



Original Article

Development of the In-house Specifications and Study of the Stability of Self-nanoemulsifying Drug Delivery System Containing Rosuvastatin

Phan Thi Nghia^{1,2}, Tran Thi Hai Yen¹, Vu Thi Thu Giang^{1,*}

¹Hanoi University of Pharmacy, 13-15 Le Thanh Tong, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam

²National Institute of Drug Quality Control, 48 Hai Ba Trung, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam

Received 18 June 2020

Revised 04 August 2020; Accepted 07 August 2020

Abstract: This study develops the in-house specifications of self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) containing rosuvastatin based on the following criteria: description, identification, droplet size (≤ 200 nm) and polydispersity index (not more than 0.3), drug proportion in the oil phase ($\geq 90.0\%$), assay ($\geq 95.0\%$ and $\leq 105.0\%$ of the labeled amount of rosuvastatin ($C_{22}H_{28}FN_3O_6S$)). The criteria were validated and the results were suitable for identification and determination of rosuvastatin in SNEDDS. Additionally, the results of the stability study show that the rosuvastatin SNEDDS met the criteria of description, droplet size, PDI, assay and drug rate in the oil phase for 12-month storage under the long-term condition (12 months) and 6 months on accelerated condition.

Keywords: Rosuvastatin, SNEDDS, specification, droplet size, entrapment efficiency.

* Corresponding author.

E-mail address: giangvtt@hup.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4254>

Xây dựng tiêu chuẩn chất lượng và nghiên cứu độ ổn định hệ nano tự nhũ hóa rosuvastatin

Phan Thị Nghĩa^{1,2}, Trần Thị Hải Yến¹, Vũ Thị Thu Giang^{1,*}

¹Trường Đại học Dược Hà Nội, 13-15 Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

²Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, 48 Hai Bà Trưng, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 18 tháng 6 năm 2020

Chỉnh sửa ngày 04 tháng 8 năm 2020; Chấp nhận đăng ngày 07 tháng 8 năm 2020

Tóm tắt: Rosuvastatin chủ yếu được sử dụng đường uống để điều trị tăng cholesterol máu, tăng triglycerid máu và xơ vữa động mạch, có sinh khả dụng đường uống thấp (khoảng 20%) do thuốc kém tan trong nước. Vì vậy, một số nhà nghiên cứu của Trường Đại học Dược Hà Nội đã bào chế được hệ nano tự nhũ hóa rosuvastatin với các thành phần pha dầu là Capryol 90, chất diện hoạt là Cremophor RH 40 và chất đồng diện hoạt là polyethylen glycol 400. Để đánh giá chất lượng và độ ổn định của hệ nano tự nhũ hóa đã bào chế, trong nghiên cứu này, chúng tôi đã xây dựng được tiêu chuẩn chất lượng của hệ nano tự nhũ hóa chứa rosuvastatin gồm các chỉ tiêu: hình thức, định tính, kích thước giọt (KTG) của nano nhũ tương sau khi tự nhũ hóa với nước ($KTG \leq 200$ nm) và phân bố kích thước giọt (PDI $\leq 0,3$), tỷ lệ được chất trong pha dầu ($\geq 90,0\%$), định lượng (hàm lượng rosuvastatin ($C_{22}H_{28}FN_3O_6S$) trong hệ nano tự nhũ hóa phải đạt từ 95,0% đến 105,0% hàm lượng ghi trên nhãn). Các chỉ tiêu nêu trên đã được thẩm định và phù hợp để áp dụng trong định tính, định lượng hàm lượng rosuvastatin trong chế phẩm. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu độ ổn định cho thấy SNEDDS rosuvastatin đạt các chỉ tiêu chất lượng về hình thức, hàm lượng, kích thước giọt, phân bố kích thước giọt và tỷ lệ được chất trong pha dầu trong 12 tháng bảo quản ở điều kiện dài hạn và 6 tháng bảo quản ở điều kiện lão hóa cấp tốc.

Từ khóa: Rosuvastatin, hệ nano tự nhũ hóa, tiêu chuẩn chất lượng, kích thước giọt, tỷ lệ được chất trong pha dầu.

