

NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ VÀ ĐÁNH GIÁ SINH KHẢ DỤNG CỦA VIÊN NÉN PYRIDOSTIGMIN BROMID GIẢI PHÓNG KÉO DÀI

Tô Minh Hùng^{1}, Nguyễn Duy Chí¹, Nguyễn Việt Quân¹
Nguyễn Thanh Tuyền¹, Cao Thanh Hà¹, Đào Hồng Loan¹*

Tóm tắt

Mục tiêu: Xây dựng công thức bào chế viên nén pyridostigmin bromid (PB) giải phóng kéo dài và bước đầu đánh giá sinh khả dụng trên thỏ thí nghiệm. **Phương pháp nghiên cứu:** Xây dựng công thức viên giải phóng kéo dài (GPKD) dạng cốt, bào chế viên bằng phương pháp xát hạt ướt, thiết kế thí nghiệm và tối ưu hóa bằng phần mềm MODDE 8.0. Đánh giá sinh khả dụng trên thỏ, so sánh với viên nén PB 30mg quy ước (đạt tiêu chuẩn Dược điển Mỹ (USP) 38). **Kết quả:** Tá dược kiểm soát giải phóng gồm hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC), sáp carnauba và tricalci phosphat là các biến độc lập; tỷ lệ phần trăm thuốc giải phóng sau 1 giờ (Y1), 4 giờ (Y4), 8 giờ (Y8) là biến phụ thuộc. Thu được công thức tối ưu có khả năng giải phóng hoạt chất in vitro trong giờ đầu là $36,43 \pm 1,15\%$, sau 4 giờ là $73,14 \pm 2,27\%$ và sau 8 giờ là $91,44 \pm 1,48\%$. Sinh khả dụng trên thỏ của viên PB 90mg GPKD cao gấp 3,35 lần so với viên PB 30mg đối chiếu. **Kết luận:** Tối ưu hoá được công thức bào chế viên nén PB GPKD; sinh khả dụng trên thỏ của viên PB 90mg GPKD cao gấp hơn 3 lần so với viên PB 30mg quy ước.

Từ khóa: Pyridostigmin bromid; Tác dụng kéo dài; Sinh khả dụng.

EVALUATION OF THE PREPARATION AND BIOAVAILABILITY OF PYRIDOSTIGMINE BROMIDE EXTENDED-RELEASE TABLETS

Abstract

Objectives: To develop an extended-release pyridostigmine bromide (PB) tablet formula and evaluate its bioavailability in experimental rabbits.

¹Viện Kiểm nghiệm, Nghiên cứu Dược và Trang thiết bị Y tế Quân đội

*Tác giả liên hệ: Tô Minh Hùng (dshung72@gmail.com)

Ngày nhận bài: 19/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 12/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.524>

Methods: A matrix extended-release formula was developed using the granulation technique using MODDE 8.0 in experiment design and formula optimization. The bioavailability in rabbits was studied, compared to the conventional pharmaceutical PB 30mg tablet (qualified for US Pharmacopoeia (USP) 38)). **Results:** A combination of control release ingredients of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC), carnauba wax, and tricalcium phosphate was used, considered as independent variables. Tablets were prepared using the wet granulation technique, and the percentage of drug released at 1 hour (Y1), 4 hours (Y2), and 8 hours (Y3) were considered as dependent variables. The optimal formula tablet was capable of releasing in vitro active ingredient in the first hour at $36.43 \pm 1.15\%$, after 4 hours at $73.14 \pm 2.27\%$, and after 8 hours at $> 85\%$ of the active ingredient content. The bioavailability was 3.35 times higher than the reference tablet. **Conclusion:** The formula of the extended-release PB tablets was designed and optimized; a study of bioavailability in rabbits showed the bioavailability of the extended-release tablet was three times higher compared to the regular pharmaceutical tablet.

Keywords: Pyridostigmine bromide; Extended-release; Bioavailability.

