



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0030649

(51)⁷ A61K 38/13; A61P 27/02; A61K 9/08

(13) B

(21) 1-2015-04701

(22) 20/05/2014

(86) PCT/KR2014/004489 20/05/2014

(87) WO/2014/189251 27/11/2014

(30) 10-2013-0056561 20/05/2013 KR; 10-2014-0029939 13/03/2014 KR

(45) 25/01/2022 406

(43) 25/03/2016 336A

(73) TAEJOON PHARM. CO., LTD. (KR)

8, Daesagwan-ro 31-gil, Yongsan-gu Seoul 140-887 Republic of Korea

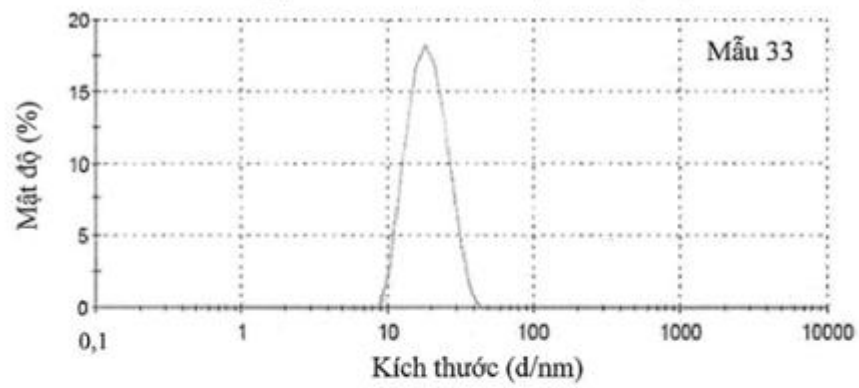
(72) LEE, Joon Youb (KR); SHIN, Youn Jae (KR); RYU, Sang-Rok (KR).

(74) Công ty TNHH Đại Tín và Liên Danh (DAITIN AND ASSOCIATES CO.,LTD)

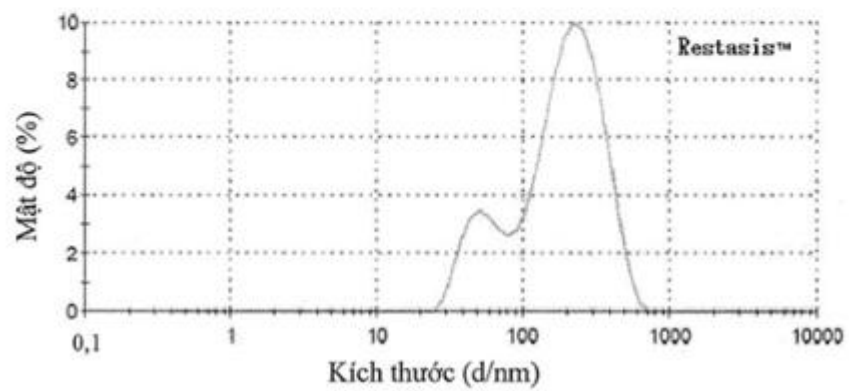
(54) DƯỢC PHẨM DẠNG NHũ TƯƠNG NANO DÙNG CHO MẮT CHỨA
CYCLOSPORIN

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt và phương pháp bào chế dược phẩm này, cụ thể hơn là, cyclosporin đóng vai trò là thành phần hoạt tính được trộn cùng dung môi không phải nước, thành phần nhũ tương hóa, và dung môi nước. Dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt theo sáng chế được đặc trưng bởi kích thước hạt trung bình không lớn hơn 200 nm, tốt nhất là không lớn hơn 100 nm, và có độ phân tán hạt rất hẹp. Do đó, có thể áp dụng phương pháp lọc vô trùng, độ ổn định được cải thiện và có hiệu quả lâm sàng vượt trội khắc phục được các triệu chứng như cảm giác có dị vật, rối loạn thị giác, và do đó hỗn hợp nhũ tương nano dùng nhỏ mắt theo sáng chế có thể được sử dụng một cách hiệu quả làm dược phẩm nhỏ mắt.

