. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của viên nổi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài

3.2.1.1. Khảo sát một số chỉ tiêu chất lượng viên nổi verapamil 120 giải phóng kéo dài

Tiến hành khảo sát một số chỉ tiêu chất lượng viên của 3 lô sản xuất theo các phương pháp mô tả ở mục 2.2.2.1., bao gồm 6 chỉ tiêu chất lượng: Tính chất, định tính, độ đồng đều khối lượng, độ hòa tan, khả năng nổi *in vitro* và định lượng, kết quả cho thấy:

Tính chất: Viên nén hình trụ dẹt, mặt lồi, màu trắng, thành và cạnh viên lành lặn.

Độ đồng đều khối lượng: Khối lượng các viên kiểm tra từ 3 lô đều nằm trong giới hạn $\pm 5\%$ so với khối lượng trung bình viên.

Định tính: Trên sắc ký đồ định lượng, quan sát thấy pic chính của sắc ký đồ dung dịch thử có thời gian lưu tương tự pic VER chuẩn.

Định lượng: Định lượng VER theo phương pháp ở mục 2.2.2.1. Kết quả bảng 3.21 bên dưới cho thấy hàm lượng của viên so với lượng ghi trên nhãn, trung bình đạt $100,42 \pm 0,72\%$ ($n = 6$), đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn USP.

Bảng 3. 21. Kết quả khảo sát hàm lượng viên 3 lô sản xuất

Lô		L01	L02	L03
Tỉ lệ hàm lượng so với nhãn (%)	1	103,56	102,79	101,62
	2	103,38	99,75	99,96
	3	96,9	98,31	98,66
	4	99,72	101,28	98,25
	5	103,53	100,93	99,9

Lô		L01	L02	L03
	6	102,32	98,55	98,23
TB ± SD (%)		101,57±2,71	100,27±1,72	99,43±1,32

Độ hoà tan: Theo phương pháp thử độ hoà tan ở phần 2.2.2.1. Kết quả thử độ hoà tan của các viên trong 3 lô sản xuất được trình bày ở bảng 3.22.

Bảng 3. 22. Tỷ lệ (%) VER được giải phóng từ viên nõi verapamil 120 mg GPKD ($n = 6$; TB±SD)

Lô	T _{lag} (giây)	FT (giờ)	Tỷ lệ (%) VER giải phóng theo thời gian (giờ)				
			1	2	3,5	5	8
L01	70,5 ±15,9	> 12	18,44 ±0,79	26,96 ±0,82	41,63 ±1,77	52,41 ±1,91	85,64 ±2,62
L02	68,0 ±13,5	> 12	17,87 ±0,61	25,18 ±0,91	39,04 ±1,36	51,87 ±2,05	85,57 ±2,60
L03	75,7 ±12,8	> 12	17,61 ±0,74	26,52 ±0,92	41,05 ±1,81	55,39 ±2,04	81,93 ±2,55

Kết quả ở bảng 3.22 cho thấy: Trong 3 lô bào chế, độ hòa tan của viên nõi verapamil 120 mg GPKD khác nhau không đáng kể và đều đạt yêu cầu của ĐĐVN V và USP.

Thời gian trì hoãn nõi và tổng thời gian nõi: Kết quả bảng 3.22 cho thấy thời gian trì hoãn nõi của viên thành phẩm từ 50 đến 90 giây, không có viên nào vượt quá 180 giây. Bên cạnh đó, tổng thời gian nõi của viên ghi nhận được từ 12,5 đến 14,4 giờ; không có viên nào dưới 12 giờ.

3.2.1.2. Đề xuất tiêu chuẩn chất lượng và xây dựng tiêu chuẩn cơ sở viên nõi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài

Dựa vào kết quả kiểm nghiệm viên nõi verapamil 120 mg GPKD, đề xuất một số tiêu chuẩn chất lượng cho viên nõi VER 120 mg GPKD, gồm 6 chỉ tiêu chất lượng, được thể hiện chi tiết trong **phụ lục 5** và tóm tắt trong bảng bảng 3.23 như sau:

Bảng 3. 23. Tóm tắt nội dung tiêu chuẩn cơ sở

Tiêu chuẩn	Yêu cầu	Phương pháp thử
1. Hình thức	Viên nhẵn bóng, hình trụ dẹt, cạnh và thành viên lảnh lặn, màu trắng đồng nhất.	Cảm quan
2. Định tính	Chế phẩm phải thể hiện phép thử định tính của verapamil hydroclorid.	HPLC
3. Độ đồng đều khối lượng	$\pm 5\%$ so với khối lượng trung bình viên	ĐĐVN V, Phụ lục 11.3
4. Độ hoà tan	1 giờ: 8-20% 2 giờ: 15-35% 3,5 giờ: 27-57% 5 giờ: 45-75% 8 giờ: $\geq 80\%$	Thiết bị: Kiểu cánh khuấy Tốc độ quay: 50 vòng/phút Môi trường: 900 mL dung dịch HCl 0,1N trong 8 giờ. Định lượng: Đo quang ở 278nm.
5. Khả năng nổi <i>in vitro</i>	Thời gian trì hoãn nổi không quá 180 giây	Đồng hồ trên thiết bị thử độ hòa tan
	Tổng thời gian nổi không dưới 12 giờ	
6. Định lượng	90,0 - 110,0% so với lượng ghi trên nhãn.	HPLC

Kết quả kiểm nghiệm chất lượng thành phẩm của 3 lô theo TCCS đã xây dựng cho thấy: Viên nén verapamil 120 mg GPKD sản xuất ở cả 3 lô đều có chất lượng đạt tiêu chuẩn cơ sở. Phiếu kiểm nghiệm được thể hiện trong **phụ lục 6**.

3.2.2. Kết quả nghiên cứu độ ổn định của viên nổi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài

Nghiên cứu độ ổn định của viên nổi verapamil 120 mg GPKD được thực hiện theo phương pháp mô tả trong mục 2.2.2.2. Các chỉ tiêu chất lượng được đánh giá gồm tính chất, độ hòa tan, khả năng nổi *in vitro* và hàm lượng VER.

3.2.2.1. Kết quả theo dõi hình thức viên

Các viên nổi verapamil 120 mg GPKD bảo quản 18 tháng ở điều kiện thực và 6 tháng ở điều kiện lão hoá cấp tốc không có thay đổi so với thời điểm ban đầu.

3.2.2.2. Kết quả theo dõi độ hoà tan và khả năng nổi *in vitro*

a. Điều kiện thực

Kết quả đánh giá độ hòa tan của verapamil 120 mg từ các viên ở 3 lô sản xuất sau 18 tháng bảo quản ở điều kiện thực được trình bày ở bảng 3.24.

Bảng 3. 24. Độ hoà tan của viên nổi verapamil 120 mg GPKD bảo quản ở điều kiện thực (n=6; TB±SD)

Lô	Tháng	Tỉ lệ (%) VER được giải phóng theo thời gian (giờ)				
		1	2	3,5	5	8
L01	0	18,4±0,8	27,0±0,8	41,6±1,8	52,4±1,9	85,6±2,6
	3	18,4±0,5	26,6±0,7	41,5±0,9	53,2±1,8	85,1±2,7
	6	18,6±0,4	26,8±0,8	42,1±1,2	53,0±1,7	88,0±2,3
	9	18,7±0,5	26,7±0,6	41,2±1,2	53,2±1,2	86,3±1,8
	12	18,8±0,4	27,2±0,6	41,3±1,0	54,3±1,5	85,5±2,7
	18	19,1±0,4	27,7±0,5	42,5±1,0	54,2±0,9	87,2±1,3
L02	0	17,9±0,6	25,2±0,9	39,0±1,4	51,9±2,1	85,6±2,6
	3	18,7±0,5	26,7±0,8	41,1±1,1	53,6±1,1	84,8±2,6
	6	18,8±0,3	26,8±0,7	41,2±0,9	52,7±1,6	86,7±2,5
	9	18,7±0,5	26,8±0,2	41,8±1,0	52,8±1,5	87,9±1,8
	12	18,8±0,4	27,1±0,6	41,8±0,9	53,0±1,4	86,9±2,1
	18	19,1±0,4	27,9±0,3	41,2±1,4	53,5±1,3	87,2±1,3
L03	0	17,6±0,7	26,5±0,9	41,0±1,8	55,4±2,0	81,9±2,5
	3	18,6±0,5	26,9±0,8	41,7±0,9	53,0±1,2	86,5±2,3
	6	18,6±0,5	27,0±0,5	41,4±1,0	52,8±1,3	85,9±1,3
	9	18,7±0,4	27,0±0,6	41,7±1,0	53,4±1,6	86,9±2,3

Lô	Tháng	Tỉ lệ (%) VER được giải phóng theo thời gian (giờ)				
		1	2	3,5	5	8
	12	18,5±0,5	27,1±0,4	42,0±1,1	53,3±1,7	85,9±1,5
	18	18,8±0,4	27,5±0,5	42,9±1,5	55,7±1,0	86,2±1,1

b. Điều kiện lão hoá cấp tốc

Kết quả đánh giá độ hòa tan của verapamil 120 mg từ các viên ở 3 lô bào chế sau 6 tháng bảo quản ở điều kiện lão hoá cấp tốc được trình bày ở bảng 3.25.

Bảng 3. 25. Độ hoà tan của viên nổi verapamil 120 mg GPKD bảo quản ở điều kiện lão hóa cấp tốc (n=6; TB± SD)

Lô	Tháng	Tỉ lệ (%) VER được giải phóng theo thời gian (giờ)				
		1	2	3,5	5	8
L01	0	18,4±0,8	27±0,8	41,6±1,8	52,4±1,9	85,6±2,6
	1	18,8±1,0	27,3±0,9	42±0,9	52,9±0,9	86,1±2,0
	3	18,9±0,4	27,3±0,5	42,8±1,2	53,7±1,0	87±1,2
	6	19,0±0,7	27,4±1,0	43,2±0,9	55±1,2	87,3±1,5
L02	0	17,9±0,6	25,2±0,9	39±1,4	51,9±2,1	85,6±2,6
	1	17,9±0,5	25,6±0,9	39,1±1,2	51,7±1,0	85,8±2,6
	3	18,2±0,3	27±0,4	41,1±1,0	54,4±1,2	86,3±1,8
	6	19,3±0,3	27,4±1,0	41,6±1,5	53,8±0,6	87,8±0,9
L03	0	17,6±0,7	26,5±0,9	41,0±1,8	55,4±2,0	81,9±2,5
	1	18,3±0,6	26,6±0,4	41,2±1,2	55,8±0,6	82,4±0,9
	3	18,6±1,2	26,7±0,4	42,0±1,0	55,9±0,8	83,3±1,9
	6	19,2±0,5	27,4±1,0	42,8±0,8	56,3±1,3	85,3±2,8

Nhận xét: Sau 18 tháng theo dõi độ ổn định ở điều kiện thực và 6 tháng ở điều kiện lão hoá cấp tốc, độ hòa tan của viên nổi verapamil 120 mg GPKD thay đổi không đáng kể và vẫn đạt các yêu cầu của TCCS.

c. Khả năng nổi in vitro

Kết quả đánh giá khả năng nổi *in vitro* tại các thời điểm theo kế hoạch đối với cả 2 điều kiện đều cho thấy thời gian trì hoãn nổi không có viên nào vượt quá 180 giây và tất cả các viên đều nổi trên 12 giờ.

3.2.2.3. Kết quả định lượng

Sự thay đổi hàm lượng VER của chế phẩm trong quá trình bảo quản ở điều kiện thực (18 tháng) và điều kiện lão hoá cấp tốc (6 tháng) được trình bày ở bảng 3.26 và 3.27.

Bảng 3. 26. Hàm lượng (%) VER trong viên nôi verapamil 120 mg GPKD bảo quản ở điều kiện thực ($n = 6$; $TB \pm SD$)

Thời gian bảo quản (tháng)	L01	L02	L03
0	101,96 $\pm$ 1,14	100,27 $\pm$ 1,72	100,66 $\pm$ 0,86
3	100,48 $\pm$ 0,86	99,94 $\pm$ 0,97	100,14 $\pm$ 1,26
6	99,89 $\pm$ 0,71	99,33 $\pm$ 0,32	99,73 $\pm$ 2,88
9	99,31 $\pm$ 0,45	98,9 $\pm$ 0,52	99,47 $\pm$ 0,88
12	98,58 $\pm$ 0,40	98,28 $\pm$ 0,46	98,83 $\pm$ 0,28
18	97,95 $\pm$ 0,41	97,65 $\pm$ 0,19	98,01 $\pm$ 0,31

Bảng 3. 27. Hàm lượng (%) VER trong viên nôi verapamil 120 mg GPKD bảo quản ở điều kiện lão hoá cấp tốc ($n = 6$; $TB \pm SD$)

Thời gian bảo quản (tháng)	L01	L02	L03
0	101,96 $\pm$ 1,14	100,27 $\pm$ 1,72	100,66 $\pm$ 0,86
1	100,63 $\pm$ 0,60	100,02 $\pm$ 1,21	100,19 $\pm$ 0,23
3	99,87 $\pm$ 0,23	99,24 $\pm$ 0,55	99,01 $\pm$ 0,84
6	98,93 $\pm$ 0,52	98,10 $\pm$ 0,48	97,99 $\pm$ 0,96

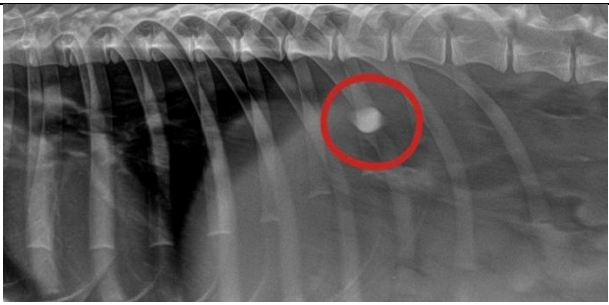
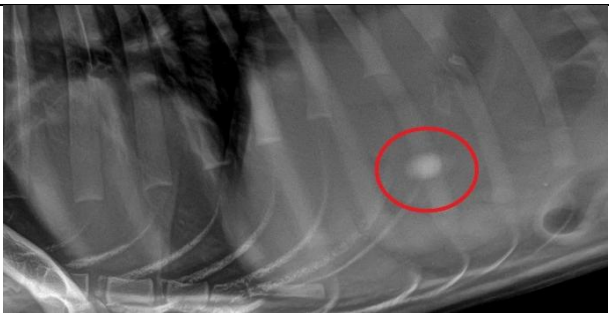
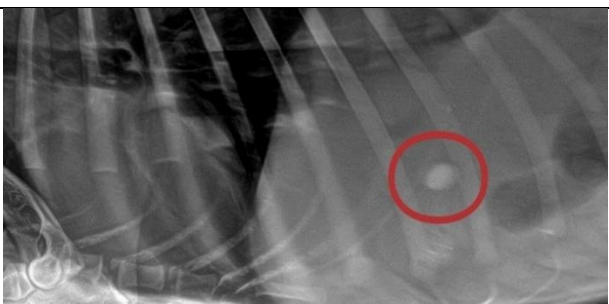
Nhận xét: Hàm lượng VER trong chế phẩm sau 18 tháng bảo quản ở điều kiện thực và sau 6 tháng ở điều kiện lão hoá cấp tốc thay đổi không đáng kể. Tất cả các viên vẫn đạt yêu cầu về hàm lượng theo tiêu chuẩn cơ sở đã đề xuất.

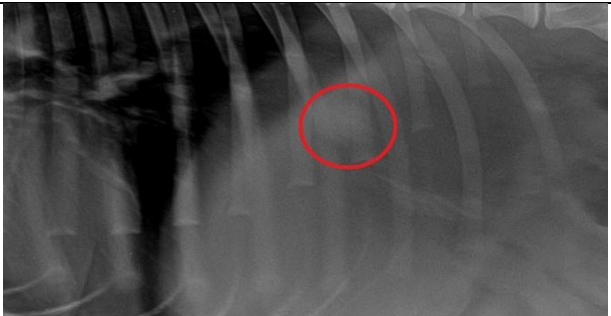
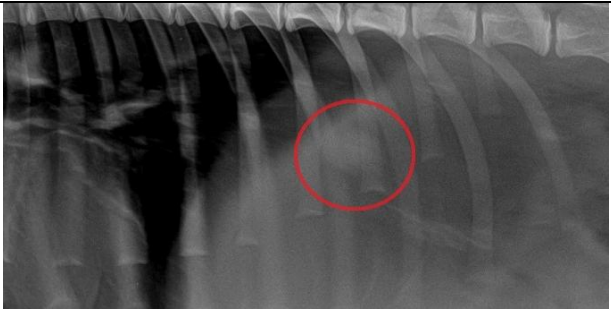
3.3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG NỞ VÀ SINH KHẢ DỤNG *IN VIVO*

Viên thử là viên nở verapamil 120 mg GPKD được bào chế theo phương pháp tạo hạt ướt (quy mô 10.000 viên/lô). Tiến hành nghiên cứu khả năng nở *in vivo* trên dạ dày chó và so sánh sinh khả dụng trên chó thí nghiệm giữ viên thử với viên đối chứng là verapamil MYLAN L.P 120mg GPKD.

3.3.1. Khả năng nở *in vivo* của của viên verapamil bào chế

Để đánh giá khả năng nở và lưu giữ thuốc tại dạ dày, nghiên cứu tiến hành thử nghiệm trên chó thực nghiệm. Kết quả chụp X-quang theo thời gian được thể hiện trong hình 3.9 như sau:

Thời điểm	Hình ảnh X-quang
0,5 giờ	
1 giờ	
2 giờ	

Thời điểm	Hình ảnh X-quang
4 giờ	
6 giờ	

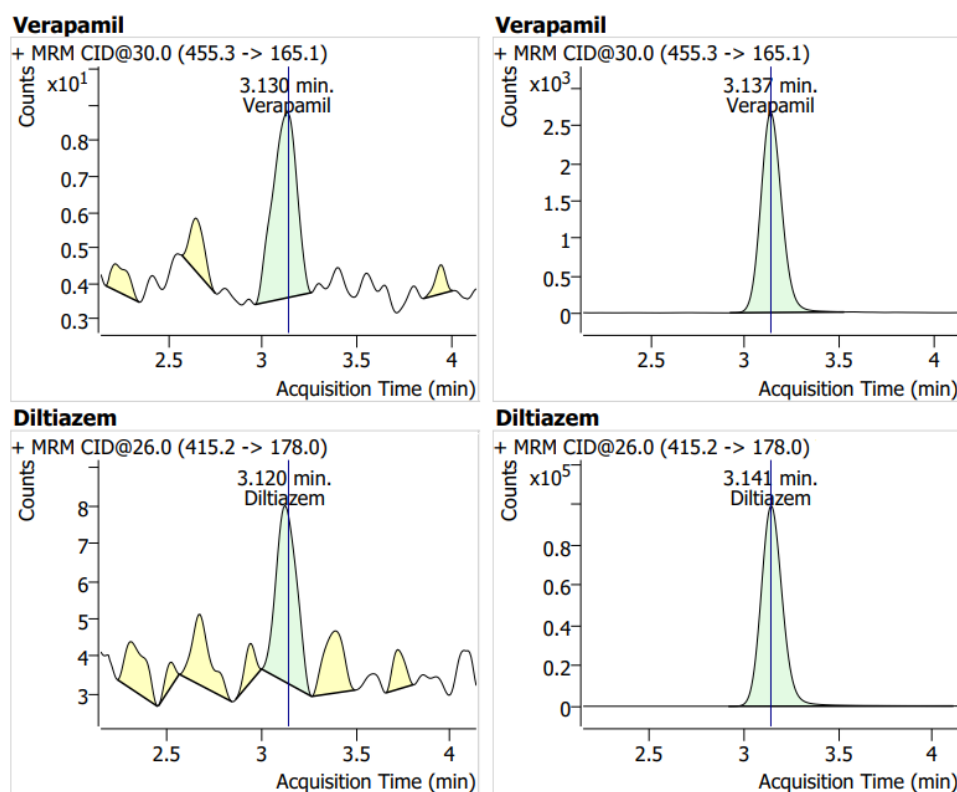
Hình 3. 9. Ảnh X-quang chứng minh khả năng lưu thuốc ở dạ dày chó

Kết quả hình 3.9 cho thấy: Theo thời gian hình ảnh viên có kích thước lớn lên và mờ dần. Nguyên nhân là do dịch vị đã thấm vào làm cho viên thuốc trương nở lớn hơn, một phần viên rã theo quá trình sủi và nổi làm giảm mật độ bari sulfat trong viên dẫn tới khả năng cản quang kém hơn. Sau 6 giờ hình ảnh viên thuốc đã mờ đi nhiều vì vậy thí nghiệm không tiếp tục chụp X-quang chó ở các thời điểm tiếp theo. Kết quả trên đã chứng minh được khả năng nổi và lưu giữ thuốc tại dạ dày của mẫu viên nén nổi verapamil 120 mg GPKD trên chó thực nghiệm.

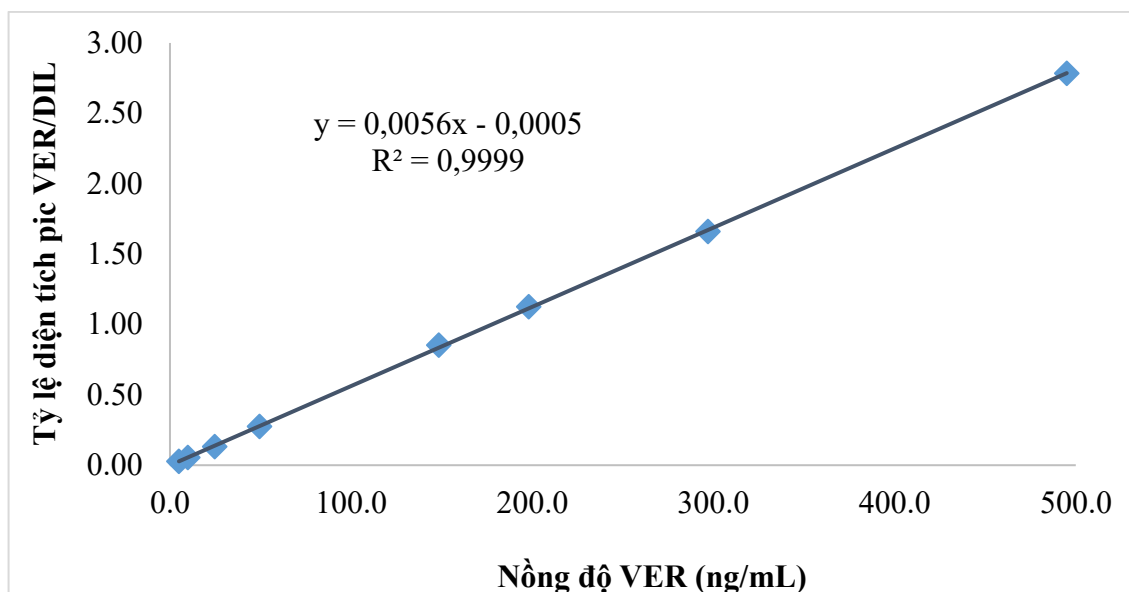
3.3.2. Xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng verapamil trong huyết tương chó bằng sắc ký lỏng khối phổ

Phương pháp định lượng VER trong huyết tương chó được tiến hành như mô tả trong mục 2.2.4. Để đảm bảo độ tin cậy cho kết quả phân tích trong huyết tương, tiến hành thẩm định phương pháp định lượng VER trong huyết tương theo hướng dẫn của FDA và dược điển Việt Nam về thẩm định phương pháp định lượng thuốc trong dịch sinh học. Các chỉ tiêu thẩm định bao gồm: Độ chọn lọc – độ đặc hiệu, đường chuẩn và khoảng tuyến tính, giới hạn định lượng dưới

(LLOQ), độ đúng và độ lặp lại, hiệu suất chiết, độ ổn định, độ nhiễu chéo. Kết quả thẩm định chi tiết được thể hiện trong **phụ lục 7**. Hình ảnh sắc ký đồ của mẫu huyết tương trắng và mẫu LLOQ được thể hiện trong hình 3.10. Mối tương quan giữa tỷ lệ diện tích pic của VER/DIL với nồng độ của VER trong huyết tương chó trong khoảng 5-495 ng/ml được minh họa trong hình 3.11.



Huyết tương trắng
LLOQ
Hình 3. 10. Sắc ký đồ mẫu huyết tương trắng và LLOQ



Hình 3. 11. Đồ thị biểu diễn sự tương quan giữ tỷ lệ diện tích pic và nồng độ verapamil trong huyết tương.

Kết quả hình 10 và 11 cho thấy, trong khoảng nồng độ từ 5,0 đến 495,0 ng/mL, có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ VER và tỷ lệ giữa diện tích pic của VER/DIL với bình phương hệ số tương quan xấp xỉ bằng 1 ($R^2=0,9999$). Nồng độ VER xác định từ đường chuẩn so với giá trị lý thuyết đạt 95,1-102,5% và nằm trong giới hạn cho phép ($\pm 15\%$). Đường chuẩn và khoảng tuyến tính đã xây dựng phù hợp với yêu cầu về phân tích thuốc trong dịch sinh học của FDA. Ngoài ra, các dữ liệu thẩm định chi tiết trong **phụ lục 7** cũng khẳng định độ tin cậy của phương pháp đã xây dựng. Do đó, các thí nghiệm tiếp theo sẽ ứng dụng phương pháp để xác định nồng độ verapamil trong huyết tương chó phục vụ mục đích nghiên cứu sinh khả dụng *in vivo* của thuốc.

3.3.3. Kết quả đánh giá sinh khả dụng của viên nôi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài trên chó

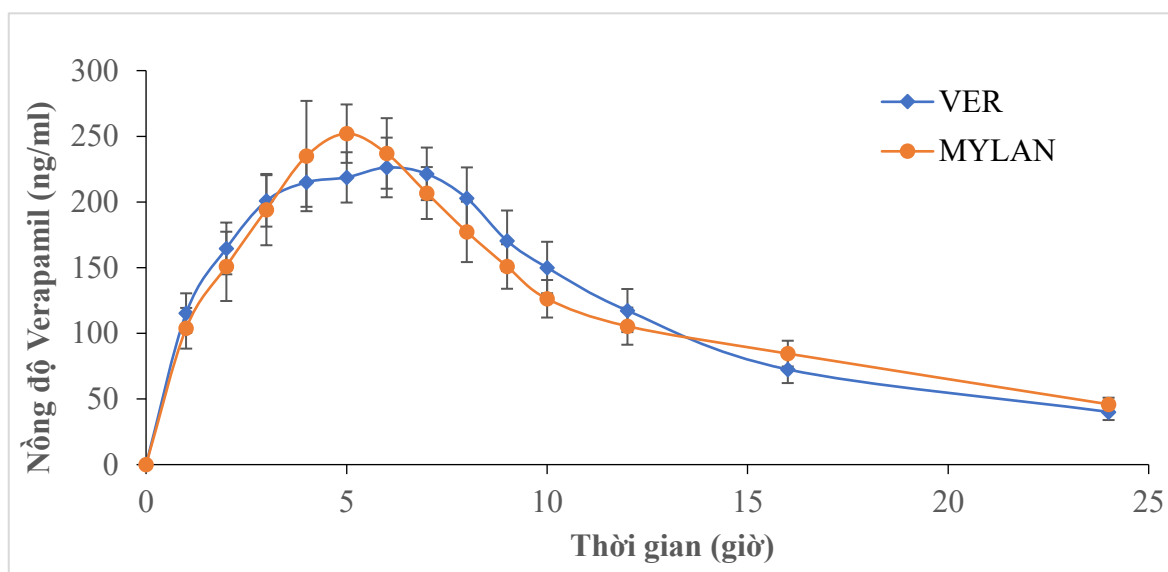
3.3.3.1. Xác định nồng độ verapamil trong huyết tương chó sau khi uống viên nôi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài và viên nén Verapamil MYLAN L.P 120mg

Tiến hành phân tích các mẫu huyết tương chó ở cả hai nhóm (thuốc thử và thuốc đối chứng) theo phương pháp đã trình bày ở mục 2.2.4.2. Xác định

nồng độ VER có trong mẫu dựa vào đường chuẩn. Từ kết quả phân tích nồng độ, vẽ được đường cong nồng độ (ng/mL) VER trung bình ($n = 6$) trong huyết tương theo thời gian (giờ). Kết quả được trình bày ở bảng 3.28 và hình 3.12.

Bảng 3. 28. Nồng độ VER (ng/mL) trong huyết tương chó theo thời gian ($n = 6$)

Thời gian (giờ)	0	1	2	3	4
Thuốc thử	0	115,4±15,1	164,6±19,7	200,8±19,6	214,9±18,6
Thuốc đối chứng	0	103,8±15,5	151,0±26,4	194,2±27,1	235,0±42,0
Thời gian (giờ)	5	6	7	8	9
Thuốc thử	218,7±19,2	226,3±22,7	221,4±20,0	202,8±23,5	170,5±23,0
Thuốc đối chứng	259,5±21,8	236,9±26,9	206,8±19,8	177,2±23,0	150,9±17,0
Thời gian (giờ)	10	12	16	24	
Thuốc thử	150,1±19,6	117,3±16,4	72,5±10,4	40,1±6,2	
Thuốc đối chứng	126,3±14,3	105,4±14,1	84,5±9,8	45,9±5,0	



Hình 3. 12. Đường cong nồng độ VER theo thời gian trong huyết tương chó sau khi uống viên nén verapamil 120 mg GPKD và viên nén Verapamil MYLAN L.P 120mg

3.3.3.2. So sánh sinh khả dụng in vivo

Từ kết quả định lượng nồng độ VER trong huyết tương chó (bảng 3.28) các thông số sinh khả dụng cơ bản của viên thử và viên đối chiếu được xác định bằng phần mềm Phoenix 8.3.4. Kết quả được trình bày ở bảng 3.29.

Bảng 3. 29. Các thông số sinh khả dụng in vivo trên chó (n = 6)

Thông số		λ_z (1/h)	T_{max} (h)	C_{max} (ng/ml)	AUC_{0-24} (h.ng/ml)	$AUC_{0-\infty}$ (h.ng/ml)	$AUMC_{0-\infty}$ (h.h.ng/ml)	MRT (h)
Viên thử	TB	0,0956	5,3	232,9	2907,5	3310,6	40342,3	12,1
	SD	0,0094	1,2	18,1	290,3	365	6190,7	0,7
Đối chứng	TB	0,0706	5,2	272,3	2904,1	3565,1	52383,2	14,7
	SD	0,0064	0,8	26,2	287,0	340,6	5289,9	0,6

Từ kết quả xác định các thông số sinh khả dụng của thuốc thử và thuốc đối chứng ở bảng 3.29, phân tích thống kê để xác định khoảng tin cậy 90% của $AUC_{0-\infty}$, C_{max} và MRT bằng kiểm định t-test so sánh cặp sau khi lấy logarit cơ số tự nhiên. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.30 như sau:

Bảng 3. 30. Kết quả so sánh thống kê AUC và C_{max}

	So sánh cặp logarit			antilogarit		t	Bậc tự do	p-value	
	Trung bình	Sai số chuẩn	90% khoảng tin cậy						
			Dưới	Trên	Dưới				Trên
AU C _{0-∞}	-0,0752	0,0545	-0,12	-0,0304	0,8869	0,9701	-3,38	5	0,020
Cmax	-0,1551	0,0795	-0,2205	-0,0897	0,8021	0,9142	-4,779	5	0,005

Kết quả bảng 3.30 cho thấy: Khoảng tin cậy của tỉ lệ giá trị [$AUC_{0-\infty}$] giữa viên nén verapamil 120 mg GPKD và viên nén Verapamil MYLAN L.P 120 mg từ 88,69 đến 97,01 nằm trong giới hạn từ 80 % đến 125 %. Do đó, hai giá trị [$AUC_{0-\infty}$] tương đương nhau và p-value là $0,02 < 0,05$ thể hiện kết quả phân tích có ý nghĩa thống kê. Nghĩa là, mức độ hấp thu VER vào máu từ viên nén Verapamil 120 mg GPKD và viên nén Verapamil MYLAN L.P 120mg tương đương nhau.

Khoảng tin cậy của tỉ lệ giá trị C_{max} giữa viên nỏ verapamil 120 mg GPKD và viên nén Verapamil MYLAN L.P 120mg từ 80,21-91,42 % nằm trong giới hạn từ 80% đến 125%. Do đó, giá trị C_{max} của viên nỏ verapamil 120 mg GPKD và viên nén Verapamil MYLAN L.P 120mg đối chiếu tương đương nhau.

Để so sánh sự khác nhau giữa thời gian để đạt được nồng độ cực đại (T_{max}) của viên nén verapamil 120 mg GPKD và viên nén Verapamil MYLAN L.P 120mg theo phương pháp thống kê phi tham số (Wilcoxon signed-rank test). Kết quả được thể hiện ở bảng 3.31.

Bảng 3. 31. So sánh giá trị T_{max} của viên nén verapamil 120 mg giải phóng kéo dài và viên nén verapamil MYLAN L.P 120mg

TT	Nội dung	Giá trị
1	Số cặp quan sát	6
2	Trung vị T_{max} thuốc thử	5,5
3	Trung vị T_{max} thuốc đối chứng	5,0
4	Số cặp âm	2
5	Số cặp dương	1
6	Số cặp bằng nhau	3
7	Tổng hạng âm	4
8	Tổng hạng dương	2
9	Z thống kê (Wilcoxon test statistic)	-0,577
10	p-value (2 phía)	0,564

Kết quả cho thấy sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa T_{max} của viên nén verapamil 120 mg GPKD và viên nén Verapamil MYLAN L.P 120mg ($Z = -0,577$, $p = 0,564 > 0,05$). Trong số 6 cặp quan sát, có 2 cặp cho thấy T_{max} thuốc đối chứng nhỏ hơn T_{max} thuốc thử, 1 cặp cho thấy T_{max} thuốc đối chứng lớn hơn T_{max} thuốc thử và 3 cặp có giá trị bằng nhau. Tổng hạng của các cặp có T_{max} thuốc đối chứng nhỏ hơn T_{max} thuốc thử là 4, trong khi tổng hạng của các cặp T_{max} thuốc đối chứng lớn hơn T_{max} thuốc thử là 2. Như vậy, kết quả phân tích không đủ bằng chứng để bác bỏ giả thuyết không (H_0), tức là không có sự khác biệt đáng kể giữa hai nhóm về giá trị T_{max} .

Như vậy, cả 3 thông số sinh khả dụng (AUC, C_{max} và T_{max}) của 2 thuốc so sánh là tương đương nhau. Bước đầu có thể kết luận thuốc thử và thuốc đối chứng tương đương về sinh khả dụng *in vivo* theo hướng dẫn của FDA và Dược điển Việt Nam V.

CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN

4.1. VỀ NGHIÊN CỨU VÀO CHẾ VIÊN NỔI VERAPAMIL 120 MG GIẢI PHÓNG KÉO DÀI

4.1.1. Bàn luận về kết quả khảo sát tương tác dược chất – tá dược

Việc khảo sát tương tác giữa dược chất VER và các tá dược dự kiến sử dụng đóng vai trò quan trọng trong bước đầu xây dựng công thức bào chế. Dược chất được trộn đồng nhất với tá dược để tạo hỗn hợp nghiên cứu. Các phương pháp phân tích phổ như phổ hồng ngoại (FT-IR), nhiệt vi sai (DSC) và phân tích cảm quan kết hợp định lượng được sử dụng để sơ bộ đánh giá tính tương hợp giữa VER và các tá dược [7], [68], [101]. Giai đoạn nghiên cứu tiền công thức này sẽ ghi nhận các tương tác không mong muốn có thể ảnh hưởng đến độ ổn định hóa học, tốc độ giải phóng và sinh khả dụng của thuốc. Từ đó loại trừ, thay thế tá dược có tương tác bất lợi, hoặc giảm tỉ lệ sử dụng, tiếp tục theo dõi mức độ ảnh hưởng đối với những tá dược có ảnh hưởng mức độ nhẹ và vừa.

Mặc dù, việc trộn tá dược – dược chất tỉ lệ 1:1 giúp ghi nhận nhanh các tương tác có thể xảy ra, tuy vậy, nó có thể quá cường điệu sự ảnh hưởng so với thực tế ở một số nhóm tá dược có tỉ lệ thấp trong công thức, như tá dược dính hoặc tá dược trơn. Ngoài ra, việc khảo sát độc lập dược chất với từng tá dược cũng chưa thể hiện được tương tác xảy ra đồng thời khi có mặt tất cả các loại tá dược và dược chất trong chế phẩm bào chế.

4.1.1.1. Kết quả đánh giá cảm quan và định lượng

Trong quá trình bảo quản hỗn hợp dược chất và tá dược tại điều kiện thực trong 1 tháng, không ghi nhận sự thay đổi về màu sắc, mùi hoặc trạng thái vật lý của hỗn hợp. Hàm lượng VER trong các mẫu bảo quản ở điều kiện thực đạt trên 99% và phần lớn các mẫu trong điều kiện lão hóa cấp tốc đạt trên 90%.

Kết quả này cho thấy không có sự phân hủy VER đáng kể xảy ra trong thời gian ngắn, đồng thời tá dược khảo sát không gây bất ổn cho dược chất về mặt hóa học ở điều kiện thực. Tuy vậy, ở điều kiện lão hóa cấp tốc, ghi nhận sự sụt giảm hàm lượng rõ rệt khi phối hợp VER và gôm guar. Do đó, các thí nghiệm tiếp theo đã loại tá dược này khỏi công thức bào chế để tránh các rủi ro không lường trước. Ngoài ra, PVP K30 cũng gây giảm hàm lượng VER trên 9 %, điều này có thể do sự có mặt của muối kiềm xúc tác cho phản ứng phân hủy dược chất. Tuy nhiên, trong công thức bào chế, PVP K30 được sử dụng với tỉ lệ khá nhỏ (khoảng 5 %) làm tá dược dính nên không ảnh hưởng mạnh mẽ như trường hợp của gôm Guar. Đồng thời, nhiều tác giả khác cũng sử dụng PVP K30 làm tá dược dính trong công thức cuối cùng [7], [66], [68]. Vì vậy nghiên cứu vẫn giữ nguyên việc sử dụng tá dược này trong các thí nghiệm khảo sát công thức bào chế viên nén nổi VER 120 mg GPKD. Mặc dù kết quả nghiên cứu cho thấy sự sụt giảm hàm lượng trên 5 % xảy ra ở khá nhiều mẫu tá dược, nhưng sau khi bào chế thành viên hoàn chỉnh thì tỉ lệ các tá dược sẽ thay đổi (không còn là 50 % như trong thiết kế tiền công thức), diện tích tiếp xúc với môi trường và mức độ chịu ảnh hưởng kỳ vọng sẽ nhỏ hơn. Do đó, mặc dù thay đổi hàm lượng đáng kể, nhưng các tá dược không làm sụt giảm hàm lượng quá 10% vẫn được sử dụng cho nghiên cứu này. Ngoài ra, việc chỉ định lượng trên một mẫu (ở mỗi điều kiện) có thể gây sai số hệ thống khi phân tích.

So sánh với các nghiên cứu đã công bố, kết quả của luận án cũng phù hợp với kết quả của Patidar D. và cộng sự (2016), VER khi phối hợp với HPMC K15M, xanthan gum và natri hydrocarbonat cũng ít gây ra sự thay đổi về cảm quan hay hàm lượng sau bảo quản 6 tháng ở điều kiện cấp tốc [69]. Tương tự, nghiên cứu của Kumar R. và cộng sự (2021) cho thấy VER ổn định khi kết hợp với HPMC-K15M và gôm karaya [68].

4.1.1.2. Kết quả phân tích phổ hồng ngoại và nhiệt vi sai

Phổ hồng ngoại của VER nguyên chất thể hiện các đỉnh đặc trưng bao gồm: Dải dao động N–H kéo dài ở khoảng 3300 cm^{-1} , dao động C=O ở $1690\text{--}1720\text{ cm}^{-1}$ và dải dao động C–N ở khoảng $1100\text{--}1250\text{ cm}^{-1}$. Các phổ IR của hỗn hợp vật lý VER với từng tá dược riêng lẻ hoặc hỗn hợp tá dược đều cho thấy các đỉnh đặc trưng này vẫn được bảo tồn, không có sự thay đổi đáng kể về vị trí hoặc cường độ đỉnh. Điều này cho thấy không có tương tác hóa học xảy ra giữa VER và các tá dược khảo sát, bao gồm HPMC K4M, HPMC E6, Avicel, lactose và natri hydrocarbonat. Kết quả này phù hợp với các tài liệu đã công bố trước đó [68], [102], [103].

Phân tích nhiệt vi sai (DSC) cũng góp phần xác nhận tính tương thích. So sánh đặc điểm của giản đồ nhiệt của VER độc lập và hỗn hợp dược chất – tá dược về sự xuất hiện thêm hoặc mất đỉnh, sự dịch chuyển của các đỉnh đặc trưng là dấu hiệu hình thành tương tác bền vững hoặc phức chất mới. Điều này chỉ ra rằng các tá dược được lựa chọn có hoặc không ảnh hưởng đến đặc tính nhiệt của VER, củng cố giả thiết về tính tương hợp giữa các tá dược khảo sát và VER [7], [68]. Hầu hết các tá dược khảo sát không quan sát thấy xuất hiện tương tác mạnh. Tuy nhiên, trên giản đồ nhiệt của hỗn hợp VER và natri hydrocarbonat có thấy sự dịch chuyển đỉnh hấp thụ nhiệt từ 163°C lên 182°C , điều này có thể lý giải do phản ứng phân hủy nhiệt của natri hydrocarbonat xảy ra ở vùng 150°C đến 200°C . Do đó, quá trình hấp thụ nhiệt xảy ra trùng lặp với quá trình nóng chảy của VER dẫn đến đỉnh quan sát được không phải là của dược chất. Vì vậy, biến đổi này không thể sử dụng để loại trừ natri hydrocarbonat khỏi nghiên cứu tiếp theo. Mặt khác, natri hydrocarbonat có thể tương tác hóa học với dược chất, do tá dược này có tính kiềm, trong khi dược chất dạng muối với acid hydrocloric có tính acid. Nhưng nếu tương tác này xảy

ra sẽ chuyển VER từ dạng muối về dạng base sẽ có nhiệt nóng chảy thấp hơn. Các dữ liệu quan sát được có thể là kết quả của nhiều tương tác giữa VER và natri hydrocarbonat xảy ra đồng thời. Tuy vậy, kết quả là không có sự thay đổi đáng kể nào của hàm lượng dược chất được ghi nhận trong hỗn hợp với natri hydrocarbonat. Đồng thời, vai trò sinh khí của NaHCO_3 là khó có thể thay thế trong công thức viên nổi lưu ở dạ dày.

Ngoài ra, kết quả DSC của VER và magnesi stearat cũng ghi nhận sự dịch chuyển đỉnh hấp thụ nhiệt về phía thấp hơn (từ 163°C xuống 155°C). Đây được coi là 1 sự dịch chuyển nhỏ hoặc vừa. Nguyên nhân có thể đến từ tương tác vật lý của tá dược trơn, có đặc điểm sơ nước. Sự có mặt của tá dược này làm biến mạng tinh thể của muối verapamil hydroclorid dẫn đến giảm nhiệt độ nóng chảy của dược chất.

Tóm lại, các kết quả nghiên cứu tương tác dược chất – tá dược cho thấy: VER tương thích tốt với các tá dược được sử dụng. Trừ gồm Guar, không có tương tác hóa học hay vật lý bất lợi nào đáng kể được ghi nhận qua phân tích FT-IR, DSC, quan sát cảm quan hoặc định lượng. Các tá dược được chọn lựa như HPMC K4M, HPMC K100M, HPMC E6, Carbopol 940, Avicel PH101, lactose và natri hydrocarbonat đều là các tá dược đã được chứng minh tương thích với VER trong nhiều nghiên cứu trước đây. Việc khẳng định được tính tương hợp dược chất–tá dược là cơ sở khoa học vững chắc để tiến hành các bước tiếp theo trong nghiên cứu phát triển công thức viên nén nổi VER giải phóng kéo dài.

4.1.2. Bàn luận về công thức bào chế cơ bản

4.1.2.1. Ảnh hưởng của tá dược điều khiển giải phóng

Các polymer tạo gel là yếu tố chính kiểm soát tốc độ giải phóng của VER từ viên nén nổi. Trong nghiên cứu này, nhiều tá dược ĐKGP được khảo sát bao

gồm HPMC K4M, HPMC K100M, HPMC E6, ethylcellulose (EC) và Carbopol.

HPMC K4M cho thấy khả năng tạo gel tốt, ổn định, duy trì cấu trúc viên trong suốt quá trình hòa tan. Các công thức chứa HPMC K4M ở hàm lượng ≥ 100 mg duy trì thời gian nổi > 12 giờ và giải phóng thuốc đều đặn đến 12 giờ, không xuất hiện hiện tượng bùng nổ giải phóng. Điều này phù hợp với nhiều công bố quốc tế như Ahmad K. và cộng sự (2015) và Patidar D. và cộng sự (2016) trong đó HPMC K4M hoặc K15M được sử dụng làm tá dược chính để kiểm soát giải phóng của VER với hiệu quả nổi từ 12–24 giờ và Q12 đạt $> 85\%$ [8], [104].

Ethylcellulose (EC) cho thấy khả năng kiểm soát giải phóng kém hơn so với HPMC. Mặc dù là polymer không tan trong nước, EC không tạo gel tốt và dễ bị xói mòn khi không được phối hợp với polymer trương nở. Trong nghiên cứu này, các công thức chứa EC không duy trì được cấu trúc viên sau 6–8 giờ. Nghiên cứu của Efentakis M. và cộng sự (2012), khi kết hợp Polyox với Ethocel (EC), lớp gel hình thành mỏng hơn và khả năng kiểm soát giải phóng kém hơn so với các công thức có natri alginate, dẫn đến tốc độ giải phóng nhanh hơn [105]. Ngoài ra, Kranz H. và cộng sự (2014) cũng ghi nhận viên nén không có lớp bao ethylcellulose bị hydrat hóa nhanh, trương nở yếu và dễ xói mòn, khiến cấu trúc viên không duy trì được sau 6–8 giờ [106]. Các kết quả đã công bố hoàn toàn phù hợp với kết quả của luận án. Kết quả khảo sát cho thấy HPMC K4M là lựa chọn ưu tiên cho hệ kiểm soát giải phóng dựa trên cơ chế trương nở và khuếch tán, đồng thời tạo nền tảng cho việc phối hợp với các polymer khác như HPMC E6 để tối ưu hóa mô hình giải phóng.

Trong các thí nghiệm khảo sát tỉ lệ sử dụng của HPMC K4M cho thấy việc tăng hàm lượng HPMC K4M sẽ làm tăng độ trương nở dẫn đến kiểm soát

giải phóng tốt hơn, do tạo gel dày hơn, tăng cản trở khuếch tán. Đồng thời, T_{lag} tăng nhẹ khi tăng hàm lượng HPMC, do lớp gel ban đầu cần thời gian hydrat hóa, cản trở quá trình rã của lactose và Avicel. Các kết quả này trùng khớp với nghiên cứu của Abbaraju P. và cộng sự (2012), trong đó công thức chứa 120 mg HPMC K4M cho tốc độ giải phóng chậm nhất, duy trì nồng độ thuốc đến 24 giờ. Cũng theo Patidar D. và cộng sự (2016), mức HPMC $\geq 25\%$ trọng lượng viên cho hiệu quả kiểm soát tối ưu nhất, R^2 theo mô hình Korsmeyer–Peppas > 0.99 [15], [69].

Việc phối hợp hai loại HPMC có độ nhớt khác nhau nhằm mục tiêu điều chỉnh tốc độ giải phóng: HPMC E6 có độ nhớt thấp, dễ hydrat hóa, hỗ trợ giai đoạn giải phóng ban đầu (Q1–Q2); trong khi HPMC K4M có độ nhớt cao, cần thiết cho kiểm soát giải phóng trung – hậu kỳ (Q6–Q12). Các công thức phối hợp theo tỉ lệ K4M:E6 = 70:40 và 60:50 cho thấy T_{lag} giảm đáng kể (~60 giây) so với dùng K4M đơn độc (~85 giây). Q2 và Q5 tăng rõ rệt, giúp rút ngắn thời gian đạt nồng độ điều trị. Đồng thời, Q8 vẫn đạt $>85\%$, phù hợp tiêu chuẩn giải phóng kéo dài. Phối hợp HPMC nhiều cấp độ nhớt cũng được chứng minh hiệu quả trong duy trì nồng độ thuốc.

4.1.2.2. Ảnh hưởng của tá dược sinh khí

Natri hydrocarbonat là yếu tố quyết định khả năng nổi và thời gian trì hoãn nổi, quyết định khả năng lưu thuốc tại dạ dày. Trong nghiên cứu này, khối lượng natri hydrocarbonat được khảo sát từ 20 đến 60 mg. Kết quả cho thấy: natri hydrocarbonat được sử dụng 40 mg trong công thức cho thời gian trì hoãn nổi tối ưu (~60 giây) và duy trì nổi trên 12 giờ. Nếu natri hydrocarbonat dùng dưới 30 mg thì viên nổi chậm hoặc không nổi. Ngược lại, lượng natri hydrocarbonat trên 50 mg thì rã viên sớm, giải phóng nhanh ($Q_8 > 95\%$), do cấu trúc viên bị phá vỡ bởi khí sinh ra quá nhiều [107]. Việc sử dụng natri

hydrocarbonat là tá dược sinh khí duy nhất cũng được nhiều tác giả công bố [18], [67], [69]. Việc sử dụng độc lập natri hydrocarbonat cho công thức đơn giản, rẻ, ổn định hơn khi bảo quản do không có hệ acid–base nội bộ nên ít nguy cơ tương tác tá dược – tá dược khi có mặt ẩm; giảm yêu cầu chống ẩm của viên khi bảo quản. Việc không sử dụng acid hữu cơ cũng giảm nguy cơ ăn mòn thiết bị/bao bì. Ngoài ra, còn hạn chế xảy ra tương tác tạo muối muối hữu cơ (citrat/tartrat) với dược chất có thể gây thay đổi tính chất giải phóng.

Tuy vậy, việc sử dụng độc lập natri hydrocarbonat làm tá dược sinh khí có thể làm T_{lag} khó ổn định và thường dài hơn vì phải chờ HCl dạ dày khuếch tán vào viên mới phản ứng và sinh khí CO_2 . Khi sử dụng quá nhiều tá dược ĐKGP, T_{lag} có thể dao động lớn giữa trạng thái no/đói, người dùng thuốc ức chế bơm proton hoặc người giảm acid dạ dày. Luận án sử dụng phối hợp HPMC K4M và HPMC E6 là các polymer thân nước có độ nhớt vừa phải giúp quá trình hydrat xảy ra nhanh hơn và acid sớm thấm vào viên để phản ứng với natri hydrocarbonat và gây ra hiện tượng nổi.

4.1.2.3. Ảnh hưởng của tá dược độn

Avicel PH101 và lactose được khảo sát vai trò làm chất độn trong viên nén nổi, trong đó Avicel giúp tăng độ cứng, giảm rã, hỗ trợ định hình viên nén còn lactose làm tăng tính thấm ẩm, hỗ trợ hòa tan, nhưng ở nồng độ cao có thể gây bùng nổ giải phóng do tan mạnh. Kết quả cho thấy phối hợp Avicel:lactose tỉ lệ 50:72 giúp viên có tính nổi ổn định, độ rã chậm, lượng lactose lớn hơn Avicel giúp rút ngắn thời gian trì hoãn nổi và Q8 đạt 85–90%. Điều này phù hợp với quan sát từ nghiên cứu của Patidar D. và cộng sự (2016), trong đó lactose hỗ trợ tạo lỗ rỗng và làm tăng tốc độ giải phóng ban đầu, nhưng nếu dùng đơn độc sẽ làm rã viên nhanh [69].

4.1.3. Bàn luận về tối ưu hóa công thức bào chế

Sau giai đoạn khảo sát các công thức cơ bản, luận án đã ứng dụng phần mềm INForm 3.1 để tối ưu hóa thành phần công thức viên nén nổi verapamil hydrochloride (VER) giải phóng kéo dài dựa trên mô hình mạng nơ-ron nhân tạo. Các biến độc lập là hàm lượng HPMC K4M (X1), HPMC E6 (X2) và NaHCO_3 (X3), trong khi các biến phụ thuộc gồm tỉ lệ giải phóng dược chất tại các thời điểm (Y1–Y8) và thời gian trì hoãn nổi (T_{lag}). Mục tiêu là đạt giá trị T_{lag} nhỏ hơn 180 giây và đảm bảo các chỉ tiêu giải phóng phù hợp với tiêu chuẩn USP 43 cho viên nén VER giải phóng kéo dài.

Phân tích hồi quy từ phần mềm cho thấy độ phù hợp cao với R^2 thử và R^2 huấn luyện đều đạt từ 98–100%, chứng minh mô hình có khả năng dự đoán tốt mối liên hệ giữa các yếu tố công thức và đặc tính viên. Kết quả tối ưu được phần mềm đề xuất là công thức chứa HPMC K4M 59 mg, HPMC E6 35 mg, natri hydrocarbonat 29,3 mg, kết hợp với Avicel PH101 50 mg và lactose 98,7 mg làm tá dược độn, cùng các tá dược phụ như magnesi stearat 8 mg và PVP K30 10% làm tá dược dính.

Công thức này cho kết quả thực nghiệm có thời gian trì hoãn nổi T_{lag} là 89 ± 4 giây, viên nổi ổn định trên 12 giờ. Độ hòa tan cho thấy tỉ lệ thuốc giải phóng tại các thời điểm 1, 2, 3, 5, 5 và 8 giờ lần lượt là $15,38 \pm 0,66\%$; $26,03 \pm 1,29\%$; $43,14 \pm 1,50\%$; $53,12 \pm 1,38\%$ và $81,03 \pm 3,07\%$. Các thông số này hoàn toàn đáp ứng yêu cầu tối ưu đề ra và phù hợp với tiêu chuẩn chuyên luận USP 43.

So với các công thức khảo sát ban đầu, công thức tối ưu cho thấy sự cân bằng tốt giữa thời gian trì hoãn nổi, độ nổi ổn định và kiểm soát tốc độ giải phóng. Với tỉ lệ HPMC K4M thấp hơn nhiều công thức khác (chỉ 59 mg so với 70–100 mg ở N11–N13), công thức vẫn duy trì gel đủ bền để kiểm soát khuếch

tán dược chất. Sự hiện diện của HPMC E6 với độ nhớt thấp giúp viên hydrat hóa nhanh, hỗ trợ giải phóng thuốc sớm ở giờ đầu. NaHCO_3 ở mức 29,3 mg vừa đủ để sinh khí đảm bảo viên nổi nhanh nhưng không gây phá vỡ cấu trúc viên.

Đánh giá động học giải phóng dược chất từ viên nén tối ưu cho thấy mô hình Korsmeyer–Peppas là mô hình phù hợp nhất với hệ số tương quan $R^2_{hc} = 0,997$ và chỉ số AIC thấp nhất (35,18), quá trình giải phóng không theo quy luật Fick, kết hợp giữa khuếch tán dược chất và sự giãn nở của lớp gel HPMC – đặc điểm phù hợp với hệ thống kiểm soát giải phóng dùng polymer thân nước.

Khi đối chiếu với các kết quả đã công bố, có thể nhận thấy công thức tối ưu của nghiên cứu này đạt được sự cân bằng tốt giữa ba yếu tố quan trọng: Khả năng nổi, tốc độ giải phóng thuốc và độ ổn định lý hóa của viên.

Trong nghiên cứu của Patel A. và cộng sự (2009) công thức tối ưu sử dụng HPMC K15M 60 mg, natri hydrocarbonat và citric acid để sinh khí, với T_{lag} 65 giây và thời gian nổi >24 giờ. Công thức này đạt giải phóng kéo dài trong 12 giờ với $Q_{12} > 90\%$ [8]. Tuy nhiên, HPMC K15M có độ nhớt cao hơn HPMC K4M, thường dẫn đến thời gian hydrat hóa dài và dễ tạo gel quá đặc, gây chậm giải phóng ban đầu. Công thức trong nghiên cứu sử dụng HPMC K4M phối hợp với HPMC E6 – một loại polymer có độ nhớt thấp – giúp kiểm soát tốt cả giai đoạn đầu và giữa của quá trình giải phóng. Nhờ đó, Q2 và Q5 trong công thức tối ưu vẫn đảm bảo đạt nồng độ điều trị nhanh hơn, trong khi Q8 vẫn duy trì ở mức >80%, phù hợp với mục tiêu kiểm soát giải phóng trong 12 giờ.

So sánh với nghiên cứu của Syeda A.T. và cộng sự (2013), sử dụng Methocel K4M và Carbopol 934P với T_{lag} 35 giây, thời gian nổi >24 giờ và Q12 đạt khoảng 95%, có thể thấy thời gian nổi của công thức đó vượt trội hơn.

Tuy nhiên, Carbopol là polymer có khả năng hút nước và trương nở rất mạnh, dễ làm rã viên sớm nếu không phối hợp chính xác tỉ lệ với HPMC. Trong khi đó, công thức hiện tại duy trì độ nổi trên 12 giờ mà vẫn ổn định về hình thái viên và có tốc độ giải phóng đều, hạn chế tối đa hiện tượng burst release trong 2 giờ đầu – một ưu điểm quan trọng trong kiểm soát dược động học của VER [107].

Nghiên cứu của Patidar D. và cộng sự (2016) sử dụng gôm xanthan phối hợp HPMC K15M cho thấy $T_{lag} = 62$ giây, thời gian nổi 21 giờ, nhưng tỉ lệ thuốc giải phóng tại 12 giờ chỉ đạt 78,4%. Điều này phản ánh sự giảm dần giải phóng khi lớp gel quá đặc. So với đó, công thức tối ưu của luận án đạt $Q_8 > 80\%$ và có độ nổi ổn định, điều này cho thấy hiệu quả vượt trội trong việc duy trì sự cân bằng giữa kiểm soát giải phóng và ổn định cấu trúc viên [69].

Abbaraju P.L. và cộng sự (2012) đã phát triển viên nén nổi sử dụng HPMC K4M và gum kondagogu, trong đó công thức tối ưu F9 đạt $T_{lag} = 38,6$ giây, thời gian nổi 24,35 giờ và giải phóng thuốc duy trì trong 24 giờ với tốc độ khá đều. Tuy nhiên, Q_8 chỉ đạt khoảng 60%, cho thấy mức độ khuếch tán được chất trong 8 giờ đầu còn hạn chế, không lý tưởng với VER – một hoạt chất có sinh khả dụng thấp và cần đạt nồng độ điều trị nhanh. Ngược lại, công thức xây dựng có ưu thế rõ rệt về mức độ giải phóng thuốc sớm, cải thiện sinh khả dụng mà vẫn đảm bảo kiểm soát ở các giai đoạn sau [15].

Ngoài ra, Gangadharappa H.V. và cộng sự (2021) sử dụng karaya gum và HPMC K15M đã tối ưu công thức B1 với $T_{lag} = 62$ giây, thời gian nổi ~21 giờ, $Q_{12} > 75\%$, phù hợp mô hình khuếch tán Fickian [67]. Công thức này tương đương về tốc độ nổi, nhưng loại polymer tự nhiên như karaya gum có khả năng hút ẩm và độ ổn định thấp hơn HPMC – điều không lý tưởng nếu xét đến yêu cầu bảo quản dài hạn.

Công thức bào chế tối ưu của luận án cũng cho thấy ưu điểm khi so với công thức trong nghiên cứu của Asha S.K.M. và cộng sự (2013) về viên nén nổi hai lớp. Công thức đó cho $T_{lag} = 65$ giây, nổi >13 giờ và kiểm soát giải phóng đến 12 giờ, nhưng đòi hỏi quy trình bào chế phức tạp hơn (bilayer) [72]. Công thức của luận án chỉ dùng một lớp, đơn giản hóa quy trình sản xuất nhưng vẫn đạt hiệu quả tương đương về dược động học và độ nổi [72].

Các mẫu N7 và N17 có hàm lượng nằm sát giới hạn giới của tiêu chuẩn (90 %). Kết quả này có thể do nguyên nhân sai số khi thực hiện chuẩn bị viên ở quy mô 100 viên. Hàm lượng các viên không đồng đều có thể phản ánh không chính xác đến độ hòa tan (so sánh với hàm lượng nhãn). Mặt khác, trong quá trình bào chế mẻ nhỏ, việc dập viên theo khối lượng 400 mg gây ra một sai số âm đáng kể về hàm lượng của viên, kết quả là độ hòa tan ở các thời điểm kiểm soát rất gần với giới hạn giới. Tuy nhiên, các vấn đề này không gặp phải khi bào chế ở quy mô lớn (khối lượng trung bình viên được tính là 430 mg).

Tổng thể, công thức tối ưu của nghiên cứu không chỉ đạt yêu cầu về giải phóng kéo dài và nổi ổn định, mà còn thể hiện sự cải tiến hợp lý so với các nghiên cứu trước đó nhờ ứng dụng mô hình hóa hiện đại và sử dụng phối hợp polymer hợp lý. Đây là cơ sở quan trọng để khẳng định giá trị khoa học và tính khả thi trong phát triển thuốc ở quy mô sản xuất và các thí nghiệm tiếp theo.

4.1.4. Bàn luận về nâng cấp và thẩm định quy trình bào chế quy mô 10 000 viên/lô

Quy trình bào chế viên nén nổi verapamil 120 mg GPKD đã được xây dựng ở quy mô phòng thí nghiệm (100 viên/mẻ), sau đó được nâng cấp lên quy mô pilot với 10 000 viên/lô. Việc mở rộng quy mô sản xuất yêu cầu hiệu chỉnh nhiều thông số kỹ thuật để đảm bảo đặc tính sản phẩm không thay đổi, bao gồm lựa chọn thiết bị phù hợp, tối ưu thời gian trộn, sấy, dập viên và thẩm định toàn

bộ quy trình. Đây là bước bắt buộc trong phát triển dạng bào chế mới, nhằm đảm bảo tính tái lập và khả năng sản xuất thực tế.

Quy trình sản xuất viên nôi VER 120 mg GPKD quy mô pilot bao gồm các giai đoạn chính: Xử lý nguyên liệu, trộn bột kép, tạo hạt ướt bằng máy nhào trộn cao tốc, sấy tầng sôi, sửa hạt, trộn hoàn tất và dập viên bằng máy dập viên quay tròn 8 chày. Trong quy trình này có điều chỉnh một số giai đoạn và sử dụng các thiết bị có nguyên lý hoạt động khác biệt so với quy mô phòng thí nghiệm khi khảo sát công thức bào chế. Ở quy mô lớn, quá trình tạo hạt ướt trên máy nhào tạo hạt cao tốc. Với quy mô phòng thí nghiệm, khối ẩm được tạo ra bằng cách trộn đều hỗn hợp bột với tá dược dính trong cối, ủ trong túi PE rồi xát hạt thủ công qua rây. Sự thay đổi này có thể ảnh hưởng đến mức độ trương nở polymer, độ bền chắc của cốm. Do vậy, trong quy trình bào chế viên nôi VER 120 mg GPKD quy mô 10 000 viên/ lô, sau khi tạo hạt ướt, tiếp tục ủ ẩm trong máy nhào tạo hạt 30 phút để quá trình trương nở các polymer xảy ra hoàn toàn tạo khối ẩm đồng nhất, trước khi xả hạt khỏi máy.

Giai đoạn sấy hạt cũng có sự thay đổi từ tủ sấy tĩnh, sang thiết bị sấy tầng sôi. Việc thay đổi này phù hợp với quy mô bào chế lớn, giúp tăng tiếp xúc nhiệt với hạt và giảm thời gian sấy. Từ đó, giúp tiết kiệm thời gian sản xuất và giảm rủi ro chất lượng liên quan đến phân hủy dược chất do nhiệt độ cao. Mặc dù việc sử dụng cồn cao độ để chuẩn bị dung dịch PVP giúp kiểm soát hàm lượng nước trong khối ẩm để hạn chế tương tác giữa natri hydrocarbonat và verapamil hydroclorid (phản ứng trung hòa). Tuy nhiên, cồn cao độ sẽ gây nguy cơ cháy nổ và tồn dư dung môi hữu cơ. Do vậy cần có giải pháp đảm bảo an toàn và đánh giá tồn dư dung môi. Trong quy trình sấy cũng tiến hành thổi gió thường trước khi gia nhiệt nhằm hạn chế nguy cơ cháy nổ.

Bước dập viên được thay đổi thiết bị từ máy dập viên tâm sai qua máy dập viên quay tròn. Các nguyên liệu được cấp từ phễu vào cối ổn định hơn, không bị sa lắng, phân lớp do khác biệt tỉ trọng khi phễu cấp liệu di chuyển (máy dập viên tâm sai). Ngoài ra, việc dập viên trên máy quay tròn có ưu điểm lực nén từ 2 mặt của viên nên phân tán lực tốt hơn, tính chất nổi và kiểm soát giải phóng của viên sẽ ổn định hơn và phù hợp với công suất lớn.

Khi thay đổi các thiết bị bào chế, việc khảo sát lại một số thông số quá trình là cần thiết. Do vậy, trong giai đoạn trộn bột kép, thời gian trộn được khảo sát ở 5, 7 và 9 phút với tốc độ cánh chính 100 rpm. Kết quả cho thấy ở 7 phút, độ đồng đều hàm lượng verapamil đạt $RSD = 1,10\%$, thấp nhất trong các nhóm thử, cho thấy độ phân tán tốt, phù hợp với yêu cầu giới hạn $RSD \leq 2\%$.

Giai đoạn tạo hạt ướt sử dụng PVP K30 10% trong ethanol làm dung dịch dính, trộn ở tốc độ cánh chính 100 rpm và cánh phụ 1200 rpm trong 5 phút. Sau đó, khối ẩm được ủ trong 30 phút, sấy se 3 phút và sàng hạt qua rây 0,8 mm trước khi sấy khô hoàn toàn. Sấy khô được kiểm soát ở 60°C trong 15 phút, giúp cốm đạt độ ẩm $2,45 \pm 0,03\%$ ($RSD \sim 3\%$), nằm trong giới hạn 2–3% yêu cầu.

Giai đoạn trộn hoàn tất được thực hiện trong 10 phút ở tốc độ 20 rpm trên máy trộn lập phương. Kết quả phân tích hàm lượng VER tại 10 vị trí khác nhau trên khối bột cho thấy $RSD < 2\%$, chỉ số Carr dao động từ 18,03–18,25% phản ánh tính chất trơn chảy tốt của cốm.

Trong giai đoạn dập viên, tốc độ dập được khảo sát từ 10–20 rpm. Tại tốc độ 15 rpm, RSD khối lượng viên chỉ còn 1,08% và độ cứng $9,9 \pm 0,39$ kp với $RSD = 3,95\%$ – là thông số tối ưu cho sản xuất ổn định. Biểu đồ kiểm soát Shewhart Xbar-S và Cusum cũng xác nhận khối lượng viên giữa các thời điểm lấy mẫu luôn nằm trong giới hạn kiểm soát.

Thẩm định 3 lô thử nghiệm (L01, L02, L03) cho thấy tất cả các lô đều có thời gian trì hoãn nổi và tỉ lệ giải phóng tại 8 giờ phù hợp với công thức tối ưu. Tính đồng nhất giữa các lô được khẳng định qua các chỉ tiêu như hàm lượng, độ cứng, độ dày và tỉ lệ giải phóng đều đạt yêu cầu, chứng tỏ quy trình sản xuất đã được kiểm soát tốt và có thể áp dụng ổn định ở quy mô lớn.

Khác với nghiên cứu đã công bố chỉ khảo sát hoặc tối ưu công thức ở quy mô phòng thí nghiệm (100 viên), luận án đã thiết kế nghiên cứu một cách bài bản và đầy đủ để xây dựng công thức và quy trình bào chế viên nổi VER 120 mg GPKD ở quy mô 10 000 viên/lô. Bắt đầu với việc nghiên cứu tương tác dược chất – tá dược, sau đó khảo sát công thức bào chế ở quy mô phòng thí nghiệm, tối ưu hóa thực nghiệm để lựa chọn công thức tối ưu, nâng cấp và thẩm định quy trình sản ở quy mô 10 000 viên/lô. Tính mới nổi bật của luận án là chứng minh được khả năng mở rộng từ quy mô phòng thí nghiệm lên lô 10 000 viên một cách tin cậy, sẵn sàng cho chuyển giao công nghệ, điều mà các nghiên cứu khác chưa làm được.

4.2. VỀ XÂY DỰNG TIÊU CHUẨN CƠ SỞ VÀ ĐÁNH GIÁ ĐỘ ỔN ĐỊNH

4.2.1. Bàn luận về tiêu chuẩn cơ sở và chất lượng của viên nổi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài

Dựa trên tham khảo Dược điển Việt Nam, Dược điển Mỹ và kết quả khảo sát chất lượng các viên nổi VER 120 mg GPKD sản xuất ở quy mô 10 000 viên/lô, luận án đã đề xuất tiêu chuẩn cơ sở của viên bao gồm các chỉ tiêu quan trọng như: Tính chất, độ đồng đều khối lượng, định tính, định lượng, độ hòa tan và khả năng nổi *in vitro*.

