

Nghiên cứu bào chế thuốc tiêm Paclitaxel dạng dung dịch pha tiêm truyền và dạng bột đông khô

Nguyễn Thanh Hà¹, Lê Minh Trí²
Lê Nguyễn Nguyệt Minh², Nguyễn Thiện Hải²

¹ Viện Kiểm nghiệm thuốc TP Hồ Chí Minh

² Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh

Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu cải thiện độ tan của Paclitaxel (PTX), trên cơ sở đó bào chế chế phẩm thuốc dạng tiêm. Công thức thuốc tiêm pha truyền tĩnh mạch chứa PTX với 2 dạng bào chế: dung dịch đậm đặc và bột đông khô, được xây dựng bằng 2 phương pháp: sử dụng chất trung gian hòa tan (Kolliphor ELP®) và tạo phức với 2-hydroxyl propyl β cyclodextrin (HP β CD). Sự phân bố thuốc trên mô thử của dạng dung dịch đậm đặc gần tương tự như của thuốc đối chiếu Stragen®, trong khi thuốc bột đông khô cho thấy, nồng độ PTX trong huyết tương thấp hơn thuốc đối chiếu nhưng nồng độ thuốc phân phối vào các mô cao hơn. Đánh giá sơ bộ độ ổn định cho thấy, hai dạng chế phẩm đều đạt các chỉ tiêu đặt ra.

Từ khóa: đông khô, Kolliphor ELP, Paclitaxel, 2-hydroxyl propyl β cyclodextrin.

Chỉ số phân loại 3.4

PREPARATION OF PACLITAXEL INTRAVENOUS DRUG AT CONCENTRATED SOLUTION AND LYOPHILIZED POWDER DOSAGE FORMS

Summary

The aim of this research is to enhance solubility of Paclitaxel (PTX) and develop PTX formulations for intravenous (IV) infusion. The two PTX dosage forms for IV infusion, concentrated solution and lyophilized powder, have been formulated by 2 different methods: using solubilized agent (Kolliphor ELP®) and complexation (using 2-hydroxyl propyl β cyclodextrin - HP β CD) respectively. PTX plasma concentration and tissue distribution (rabbits have been used as test animals) of the concentrated solution have been similar to those of Stragen® (reference drug), while PTX plasma concentration of the lyophilized powder has been lower than Stragen®'s; the former's tissue distribution has been higher than those of the latter. Short-term stability tests under normal and stress conditions have shown that the two dosage forms meet expected standards.

Keywords: Kolliphor ELP, lyophilization, Paclitaxel, 2-hydroxyl propyl β cyclodextrin.

Classification number 3.4

Bật vấn đề

Bệnh ung thư ngày càng trở nên phổ biến trong xã hội hiện đại với tỷ lệ tử vong gia tăng rất nhanh, chỉ đứng hàng thứ hai sau các bệnh về tim mạch. PTX là một hoạt chất được chấp nhận sử dụng trong điều trị ung thư vú, ung thư cổ tử cung và ung thư phổi tế bào nhỏ. PTX hấp thu kém qua đường tiêu hóa, phân bố vào các mô kém nên sinh khả dụng thấp, chủ yếu được dùng qua đường tiêm truyền tĩnh mạch (nồng độ 0,3-1,2 mg/ml) [1]. Bên cạnh đó, PTX tan rất kém trong nước cũng như một số dung môi thông dụng nên gặp nhiều khó khăn trong việc nghiên cứu dạng thuốc dùng qua đường tiêm truyền. Các nghiên cứu trên thế giới hiện nay chủ yếu tập trung cải thiện độ tan và nâng cao sinh khả dụng của chế phẩm PTX nhưng vẫn chưa có dạng bào chế nào thật sự nổi trội, chủ yếu vẫn là dung dịch đậm đặc pha truyền tĩnh mạch [2, 3, 5]. Ở Việt Nam hiện nay chưa có nghiên cứu nào về cải thiện độ tan PTX làm chế phẩm tiêm truyền.

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm các mục tiêu: 1) Xây dựng công thức và quy trình bào chế dạng thuốc tiêm dung dịch đậm đặc và bột đông khô pha tiêm chứa PTX; 2) Xây dựng tiêu chuẩn kiểm nghiệm của các chế

phẩm; 3) Xác định sự phân bố trong mô và trong huyết tương của chế phẩm, so sánh với thuốc ngoại nhập; 4) Theo dõi độ ổn định của các chế phẩm bào chế được trong điều kiện tự nhiên và lão hóa cấp tốc ở 25°C.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng: nguyên liệu PTX đạt tiêu chuẩn USP.35 [4]. Chế phẩm đối chiếu PTX Stragen® 30 mg/5 ml (hãng Haupt Pharma Wofratshausen GmbH - Đức, số lô X070, VN1-423-11).

Nguyên liệu: Kolliphor ELP®, Tween® 80, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (Kleptose®), Pearlitol®, ethanol khan, acid citric, polyethylen glycol 400, polyvinyl pyrrolidon K30 (PVP K30), amoni acetat.