1. Mở đầu

Rosuvastatin ức chế cạnh tranh enzym HMG-CoA reductase, có tác dụng giảm cholesterol và LDL. Ngoài tác dụng hạ cholesterol, rosuvastatin cải thiện nội mô chức năng, tăng cường sự ổn định của các mảng xơ vữa động mạch và ức chế phản ứng viêm cũng như huyết khối trong thành động mạch. Rosuvastatin chủ yếu được sử dụng đường uống để điều trị tăng cholesterol máu, tăng triglycerid

máu và xơ vữa động mạch. Tuy nhiên rosuvastatin có sinh khả dụng đường uống thấp (khoảng 20%) do thuốc kém tan trong nước [1]. Có nhiều biện pháp đã được sử dụng để làm tăng độ tan và sinh khả dụng của rosuvastatin, trong số các phương pháp đã được sử dụng, hệ nano tự nhũ hóa (SNEDDS) được nghiên cứu phổ biến và mang lại hiệu quả cải thiện sinh khả dụng đáng kể [2,3]. Vì vậy việc phát triển SNEDDS rosuvastatin là cần thiết để tăng sinh khả dụng đường uống, tăng hiệu quả điều trị và giảm tác

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: giangvtt@hup.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4254>

dụng không mong muốn của thuốc. SNEDDS chứa các tá dược dầu, chất diện hoạt và chất đồng diện hoạt, khi phân tán vào nước thành các giọt nhũ tương dầu trong nước kích thước cỡ nano. Do chưa có tiêu chuẩn cụ thể cho một SNEDDS, nên việc đánh giá các chỉ tiêu chất lượng cho SNEDDS chưa đầy đủ. Dựa vào trang thiết bị hiện có và tham khảo một số tiêu chí đã được các tác giả công bố [4,5], nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu xây dựng được tiêu chuẩn chất lượng và đánh giá độ ổn định cho SNEDDS rosuvastatin.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Chất chuẩn rosuvastatin calci của Viện kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh (hàm lượng 95,6% nguyên trạng, lô: QT182 040817). Rosuvastatin calci đạt tiêu chuẩn nhà sản xuất được cung cấp bởi Enaltec, Ấn Độ. SNEDDS rosuvastatin được bào chế tại Trường Đại học Dược Hà Nội. Acetonitril (ACN), methanol (MeOH) đạt tiêu chuẩn HPLC mua từ nhà sản xuất Fisher Scientific, Mỹ.

2.2. Thiết bị, dụng cụ

Các thiết bị phân tích được quản lý và hiệu chuẩn theo các quy định của ISO/IEC 17025 và GLP bao gồm hệ thống HPLC Shimadzu, Nhật Bản; sử dụng cột silica gel pha đảo Phenomenex C18 (4,6 x 250 mm, 5 μ m). Máy đo quang phổ UV-VIS, Shimadzu, Nhật Bản. Máy đo kích thước tiêu phân Zetasizer NanoZS90, Anh. Một số thiết bị khác được sử dụng là cân phân tích 5 số (Mettler – Thụy Sĩ), độ chính xác $d = 0,01$ mg, máy lọc nước và các dụng cụ thủy tinh cần thiết. Các thiết bị đều được bảo trì, hiệu chuẩn đúng qui định.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Quy trình định lượng và quy trình xác định tỷ lệ dược chất trong pha dầu đã được xây dựng và thẩm định theo hướng dẫn của Hội nghị quốc tế hòa hợp các thủ tục đăng ký dược phẩm sử

dụng cho con người (ICH) [6]. Các chỉ tiêu cần thẩm định gồm: độ thích hợp hệ thống, tính đặc hiệu, độ tuyến tính, độ đúng, độ chính xác.

Dung môi: ACN- nước với tỷ lệ 25: 75 (tt/tt)

2.3.1. Định lượng rosuvastatin

Rosuvastatin được xác định hàm lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao ghép đầu dò chuỗi diode (HPLC-DAD).

Dung dịch chuẩn: cân chính xác khoảng 50 mg chuẩn rosuvastatin vào bình định mức 100 ml, hòa tan bằng 70 ml dung môi, lắc siêu âm 10 phút, làm nguội về nhiệt độ phòng. Bổ sung vừa đủ đến vạch bằng dung môi, lắc đều. Hút chính xác 3 ml dung dịch trên cho vào bình định mức 10 ml, bổ sung vừa đủ với dung môi, lắc đều, rồi tiêm vào hệ thống sắc ký.

Dung dịch thử: cân chính xác khoảng 0,3 g SNEDDS vào bình định mức 20 ml. Thêm 15 ml dung môi vào lắc đều, lắc siêu âm trong 10 phút, làm nguội về nhiệt độ phòng. Bổ sung vừa đủ với dung môi, lắc đều. Hút chính xác 1 ml dung dịch thử trên cho vào bình định mức 10 ml, bổ sung vừa đủ bằng dung môi, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 μ m rồi tiêm vào hệ thống sắc ký.