Hàm lượng VER trong chế phẩm được định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao, đây là phương pháp hiện đại, tin cậy đảm bảo độ

đặc hiệu để phân biệt được được chất với các sản phẩm phân hủy. Phương pháp định lượng này cũng được sử dụng trong các chuyên luận về verapamil của dược điển tham chiếu [19], [20]. Phương pháp có thời gian phân tích 10 phút và thời gian lưu của pic verapamil khoảng 5 phút. Thời gian ngắn là ưu điểm của phương pháp cho kết quả phân tích nhanh. Nồng độ định lượng là 20 $\mu\text{g/mL}$, với khoảng nồng độ tuyến tính rộng từ 50 – 200% nồng độ định lượng, tương ứng với khoảng 10 – 40 $\mu\text{g/mL}$ cho phép áp dụng phương pháp để kiểm tra các mẫu có hàm lượng biến đổi trong phạm vi rộng. Phương pháp cũng được thẩm định đầy đủ theo hướng dẫn hiện hành của ICH [108] để chứng minh độ tin cậy. Đây là ưu điểm của phương pháp trong khi hầu hết các nghiên cứu bào chế viên nén VER GPKD đến nay đều sử dụng phương pháp quang phổ tử ngoại khả kiến để định lượng [7], [15], [66].

Phương pháp thử độ hòa tan được xây dựng dựa trên tham khảo test 3, chuyên luận viên nén VER giải phóng kéo dài của USP 43. Tuy nhiên, do khả năng kiểm soát giải phóng của viên nghiên cứu có liên quan đến khả năng nổi trong môi trường acid nên phương pháp có một số điều chỉnh về môi trường và các giai đoạn thử. Theo USP, việc thử hòa tan của viên nén verapamil GPKD được thực hiện qua 2 giai đoạn, trong đó viên được thử hòa tan ở môi trường acid (dịch dạ dày giả không chứa enzym) trong 1 giờ, sau đó chuyển sang thử tiếp trong môi trường đệm (dịch ruột giả không chứa enzym) đến 8 giờ [20]. Trong nghiên cứu này, do viên được lưu ở dạ dày, nên việc thử độ hòa tan được điều chỉnh, chỉ gồm 1 giai đoạn và sử dụng môi trường acid HCl 0,1N. Sự khác biệt về điều kiện thử này là phù hợp với đặc điểm của viên nghiên cứu. Phương pháp và kết quả thử độ hòa tan cũng phù hợp với các kết quả của các công bố trước đây [7], [8], [16], [69]. Kết quả đánh giá độ hòa tan của luận án và một số công bố được thể hiện trong bảng 4.1 như sau:

Bảng 4. 1. So sánh kết của thử độ hòa tan với các công bố khác

TT	Tác giả (năm)	Q8 (%)	Mô hình động học	Cơ chế giải phóng
1	Patel A. et al. (2009) [8]	~ 60	Bậc 0	Non-Fick
2	Abbaraju P.L. et al. (2012) [15]	< 60	Bậc 1	Non-Fick
3	Sadhana R.S. et al. (2013) [66]	~ 60	Hixson-Crowell	Non-Fick
4	Gangadharappa H.V. et al. (2010) [67]	< 40	Korsmeyer-Peppas	Non-Fick
5	Dawange S.R. et al. (2015) [109]	63	Korsmeyer-Peppas	Non-Fickian
6	Nguyễn Phương Đông và cs. (2018) [16]	87	Không công bố	Không công bố
7	Luận án (2025)	81	Korsmeyer-Peppas	Non-Fickian

Khả năng kiểm soát giải phóng của viên nghiên cứu là tương tự với kết quả của nhóm Nguyễn Phương Đông (>80 % sau 8 giờ). Tuy nhiên, kết quả này cao hơn đáng kể so với các công bố quốc tế khác. Điều khác biệt này xuất phát từ định hướng nghiên cứu của luận án là hướng đến đáp ứng các mức yêu cầu về kiểm soát giải phóng của viên VER GPKD theo hướng dẫn của USP. Khi độ hòa tan của viên đáp ứng yêu cầu của USP, thì chất lượng viên sẽ đảm bảo chất lượng để lưu hành và sử dụng trong điều trị. Do đó, sự khác biệt về dữ liệu giải phóng thuốc *in vitro* này có thể coi là một ưu điểm trong kết quả nghiên cứu của luận án. Cơ chế giải phóng thuốc từ viên tối ưu tuân theo mô hình Korsmeyer-Peppas, phù hợp với đa số các công bố [67], [109]. Mặc dù vậy, kết quả này cũng mâu thuẫn với một số tác giả khác như: Patel A. và cộng sự chứng minh viên giải phóng theo động học bậc 0, viên của Abbaraju P.L. và cộng sự giải phóng theo động học bậc 1, hay viên của Sadhana R.S. và cộng sự giải

phóng theo mô hình Hixson-Crowel. Sự khác biệt này có thể lý giải do khác biệt về loại và tỉ lệ polymer sử dụng trong công thức, khác biệt về phương pháp bào chế (dập thẳng và tạo hạt ướt). Tuy nhiên, hầu hết các tác giả đều công nhận rằng cơ chế giải phóng thuốc không tuân theo quy luật Fick .

Để đánh giá khả năng nổi *in vitro*, luận án sử dụng phương pháp đơn giản là theo dõi thời gian trì hoãn nổi và tổng thời gian nổi song song trong quá trình thử độ hòa tan. Đây là 2 chỉ tiêu phản ánh tính chất nổi của viên, liên quan trực tiếp đến khả năng lưu giữ thuốc ở dạ dày. Do ưu điểm đơn giản, dễ thực hiện và không yêu cầu bổ sung thêm thiết bị nên nhiều nghiên cứu đã sử dụng các chỉ tiêu này để mô tả tính chất nổi của viên. Khả năng nổi *in vitro* của viên nghiên cứu từ luận án và các tác giả khác được thể hiện trong bảng 4.2.

Bảng 4. 2. So sánh khả năng nổi *in vitro* với các công bố khác

TT	Tác giả (năm)	Thời gian trì hoãn nổi (giây)	Tổng thời gian nổi (giờ)	Phương pháp thử
1	Patel A. et al. (2009) [8]	36	> 24	Cốc riêng, không khuấy
2	Abbaraju P.L. et al. (2012) [15]	39	> 24	Cốc riêng, không khuấy
3	Sadhana R.S. et al. (2013) [66]	19	24	Cốc riêng, không khuấy
4	Krishnan S.K. et al. (2012) [70]	101	> 11	Cốc riêng, không khuấy
5	Gangadharappa H.V. et al. (2010) [67]	64	24	Song song thử độ hòa tan
6	Mahmoud Z.H. et al. (2023) [7]	62	21	Song song thử độ hòa tan

TT	Tác giả (năm)	Thời gian trì hoãn nổi (giờ)	Tổng thời gian nổi (giờ)	Phương pháp thử
7	Dawange S.R. et al. (2015) [109]	78	Không đề cập	Song song thử độ hòa tan
8	Nguyễn Phương Đông và cs [16]	10	> 12	Song song thử độ hòa tan
9	Luận án (2025)	89	> 12	Song song thử độ hòa tan

Do ưu điểm đơn giản, thuận lợi, phương pháp thử khả năng nổi *in vitro* song song trong quá trình đánh giá độ hòa tan của viên được nhiều tác giả sử dụng [7], [16], [67], [109]. Bên cạnh đó, một số tác giả khác có đề xuất phương án sử dụng cốc thử riêng để theo dõi khả năng nổi *in vitro* của viên [8], [15], [66], [70]. Tuy nhiên, trong điều kiện không khuấy, viên sẽ nổi lâu hơn do không chịu lực tác động, điều đó không mô phỏng đúng tình trạng co bóp của dạ dày. Do vậy, kết quả thử trong cốc riêng, thời gian nổi của viên được công bố có thể kéo dài đến 24 giờ. Trong luận án này, thí nghiệm theo dõi khả năng nổi của viên được dừng sau 12 giờ sau khi thử độ hòa tan kết thúc. Việc kéo dài thời gian theo dõi đến 24 giờ không hợp lý, do cần vận hành thiết bị thử hòa tan cả ngày. Ngoài ra, thời gian nổi của viên lên đến 24 giờ thể hiện khả năng tốt trong việc lưu thuốc tại dạ dày nhưng lại không có nhiều ý nghĩa, khi hàm lượng viên 120 mg không đủ để gây tác dụng trong 24 giờ. Do đó, khả năng nổi đến 24 giờ như một số tác giả công bố là không quá cần thiết, thay vào đó, chỉ nên theo dõi đến 12 giờ như phương pháp trong luận án này là hợp lý.

Ở một khía cạnh khác, phương pháp bào chế cũng ảnh hưởng đến khả năng nổi *in vitro* của viên. Viên bào chế bằng phương pháp tạo hạt ướt (nghiên cứu 1-3, bảng 4.2) thường có thời gian nổi đến 24 giờ, trong khi bào chế bằng

phương pháp dập thẳng có thời gian nổi ngắn hơn (Krishnan S.K. và cộng sự, 2012). Tuy vậy, thời gian trì nổi của các công bố dao động trong khoảng 10 – 101 giây, không có quy luật rõ ràng cho thấy ảnh hưởng của phương pháp thử hay phương pháp bào chế. Viên tối ưu của luận án có thời gian nổi là 89 giây, cùng nằm trong khoảng giá trị trên và đáp ứng mục tiêu nghiên cứu.

Tóm lại, các chỉ tiêu chất lượng trong TCCS mà luận án đã xây dựng là phù hợp để đánh giá chất lượng của viên nổi VER 120 mg GPKD. Phương pháp thử của các chỉ tiêu hợp lý, hiện đại, kết quả thử nghiệm cho dữ liệu tin cậy, đồng thuận với các dữ liệu khoa học đã công bố.

4.2.2. Bàn luận về độ ổn định của viên nổi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài.

Một số chỉ tiêu chất lượng như cảm quan, hàm lượng, độ hòa tan và khả năng nổi *in vitro* của viên được sử dụng để theo dõi độ ổn định. Phương pháp thử thực hiện theo TCCS đã xây dựng. Luận án nghiên cứu độ ổn định của viên nổi ở điều kiện thực trong 18 tháng và điều kiện lão hoá cấp tốc ($40 \pm 2^\circ\text{C}$, RH $75 \pm 5\%$) trong 6 tháng. Kết quả cho thấy chế phẩm giữ được độ ổn định tốt. Không ghi nhận sự thay đổi đáng kể về hình thức, màu sắc của viên trong suốt thời gian theo dõi. Về hàm lượng verapamil, sự suy giảm hoạt chất theo thời gian là rất ít. Sau 18 tháng bảo quản ở điều kiện thực, hàm lượng còn lại vẫn nằm trong giới hạn 97,65% – 98,01%; tương tự, sau 6 tháng bảo quản cấp tốc, hàm lượng còn lại đạt 97,99 – 98,93%. Mức độ thay đổi này là chấp nhận được theo hướng dẫn của ICH và không ảnh hưởng đến hiệu quả.

Bảng 4. 3. So sánh điều kiện bảo quản và tiêu chí theo dõi độ ổn định của viên nén nổi verapamil HCl

TT	Tác giả (năm)	bao bì	LHCT	Điều kiện khác	Tiêu chí theo dõi
----	------------------	--------	------	-------------------	----------------------

1	Patel A. et al. (2009) [8]	Lọ HDPE	3 tháng	không	Hàm lượng, Q24, khả năng nổi, độ cứng, độ trương nở
2	Abbaraju P.L. et al. (2012) [15]	Lọ HDPE	3 tháng	không	Hàm lượng, độ hòa tan, khả năng nổi
3	Sadhana R.S. et al. (2013) [66]	Vĩ nhôm-nhôm	3 tháng	không	Cảm quan, độ cứng, độ bờ, đồng đều khối lượng, độ trương nở, khả năng nổi, hàm lượng, độ hòa tan
4	Krishnan S.K. et al. (2012) [70]	Vĩ PVC-nhôm	2 tháng	không	Cảm quan, hàm lượng, độ cứng, độ hòa tan
5	Luận án (2025)	Vĩ PVC-nhôm	6 tháng	điều kiện thực, 18 tháng	Cảm quan, hàm lượng, độ hòa tan, khả năng nổi

Hầu hết các nghiên cứu đã công bố chỉ theo dõi độ ổn định ở điều kiện cấp tốc ($40 \pm 2^\circ\text{C}$, RH $75 \pm 5\%$) trong thời gian ngắn hơn (2-3 tháng) so với hướng dẫn của WHO hay ICH (6 tháng). Các nghiên cứu ở điều kiện thực hoặc điều kiện dài hạn khá hạn chế. Do vậy, kết quả của luận án này bổ sung dữ liệu đầy đủ hơn về độ ổn định của viên nổi verapamil 120 mg GPKD ở cả 2 điều kiện. Do thành phần viên có các tá dược sinh khí và polymer hút ẩm, bao bì được lựa chọn là vĩ PVC-nhôm để hạn chế ảnh hưởng của độ ẩm. Điều này cũng tương tự với nghiên cứu của Krishnan S.K. và cộng sự [70]. Tuy vậy, một số tác giả cũng đề xuất vĩ nhôm -nhôm để tăng khả năng cách ly ẩm [66] hoặc sử dụng lọ HDPE để đơn giản chi phí cho bao bì [8], [15].

Trong nghiên cứu độ ổn định, các tác giả đều lựa chọn theo dõi cảm quan, hàm lượng, độ hòa tan và khả năng nổi *in vitro* của viên. Đây cũng là những tiêu chí mà luận án sử dụng để nghiên cứu độ ổn định của viên nổi VER 120 m

GPKD. Bên cạnh đó, một số chỉ tiêu vật lý của viên cũng được quan tâm như độ cứng, độ bền và độ trương nở của viên. Kết quả thử độ ổn định cho thấy, sau thời gian bảo quản, các chỉ tiêu chất lượng vẫn ổn định, nằm trong giới hạn cho phép của TCCS.

Tóm lại, các kết quả nghiên cứu về xây dựng tiêu chuẩn cơ sở và nghiên cứu độ ổn định của viên nổi verapamil 120 mg GPKD cung cấp đầy đủ dữ liệu về chất lượng và độ ổn định của viên. Các kết quả này cũng chứng minh tiềm năng phát triển của dạng bào chế hướng tới sản xuất ở quy mô thương mại để đăng ký và lưu hành trong thực tiễn.

4.3. VỀ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU *IN VIVO*

4.3.1. Bàn luận về đánh giá khả năng nổi *in vivo*

Hệ phân phối thuốc nổi tại dạ dày dựa trên nguyên lý nổi trong dịch vị nhờ vào mật độ riêng thấp hơn so với môi trường xung quanh, từ đó kéo dài thời gian lưu trú tại dạ dày và tăng khả năng hấp thu đối với các hoạt chất có độ tan trong ruột thấp như VER. Để đánh giá tính nổi thực tế *in vivo* của viên nổi verapamil 120 mg GPKD, nghiên cứu đã sử dụng mô hình chụp X-quang trên chó, có điều kiện dạ dày tương đồng với người. Kết quả cho thấy viên thuốc có khả năng nổi và duy trì nổi tốt trong môi trường dạ dày thực nghiệm. Hình ảnh X-quang tại thời điểm 1 giờ sau uống cho thấy viên nổi rõ ràng tại vùng hang vị và tiếp tục được quan sát đến thời điểm 6 giờ. Trong quá trình này, viên có hiện tượng trương nở nhẹ, mật độ cản quang giảm dần theo thời gian, phù hợp với cơ chế hình thành gel từ lớp polymer HPMC K4M và HPMC E6 – được thiết kế nhằm điều khiển tốc độ giải phóng dược chất và duy trì cấu trúc viên trong thời gian dài. Các đặc điểm này đã được ghi nhận tương tự trong nghiên cứu của Patel A. và cộng sự (2009), trong đó viên nổi VER bào chế

bằng HPMC K15M và tác nhân sinh khí cho thấy thời gian nổi lên đến 5 giờ trên mô hình chó [8]. Việc thay một phần dược chất bằng bari sulfat để tạo ra tính chất cản quang khi chụp X-quang là cần thiết. Tuy nhiên, bari sulfat có tỉ trọng 4,5 g/cm³ trong khi đó VER có tỉ trọng khoảng 1,06 g/cm³. Do đó việc thay thế này sẽ làm tăng tỉ trọng của viên dẫn để giảm khả năng nổi. Do vậy, kết quả đánh giá thực tế sẽ bị sai số âm, nghĩa là kết quả đo lường được thấp hơn giá trị thực của viên, hay nói cách khác, viên nổi VER 120 mg PKD có thể nổi lâu hơn 6 giờ trong dạ dày chó. Các kết quả sinh khả dụng cũng đã chứng minh cho luận điểm này khi nồng độ thuốc trong huyết tương phù hợp với đặc điểm giải phóng kéo dài 12 giờ.

Trong nghiên cứu này, mặc dù thời gian theo dõi chỉ là 6 giờ và mới chỉ tiến hành trên một chó, kết quả quan sát bước đầu đã xác nhận khả năng nổi thực tế của viên thuốc – một yếu tố quan trọng nhất để đảm bảo thời gian lưu tại vị trí hấp thu tối ưu của verapamil là đoạn đầu ruột non. Việc kiểm chứng được khả năng nổi *in vivo* giúp củng cố kết luận rằng viên có thể duy trì tại dạ dày trong thời gian đủ để giải phóng toàn bộ lượng thuốc, đảm bảo hiệu quả điều trị kéo dài và tăng cường sinh khả dụng.

4.3.2. Bàn luận về thẩm định phương pháp định lượng verapamil trong huyết tương chó bằng sắc ký lỏng khối phổ

Để đánh giá được động học và sinh khả dụng của chế phẩm viên nổi verapamil 120 mg GPKD, một phương pháp định lượng chính xác và đặc hiệu là điều kiện tiên quyết. Nghiên cứu đã xây dựng phương pháp LC-MS/MS với chế độ ion hóa dương, sử dụng chất nội chuẩn diltiazem và chuẩn bị mẫu bằng phương pháp QuEChERS cải tiến [80]. Thẩm định được thực hiện theo hướng dẫn của FDA (2018) và WHO (2009) về phân tích thuốc trong dịch sinh học.

Phương pháp định lượng VER trong huyết tương chó đã xây dựng có giới hạn định lượng dưới là 5 ng/ml cho thấy, độ nhạy của phương pháp tốt hơn so với kết quả công bố của Trương Đức Mạnh và cộng sự (2025) [90] định lượng bằng sắc ký lỏng với đầu dò huỳnh quang cho LLOQ 20 ng/ml. Đường chuẩn của phương pháp có R^2 là 0,9999. Điều này có thể do phương pháp xử lý mẫu hợp lý và đầu dò MS/MS đặc hiệu tốt hơn. Đồng thời việc sử dụng nội chuẩn có cũng làm giảm đáng kể sai số do mất mẫu khi xử lý và hạn chế ảnh hưởng của nền mẫu bao gồm các sản phẩm phân hủy của verapamil trong huyết tương. Các kết quả thẩm định chứng tỏ phương pháp có độ đặc hiệu - chọn lọc, độ đúng, độ lặp lại, khoảng tuyến tính, giới hạn định lượng dưới, hiệu suất chiết, độ ổn định và độ nhiễu chéo đáp ứng yêu cầu đối với phương pháp phân tích trong dịch sinh học của FDA [100]. Khi định lượng VER trong các mẫu huyết tương chó nhận thấy nồng độ VER trong các mẫu huyết tương đều nằm trong khoảng tuyến tính, các kết quả này phù hợp với công bố trước đó [84], [90]. Như vậy, phương pháp đã xây dựng có khoảng tuyến tính phù hợp, độ đúng - độ chính xác cao và có thể ứng dụng vào thực tế để đánh giá sinh khả dụng trên chó của VER từ các dạng bào chế khác nhau. Mặc dù vậy, trong nghiên cứu còn chưa đánh giá được ảnh hưởng của nền mẫu (Matrix effect). Do đó, cần thiết phải kiểm soát chặt chẽ động vật thí nghiệm về tình trạng sức khỏe, cân nặng, chế độ ăn uống.

Phương pháp LC-MS/MS xây dựng trong nghiên cứu hiện tại đủ độ nhạy, độ đúng, độ chính xác và ổn định để áp dụng cho nghiên cứu *in vivo* trên chó thực nghiệm. Đây là bước chuẩn bị kỹ thuật quan trọng để đảm bảo kết quả đánh giá sinh khả dụng có độ tin cậy cao.

4.3.3. Bàn luận về nghiên cứu sinh khả dụng *in vivo* trên chó thực nghiệm

Thiết kế nghiên cứu *in vivo* được thực hiện trên mô hình chó thực nghiệm. Thiết kế chéo đôi, đơn liều, 2 giai đoạn (2×2) với khoảng cách giữa 2 lần dùng là 14 ngày đảm bảo thải trừ thuốc hoàn toàn, giảm sai số giữa các cá thể.

Chế phẩm nghiên cứu là viên nổi verapamil 120 mg GPKD theo cơ chế nổi ở dạ dày và giải phóng thuốc từ từ để được chất hấp thu tối ưu ở vùng tá tràng. Thuốc đối chứng Verapamil MYLAN L.P 120 mg quan sát thực tế kiểm soát giải phóng theo cơ chế cốt thân nước, viên đi qua dạ dày vào đoạn sau của ống tiêu hóa, trong quá trình đó, viên giải phóng từ từ được chất và hấp thu vào cơ thể tùy vị trí lưu của viên. Như vậy, về cơ chế thì hai thuốc có cơ chế giải phóng khác nhau. Tuy nhiên, do chưa có thuốc gốc VER dạng hệ nổi nên nghiên cứu vẫn chọn MYLAN để so sánh.

Nghiên cứu sinh khả dụng *in vivo* chỉ được thực hiện trên 6 cá thể, thấp hơn nhiều so với hướng dẫn tối thiểu của Dược Điển Việt Nam V (không ít hơn 12 cá thể) [19]. Số lượng mẫu nhỏ có thể làm giảm mạnh ý nghĩa thống kê, tuy nhiên ở mức độ nghiên cứu của luận án, với khoảng tin cậy hẹp và sai số nhỏ, kết quả vẫn có giá trị kết luận khoa học và định hướng thực tiễn.

Sau khi định lượng verapamil trong huyết tương theo các thời điểm đã định, các thông số sinh khả dụng được tính toán và so sánh giữa viên nổi verapamil 120 mg GPKD (thử) và viên đối chứng. Kết quả định lượng và xác định các thông số được động học, thể hiện tính hợp lý của các thời điểm lấy mẫu. Nghiên cứu lấy ở thời điểm 0 giờ và 13 điểm khác, đáp ứng yêu cầu (ít nhất 11 điểm sau khi sử dụng thuốc). T_{max} bằng 5,3 giờ thỏa mãn yêu cầu có ít nhất 3-4 điểm lấy mẫu trước đạt C_{max} . Số điểm sau nồng độ đỉnh là 8 điểm (quy định là không ít hơn 4-6 điểm). Tổng số điểm lấy mẫu của đường cong nồng

độ - thời gian là 14 điểm, đáp ứng điều kiện không ít hơn 12 điểm. Mặc dù, thời điểm lấy mẫu dừng ở 24 giờ, tương ứng với nồng độ 40,1 ng/ml, giá trị này bằng khoảng $1/6 C_{\max}$, chưa đáp ứng về thời gian lấy mẫu cần kéo dài đến khi nồng độ dược chất trong mẫu máu bằng khoảng $1/10$ đến $1/20$ giá trị nồng độ đỉnh hoặc sau khi uống thuốc 72 giờ. Tuy nhiên, tỷ lệ của AUC_{0-24} so với $AUC_{0-\infty}$ đạt 87,8% ($>80\%$) thể hiện nghiên cứu có thời điểm lấy mẫu phù hợp với hướng dẫn của Bộ y tế Việt Nam [19].

Giá trị $C_{\max}$ của viên nõi GPKD đạt $232,9 \pm 18,1$ ng/mL, còn thuốc đối chứng ($272,3 \pm 26,2$ ng/ml). Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), kết quả lặp lại tốt. Tuy nhiên, khoảng tin cậy CI 90% nằm trong giới hạn cho phép (80-125 %) thể hiện thuốc tương đương về AUC. Kết quả này tương đương với công bố của Trương Đức Mạnh và cộng sự (2025) [90], khi so sánh sinh khả dụng của pellet GPKD (cơ chế màng bao) với viên nén verapamil GPKD đôi chiều (cơ chế cốt polymer thân nước), nhóm tác giả quan sát thấy giá trị $C_{\max}$ không khác biệt.

Giá trị $T_{\max}$ giữa hai dạng bào chế khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($5,3 \pm 1,2$ giờ so với $5,2 \pm 0,8$ giờ, test wincoxon $p = 0,564 > 0,05$), chứng tỏ thời điểm đạt nồng độ đỉnh là tương đương. Điều này cho thấy hệ nõi có khả năng kiểm soát tốt giải phóng dược chất để đạt hiệu ứng điều trị trong khoảng thời gian tương tự với thuốc gốc.

$AUC_{0-\infty}$ phản ánh lượng thuốc được hấp thu toàn phần vào vòng tuần hoàn. Với giá trị $3310,6 \pm 365,0$ h.ng/mL (test) và $3565,1 \pm 340,6$ h.ng/mL, khoảng tin cậy 90% của tỉ số AUC nằm trong khoảng 88,69–97,01%, nằm trong giới hạn cho phép từ 80–125% theo hướng dẫn của FDA và EMA. Điều này khẳng định viên nõi GPKD tương đương sinh học về mức độ hấp thu so với thuốc đối chứng. Đây là kết quả rất có ý nghĩa, chứng minh rằng hệ nõi vẫn

đảm bảo được khả năng đưa verapamil vào vòng tuần hoàn với hiệu quả tương đương thuốc đối chứng. Các dữ liệu cũng minh họa cho khả năng thẩm tốt của VER khi nó được WHO phân loại vào nhóm I trong hệ thống phân loại sinh dược học. Việc bào chế viên nén VER 120 mg GPKD giúp lưu thuốc ở dạ dày, giải phóng thuốc từ từ để cơ thể hấp thu và duy trì nồng độ điều trị trong thời gian dài từ đó cải thiện hiệu quả điều trị và giảm số lần sử dụng thuốc của người bệnh.

Việc đánh giá tương đương sinh khả dụng dựa trên việc so sánh các thông số sinh khả dụng như $AUC_{0-\infty}$, C_{max} , T_{max} . Các kết quả của nghiên cứu này cho thấy tương đương sinh khả dụng của viên nghiên cứu so với sản phẩm đối chiếu. Điều này bước đầu chứng minh tiềm năng của giải pháp bào chế viên nén nổi trong kiểm soát giải phóng thuốc, đặc biệt là với hoạt chất verapamil.

Mặc dù tương đương sinh khả dụng, nhưng nếu so sánh kết quả thống kê thì C_{max} , $AUC_{0-\infty}$ và MRT của viên chứng lớn hơn viên thử tương ứng là 1,16; 1,08 và 1,21 lần. Sự sai khác này có ý nghĩa thống kê. Việc C_{max} thấp hơn nhưng AUC vẫn xấp xỉ thuốc đối chứng có thể là một ưu điểm, giúp giảm các tác dụng không mong muốn liên quan đến nồng độ đỉnh (ví dụ như hạ huyết áp), trong khi vẫn đảm bảo hiệu quả điều trị (do AUC tương đương). Đường cong nồng độ - thời gian “ít nhọn” hơn thể hiện tiềm năng giảm các tác dụng phụ liên quan đến nồng độ đỉnh so với thuốc đối chứng. Mặt khác, MRT thuốc thử thấp hơn thuốc đối chứng cho thấy thời gian lưu trung bình của thuốc thử trong cơ thể thấp hơn thuốc đối chứng. Về mặt tích cực, điều này cho thấy thuốc thử có khả năng duy trì nồng độ ổn định hơn trong khoảng điều trị (cùng AUC nhưng C_{max} và MRT thấp hơn). Điều này cho thấy kỳ vọng duy trì đáp ứng điều trị tốt hơn thuốc đối chứng.

Tóm lại, các kết quả của luận án là những công bố đầu tiên xây dựng và chứng minh tính khả thi của công thức và quy trình bào chế viên nôi VER ở quy mô pilot (10 000 viên/lô), làm tiền đề cho sản xuất ở quy mô thương mại. Chất lượng viên sau sản xuất và trong quá trình theo dõi độ ổn định đều đáp ứng các mức chất lượng đã xây dựng. Đồng thời, luận án cũng cung cấp các kết quả đánh giá sinh khả dụng *in vivo* để chứng minh tiềm năng ứng dụng của viên nôi trong việc giải quyết các vấn đề về sinh khả dụng và điều trị của VER.

KẾT LUẬN

Đề tài luận án đã hoàn thành đầy đủ các mục tiêu, nội dung nghiên cứu và đã bào chế được viên viên nôi verapamil 120 mg GPKD. Từ các kết quả nghiên cứu, luận án rút ra một số kết luận sau:

1. Nghiên cứu đã xây dựng được công thức và quy trình bào chế viên nôi verapamil 120 mg giải phóng kéo dài 12 giờ ở quy mô 10 000 viên/lô:

Trên cơ sở nghiên cứu tương tác dược chất – tá dược và khảo sát công thức bào chế cơ bản, đã tối ưu hóa công thức bào chế viên nôi verapamil 120 mg GPKD theo phương pháp tạo hạt ướt. Công thức sử dụng phối hợp 59 mg HPMC K4M và 35 mg HPMC E6 làm tá dược kiểm soát giải phóng, Avicel PH101 và lactose là tá dược độn, natri hydrocarbonat làm tá dược sinh khí. Tá dược dính là dung dịch PVP K30 10 % trong ethanol 96 % và tá dược trơn là magnesi stearat. Đồng thời, luận án đã nâng cấp và thẩm định quy trình sản xuất ở cỡ lô 10 000 viên, để chứng minh tính ổn định chất lượng và tính khả thi triển khai bào chế ở quy mô lớn.

2. Nghiên cứu đã xây dựng được tiêu chuẩn chất lượng của viên nén nôi verapamil hydroclorid và bước đầu theo dõi độ ổn định của chế phẩm:

Từ kết quả khảo sát các chỉ tiêu chất lượng của viên nén nôi verapamil 120 mg GPKD, nghiên cứu đã đề xuất được tiêu chuẩn cơ sở của viên nôi verapamil 120 mg GPKD gồm 6 yêu cầu kỹ thuật: Tính chất, định tính, định lượng, đồng đều khối lượng, độ hòa tan và khả năng nôi *in vitro*. Kết quả kiểm nghiệm của 3 lô thử nghiệm đều đạt yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn cơ sở.

Nghiên cứu đã theo dõi được độ ổn định của viên nén nôi verapamil 120 mg GPKD ở điều kiện thực (18 tháng) và điều kiện lão hóa cấp tốc (6 tháng). Các chỉ tiêu đánh giá về hình thức, hàm lượng và độ hoà tan của viên đều nằm trong giới hạn cho phép của tiêu chuẩn cơ sở.

3. Nghiên cứu đã bước đầu đánh giá được khả năng nổi *in vivo* và sinh khả dụng của viên nổi verapamil 120 mg GPKD trên chó thực nghiệm:

Kết quả X-quang đã chứng minh khả năng nổi và lưu thuốc ở dạ dày chó trên 6 giờ. Mặt khác, các thông số mô tả sinh khả dụng của chế phẩm trên chó thực nghiệm được xác định gồm: $C_{max} = 232,9 \pm 18,1$ ng/mL, $T_{max} = 5,3 \pm 1,2$ h, $AUC_{0-\infty} = 3310,6 \pm 365,0$ h.ng/ml. Đồng thời, kết quả so sánh sinh khả dụng trên chó khẳng định, các giá trị C_{max} , T_{max} và $AUC_{0-\infty}$ của VER khi uống viên nén nổi verapamil 120 mg GPKD tương đương với viên MYLAN 120 mg GPKD đang lưu hành trên thị trường. Dữ liệu thể hiện sự tương đương về sinh khả dụng *in vivo* giữa 2 chế phẩm so sánh trên chó thực nghiệm.

KIẾN NGHỊ

Kết quả của luận án mới chỉ là bước đầu của quá trình nghiên cứu bào chế một dược phẩm nói chung và của viên nôi verapamil 120 mg GPKD nói riêng. Để kết quả được áp dụng vào sản xuất, xin được đề xuất một số vấn đề sau:

- Hoàn thiện công thức và quy trình bào chế có quy mô thương mại.
- Tiếp tục đánh giá độ ổn định trong thời gian dài hơn và đánh giá SKD trên người tình nguyện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Londhe S., Gattani S., Surana S. (2010). Development of floating drug delivery system with biphasic release for verapamil hydrochloride: in vitro and in vivo evaluation. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 2: 361-367.
2. Bộ Y Tế (2018). *Dược thư Quốc gia Việt Nam* Nhà xuất bản Y học, 1465.
3. Kumar B.B.P., Nadendla R.R. (2023). Design and Development of Multiparticulate Mini Tablets of Verapamil Hydrochloride for Pulsatile Drug Delivery. *Ind. J. Pharm. Edu. Res*, 57(2): 401-407.
4. Tamara G.A., Ali R.R.S., Isidoro C. (2008). Application of percolation theory in the study of an extended release Verapamil hydrochloride formulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 361: 112–117.
5. Truong Duc Manh, Vo Xuan Minh, Phan Thi Hoa, và cs. (2021). Research on film coating formulation of sustained release pellets of verapamil hydrochloride. *Tạp chí Y Dược học Quân sự*, 4: 134-145.
6. Nhat Hoang Thi Nhat Anh, Hung Pham Van Hung, Xuan Dam Xuan Thanh, và cs. (2025). Formulation and evaluation of controlled porosity osmotic pump tablets of verapamil hydrochloride. *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, 67(2): 100-108.
7. Mahmoud Z.H., Mahdi A.B., Alnassar Y.S., et al. (2023). Formulation and sustained-release of verapamil hydrochloride tablets. *The Chemist*, 76(148): 337-346.
8. Patel A., Modasiya M., Shah D., et al. (2009). Development and in vivo floating behavior of verapamil HCl intragastric floating tablets. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 10(1): 310-315.

9. Vo Q.A., Feng X., Pimparade M., et al. (2017). Dual-mechanism gastroretentive drug delivery system loaded with an amorphous solid dispersion prepared by hot-melt extrusion. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 102: 71-84.
10. Permender R., Manish J., Sushila R., et al. (2012). Gastroretentive drug delivery systems: A review of formulation approaches. *The pharma innovation*, 1(8).
11. Tripathi J., Thapa P., Maharjan R., et al. (2019). Current state and future perspectives on gastroretentive drug delivery systems. *Pharmaceutics*, 11(4): 193.
12. Murugesan S., Gowramma B., Lakshmanan K., et al. (2020). Oral modified drug release solid dosage form with special reference to design; an overview. *Current Drug Research Reviews Formerly: Current Drug Abuse Reviews*, 12(1): 16-25.
13. Rodrigues G. S., Barboza J. M., Buranello L. P., et al. (2024). In Vitro and In Vivo Evaluation of Magnetic Floating Dosage Form by Alternating Current Biosusceptometry. *Pharmaceutics*, 16(3): 351.
14. Chanchal C., Yogendra M., Vikas J. (2025). A Review on Floating Tablet. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 15(2).
15. Abbaraju P.L., Giddam A.K., Karnaker R.T., et al. (2012). Development And Invitro Evaluation Of Gastroretentive Verapamil Hcl Floating Tablets. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(1): 360-363.
16. Nguyễn Phương Đông, Nguyễn Văn Bạch, Nguyễn Thị Hồng Vân, và cs. (2018). Nghiên cứu ảnh hưởng của một số tá dược đến độ hòa tan của viên nổi verapamil hydroclorid giải phóng kéo dài. *Tạp chí y - dược học quân sự*, 5: 13-21.