ĐẶT VẤN ĐỀ

PB là một amoni bậc 4 có tác dụng làm tăng trương lực cơ, thường được sử dụng điều trị bệnh nhược cơ. Trong quân sự, thuốc được sử dụng ở hàm lượng thấp để dự phòng nhiễm chất độc thần kinh do thuốc gây ức chế cholinesterase có hồi phục để bảo vệ enzym này đối với sự tấn công của chất độc thần kinh. Viên nén PB 30mg đã được nghiên cứu phát triển và được FDA chấp thuận. Từ năm 1986, Mỹ bắt đầu trang bị viên PB 30mg cho các đơn vị quân đội. Đây là thuốc rất cần thiết trong quân đội để dự phòng nhiễm chất độc thần kinh vì tính hiệu quả, an toàn đã được chứng minh và được áp dụng thực tế trong một số cuộc chiến tranh,

khủng bố trên thế giới. Tuy nhiên, thuốc có thời gian bán thải ngắn, nên với dạng bào chế quy ước thường phải uống 3 lần/ngày, vì vậy, khi bào chế dưới dạng GPKD sẽ nâng cao được sinh khả dụng, giảm số lần dùng, khắc phục hiện tượng đỉnh - đáy nên hạn chế tác dụng không mong muốn. Hiện nay, trên thế giới đã có một số nghiên cứu về viên PB GPKD nhưng chưa có nghiên cứu nào về viên PB 90mg. Tại Việt Nam, chưa có nghiên cứu nào về viên PB GPKD để dự phòng nhiễm độc chất độc thần kinh. Vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm: *Xây dựng công thức bào chế viên nén PB 90mg GPKD và bước đầu đánh giá sinh khả dụng của chế phẩm trên thử nghiệm.*

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu, hóa chất, thiết bị, động vật

Chất chuẩn PB của Bide Pharma, hàm lượng 99,99%.

Các nguyên liệu, hóa chất, tá dược khác: PB, HPMC K4M, HPMC K15M, HPMC K100M, sáp carnauba, tricalci phosphat... đạt tiêu chuẩn nhà sản xuất.

Các thiết bị: Máy bào chế đa năng ERWEKA (Đức), máy dập viên 1 chày TDP-5 (Trung Quốc), máy đo độ hòa tan ERWEKA DT 700 (Đức), máy sắc ký lỏng khối phổ Acquity UPLC I-Class/Xevo TQD-Waters (Mỹ)... đạt tiêu chuẩn trong bào chế, sản xuất, kiểm nghiệm và nghiên cứu thuốc, được kiểm soát theo yêu cầu của GLP.

Thỏ trắng New Zealand, cân nặng $2,5 \pm 0,5$ kg, đạt tiêu chuẩn thí nghiệm, do Viện Kiểm nghiệm Thuốc Trung ương cung cấp. Thỏ được nuôi thích nghi với điều kiện phòng thí nghiệm ít nhất một tuần với chế độ ăn uống đầy đủ và được kiểm soát. Trước khi làm thí nghiệm cho nhịn đói 12 giờ và chỉ uống nước.

* Thời gian nghiên cứu: Từ năm 2021 - 2023.

* Địa điểm nghiên cứu: Viện Kiểm nghiệm, Nghiên cứu Dược và Trang thiết bị Y tế Quân đội.

2. Phương pháp nghiên cứu

* Phương pháp xây dựng công thức bào chế:

Thiết kế viên tác dụng kéo dài hệ cốt thân nước và sơ nước ăn mòn. Trong đó, tá dược kiểm soát giải phóng gồm một polyme thân nước (HPMC) kết hợp với một sáp sơ nước (sáp carnauba), tá dược độn là tricalci phosphat và avicel. Thành phần công thức (CT) khảo sát như sau: PB 90mg (20%), HPMC K4M 5 - 25%, sáp carnauba 15 - 25%, tricalci phosphate 10 - 20%, magnesi stearate 1%, aerosil 0,5%, PVP K30 27mg, ethanol 96% (pha PVP 10%), avicel PH102 vừa đủ 450mg.

Tối ưu hóa CT: Thiết kế thí nghiệm theo mô hình mặt hợp tử tại tâm sử dụng phần mềm Modde 8.0. Dựa trên mạng thần kinh nhân tạo, ảnh hưởng của thông số đầu vào (biến độc lập) đến thông số đầu ra (biến phụ thuộc) để phân tích và thiết lập CT bào chế tối ưu.

Phương pháp bào chế: Bào chế theo phương pháp tạo hạt ướt. Pha PVP trong ethanol để được dung dịch PVP 10% dùng làm tá dược dính. Sáp carnauba được đun chảy cách thủy. Các tá dược còn lại qua rây 0,25mm. Trộn bột kép dược chất và các tá dược (trừ magnesi stearat và aerosil) theo nguyên tắc đồng lượng. Nhào trộn nhanh hỗn hợp bột kép với sáp

caruba nóng chảy, để nguội khối bột rồi trộn đều với PVP 10%, xát hạt qua rây 0,71mm, sấy se hạt ở 60°C trong 45 phút, sửa lại hạt qua rây và sấy tiếp đến khi độ ẩm đạt từ 2 - 3%. Hạt khô được trộn với magnesi stearat và aerosil, dập viên bằng máy dập viên một chày, đường kính chày cối 10mm, khối lượng viên 450mg, độ cứng 5 - 8kP.

