# Ứng dụng công nghệ vi chất lỏng trong sản xuất thuốc nano

**Công nghệ nano thu hút ngày càng nhiều sự quan tâm của các nhà khoa học và hiện được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực của đời sống, trong đó có dược phẩm và mỹ phẩm. Thuốc nano được đánh giá có nhiều ưu điểm so với thuốc truyền thống như cải thiện sinh khả dụng, đưa thuốc đến đích... Bài viết giới thiệu kết quả ứng dụng công nghệ vi chất lỏng trong sản xuất thuốc nano với sự hỗ trợ của bộ đảo trộn vi dòng. Với sự hỗ trợ của công nghệ mới này, quy mô sản xuất có thể mở rộng mà không cần thêm các bước phát triển quy trình khác.**

## Mở đầu

Sự phát triển của các dược phẩm nano đã và đang mang lại những bước tiến mới trong lĩnh vực chăm sóc sức khoẻ, trong đó có vai trò chủ đạo của các công thức thuốc dựa trên thành phần lipid. Phần lớn các sản phẩm này được sử dụng nhằm cải thiện quá trình phân phối thuốc và giảm các tác dụng phụ của thuốc. Để đạt được lợi ích này cần dựa vào việc kiểm soát kích thước hạt (<100 nm), tăng tải lượng thuốc, giảm tính thấm lớp màng kép, điện tích bề mặt gần trung hoà và/hoặc PEGyl hoá. Ngoài ra, để phân phối các loại thuốc phân tử nhỏ truyền thống, các hạt nano lipid có thể được sử dụng để phân phối các thuốc có bản chất nucleic acid.

Một ví dụ điển hình là thuốc Patisiran (Onphattro, Alnylam) lần đầu được Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) và Cơ quan Quản lý Dược phẩm châu Âu (EMA) chấp thuận vào năm 2018. Đây là một loại thuốc siRNA (RNA can thiệp kích thước nhỏ), có kích thước hạt nano lipid từ 60 đến 100 nm, có thể phân phối đến các tế bào gan. Các hạt nano được tạo ra từ siRNA và 4 loại tá dược lipid (DSPC, Cholesterol, DLin-MC3-DMA, DMG-PEG2000). Những tá dược lipid này sẽ liên kết với siRNA để tạo thành các hạt nano lipid giúp bảo vệ siRNA khỏi bị phân huỷ tức thời trong hệ tuần hoàn và cải thiện khả năng vận chuyển đến vị trí đích của gan.

## Sản xuất thuốc liposome và thuốc nano có thành phần lipid

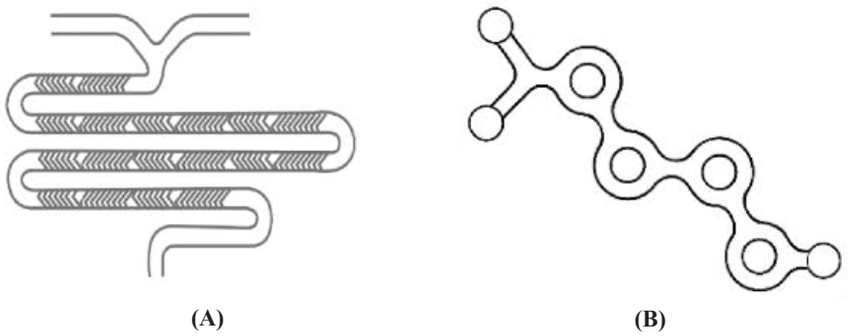
Thuốc liposome và thuốc nano lipid thường được sản xuất thông qua một chuỗi các phương pháp giảm kích thước hạt (ví dụ đồng hoá hay ép đùn) sau khi đã tạo các hạt lipid lớn nhờ quá trình hydrat hoá. Quy trình sản xuất này được thực hiện qua 5 bước: (1) chuẩn bị hoạt chất (trong dung dịch đệm) và dung dịch lipid (trong ethanol); (2) đảo trộn 2 dung dịch để hình thành nano lipid; (3) siêu lọc, trao đổi đệm và cô đặc ban đầu; (4) pha loãng tới nồng độ cuối cùng và lọc bỏ tạp chất; (5) lọc tiệt trùng và chiết rót.