17. Molke M.M., Iqbal M., Rao K.S. (2010). Formulation and Evaluation of Verapamil HCl Gastroretentive Floating Tablet from matrices prepared using Compritol ATO 888. . *Res. J. Pharm*, 1(3): 422-429.
18. Kailas K.M., Shashikant C.D. (2016). Design and optimization of modified tamarind gum-based floating-bioadhesive tablets of verapamil hydrochloride. *Asian Journal of Pharmaceutics (AJP)*, 10(04).
19. Bộ Y Tế (2018). Dược điển Việt Nam V.
20. Convention United States Pharmacopeial (2020). *USP 43, Verapamil Hydrochloride Extended-Release Tablets*, U.S. Pharmacopeial Convention, Rockville, MD.
21. O'Neil M.J. (2001). *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals: Monograph Verapamil*, Merck & Co. USA.
22. Commission British Pharmacopoeia (2022). *British Pharmacopoeia 2022: Monograph: Verapamil hydrochlorid*, The Stationery Office, London, United Kingdom.
23. Zui L. C. (1988). Analytical Profiles of Drug Substances. *Academic press, United States of America*, 17: 643-674.
24. Vogelpoel H., Welink J., Amidon G.L., et al. (2004). Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms based on biopharmaceutics classification system (BCS) literature data: Verapamil hydrochloride, propranolol hydrochloride, and atenolol. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 93(8): 1945-1956.
25. Brunton L.L., Knollmann B.C. (2023). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, McGraw-Hill Education, New York.
26. Mai Tất Tố, Vũ Thị Trâm (2024). *Dược lý học*, Nhà Xuất Bản Y Học, Hà Nội.

27. S.C Sweetman (2009). *Martindale: The Complete Drug Reference*, Pharmaceutical Press Pharmaceutical Press, London. 3694.
28. Joint Formulary Committee (2017). *BNF 73, Monograph: Verapamil hydrochloride*, Pharmaceutical Press, London. 1632.
29. Talukder R., Fassihi R. (2004). Gastroretentive delivery systems: A mini review. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 30(10): 1019-1028.
30. Gröning R., Heun G. (1984). Oral Dosage Forms with Controlled Gastrointestinal Transit. *Drug Dev Ind Pharm.*, 10(4): 527-539.
31. Singh B.N., Kim K.H. (2000). Floating drug delivery systems: An approach to oral controlled drug delivery via gastric retention. *Journal of Controlled Release*, 63(3): 235-259.
32. Lopes C.M., Bettencourt C., Rossi A., et al. (2016). Overview on gastroretentive drug delivery systems for improving drug bioavailability. *Int J Pharm.*, 510(1): 144-158.
33. MIRMEERA G.N., KANNAN K., MADHUKAR A. (2018). Overview On Floating Drug Delivery System. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 10(6): 65-71.
34. Sungthongjeen S., Sriamornsak P., Puttipatkhachorn S. (2008). Design and evaluation of floating multi-layer coated tablets based on gas formation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 69(1): 255-263.
35. Bardonnnet P.L., Faivre V., Pugh W.J., et al. (2006). Gastroretentive dosage forms: Overview and special case of *Helicobacter pylori*. *Journal of Controlled Release*, 111(1-2): 1-18.
36. Sheth P.R., Tossounian J. (1984). The hydrodynamically balanced system (Hbs™): A novel drug delivery system for oral use. *Drug Dev Ind Pharm.*, 10(2): 313-339.

37. Gupta P.K., J.R. Robinson (1995). Effect of volume and viscosity of coadministered fluid on gastrointestinal distribution of small particles. *International Journal of Pharmaceutics*, 125(2): 185-193.
38. Pujara N.D., Patel N.V., Thacker A.P., et al. (2012). Floating microspheres: A novel approach for gastro retention. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 1(3): 872-895.
39. Thanoo B.C., Sunny M.C., Jayakrishnan A. (1993). Oral Sustained-release Drug Delivery Systems using Polycarbonate Microspheres Capable of Floating on the Gastric Fluid. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 45(1): 21–24.
40. Whitehead L., Fell J. T., Collett J. H. et al. (1998). Floating dosage forms: an in vivo study demonstrating prolonged gastric retention. *Journal of Controlled Release*, 55(1): 3-12.
41. Lê Thị Thu Trang, Phạm Thị Minh Huệ (2025). Hệ lưu thuốc tại dạ dày: cơ chế lưu thuốc và các phương pháp đánh giá. *Tạp chí Nghiên cứu Dược và Thông tin Thuốc*, 21: 47-62.
42. Klausner E.A., Lavy E., Friedman M., et al. (2003). Expandable gastroretentive dosage forms. *J. Control Release.*, 90(2): 143-162.
43. Vrettos N.N., Roberts C.J., Zhu Z. (2021). Gastroretentive technologies in tandem with controlled-release strategies: A potent answer to oral drug bioavailability and patient compliance implications. *Pharmaceutics*, 13(10): 1591.
44. Sivaneswari S., Karthikeyan E., Chandana P.J. (2017). Novel expandable gastro retentive system by unfolding mechanism of levetiracetam using simple lattice design–Formulation optimization and in vitro evaluation. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 55(1): 63-72.

45. Deshpande A.A., Shah N.H., Rhodes C.T., et al. (1997). Development of a novel controlled-release system for gastric retention. *Pharm. Res.*, 14(6): 815-819.
46. Gröning R., Cloer C., Müller R. S. (2006). Development and in vitro evaluation of expandable gastroretentive dosage forms based on compressed collagen sponges. *Pharmazie*, 61(7): 608-612.
47. Gröning R., Cloer C., Georgarakis M., et al. (2007). Compressed collagen sponges as gastroretentive dosage forms: In vitro and in vivo studies. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 30(1): 1-6.
48. Prinderre P., Sauzet C., Fuxen C. (2011). Advances in gastro retentive drug-delivery systems. *Expert opinion on drug delivery*, 8(9): 1189-1203.
49. Sanoj R., Sneha S.S., Mohasin S., et al. (2023). Innovations in Drug Release: A Review on Gastroretentive Drug Delivery Systems. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research*, 28(4): 606-621.
50. Cargill R., Caldwell L.J., Engle K., et al. (1988). Controlled gastric emptying. 1. Effects of physical properties on gastric residence times of nondisintegrating geometric shapes in beagle dogs. *Pharmaceutical Research*, 5(8): 533-536.
51. Waterman K. C. (2007). A critical review of gastric retentive controlled drug delivery. *Pharm. Dev. Technol.*, 12(1): 1-10.
52. Clarke G.M., Newton J.M., Short M.B. (1995). Comparative gastrointestinal transit of pellet systems of varying density. *International Journal of Pharmaceutics*, 114(1): 1-11.
53. Rouge N., Allémann E., Gex-Fabry M., et al. (1998). Comparative pharmacokinetic study of a floating multiple-unit capsule, a high-density

multiple-unit capsule and an immediate-release tablet containing 25 mg atenolol. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 73(2): 81-87.

54. Kavitha K, Kumar M Rupesh, Singh Sd Jagadeesh (2011). Novel mucoadhesive polymers-a review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, (Issue): 37-42.
55. Longer M.A., Ch'Ng H.S., Robinson J.R. (1985). Bioadhesive polymers as platforms for oral controlled drug delivery III: oral delivery of chlorothiazide using a bioadhesive polymer. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 74(4): 406-411.
56. Ponchel G., Irache J.M. (1998). Specific and non-specific bioadhesive particulate systems for oral delivery to the gastrointestinal tract. *Advanced drug delivery reviews*, 34(2-3): 191-219.
57. Khosla R., Davis S.S. (1987). The effect of polycarbophil on the gastric emptying of pellets. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 39(1): 47-49.
58. Kikendall J.W., Friedman A.C., Oyewole M.A., et al. (1983). Pill-induced esophageal injury: case reports and review of the medical literature. *Digestive diseases and sciences*, 28: 174-182.
59. Saxena A., Gaur K., Singh V., et al. (2014). Floating microspheres as drug delivery system. *American Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 1(2): 27-36.
60. Timmermans J., Moës A.J. (1990). How well do floating dosage forms float? *International Journal of Pharmaceutics*, 62(2-3): 207-216.
61. Vo A.Q., Feng X., Morott J.T., et al. (2016). A novel floating controlled release drug delivery system prepared by hot-melt extrusion. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 98: 108-121.

62. Parikh D.C., Amin A.F. (2008). In vitro and in vivo techniques to assess the performance of gastro-retentive drug delivery systems: a review. *Expert opinion on drug delivery*, 5(9): 951-965.
63. Razavi M., Karimian H., Yeong C.H., et al. (2015). Gamma scintigraphic study of the hydrodynamically balanced matrix tablets of Metformin HCl in rabbits. *Drug design, development and therapy*: 3125-3139.
64. Chai X., Chai H., Wang X., et al. (2017). Fused deposition modeling (FDM) 3D printed tablets for intragastric floating delivery of domperidone. *Scientific reports*, 7(1): 2829.
65. Steingoetter A., Kunz P., Weishaupt D., et al. (2003). Analysis of the meal-dependent intragastric performance of a gastric-retentive tablet assessed by magnetic resonance imaging. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 18(7): 713-720.
66. Sadhana R.S., Shivram B.S., Nityanand S.Z., et al. (2013). Formulation developement and evaluation of floating matrix tablet of Verapamil HCl. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 3: 27-35.
67. Gangadharappa H.V., Rahamath-Ulla M., Pramod-Kumar T.M., et al. (2010). Floating drug delivery system of verapamil hydrochloride using karaya gum and HPMC. *Clinical Research and Regulatory Affairs*, 27(1): 13–20.
68. Kumar R., Shrivastava S.K. (2021). Formulation & Evaluation of Effervescent Tablet of Verapamil Hydrochloride. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 33(55B): 81-89.
69. Patidar D., Shah S., Tyagi C.K., et al. (2016). Controlled-Release Effervescent Floating Tablet of Verapamil Hydrochloride: Development and Opitmization. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(8): 732.

70. Krishnan S.K., Somasekhar C., Ahmed M.G., et al. (2012). Formulation and Evaluation of Chitosan based effervescent floating tablets of Verapamil hydrochloride. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 1(11): 1711-1720.
71. Arpna I., Masheer K.A. (2023). Box-Behnken design for optimization of formulation variables for controlled release gastroretentive tablet of verapamil hydrochloride. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 15(1).
72. Asha S.K.M., Senthil K.S.K., Parthiban S. (2013). Formulation and evaluation of bilayer floating tablet containing verapamil hydrochloride. *Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology*, 3(1): 23-27.
73. Reddy B.V., Navaneetha G. (2015). Formulation development and in vitro evaluation of gastro retentive floating microspheres of verapamil hydrochloride. *J. Pharm. Sci. Innov.*, 4(3): 183-188.
74. Products The European Agency for the Evaluation of Medicinal (2001). *Guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence. In Evaluation of Medicines for Human Use Committee for Proprietary Medicinal Products.*, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, London, COMMITTEE FOR PROPRIETARY MEDICINAL PRODUCTS, London. 1–18.
75. Nguyễn Đăng Hòa (2020). *Kỹ thuật bào chế và sinh dược học các dạng thuốc*, Nhà xuất bản Y học.
76. Food and Drug Administration-United States (2003). *Guidance for Industry-Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products -General Consideration*.
77. Li W., Jian W., Fu Y. (2019). Basic sample preparation techniques in LC-MS bioanalysis: protein precipitation, liquid–liquid extraction, and solid-phase extraction. *Sample preparation in LC-MS bioanalysis*: 1-30.

78. Nguyễn Thị Kiều Anh (2022). *Một số phương pháp sắc ký dùng trong phân tích thuốc*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 231.
79. Boonchaleaw B., Tansrisawad N., Hoonwijit U. (2021). Modified QuEChERS in blood sample preparation for drug abuse determination by LC-MS/MS. *Chulalongkorn Medical Journal*, 65(1).
80. Tran Cao Son, Nguyen Dinh Duc, Nguyen Thach Tung (2016). Pharmacokinetic analysis of levo-tetrahydropalmatine in rabbit plasma by rapid sample preparation and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 1008: 81-86.
81. Raja N., Shanmuganathan S., Abimanyu S., et al. (2024). Affordable and Reliable RP-HPLC Method for Verapamil Hydrochloride Quantification in Rabbit Plasma for Pharmacokinetics. *Processes*, 12(10): 2211.
82. Mostafa S.M., Mohamed M.H., Abdulrhman A.A., et al. (2021). Development and validation of a chiral liquid chromatographic assay for enantiomeric separation and quantification of verapamil in rat plasma: Stereoselective pharmacokinetic application. *Molecules*, 26(7): 2091.
83. Pourkarim F. Rahimpour E., Jouyban A. (2019). Analytical techniques for the determination of verapamil in biological samples and dosage forms: an overview. *Bioanalysis*, 11(23): 2189-2205.
84. Borges C., Mendes G.D., Barrientos-Astigarraga R.E., et al. (2005). Verapamil quantification in human plasma by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry: an application for bioequivalence study. *Journal of Chromatography B*, 827(2): 165-172.
85. Ivanova V., Zendelovska D., Stefova M., et al. (2008). HPLC method for determination of verapamil in human plasma after solid-phase extraction. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70(6): 1297-1303.

86. Jhee O., Hong J., Om A., et al. (2005). Direct determination of verapamil in rat plasma by coupled column microbore-HPLC method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 37(2): 405-410.
87. Rasymas A.K., Boudoulas H., Kichan J.M. (1992). Determination of verapamil enantiomers in serum following racemate administration using HPLC. *Journal of liquid chromatography*, 15(17): 3013-3029.
88. Hefnawy M., Al-Majed A., Alrabiah H., et al. (2021). Rapid and sensitive LC-MS/MS method for the enantioanalysis of verapamil in rat plasma using superficially porous silica isopropyl-cyclofructan 6 chiral stationary phase after SPE: Application to a stereoselective pharmacokinetic study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 201: 114108.
89. Shin H.S., Oh-Shin Y.S., Kim H.J., et al. (1996). Sensitive assay for verapamil in plasma using gas-liquid chromatography with nitrogen-phosphorus detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 677(2): 369-373.
90. Nguyễn Văn Bạch, Trương Đức Mạnh (2025). Đánh giá sinh khả dụng của viên nang verapamil hydroclorid 120 mg giải phóng kéo dài trên chó thực nghiệm. *Tạp chí Y học Cộng đồng*, 66(CĐ2).
91. Hla K.K., Henry J.A., Latham A.N. (1987). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of two formulations of verapamil. *British journal of clinical pharmacology*, 24(5): 661-664.
92. McEwen J., Durnin C., McMurdo M.E.T., et al. (1989). Sustained-release verapamil: multiple-dose pharmacokinetic comparison of 120-mg and 240-mg tablets and the effect of halving a 240-mg tablet. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 13: 57-59.

93. Devane J.G., Kelly J.G., Geoghegan B. (1990). Pharmacokinetic and In-Vitro Characteristics of Sustained Release Verapamil Products. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 16(7): 1233-1248.
94. Fuenmayor N.T., Barbara M.F., Luigi X.C. (1992). Comparative efficacy, safety and pharmacokinetics of verapamil SR vs verapamil IR in hypertensive patients. *Drugs*, 44: 1-11.
95. Masood M., Lewanczuk Z., Pasutto M., et al. (1995). Pharmacokinetics of verapamil and norverapamil enantiomers after administration of immediate and controlled-release formulations to humans: evidence suggesting input-rate determined stereoselectivity. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 35(11): 1076-1082.
96. Krecic-Shepard E., Barnas C.R., Slimko J., et al. (2000). Faster clearance of sustained release verapamil in men versus women: continuing observations on sex-specific differences after oral administration of verapamil. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 68(3): 286-292.
97. Sawicki W. (2002). Pharmacokinetics of verapamil and norverapamil from controlled release floating pellets in humans. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 53(1): 29-35.
98. European Pharmacopoeia Commission, 2.9.36 Powder flow, in *European Pharmacopoeia (11th edition)*. 2023, Council of Europe: Strasbourg.
99. ICH Harmonized Tripartite Guideline (2003). *Stability testing of New drug substance and products Q1A (R2)*, International Conference on Harmonisation, Geneva.
100. **U.S. Food and Drug Administration** (2018). *Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation*, U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Silver Spring, Maryland, USA.

101. Ushimaru K., Nakamichi K., Saito H., *Pharmaceutical preparations and a method of manufacturing them*. 1987, Google Patents.
102. Sarada A., Lohithasu D., Pratyusha P.V. (2015). Development of hydrophobic carriers based tablets for sustained release of verapamil. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(12): 125-134.
103. Vivek V., Deattu N., Elango K., et al. (2017). Formulation and Evaluation of Sustained Release Bilayer Tablets of Verapamil Hydrochloride and Enalapril Maleate. *International Journal of Science and Research (IJSR)* 6(5).
104. Ahmad K., Muhammad I.C., Jallat K., et al. (2015). Formulation development and in vitro characterization of sustained release matrix tablets of verapamil HCl using synthetic and natural polymers. *Latin American Journal of Pharmacy*, 34(2): 277-82.
105. Efentakis M., Tavoulari D. (2012). An Investigation of the Dimensional Changes of Polymer Mixture Tablets Containing a Soluble Drug, Using an Image Analysis Method. Influence of These Characteristics on Drug Release and Its Mechanism. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 3(2): 200-207.
106. Kranz H., Gutsche S. (2009). Evaluation of the drug release patterns and long term stability of aqueous and organic coated pellets by using blends of enteric and gastrointestinal insoluble polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 380(1-2): 112-119.
107. Syeda A.T., Abdullah A.M., Florida S., et al. (2013). Development and In Vitro Evaluation of Floating Drug Delivery System of Verapamil HCl. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH*, 4(2): 720-726

108. International council for harmonisation of technical requirements for pharmaceuticals for human use (2023). *Validation of analytical procedures Q2(R2)*, ICH Harmonised guideline, ICH.
109. Dawange S.R., Khadabadi S.S., Saboo S.S. (2015). Formulation and Evaluation of Floating Tablets of Verapamil Hydrochloride by using Gastroretentive Technology. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 34(1): 263-269.

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU CỦA TÁC GIẢ ĐÃ
CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. Vu Van Tuan, Trinh Nam Trung, Nguyen Van Bach, (2022), “Quantification of verapamil hydrochloride in gastric floating tablets by high performance liquid chromatography” *Military Medical and Pharmaceutical Journal*, vol.1, pp. 145-151.
2. Vu Van Tuan, Trinh Nam Trung, Nguyen Van Bach, (2025), “Optimising verapamil hydrochloride floating tablets formula”, *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, 67(3), pp. 85-90.
3. Vũ Văn Tuấn, Trịnh Nam Trung, Nguyễn Văn Bạch, (2025), “Nghiên cứu định lượng verapamil trong huyết tương chó bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ”, *Tạp chí khoa học và công nghệ Việt Nam*, 67(8), tr. 62-28.

DANH MỤC PHỤ LỤC

PHỤ LỤC 1. DỮ LIỆU THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG VERAPAMIL TRONG VIÊN NÉN NỔI BẰNG HPLC	i
PHỤ LỤC 2. DỮ LIỆU NGHIÊN CỨU TƯƠNG TÁC TÁ DƯỢC – DƯỢC CHẤT	vii
PHỤ LỤC 3. QUY TRÌNH BẢO CHẾ VIÊN NỔI VERAPAMIL 120 MG GIẢI PHÓNG KÉO DÀI QUY MÔ 10.000 VIÊN/ LÔ	xv
PHỤ LỤC 4. DỮ LIỆU CHI TIẾT THẨM ĐỊNH QUY TRÌNH SẢN XUẤT 3 LÔ QUY MÔ 10000 VIÊN/LÔ	xxiv
PHỤ LỤC 5. TIÊU CHUẨN CƠ SỞ CỦA VIÊN THÀNH PHẨM	xlii
PHỤ LỤC 6. PHIẾU KIỂM NGHIỆM 3 LÔ SẢN XUẤT THEO TCCS	xlvi
PHỤ LỤC 7. DỮ LIỆU THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG VERAPAMIL TRONG HUYẾT TƯƠNG BẰNG SẮC KÝ LỎNG KHỐI PHỎ	liii

PHỤ LỤC 1. DỮ LIỆU THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG VERAPAMIL TRONG VIÊN NÉN NỔ BẰNG HPLC

Phương pháp định lượng VER trong viên nén giải phóng kéo dài bằng HPLC được thẩm định theo hướng dẫn của ICH.

1.1. Tính tương thích của hệ thống

Tiêm 06 lần mẫu chuẩn nồng độ 20 µg/mL vào hệ thống HPLC, tiến hành sắc ký theo điều kiện đã nêu ở mục 2.2.2. Kết quả khảo sát tính tương thích của hệ thống được trình bày trong bảng 1 như sau:

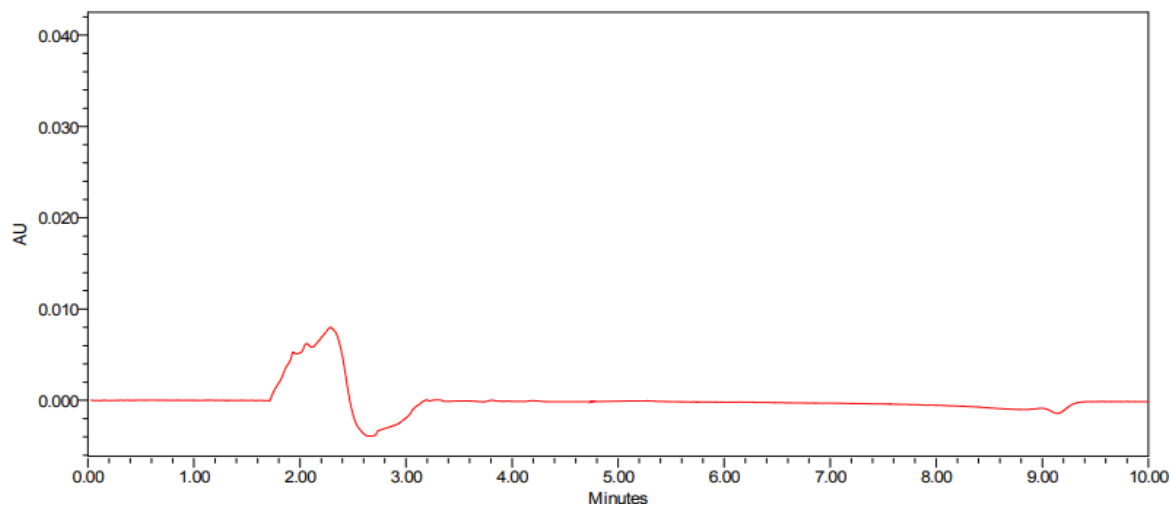
Bảng 1. Kết quả thẩm định tính thích hợp hệ thống

TT	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic (µV.s)	Hệ số bất đối (AF)	Số đĩa lý thuyết (N)
1	5,168	302293	1,28	11781
2	5,142	296075	1,26	11322
3	5,121	301500	1,27	11712
4	5,106	291912	1,26	11630
5	5,092	301613	1,27	11856
6	5,063	301164	1,27	11938
TB	5,11	299092	1,26	11706
RSD (%)	0,72	1,397	0,593	1,85

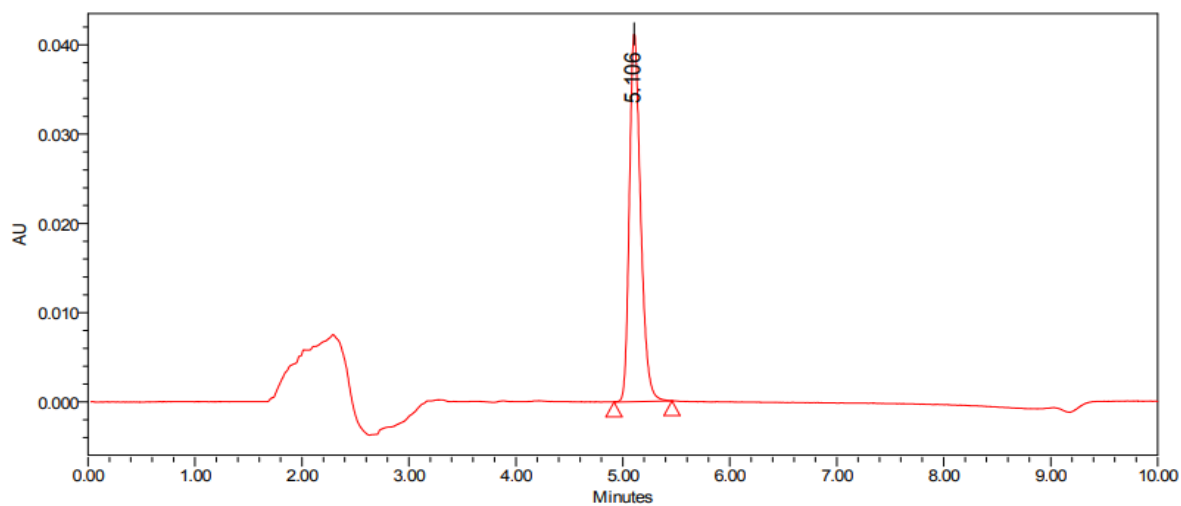
Kết quả bảng 1. cho thấy: Độ lệch chuẩn tương đối RSD (%) của thời gian lưu và diện tích pic VER của 6 mẫu thử đều nằm trong khoảng cho phép (<2%), các giá trị của hệ số bất đối xứng nằm trong khoảng cho phép $0,9 \leq AF \leq 1,5$. Điều này chứng tỏ hệ thống sắc ký được sử dụng là phù hợp và đảm bảo ổn định cho phép phân tích định lượng VER.

1.2. Độ đặc hiệu

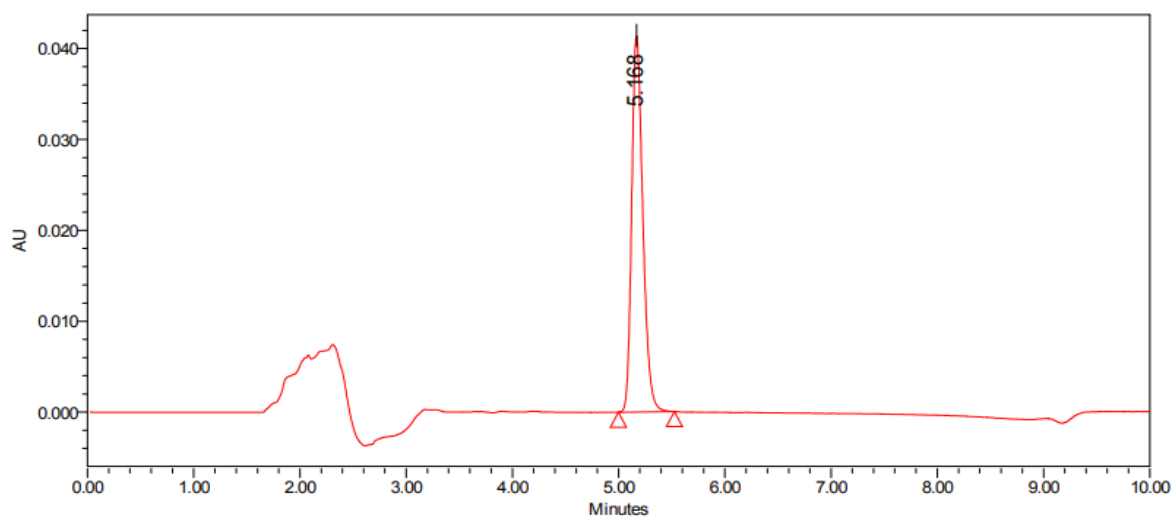
Tiến hành sắc ký dung dịch placebo, dung dịch chuẩn và dung dịch thử được sắc ký đồ như ở hình 1, 2 và 3.



Hình 1. Sắc ký đồ dung dịch placebo



Hình 2. Sắc ký đồ dung dịch chuẩn VER



Hình 3. Sắc ký đồ dung dịch thử

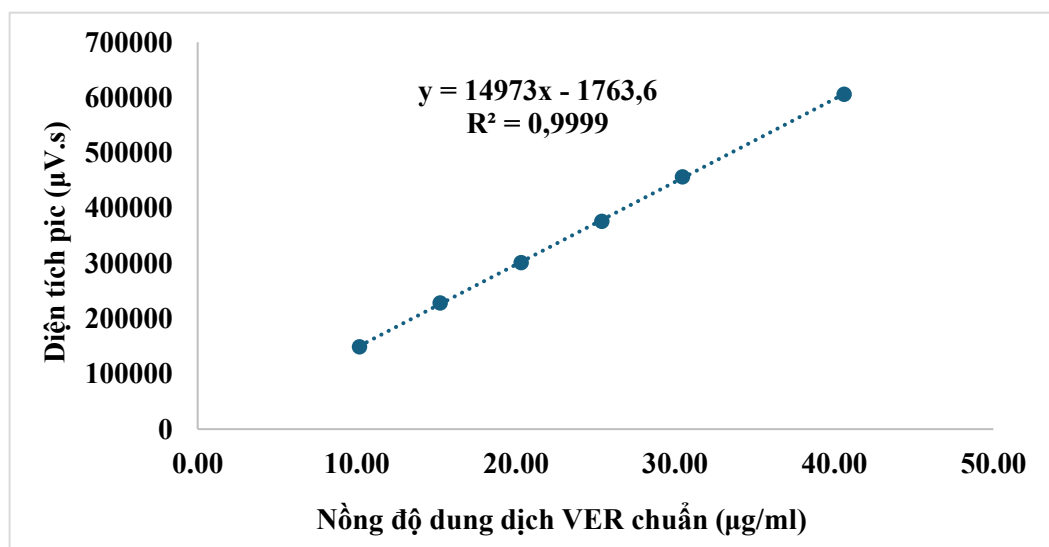
Kết quả hình 1, 2 và 3 cho thấy: Trên sắc ký đồ dung dịch placebo pha từ hỗn hợp tá dược không thấy xuất hiện pic trong khoảng thời gian tương ứng với thời gian lưu của VER (khoảng 5,1 phút). Sắc ký đồ dung dịch chuẩn và dung dịch thử đều cho một pic chính ở khoảng thời gian lưu $t_R = 5,1$ phút của VER. Điều này chứng tỏ pic trên sắc ký đồ dung dịch thử là pic của VER. Do đó, phương pháp đảm bảo độ đặc hiệu theo quy định.

1.3. Đường chuẩn và khoảng tuyến tính

Kết quả khảo sát sự phụ thuộc tuyến tính giữa nồng độ với diện tích pic của VER trong khoảng 50 - 200% nồng độ làm việc (từ 10 $\mu\text{g/mL}$ đến 40 $\mu\text{g/mL}$) và xây dựng đường chuẩn được trình bày ở bảng 2 và hình 4.

Bảng 2. Diện tích pic của dãy dung dịch chuẩn VER

Mẫu	1	2	3	4	5	6
Nồng độ dung dịch chuẩn ($\mu\text{g/mL}$)	10,15	15,23	20,31	25,38	30,46	40,61
Diện tích pic ($\mu\text{V.s}$)	149159	228581	301462	376100	456675	605692
Kết quả	Phương trình hồi quy: $Y = 14973X - 1763,6$ Hệ số $R^2 = 0,9999$					



Hình 4. Sự phụ thuộc của diện tích pic theo nồng độ VER

Nhận xét: Kết quả trình bày ở bảng 2 và hình 4 cho thấy trong khoảng nồng độ đã khảo sát, diện tích pic thu được trên sắc ký đồ tỉ lệ thuận với nồng độ của chúng, sự phụ thuộc thể hiện qua đường thẳng hồi quy tuyến tính và hệ số $R^2 = 0,9999$. Như vậy phương pháp định lượng sử dụng tuyến tính trong khoảng nồng độ khảo sát từ 10 $\mu\text{g/mL}$ đến 40 $\mu\text{g/mL}$ (tương đương khoảng nồng độ từ 50 đến 200 % nồng độ làm việc).

1.4. Độ lặp lại

Tiến hành sắc ký và ghi sắc ký đồ của 6 dung dịch thử và dung dịch chuẩn làm song song. Khối lượng chuẩn cân được là 20,2 mg. Khối lượng 20 viên là 8,2057g. Nồng độ dung dịch mẫu chuẩn: 20,31 $\mu\text{g/mL}$ với diện tích pic chuẩn 301620 $\mu\text{V.s}$. Hàm lượng của 6 mẫu thử được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3. Kết quả thẩm định độ lặp lại

TT	Khối lượng thử (mg)	Diện tích pic ($\mu\text{V.s}$)	Hàm lượng (%)
1	68,1	301663	101,96
2	68,8	305020	102,04
3	67,5	304957	103,99
4	68,5	301112	101,18
5	68,9	307762	102,81
6	67,6	303739	103,42
TB			102,57
RSD (%)			1,01

Kết quả bảng 3 cho thấy: RSD của kết quả định lượng 6 mẫu thử song song là 1,01%, giá trị này nhỏ hơn giới hạn chấp nhận là 2%. Điều này chứng tỏ phương pháp đảm bảo yêu cầu về độ lặp lại theo hướng dẫn của ICH

1.5. Độ đúng

Phương pháp được thẩm định độ đúng theo phương pháp tạo mẫu thử thêm chuẩn có hàm lượng 80, 100, 120% so với nồng độ làm việc. Mỗi nồng độ lặp lại 3 mẫu. Tiến hành song song dung dịch thử và dung dịch chuẩn cho diện tích pic VER trên sắc ký đồ dung dịch thử là 304088 $\mu\text{V.s}$ và trên sắc ký

đồ dung dịch chuẩn là 301620 $\mu\text{V.s}$. Dung dịch chuẩn gốc VER có nồng độ 2,037 mg/mL được sử dụng để pha các dung dịch thử thêm chuẩn. Kết quả phân tích các dung dịch thử thêm chuẩn được chỉ ra trong bảng 4.