Đánh giá khả năng giải phóng hoạt chất: Tham khảo theo USP 38 (chuyên luận viên nén PB, có thẩm định lại) [9] và quy định Dược điển Việt Nam V, phụ lục 11.4 (viên nén GPKD), thử độ hòa tan với các điều kiện cụ thể như sau:

Dung môi: 900mL nước; thiết bị: Cánh khuấy, tốc độ 50 vòng/phút; nhiệt độ môi trường hòa tan: $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Sau các khoảng thời gian quy định, hút mỗi lần 20mL, bổ sung lại 20mL nước cất vào môi trường thử. Mẫu thử được pha loãng (nếu cần), lọc qua giấy lọc. Đo độ hấp thụ quang của dung dịch thử ở bước sóng 270nm, mẫu trắng là nước cất. Đồng thời, tiến hành cùng với mẫu chuẩn được pha với nồng độ phù hợp.

Định lượng PB bằng quang phổ UV-Vis. Nhóm nghiên cứu đã thẩm định phương pháp định lượng cho thấy phương pháp có độ chọn lọc cao, không bị ảnh hưởng bởi tá dược và xây dựng được đường chuẩn trong khoảng 6,11 - 48,87 $\mu\text{g/mL}$ có dạng đường

thẳng tuyến tính với phương trình hồi quy $y = 0,1047x + 0,0274$, hệ số tương quan $R^2 = 0,9994$.

Nồng độ hoạt chất hòa tan tại mỗi thời điểm được tính theo CT:

$$C_{ot} = \frac{A_t \cdot m_c \cdot HL_c \cdot d_t}{A_c \cdot d_c}$$

Hàm lượng % PB trong viên hòa tan so với hàm lượng ghi trên nhãn tính theo công thức:

$$HL (\%) = \frac{C_{ot} \cdot 100}{m_{nhãn}}$$

Trong đó: C_{ot} là nồng độ hoạt chất hòa tan đo được tại thời điểm t (mg/mL); A_t , A_c : Lần lượt là độ hấp thụ của dung dịch thử và chuẩn; m_c , HL_c : Lần lượt là khối lượng chuẩn (mg) và hàm lượng của chuẩn (%); d_t , d_c : Lần lượt là độ pha loãng của dung dịch thử và chuẩn (mL); $m_{nhãn}$: Hàm lượng PB ghi trên nhãn (mg).

Nồng độ hoạt chất hòa tan tại thời điểm đầu tiên chính là nồng độ đo được. Tại các thời điểm sau, nồng độ hoạt chất hòa tan được tính cộng thêm lượng hoạt chất đã hút ra tại các thời điểm trước theo công thức sau:

$$C_t = C_{ot} + C_{t-1} \cdot \left(\frac{20}{900}\right)$$

Trong đó: C_t là nồng độ hoạt chất thực tế tại thời điểm t (mg/ml); C_{ot} là nồng độ hoạt chất đo được tại thời điểm t ; C_{t-1} là nồng độ hoạt chất thực tế tại thời điểm $(t-1)$.

* *Phương pháp đánh giá sinh khả dụng:*

12 con thỏ được chia làm hai nhóm, mỗi nhóm 6 con. Mỗi con thỏ uống 01 viên chế phẩm: Nhóm 1 uống viên nén PB 30mg (đạt tiêu chuẩn USP 38), nhóm 2 uống viên nén PB 90mg GPKD [1, 5].

Phương pháp lấy mẫu: Cạo lông tai của thỏ, dùng kim truyền tĩnh mạch 24G đặt vào động mạch tai thỏ, lần lượt lấy 2mL mẫu máu vào thời gian trước khi dùng thuốc (mẫu trắng không có dược chất), sau đó, lấy máu lần lượt ở các thời điểm: 15 phút; 30 phút; 45 phút và 1 giờ, 1,5 giờ, 2 giờ, 2,5 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 8 giờ, 10 giờ, 12 giờ đối với viên 30mg. Các thời điểm 30 phút và 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ, 4 giờ, 5 giờ, 6 giờ, 7 giờ, 8 giờ, 10 giờ, 12 giờ, 16 giờ, 20 giờ, 24 giờ đối với viên 90mg.