### *Sử dụng công nghệ vi chất lỏng để sản xuất thuốc nano*

Công nghệ vi chất lỏng mang đến những cơ hội mới trong sản xuất liposome và các thuốc nano lipid với khả năng đảo trộn các chất lỏng nhanh chóng và có kiểm soát theo phương thức sản xuất nano lipid ở thuốc Onpattro. Cụ thể, trong sản xuất thuốc Onpattro các nhà sản xuất đã sử dụng các kênh dẫn vi chất lỏng giúp đẩy nhanh quá trình đảo trộn của lipid trong ethanol với siRNA trong môi trường pH thấp. Quá trình đảo trộn này giúp cho việc pha loãng ethanol nhanh chóng và hình thành hạt nano lipid mà không cần các bước giảm kích thước tiếp theo.

Nghiên cứu ban đầu của việc sử dụng đảo trộn vi chất lỏng để sản xuất liposome được mô tả bằng việc sử dụng thủy động lực học của chất béo được hoà tan trong nước trộn cồn giữa 2 dòng chất lỏng đi qua kênh dẫn vi chất lỏng. Quá trình này tạo ra các hạt liposome với việc kiểm soát kích thước thông qua điều khiển tốc độ dòng, sử dụng hệ thống đảo trộn vi chất lỏng, lipid trong dung môi được đảo trộn với các hệ dung dịch đệm nước. Kết quả là độ phân cực được tăng lên và

liposome được hình thành thông qua quá trình vi kết tủa của từng monomer thành những túi nhỏ. Quá trình này chịu ảnh hưởng bởi việc lựa chọn dung môi, nồng độ dung dịch đệm và tỷ lệ pha nước với cồn. Ví dụ, sử dụng các dung môi phân cực thấp dẫn đến tốc độ thay đổi phân cực trong quá trình đảo trộn giảm, kết quả sẽ tạo ra các hạt có kích thước lớn hơn. Tương tự, khi tăng tốc độ dòng của pha nước so với pha cồn sẽ làm giảm kích thước hạt liposome.



(A)

Tốc độ dòng: 1-20 ml/phút

Hệ thống: NanoAssemblr Benchtop

Cần nhiều thiết bị lắp đặt song song để đạt quy mô sản xuất công nghiệp

(B)