Bảng 4. Kết quả thẩm định độ đúng

TT	Loại mẫu	Lượng thêm vào (mg)	Diện tích pic ($\mu\text{V.s}$)	Lượng tìm thấy (mg)	Độ thu hồi (%)	Trung bình (%)	RSD (%)
1	80%	6,11	242894	6,06	99,14	99,07	0,91
2		6,11	242717	6,11	99,93		
3		6,11	243318	6,00	98,13		
4	100 %	10,18	303528	10,11	99,32	99,77	0,91
5		10,18	305543	10,10	99,17		
6		10,18	305340	10,26	100,81		
7	120 %	14,26	366083	14,41	101,07	100,94	0,60
8		14,26	367097	14,30	100,29		
9		14,26	369178	14,47	101,48		

Kết quả bảng 4 thể hiện: Tỷ lệ thu hồi được ở các nồng độ khác nhau đạt từ 98,13 đến 101,48 % đều nằm trong khoảng 98 – 102 % so với lượng chuẩn thêm vào; RSD thu được từ 0,60 đến 0,91% đều không quá 2 % chứng tỏ phương pháp đã xây dựng đảm bảo độ đúng trong khoảng 80-120 % nồng độ định lượng theo yêu cầu của ICH.

1.6. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng

Để xác định giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng, tiến hành tiêm sắc ký 03 lần mẫu trắng, đo được tín hiệu nền trong khoảng thời gian từ 4,8 đến 5,4 phút, kết quả được ghi lại trong bảng 5.

Bảng 5. Độ nhiễu đường nền của mẫu trắng

Mẫu	Độ nhiễu đường nền tại thời gian lưu của VER
1	2905
2	4316

Mẫu	Độ nhiễu đường nền tại thời gian lưu của VER
3	3450
TB	3557
SD	711,6

Số liệu bảng 5 cho thấy: Độ lệch chuẩn của tín hiệu đo trên nền mẫu placebo tại vị trí thời gian lưu của VER là 711,6 $\mu\text{V.s}$. Từ đó xác định được giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp với VER lần lượt là 0,14 $\mu\text{g/mL}$ và 0,47 $\mu\text{g/mL}$.

Kết luận về thẩm định phương pháp phân tích VER bằng HPLC: Chương trình HPLC đã xây dựng được thẩm định theo hướng dẫn của ICH, kết quả thể hiện phương pháp có khoảng tuyến tính thích hợp, độ đúng, độ lặp lại cao và cho kết quả đáng tin cậy. Có thể áp dụng phương pháp đã xây dựng để xác định hàm lượng của viên nôi VER GPKD.

PHỤ LỤC 2. DỮ LIỆU NGHIÊN CỨU TƯƠNG TÁC TÁ DƯỢC – DUỢC CHẤT

2. 1. Sự thay đổi màu sắc của hỗn hợp dược chất và các tá dược sau một tháng bảo quản

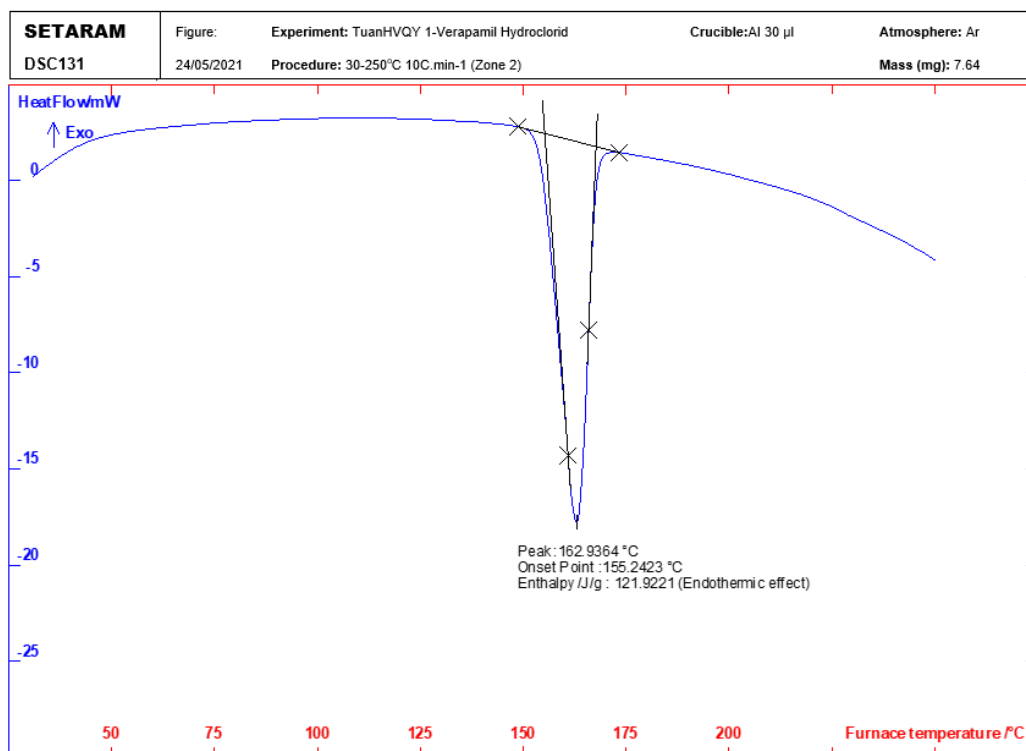
Tá dược trong hỗn hợp với VER	Màu hỗn hợp	Màu hỗn hợp ở điều kiện thực phòng thí nghiệm (t=30 ngày)	Màu hỗn hợp ở 40°C/75% (t=30 ngày)
VER	Trắng	Trắng	Trắng
HPMC K4M	Trắng	Trắng	Trắng
HPMC K100M	Trắng	Trắng	Trắng
HPMC E6	Trắng	Trắng	Trắng
Ethyl Cellulose	Trắng	Trắng	Trắng
Gôm Guar	Trắng ngà	Trắng ngà	Trắng ngà
Carbopol 940	Trắng	Trắng	Trắng
Lactose	Trắng	Trắng	Trắng
PVP K30	Trắng	Trắng	Trắng
Magnesi stearat	Trắng	Trắng	Trắng
Avicel PH 101	Trắng	Trắng	Trắng

2.2. Sự thay đổi hàm lượng của VER trong các mẫu khảo sát sau một tháng bảo quản

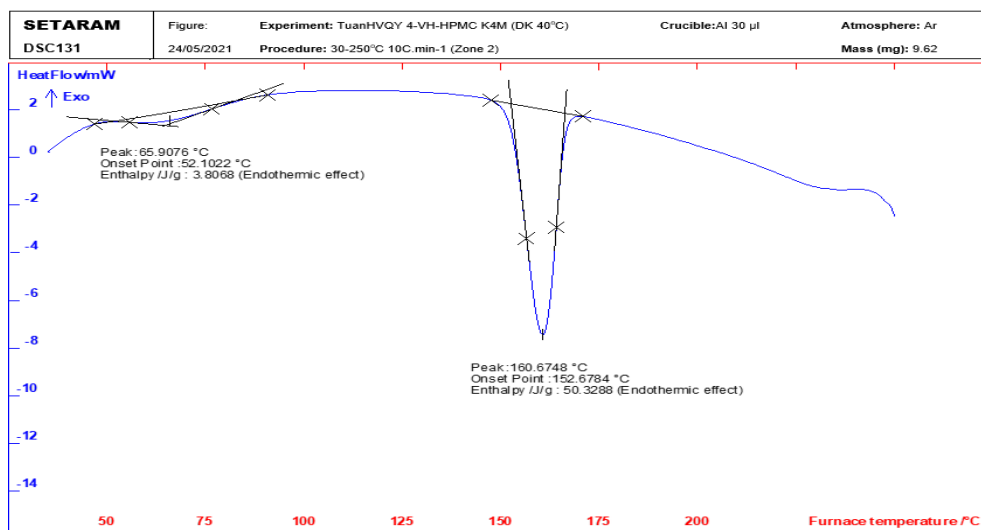
Tá dược trong hỗn hợp với VER (tỉ lệ 1:1)	Hàm lượng (%) VER sau bảo quản ở điều kiện thực phòng thí nghiệm (t=30 ngày)	Hàm lượng (%) VER sau bảo quản ở 40°C/75% (t=30 ngày)
VER	99,94	98,02

HPMC K4M	98,95	96,39
HPMC K100M	99,09	91,21
HPMC E6	99,58	95,80
Ethyl Cellulose	99,96	90,81
Gôm Guar	99,37	85,20
Carbopol 940	99,76	95,60
Natri hydrocarbonat	99,41	94,70
Lactose	99,70	92,11
PVP K30	99,55	90,19
Magnesi Stearat	99,97	92,11
Avicel PH 101	99,90	93,10

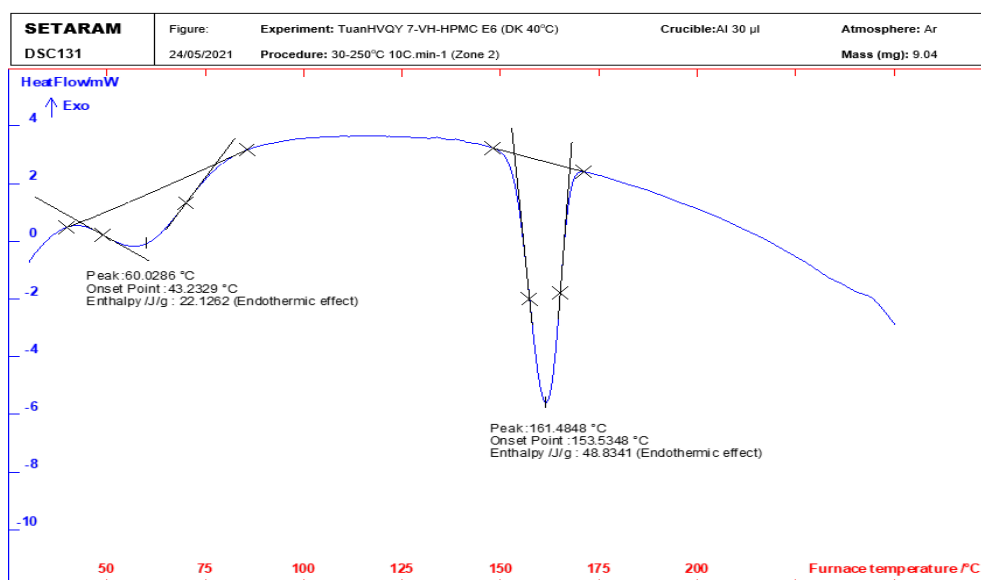
2.3. Nhiệt vi sai của hỗn hợp verapamil và tá dược



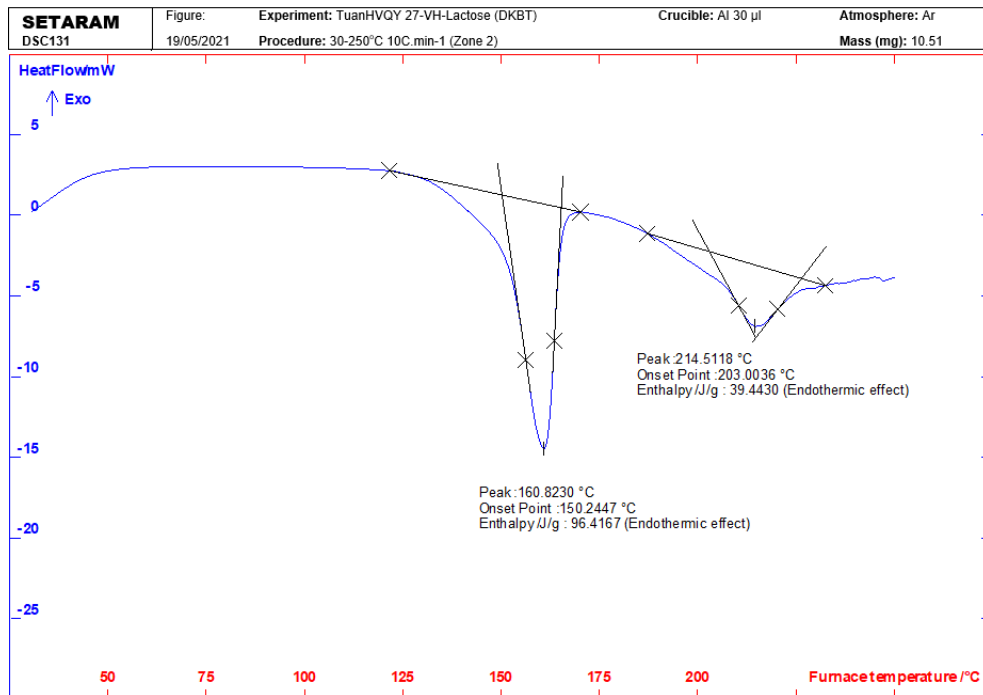
Giản đồ nhiệt DSC của VER



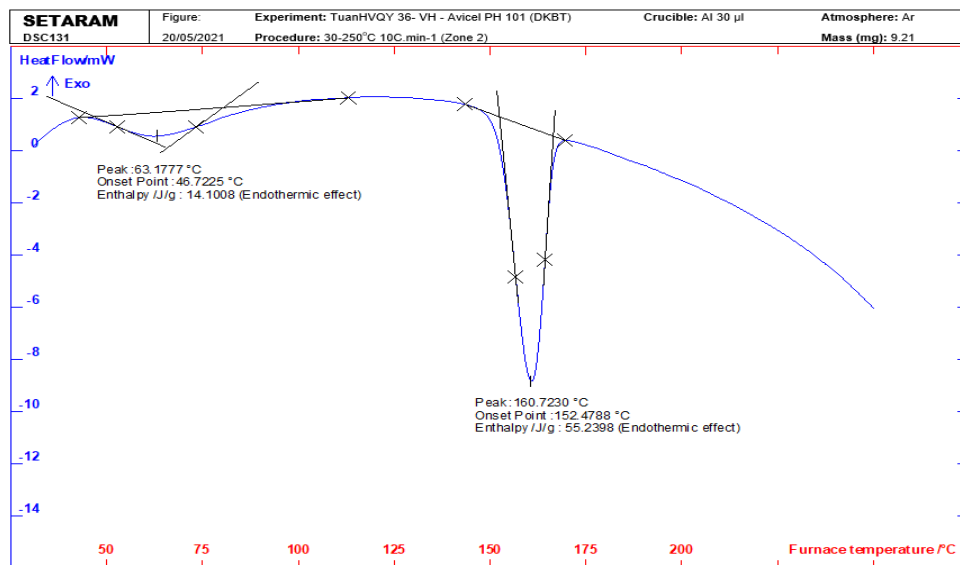
Giản đồ nhiệt DSC của hỗn hợp VER và HPMC K4M



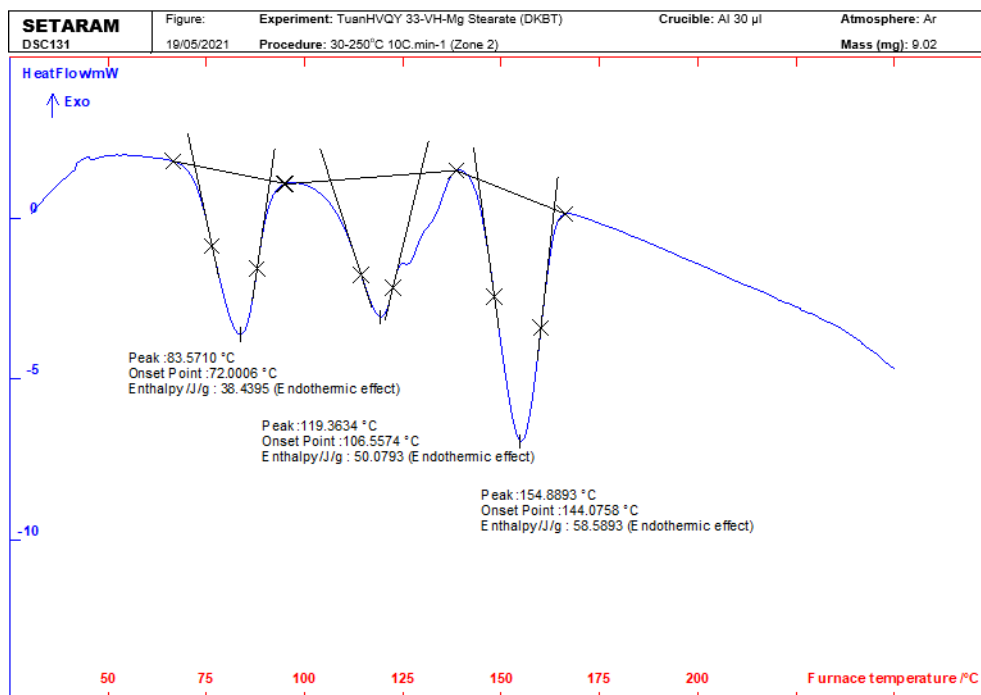
Giản đồ nhiệt DSC của hỗn hợp VER và HPMC E6



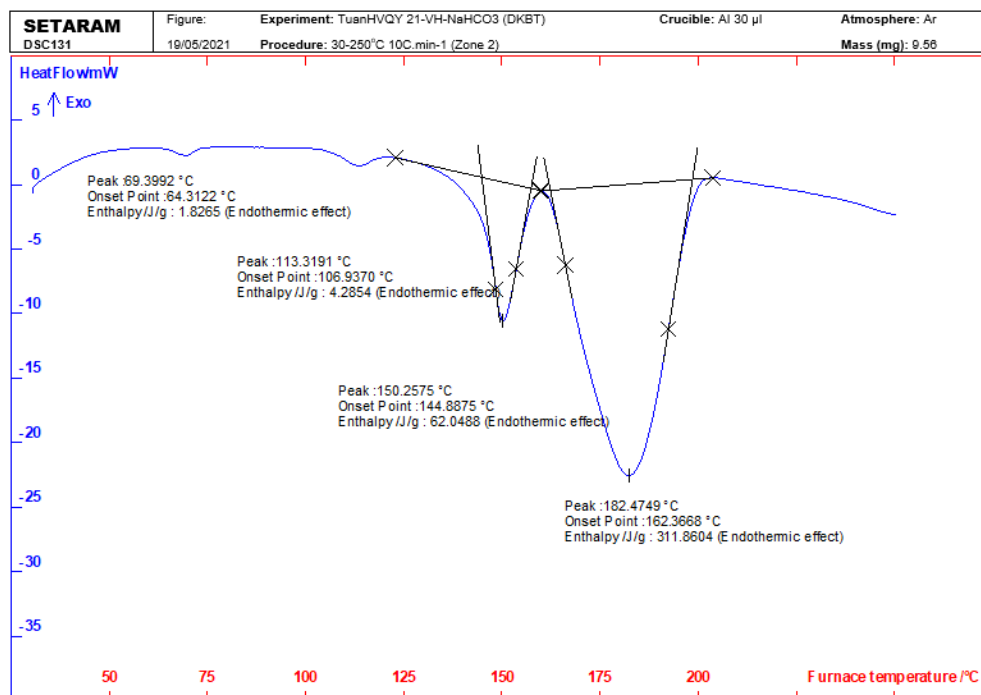
Giản đồ nhiệt DSC của hỗn hợp VER và Lactose



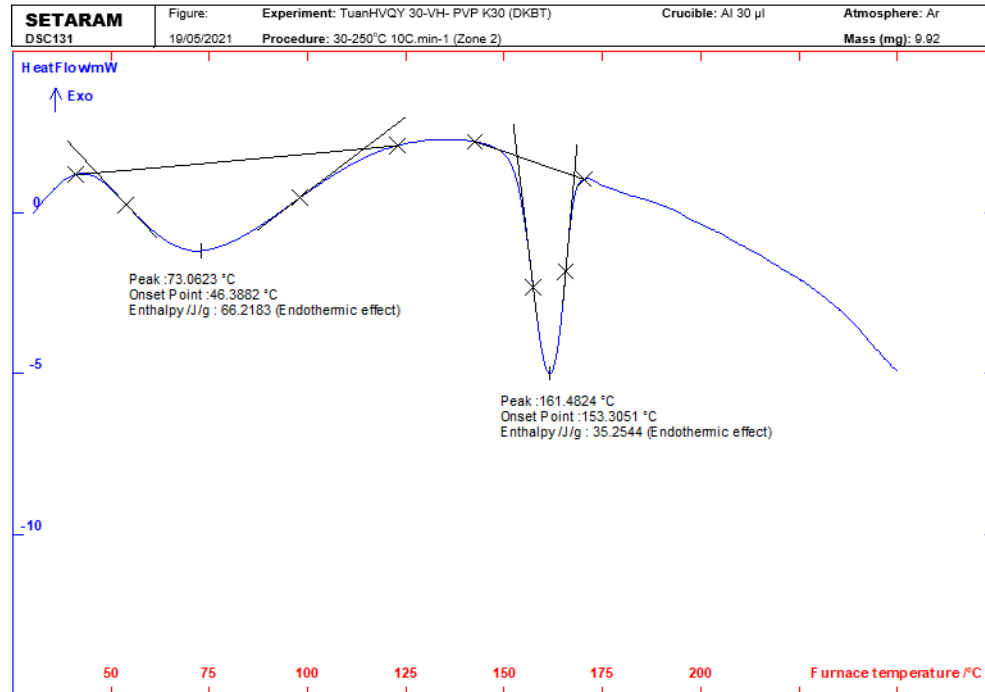
Giản đồ nhiệt DSC của hỗn hợp VER và Avicel PH 101



Giản đồ nhiệt DSC của hỗn hợp VER và Magnesi stearat

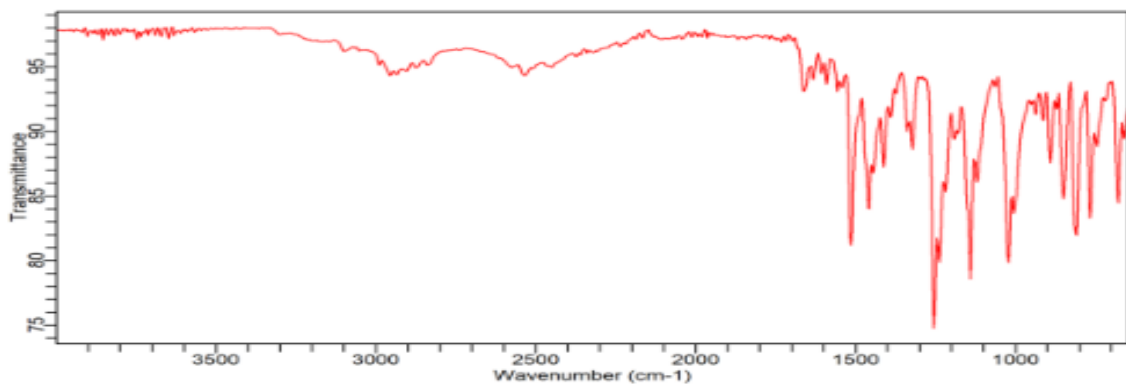


Giản đồ nhiệt DSC của hỗn hợp VER và NaHCO₃

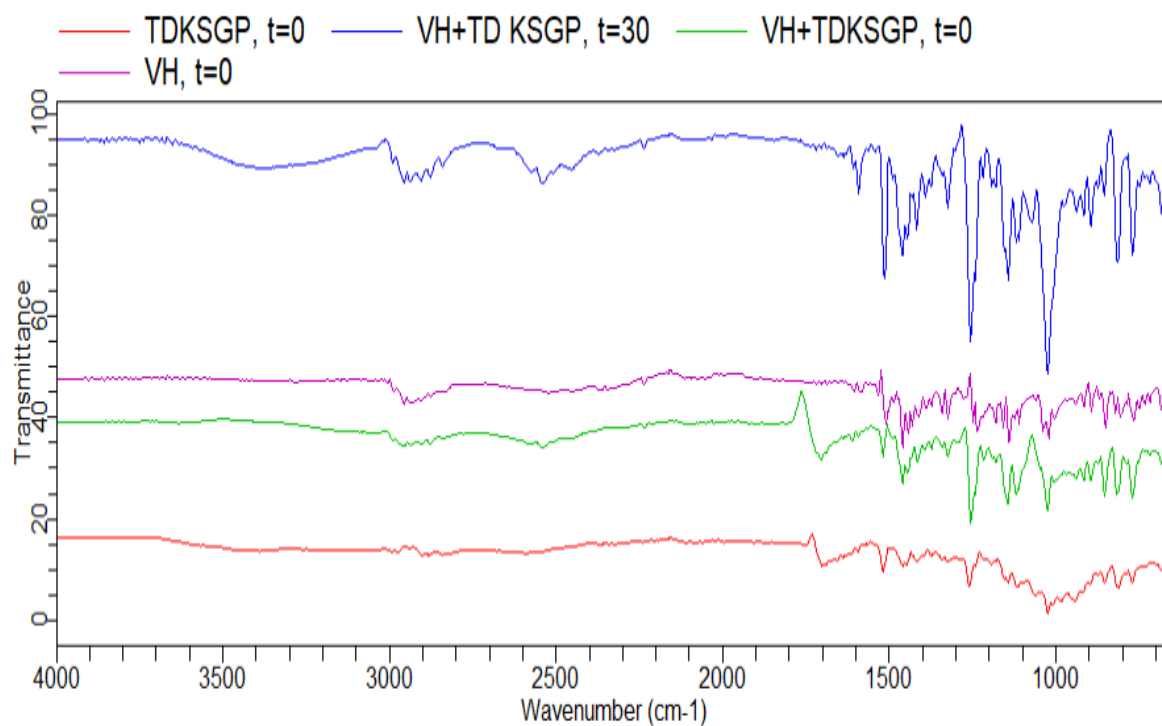


Giản đồ nhiệt DSC của hỗn hợp VER và PVP K30

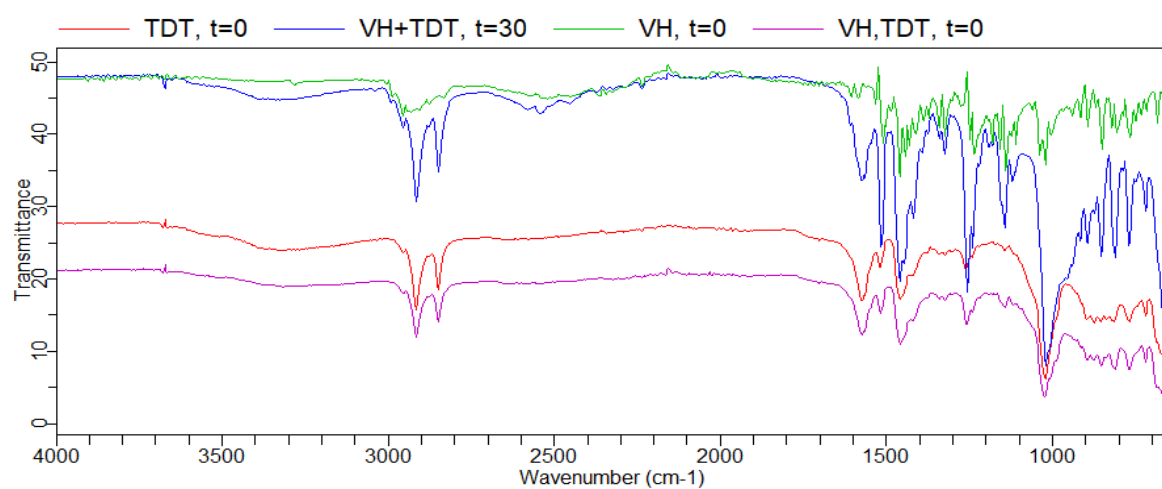
2.4. Phổ IR của hỗn hợp verapamil và các nhóm tá dược



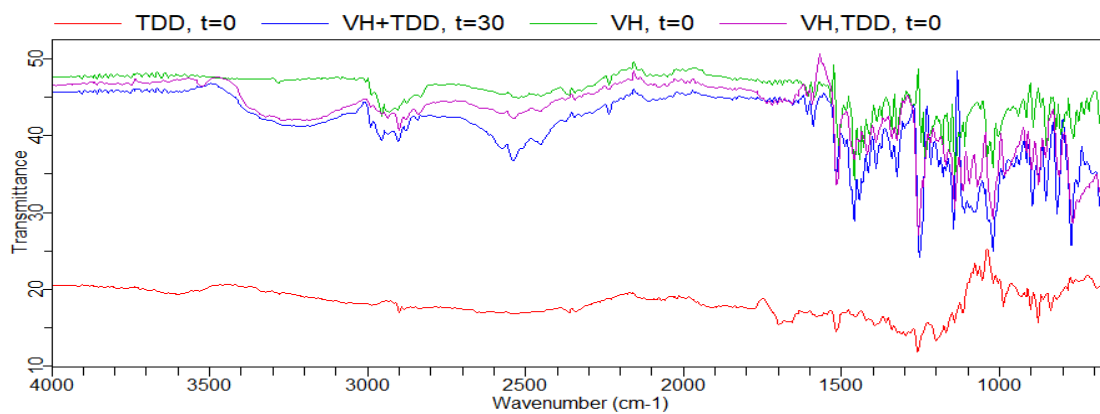
Phổ IR của dược chất VER



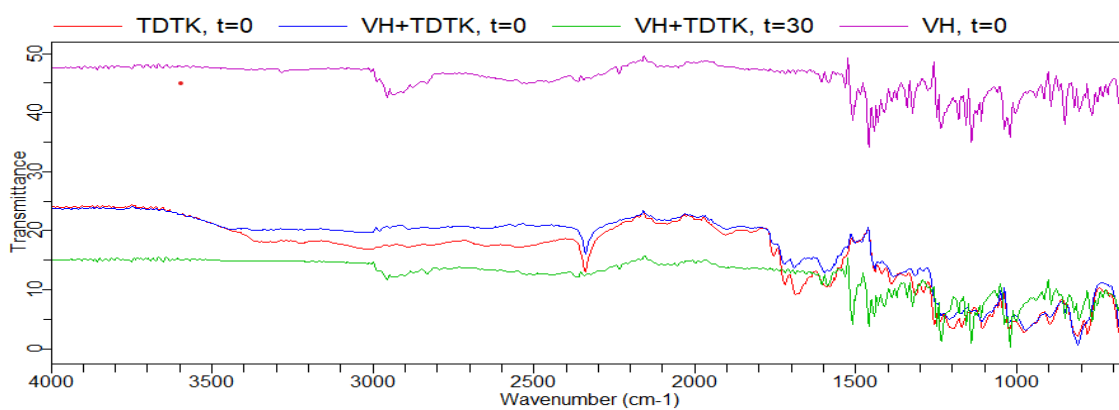
Phổ IR của VER và tá được ĐKGP



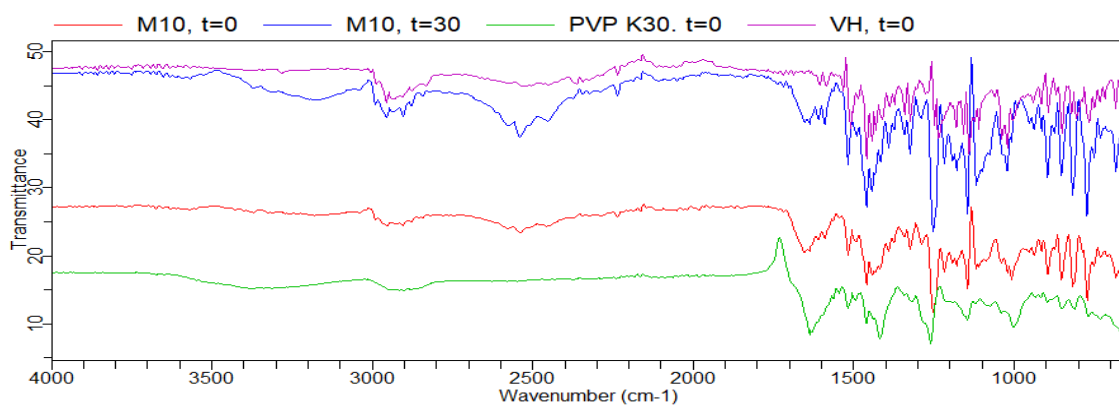
Phổ IR của VER và tá được trơn



Phổ IR của VER và tá dược độn



Phổ IR của VER và tá dược sinh khí



Phổ IR của VER và tá dược dính (PVP K30)

**PHỤ LỤC 3. QUY TRÌNH BÀO CHẾ VIÊN NỖI VERAPAMIL 120 MG
GIẢI PHÓNG KÉO DÀI QUY MÔ 10.000 VIÊN/ LÔ**

1. Công thức lô

Thành phần	1 viên (mg)	10 000 viên (g)
Verapamil hydroclorid	120	1200
HPMC K4M	59	590
HPMC E6	35	350
Avicel PH 101	50	500
Natri hydrocarbonat	39,3	393
Lactose	98,7	987
Magnesi stearat	8	80
PVP K30	20	200
Ethanol 96%*	0,2 mL	2 Lít
Tổng khối lượng	430	4300

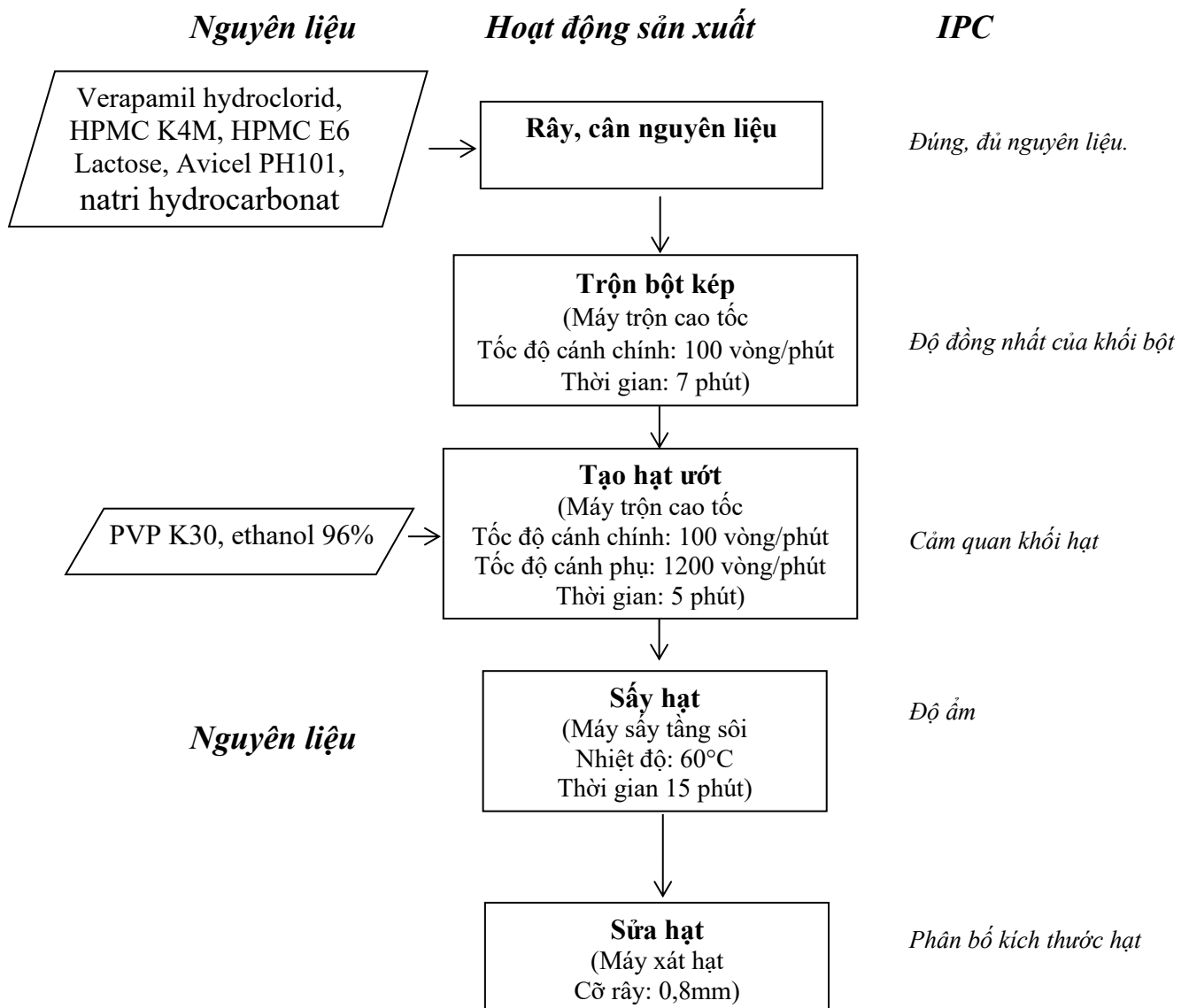
* Tá được bay hơi trong quá trình sản xuất