Thiết bị: máy sắc ký lỏng Shimadzu SPD M20A, máy đông khô Christ Delta 2-24 LSC Plus, máy ly tâm thường MRC, máy ly tâm lạnh MICRO 220R, máy vortex IKA ms3, máy lọc tế bào SONICATOR 3000, buồng già hoá cấp tốc Binder (Đức), máy theo dõi độ ổn định dài hạn LG (Hàn Quốc).

Phương pháp nghiên cứu

Xây dựng quy trình định lượng PTX và tạp chất liên quan của PTX trong chế phẩm: hàm lượng PTX và tạp chất liên quan của PTX (tạp chính là 10-deacetyl-7-epiPTX - tạp B) được định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) [4].

Xây dựng công thức và quy trình điều chế thuốc tiêm truyền chứa PTX với hai dạng bào chế dung dịch đậm đặc và bột đông khô pha tiêm truyền:

- Khảo sát tính chất lý hóa của chế phẩm, đối chiếu về các chỉ tiêu cảm quan, hàm lượng và độ ổn định sau khi pha loãng trong các dung dịch tiêm truyền.

- Xây dựng công thức dung dịch PTX bằng phương pháp dùng chất trung gian hòa tan. Khảo sát loại, tỷ lệ chất trung gian hòa tan và dung môi hòa tan PTX: pha chế dung dịch PTX nồng độ 6 mg/ml bằng các hệ dung môi Tween 80 - ethanol khan (T80-E) hoặc Kolliphor ELP - ethanol khan (K-E) với các tỷ lệ khác nhau. Pha loãng các dung dịch đậm đặc này với NaCl 0,9% và glucose 5%, nhận xét cảm quan và xác định hàm lượng PTX trong dung dịch khi mới pha xong và sau khi pha 24 giờ. Khảo sát ảnh hưởng của acid citric đến độ ổn định của dung dịch đậm đặc và dung dịch sau khi pha loãng: pha chế công thức tỷ lệ T80-E và K-E đã lựa chọn với lượng acid citric thêm vào ở mức 0,01M.

Đánh giá tính chất dung dịch pha chế: tiến hành lặp lại công thức lựa chọn với lượng pha chế lớn hơn (gấp 30 lần ~ 150 ml dung dịch đậm đặc). Pha loãng với NaCl 0,9% và glucose 5% đến 3 mức nồng độ 0,3 mg/ml, 0,6 mg/ml và 1,2 mg/ml. Định lượng các dung dịch bằng phương pháp HPLC tại các thời điểm 0, 24, 48 và 72 giờ sau khi pha loãng. Các dung dịch sau pha loãng phải ổn định trong ít nhất 24 giờ, hàm lượng PTX $\geq 90\%$. So sánh đồng thời với chế phẩm đối chiếu Stragen®.

Nghiên cứu xây dựng quy trình bào chế dung dịch đậm đặc pha tiêm truyền: xây dựng quy trình bào chế dung dịch PTX đậm đặc quy mô 50 đơn vị (250 ml) trên 3 lô nguyên liệu đạt chỉ tiêu về độ vô khuẩn và nội độc tố vi khuẩn.

- Nghiên cứu xây dựng công thức và quy trình điều chế thuốc bột đông khô pha truyền tĩnh mạch chứa PTX dựa trên tạo phức với HP β CD.

Khảo sát ảnh hưởng của HP β CD lên khả năng cải thiện độ tan của PTX: khảo sát tỷ lệ HP β CD-PTX trong hỗn hợp nước - ethanol (1:1) đến giới hạn cho phép của HP β CD theo FDA (tối đa là 0,4%), đánh giá sự hòa tan PTX sơ bộ bằng cảm quan, chọn lựa tỷ lệ thích hợp và xác định hàm lượng PTX.

Khảo sát ảnh hưởng của chất ổn định phức: công thức được lựa chọn với tỷ lệ HP β CD-PTX tiềm năng sẽ được khảo sát độ ổn định khi có mặt PVP K30, Tween 80 và PEG 400. Tiêu chí lựa chọn là công thức sau khi pha loãng cho dung dịch trong ít nhất 24 giờ.

Khảo sát công thức và quy trình điều chế bột đông khô chứa PTX: Mannitol được thêm vào với tỷ lệ thích hợp (tối đa 7,5% - theo FDA) nhằm tăng khả năng đông khô tạo khối thuốc cho dung dịch. Khảo sát các thông số quy trình đông khô.

Kiểm tra, đánh giá chất lượng sản phẩm bột đông khô chứa PTX: bột đông khô phải đảm bảo đạt các yêu cầu chung của chế phẩm đông khô như: hình thức khối thuốc, tốc độ tan, độ trong của dung dịch sau khi pha loãng với dịch truyền; pH; độ ổn định hàm lượng PTX sau 24, 48, 72 giờ. Tiêu chí lựa chọn là công thức cho dung dịch có nồng độ PTX ít nhất sau 24 giờ đạt trên 90% so với lúc đầu.