Hút máu vào ống nghiệm có chứa sẵn chất chống đông máu (EDTA hoặc heparin). Ngay sau khi lấy, mỗi mẫu máu được lắc nhẹ để đảm bảo trộn hoàn toàn với các thuốc chống đông máu và ly tâm ở 5000 vòng/phút trong 15 phút để tách huyết tương. Huyết tương được chuyển sang ống nghiệm sạch, bảo quản ở -30°C cho đến khi phân tích.

Phương pháp định lượng PB trong huyết tương thỏ bằng UPLC-MS đã

được xây dựng và thẩm định [10], với điều kiện khối phổ được xác định bằng phần mềm Xevo TQD IntelliStart của hệ thống với mảnh ion mẹ và mảnh ion con định lượng của PB là 180,99 và 72,00; theo nội chuẩn neostigmin là 222,99 và 72,00. Điều kiện sắc ký: Pha động: Acetonitril chứa 0,1% acid formic - dung dịch đệm (90:10); cột Phenomenex Kinetex C18 (100mm x 2,1mm; $1,7\mu\text{m}$); tốc độ dòng: 0,3mL/phút; Detector MS ở chế độ ESI+; thể tích tiêm: 5 μL ; Thời gian chạy: 3 phút.

Tính các thông số dược động học C_{max} , T_{max} , AUC, $T_{1/2}$ bằng Add in Pksolver trong Microsoft Excel.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Kết quả xây dựng công thức bào chế

Xây dựng CT bào chế với các biến độc lập và biến phụ thuộc được trình bày trong bảng 1 và 2. Do không có viên PB 90mg GPKD đối chiếu nên căn cứ vào tài liệu tham khảo [8], nghiên cứu đề ra yêu cầu về độ hòa tan với viên 90mg PB GPKD trong 1 giờ đầu giải phóng 33,33% (tương ứng với tỷ lệ giải phóng của viên 30mg quy ước), các giờ sau mong muốn viên sẽ giải phóng hoạt chất đều đặn theo động học bậc 0 và đạt 93,10% sau 12 giờ [8].

Bảng 1. Các biến độc lập và khoảng biến thiên.

Các biến độc lập	Ký hiệu	Mức biến thiên			Khoảng biến thiên
		Mức trên (+1)	Mức cơ sở (0)	Mức dưới (-1)	
HPMC K4M (mg)	X1	112,5 (25%)	90 (20%)	67,5 (15%)	22,5 (10%)
Sáp carnauba (mg)	X2	112,5 (25%)	90 (20%)	67,5 (15%)	22,5 (10%)
Tricalci phosphat (mg)	X3	90 (20%)	67,5 (15%)	45 (10%)	22,5 (10%)

Bảng 2. Các biến phụ thuộc và mục tiêu tối ưu.

Biến phụ thuộc	Ký hiệu	Cận dưới (%)	Mục tiêu kỳ vọng (%)	Cận trên (%)
Tỷ lệ PB giải phóng sau 1 giờ	Y ₁	20	33,33	40
Tỷ lệ PB giải phóng sau 4 giờ	Y ₄	40	49,65	60
Tỷ lệ PB giải phóng sau 8 giờ	Y ₈	60	71,41	90

Nhập dữ liệu vào phần mềm Modde 8.0, thiết kế thí nghiệm theo mô hình mặt hợp tử tại tâm được các giá trị biến độc lập tương ứng với 17 CT thực nghiệm. Bào chế và đánh giá giải phóng hoạt chất tại các thời điểm 1 giờ, 4 giờ và 8 giờ thu được kết quả như sau:

Bảng 3. Kết quả giải phóng dược chất của 17 CT khảo sát (n = 6).