2.3.2. Định tính

Dược chất rosuvastatin được định tính theo phương pháp định lượng rosuvastatin, điều kiện tiến hành tương tự như đã mô tả trong phương pháp định lượng rosuvastatin, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic rosuvastatin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

2.3.3. Xác định tỷ lệ rosuvastatin trong pha dầu

Tỷ lệ dược chất trong pha dầu được xác định trên cơ sở định lượng dược chất trong nano nhũ tương và trong pha nước bằng phương pháp đo quang phổ tử ngoại khả kiến (UV-VIS). Cụ thể như sau:

Dung dịch chuẩn: cân chính xác khoảng 37,5 mg chuẩn rosuvastatin vào bình định mức 50 ml, hòa tan bằng 35 ml dung môi, lắc siêu âm 10 phút, làm nguội về nhiệt độ phòng. Bổ sung vừa đủ đến vạch bằng dung môi, lắc đều. Hút chính xác 1 ml dung dịch trên cho vào bình định mức

25 ml, bổ sung vừa đủ với dung môi, lắc đều. Hút chính xác 4 ml dung dịch chuẩn thu được cho vào bình định mức 10 ml, bổ sung vừa đủ với dung môi, lắc đều.

Dung dịch thử: cân chính xác khoảng 1,2 g hệ nano tự nhũ hóa rosuvastatin cho vào cốc có mỏ 20 ml, thêm 5 ml nước, khuấy từ 50 vòng/phút trong 3 phút. Chuyển toàn bộ dung dịch trong cốc vào bình định mức 10 ml, tráng cốc với nước, rồi cho vào bình định mức, bổ sung nước đến vạch.

Định lượng dược chất trong nano nhũ tương: hút chính xác 1 ml dung dịch thử cho vào bình định mức 20 ml, bổ sung vừa đủ bằng dung môi. Hút chính xác 1 ml dung dịch thu được cho vào bình định mức 50 ml, bổ sung vừa đủ bằng dung môi, rồi đo độ hấp thụ quang.

Định lượng dược chất trong pha nước: hút chính xác 3 ml dung dịch thử vừa tạo thành vào ống ly tâm siêu lọc Amicon Ultra – 4 10000 NMWL, ly tâm ở tốc độ 2000 vòng/phút trong 2 phút, thu được pha nước ở phía dưới ống. Hút chính xác 0,1 ml pha nước cho vào bình định mức 10 ml, bổ sung vừa đủ bằng dung môi, rồi đo độ hấp thụ quang.

Tỷ lệ dược chất trong pha dầu (%) được tính theo công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ dược chất trong pha dầu (\%)} = \frac{(\text{X nano nhũ tương} - \text{X pha nước}) \times 100}{\text{X nano nhũ tương}}$$

Trong đó:

X nano nhũ tương là lượng dược chất trong nano nhũ tương (mg);

X pha nước là lượng dược chất trong pha nước (mg).

2.3.4. Đo kích thước giọt nano nhũ tương

Cân một lượng khoảng 1,2 g hệ nano tự nhũ hóa rosuvastatin cho vào cốc có mỏ 20 ml, thêm 5 ml nước, khuấy từ 50 vòng/phút trong 3 phút. Chuyển toàn bộ dung dịch trong cốc vào bình định mức 10 ml, tráng cốc với nước, rồi cho vào bình định mức, bổ sung nước đến vạch. Hút chính xác 4 ml dung dịch thu được cho vào bình định mức 10 ml, bổ sung vừa đủ với nước, lắc đều.

Đo kích thước giọt và phân bố kích thước giọt được xác định bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động. Sử dụng thiết bị phân tích kích thước hạt Zetasizer ZS90.

2.3.5. Độ ổn định của SNEDDS rosuvastatin

SNEDDS rosuvastatin được bảo quản trong lọ thủy tinh trung tính có nắp đậy kín.

Đánh giá độ ổn định SNEDDS rosuvastatin trên các chỉ tiêu: hình thức, KTG, PDI, tỷ lệ dược chất trong pha dầu, hàm lượng rosuvastatin trong SNEDDS.

Tiến hành nghiên cứu độ ổn định của SNEDDS bảo chế được bảo quản ở điều kiện dài hạn ($30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; $75\% \pm 5\%$) sau các khoảng thời gian 3 tháng, 6 tháng, 12 tháng và điều kiện lão hóa cấp tốc ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, độ ẩm $75\% \pm 5\%$) sau các khoảng thời gian 3 tháng, 6 tháng theo các chỉ tiêu chất lượng đã xây dựng.

3. Kết quả nghiên cứu và bàn luận

3.1. Xây dựng tiêu chuẩn chất lượng cho SNEDDS rosuvastatin

Qua tham khảo tài liệu [4,5] kết hợp với điều kiện trang thiết bị hiện có, chúng tôi đã xây dựng được tiêu chuẩn chất lượng SNEDDS như sau:

Hình thức: dung dịch trong suốt, đồng nhất, không có bọt khí.