Sự phân tán kích thước hạt theo mật độ



Sự phân tán kích thước hạt theo mật độ



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến được phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt, cụ thể là phương pháp bào chế được phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt với khả năng hòa tan cyclosporin đóng vai trò là thành phần hoạt tính được nâng cao và cải thiện độ ổn định của được phẩm nhỏ mắt bằng cách trộn cyclosporin, dung môi không phải nước, thành phần nhũ tương hóa, và dung môi nước với nhau.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Thuốc ức chế miễn dịch được sử dụng cho liệu pháp ức chế miễn dịch bằng cách ngăn chặn hoặc ức chế phản ứng miễn dịch bất thường. Thuốc ức chế miễn dịch hiện đang được sử dụng làm nhân tố trị liệu cho nhiều bệnh khác nhau bao gồm thải ghép sau khi ghép cơ quan và mô; bệnh đường ruột do viêm nhiễm như viêm loét đại tràng hoặc bệnh Crohn; viêm khớp dạng thấp; hội chứng Behcet; bệnh da do viêm nhiễm hoặc bệnh da dị ứng như bệnh vẩy nến hay viêm da dị ứng; bệnh đường hô hấp do viêm nhiễm hoặc dị ứng như bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính hoặc hen suyễn; bệnh lupus ban đỏ hệ thống; bệnh xơ cứng bì; hội chứng Sjogren; và hội chứng khô mắt.

Hội chứng Sjogren là bệnh viêm mạn tính tuyến ngoại tiết, và cụ thể nó được đặc trưng bởi sự suy giảm tiết nước bọt và nước mắt do sự phá hủy các mô bình thường của tuyến nước bọt và tuyến lệ. Nguyên nhân của hội chứng Sjogren chưa được làm sáng tỏ nhưng các nhân tố di truyền như lịch sử gia đình, virus, các xitokin và kháng thể miễn dịch được cho là nguyên nhân của hội chứng Sjogren. Hiện nay, cyclosporin là thuốc ức chế miễn dịch được sử dụng để điều trị hội chứng Sjogren, và được phẩm chống viêm không steroid hoặc steroid được sử dụng cùng với cyclosporin khi hội chứng nghiêm trọng.

Bệnh nhân bị hội chứng khô mắt hay khô viêm giác kết mạc (KCS) miễn dịch thường than phiền về đau nhức, khô, cảm giác có dị vật và cảm giác châm chích trong mắt. Ngoài ra, có cảm giác khó chịu khi mở mắt vì mắt dễ dàng bị mệt mỏi, và do đó có

cảm giác thoải mái khi nhắm mắt và các triệu chứng trở nên nghiêm trọng khi mở mắt. Khi triệu chứng nghiêm trọng, mắt hơi đỏ ngứa và bệnh nhân kêu đau đầu. Hội chứng khô mắt xảy ra do thiếu nước mắt bởi sự tiết nước mắt không đủ và sự bốc hơi nước mắt quá mức, sự không cân bằng các thành phần của nước mắt, hoặc viêm mắt hoặc tổn thương các tế bào biểu mô nội nhãn. Trong các loại dược phẩm hiện nay, thành phần bổ sung dùng cho hội chứng khô mắt (cụ thể là nước mắt nhân tạo) để cải thiện tạm thời tình trạng khô và cảm giác có dị vật, còn cyclosporin là nhân tố trị liệu làm tăng sự tiết nước mắt nhờ tác dụng ức chế miễn dịch.

Cyclosporin là chuỗi polypeptit bao gồm 11 axit amin, biểu hiện hoạt tính ức chế miễn dịch mạnh mẽ bằng cách ức chế sự tăng sinh và biệt hóa tế bào T. Sáng chế Mỹ số 4.839.342 đề cập đến hoạt tính ức chế miễn dịch của cyclosporin cũng như cho thấy rằng cyclosporin là dược phẩm có hiệu quả trong điều trị KCS miễn dịch. Ngoài cyclosporin thì sirolimus, tacrolimus và các dẫn xuất của nó cũng là các dược phẩm chữa bệnh về mắt.