TT	CT	HPMC K4M (mg)	SC (mg)	CP (mg)	Y1 (%)	Y4 (%)	Y8 (%)
1	PB1	67,5	67,5	45	47,43 ± 0,34	87,56 ± 0,79	104,51 ± 0,35
2	PB2	112,5	67,5	45	40,17 ± 0,47	79,41 ± 0,59	97,04 ± 0,56
3	PB3	67,5	112,5	45	35,98 ± 0,73	69,31 ± 0,41	87,92 ± 0,96
4	PB4	112,5	112,5	45	34,97 ± 0,55	69,07 ± 0,28	85,41 ± 0,36
5	PB5	67,5	67,5	90	43,64 ± 0,99	80,33 ± 0,79	95,71 ± 0,38
6	PB6	112,5	67,5	90	40,26 ± 1,12	76,38 ± 1,20	93,19 ± 1,20
7	PB7	67,5	112,5	90	34,82 ± 0,65	68,35 ± 0,47	87,10 ± 0,42
8	PB8	112,5	112,5	90	33,14 ± 0,67	65,96 ± 1,39	84,53 ± 0,85
9	PB9	67,5	90	67,5	39,00 ± 0,14	77,55 ± 0,38	95,15 ± 0,35
10	PB10	112,5	90	67,5	36,75 ± 1,67	73,90 ± 1,00	92,21 ± 1,39
11	PB11	90	67,5	67,5	41,92 ± 1,35	82,71 ± 1,21	95,12 ± 0,98
12	PB12	90	112,5	67,5	34,59 ± 0,23	69,66 ± 0,38	88,65 ± 0,31
13	PB13	90	90	45	39,51 ± 2,4	76,34 ± 0,47	93,54 ± 0,63
14	PB14	90	90	90	36,59 ± 1,07	70,78 ± 0,90	88,70 ± 1,47
15	PB15	90	90	67,5	35,98 ± 0,68	71,26 ± 0,39	90,96 ± 0,90
16	PB16	90	90	67,5	35,63 ± 1,04	70,97 ± 1,22	90,48 ± 0,95
17	PB17	90	90	67,5	35,37 ± 0,54	71,16 ± 1,03	91,53 ± 0,21

HPMC K4M; SC (sáp carnauba); CP (tricalci phosphat).

Kết quả phương trình hồi quy thực nghiệm dạng đa thức bậc 2 được tính từ phần mềm Modde 8.0 như sau:

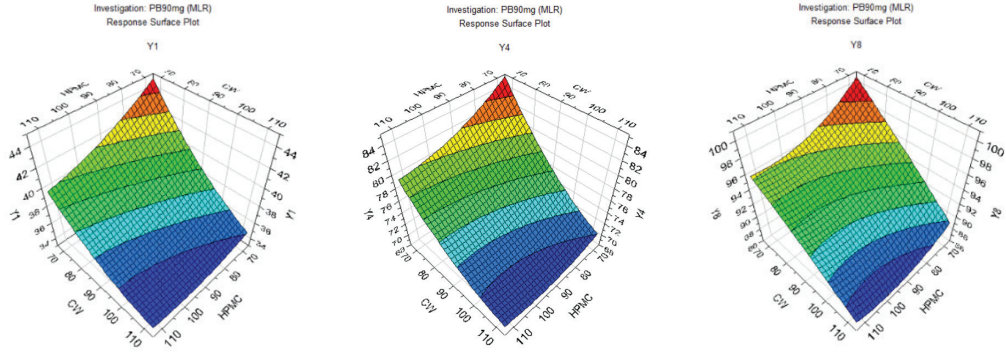
$$Y_1 = 36,57 - 1,56.X_1 - 3,99.X_2 - 0,96.X_3 + 0,99.X_1.X_2 \text{ với } R^2 = 0,957;$$

$$Y_4 = 73,08 - 1,84.X_1 - 6,40.X_2 - 1,99.X_3 \text{ với } R^2 = 0,942;$$

$$Y_8 = 91,62 - 1,80.X_1 - 5,20.X_2 - 1,92.X_3 + 1,37.X_2.X_3 \text{ với } R^2 = 0,956.$$

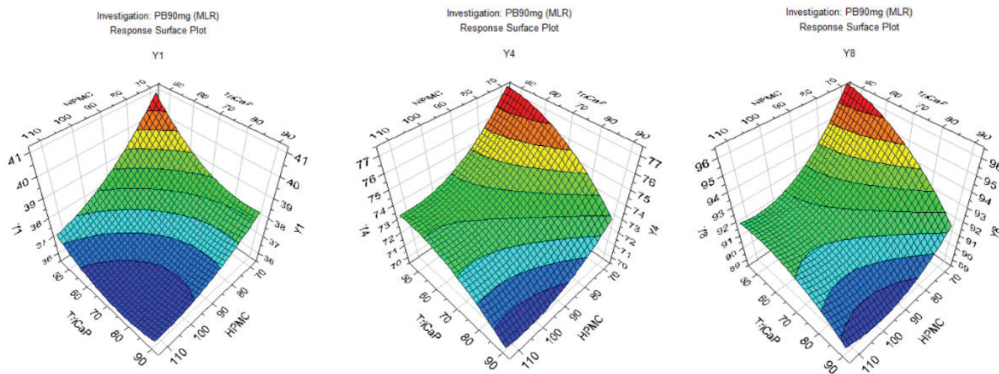
Các giá trị R^2 đều cao và gần bằng 1, vì vậy phương trình hồi quy phù hợp với thực nghiệm.