Định tính: tiến hành như phương pháp định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic rosuvastatin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Kích thước giọt và phân bố kích thước giọt của nhũ tương hình thành sau khi tự nhũ hóa SNEDDS rosuvastatin: kích thước giọt phải không được lớn hơn 200 nm và phân bố kích thước giọt phải không lớn hơn 0,3.

Tỷ lệ dược chất trong pha dầu: Tỷ lệ dược chất trong pha dầu phải không nhỏ hơn 90,0%.

Định lượng: hàm lượng rosuvastatin (C22H28FN3O6S) trong hệ nano tự nhũ hóa

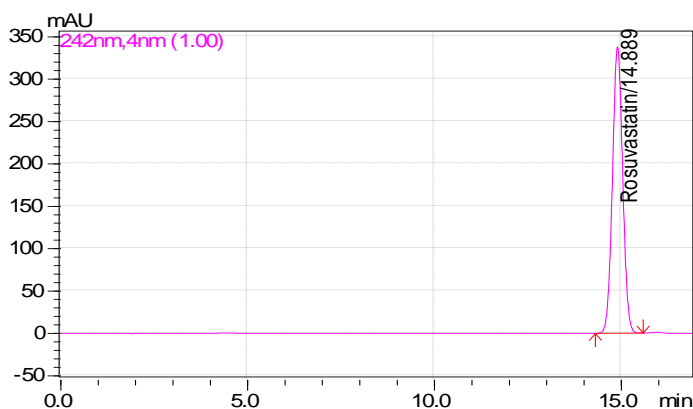
phải đạt từ 95,0% đến 105,0% hàm lượng ghi trên nhãn.

3.2. Kết quả thẩm định phương pháp định lượng rosuvastatin

Xác định điều kiện sắc ký:

Tiến hành tiêm sắc ký dung dịch rosuvastatin chuẩn nồng độ 150 µg/ml trong dung môi ACN: nước với tỷ lệ 25: 75; cột sắc ký silica gel pha

đảo Phenomenex C18 (4,6 x 250 mm, 5 µm), nhiệt độ cột 40°C; pha động ACN: nước: acid trifluoroacetic 1% với tỷ lệ 37: 62: 1 (tt/tt/tt); tốc độ dòng 1,2 ml/phút; thể tích tiêm mẫu 20 µl; cài đặt bước sóng phát hiện là 242 nm [7], đồng thời quét phổ hấp thụ trong khoảng 200-800 nm; thời gian lưu của pic khoảng 15 phút. Kết quả pic cân xứng (có hệ số kéo đuôi 1,0). Sắc ký đồ và thông số pic thể hiện trong Hình 1 và Bảng 1.



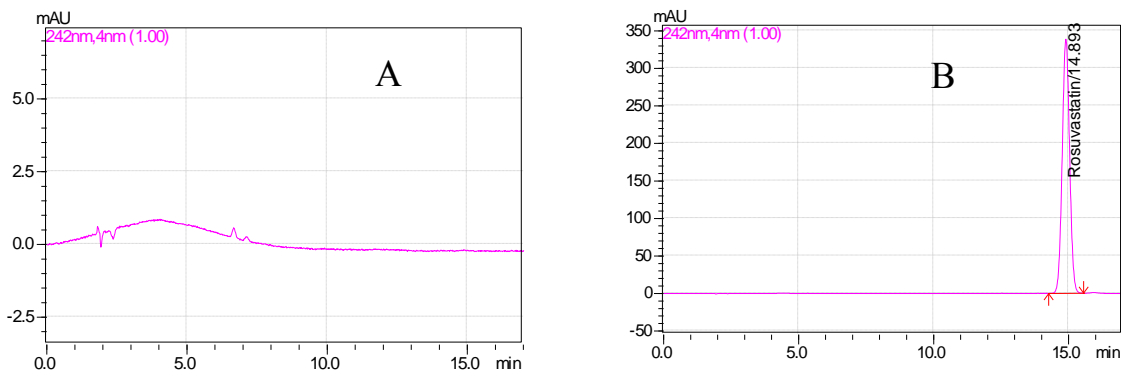
Hình 1. Sắc ký đồ dung dịch rosuvastatin nồng độ 150 µg/ml.