Cyclosporin có cấu trúc vòng bao gồm bảy axit amin N-metylat và bốn axit amin không N-metylat, và có các loại cyclosporin A, cyclosporin B, cyclosporin C, cyclosporin D và cyclosporin G được phân biệt theo cấu trúc của các axit amin thành phần còn lại, trong thực tế cyclosporin A (là loại có hoạt tính dược lý và nghiên cứu lâm sàng được làm rõ hơn những loại khác) được nghiên cứu rộng rãi nhất. Lực hút nội phân tử của cyclosporin mạnh mẽ và sự tương tác với các phân tử nước tương đối khó khăn, và do đó cyclosporin là dược phẩm khó tan trong nước tức là hầu như không hòa tan trong nước. Khả năng hòa tan của cyclosporin vào khoảng 20 µg/ml đến 30 µg/ml, và rất khó để bào chế dược phẩm tan trong nước với cyclosporin có độ hòa tan trong nước kém như vậy.

Restasis™, là dược phẩm nhỏ mắt chứa cyclosporin hiện đang được bán trên thị trường, dược phẩm này có dạng nhũ tương đục màu sữa và có nhược điểm là gây cảm giác nóng rát kèm theo cảm giác như bị chích vào kết mạc, ngứa, mờ mắt và cảm giác có dị vật khi nhỏ dược phẩm này vào mắt. Do đó, việc phát triển dược phẩm chữa mắt kiểu nhũ tương chứa cyclosporin (khó tan trong nước) đóng vai trò là thành phần hoạt tính nhằm mục đích cải thiện khả năng hòa tan trong nước của cyclosporin và giảm thiểu các triệu chứng khó chịu trong mắt khi dùng dược phẩm bằng cách cải thiện triệu

chúng kích thích, cảm giác có dị vật, cảm giác nóng rát, đau nhức, xung huyết, mờ mắt và ngứa.

Dịch nhũ tương dùng cho dược phẩm nhỏ mắt hiện nay thường gồm 2 hoặc nhiều thành phần không thể trộn lẫn trong một hỗn hợp duy nhất, và do đó dịch nhũ tương này thường tạo thành 2 pha riêng biệt trong hỗn hợp.

Về mặt nhiệt động học, dịch nhũ tương ở trong tình trạng không ổn định và có xu hướng chia thành các pha khác nhau qua các con đường như keo tụ, lắng đọng, keo đọng, sự chín ostwald (ostwald ripening) và kết tụ các thành phần. Các nghiên cứu về nhũ tương nano mà trong đó kích thước các hạt trong dịch nhũ tương được làm giảm đến kích thước nano đã được thực hiện một cách tích cực để giải quyết tình trạng không ổn định của dịch nhũ tương. Về phương diện quy trình sản xuất, dược phẩm dạng nhũ tương được biết đến là Restasis™ được bào chế bằng cách sử dụng thiết bị khuấy tốc độ cao hoặc thiết bị cắt tốc độ cao, cụ thể là máy đồng hóa áp lực cao hoặc máy vi hóa lỏng vốn là các thiết bị có tác động lực vật lý cực lớn lên hỗn hợp trong khi tạo dịch nhũ tương. Như được đề cập trong sáng chế Hàn Quốc số 10-2008-0030828, quy trình sản xuất đòi hỏi cơ sở sản xuất lớn và chi phí rất cao, và hầu như không thể sử dụng các thành phần mẫn cảm nhiệt do hiện tượng tăng nhiệt độ đáng kể gây ra bởi nguồn năng lượng cung cấp cho dịch nhũ tương trong khi sản xuất. Ngoài ra, dịch nhũ tương chứa cyclosporin được bào chế bằng quy trình này nhanh chóng keo tụ do kích thước giọt dầu không đồng đều, và do đó quá trình tạo lắng đọng được thúc đẩy và ảnh hưởng đến sự ổn định lâu dài. Thêm vào đó, khó có thể đảm bảo chất lượng đồng nhất giữa các lô sản xuất bởi vì sự phân tán về kích thước hạt trong pha phân tán là tương đối rộng.