Tốc độ dòng: 1-20 lít/giờ

Hệ thống: Ignite, NxGen Blaze, GMP system

Cần duy nhất một thiết bị cho quy mô công nghiệp

**Hình 1. Hệ đảo trộn SHM (A) và TrM (B).**

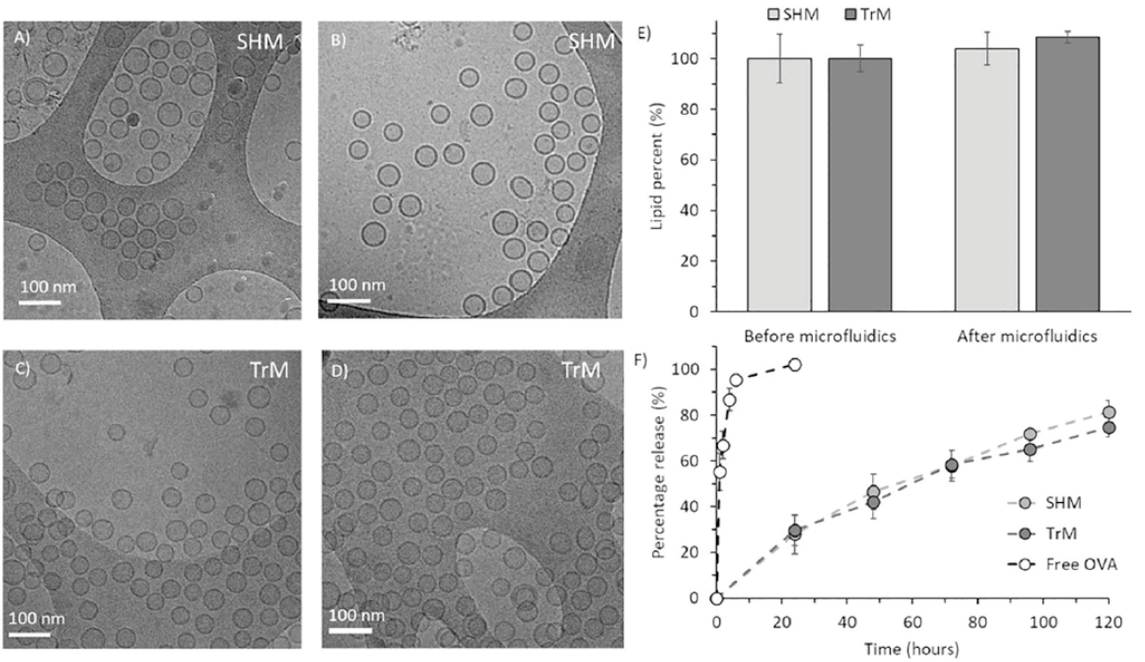
### *Thiết kế bộ đảo trộn vi dòng*

Khi cân nhắc về dòng chảy đảo trộn, có thể có một hoặc hai cách: dòng chảy tầng (laminar flow) hoặc dòng chảy hỗn loạn (turbulent flow). Cả hai đều có thể xuất hiện dựa vào vận tốc dòng và độ nhớt của chất lỏng. Đảo trộn trong các dòng chảy lớn thường hỗn loạn. Trong khi đó, đảo trộn trong các dòng chảy nhỏ, dòng chảy tầng, ở các điều kiện tiêu chuẩn thường chỉ liên quan đến quá trình khuếch tán, dẫn đến kém hiệu quả. Do đó, để giải quyết vấn đề này, công nghệ đảo trộn vi dòng đã được tối ưu về cấu trúc và hình học kênh dẫn. Một số thiết kế phổ biến của bộ đảo trộn vi dòng là: hình xương cá so le (SHM), chữ T, chữ Y…

Có thể tạo ra sự đối xứng hỗn loạn bằng cách sử dụng bộ vi trộn có thiết kế SHM (hình 1). Với thiết kế này, dòng chất lỏng có thể đi qua một dải các cấu trúc hình xương cá nhô ra tạo dòng chảy hỗn loạn với các xoáy ngang thay đổi liên tục do cấu trúc hình học không đối xứng. Điều đó giúp hiệu suất đảo trộn nhanh hơn, hiệu quả hơn và kích thước hạt đồng nhất hơn khi sử dụng để sản xuất liposome. Thiết kế này đã được sử dụng để tạo ra các liposome có thể kiểm soát kích thước bằng cách thay đổi tốc độ dòng chảy và tỷ lệ tốc độ dòng, được ứng dụng đối với phần lớn các thuốc nano sản xuất bằng công nghệ vi trộn. Tuy nhiên, thiết kế này có một số hạn chế như: cấu trúc xương cá cần có sự đồng nhất ở mức độ vi mô dẫn đến quá trình trở lên phức tạp và tốn kém. Ngoài ra, do cấu trúc đa chiều và hạn chế về mặt kích thước của các xương cá nên rất khó để đạt được tốc độ thông lượng đáp ứng được tiêu chuẩn GMP trong sản xuất thành phẩm.