Bảng 1. Thông số pic ở điều kiện sắc ký đã lựa chọn

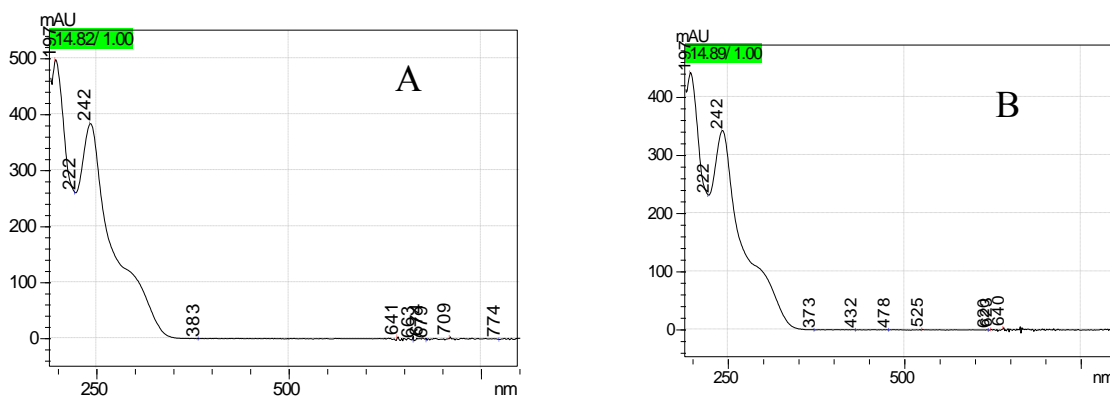
Tên pic	Thời gian lưu (phút)	Hệ số kéo đuôi	Số đĩa lý thuyết
Rosuvastatin	~14,9	~1,0	~13560

Bảng 2. Kết quả độ thích hợp của hệ thống với rosuvastatin

STT	Thời gian lưu (phút)	Diện tích (mAU.s)	Hệ số kéo đuôi
1	14,941	6455293	1,050
2	14,910	6451753	1,050
3	14,911	6447420	1,050
4	14,904	6446513	1,051
5	14,901	6449152	1,050
6	14,889	6446564	1,051
Trung bình	14,909	6449449	1,050
SD	0,017	3482	0,001
RSD (%)	0,12	0,05	0,05



Hình 2. Sắc ký đồ của mẫu placebo (A) và mẫu chuẩn (B).



Hình 3. Phổ UV mẫu chuẩn (A) và phổ UV mẫu thử (B).

3.2.1. Độ thích hợp hệ thống

Tiến hành tiêm sắc ký lặp lại 06 lần dung dịch chuẩn rosuvastatin nồng độ 150 µg/ml. Kết quả được trình bày ở Bảng 2.

Giá trị RSD của thời gian lưu ≤ 1,0% và diện tích pic ≤ 2,0%. Vì vậy, tính thích hợp của hệ thống HPLC đạt yêu cầu để tiến hành phân tích.

3.2.2. Độ đặc hiệu của phương pháp

Trên sắc ký đồ của dung môi pha mẫu và của mẫu placebo ở bước sóng 242 nm không xuất hiện pic có thời gian lưu tương ứng với rosuvastatin trên sắc ký đồ của mẫu chuẩn. Sắc ký đồ dung dịch thử cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic rosuvastatin thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (Hình 2). Phổ UV của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phù hợp với phổ UV của pic rosuvastatin trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn (Hình 3).

Như vậy, phương pháp định lượng rosuvastatin trong chế phẩm là đặc hiệu.

3.2.3. Khoảng tuyến tính

Chuẩn bị dung dịch rosuvastatin có nồng độ 500 µg/ml trong dung môi. Pha loãng dung dịch này trong dung môi để thu được dãy 5 dung dịch có nồng độ lần lượt là 50, 100, 150, 200, 250 µg/ml. Khảo sát sự tương quan giữa y (diện tích pic) và x (nồng độ) bằng phương pháp bình phương tối thiểu, kết quả cho thấy có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ và diện tích pic đối với rosuvastatin. Kết quả phương trình hồi quy là $y = 42802,176x + 20161,200$; hệ số tương quan $R = 1,0000$. Như vậy, trong khoảng nồng độ được khảo sát có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa diện tích pic và nồng độ dung dịch với hệ số tương quan bằng 1.

3.2.4. Độ đúng

Độ đúng được thẩm định bằng cách chuẩn bị các mẫu có nồng độ 70%; 100%; 130% so với nồng độ định lượng trong nền mẫu placebo, mỗi mức nồng độ làm 03 mẫu độc lập. Độ đúng được tính bằng tỷ lệ phần trăm giữa nồng độ xác định được từ thực nghiệm so với nồng độ lý thuyết của dung dịch chuẩn. Mỗi mức nồng độ cân 3 bình chuẩn và placebo gốc độc lập.

Kết quả được trình bày ở Bảng 3.

Kết quả thu được cho thấy phương pháp đạt yêu cầu với giá trị độ đúng đều nằm trong khoảng $100 \pm 2\%$ và giá trị RSD đều nhỏ hơn 2%, chứng tỏ phương pháp đạt yêu cầu về độ đúng.

