**Thiết kế thí nghiệm bào chế phân phối thuốc Dexamethasone nhắm mục tiêu đến ruột già:**

**Công thức hóa và đặc trưng hóa in vitro của các phân tán rắn**

**2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu**

***2.1. Nguyên liệu***

 Dexamethasone (DEX) được cung cấp bởi Angene Chemical (Nam Kinh, Trung Quốc). EU S100 được mua từ Corel Pharma Chem. (Gujarat, Ấn Độ). HPMC được mua từ Sigma-Aldrich (Dorset, Vương quốc Anh). Acetonitrile, methanol, và ethanol (hạng HPLC) được mua từ Tedia (Fairfield, OH, Hoa Kỳ). Tất cả các thuốc thử và hóa chất khác được sử dụng trong nghiên cứu này đều ở cấp độ phân tích.

***2.2. Chuẩn bị hệ phân tán rắn dexamethasone (DEX-SDs)***

 Hệ phân tán rắn dexamethasone (DEX-SDs) được chuẩn bị bằng phương pháp bay hơi dung môi. EU S100 và sự kết hợp của HPMC và EU S100 ở các tỷ lệ khác nhau được sử dụng để chuẩn bị DEX-SDs. Tỷ lệ DEX-to-polymers là 5:95 % (w/w). Thuốc và polymers được hòa tan riêng biệt trong 100 mL ethanol 60%, được sử dụng làm dung môi. Sau đó, dung dịch thuốc và polymer được trộn lẫn dưới sự khuấy cơ trong 3 giờ, siêu âm trong 15 phút, và đặt trong lò sấy ở 40֩C để bay hơi dung môi và tạo thành khối rắn hoàn toàn. Khối rắn sau đó được nghiền thành bột và bảo quản trong tủ sấy khô cho đến khi sử dụng tiếp theo. Thành phần của DEX-SDs được hiển thị trong Bảng (1).

***2.3. Hiệu suất tải thuốc và hiệu suất***

 Hiệu suất tải thuốc (DLE) và hiệu suất của DEX-SDs được xác định bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Một mẫu 435 mg DEX-SDs chứa 20 mg DEX được bào chế để đạt được nồng độ 500 μg/mL. Nồng độ sau đó được pha loãng hai lần và tiêm vào thiết bị HPLC ba lần. Diện tích dưới đỉnh được xác định và được sử dụng để tính toán hiệu suất tải thuốc và hiệu suất sử dụng Phương trình (1) và (2)

 (1)

 (2)

***2.4. Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)***

 Sự tách chiết được thực hiện bằng HPLC (Máy bơm Shimadzu LC-20AT, Máy tự động lấy mẫu chuẩn, Đầu dò UV/VIS SPD-20A, Shimadzu, Kyoto, Nhật Bản) trên cột C18 (4,6 mm × 15 cm) (Phenomenex, Torrance, Hoa Kỳ) sử dụng hỗn hợp nước: acetonitrile (70:30). Pha động được thiết lập ở tốc độ dòng chảy 1 ml/phút. Đối với phân tích HPLC, tất cả các thể tích tiêm mẫu là 20 μL. Phát hiện UV được thực hiện ở bước sóng 245 nm. Đỉnh DEX được phát hiện ở thời gian lưu 8,5 phút. Methanol được sử dụng làm dung môi để hòa tan DEX ở nồng độ thuốc trong khoảng 10–150 μg/ml để xây dựng đường chuẩn hiệu chuẩn của DEX (R2 = 0,999).

***2.5. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier phản xạ toàn phần suy giảm (ATR-FTIR)***

 Các mẫu DEX tinh khiết, HPMC, EU S100 và DEX-SD được nghiền và phân tích. Phổ FTIR được thu được ở chế độ hấp thụ bằng thiết bị PerkinElmer UATR-II (Waltham, MA, Hoa Kỳ) sử dụng phạm vi bước sóng 4000 cm-1 – 550 cm-1 với độ phân giải quét 4 cm-1 và 32 lần quét lặp lại ở nhiệt độ phòng. Các phổ thu được sau đó được xuất ở định dạng Giá trị Tách Bởi Dấu Phẩy (CSV) và được phân tích bằng Trình khám phá Dữ liệu FTIR Ira Xây dựng #210223 (Đại học Zarqa, Zarqa, Jordan).

**2.6. *Phân tích nhiệt vi sai (DSC)***

 Phân tích DSC của DEX tinh khiết, polymer và DEX-SD và hỗn hợp vật lý tương ứng của chúng được thực hiện bằng (DSC-50 Q Shimadzu, Nhật Bản) được trang bị bộ điều khiển thiết bị Shimadzu TA-50 WSI và máy tính chuyên nghiệp của Shimadzu. Các mẫu được đặt trong các đĩa nhôm và quét tham chiếu được thực hiện bằng một đĩa nhôm trống. Trước quá trình quét thực tế, bất kỳ độ ẩm dư thừa nào trong các mẫu được loại bỏ bằng cách làm nóng sơ bộ chúng đến nhiệt độ khoảng 25–40℃, dưới nhiệt độ chuyển tiếp thủy tinh đầu tiên trong 30 phút. Các mẫu khô sau đó được quét từ 25 đến 300℃ với tốc độ gia nhiệt 5℃/phút và dòng khí nitơ 50 ml/phút.