Phân tích mặt đáp đánh giá các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình kiểm soát giải phóng bằng phần mềm Modde 8.0 thu được các kết quả sau:



Hình 1. Phân tích mặt đáp Y1, Y4 và Y8 theo HPMC và sáp carnauba (tricalci photphat tại tâm = 67,5mg).

Kết quả cho thấy, tỷ lệ HPMC và sáp carnauba trong viên càng cao, độ hòa tan của dược chất trong viên càng giảm. Tuy nhiên, ảnh hưởng của sáp carnauba đến tốc độ giải phóng lớn hơn đáng kể so với ảnh hưởng của HPMC, với độ dốc mặt đáp phía sáp carnauba lớn hơn nhiều so với phía HPMC. Điều này có thể lý giải là do các tá dược tạo cốt sẽ làm giảm diện tích tiếp xúc của PB với môi trường hòa tan, qua đó, giảm sự xâm nhập của nước vào trong viên nén, cũng như hạn chế quá trình trương nở của cốt thân nước, giúp quá trình kéo dài giải phóng tốt hơn.



Hình 2. Phân tích mặt đáp Y1, Y4 và Y8 theo tricalci photphat và HPMC K4M (sáp carnauba tại tâm = 90mg).

Kết quả cho thấy, khi tỷ lệ tricalci phosphat trong CT tăng thì tỷ lệ avicel giảm, sẽ làm chậm lại tốc độ giải phóng dược chất, như vậy, cả hai tá dược độn này đều ảnh hưởng đến tốc độ giải phóng dược chất. Điều này cũng có thể lý giải tương tự như đối với sáp carnauba, do cả hai tá dược độn đều không tan trong nước nên hạn chế sự thâm nhập của nước vào trong viên thuốc. Tuy nhiên, mức độ ảnh hưởng của tricalci phosphat lớn hơn, rõ rệt nhất là ở các thời điểm 1 giờ và 4 giờ.

Dự đoán CT tối ưu: Áp dụng phương trình hồi quy thực nghiệm, sử dụng phần mềm Modde 8.0 tính toán tối ưu CT theo các điều kiện và mục tiêu ở bảng 2. Kết quả tối ưu thu được các giá trị biên độc lập như sau: X1 = 93,82mg, X2 = 112,5mg, X3 = 90,0mg.

Đánh giá CT tối ưu:

Bào chế và đánh giá độ hoà tan theo CT tối ưu. So sánh mô hình thực nghiệm với kết quả thực tế qua chỉ số f_2 . Kết quả cho thấy $f_2 = 61,62 (> 50)$, chứng tỏ tốc độ giải phóng hoạt chất của CT tối ưu tương đồng với CT thực nghiệm.

Bảng 4. So sánh độ hoà tan của CT dự đoán với CT thực nghiệm (n = 12).

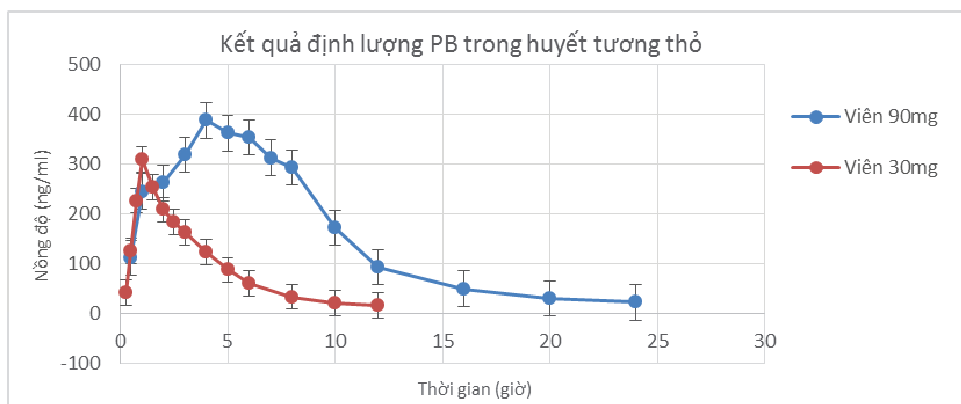
Công thức	Tỷ lệ % giải phóng PB theo thời gian		
	1 giờ	4 giờ	8 giờ
Thực nghiệm	36,43 ± 1,15	73,14 ± 2,27	91,44 ± 1,48
Dự đoán	33,48	66,08	84,65
f_2		61,62	