Bảng 3. Kết quả độ đúng của phương pháp định lượng

Mẫu	% thu hồi	RSD (%)
70% (n=3)	99,68	1,08
100% (n=3)	99,26	0,56
130% (n=3)	99,18	1,01
Trung bình (n=9)	99,37	0,82

3.2.5. Độ chính xác

Độ lặp lại: tiến hành phân tích định lượng 6 mẫu thử có nồng độ định lượng trong cùng 1 ngày. Kết quả được trình bày ở Bảng 4. Giá trị RSD (%) kết quả định lượng hàm lượng hoạt chất có trong các mẫu thử $\leq 2,0\%$. Do vậy, phương pháp định lượng đạt yêu cầu về độ lặp lại.

Bảng 4. Kết quả độ lặp lại của phương pháp định lượng

Mẫu thử	Diện tích pic (mAu.s)	Kết quả định lượng (%)
1	6986477	103,14
2	6318320	101,87
3	7200849	102,91
4	6755633	102,29
5	6604428	100,63
6	6538610	102,41
Trung bình		102,21
RSD (%)		0,88

Độ chính xác trung gian: tiến hành như “độ lặp lại”, nhưng khác ngày, khác người thực hiện. Kết quả được trình bày ở Bảng 5. Kết quả cho thấy giá trị RSD của 12 mẫu đều nhỏ hơn 2%.

Như vậy, phương pháp đảm bảo độ chính xác với RSD của độ lặp lại và độ chính xác trung gian đều nhỏ hơn 2%.

Bảng 5. Kết quả độ chính xác trung gian của phương pháp định lượng

STT	Ngày 1	Ngày 2
	Kết quả định lượng (%)	
1	103,14	101,68
2	101,87	101,80
3	102,91	102,19
4	102,29	102,34
5	100,63	100,11
6	102,41	102,34
Trung bình (%) (n=12)	101,98	
RSD (%) (n=12)	0,85	

3.3. Kết quả thẩm định phương pháp xác định tỷ lệ được chất trong pha dầu

Xác định điều kiện đo quang:

Điều kiện đo độ hấp thụ cho chỉ tiêu tỷ lệ được chất trong pha dầu: tiến hành đo độ hấp thụ dung dịch rosuvastatin chuẩn nồng độ 12 $\mu\text{g/ml}$ trong dung môi ACN: nước với tỷ lệ 25: 75; cài đặt bước sóng là 242 nm, đồng thời quét phổ hấp thụ trong khoảng 200-800 nm. Kết quả độ hấp thụ dung dịch khoảng 0,5 Abs.

3.3.1. Độ thích hợp hệ thống

Bảng 6. Kết quả độ thích hợp hệ thống

STT	Độ hấp thụ
1	0,495
2	0,495
3	0,495
4	0,495
5	0,495
6	0,495
Trung bình	0,495
RSD (%)	0,00

Đo độ hấp thụ của dung dịch chuẩn 6 lần. Ghi lại các giá trị độ hấp thụ. Kết quả được trình bày ở Bảng 6. Giá trị $RSD_{\text{độ hấp thụ}} < 2,0\%$, vì vậy, hệ thống phù hợp để định lượng rosuvastatin trong chế phẩm.

3.3.2. Độ đặc hiệu của phương pháp

Kết quả cho thấy, dung môi pha mẫu và mẫu placebo đều không hấp thụ tại bước sóng 242 nm. Phổ UV của mẫu thử giống với phổ UV của mẫu chuẩn rosuvastatin, cho cực đại hấp thụ tương tự nhau.

Như vậy, phương pháp xác định tỷ lệ được chất trong pha dầu là đặc hiệu.

3.3.3. Khoảng tuyến tính

Chuẩn bị dung dịch rosuvastatin có nồng độ 750 $\mu\text{g/ml}$ trong dung môi. Pha loãng dung dịch này trong dung môi để thu được dãy 5 dung dịch có nồng độ lần lượt là 6, 9, 12, 15, 18 $\mu\text{g/ml}$. Khảo sát sự tương quan giữa y (độ hấp thụ) và x (nồng độ) bằng phương pháp bình phương tối thiểu, kết quả cho thấy có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ và độ hấp thụ đối với rosuvastatin. Kết quả phương trình hồi quy là $y = 0,042x + 0,010$; hệ số tương quan $R = 0,9998$. Như vậy, trong khoảng nồng độ được khảo sát có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa độ hấp thụ ở bước sóng 242 nm và nồng độ dung dịch với hệ số tương quan xấp xỉ bằng 1.