Để giải quyết vấn đề này, một thiết kế thay thế dựa trên thiết kế bộ trộn hình xuyến (TrM) đã được phát triển bởi Hãng Precision NanoSystems (hình 1). Thiết kế của NanoSystems cho hiệu quả đảo trộn tương đương với dòng chảy ở tốc độ cao sử dụng cấu trúc hình tròn. Công nghệ này tạo ra các hỗn loạn đối lưu thông các vòng xoáy và lực ly tâm tạo ra bởi các cột bên trong cartridge, giúp cải thiện khả năng đảo trộn cũng như tăng thông lượng.

Kết quả so sánh phương pháp đảo trộn TrM với SHM cho thấy, các đặc tính hoá lý trên hai loại đảo trộn này không có sự thay đổi đáng kể về kích thước, chỉ số phân bố kích thước (PDI - polydispersity index) và thế zeta. Đồng thời có sự tương đương về các đặc tính quy trình sản xuất trên cả 2 công nghệ (kích thước hạt, PDI, tải lượng protein) khi sử dụng các thông số sản xuất về tỷ lệ tốc độ dòng và tốc độ dòng tổng khác nhau. Ngoài ra, việc lựa chọn loại dung môi và nồng độ lipid ban đầu trên cả 2 công nghệ đảo trộn SHM và TrM đều không có sự khác biệt đáng kể ở các thông số phân bố kích thước hạt và tải lượng protein.




**Hình 2. Đặc điểm hình thái và khả năng thu hồi protein.**

Về đặc tính hình thái, cả hai công nghệ SHM và TrM đều tạo ra được các túi lipid có kích thước nhỏ tương tự nhau. Kết quả hình ảnh cryo-TEM cho thấy, kích thước hạt liposome không thay đổi đáng kể cũng như khả năng thu hồi protein tương đương nhau (hình 2).

## Thay lời kết

Để sản xuất liposome và các thuốc nano nói chung, các quy trình sản xuất nhanh chóng, hiệu quả kinh tế và có khả năng mở rộng quy mô là yêu cầu cấp thiết. Có hai hướng tiếp cận: "top-down" - tạo các hạt kích thước lớn rồi giảm kích thước hạt, hay "bottom-up" - tạo hạt nano được kiểm soát bởi việc kết tủa nano có kiểm soát. Công nghệ đảo trộn vi dòng có thể được sử dụng để đạt được yêu cầu này, đặc biệt các hệ đơn pha thường được sử dụng do tính đơn giản trong quy trình sản xuất. Phương pháp đảo trộn vi dòng đã được sử dụng ở nhiều loại thuốc nano khác nhau như liposome, hạt nano lipid, nano lipid rắn, nano polymer và liposome PEGyl hoá.

Khi mở rộng quy trình, để tăng tốc độ dòng mà vẫn kiểm soát được áp suất thích hợp, thường sẽ cần kênh dẫn có kích thước lớn hơn. Tuy nhiên, với một số thiết kế bộ trộn vi dòng, tính phức tạp của thiết kế sẽ là giới hạn tăng kích thước kênh dẫn lớn hơn để đảm bảo dòng chảy và điều kiện kết tủa nano. Với thiết kế hình học phẳng của bộ trộn dạng TrM thì những vấn đề này đã được giải quyết. Ngoài ra, một trong những điểm mạnh của công nghệ đảo trộn TrM là khả năng sản xuất ổn định không phụ thuộc vào quy mô nhỏ hay lớn. Với công nghệ mới này, quy mô sản xuất có thể mở rộng từ 12 đến 200 ml/phút mà không cần thêm các bước phát triển quy trình khác.

Với những ưu điểm nêu trên, công nghệ đảo trộn vi dòng TrM trên các hệ thống NxGen Ignite, NxGen Blaze, GMP System của Hãng Precision NanoSystems cho thấy tiềm năng to lớn trong việc sản xuất các loại thuốc nano từ quy mô phòng thí nghiệm đến sản xuất hàng hóa ✍

**Phạm Thanh Tâm,**
**Hà Trọng Nghĩa, Hoàng Minh**

(*theo International Journal of Pharmaceutics*)