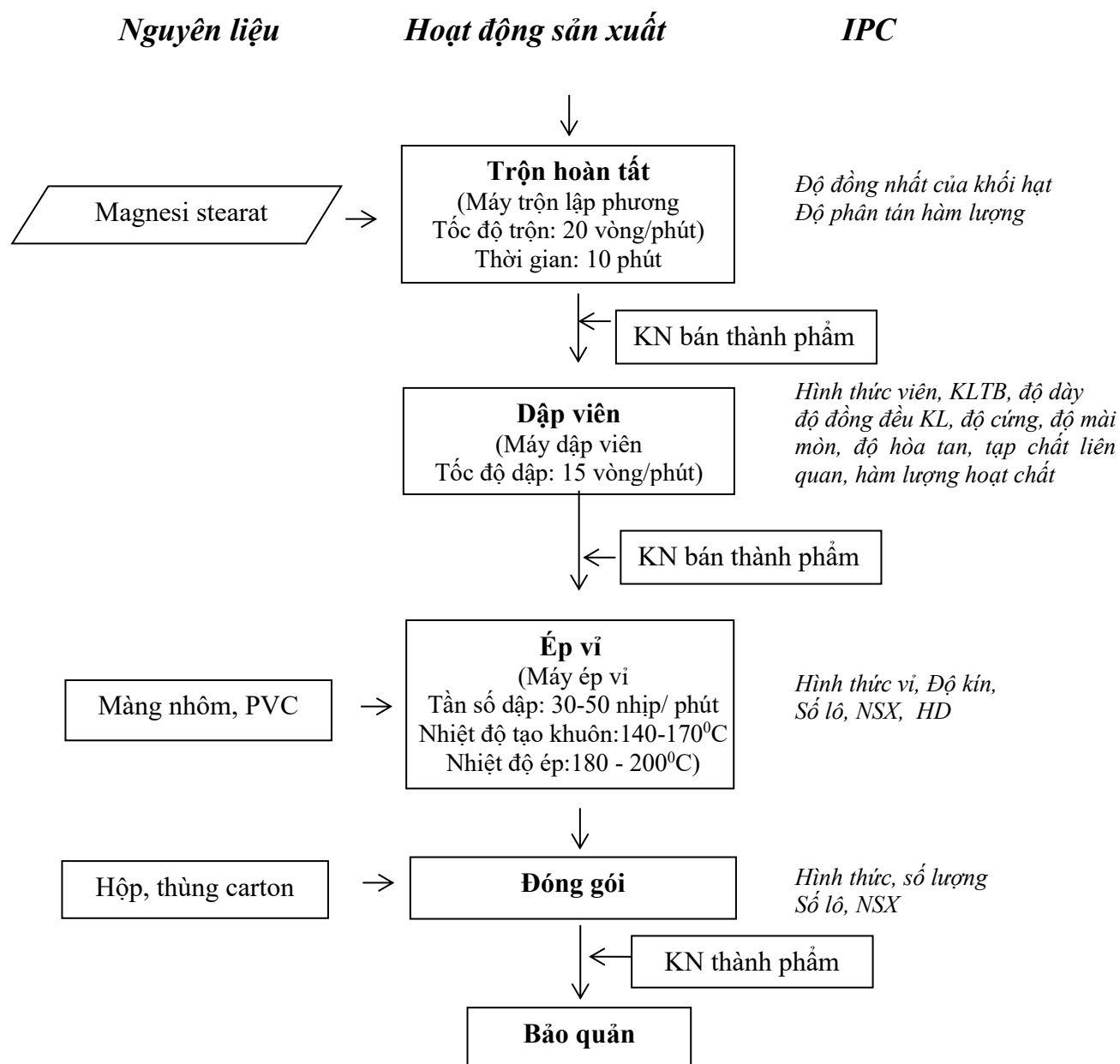
2. Danh mục thiết bị

STT	Thiết bị	Công suất	Mục đích sử dụng
1	Máy nhào trộn & tạo hạt cao tốc HMG – 10	Dung tích nồi tạo hạt 10L, dung tích làm việc 2,5-7L.	Trộn và tạo hạt
2	Máy sấy tầng sôi FBDG – 5	Công suất tối đa 5 kg/mẻ	Sấy hạt
3	Máy xát trục ngang YK-160	Công suất tối đa 100 kg/giờ	Sửa hạt
4	Máy trộn lập phương	Công suất tối đa 5 kg/mẻ	Trộn hoàn tất
5	Cân điện tử	Khối lượng tối đa: 2100 g	Cân nguyên liệu

STT	Thiết bị	Công suất	Mục đích sử dụng
6	Máy dập viên quay tròn	8 chày, Ø = 11 cm, mặt chày lõm.	Dập viên
7	Rây các loại		Rây nguyên liệu
8	Máy ép vỉ	Chiều sâu định hình PVC max: 16. Tốc độ làm việc với Alu: max 35 nhịp/phút Đường kính cuộn NL PVC/ALU: Max 400 mm	Ép vỉ

3. Sơ đồ các giai đoạn sản xuất





4. Mô tả quá trình sản xuất

4.1. Xử lý nguyên liệu

- Verapamil hydroclorid, HPMC K4M, HPMC E6, Avicel PH101, natri hydrocarbonat, lactose được rây qua rây 0,355 mm; magnesi stearat: rây qua rây 0,25 mm. Cân riêng các thành phần theo khối lượng trong công thức lô và ghi hồ sơ lô sản xuất.

- IPC: Kiểm tra đúng, đủ nguyên liệu theo công thức lô.

4.2. Pha dung dịch dính

- Công thức pha dung dịch dính:

PVP K30	0,2 kg
Ethanol 96%	2 L

- Pha chế: Cho đúng thể tích ethanol 96% vào xô pha chế. Cho PVP K30 vào, khuấy đều đến tan hoàn toàn.

- IPC: Kiểm tra cảm quan: Dung dịch dính đồng nhất, không lắng cặn, không vật thể lạ.

4.3. Trộn bột kép

- Cho các nguyên liệu (Verapamil hydroclorid, HPMC K4M, HPMC E6, Avicel PH101, natri hydrocarbonat, lactose,) vào máy trộn cao tốc, vận hành máy trong 7 phút với tốc độ cánh trộn 100 vòng/phút.

- IPC: Kiểm tra thời gian trộn, tốc độ trộn, độ đồng nhất của khối bột khô.

4.4. Tạo hạt ướt

- Trộn ướt: Đổ từ từ dung dịch dính vào khối bột khô trong máy trộn cao tốc. Vận hành máy trộn với tốc độ cánh chính 100 vòng/phút, tốc độ cánh phụ 1200 vòng/phút trong 5 phút. Ngừng máy, để yên 30 phút để ủ ẩm, sau đó vét bột. Tiếp tục vận hành máy trộn thêm 2 phút. Xả hạt.

- IPC: Kiểm tra thông số máy: Thời gian trộn, tốc độ trộn, thời gian ủ ẩm. Kiểm tra cảm quan khối hạt.

4.5. Sấy hạt, sửa hạt

- Cho hạt ướt sau ủ vào máy sấy tầng sôi. Tiến hành thổi gió không gia nhiệt 10 phút sau đó cài nhiệt độ 60°C sấy trong thời gian 3 phút. Ngừng sấy, lấy cốm ra, xát cốm qua rây 0,8mm trên máy xát hạt trục ngang. Sau khi sửa hạt, đem cốm cho vào máy sấy tầng sôi, sấy tiếp 15 phút (độ ẩm 2,0 - 3,0%).

- IPC: Kiểm tra độ ẩm.

4.6. Trộn hoàn tất

- Cho magnesi stearat và 100 g cốm vào túi PE, lắc đều. Cho hỗn hợp thu được vào máy trộn lập phương có sẵn lượng cốm còn lại. Vận hành máy trộn trong 10 phút ở tốc độ 20 vòng/phút.
- IPC: Kiểm tra độ đồng nhất của khối bột và lấy mẫu chuyển Phòng QC kiểm tra hàm lượng hoạt chất trong cốm.

* *Kiểm nghiệm bán thành phẩm*

Hạt khô đã trộn tá dược tron kiểm nghiệm bán thành phẩm về các chỉ tiêu:

- *Cảm quan*: Đồng đều về kích thước và màu sắc.
- *Độ ẩm của hạt*: $\leq 3,0\%$.
- *Độ phân tán hàm lượng*: Verapamil hydroclorid: 26,51 % - 29,30 % (kl/kl), RSD $\leq 5\%$.

4.7. Dập viên

- Chuẩn bị máy dập viên: Lắp chày cối Ø11, trên máy dập viên quay tròn 8 chày.
- Chạy thử máy, kiểm tra máy vận hành ổn định.
- Tiến hành dập viên:

Chuyển cốm vào phễu của máy dập viên và dập viên theo các thông số sau:

Cảm quan: Viên nén hình trụ rẹt, mặt lồi, màu trắng, cạnh và thành viên lành lặn.

Khối lượng trung bình viên: 430 mg $\pm 3\%$

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

Độ cứng: 9-11kp

Tốc độ dập viên: 15 vòng/phút

- Bảo quản viên bán thành phẩm trong 2 lớp bao PE kín, tránh ánh sáng, dán nhãn đúng quy định, tiến hành kiểm nghiệm viên bán thành phẩm.

* *Kiểm nghiệm bán thành phẩm*

- *Cảm quan*: Viên nén hình trụ rẹt, mặt lồi, màu trắng, thành và cạnh viên lành lặn.

- *Độ đồng đều khối lượng*: KLTB $\pm 5\%$.

- *Độ hòa tan*: Tỷ lệ (%) verapamil hydroclorid ($C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$) hòa tan so với hàm lượng ghi trên nhãn tại các thời điểm phải nằm trong giới hạn: 1 giờ: 8 – 20 %; 2 giờ: 15 – 35 %; 3,5 giờ: 27 – 57 %; 5 giờ: 45 – 75 %; 8 giờ: trên 80 %.

- *Thời gian trì hoãn nổi*: Không quá 180 giây.

- *Tổng thời gian nổi*: Không dưới 12 giờ.

- *Định lượng*: Hàm lượng verapamil hydroclorid ($C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$): Từ 90,0% đến 110,0% so với lượng ghi trên nhãn.

Viên đạt các chỉ tiêu kiểm nghiệm bán thành phẩm thì tiến hành ép vỉ.

4.8. Ép vỉ

- Máy ép vỉ đã được vệ sinh đạt yêu cầu, lắp khuôn, màng nhôm, PVC, số lô SX.

- Thông số kỹ thuật của máy:

Tần số đập	30-50 nhịp/ phút
Nhiệt độ tạo khuôn	140 ⁰ C - 170 ⁰ C
Nhiệt độ ép	180 ⁰ C - 200 ⁰ C
Áp suất khí nén	6-9 kg/cm ²
Nhiệt độ đập số lô SX, hạn dùng	35-70 ⁰ C

- Ép vỉ 10 viên. Kiểm tra độ kín của vỉ thuốc 3 lần/ca, nếu đạt yêu cầu cho máy chạy tiếp đến khi hết viên.

4.9. Đóng gói

- Hộp, thùng đạt yêu cầu.

- Đóng hộp 2 vỉ x 10 viên.

- Lấy mẫu kiểm nghiệm thành phẩm theo TCCS.

- Đóng hộp vào thùng. Trên thùng ghi đầy đủ: Tên thuốc - hàm lượng, quy cách đóng gói, số lượng, số lô SX, ngày SX, ngày đóng gói, người đóng gói.

4.10. Bảo quản

- Thùng thuốc đóng xong được bảo quản ở nơi khô ráo, thoáng mát, tránh ánh nắng trực tiếp.

5. Kiểm soát các bước quan trọng và các sản phẩm trung gian

Các giai đoạn kiểm tra	Nội dung	Số lần kiểm tra	Yêu cầu	Phương pháp kiểm	Người kiểm tra
Chuẩn bị					
Kiểm tra vệ sinh phòng, thiết bị, dụng cụ pha chế	Phòng sản xuất Thiết bị, dụng cụ pha chế	1 lần trước khi tiến hành	Theo quy định Theo quy định	Quan sát và đối chiếu hồ sơ lô sản xuất	DS pha chế, KSV
Nguyên liệu	Cảm quan, các tiêu chuẩn nguyên liệu, số lượng nguyên liệu sử dụng cho từng công đoạn	1 lần	Đạt tiêu chuẩn Theo quy định	Đối chiếu phiếu kiểm nghiệm, phiếu xuất kho và hồ sơ lô sản xuất	KSV, KTV
Tính toán Công thức	Bù trừ, bổ sung hàm lượng hoạt chất, tá dược xảy ra trong quá trình sản xuất	1 lần	Theo quy định	Tính toán dựa trên kết quả kiểm nghiệm	Ds pha chế, KSV
Cân	Kiểm tra nguyên liệu	1 lần	Đúng số lượng, đúng khối lượng, đúng tên, số lô, hạn dùng, ngày sản xuất, nhà cung cấp và nhà sản xuất	Đối chiếu phiếu xuất kho và hồ sơ lô sản xuất	KSV, KTV
Pha chế					
Rây nguyên liệu	Cảm quan lưới Cỡ lưới	1 lần trước khi tiến hành	Nguyên vẹn không bị rách hay biến dạng 0,355 và 0,25 mm	Quan sát	Ds pha chế, KSV, KTV

Các giai đoạn kiểm tra	Nội dung	Số lần kiểm tra	Yêu cầu	Phương pháp kiểm	Người kiểm tra
Trộn bột kép	Kiểm tra số lượng thành phần trộn Thời gian trộn Tốc độ trộn.	1 lần trước khi tiến hành Trong quá trình	Đảm bảo đủ số lượng nguyên liệu 7 phút 100 vòng/phút	Đối chiếu hồ sơ lô sản xuất Quan sát	Ds pha chế, KSV, KTV
Pha dung dịch dính	Kiểm tra số lượng thành phần pha Cảm quan dung dịch dính.	1 lần trước khi tiến hành 1 lần sau khi tiến hành	Đảm bảo đủ số lượng nguyên liệu Đồng nhất, không không lắng cặn, không vật thể lạ	Đối chiếu hồ sơ lô sản xuất Quan sát	Ds pha chế, KSV, KTV
Tạo hạt ướt	Thời gian trộn Tốc độ trộn Cảm quan khối hạt ướt	Trong quá trình 1 lần sau khi tạo hạt ướt	5 phút Cánh chính: 100v/p Cánh phụ: 1200v/p Khối bột ẩm đều, dạng hạt nhỏ, các hạt dính vào nhau khi bóp nhẹ.	Quan sát	Ds pha chế, KSV, KTV
Sấy hạt	Thời gian sấy Nhiệt độ sấy Độ ẩm cốm	1 lần trước khi tiến hành 1 lần sau khi sấy	15 phút 60°C $\leq 3,0\%$	Quan sát Sấy	Ds pha chế, KSV, KTV
Sửa hạt	Cảm quan lưới Kích thước lưới Phân bố kích thước cốm	1 lần trước khi tiến hành 1 lần sau khi sửa hạt	Nguyên vẹn không bị rách hay biến dạng 0,8 mm $\geq 98\%$ qua rây 0,8 mm	Quan sát Rây	Ds pha chế, KSV, KTV
Trộn hoàn tất	Thời gian trộn Tốc độ trộn Hàm lượng hoạt chất	Trong quá trình - 1 lần sau khi trộn	7 phút 10 vòng/phút Verapamil hydroclorid: 26,51% - 29,30% (kl/kl), RSD $\leq 5\%$.	Quan sát Định lượng	Ds pha chế, KSV, KNV

Các giai đoạn kiểm tra	Nội dung	Số lần kiểm tra	Yêu cầu	Phương pháp kiểm	Người kiểm tra
Dập viên	KLTB viên Độ cứng Đồng đều khối lượng Hàm lượng Độ hòa tan Thời gian trì hoãn nổi Tổng thời gian nổi	Mỗi 15 phút 3 lần/lô 3 lần/lô 1 lần sau khi dập viên	430mg $\pm$ 3 % 9-11 kp KLTB $\pm$ 5% Theo TCCS	Cân Đo LGVV ĐĐVN, PL 11.3 Định lượng Thử độ hòa tan	Ds pha chế, KSV, KNV
Ép vỉ	Cảm quan Độ kín Nhiệt độ hàn ép Tốc độ máy	Trong quá trình	Vỉ Nhôm-PVC nguyên vẹn, không biến dạng Theo quy định 180-200°C 35-70 nhịp/ phút	Quan sát Quan sát Quan sát Quan sát	Ds pha chế, KSV, KTV
Đóng gói					
Đóng gói	Số lượng vỉ, hộp Nội dung nhãn Kiểm nghiệm chỉ tiêu thành phẩm	Trong quá trình Hoàn tất ca	Hộp 6 vỉ Nhôm-PVC x 10 viên. Nhãn đúng nội dung, theo qui định Theo quy định	Cảm quan Cảm quan Tiêu chuẩn cơ sở	Tổ trưởng, KSV, KSV, KNV

PHỤ LỤC 4. DỮ LIỆU CHI TIẾT THẨM ĐỊNH QUY TRÌNH SẢN XUẤT 3 LÔ QUY MÔ 10000 VIÊN/LÔ

4.1. Kết quả khảo sát lô L01

a. Khảo sát giai đoạn trộn bột kép

Thực hiện trên lô L01, dược chất và các tá dược (trừ tá dược trơn) được trộn bằng máy nhào trộn cao tốc với tốc độ cánh chính 100 rpm. Lấy mẫu tại các thời điểm 5, 7, 9 phút. Kết quả đánh giá hàm lượng VER trong mẫu bột kép được trình bày trong bảng 1. Thời gian trộn là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự đồng nhất của khối bột, thời gian trộn phụ thuộc vào tính chất của các thành phần trong khối bột, loại thiết bị và lượng nguyên liệu đưa vào trộn do đó cần được xác định lại bằng thực nghiệm.

Bảng 1. Đồng đều hàm lượng giai đoạn trộn bột kép lô L01

Thời gian trộn (min)		5	7	9
Hàm lượng VER (%)	Mẫu 1	28,71	28,67	28,78
	Mẫu 2	28,68	28,64	28,7
	Mẫu 3	28,79	28,82	28,46
	Mẫu 4	27,30	27,55	28,12
	Mẫu 5	26,15	27,51	27,32
	Mẫu 6	27,35	28,19	27,29
Trung bình (%)		27,83	28,23	28,11
RSD (%)		3,86	2,05	2,36

Kết quả bảng 1 cho thấy: Khi tăng thời gian trộn từ 5 lên 9 phút, hàm lượng VER trung bình dao động trong khoảng từ 27,83 đến 28,23%, các giá trị này đều nằm trong giới hạn cho phép ($TB \pm 10\%$). Mặt khác, mức độ đồng đều hàm lượng tại các thời điểm được phản ánh qua RSD của hàm lượng VER trong khối bột, khi thời gian tăng từ 5 lên 7 phút thì RSD giảm từ 3,86 xuống 2,05% cho thấy phân tán của VER trong khối bột tốt hơn. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng thời gian trộn từ 7 lên 9 phút, thì RSD lại tăng nhẹ từ 2,05 lên 2,36%, điều này có thể do sự phân lớp của các thành phần trong khối bột. Để đảm bảo độ đồng

đều tốt nhất, thời gian trộn bột khô được xác định là 7 phút trên máy nhào trộn cao tốc.

b. Khảo sát giai đoạn tạo hạt ướt

Dung dịch dính được thêm từ từ vào khối bột khô trong máy trộn và tạo hạt cao tốc, tiến hành vận hành máy theo mô tả trong mục 2.2.1. Lấy mẫu kiểm tra hàm ẩm tại các thời điểm như mô 2.2.1.3. Hàm ẩm của khối bột được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Hàm ẩm của hạt trong giai đoạn tạo hạt ướt

Thời gian (phút)	Hàm ẩm hạt (%)						Trung bình (%)	RSD (%)
	1	2	3	4	5	6		
3	35,24	35,11	34,17	34,82	35,2	36,12	35,11	1,81
5	35,13	35,22	35,02	35,26	35,34	35,18	35,19	0,31
7	34,75	34,32	35,04	34,91	35,03	34,85	34,82	0,77
Yêu cầu: Hàm ẩm các mẫu có $RSD \leq 5\%$								

Kết quả bảng 2 cho thấy: Khi tăng thời gian tạo hạt lên thì hàm ẩm trung bình có xu hướng giảm dần từ 35,11 xuống 34,82 do tính chất bay hơi của ethanol. Tuy nhiên, giá trị này thay đổi không đáng kể trong thời gian ngắn. Mặc dù, mức độ đồng đều của khối ẩm ở cả 3 thời điểm đều đạt yêu cầu (RSD không quá 5%) nhưng ở thời điểm 5 phút thì RSD thấp nhất (0,31%) cho thấy mức độ đồng nhất của khối ẩm là tốt nhất. Do đó, thời gian tạo hạt được xác định là 5 phút.

c. Khảo sát giai đoạn sấy khô

Sau khi sấy se và sửa hạt, cốm được sấy đến hàm ẩm quy định, tiến hành lấy mẫu xác định hàm ẩm tại các thời điểm 10, 15, 20 phút. Hàm ẩm của cốm khảo sát được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3. Thay đổi của hàm ẩm cốm trong giai đoạn sấy khô

Vị trí		Hàm ẩm (%)			Trung bình (%)	RSD (%)
		1	2	3		
Thời gian sấy (phút)	10	2,40	2,59	2,41	2,47	4,33
	15	2,47	2,42	2,56	2,48	2,86
	20	2,42	2,39	2,54	2,45	3,24

Số liệu trong bảng 3 chứng tỏ rằng: Khi tăng thời gian sấy từ 10 lên 20 phút, hàm ẩm của cốm thay đổi không đáng kể (khoảng 2,5%) và đều nằm trong giới hạn chấp nhận (từ 2,0 đến 3,0%). Độ lặp lại của các kết quả cũng nằm trong khoảng cho phép với RSD không quá 5%. Tuy nhiên, sau thời gian 15 phút thì độ ẩm của cốm đồng đều hơn với RSD thấp nhất (2,86%). Vì vậy, thời gian sấy khô được xác định là 15 phút.

d. Khảo sát giai đoạn trộn hoàn tất

Trên máy trộn lập phương, tốc độ trộn được cố định 20 rpm, quy trình tiến hành như mô tả trong mục 2.2.1. với thời gian trộn khảo sát trong khoảng 5, 10 và 15 phút. Hàm lượng VER trong khối bột, chỉ số Carr và độ trơn chảy của bột được mô tả trong bảng 4 và 5.

Bảng 4. Đồng đều hàm lượng giai đoạn trộn hoàn tất trên lô L01

Thời gian trộn (phút)		5	10	15
Hàm lượng VER (%)	Mẫu 1	29,10	28,13	27,27
	Mẫu 2	26,86	28,29	27,27
	Mẫu 3	29,17	27,30	28,59
	Mẫu 4	29,16	28,62	27,83
	Mẫu 5	27,46	27,92	27,74
	Mẫu 6	28,64	27,46	27,77
	Mẫu 7	29,24	27,50	28,97
	Mẫu 8	26,22	27,89	27,89
	Mẫu 9	28,10	27,89	27,16
	Mẫu 10	28,29	27,37	27,42
Trung bình (%)		28,22	27,84	27,79
RSD (%)		3,77	1,56	2,12

Bảng 5. Một số đặc tính của cốm sau giai đoạn trộn hoàn tất

Thời gian (min)	Chỉ số Carr (%)		
	5	10	15
Mẫu 1	17,71	18,05	18,39
Mẫu 2	17,23	18,01	18,45
Mẫu 3	18,86	18,70	17,22
TB (%)	17,93	18,25	18,02
RSD (%)	4,69	2,11	3,86

Kết quả trong bảng 4 và 5 cho thấy, ở cả 3 thời điểm khảo sát, mức độ đồng đều của VER và các chỉ số của cốm đều đáp ứng yêu cầu. Nhưng ở thời điểm 10 phút thì độ lặp lại kết quả thu được là tốt nhất với RSD nhỏ nhất (RSD của hàm lượng là 1,56%, RSD của chỉ số Carr là 2,11). Nguyên nhân dẫn đến hiện tượng này có thể là do việc phân lớp các thành phần khi gia tăng thời gian trộn. Để có chất lượng ổn định, thời gian trộn hoàn tất được xác định là 10 phút.

e. Khảo sát giai đoạn dập viên

Cốm sau giai đoạn trộn hoàn tất được chuyển vào máy dập viên quay tròn, điều chỉnh thiết bị để đảm bảo khối lượng viên khoảng 430 mg, độ cứng viên trong khoảng 9-11 kp. Tiến hành dập viên với 3 tốc độ khác nhau (10, 15, 20 rpm), mỗi tốc độ vận hành 5 phút rồi lấy ngẫu nhiên 20 viên để đánh giá. Độ đồng đều khối lượng và độ cứng của 10 viên ngẫu nhiên được thể hiện trong bảng 6.

Bảng 6. Khối lượng và độ cứng viên lô L01 thay đổi theo tốc độ dập viên

Tốc độ dập viên (rpm)	10		15		20	
	Khối lượng (mg)	Độ cứng (kp)	Khối lượng (mg)	Độ cứng (kp)	Khối lượng (mg)	Độ cứng (kp)
Viên 1	424,6	10,9	435,6	10,4	427,6	9,5
Viên 2	433,1	9,9	437,8	9,7	433,1	9,6
Viên 3	431,5	10,1	437,1	10,1	431,5	9,5
Viên 4	439,3	9,5	434	9,7	439,3	9,7
Viên 5	423,6	10	429	10,5	433,6	10,7

Tốc độ dập viên (rpm)	10		15		20	
	Khối lượng (mg)	Độ cứng (kp)	Khối lượng (mg)	Độ cứng (kp)	Khối lượng (mg)	Độ cứng (kp)
Viên 6	424,3	10,9	427,6	10,1	424,3	10,1
Viên 7	432,5	10,6	432,9	9,7	432,5	10,2
Viên 8	439,9	9,2	424,4	9,4	439,9	9,3
Viên 9	438,3	10,4	429,6	9,5	438,3	9,6
Viên 10	436,1	10,5	437,5	9,5	436,1	9,2
TB	432,3	10,2	432,6	9,9	429,6	9,7
SD	6,3	0,57	4,67	0,39	5,04	0,46
RSD	1,46	5,57	1,08	3,95	1,17	4,73

Kết quả bảng 6. cho thấy: Khi tốc độ dập viên tăng từ 10 lên 15 rpm thì RSD của khối lượng viên giảm từ 1,46 % xuống 1,08 %, nếu tiếp tục tăng tốc độ dập lên 20 rpm thì RSD không thay đổi đáng kể. Mặt khác, ở tốc độ dập viên 10 rpm thì RSD của độ cứng là 5,57 %, vượt quá giới hạn chấp nhận 5 %, trường hợp tốc độ dập viên là 15 và 20 rpm thì RSD độ cứng đều dưới 5%, tuy nhiên ở tốc độ 15 rpm thì giá trị này nhỏ nhất, là 3,95 %. Do đó, tốc độ dập viên được cài đặt là 15 rpm để thực hiện phần còn lại của lô L01 và các lô tiếp theo.

4.2. Kết quả thẩm định 3 lô sản xuất

a. Giai đoạn trộn bột kép

Thời gian trộn kép được cố định theo khảo sát, các thông số sản xuất khác như mô tả trong mục 2.2.1. Mức độ phân tán hàm lượng trong khối bột sau trộn được thể hiện trong bảng 7.

Bảng 7. Đồng đều hàm lượng giai đoạn trộn bột kép 3 lô pilot

Lô		L01	L02	L03
Hàm lượng VER (%)	Mẫu 1	28,67	28,15	27,61
	Mẫu 2	28,64	28,20	28,12
	Mẫu 3	28,82	27,71	28,53
	Mẫu 4	27,55	28,10	28,41
	Mẫu 5	27,51	27,46	27,65
	Mẫu 6	28,19	27,48	28,66

Lô	L01	L02	L03
Trung bình (%)	28,23	27,85	28,16
RSD (%)	2,05	1,23	1,59

Kết quả bảng 7 cho thấy: Hàm lượng trung bình của VER trong các khối bột sau giai đoạn trộn bột kép dao động từ 27,85% đến 28,23%. Giá trị này nằm trong khoảng $\pm 10\%$ so với giá trị lý thuyết (120 mg trong tổng khối lượng 422 mg, tương ứng 28,4%). Các giá trị RSD của hàm lượng từ 1,23% đến 2,05% đều không vượt quá giới hạn chấp nhận (5%). Số liệu thăm định từ 3 lô chứng minh các thông số quy trình của giai đoạn trộn bột kép đảm bảo hàm lượng VER được phân tán đồng đều trong khối bột, đảm bảo yêu cầu sản xuất.

b. Giai đoạn tạo hạt ướt

Dung dịch dính PVP K30 trong ethanol 96% được sử dụng làm tá dược dính dính theo tỉ lệ trong công thức lô. Vận hành thiết bị tạo hạt cao tốc với tốc độ cánh trộn và cánh cắt như mô tả trong quy trình sản xuất mục 2.2.1. Thời gian tạo hạt được lựa chọn dựa trên kết quả khảo sát lô L01 là 5 phút. Kết quả mất khối lượng do làm khô tại 6 vị trí trong khối ẩm của 3 lô thử nghiệm được tổng hợp trong bảng 8.

Bảng 8. Hàm ẩm cốm sau giai đoạn tạo hạt ướt của 3 lô pilot

Vị trí	Hàm ẩm hạt (%)						Trung bình (%)	RSD (%)
	1	2	3	4	5	6		
L01	35,13	35,22	35,02	35,26	35,34	35,18	35,19	0,31
L02	36,07	36,28	35,91	36,68	36,52	36,38	36,31	0,78
L03	36,53	36,47	36,89	36,51	36,54	36,75	36,62	0,45
Yêu cầu: Hàm ẩm mẫu phải nằm trong khoảng: Trung bình $\pm 10\%$, RSD $\leq 5\%$								

Số liệu trong bảng 8 cho thấy: Hàm ẩm trung bình của cốm sau tạo hạt trung bình nằm trong khoảng 35,19% đến 36,62%, các giá trị này nằm trong khoảng chấp nhận (trung bình $\pm 10\%$). Ngoài ra, độ lặp lại của hàm ẩm thể hiện

qua RSD từ 0,31% đến 0,78%, thấp hơn giới hạn chấp nhận 5%. Do đó, kết quả này chứng minh điều kiện sản xuất của giai đoạn tạo hạt đảm bảo phân bố hàm ẩm đồng đều, đáp ứng yêu cầu bào chế viên nôi VER ở quy mô pilot.

c. Giai đoạn sấy hạt khô

Sau khi tạo hạt ướt, cốm được ủ ẩm 30 phút trong túi nilon, sấy se và sửa hạt trước khi sấy khô. Thời gian sấy cốm trên thiết bị sấy tầng sôi được xác định là 15 phút. Kết thúc thời gian sấy, kiểm tra hàm ẩm của cốm khô tại 3 vị trí theo sơ đồ. Kết quả hàm ẩm của cốm được thể hiện trong bảng 9.

Bảng 9. Hàm ẩm của cốm sau giai đoạn sấy khô của 3 lô pilot

Vị trí lấy mẫu		Hàm ẩm (%)			Trung bình (%)	RSD (%)
		1	2	3		
Lô	L01	2,47	2,42	2,56	2,48	2,86
	L02	2,39	2,3	2,32	2,34	2,02
	L03	2,44	2,41	2,37	2,41	1,46
Yêu cầu		TB: 2,0 – 3,0%, RSD ≤ 5%			Đạt	

Kết quả bảng 9 cho thấy: Sau thời gian sấy, hàm ẩm của cốm khô từ 2,34% đến 2,48%, các giá trị này đều nằm trong khoảng cho phép (từ 2,0% đến 3,0%). Mặt khác, RSD của hàm ẩm từ 1,46% đến 2,86% là các giá trị nhỏ hơn giới hạn chấp nhận (5%). Vì vậy, thời gian sấy hạt khô 15 phút đảm bảo yêu cầu và độ lặp lại của hàm ẩm cốm sau khi sấy khô trong quy trình sản xuất viên nôi VER.

d. Giai đoạn trộn hoàn tất

Tá được điều hòa trơn chảy (magnesi stearate) được thêm vào cốm khô, thiết bị trộn lập phương được vận hành trong 10 phút, tốc độ 20 rpm. Hàm lượng VER được xác định tại 10 vị trí, độ trơn chảy và chỉ số Carr của khối bột được xác định tại 3 vị trí theo sơ đồ. Kết quả thẩm định giai đoạn trộn hoàn tất của 3 lô thử nghiệm được thể hiện trong bảng 10 và bảng 11.

Bảng 10. Đồng đều hàm lượng VER sau trộn hoàn tất của 3 lô pilot

Lô		L01	L02	L03
Hàm lượng VER (%)	Mẫu 1	28,13	28,40	28,65
	Mẫu 2	28,29	27,89	27,91
	Mẫu 3	27,30	28,47	27,8
	Mẫu 4	28,62	27,66	28,22
	Mẫu 5	27,92	27,75	27,59
	Mẫu 6	27,46	28,13	27,85
	Mẫu 7	27,50	27,98	28,40
	Mẫu 8	27,89	28,60	28,14
	Mẫu 9	27,89	28,18	27,06
	Mẫu 10	27,37	28,23	28,50
Trung bình (%)		27,84	28,13	28,01
RSD (%)		1,56	1,10	1,69

Bảng 11. Một số đặc tính của cốm sau giai đoạn trộn hoàn tất 3 lô pilot

Lô	Chỉ số Carr (%)		
	L01	L02	L03
Mẫu 1	18,05	18,48	18,46
Mẫu 2	18,01	18,09	18,01
Mẫu 3	18,70	17,52	18,26
TB (%)	18,25	18,03	18,24
RSD (%)	2,11	2,67	1,24

Kết quả trong bảng 10 và 11 cho thấy, ở cả 3 lô pilot, mức độ đồng đều của VER và các chỉ số của cốm đều đáp ứng yêu cầu. Chỉ số Carr từ 18,03 đến 18,25 % thể hiện khả năng trơn chảy của khối bột tốt, đảm bảo đồng đều phân liều cho giai đoạn dập viên tiếp theo.

e. Giai đoạn dập viên

Tiến hành đánh giá chất lượng viên của 3 lô pilot theo các chỉ tiêu chất lượng trong kế hoạch thẩm định.