Có nhiều phương pháp, kỹ thuật bào chế thuốc tác dụng kéo dài tùy theo các cơ chế giải phóng hoạt chất khác nhau, tuy nhiên, mục tiêu chung là duy trì nồng độ thuốc trong khoảng điều trị. Quá trình động học hòa tan bậc 0 là cách tạo cân bằng quanh vùng này lý tưởng nhất, nhưng thực tế khó đạt được, vì vậy, nhiều nghiên cứu mong muốn tiệm cận bậc 0. Trong nghiên

cứu của Yuh - Tyng Huang và CS [8] sử dụng phương pháp đùn tạo cầu để bào chế pellet, sau đó dập viên và bao bằng màng bao kiểm soát giải phóng. Kết quả đã đạt được giải phóng *in vitro* bậc 0 và có tương quan *in vitro* - *in vivo*. Nghiên cứu của chúng tôi đã tối ưu hoá được CT bào chế bằng phương pháp tạo hạt ướt có khả năng kéo dài giải phóng hoạt chất *in vitro*.

2. Kết quả đánh giá sinh khả dụng trên thử thí nghiệm

Kết quả định lượng PB trong huyết tương thử sau khi uống viên PB 30mg và 90mg được trình bày trong hình 3.



Hình 3. Nồng độ PB trong huyết tương thử khi uống viên nghiên cứu và viên đối chiếu.

Từ các kết quả định lượng thuốc trong huyết tương thử, xác định các thông số C_{max} , T_{max} , $T_{1/2}$ và AUC bằng Add in Pksolver trên Excel, các thông số này được trình bày trong bảng 5 và 6.

Bảng 5. Các thông số C_{max} , T_{max} , $T_{1/2}$.

Mã động vật	C_{max} (ng/mL)		T_{max} (giờ)		$T_{1/2}$ (giờ)	
	T	R	T	R	T	R
1	385,33	358,68	3	1,5	4,79	2,19
2	600,54	417,98	4	0,75	5,17	3,17
3	454,19	284,85	5	1	4,61	3,09
4	430,94	461,30	1	1	4,00	2,61
5	390,25	314,27	1	1	4,93	2,98
6	425,58	309,36	5	3	2,98	2,00
TB	447,81	357,74	3,17	1,38	4,41	2,67
SD	72,30	63,11	1,67	0,76	0,74	0,45

T_{max} của viên PB 90mg GPKD là $3,17 \pm 1,17$ giờ, dài hơn so với uống 1 viên 30mg ($1,38 \pm 0,76$ giờ). Nguyên nhân do thuốc GPKD có thời gian giải phóng và hấp thu chậm hơn so với dạng bào chế quy ước, kể cả khi có sự khác nhau về hàm lượng hoạt chất trong viên.

C_{max} sau khi uống viên PB 90mg GPKD là $447,81 \pm 72,3$ ng/mL, cao hơn so với uống viên 30mg ($357,74 \pm 63,11$ ng/mL), nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Các kết quả này sơ bộ cho thấy viên 90mg GPKD không gây bùng liều khi dùng

với hàm lượng hoạt chất gấp 3 lần viên quy ước.

$T_{1/2}$ của viên PB 90mg GPKD ($4,41 \pm 0,74$ giờ) dài hơn so với viên 30mg ($2,67 \pm 0,45$ giờ). Nghĩa là, nồng độ thuốc trong máu khi uống viên PB 90mg kéo dài hơn so với uống viên PB 30mg. Sau khi uống một viên 90mg, nồng độ thuốc trong máu đạt $111,13$ ng/mL sau 30 phút và vẫn còn $21,38$ ng/mL sau 24 giờ. Đối với viên 30mg, nồng độ trong máu sau 30 phút đạt 125 ng/mL và ở thời điểm 10 giờ chỉ còn $18,38$ ng/mL.

Bảng 6. Các thông số AUC.