Sơ bộ đánh giá sự phân bố của PTX trong mô và huyết tương thỏ: các mẫu thuốc thử dung dịch đậm đặc pha truyền tĩnh mạch (công thức A) và dung dịch trước khi đông khô (công thức B) được thử sơ bộ trên thỏ về nồng độ thuốc trong huyết tương và nồng độ thuốc phân phối vào các mô (gan, thận,

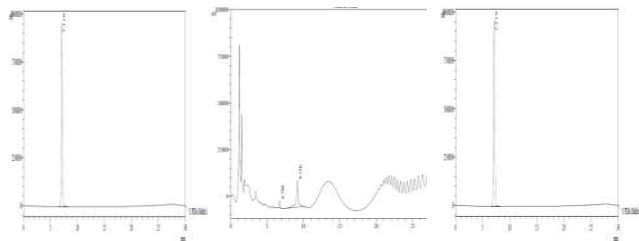
phổi, buồng trứng) theo thời gian; so sánh với thuốc đối chiếu PTX Stragen® 30 mg/5 ml (C).

Sơ bộ đánh giá độ ổn định của hai chế phẩm: đánh giá độ ổn định chế phẩm ở điều kiện thường ($5\pm 2^\circ\text{C}$, tránh ánh sáng) sau 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 tháng và điều kiện lão hóa ($25\pm 2^\circ\text{C}/60\%\pm 5\% \text{ RH}$) sau 0, 3, 6 tháng.

Kết quả và bàn luận

Thẩm định quy trình định lượng PTX và tạp chất liên quan của PTX trong chế phẩm

Quy trình định lượng PTX trong chế phẩm được thẩm định đầy đủ và phù hợp để xác định hàm lượng PTX trong khoảng từ 98,208 đến 1473,120 $\mu\text{g/ml}$, với điều kiện sắc ký như sau: cột Nucleodur® PFP 250 x 4,0 mm, 5 μm , nhiệt độ cột 25°C , thể tích tiêm mẫu 10 μl , tốc độ dòng 1,2 ml/phút, đầu dò PDA, bước sóng phát hiện 227 nm, pha động: hỗn hợp nước - acetonitril, rửa giải theo chương trình (hình 1, 2, 3).

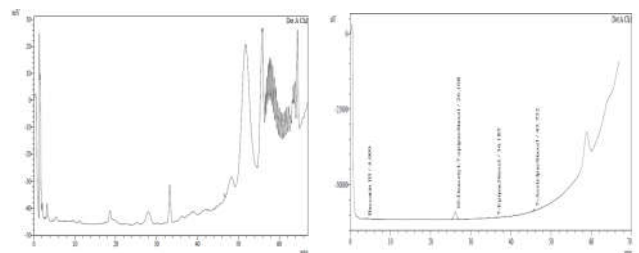


Hình 1: sắc ký đồ PTX chuẩn

Hình 2: sắc ký đồ của mẫu trắng

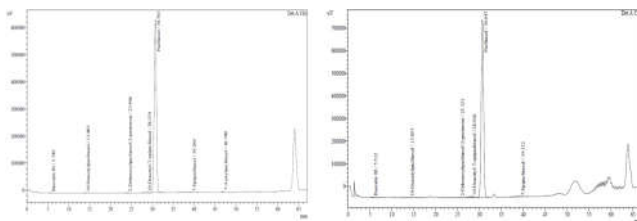
Hình 3: sắc ký đồ của mẫu thử

Quy trình định lượng tạp chất liên quan của PTX trong chế phẩm được thẩm định đầy đủ và phù hợp để xác định lượng tạp chất liên quan của PTX: 2,94-14,7 $\mu\text{g/ml}$, với điều kiện sắc ký như sau: cột Gemini® NX 150 x 4,6 mm, 5 μm , nhiệt độ cột 25°C , thể tích tiêm mẫu 10 μl , tốc độ dòng 1 ml/phút, đầu dò PDA, bước sóng phát hiện 227 nm, pha động: hỗn hợp nước - acetonitril, rửa giải theo chương trình (hình 4, 5, 6, 7).



Hình 4: sắc ký đồ của mẫu trắng

Hình 5: sắc ký đồ của tạp chuẩn B



Hình 6: sắc ký đồ mẫu chuẩn PTX và tạp chuẩn B

Hình 7: sắc ký đồ của mẫu thử

Xây dựng công thức và quy trình điều chế thuốc tiêm truyền chứa PTX với hai dạng bào chế dung dịch đậm đặc và bột đông khô pha tiêm truyền

Khảo sát tính chất lý hóa của chế phẩm đối chiếu: chế phẩm Stragen® có dạng dung dịch đậm đặc trong suốt, hơi nhớt, đóng trong lọ thủy tinh trong, nút cao su, ngoài có niềng nắp nhôm, pH = 6,14 (pha loãng 10 lần với NaCl 0,9%). Hàm lượng đạt 90-110% hàm lượng ghi trên nhãn. Các dung dịch sau khi pha loãng đều đạt độ ổn định về cảm quan và hàm lượng trong vòng 72 giờ sau khi pha.