*** Hình thức:**

Viên nén màu trắng, cạnh và thành viên lành lặn, mặt viên lồi.

* Đồng đều khối lượng viên

Sau khi máy dập viên vận hành ổn định, tiến hành lấy mẫu 5 phút/lần, 20 lần, mỗi lần 20 viên. Cân khối lượng từng viên, dùng phần mềm minitab 19 để vẽ biểu đồ kiểm soát Shewhart Xbar-S và Cusum. Kết quả thu được thể hiện trong phụ lục 6: Kết quả được thể hiện trong bảng 12 và 13.

Bảng 12. Kết quả khảo sát biểu đồ Shewhart Xbar

Quy tắc	Yêu cầu không được có	Kết quả		
		Lô 1	Lô 2	Lô 3
Giới hạn +3 δ	1 điểm nằm ngoài giới hạn +3 δ	Đạt	Đạt	Đạt
Giới hạn -3 δ	1 điểm nằm ngoài giới hạn -3 δ	Đạt	Đạt	Đạt
Vùng giá trị cao	Liên tiếp 6,7,8,9...điểm nằm trên đường trung tâm	Đạt	Đạt	Đạt
Vùng giá trị thấp	Liên tiếp 6,7,8,9...điểm nằm dưới đường trung tâm	Đạt	Đạt	Đạt
Đi lên	Liên tiếp 6,7,8,9...điểm đi lên	Đạt	Đạt	Đạt
Đi xuống	Liên tiếp 6,7,8,9...điểm đi xuống	Đạt	Đạt	Đạt
Giới hạn +3 δ	2 trên 3 điểm liên tiếp trong vùng +A, 3 trên 7 điểm liên tiếp trong vùng +A, 4 trên 10 điểm liên tiếp trong vùng +A, 4 trên 5 điểm liên tiếp trong vùng +B	Đạt	Đạt	Đạt
Giới hạn -3 δ	2 trên 3 điểm liên tiếp trong vùng -A, 3 trên 7 điểm liên tiếp trong vùng -A, 4 trên 10 điểm liên tiếp trong vùng -A, 4 trên 5 điểm liên tiếp trong vùng -B	Đạt	Đạt	Đạt

Bảng 13. Kết quả khảo sát biểu đồ tần số

Loại chỉ báo	Ý nghĩa	Mong muốn	Kết quả		
			Lô 01	Lô 02	Lô 03
Hiệu năng tổng quát C_p	Biến thiên xung quanh giá trị trung bình	>1,33	Đạt	Đạt	Đạt
Hiệu năng giới hạn C_{pk}	Tương quan giữa giới hạn cho phép và giới hạn kiểm soát, giữa giá trị trung bình với giá trị mong muốn	>1,33	Đạt	Đạt	Đạt

Kết quả tổng hợp trong bảng 12 và 13 cho thấy: Quy trình sản xuất có hiệu năng cao, có tính lặp lại và không bị lệch tâm, đảm bảo chất lượng thành phẩm ổn định và đạt yêu cầu.

*** Lực gây vỡ viên**

Trong quá trình dập viên, độ cứng của viên tại các thời điểm đầu, giữa và cuối lô.

Bảng 14. Lực gây vỡ viên thành phẩm của 3 lô pilot

Lô	L01			L02			L03		
Thời điểm	Đầu	Giữa	Cuối	Đầu	Giữa	Cuối	Đầu	Giữa	Cuối
1	9,7	9,7	9,5	9,9	9,6	10,1	9,9	9,7	10,0
2	9,8	9,5	9,8	9,5	9,6	10,4	10,1	9,8	9,6
3	10,0	9,9	10,0	10,0	10,2	10,4	10,3	10,3	10,1
4	9,9	10,0	9,8	10,0	10,1	9,9	9,8	9,9	9,8
5	9,5	10,2	9,8	10,2	10,3	9,8	10,3	10,3	9,9
6	9,7	9,5	9,5	10,0	9,5	9,5	9,7	10,2	10,2
7	9,7	10,4	9,7	9,6	9,8	9,9	9,8	10,4	9,6
8	9,7	9,9	9,7	10,2	10,2	10,0	9,8	10,2	9,6
9	10,4	10,3	10,2	10,4	10,3	9,7	9,6	10,0	9,9
10	10,0	10,3	9,6	9,6	9,9	10,4	9,7	10,4	9,8
TB (kp)	9,8	10	9,8	9,9	10	10	9,9	10,1	9,9
SD (kp)	0,25	0,33	0,22	0,3	0,31	0,31	0,25	0,25	0,21
RSD (%)	2,54	3,31	2,22	2,97	3,12	3,14	2,52	2,5	2,15

Kết quả cho thấy, lực gây vỡ viên kiểm tra tại các thời điểm khác nhau của 3 lô pilot đều nằm trong giới hạn 9-11kp, độ lặp lại của thông số này cũng đạt yêu cầu với RSD không quá 5%.

*** Hàm lượng**

Mẫu kiểm tra được lấy tại đầu, giữa và cuối lô sản xuất. Hàm lượng của 10 viên thành phẩm được xác định bằng HPLC và được trình bày trong bảng 15.

Bảng 15. Đồng đều hàm lượng viên thành phẩm 3 lô pilot

Lô		L01			L02			L03		
		Đầu	Giữa	Cuối	Đầu	Giữa	Cuối	Đầu	Giữa	Cuối
Hàm lượng VER (mg)	1	124,2 7	119,7 0	119,4 5	118,6 0	123,3 4	119,0 3	121,9 8	125,3 9	120,9 0
	2	124,0 6	120,4 9	121,0 1	124,0 8	119,7 0	124,3 4	125,2 0	119,9 5	122,3 4
	3	116,2 8	116,0 0	123,7 5	125,0 1	117,9 8	120,4 9	126,5 4	118,3 9	120,0 7
	4	119,6 6	117,2 8	126,0 2	117,7 9	121,5 3	120,9 5	123,0 0	117,9 0	126,8 9
	5	125,4 7	121,3 9	125,0 6	122,7 0	121,1 2	120,1 0	127,8 7	119,8 8	125,0 1
	6	122,7 8	117,4 1	117,4 4	124,3 8	118,2 6	121,3 1	127,1 3	117,8 7	122,7 7
	7	120,5 2	122,5 3	127,0 5	119,7 1	117,5 6	123,7 1	122,0 7	122,6 6	122,0 9
	8	124,2 7	125,1 1	121,4 2	121,4 5	121,4 2	125,1 0	125,4 0	113,7 6	123,0 9
	9	122,3 3	126,3 2	122,3 8	125,5 4	128,5 8	124,3 8	118,6 2	120,9 3	120,6 3
	10	121,6 8	121,1 9	123,7 1	121,0 6	121,7 6	122,0 6	120,1 2	119,8 2	125,2 5
TB (mg/viên)		122,1 3	120,7 4	122,7 3	122,0 3	121,1 3	122,1 5	123,7 9	119,6 6	122,9 0
SD		2,74	3,35	2,99	2,74	3,23	2,10	3,11	3,10	2,21
RSD (%)		2,24	2,77	2,44	2,25	2,67	1,72	2,51	2,59	1,80

Kết quả bảng 15 cho thấy hàm lượng các viên đều nằm trong giới hạn chấp nhận $120 \text{ mg} \pm 10\%$ và RSD không quá 5%. Các số liệu này chứng minh hàm lượng viên nôi verapamil 120 mg GPKD bào chế theo quy trình đã xây dựng có hàm lượng đạt yêu cầu và ổn định.

* Độ hòa tan

Tại đầu, giữa và cuối giai đoạn dập viên, 10 viên thành phẩm được lấy ngẫu nhiên, dùng 6 trong số đã lấy để thử độ hòa tan theo phương pháp mô tả trong mục 2.2.2.2. Kết quả thể hiện trong bảng 16.

Bảng 16. Độ hòa tan viên thành phẩm của 3 lô pilot

STT	Lô		ĐHT (% , n=6)				
			1 (h)	2 (h)	3,5 (h)	5 (h)	8 (h)
1	L01	Đầu	18,03	26,03	39,54	53,1	86,1

STT	Lô		ĐHT (% , n=6)				
			1 (h)	2 (h)	3,5 (h)	5 (h)	8 (h)
		Giữa	18,44	26,96	41,63	52,41	85,64
		Cuối	18,64	25,6	40,58	53,54	84,43
2	L02	Đầu	18,26	24,6	38,32	50,95	82,54
		Giữa	17,87	25,18	39,04	51,87	85,57
		Cuối	18,33	27,37	40,02	54,8	85,27
3	L03	Đầu	18,15	26,21	38,78	51,49	82,25
		Giữa	17,61	26,52	41,05	55,39	81,93
		Cuối	17,59	24,46	41,8	50,45	81,71
TB			18,10	25,88	40,09	52,67	83,94
SD			0,33	1,01	1,26	1,69	1,8
RSD			1,80	3,90	3,14	3,21	2,15

Kết quả bảng 16. cho thấy: Độ hòa tan của viên thành phẩm 3 lô pilot trong 8h đều nằm trong giới hạn cho phép của USP đối với viên verapamil giải phóng kéo dài. Giá trị RSD không vượt quá 5% cho thấy chất lượng viên được lặp lại tốt giữa các lô và các thời điểm sản xuất.

*** Thời gian trì hoãn nổi và thời gian nổi**

Trong quá trình đánh giá độ hòa tan, Thời gian trì hoãn nổi và thời gian nổi của viên được ghi lại trong bảng 17 dưới đây.

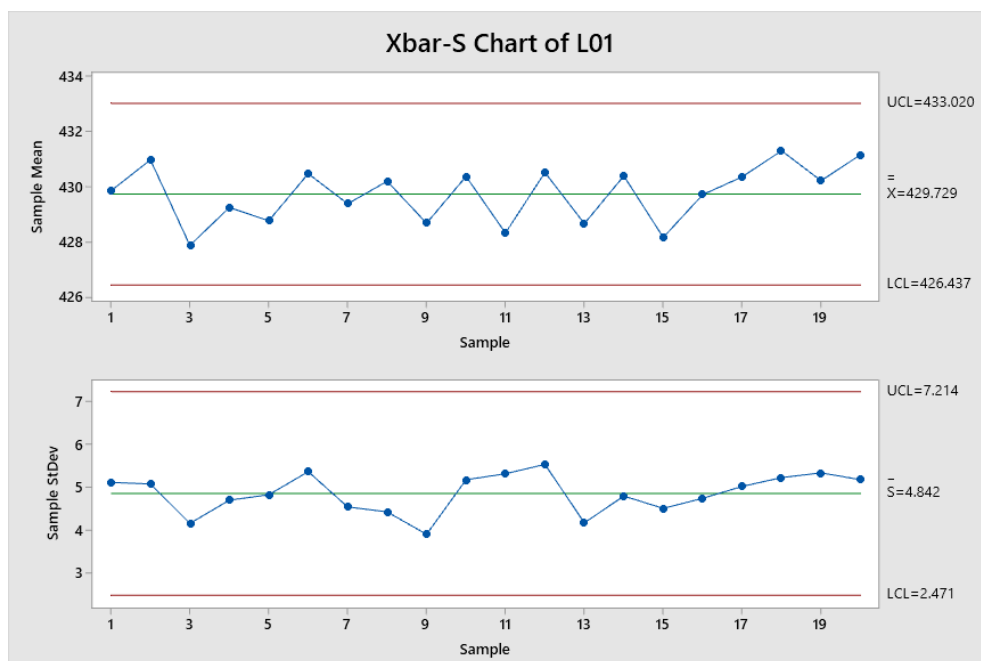
Bảng 17. Thời gian trì hoãn nổi và thời gian nổi của viên thành phẩm 3 lô pilot

Lô		Thời điểm					
		Đầu		Giữa		Cuối	
		T _{lag} (s)	FT (h)	T _{lag} (s)	FT (h)	T _{lag} (s)	FT (h)
L01	1	90	13,3	67	13,3	59	13,9
	2	68	14,4	57	13,7	56	12,8
	3	73	14,3	53	12,6	56	14,4
	4	86	12,8	89	12,8	87	12,5
	5	50	13,5	82	12,6	58	13,5
	6	56	13,7	73	13,9	68	14,3
TB		70,5	13,7	70,2	13,2	64,0	13,6
SD		15,9	0,6	14,0	0,6	12,1	0,8
L02	1	59	14,1	79	14,4	66	13,2

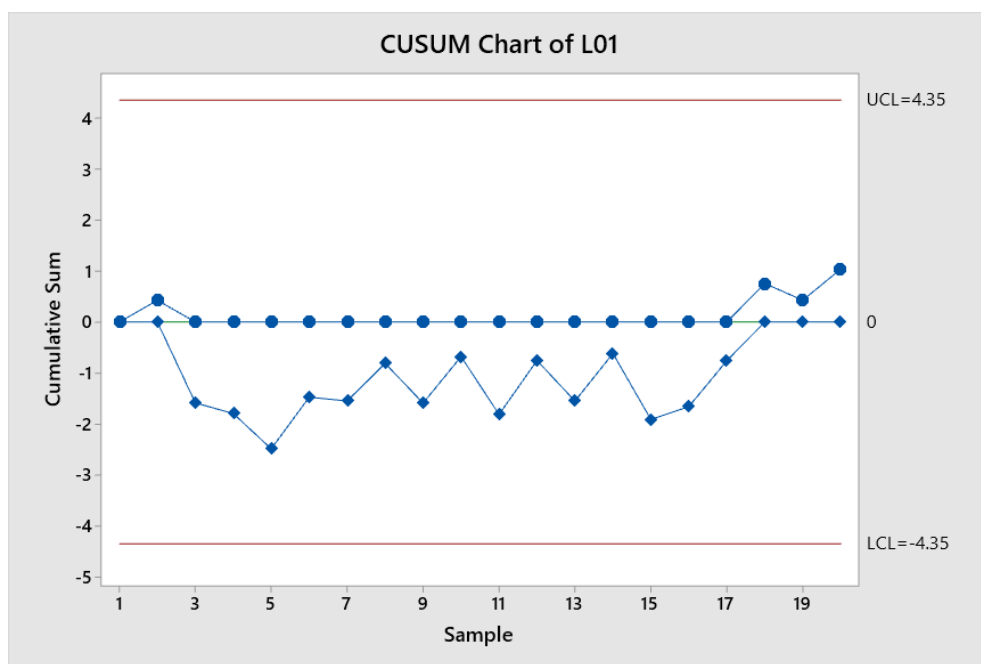
Lô		Thời điểm					
		Đầu		Giữa		Cuối	
		T _{lag} (s)	FT (h)	T _{lag} (s)	FT (h)	T _{lag} (s)	FT (h)
	2	78	12,7	51	13,6	90	12,8
	3	87	13,2	52	14,1	62	13,8
	4	68	13,1	84	12,9	57	14,2
	5	77	12,8	85	12,6	78	14,4
	6	70	13,9	56	13,4	55	13,5
TB		73,2	13,3	67,8	13,5	68,0	13,7
SD		9,7	0,6	16,5	0,7	13,5	0,6
L03	1	82	14,1	53	13,7	63	14,2
	2	84	13,3	70	13,6	69	14,1
	3	89	13,8	89	12,5	79	13,8
	4	62	13,7	77	14,4	63	13,1
	5	76	13,2	82	13,3	75	13,2
	6	65	14,0	83	14,2	57	13,0
TB		76,3	13,7	75,7	13,6	67,7	13,6
SD		10,8	0,4	12,8	0,7	8,3	0,5

Kết quả bảng 17 cho thấy: Thời gian trì hoãn nổi của viên thành phẩm từ 50 đến 90 giây, không có viên nào vượt quá 180 giây. Bên cạnh đó, thời gian nổi của viên ghi nhận được từ 12,5 đến 14,4 giờ; không có viên nào dưới 12 giờ. Các số liệu thẩm định chứng tỏ quy trình bào chế xây dựng phù hợp để sản xuất viên nổi verapamil 120 mg GPKD. Chất lượng viên thành phẩm ổn định giữa các lô, các thời điểm sản xuất trong lô và đảm bảo tiêu chuẩn chất lượng đã đề ra. Quy trình bào chế viên nổi verapamil 120 mg GPKD quy mô 10.000 viên/lô được thể hiện trong phụ lục 5.

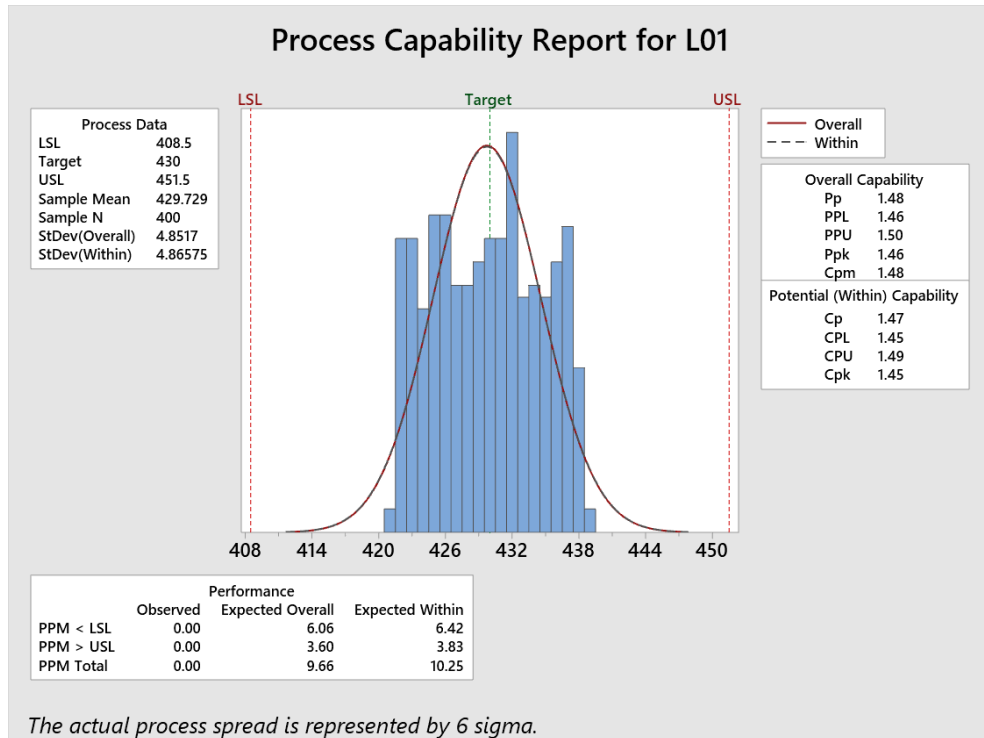
4.3. Biểu đồ kiểm soát Shewhart Xbar-s và Susum của 3 lô thẩm định



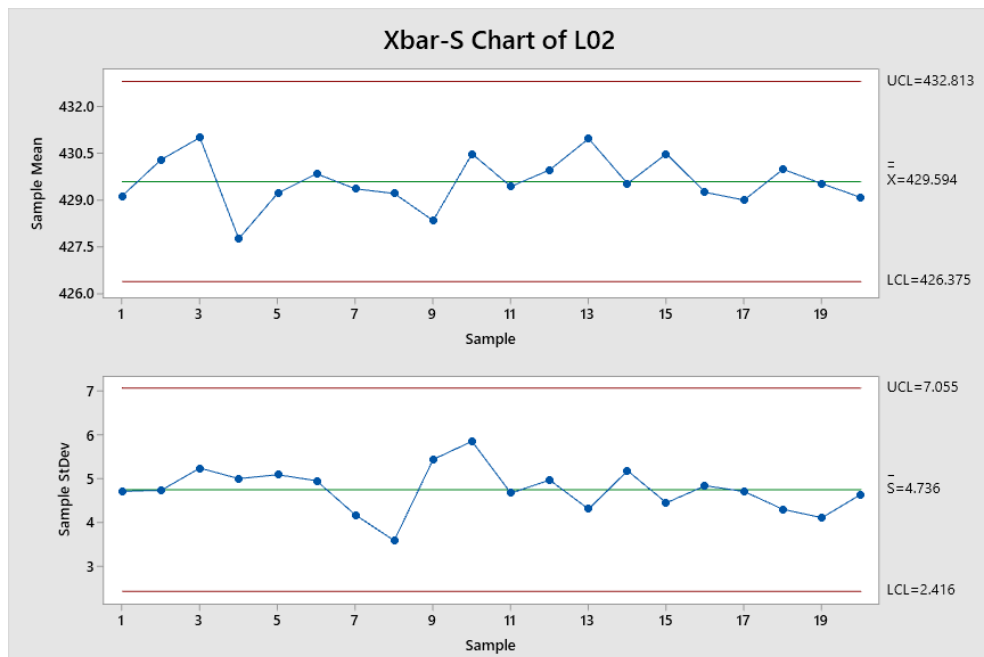
Biểu đồ Shewhart kiểm soát khối lượng viên lô L01



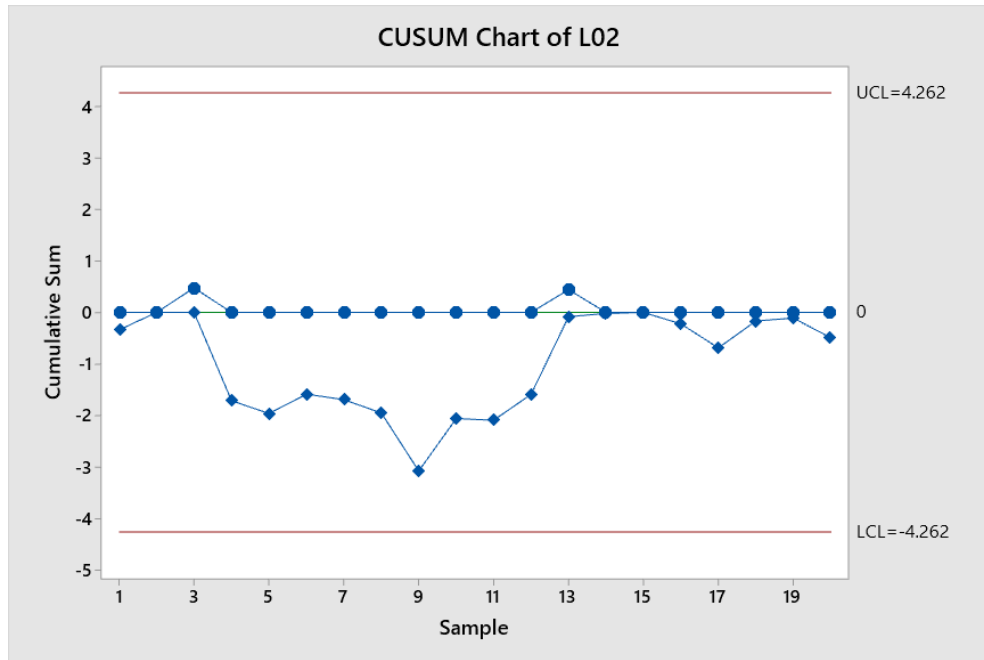
Biểu đồ Cusum kiểm soát khối lượng viên lô L01



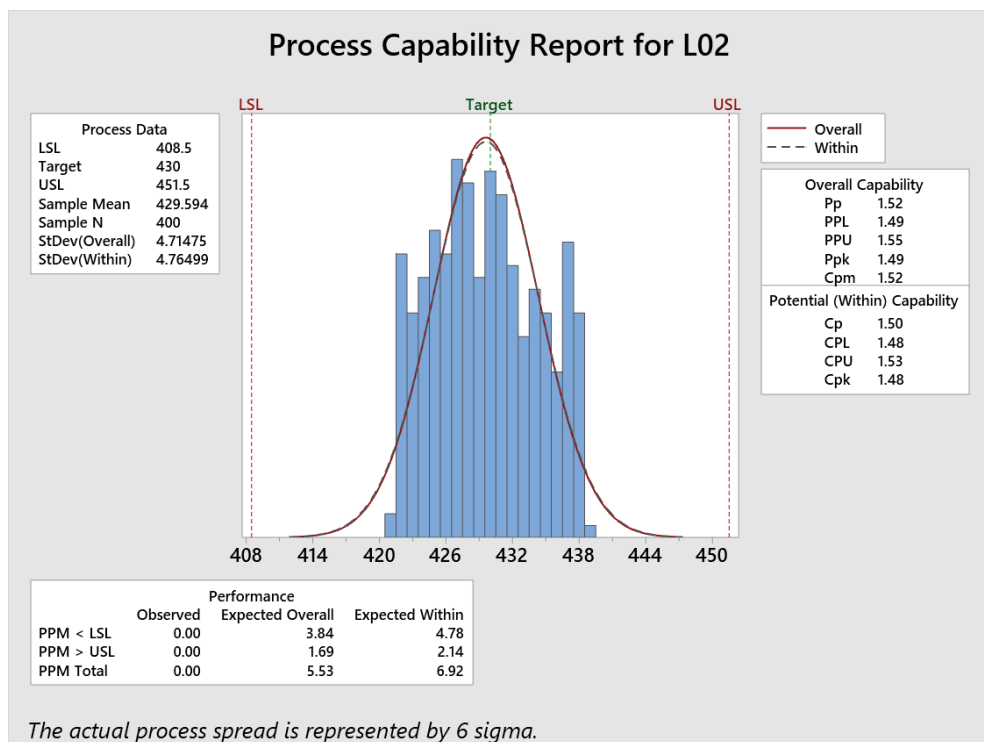
Biểu đồ hiệu năng theo khối lượng viên lô L01



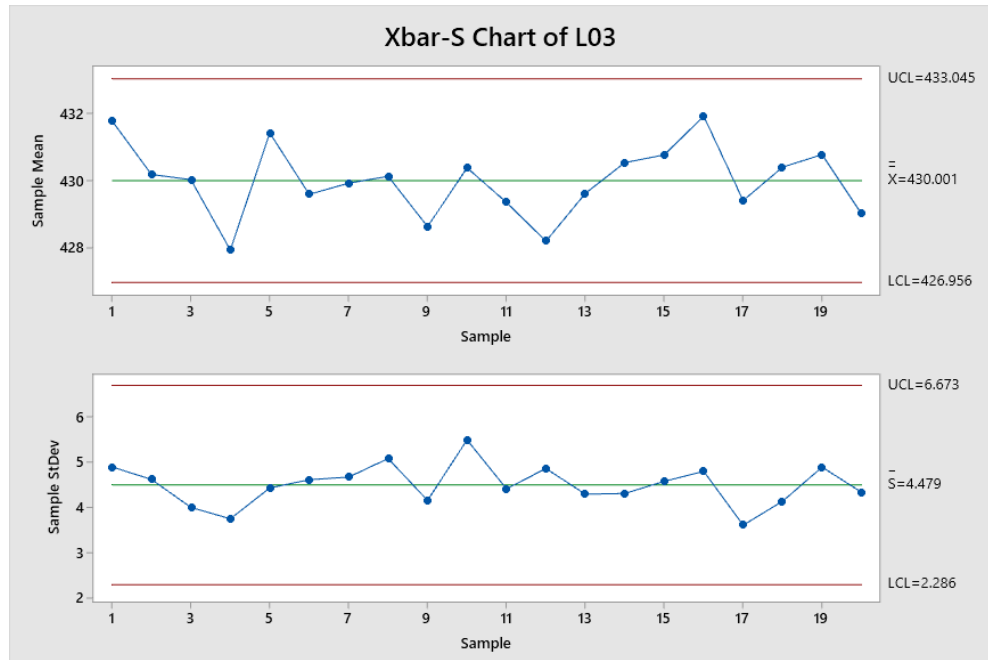
Biểu đồ Shewhart kiểm soát khối lượng viên lô L02



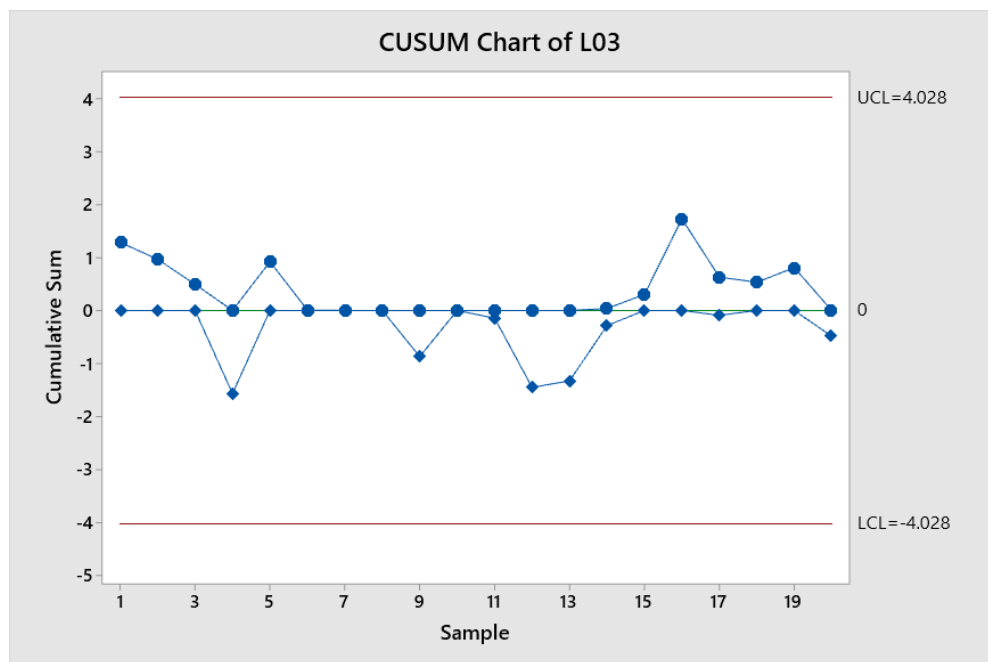
Biểu đồ Cusum kiểm soát khối lượng viên lô L02



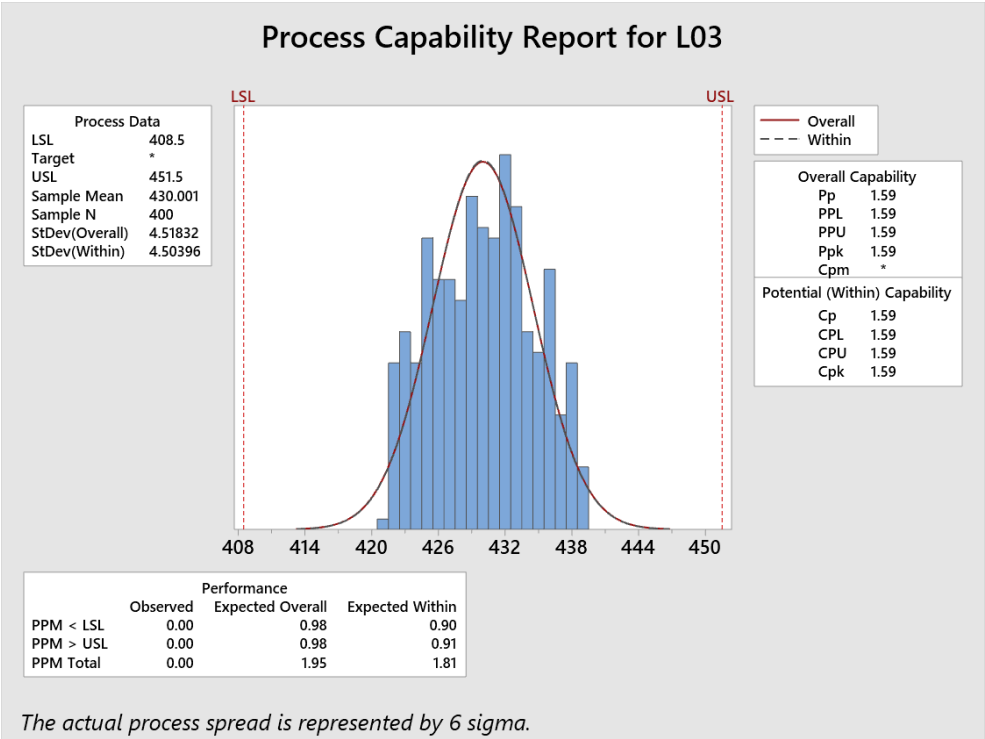
Biểu đồ tần số theo khối lượng viên lô L02



Biểu đồ Shewhart kiểm soát khối lượng viên lô L03



Biểu đồ Cusum kiểm soát khối lượng viên lô L03



Biểu đồ tần số theo khối lượng viên lô L03

PHỤ LỤC 5. TIÊU CHUẨN CƠ SỞ CỦA VIÊN THÀNH PHẨM

HỌC VIỆN QUÂN Y VIỆN ĐÀO TẠO DƯỢC	VIÊN NÉN NỔI VERAPAMIL 120MG	Số TC: 2025A-06-13
		Có hiệu lực từ ngày ký

1. YÊU CẦU KỸ THUẬT

1.1. Công thức pha chế:

Mỗi viên nén chứa:

- Verapamil hydroclorid 120 mg
- Tá dược (HPMC K4M, HPMC E6, Avicel PH 101, lactose, natri hydrocarbonat, PVP K30, magnesi stearat) vừa đủ 1 viên.

1.2. Nguyên liệu:

Verapamil hydroclorid	: Đạt tiêu chuẩn USP 47
HPMC K4M	: Đạt tiêu chuẩn USP 47
HPMC E6	: Đạt tiêu chuẩn USP 47
Avicel PH 101	: Đạt tiêu chuẩn USP 47
Lactose khan	: Đạt tiêu chuẩn USP 47
Natri hydrocarbonat	: Đạt tiêu chuẩn USP 47
PVP K30	: Đạt tiêu chuẩn USP 47
Magnesi stearat	: Đạt tiêu chuẩn USP 47

1.3. Chất lượng thành phẩm

1.3.1. Tính chất

Viên nén hình trụ rẹt, mặt lồi, màu trắng, thành và cạnh viên lành lặn.

1.3.2. Định tính

Chế phẩm phải thể hiện phép thử định tính của verapamil hydroclorid.

1.3.3. Độ đồng đều khối lượng

Khối lượng viên chênh lệch không quá $\pm 5\%$ so với khối lượng trung bình viên.

1.3.4. Độ hòa tan

Tỉ lệ (%) verapamil hydroclorid ($C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$) hòa tan so với hàm lượng ghi trên nhãn tại các thời điểm phải nằm trong giới hạn sau:

Thời điểm (giờ)	Độ hòa tan (%)
1	8-20
2	15-35
3,5	27-57
5	45-75
8	≥ 80

1.3.5. Khả năng nổi *in vitro*

- Thời gian trì hoãn nổi: Không quá 180 giây.
- Tổng thời gian nổi: Không dưới 12 giờ.