Tài liệu liên quan

Patent Mỹ số 5.660.858

Patent Hàn Quốc số 10-1008189

Đơn đăng kí sáng chế có số công bố quốc tế WO1995/31211

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là tạo ra sản phẩm dược phẩm nhỏ mắt nhũ tương nano với thành phần hoạt tính là cyclosporin có độ hòa tan được cải thiện. Các tác giả sáng chế đã xác định được rằng độ hòa tan của cyclosporin tăng lên, kích thước hạt trung bình được hình thành trong khoảng 1-100 nm và kích thước tối đa của hạt được hình thành không lớn hơn 220 nm, và khả năng thẩm thấu cũng như hiệu quả có thể được cải thiện, độ ổn định lý hóa, sự kích thích, tầm nhìn bị mờ và cảm giác có dị vật có thể được cải thiện hiệu quả khi nhỏ mắt bằng sản phẩm cuối cùng của quá trình nhũ tương nano kết hợp với việc phối trộn các thành phần của dịch nhũ tương nano một cách thích hợp trong quá trình sản xuất dược phẩm nhỏ mắt nhũ tương nano.

Để đạt được mục đích trên đây, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt chứa: cyclosporin; một hoặc nhiều dung môi không phải nước được chọn từ nhóm gồm dầu thực vật, este axit béo có 14-20 nguyên tử C và este axit béo có 6-12 nguyên tử C của glyxerol; một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa ưa nước; một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa kỵ nước; và dung môi nước.

Sáng chế cũng đề xuất dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt có kích thước hạt trung bình nằm trong khoảng 1-100 nm bao gồm: cyclosporin có hàm lượng từ 0,02-0,3% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm; một hoặc nhiều dung môi không phải nước có hàm lượng từ 0,1-2,5% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm và được chọn từ nhóm gồm dầu thực vật, este axit béo có 14-20 nguyên tử C và este axit béo có 6-12 nguyên tử C của glyxerol; một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa ưa nước có hàm lượng từ 0,1-5,0% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm và được chọn từ nhóm gồm dầu thầu dầu polyoxyetylen hydro hóa, este polyoxyetylen sorbitan của axit béo và este polyoxyetylen của axit béo; một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa kỵ nước có hàm lượng từ 0,1-5,0% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm và được chọn từ nhóm gồm este sorbitan của axit béo, este glyxerin của axit béo, dietylen glycol monoetyl ete, polyetylen glycol, propylen glycol và este propylen glycol của axit béo; và dung môi nước.

Sáng chế cũng đề xuất được phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt chứa: cyclosporin có hàm lượng từ 0,02-0,3% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của được phẩm; dầu thầu dầu có hàm lượng gấp ít nhất 8 lần hàm lượng cyclosporin và không lớn hơn 2,5% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của được phẩm; một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa ưa nước được chọn từ nhóm gồm dầu thầu dầu polyoxyetylen hydro hóa, este polyoxyetylen sorbitan của axit béo và este polyoxyetylen của axit béo; một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa kỵ nước được chọn từ nhóm gồm este sorbitan của axit béo, este glyxerin của axit béo, dietylen glycol monoetyl ete, polyetylen glycol, propylen glycol và este propylen glycol của axit béo; và dung môi nước.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp bào chế được phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt có kích thước hạt trung bình nằm trong khoảng 1-100 nm bao gồm: chuẩn bị hỗn hợp bằng cách khuấy cyclosporin với hàm lượng từ 0,02-0,03% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của được phẩm; một hoặc nhiều dung môi không phải nước có hàm lượng từ 0,1-2,5% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của được phẩm và được chọn từ nhóm gồm dầu thực vật, este axit béo có 14-20 nguyên tử C và este axit béo có 6-12 nguyên tử C của glyxerol; một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa ưa nước có hàm lượng từ 0,1-5,0% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của được phẩm và được chọn từ nhóm gồm dầu thầu dầu polyoxyetylen hydro hóa, este polyoxyetylen sorbitan axit béo và este polyoxyetylen của axit béo; một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa kỵ nước được chọn từ nhóm gồm este sorbitan của axit béo, este glyxerin của axit béo, dietylen glycol monoetyl ete, polyetylen glycol, propylen glycol và este propylen glycol của axit béo; và dung môi nước.

Sáng chế đề xuất được phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt chứa cyclosporin, dung môi không phải nước, thành phần nhũ tương hóa và dung môi nước, cụ thể hơn là sáng chế đề xuất được phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt chứa: cyclosporin; một hoặc nhiều dung môi không phải nước được chọn từ nhóm gồm dầu thực vật, este axit béo có 14-20 nguyên tử C và este axit béo có 6-12 nguyên tử C của glyxerol; một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa ưa nước; một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa kỵ nước; và dung môi nước.

Dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt của sáng chế có thể được tạo thành bằng cách trộn các thành phần nêu trên một cách phù hợp, và việc lọc vô trùng có thể được áp dụng, độ ổn định của cyclosporin được làm tăng và độ ổn định được cải thiện do kích thước hạt (giọt) trung bình được hình thành không lớn hơn 200 nm hoặc nằm trong khoảng 1-100 nm và sự phân tán kích thước hạt khá hẹp.

Về việc bào chế chế phẩm nhỏ mắt, hỗn hợp trong đó chất hoạt động bề mặt như dầu thầu dầu polyoxyetylát và este polyoxyetylen sorbitan của axit béo được sử dụng để ngăn ngừa sự kết tủa của cyclosporin trong mắt sau khi sử dụng dược phẩm nhỏ mắt của sáng chế, nhưng nhược điểm là dược phẩm nhỏ mắt sẽ tồn tại ở trạng thái nhũ tương đục màu sữa khi sử dụng hỗn hợp này, và do đó gây mờ mắt ở giai đoạn ban đầu dùng dược phẩm. Do đó, dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt được bào chế theo sáng chế bằng cách chọn đúng loại và hàm lượng dung môi không phải nước, thành phần nhũ tương hóa ưa nước và thành phần nhũ tương hóa kỵ nước để giải quyết vấn đề trên.

Do đó, sáng chế đề xuất dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt có kích thước hạt trung bình vào khoảng 1-100 nm bao gồm: cyclosporin với hàm lượng từ 0,02-0,3% trọng lượng/thể tích so với lượng tổng số của dung dịch; một hoặc nhiều dung môi không phải nước với hàm lượng từ 0,1-2,5% trọng lượng/thể tích so với lượng tổng số của dung dịch và được chọn từ nhóm gồm dầu thực vật, este axit béo có 14-20 nguyên tử C và este axit béo có 6-12 nguyên tử C của glyxerol; một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa ưa nước với hàm lượng từ 0,1-5,0% trọng lượng/thể tích so với lượng tổng số của dung dịch và được chọn từ nhóm gồm dầu thầu dầu polyoxyetylen hydro hóa, este polyoxyetylen sorbitan của axit béo và este polyoxyetylen của axit béo; một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa kỵ nước với hàm lượng từ 0,1-5,0% trọng lượng/thể tích so với lượng tổng số của dung dịch và được chọn từ nhóm gồm este sorbitan của axit béo, este glyxerin của axit béo, dietylen glycol monoetyl ete, polyetylen glycol, propylen glycol và este propylen glycol của axit béo; và dung môi nước. Dược phẩm nhũ tương nano theo sáng chế có hiệu quả vượt trội, cụ thể là ít bị kích thích, ít có cảm giác có dị vật, ít bị mờ và các cảm giác khó chịu khác, và giải phóng cyclosporin A (là thành phần hoạt tính) với tốc độ phù hợp ở khảo

nghiệm giải phóng trên màng xenluloza, là khảo nghiệm đánh giá sự giải phóng dược phẩm.

Dược phẩm nhũ tương nano theo sáng chế có thể được sử dụng hiệu quả để điều trị hội chứng khô mắt, bởi vì khi sử dụng dược phẩm nhũ tương nano này làm được phẩm nhỏ mắt trong điều trị hội chứng khô mắt thì cảm giác kích thích khó chịu và cảm giác có dị vật của bệnh nhân được cải thiện cũng như hiệu quả điều trị cao, và dược phẩm nhũ tương nano làm tăng sự tiết nước mắt và thời gian duy trì màng nước mắt. Ngoài ra, hàm lượng cyclosporin A trong mô mắt đạt được ở mức cao sau khi sử dụng dược phẩm nhũ tương nano này.

Tóm lại, dược phẩm nhũ tương nano dùng cho mắt theo sáng chế có kích thước hạt trung bình không lớn hơn 200 nm, tốt nhất là không lớn hơn 100 nm, và sự phân tán hạt hẹp. Do đó, dược phẩm nhũ tương nano dùng cho mắt theo sáng chế có thể được sử dụng một cách hiệu quả làm được phẩm nhỏ mắt bởi vì việc lọc vô trùng có thể áp dụng được, độ ổn định được cải thiện và có hiệu quả lâm sàng vượt trội trong cải thiện cảm giác có dị vật và tầm nhìn mờ.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là hình minh họa sự phân tán kích thước hạt của dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt của mẫu 33 và dược phẩm nhỏ mắt Restesis™.