Xây dựng công thức dung dịch PTX bằng phương pháp trung gian hòa tan

Khảo sát loại, tỷ lệ chất trung gian hòa tan và dung môi hòa tan PTX: khi dùng hỗn hợp T80-E tỷ lệ (2:1) (3:1) (4:1) và hỗn hợp K-E tỷ lệ (1:1) (2:1) (3:1) (4:1), dung dịch đậm đặc khi pha loãng 10 lần ổn định trong vòng 24 giờ sau khi pha về cảm quan và hàm lượng trong giới hạn cho phép. Với tỷ lệ T80-E nhỏ hơn (2:1) và K-E tỷ lệ nhỏ hơn (1:1), dung dịch tỏa sau khi pha loãng 24 giờ và không đạt giới hạn hàm lượng cho phép. Do đó, lựa chọn công thức T80-E (2:1) và K-E (1:1) làm cơ sở nghiên cứu vì đây là công thức với tỷ lệ Tween 80 và Kolliphor ELP ít nhất cho dung dịch có độ ổn định trong vòng 24 giờ sau khi pha loãng (hàm lượng PTX lần lượt là 97,70% và 94,69%). Công thức với tỷ lệ T80-E (2:1) acid citric 0,01M khi pha loãng đến nồng độ 0,3 mg/ml với các dung dịch NaCl 0,9% và Glucose 5% đạt ổn định về hàm lượng sau hơn 72 giờ. Khi pha loãng ở nồng độ 0,6 mg/ml và 1,2 mg/ml đến khoảng 72 giờ, dung dịch bắt đầu xuất hiện những hạt tủa nhỏ li ti. Công thức dùng K-E (1:1) acid citric 0,01M, các dung dịch pha loãng ở 3 nồng độ ổn định trong vòng 48 giờ sau khi pha. Các dung dịch pha loãng với nồng độ thấp (0,6 mg/ml và 0,3 mg/ml) vẫn ổn định trong vòng 72 giờ sau khi pha. Kết quả trên cho thấy công thức dùng T80-E (2:1) acid citric 0,01M không có cải thiện so với không dùng acid citric. Ngược lại, công thức sử dụng K-E (1:1) acid citric 0,01M cho thấy sự cải thiện về độ ổn định so với không dùng acid citric. Do đó, chọn công thức T80-E (2:1) (CT1), K-E (1:1) acid citric 0,01M (CT2) để khảo sát.

Đánh giá tính chất dung dịch pha chế: các dung dịch sau khi pha loãng từ 2 công thức CT1 và CT2 đều trong và có độ ổn định sau khi pha 72 giờ về cảm quan và định lượng. Tuy nhiên, CT2 được lựa chọn để pha chế với quy mô lớn hơn (50 lọ ~ 250 ml, tiến hành trên 3 lô), do công thức này có nồng độ Kolliphor ELP sử dụng trong khoảng cho phép của FDA (<52,5%), còn CT1 khi pha loãng ở nồng độ 1,2 mg/ml thì nồng độ Tween là 13%, cao hơn mức được FDA cho phép (8%), hơn nữa CT2 có độ nhớt nhỏ hơn CT1.

Xây dựng quy trình bào chế dung dịch đậm đặc chứa PTX pha tiêm truyền: dung dịch đậm đặc có độ nhớt lớn nên khó thực hiện tiết khuẩn bằng biện pháp lọc vô trùng trong điều kiện pha chế nhỏ. Từ đó, đề xuất phương pháp hấp tiết trùng phù hợp cho từng thành phần trong công thức và pha chế trong khu vực vô trùng (cấp A).

Công thức pha chế 250 ml dung dịch đậm đặc chứa PTX: PTX 1500 mg; acid citric 500 mg; Kolliphor ELP - ethanol khan (1:1) vừa đủ 250 ml.

Kết quả về cảm quan, hàm lượng và độ vô trùng được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1: kết quả về cảm quan, hàm lượng và độ vô trùng của chế phẩm (n = 3)

Chỉ tiêu	0 giờ	24 giờ
Hàm lượng PTX (%)	100,77	98,79
pH		3,62-4,74
Nội độc tố vi khuẩn (*)		Đạt
Độ vô trùng (**)		Đạt

(*) Thử trên thỏ theo chuyên luận DĐVN IV (Phụ lục 13.4);

(**) Cấy mẫu bằng phương pháp màng lọc trong môi trường thioglycolat và soybean-casein theo chuyên luận DĐVN IV (Phụ lục 13.7)

Nghiên cứu xây dựng công thức và quy trình điều chế thuốc bột đông khô pha truyền tĩnh mạch chứa PTX dựa trên tạo phức với HPβCD

Khảo sát ảnh hưởng của HPβCD lên khả năng cải thiện độ tan của PTX: kết quả khảo sát cho thấy, với tỷ lệ HPβCD thấp (<0,3%) dung dịch phức tủa ngay khi phối hợp. Với nồng độ HPβCD là 0,35% và 0,4%, dịch pha loãng tại thời điểm lúc đầu trong, chúng tỏ lượng HPβCD sử dụng đủ để tạo phức bao với PTX. Tuy nhiên, khi quan sát thêm khoảng hơn 10 phút, dung dịch có nồng độ HPβCD 0,35% tủa, trong khi dung dịch có nồng độ HPβCD 0,4% bền hơn 30 phút. Dung dịch tủa chứng tỏ phức tạo thành không ổn định và cần phải sử dụng thêm tá dược để ổn định phức. Tỷ lệ nồng độ HPβCD lựa chọn sử dụng là 0,4%.