Mã động vật	AUC _{0-t} (ng.giờ/mL)		AUC _{0-∞} (ng.giờ/mL)	
	T	R	T	R
1	2778,96	888,30	2928,84	915,19
2	3376,15	1058,90	3520,02	1150,40
3	3805,02	856,18	3989,92	924,58
4	3998,41	983,11	4142,63	1017,60
5	3972,11	1201,50	4156,54	1294,90
6	3934,86	1414,80	3971,50	1472,00
TB	3644,25	1067,10	3784,91	1129,10
SD	440,42	192,59	437,02	202,29

T: Viên PB 90 mg giải phóng kéo dài; R: Viên PB 30mg.

Xác định tỷ lệ sinh khả dụng của viên nghiên cứu và viên đối chiếu như sau:

$$\text{Sinh khả dụng (T/R)} = \text{AUC}_{0-\infty} (\text{T}) / \text{AUC}_{0-\infty} (\text{R}) = 3,35$$

Sinh khả dụng của viên PB 90mg GPKD cao gấp 3,35 lần so với viên 30mg quy ước. Nguyên nhân do viên GPKD có hàm lượng gấp 3 lần viên thông thường, giảm được số lần dùng thuốc trong ngày mà vẫn duy trì tác dụng.

KẾT LUẬN

Sử dụng phần mềm tối ưu hóa để thiết lập công thức bào chế viên nén PB 90mg GPKD 24 giờ quy mô phòng thí nghiệm. Thành phần công thức cho 1 viên tối ưu gồm: PB 90mg, HPMC K4M 93,82mg, sáp carnauba 112,5mg, tricalci phosphat 90,0mg, avicel 29,93mg, magnesi stearat 4,5mg, aerosil 2,25mg, polyvinyl pyrrolidon 27mg, ethanol 96° 0,27mL; bào chế viên theo phương pháp tạo hạt ướt. Viên có khả năng giải phóng hoạt chất *in vitro* trong giờ đầu là $36,43 \pm 1,15\%$, sau 4 giờ là $73,14 \pm 2,27\%$ và sau 8 giờ là $91,44 \pm 1,48\%$. Đã đánh giá sinh khả dụng trên thỏ, qua các thông số C_{max} , T_{max} , $T_{1/2}$ và AUC cho thấy viên PB 90mg giải phóng kéo dài có sinh khả dụng cao gấp 3,35 lần so với viên PB 30mg quy ước.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aquilonius SM et al., Pharmacokinetics and oral bioavailability of pyridostigmine in man. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1980; 18:423-428.
2. Bộ môn Độc học và phóng xạ quân sự - Học viện Quân y. *Độc học và phóng xạ quân sự*. Nhà xuất bản Quân đội nhân dân, Hà Nội. 2002: 57-98.
3. Bộ môn Bào chế - Đại học Dược Hà Nội. *Một số chuyên đề bào chế hiện đại*. Nhà xuất bản Y học. 2005:132-157.
4. Carolyn E Fulco, Catharyn T. Liverman, Harold C Sox, Gulf War and Health: Volume 1. *Depleted Uranium, Pyridostigmine Bromide, Sarin and Vaccine*, National Academy Press, Washington, D.C. 2000.
5. Hong Wang et al. Bioequivalence of pyridostigmine bromide dispersible tablets in rabbits, *Journal of Southern Medical University*. 2011; 31(10), 1778-1780.
6. Maegen Sloan. Development of a LC-MS/MS method to detect and quantify pyridostigmine in plasma. Submitted to the Faculty of the Graduate College of the Oklahoma State University in partial fulfillment of the requirements for the Degree of MASTER OF SCIENCE. *Bachelor of Science in Chemistry Harding University Searcy*. 2017.
7. Noushin Bolourchian, Maryam Rangchian and Seyed Mohsen Foroutan. Prolonged release matrix tablet of pyridostigmine bromide: Formulation and optimization using statistical methods. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012;25(3): 607-616.

8. Yuh-Tyng Huang, Tong-Rong Tsai, Chun-Jen Cheng, and Chau-Ming Cham. Formulation Design of an HPMC - Based Sustained Release Tablet for Pyridostigmine Bromide as a Highly Hygroscopic Model Drug and its In Vivo/In Vitro Dissolution Properties, *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2007; 33:1183-1191.
9. United States Pharmacopeia 38.
10. Nguyễn Thanh Tuyền và CS. Xây dựng phương pháp định lượng pyridostigmin bromid trong huyết tương thỏ bằng sắc ký lỏng khối phổ. *Tạp chí Y học Quân sự*. 2023; 364.