1.3.6. Định lượng:

Hàm lượng verapamil hydroclorid ($C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$): Từ 90,0% đến 110,0% so với lượng ghi trên nhãn.

2. PHƯƠNG PHÁP THỬ

2.1. Tính chất

Bảng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu đã nêu.

2.2. Định tính

Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic verapamil hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

2.3. Độ đồng đều khối lượng

Cân lần lượt từng viên, lặp lại với 20 viên ngẫu nhiên, tính khối lượng trung bình viên.

2.4. Độ hòa tan (*Tham khảo chuyên luận Verapamil Hydrochloride Extended-Release Tablets – USP 43, test 3*)

* Điều kiện hòa tan:

- + Kiểu thiết bị: Loại cánh khuấy.
- + Tốc độ quay: 50 vòng/phút.
- + Môi trường hòa tan: 900 mL dung dịch acid hydrocloric 0,1 N.

+ Nhiệt độ môi trường thử: $37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

+ Các thời điểm lấy mẫu: 1; 2; 3,5; 5 và 8 giờ.

* *Cách tiến hành:*

Chuẩn bị dãy dung dịch chuẩn:

Pha dãy dung dịch verapamil chuẩn trong môi trường acid hydrocloric 0,1N có nồng độ 15 đến 65 $\mu\text{g/ml}$ (tối thiểu 5 điểm chuẩn).

Chuẩn bị dung dịch thử:

Sau mỗi thời điểm theo quy định, hút 10 mL dung dịch thử sau đó bổ sung 10 mL môi trường hòa tan vào cốc thử độ hòa tan, lọc, bỏ 3 mL dịch lọc đầu. Pha loãng chính xác bằng acid hydrocloric 0,1N, nếu cần (điểm 3,5 giờ và 5 giờ pha loãng 2 lần, điểm 8 giờ pha loãng 4 lần).

Đo độ hấp thụ của dãy dung dịch chuẩn và dung dịch thử ở bước sóng hấp thụ cực đại ở khoảng 280 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M làm mẫu trắng.

Xây dựng phương trình đường chuẩn biểu thị mối tương quan giữa độ hấp thụ và nồng độ dung dịch ($R^2 > 0,99$). Tỷ lệ (%) verapamil hydroclorid ($\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot \text{HCl}$) hòa tan so với hàm lượng ghi trên nhãn được tính theo công thức sau:

$$D = \frac{A_T - b}{a} \cdot \frac{k \cdot 900}{1000} \cdot \frac{100}{120}$$

Trong đó,

A_T : Độ hấp thụ đo được của dung dịch thử.

a, b: Hệ số góc và hệ số tự do của đường chuẩn.

k: Hệ số pha loãng của dung dịch thử

900: Thể tích môi trường hòa tan

120: Hàm lượng verapamil ghi trên nhãn (mg/viên).

2.5. Khả năng nổi *in vitro*

Khả năng nổi *in vitro* của viên được đánh giá song song với quá trình thử độ hòa tan.

+ Trong đó

Thời gian trì hoãn nổi, T_{lag} (giây): Xác định bằng khoảng thời gian đo được từ khi viên tiếp xúc với môi trường thử đến khi viên nổi ổn định trên bề mặt môi trường.

Tổng thời gian nổi, FT (giờ): Xác định bằng khoảng thời gian tính từ khi viên nổi ổn định lên trên bề mặt môi trường thử đến khi viên bị hòa tan/rã hết hoặc chìm xuống.

2.6. Định lượng

VER được định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao như sau:

Chuẩn bị dung dịch chuẩn:

Cân chính xác khoảng 20 mg verapamil hydroclorid vào bình định mức 100 mL, hòa tan vừa đủ 100 mL bằng methanol. Lấy chính xác 1,0 mL dung dịch vừa pha vào bình định mức 10 mL, pha loãng vừa đủ 10,0 mL bằng methanol, lọc qua màng lọc đường kính 0,45 μ m được dung dịch chuẩn có nồng độ khoảng 20 μ g/mL.

Chuẩn bị dung dịch thử:

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác lượng bột viên tương ứng khoảng 20 mg verapamil hydroclorid vào bình định mức 100mL, thêm 50 mL methanol, lắc siêu âm 30 phút, để ổn định về nhiệt độ phòng, thêm methanol vừa đủ 100,0 mL, lọc qua giấy lọc, bỏ 20 mL dịch lọc đầu. Lấy 1,0 mL dịch lọc vào bình định mức 10 mL, thêm đến vừa đủ bằng methanol, lắc đều, lọc qua màng lọc đường kính 0,45 μ m được dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

- + Pha động : Acetonitril : Đệm KH_2PO_4 0,05M pH 3,6 (44 : 56)
- + Cột SunFire™ C18, RP (250 x 4,6 mm ; 5 μ m).
- + Detector 2998 PDA đặt ở bước sóng 278 nm.
- + Tốc độ dòng : 1,0 mL/phút.
- + Thể tích tiêm : 20 μ L.

Tỉ lệ hàm lượng verapamil hydroclorid của viên kiểm tra so với lượng ghi trên nhãn (P) được tính theo công thức sau:

$$P = \frac{St. C_s. m_{20}}{20. Ss. m_t. 120} \cdot 100 \quad (\%)$$

Trong đó:

S_t, S_s : Diện tích pic verapamil hydroclorid trên sắc kí đồ dung dịch thử, chuẩn ($\mu V.s$)

C_s : Nồng độ thực tế của dung dịch chuẩn tiêm sắc kí ($\mu g/ml$)

m_t : Khối lượng bột viên đã cân (g)

m_{20} : Khối lượng của 20 viên ngẫu nhiên dùng để định lượng (g)

3. ĐÓNG GÓI - GHI NHÃN - BẢO QUẢN

- Đóng gói vỉ 10 viên.
- Nhãn rõ ràng, đúng qui chế.
- Bảo quản nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Hà nội, ngày 10 tháng 02 năm 2022

Chủ nhiệm bộ môn



Nguyễn Văn Bạch

PHỤ LỤC 6. PHIẾU KIỂM NGHIỆM 3 LÔ SẢN XUẤT THEO TCCS

PHIẾU KIỂM NGHIỆM

Số PKN: 001.V

Mẫu kiểm nghiệm : **Viên nén nổi Verapamil 120 mg**

Tên khoa học : **Verapamil hydroclorid**

Nơi sản xuất : **Sản phẩm nghiên cứu luận án tiến sĩ dược học, Học viện Quân Y.**

Số lô : **L01**

Hạn dùng :

Yêu cầu kiểm nghiệm: **Kiểm tra chất lượng**

Tiêu chuẩn thử : **TCCS**

Tình trạng mẫu khi mở niêm phong: **Viên nén màu trắng, hộp 2 vỉ x 10 viên, ghi nhãn rõ ràng.**

CHỈ TIÊU	YÊU CẦU	KẾT QUẢ
1. Tính chất	Viên nén hình trụ dẹt, mặt lồi, màu trắng, thành và cạnh viên lành lặn.	Đạt
2. Độ đồng đều khối lượng	$\pm 5,0$ % khối lượng trung bình viên.	Đạt (-2,0 – 1,7 %)
3. Định tính	Phải thể hiện các phép thử định tính của verapamil hydroclorid.	Đúng
4. Độ hòa tan	Tỉ lệ (%) verapamil hydroclorid (C ₂₇ H ₃₈ N ₂ O ₄ . HCl) hòa tan so với hàm lượng ghi trên nhãn tại các thời điểm phải nằm trong giới hạn: 1 giờ: 8 – 20 % 2 giờ: 15 – 35 % 3,5 giờ: 27 – 57 % 5 giờ: 45 – 75 % 8 giờ: trên 80 %	Đạt 17,53 - 19,39 % 25,86 - 28,22 % 39,49 – 44,63 % 49,82 – 54,59 % 81,66 – 87,84 %

5. Khả năng nổi <i>in vitro</i>	Thời gian trì hoãn nổi: Không quá 180 giây. Tổng thời gian nổi: Không dưới 12 giờ.	Đạt 50-90 giây 12,8 - 14,4 giờ
6. Định lượng	Hàm lượng verapamil hydroclorid ($C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$): 90,0% đến 110,0% so với lượng ghi trên nhãn.	Đạt (101,57 %)

Kết luận: Viên nén nổi Verapamil 120 mg số lô L01 đạt yêu cầu chất lượng theo TCCS.

Hà Nội, ngày 11 tháng 02 năm

2022

Kiểm nghiệm viên



Vũ Văn Tuấn

Xác nhận của bộ môn



Nguyễn Văn Bạch

PHIẾU KIỂM NGHIỆM

Số PKN: 002.V

Mẫu kiểm nghiệm : **Viên nén nội Verapamil 120 mg**

Tên khoa học : **Verapamil hydroclorid**

Nơi sản xuất : **Sản phẩm nghiên cứu luận án tiến sĩ dược học, Học viện Quân Y.**

Số lô : **L02**

Hạn dùng :

Yêu cầu kiểm nghiệm: **Kiểm tra chất lượng**

Tiêu chuẩn thử : **TCCS**

Tình trạng mẫu khi mở niêm phong: **Viên nén màu trắng, hộp 2 vỉ x 10 viên, ghi nhãn rõ ràng.**

CHỈ TIÊU	YÊU CẦU	KẾT QUẢ
1. Tính chất	Viên nén hình trụ dẹt, mặt lồi, màu trắng, thành và cạnh viên lành lặn.	Đạt
2. Độ đồng đều khối lượng	$\pm 5,0$ % khối lượng trung bình viên.	Đạt (-2,1 – 1,7 %)
3. Định tính	Phải thể hiện các phép thử định tính của verapamil hydroclorid.	Đúng
4. Độ hòa tan	Tỉ lệ (%) verapamil hydroclorid (C ₂₇ H ₃₈ N ₂ O ₄ . HCl) hòa tan so với hàm lượng ghi trên nhãn tại các thời điểm phải nằm trong giới hạn: 1 giờ: 8 – 20 % 2 giờ: 15 – 35 % 3,5 giờ: 27 – 57 % 5 giờ: 45 – 75 % 8 giờ: trên 80 %	Đạt 16,97 – 18,57 % 23,89 – 25,98 % 37,66 – 40,77 % 49,22 – 54,41 % 81,93 – 87,39 %
5. Khả năng nổi <i>in vitro</i>	Thời gian trì hoãn nổi: Không quá 180 giây. Tổng thời gian nổi: Không dưới 12 giờ.	Đạt 55-90 giây 12,8 - 14,4 giờ

6. Định lượng	Hàm lượng verapamil hydroclorid ($C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$): 90,0% đến 110,0% so với lượng ghi trên nhãn.	Đạt (100,27 %)
----------------------	--	--------------------------

Kết luận: Viên nén nôi Verapamil 120 mg số lô L02 đạt yêu cầu chất lượng theo TCCS.

Hà Nội, ngày 11 tháng 02 năm 2022

Kiểm nghiệm viên



Vũ Văn Tuấn

Xác nhận của bộ môn



Nguyễn Văn Bạch

PHIẾU KIỂM NGHIỆM

Số PKN: **003.V**

Mẫu kiểm nghiệm : **Viên nén nổi Verapamil 120 mg**

Tên khoa học : **Verapamil hydroclorid**

Nơi sản xuất : **Sản phẩm nghiên cứu luận án tiến sĩ dược học, Học viện Quân Y.**

Số lô : **L03**

Hạn dùng :

Yêu cầu kiểm nghiệm: **Kiểm tra chất lượng**

Tiêu chuẩn thử : **TCCS**

Tình trạng mẫu khi mở niêm phong: ***Viên nén màu trắng, hộp 2 vỉ x 10 viên, ghi nhãn rõ ràng.***

CHỈ TIÊU	YÊU CẦU	KẾT QUẢ
1. Tính chất	Viên nén hình trụ dẹt, mặt lồi, màu trắng, thành và cạnh viên lành lặn.	Đạt
2. Độ đồng đều khối lượng	$\pm 5,0 \%$ khối lượng trung bình viên.	Đạt (-1,7 – 2,0 %)
3. Định tính	Phải thể hiện các phép thử định tính của verapamil hydroclorid.	Đúng
4. Độ hòa tan	Tỉ lệ (%) verapamil hydroclorid (C ₂₇ H ₃₈ N ₂ O ₄ . HCl) hòa tan so với hàm lượng ghi trên nhãn tại các thời điểm phải nằm trong giới hạn: 1 giờ: 8 – 20 % 2 giờ: 15 – 35 % 3,5 giờ: 27 – 57 % 5 giờ: 45 – 75 % 8 giờ: trên 80 %	Đạt 16,48 – 18,33 % 25,51 – 28,04 % 39,04 – 43,28 % 53,03 – 57,65 % 80,11 – 86,21 %
5. Khả năng nổi <i>in vitro</i>	Thời gian trì hoãn nổi: Không quá 180 giây. Tổng thời gian nổi: Không dưới 12 giờ.	Đạt 53-89 giây

		12,5 - 14,4 giờ
6. Định lượng	Hàm lượng verapamil hydroclorid ($C_{27}H_{38}N_2O_4 \cdot HCl$): 90,0% đến 110,0% so với lượng ghi trên nhãn.	Đạt (99,43 %)

Kết luận: Viên nén nôi Verapamil 120 mg số lô L03 đạt yêu cầu chất lượng theo TCCS.

Hà Nội, ngày 11 tháng 02 năm 2022

Kiểm nghiệm viên



Vũ Văn Tuấn

Xác nhận của bộ môn

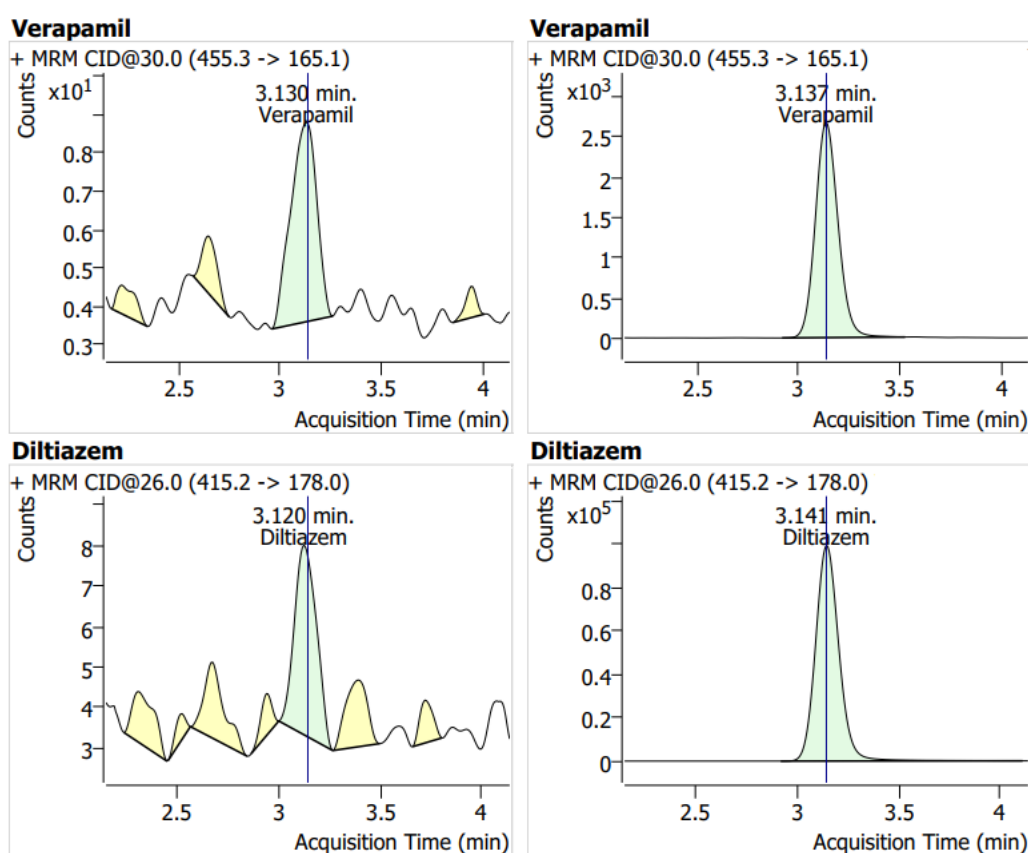


Nguyễn Văn Bạch

PHỤ LỤC 7. DỮ LIỆU THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG VERAPAMIL TRONG HUYẾT TƯƠNG BẰNG SẮC KÝ LỎNG KHỐI PHỔ

1. Độ chọn lọc - độ đặc hiệu

Phân tích các mẫu huyết tương trắng và các mẫu LLOQ theo phương pháp đã được xây dựng. Sắc ký đồ thể hiện trong hình 1 và kết quả đánh giá ảnh hưởng của nền đến mẫu được trình bày ở bảng 2.



Huyết tương trắng

LLOQ

Hình 13. Sắc ký đồ mẫu huyết tương trắng và LLOQ thêm nội chuẩn

(+ MRM CID: Ghi phổ phản ứng đa ion đặc trưng ở chế độ ion dương với năng lượng phân mảnh ion (Collision-Induced Dissociation); Counts: Đếm tín hiệu; Acquisition Time (min): Thời gian thu nhận tín hiệu (phút); LLOQ: Giới hạn định lượng dưới)

Bảng 2. Ảnh hưởng của mẫu trắng tại thời gian lưu của VER (n=6).

Thứ tự	Tín hiệu pic của VER		Tín hiệu pic của DIL	
	Mẫu trắng	LLOQ	Mẫu trắng	LLOQ
TB $\pm$ SD	109 $\pm$ 61	20652 $\pm$ 204	55 $\pm$ 30	778869 $\pm$ 9443
Tỷ lệ tín hiệu (%)		0,5310		0,0071

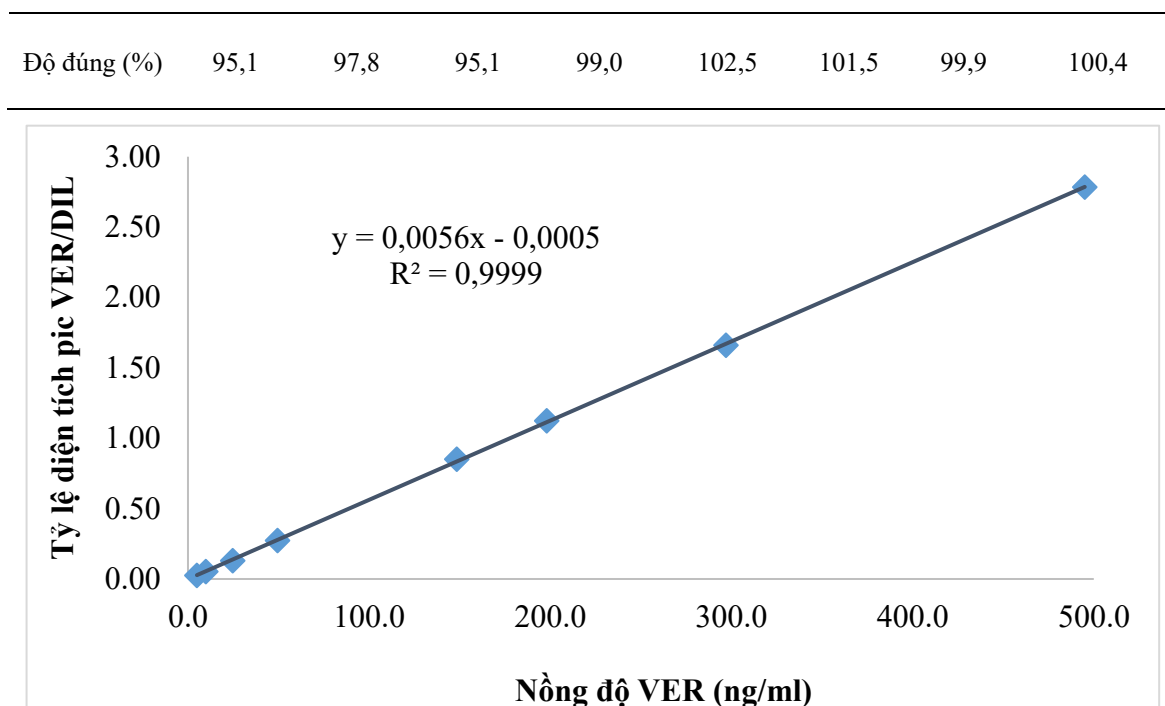
Kết quả ở các hình 1, 2 và bảng 2 cho thấy, trên sắc ký đồ mẫu huyết tương trắng, tại các thời điểm 3,13 và 3,12 phút (trùng với thời gian lưu của VER và DIL trong mẫu chuẩn) sự xuất hiện các pic có các mảnh phổ khối $m/z=455,3 \rightarrow 165,1$ (VER) và $m/z=415,2 \rightarrow 178,0$ (DIL) là không đáng kể. Diện tích pic các vết nhiễu của mẫu trắng tại các thời điểm trùng với thời gian lưu của VER và DIL là không đáng kể, lần lượt chiếm 0,5310 (không quá 20%) và 0,0071% (không quá 5%). Vì vậy, quy trình phân tích đảm bảo có khả năng phát hiện, phân biệt được VER, DIL và không bị ảnh hưởng bởi các tạp chất có trong huyết tương.

2. Đường chuẩn và khoảng tuyến tính

Các dung dịch VER chuẩn trong huyết tương trắng có nồng độ khoảng 5-500 ng/ml. Sau khi phân tích, nồng độ VER có trong mẫu được tính theo kỹ thuật nội chuẩn. Kết quả xác định mối tương quan giữa tỷ lệ diện tích pic của VER/DIL với nồng độ của VER trong huyết tương chó được trình bày trong bảng 3 và hình 2.

Bảng 3. Sự phụ thuộc giữa tỷ lệ diện tích pic của VER/DIL và nồng độ VER chuẩn trong huyết tương.

Mẫu	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
Nồng độ VER (ng/ml)	5,0	9,9	24,8	49,5	148,5	198,0	297,0	495,0
Tỷ lệ diện tích pic VER/DIL	0,0259	0,0537	0,1312	0,2740	0,8519	1,1250	1,6604	2,7834
Phương trình hồi quy	$y = 0,0056x - 0,0005$ $R^2 = 0,9999$							
Nồng độ VER theo đường chuẩn (ng/ml)	4,7	9,7	23,5	49,0	152,2	201,0	296,6	497,1



Hình 2. Đồ thị biểu diễn sự tương quan giữ tỷ lệ diện tích pic và nồng độ verapamil trong huyết tương.

Kết quả bảng 3 và hình 2 cho thấy, trong khoảng nồng độ từ 5,0 đến 495,0 ng/mL, có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ VER và tỷ lệ giữa diện tích pic của VER/DIL với bình phương hệ số tương quan xấp xỉ bằng 1 ($R^2=0,9999$). Nồng độ VER xác định từ đường chuẩn so với giá trị lý thuyết đạt 95,1-102,5% và nằm trong giới hạn cho phép ($\pm 15\%$). Đường chuẩn và khoảng tuyến tính đã xây dựng phù hợp với yêu cầu về phân tích thuốc trong dịch sinh học của FDA.

3. Giới hạn định lượng dưới

Tiến hành phân tích mẫu huyết tương trắng và mẫu huyết tương chứa verapamil ở nồng độ 5,0 ng/ml (mức thấp nhất trong dải tuyến tính). Đáp ứng đỉnh thu được từ mẫu chuẩn được sử dụng để tính toán nồng độ dựa trên đường chuẩn. Độ đúng được đánh giá thông qua so sánh giữa nồng độ tính toán và giá trị thực của mẫu. Kết quả về giới hạn định lượng dưới (LLOQ) được trình bày tại bảng 4.

Bảng 4. Kết quả xác định giá trị LLOQ của phương pháp (n=6).

	Diện tích pic VER	Diện tích pic DIL	Tỷ lệ diện tích pic VER/DIL	Nồng độ (ng/mL)	Độ đúng (%)
TB±SD	20652±204	778869±9443	0,0265±0,0003	4,8±0,063	97,50±0,90
CV (%)				0,96	

Theo kết quả trình bày tại bảng 4, tại thời gian lưu khoảng 3,14 phút, tín hiệu của mẫu chuẩn 5,0 ng/mL vượt quá 5 lần so với mẫu trắng. Độ chính xác qua 6 lần phân tích có CV<10%, trong khi độ đúng 97,50±0,90%, nằm trong ngưỡng chấp nhận 80-120%. Do đó, nồng độ 5,0 ng/ml đáp ứng tiêu chí LLOQ theo hướng dẫn phân tích sinh học của FDA. Đồng thời, các giá trị CV và độ đúng so với lý thuyết tại LLOQ cho thấy phương pháp đảm bảo độ đúng và lặp lại tại nồng độ LLOQ.

4. Độ đúng và độ lặp lại

Các mức nồng độ kiểm tra gồm LQC, MQC và HQC được chuẩn bị và xử lý theo quy trình phân tích đã thiết lập. Nồng độ verapamil trong các mẫu được xác định thông qua đường chuẩn, và độ đúng được tính bằng tỷ lệ phần trăm giữa giá trị đo được và nồng độ lý thuyết. Kết quả đánh giá độ đúng, độ lặp lại trong ngày và khác ngày được tổng hợp tại bảng 5.

Bảng 5. Kết quả thẩm định độ đúng và độ lặp lại (n=6, TB±SD).

Ngày	LQC	MQC	HQC
I	100,09±0,94	104,93±0,98	102,92±1,15
II	93,52±4,52	99,53±4,75	102,35±2,56
III	92,64±4,45	94,93±2,85	100,24±4,09
TB ±SD (n=18)	95,42±4,88	99,80±5,20	101,84±2,94
CV (%)	5,11	5,68	2,89

Kết quả ở bảng 5 cho thấy, ở cả 3 nồng độ (thấp: 14,9 ng/mL; trung bình: 173,3 ng/mL và cao: 371,3 ng/mL) của khoảng tuyến tính, phương pháp đều cho độ đúng khác ngày và trong ngày cao (87,10-106,62%) và độ lặp lại với giá trị CV không quá 10% (2,89-5,68%). Các kết quả trên chứng tỏ phương

pháp có độ lặp lại, độ đúng đáp ứng được các yêu cầu đối với phương pháp phân tích các chất trong dịch sinh học.

5. Hiệu suất chiết của phương pháp

Tiến hành xử lý và phân tích sắc ký các mẫu LQC, MQC, HQC theo quy trình. Song song với các mẫu trong huyết tương, tiến hành phân tích mẫu spike là các dung dịch tự tạo bằng cách thêm dung dịch chuẩn làm việc vào nền huyết tương trắng đã xử lý có nồng độ tương ứng như các mẫu QC. Tiến hành phân tích các mẫu. Kết quả xác định tỷ lệ thu hồi VER từ huyết tương chó được trình bày ở bảng 6.

Bảng 6. Hiệu suất chiết verapamil từ mẫu huyết tương chó (n=6).

	LQC			MQC			HQC		
	<i>Mẫu có chiết</i>	<i>Mẫu spike</i>	<i>Hiệu suất (%)</i>	<i>Mẫu có chiết</i>	<i>Mẫu spike</i>	<i>Hiệu suất (%)</i>	<i>Mẫu có chiết</i>	<i>Mẫu spike</i>	<i>Hiệu suất (%)</i>
TB±	64221	87236±	73,68±	742705±	975522±	76,19±	1476194±	1905076±	77,54±
SD	±462	2811	2,38	5679	30512	2,14	12683	60448	2,11
CV (%)	0,72	3,22	3,22	0,76	3,13	2,81	0,86	3,17	2,72

Kết quả ở bảng 6 cho thấy, ở mỗi nồng độ QC, hiệu suất chiết không khác nhau quá 15%. Giá trị CV giữa các đáp ứng của VER trong các mẫu QC có qua chiết tách ở mỗi nồng độ không lớn hơn 15%. Giá trị CV giữa các đáp ứng của VER trong các mẫu QC không qua chiết tách ở mỗi nồng độ không lớn hơn 10%. Do đó, phương pháp xử lý mẫu đã được xây dựng là phù hợp để chiết tách VER từ huyết tương chó.

7. Độ ổn định

Độ ổn định sau 3 chu kỳ đông rã: Phân tích các lô mẫu LQC và HQC (mỗi nhóm 5 mẫu) theo phương pháp đã được xây dựng. Xác định nồng độ VER có trong các mẫu bằng đường chuẩn tiến hành song song trong cùng điều kiện. Kết quả so sánh nồng độ VER có trong các mẫu LQC và HQC ngay sau khi pha (nồng độ ban đầu) và nồng độ VER có trong các mẫu LQC và HQC bảo quản sau 3 chu kỳ đông - rã đông được trình bày ở bảng 7.

Bảng 7. Độ ổn định của VER trong mẫu huyết tương sau 3 chu kỳ đông - rã (n=5).

	LQC		HQC	
	<i>Ban đầu</i>	<i>Sau 3 chu kỳ đông - rã</i>	<i>Ban đầu</i>	<i>Sau 3 chu kỳ đông - rã</i>
TB±SD (ng/ml)	14,9±0,1	14,8±0,1	372,1±1,3	370,8±2,7
Độ ổn định (%)	99,33		99,65	
CV (%)	0,85	0,79	0,37	0,71

Kết quả xác định nồng độ VER trong mẫu LQC, HQC sau 3 chu kỳ đông - rã đông và các mẫu tiến hành phân tích ngay sau khi rã đông cho thấy: Độ ổn định của mẫu huyết tương ở LQC và HQC lần lượt là 99,33 và 99,65% so với ban đầu. Các giá trị CV tại mỗi nồng độ đều không quá 5%. Như vậy, VER trong mẫu huyết tương ổn định qua 3 chu kỳ đông - rã đông.

Độ ổn định trong quá trình xử lý mẫu: Đánh giá độ ổn định trong quá trình xử lý mẫu trên các mẫu LQC và HQC. So sánh nồng độ VER trong các mẫu LQC, HQC sau khi pha được xử lý theo quy trình đã lựa chọn và các mẫu LQC, HQC có cùng nồng độ tương ứng nhưng xử lý mẫu sau khi để tan chảy ở nhiệt độ phòng 6 giờ. Kết quả được trình bày ở bảng 8.

Bảng 8. Độ ổn định của VER trong huyết tương sau 6 giờ (n=5).

	LQC		HQC	
	<i>Ban đầu</i>	<i>Sau 6 giờ</i>	<i>Ban đầu</i>	<i>Sau 6 giờ</i>
TB±SD (ng/ml)	14,9±0,1	14,7±0,2	372,1±1,2	369,2±2,9
Độ ổn định (%)	98,66		99,22	
CV (%)	0,85	1,43	0,37	0,88

Kết quả nghiên cứu cho thấy, nồng độ VER trong mẫu LQC, HQC được xử lý ngay và xử lý sau 6 giờ để tan chảy ở nhiệt độ phòng đảm bảo độ ổn định lần lượt là 98,66 và 99,22%. Các giá trị CV tại mỗi nồng độ đều không quá 5%. Như vậy, VER trong mẫu huyết tương ổn định sau 6 giờ ở nhiệt độ phòng.

Độ ổn định dài ngày: Đánh giá độ ổn định của mẫu huyết tương trên các mẫu LQC và HQC. Xác định nồng độ VER có trong mẫu tại các thời điểm ngay

sau khi pha và sau 10, 20 và 30 ngày bảo quản mẫu ở nhiệt độ -40°C theo phương pháp đã xây dựng. Kết quả được trình bày ở bảng 9.

Bảng 9. Kết quả độ ổn định dài ngày của verapamil trong huyết tương (n=5).

		LQC	HQC
Ban đầu	TB $\pm$ SD (ng/ml)	15 $\pm$ 0,2	372,1 $\pm$ 1,3
	Độ ổn định (%)	1,33	0,36
Sau 10 ngày	TB $\pm$ SD (ng/ml)	14,9 $\pm$ 0,2	370,2 $\pm$ 8,6
	Độ ổn định (%)	99,47	99,49
	CV (%)	1,53	2,34
Sau 20 ngày	TB $\pm$ SD (ng/ml)	14,8 $\pm$ 0,2	368,9 $\pm$ 9,1
	Độ ổn định (%)	98,67	99,15
	CV (%)	1,07	2,47
Sau 30 ngày	TB $\pm$ SD (ng/ml)	14,9 $\pm$ 0,3	366,1 $\pm$ 7,5
	Độ ổn định (%)	99,6	98,39
	CV (%)	2,25	2,04

Kết quả bảng 9 cho thấy, độ ổn định của VER trong các mẫu bảo quản ở nhiệt độ -40°C sau 10, 20 và 30 ngày so với mẫu định lượng ngay nằm trong giới hạn cho phép 85 %-115%. Các giá trị CV tại mỗi nồng độ đều không quá 5%. Điều đó chứng tỏ VER ổn định trong huyết tương trong 30 ngày bảo quản ở nhiệt độ -40°C .

8. Độ nhiễm chéo

Chuẩn bị 6 mẫu huyết tương trắng và 6 mẫu huyết tương có nồng độ LLOQ và 1 mẫu ULOQ. Tiến hành xử lý mẫu theo quy trình và phân tích xen kẽ nhau 6 lần giữa mẫu trắng và LLOQ sau khi phân tích mẫu ULOQ. Diện tích pic ghi nhận tại thời gian lưu tương ứng với chất phân tích và nội chuẩn được thể hiện trong bảng 10.

Bảng 10. Kết quả đánh giá độ nhiễm chéo phân tích.

Thứ tự	Trắng	VER	Tỷ lệ (%)	Trắng	DIL	Tỷ lệ (%)
1	103	20787	0,4955	40	632703	0,0063
2	102	20785	0,4907	36	637663	0,0056
3	115	20645	0,5570	48	636717	0,0075
4	119	20833	0,5712	50	638848	0,0078

5	424	20575	2,0608	116	637313	0,0182
6	137	20286	0,6753	44	644220	0,0068
TB			0,8084			0,0087

Kết quả bảng 10 cho thấy, tại thời gian lưu của VER, tín hiệu ghi của mẫu trắng so với LLOQ là 0,8084% (dưới 20%). Tại thời gian lưu của DIL, tín hiệu ghi của mẫu trắng so với LLOQ là 0,0087% (dưới 5%). Do đó, phương pháp đảm bảo độ nhiễu chéo và tin cậy để phân tích nồng độ VER trong huyết tương chó.

Như vậy, kết quả thẩm định độ đặc hiệu - chọn lọc, độ đúng, độ lặp lại, khoảng tuyến tính, giới hạn định lượng dưới, hiệu suất chiết, độ ổn định và độ nhiễu chéo của VER cho thấy, phương pháp đã xây dựng đáp ứng được các yêu cầu của một phương pháp phân tích dùng trong sinh học. Phương pháp này có thể áp dụng để định lượng VER trong huyết tương chó khi nghiên cứu sinh khả dụng của các dạng bào chế chứa VER trên chó thực nghiệm.