Khảo sát ảnh hưởng của chất ổn định phức:

Anh hưởng của chất làm tăng độ nhớt: khi hòa tan PVP K30 vào dung dịch HPβCD trước khi tạo phức với PTX dung dịch trong lâu hơn (gần 120 phút) so với khi hòa tan PVP K30 vào dung dịch sau khi tạo phức (60 phút). Thời gian duy trì độ ổn định phức tỷ lệ thuận với nồng độ PVP K30 sử dụng. Cụ thể, để duy trì độ trong của dung dịch đến khoảng 2 giờ, PVP K30 tối thiểu phải là 2%.

Khảo sát ảnh hưởng chất trợ tan: kết quả khảo sát ảnh hưởng của các chất trợ tan PEG 400 và Tween 80 với các tỷ lệ khác nhau được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2: kết quả đánh giá cảm quan dung dịch đậm đặc

Thời gian (giờ)	Công thức (% PEG 400 - % Tween 80)										
	10-0	10-2	10-5	0-8	2-8	2-7	3-7	3-6	4-6	4-5	5-5
0	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
24	↓	-	+	↓	+	+	+	-	+	+	+
48	↓	↓	+	↓	+	-	+	↓	+	-	+
72	↓	↓	+	↓	+	↓	+	↓	+	-	+

(+): dung dịch trong; (-): dung dịch tủa nhẹ; (↓): dung dịch tủa nhiều

Các công thức chỉ sử dụng một loại chất trợ tan PEG 400 hoặc Tween 80 không đảm bảo độ bền của dung dịch (tối đa đến 24 giờ có tủa xuất hiện). Với tỷ lệ PEG 400 sử dụng tối đa đến 10% và lượng Tween 80 sử dụng từ tỷ lệ 5% trở lên, dung dịch duy trì độ trong được đến 72 giờ. Tương tự, với tỷ lệ Tween 80 sử dụng tối đa đến 8% và lượng PEG 400 sử dụng từ 2% trở lên, dung dịch mới duy trì được độ trong đến 72 giờ. Từ đó cho thấy, nồng độ PEG 400 trong khoảng 2-10% và Tween 80 trong khoảng 5-8% giúp duy trì độ bền của dung dịch phức.

Khảo sát công thức và quy trình điều chế thuốc bột đông khô pha tiêm truyền: chọn các công thức 10-5, 2-8, 3-7, 4-6, 5-5 (bảng 2), phối hợp với mannitol lượng tối đa cho phép sử dụng để khảo sát thông số của quy trình đông khô. Sau khi khảo sát một loạt các thông số nhằm thu được khối thuốc đạt yêu cầu về tính chất cơ học (rắn chắc, mịn, không bị nứt) và khả năng tái hòa tan, quy trình đông khô được thực hiện với các thông số sau: thời gian đông lạnh 48 giờ; áp suất giai đoạn làm khô sơ cấp và thứ cấp là 0,0108 mbar và 0,0026 mbar.

Khảo sát ảnh hưởng của tá dược đến tính chất sản phẩm đông khô: pha chế các công thức với các tỷ lệ tá dược thay đổi trong giới hạn đã khảo sát ở trên, tiến hành đông khô. Kết quả được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3: kết quả định lượng PTX và pH các mẫu nghiên cứu

Công thức (% PEG 400: % Tween 80)	Thời gian hòa tan lại (phút)	pH dung dịch sau pha loãng	Hàm lượng PTX trong dung dịch sau pha loãng (%)			
			0 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ
10-5	3	4,32	93,53	92,31	91,98	90,88
2-8	2	4,05	90,95	89,52	88,15	85,82
3-8	3	4,07	93,30	90,09	88,55	86,34
3-7	3	4,08	90,14	88,57	87,40	85,04
4-8	4-5	4,24	96,70	93,84	90,52	88,45
4-7	1-2	4,30	91,17	90,61	89,28	85,67
4-6	3-4	4,25	90,04	88,91	87,74	84,89
5-8	6-7	4,22	96,55	95,49	92,93	90,46
5-7	2-3	4,29	98,17	95,72	92,39	88,89
5-6	2	4,26	96,35	95,71	93,74	91,38
5-5	2	4,25	98,24	95,08	93,62	91,30
6-8	5	4,24	96,77	95,44	91,09	90,80
6-7	4	4,26	99,20	95,64	93,40	92,71
6-6	3	4,28	97,74	95,86	95,44	93,92
6-5	1-2	4,25	96,31	94,39	93,74	91,14

Về mặt cảm quan, kết quả cho thấy với tỷ lệ PEG 400 thấp (dưới 5%), khối thuốc có nguy cơ bị nứt bề. Tuy nhiên, khi lượng PEG 400 sử dụng quá cao (10%), lượng tá dược lỏng trong công thức nhiều, làm cho dung dịch thuốc khó đông rắn, giai đoạn làm khô không xảy ra hoàn toàn, dẫn đến sản phẩm khó khô, dễ vỡ (công thức 10-5). Các sản phẩm đông khô khi hòa tan lại với dung dịch NaCl 0,9% rất nhanh (tối đa 5-7 phút). Bên cạnh đó, khảo sát cũng cho thấy, với tỷ lệ Tween 80 sử dụng càng tăng, thời gian hòa tan lại thành dung dịch trong càng lâu. Các công thức khảo sát đều cho kết quả độ bền dung dịch sau khi pha loãng với dung dịch NaCl 0,9% ổn định ít nhất 24 giờ, đặc biệt các công thức có nồng độ PEG 400 cao (từ 5% trở lên) độ bền dung dịch có khả năng duy trì được đến 72 giờ. Từ các kết luận trên, công thức 5-6 được chọn để có sản phẩm đông khô có hình thức đẹp, mịn, chắc, thời gian hòa tan lại nhanh, duy trì được độ trong và hàm lượng PTX trong giới hạn (từ 90 đến 110%) được hơn 24 giờ.