3.3.4. Độ đúng

Bảng 7. Kết quả độ đúng của phương pháp xác định tỷ lệ được chất trong pha dầu

Mẫu	% thu hồi	RSD (%)
70% (n=3)	99,07	0,86
100% (n=3)	99,13	0,43
130% (n=3)	100,39	0,60
Trung bình (n=9)	99,53	0,86

Độ đúng được thẩm định bằng cách chuẩn bị các mẫu có nồng độ 70%; 100%; 130% so với nồng độ định lượng trong nền mẫu placebo, mỗi mức nồng độ làm 03 mẫu độc lập. Độ đúng được tính bằng tỷ lệ phần trăm giữa nồng độ xác định được từ thực nghiệm so với nồng độ lý thuyết của dung dịch chuẩn. Mỗi mức nồng độ cần 01 bình chuẩn và placebo gốc. Từ dung dịch chuẩn gốc pha loãng làm 03 mẫu độc lập. Kết quả được trình bày ở Bảng 7. Kết quả thu được cho thấy phương pháp đạt yêu cầu với giá trị độ đúng đều nằm trong khoảng $100 \pm 2\%$ và giá trị RSD đều

nhỏ hơn 2%, chứng tỏ phương pháp đạt yêu cầu về độ đúng.

3.3.5. Độ chính xác

Độ lặp lại: tiến hành phân tích định lượng 6 mẫu thử có nồng độ định lượng trong cùng 1 ngày. Kết quả được trình bày ở Bảng 8. Giá trị RSD (%) kết quả định lượng hàm lượng hoạt chất có trong các mẫu thử $\leq 2,0\%$. Do vậy, phương pháp định lượng đạt yêu cầu về độ lặp lại.

Bảng 8. Kết quả độ lặp lại của phương pháp xác định tỷ lệ được chất trong pha dầu

Mẫu thử	Độ hấp thụ (Abs.)	Kết quả định lượng (%)
1	0,513	101,55
2	0,577	102,76
3	0,538	102,29
4	0,513	99,87
5	0,521	101,49
6	0,515	101,79
Trung bình		102,21
RSD (%)		0,88

Độ chính xác trung gian: tiến hành như “độ lặp lại”, nhưng khác ngày, khác người thực hiện. Kết quả được trình bày ở Bảng 9.

Kết quả cho thấy giá trị RSD của 12 mẫu đều nhỏ hơn 2%. Như vậy, phương pháp đảm bảo độ chính xác với RSD của độ lặp lại và độ chính xác trung gian đều nhỏ hơn 2%.

Bảng 9. Kết quả độ chính xác trung gian của phương pháp xác định tỷ lệ được chất trong pha dầu

STT	Ngày 1	Ngày 2
	Kết quả định lượng (%)	
1	101,55	103,63
2	102,76	102,72
3	102,29	101,50
4	99,87	102,40
5	101,49	102,40
6	101,79	103,35
Trung bình (%) (n=12)	102,14	
RSD (%) (n=12)	0,98	

Như vậy, quy trình định tính, định lượng, xác định tỷ lệ được chất trong pha dầu đáp ứng yêu cầu về độ thích hợp hệ thống, độ đặc hiệu,

khoảng tuyến tính, độ đúng, độ chính xác phù hợp để áp dụng cho SNEDDS rosuvastatin.

3.4. Độ ổn định của SNEDDS rosuvastatin

Áp dụng tiêu chuẩn chất lượng đã xây dựng ở trên để đánh giá độ ổn định của SNEDDS rosuvastatin. Mẫu SNEDDS bào chế được có thể chất trong suốt, đồng nhất, không có bọt khí. Đo kích thước giọt (KTG) và phân bố kích thước giọt (PDI) của SNEDDS trên máy Zetasizer ZS90 đã được hiệu chuẩn định kỳ.

Kết quả nghiên cứu cho thấy sản phẩm đạt các yêu cầu chất lượng đã xây dựng sau khoảng

thời gian bảo quản ở cả điều kiện dài hạn và lão hóa cấp tốc (Bảng 10 và 11): không có sự thay đổi về hình thức, KTG và PDI đều nằm trong giới hạn tiêu chuẩn đã xây dựng với tỷ lệ dược chất trong pha dầu được duy trì ở mức > 90%, hàm lượng dược chất ở các thời điểm đánh giá đều nằm trong giới hạn 95% – 105% so với nhãn. Như vậy, SNEDDS rosuvastatin đã bào chế ổn định và có thể tiếp tục nghiên cứu ứng dụng SNEDDS rosuvastatin vào các dạng bào chế dùng theo đường uống như thuốc nang mềm, nang cứng,...