**2.7. *Phân tích nhiễu xạ tia X bột (PXRD)***

 Các mẫu phân tán tia X bột (PXRD) của DEX tinh khiết, polymer và DEX-SD và hỗn hợp vật lý tương ứng của chúng được thu được bằng máy nhiễu xạ tia X Ultima IV (Rigaku, Nhật Bản) được trang bị bộ phát xạ cobalt ở điện áp 40 KV và dòng điện 30 mA. Phạm vi quét góc (2 θ) của các mẫu nằm trong khoảng 0◦ đến 60◦ với bước 0,02◦.

***2.8. Kính hiển vi ánh sáng phân cực (PLM)***

 DEX-SD được xác định bằng kính hiển vi ánh sáng phân cực (PLM). Một kính hiển vi quang học (Kính hiển vi Y tế Bausch và Lomb, Javal, Nhật Bản) được trang bị bộ lọc phân cực và máy ảnh kỹ thuật số được sử dụng để quan sát sự hiện diện của vật liệu vô định hình ở nhiệt độ phòng. Khoảng 1 mg mỗi mẫu được đặt trên lam kính, phủ kính che và quan sát dưới độ phóng đại ống kính 10x. Hình ảnh được chụp cho mỗi mẫu dưới PLM bằng phần mềm Deltapix.

***2.9. Nghiên cứu hòa tan in vitro***

*2.9.1. Nghiên cứu hòa tan trong môi trường axit (pH 1,2)*

 Sự giải phóng DEX từ SDs được nghiên cứu trong môi trường hòa tan mô phỏng dịch dạ dày với pH 1,2. Dịch dạ dày mô phỏng được chuẩn bị với 0,1 M axit clohydric (HCl) và duy trì ở 37◦C với các cánh khuấy quay với tốc độ 50 vòng/phút (rpm). Các mẫu chứa 50 mg DEX-SD được đặt trong các viên nang trong thiết bị hòa tan II (PTWS 620I, Copley®, Vương quốc Anh) và tiếp xúc với môi trường hòa tan trong 120 phút. Ở các khoảng thời gian cụ thể (5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 và 120 phút), thể tích 3 ml được rút ra. Thể tích đã rút được thay thế bằng lượng môi trường hòa tan mới tương đương để đảm bảo gradient nồng độ nhất quán. Các mẫu sau đó được phân tích bằng phương pháp HPLC ở bước sóng 254 nm. Mỗi thử nghiệm được thực hiện ba lần.

*2.9.2. Nghiên cứu hòa tan trong môi trường đại tràng (pH 7,4)*

 Quy trình hòa tan được lặp lại đối với DEX-SD trong môi trường mô phỏng đại tràng, sau khi hòa tan trong môi trường axit (pH 1,2). Trong trường hợp này, môi trường hòa tan 900 ml được chuẩn bị bằng cách sử dụng đệm phosphate 0,1 M (pH 7,4). Nhiệt độ của môi trường hòa tan được duy trì ở 37 ◦C và cánh khuấy được quay ở tốc độ 50 vòng/phút. Đệm phosphate bao gồm 0,075 M kali photphat đibasic (K2HPO4) và 0,025 M kali photphat monobasic (KH2PO4), theo nghiên cứu của Carredano et al. (2018). Đối với mỗi bình hòa tan, 50 mg DEX-SD được đưa vào. Các mẫu trải qua quá trình hòa tan trong khoảng thời gian 6 giờ. Ở các khoảng thời gian cụ thể (5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300 và 360 phút), thể tích 5 ml được rút ra. Thể tích đã rút được thay thế bằng lượng môi trường hòa tan mới tương đương để duy trì gradient nồng độ nhất quán. Sau đó, các mẫu được lọc và phân tích bằng phương pháp HPLC.

***2.10. Nghiên cứu độ tan***

 Độ tan của DEX tinh khiết và DEX-SD được so sánh bằng phương pháp bình lắc. Độ tan của DEX được xác định trong hai dung môi: dung dịch đệm phosphate (PBS, pH = 7,4) và nước. Một lượng dư DEX tinh khiết và DEX-SD được thêm vào 5 ml PBS (pH = 7,4) hoặc nước trong các lọ thủy tinh. Các lọ được đặt trong tủ ấm lắc, duy trì ở nhiệt độ 37 ± 1◦C hoặc 25 ± 1◦C, và lắc ở tốc độ 100 vòng/phút trong 24 giờ. Lấy từng phần 1 ml từ mỗi mẫu, lọc qua màng 0,45 μm và pha loãng thích hợp với PBS. Nồng độ DEX được phân tích bằng đơn vị HPLC. Tất cả các thí nghiệm được lặp lại ba lần và kết quả được báo cáo dưới dạng trung bình ± SD.

***2.11. Phân tích thống kê***

 Tất cả các phép đo được lặp lại và kết quả được biểu thị dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (SD). Dữ liệu từ các nhóm khác nhau được phân tích thống kê bằng phân tích phương sai một chiều (ANOVA). Giá trị p nhỏ hơn 0,05 (p < 0,05) được coi là có ý nghĩa thống kê. Ứng dụng Microsoft Office Excel được sử dụng để tính toán.

Người viết bài: Ths. Trịnh Thị Loan

Người duyệt bài: Ths. Nguyễn Thị Thùy Trang

Nguồn báo:

<https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S2405-8440%2824%2910243-5>