Công thức 1 lọ: PTX 6 mg; Hydroxypropyl- β -cyclodextrin 40 mg; Polyvinyl pyrrolidon K30 200 mg; Polyethylen glycol 400 0,5 ml; Tween 80 0,6 ml; Mannitol 0,75 g; dung môi vừa đủ.

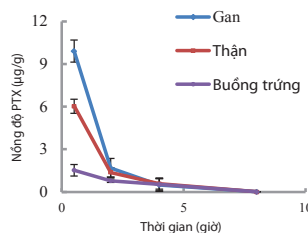
Kiểm tra, đánh giá chất lượng sản phẩm: pha chế 3 mẻ công thức 5-6 và tiến hành đông khô theo quy trình đã chọn để khảo sát tính ổn định của quy trình. Mỗi mẻ pha chế 5 lọ. Sản phẩm trong 3 mẻ đều đạt các chỉ tiêu về mặt cảm quan, độ trong và hàm lượng PTX trong giới hạn (90-110%) đến 72 giờ.

Sơ bộ đánh giá sự phân bố của PTX trong mô và huyết tương thỏ

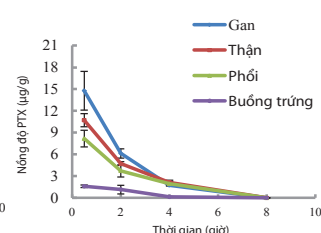
Sự phân bố thuốc trong mô và huyết tương thỏ của dạng dung dịch đậm đặc gần tương tự như thuốc đối chiếu, trong khi thuốc bột đông khô cho thấy nồng độ PTX trong huyết tương thấp hơn thuốc đối chiếu nhưng nồng độ thuốc phân phối vào các mô cao hơn. Kết quả phân bố thuốc trong mô được trình bày trong bảng 4 và hình 8, 9.

Bảng 4: nồng độ PTX ($\mu\text{g/g}$) thu được giữa các nhóm khi tiêm thuốc (liều 6 mg/kg)

Thời gian (giờ)	Gan		Thận		Phổi		Buồng trứng	
	B	C	B	C	B	C	B	C
0,5	14,78	9,90	10,71	6,03	8,19	8,26	1,61	1,53
2	6,13	1,69	4,71	1,37	3,72	1,68	1,15	0,78
4	1,73	0,49	2,12	0,57	1,96	0,57	0,14	0,52
8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00



Hình 8: đường biểu diễn nồng độ PTX trong mô theo thời gian sau khi tiêm tĩnh mạch thuốc chứng (C) với liều 6 mg/kg ($n = 3$)

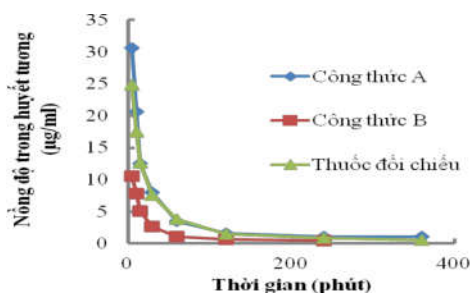


Hình 9: đường biểu diễn nồng độ PTX trong mô theo thời gian sau khi tiêm tĩnh mạch thuốc thử (B) với liều 6 mg/kg ($n = 3$)

Kết quả nồng độ thuốc trong huyết tương được trình bày trong bảng 5, 6 và hình 10.

Bảng 5: nồng độ thuốc gốc PTX trong huyết tương thỏ ($\mu\text{g/ml}$) theo thời gian

Thời gian (phút)	Công thức A ($n = 6$)	Công thức B ($n = 6$)	Thuốc đối chiếu (C) ($n = 3$)
5	30,589 $\pm$ 7,455	10,538 $\pm$ 1,756	24,837 $\pm$ 4,116
10	20,624 $\pm$ 8,439	7,816 $\pm$ 1,578	17,473 $\pm$ 3,513
15	12,501 $\pm$ 5,568	5,030 $\pm$ 1,099	12,673 $\pm$ 0,390
30	8,042 $\pm$ 4,084	2,675 $\pm$ 0,794	7,542 $\pm$ 2,485
60	3,521 $\pm$ 0,889	1,063 $\pm$ 0,319	3,756 $\pm$ 1,393
120	1,622 $\pm$ 0,394	0,625 $\pm$ 0,361	1,458 $\pm$ 0,700
240	1,067 $\pm$ 0,180	0,390 $\pm$ 0,129	0,839 $\pm$ 0,404
360	1,029 $\pm$ 0,170	-	0,595 $\pm$ 0,181