Bảng 10. Kết quả theo dõi độ ổn định của SNEDDS rosuvastatin ở điều kiện dài hạn (n = 3, TB± SD)

Đặc tính	Ban đầu	Sau 3 tháng	Sau 6 tháng	Sau 12 tháng	Yêu cầu
Hình thức	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	
KTG (nm)	15,64 ± 0,42	15,76 ± 0,56	7,21 ± 0,28	16,37 ± 0,31	≤ 200 nm
PDI	0,236 ± 0,015	0,230 ± 0,018	0,201 ± 0,011	0,189 ± 0,002	≤ 0,3
Tỷ lệ dược chất trong pha dầu (%)	93,68 ± 0,18	93,26 ± 0,54	92,50 ± 0,12	91,48 ± 0,95	≥ 90
Hàm lượng rosuvastatin trong SNEDDS (%)	101,99 ± 0,54	101,89 ± 1,12	99,31 ± 0,32	97,66 ± 1,09	95-105% hàm lượng lý thuyết

Bảng 11. Kết quả theo dõi độ ổn định của SNEDDS rosuvastatin ở điều kiện lão hóa cấp tốc (n = 3, TB ± SD)

Đặc tính	Ban đầu	Sau 3 tháng	Sau 6 tháng	Yêu cầu
Hình thức	Đạt	Đạt	Đạt	
KTG (nm)	15,64 ± 0,42	15,21 ± 0,19	15,36 ± 0,12	≤ 200 nm
PDI	0,236 ± 0,015	0,229 ± 0,031	0,242 ± 0,062	≤ 0,3
Tỷ lệ dược chất trong pha dầu (%)	93,68 ± 0,18	93,22 ± 0,16	92,02 ± 0,45	≥ 90
Hàm lượng rosuvastatin trong SNEDDS (%)	101,99 ± 0,54	98,89 ± 1,45	97,74 ± 0,93	95-105% hàm lượng lý thuyết

4. Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng được tiêu chuẩn chất lượng cho hệ nano tự nhũ hóa rosuvastatin bao gồm các chỉ tiêu tính chất, định tính, định lượng, xác định tỷ lệ dược chất trong pha dầu, KTG, PDI. Các chỉ tiêu định lượng, xác định tỷ lệ dược chất trong pha dầu được tiến hành thẩm định các tiêu chí về độ thích hợp hệ thống, độ

đặc hiệu, khoảng tuyến tính, độ đúng, độ chính xác theo hướng dẫn của ICH. Phương pháp được thẩm định là cơ sở cho việc kiểm soát và đánh giá chất lượng sản phẩm bào chế.

SNEDDS rosuvastatin nghiên cứu ổn định sau 12 tháng bảo quản ở điều kiện dài hạn và 6 tháng ở điều kiện lão hóa cấp tốc. Các chỉ tiêu chất lượng đánh giá theo tiêu chuẩn đã xây dựng đều đạt các yêu cầu đề ra.

Tài liệu tham khảo

- [1] A. Luvai, W. Mbagaya, A.S. Hall, I.H. Barth, Rosuvastatin: A Review of the Pharmacology and Clinical Effectiveness in Cardiovascular Disease, *Clinical Medicine Insights: Cardiology* 6 (2012) 17–33. <https://doi.org/10.4137/CMC.S4324>.
- [2] K. Balakumar, C.V. Raghavan, N.T. Selvan, R.H. Prasad, S. Abdu, Self nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) of Rosuvastatin calcium: Design, formulation, bioavailability and pharmacokinetic evaluation, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 112 (2013) 337–343. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.08.025>.
- [3] S. Elkadi, S. Elsamaligy, S. Al-Suwayeh, H. Mahmoud, The Development of Self-nanoemulsifying Liquisolid Tablets to Improve the Dissolution of Simvastatin, *American Association of Pharmaceutical Scientists* 18(7) (2017) 2586–2597. <https://doi.org/10.1208/s12249-017-0743-z>.
- [4] D. Patel, K.K. Sawant, Self Micro-Emulsifying Drug Delivery System: Formulation Development and Biopharmaceutical Evaluation of Lipophilic Drugs, *Current Drug Delivery* 6 (2009) 419–424. <https://doi.org/10.2174/156720109789000519>.
- [5] S.D. Maurya, R.K.K. Arya., G Rajpal, R.C. Dhakar, Self-micro emulsifying drug delivery systems (SMEDDS): A review on physico-chemical and biopharmaceutical aspects, *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 7(3) (2017) 55–65. <https://doi.org/10.22270/jddt.v7i3.1453>.
- [6] P. Borman, D. Elder, Q2(R1) Validation of analytical procedures: text and methodology, in: A. Teasdale, D. Elder, R.W. Nims (Eds), *ICH quality guidelines: an implementation guide*, John Wiley & Sons Inc., Hoboken, 2018, pp. 127-166.
- [7] United States Pharmacopoeia 41, rosuvastatin tablets monograph.