Hình 10: đồ thị nồng độ thuốc trong huyết tương theo thời gian của thuốc đối chiếu (C), công thức (A) và công thức (B)

Bảng 6: so sánh giữa thuốc chứng và 2 thuốc thử

Thông số		AUC ₀₋₆ (µg.giờ/ml)	AUC _{0-∞} (µg.giờ/ml)	T _{1/2} (giờ)	K _a	V _d (lít/kg)
Thuốc chứng (C)		14,71±2,31	15,70±2,07	1,15±0,04	0,60±0,01	0,25±0,07
Thuốc thử CT (A)		16,33±2,53	18,38±2,42	1,36±0,21	0,52±0,07	0,21±0,06
Thuốc thử CT (B)			5,55±1,38	0,87±0,09	0,79±0,09	0,57±0,10
So sánh giữa thuốc chứng và thuốc thử A	t	-1,27	-2,05	-2,04	2,54	1,91
	t _{0,05}	2,45	2,45	2,57	2,57	2,57
So sánh giữa thuốc chứng và thuốc thử B	t		13,21*	7,06*	-5,58*	-7,84*
	t _{0,05}		2,45	2,45	2,57	2,57

Khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $t > t_{0,05}$

Sơ bộ đánh giá độ ổn định của hai chế phẩm

Chế phẩm dung dịch đậm đặc và bột đông khô pha tiêm truyền tĩnh mạch được theo dõi độ ổn định dưới điều kiện bảo quản thường và khắc nghiệt. Kết quả dung dịch đậm đặc sau 3 tháng ở 2 điều kiện bảo quản và thuốc bột đông khô ở điều kiện thường sau 2 tuần bảo quản cho thấy, hai chế phẩm đều đạt các yêu cầu chất lượng đề ra (bảng 7-15).

Bảng 7: kết quả đánh giá chất lượng chế phẩm dung dịch đậm đặc

	Lô 1		Lô 2		Lô 3	
	0 tháng	3 tháng	0 tháng	3 tháng	0 tháng	3 tháng
Hàm lượng PTX (%)	99,7 Trong	100,1 Trong	99,7 Trong	99,6 Trong	100,64 Trong	99,38 Trong
Hàm lượng tạp B (%)	Không có	0,42	0,02	0,05	0,01	0,03
pH	3,62-4,74		3,64-4,73		3,63-4,75	
Chất gây sốt	Đạt		Đạt		Đạt	
Độ vô trùng	Đạt		Đạt		Đạt	

Bảng 8: kết quả đánh giá chất lượng chế phẩm bảo quản ở điều kiện thường

	Lô 1		Lô 2		Lô 3	
	6 tháng	12 tháng	6 tháng	12 tháng	6 tháng	12 tháng
Hàm lượng PTX (%)	99,42 Trong	100,1 Trong	99,7 Trong	99,6 Trong	100,64 Trong	99,38 Trong
Hàm lượng tạp B (%)	0,43	0,50	0,26	0,05	0,03	0,03
pH	3,62-4,74		3,64-4,73		3,63-4,75	
Chất gây sốt	Đạt		Đạt		Đạt	
Độ vô trùng	Đạt		Đạt		Đạt	

Bảng 9: kết quả đánh giá chất lượng chế phẩm bảo quản ở điều kiện lão hóa cấp tốc 25°C, RH = 60%±5%

	Lô 1		Lô 2		Lô 3	
	0 tháng	3 tháng	0 tháng	3 tháng	0 tháng	3 tháng
Hàm lượng PTX (%)	99,7 Trong	101,9 Trong	99,2 Trong	101,7 Trong	99,7 Trong	99,5 Trong
Hàm lượng tạp B (%)	Không phát hiện	0,35		0,07		0,05
pH	3,62-4,74		3,64-4,73		3,63-4,75	
Chất gây sốt	Đạt		Đạt		Đạt	
Độ vô trùng	Đạt		Đạt		Đạt	

Bảng 10: kết quả đánh giá chất lượng chế phẩm bảo quản ở điều kiện lão hóa cấp tốc 25°C, RH = 60%±5%

	Lô 1		Lô 2		Lô 3	
	9 tháng	12 tháng	9 tháng	12 tháng	9 tháng	12 tháng
Hàm lượng PTX (%)	99,33 Trong	99,49 Trong	99,3 Trong	99,11 Trong	99,36 Trong	99,2 Trong
Hàm lượng tạp B (%)		0,35		0,07		0,05
pH	3,62-4,74		3,64-4,73		3,63-4,75	
Chất gây sốt	Đạt		Đạt		Đạt	
Độ vô trùng	Đạt		Đạt		Đạt	

Bảng 11: kết quả đánh giá chất lượng thuốc bột đông khô

Mê	Hình thức khối thuốc	pH sau khi pha loãng	Hàm lượng tạp B (%)	Hàm lượng PTX trong dung dịch sau pha loãng (%)		
				24 giờ	48 giờ	72 giờ
1	Khối thuốc trắng mịn, chắc, không rạn nứt	4,23	0,08	94,39	93,73	91,19
2	Khối thuốc trắng mịn, chắc, không rạn nứt	4,25	0,06	94,32	93,68	91,20
3	Khối thuốc trắng mịn, chắc, không rạn nứt	4,26	0,05	94,74	93,91	91,52

Bảng 12: kết quả đánh giá chất lượng chế phẩm bảo quản ở điều kiện thường

	Lô 1		Lô 2		Lô 3	
	0 tháng	3 tháng	0 tháng	3 tháng	0 tháng	3 tháng
Hàm lượng PTX (%)	100,7 Trắng	100,0 Trắng	99,8 Trắng	99,6 Trắng	100,14 Trắng	99,34 Trắng
Hàm lượng tạp B (%)	Không có	0,02	0,04	0,15	0,1	0,01
pH	3,62-4,74		3,64-4,73		3,63-4,75	
Chất gây sốt	Đạt		Đạt		Đạt	
Độ vô trùng	Đạt		Đạt		Đạt	

Bảng 13: kết quả đánh giá chất lượng chế phẩm bảo quản ở điều kiện thường

	Lô 1		Lô 2		Lô 3	
	6 tháng	12 tháng	6 tháng	12 tháng	6 tháng	12 tháng
Hàm lượng PTX (%)	97,42 Trắng	97,12 Trắng	99,5 Trắng	99,2 Trắng	100,14 Trắng	98,38 Trắng
Hàm lượng tạp B (%)	0,03	0,04	0,12	0,15	0,13	0,13
pH	3,62-4,74		3,64-4,73		3,63-4,75	
Chất gây sốt	Đạt		Đạt		Đạt	
Độ vô trùng	Đạt		Đạt		Đạt	

Bảng 14: kết quả đánh giá chất lượng chế phẩm bảo quản ở điều kiện 25°C

	Lô 1		Lô 2		Lô 3	
	0 tháng	3 tháng	0 tháng	3 tháng	0 tháng	3 tháng
Hàm lượng PTX (%)	99,9 Trắng	99,0 Trắng	99,8 Trắng	98,7 Trắng	99,14 Trắng	99,3 Trắng
Hàm lượng tạp B (%)	Không có	0,01	0,03	0,19	0,12	0,1
pH	3,62-4,74		3,64-4,73		3,63-4,75	
Chất gây sốt	Đạt		Đạt		Đạt	
Độ vô trùng	Đạt		Đạt		Đạt	

Bảng 15: kết quả đánh giá chất lượng chế phẩm bảo quản ở điều kiện 25°C

	Lô 1		Lô 2		Lô 3	
	6 tháng	12 tháng	6 tháng	12 tháng	6 tháng	12 tháng
Hàm lượng PTX (%)	97,52 Trắng ngà	97,22 Trắng ngà	99,3 Trắng ngà	99,0 Trắng ngà	98,24 Trắng ngà	97,18 Trắng ngà
Hàm lượng tạp B (%)	0,02	0,14	0,12	0,05	0,13	0,09
pH	3,62-4,74		3,64-4,73		3,63-4,75	
Chất gây sốt	Đạt		Đạt		Đạt	
Độ vô trùng	Đạt		Đạt		Đạt	

Nhận xét: kết quả khảo sát sơ bộ cho thấy, sau 12 tháng bảo quản ở điều kiện nhiệt độ 25°C, chế phẩm bột đông khô pha tiêm PTX vẫn đạt các yêu cầu chất lượng (theo Annex 2 - WHO Technical report series No.953, 2009).

Kết luận

Độ tan của PTX đã được cải thiện bằng hai phương pháp: sử dụng dung môi trung gian Kolliphor ELP phối hợp với acid citric nhằm làm tăng độ ổn định, và tạo phức với HPβCD - phức được ổn định bởi các chất như PVP K30, PEG 400, Tween 80. Trên cơ sở đó, hai chế phẩm dung dịch đậm đặc và bột đông khô PTX pha truyền tĩnh mạch được bào chế thành công với quy trình bào chế, khả năng phân bố thuốc vào mô động vật thử nghiệm (thỏ), độ ổn định đã được khảo sát và đánh giá sau 12 tháng bảo quản ở điều kiện thường (8°C) và lão hóa cấp tốc (25°C) cho kết quả tốt, chế phẩm vẫn đạt hàm lượng và các chỉ tiêu khác như pH, độ vô trùng và cảm quan.

Tài liệu tham khảo

- [1] FDA (2011), *Approved Drugs Therapeutic Equivalence*, 31 Edition.
- [2] Hiroki Hamada Kohji Ishihara, Noriyoshi Masuoka, Katsuhiko Mikuni, Nobuyoshi Nakajima (2006), "Enhancement of water-solubility and bioactivity of PTX using modified cyclodextrins", *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **102(4)**, 369-371.
- [3] Robert G. Strickley (2004), "Solubilizing excipients in oral and injectable formulations", *Pharmaceutical Research*, **21(2)**.
- [4] The United States Pharmacopoeia (USP) 35.
- [5] Thorsteinn Loftsson, Marcuse Brewster (1996), "Pharmaceutical Applications of Cyclodextrins.1. Drug Solubilization and Stabilization", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **85(10)**, 1017-25.