Fig.2 là hình minh họa sự ổn định phân phối dược phẩm của dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt của mẫu 62 và mẫu 63, dịch nhũ tương và dịch huyền phù thông qua chỉ số độ ổn định Turbiscan (TSI - Turbiscan Stability Index).

Fig.3 là đồ thị cho thấy giá trị trung bình của cảm giác nóng rát và cảm giác có dị vật của mẫu 62 và Restesis™ vốn được dùng làm dược phẩm đối chứng thông qua kiểm tra cảm giác khi giọt dược phẩm được nhỏ vào mắt.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây là phần mô tả chi tiết sáng chế. Tuy nhiên, cần hiểu rằng phần mô tả dưới đây chỉ nhằm mục đích làm rõ hơn cho sáng chế mà không giới hạn phạm vi của sáng chế. Trong khi mô tả sáng chế, một số thuật ngữ được hiểu cụ thể như sau:

“Cyclosporin” là thành phần hoạt tính của dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt và có thể bao gồm cyclosporin A, dẫn xuất của cyclosporin A, cyclosporin B, cyclosporin C, cyclosporin D hoặc hỗn hợp của chúng, tốt nhất là cyclosporin là cyclosporin A hoặc dẫn xuất của nó.

Cyclosporin có thể có trong liều điều trị hiệu quả để cải thiện hội chứng khô mắt và có thể có hàm lượng từ 0,001-1,0 w/v%, từ 0,01-1,0% trọng lượng/thể tích và tốt nhất là từ 0,02-0,3% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm nhũ tương nano dùng nhỏ mắt theo mục tiêu của sáng chế.

“Dung môi không phải nước” có thể được chọn từ nhóm gồm dầu thực vật, este axit béo có 14-20 nguyên tử C và este axit béo có 6-12 nguyên tử C của glyxerol. Cụ thể, dầu thực vật có thể là dầu thầu dầu, dầu dừa, dầu quế, dầu ngô, dầu ô liu, dầu hạt bông và dầu đậu tương; các este axit béo có 14-20 nguyên tử C có thể là axit lauric, axit myristic, axit palmitic, axit palmitoleic, axit stearic, axit oleic, axit linoleic, axit α -linolenic, axit γ -linolenic, axit eicosapentaenoic, etyl oleat, isopropyl myristat; este axit béo có 6-12 nguyên tử C của glyxerol có thể là este axit béo glyxerit như labrafac PG và labrafac lipophile WL 1349, axit caprylic-axit capric triglyxerit như miglyol 812, axit aprylic-axit capric-axit linoleic triglyxerit như miglyol 818. Ngoài ra, tốt nhất là một hay nhiều dung môi không phải nước có thể được chọn từ nhóm gồm dầu thầu dầu, miglyol 812, etyl oleat, isopropyl myristat, labrafac PG và labrafac lipophile WL 1349. Tốt nhất là, dung môi không phải nước là dầu thầu dầu và nó là sản phẩm thương mại sẵn có với tên sản phẩm là dầu thầu dầu (được sản xuất bởi ITHO oil chem., Nhật Bản). Dầu thầu dầu làm giảm sự bốc hơi nước mắt ở bề mặt nhãn cầu và có khả năng lan rộng vượt trội so với các loại dầu khác, và do đó dầu thầu dầu hữu ích trong việc xử lý hội chứng khô mắt như rối loạn chức năng tuyến meibomian (tuyến bã nhờn) ở tuyến lệ. Tuy nhiên, dược phẩm nhỏ mắt bao gồm dung môi không phải nước như dầu thầu dầu có thể gây đau bao gồm sự kích thích mắt, và rối loạn thị giác. Do đó, dung môi không phải nước (cụ thể là dầu thầu dầu và những loại tương tự) được sử dụng theo sáng chế phải có nồng độ tối thiểu mà đủ để hòa tan cyclosporin và các phản ứng có hại có thể được giảm thiểu. Bằng cách sử dụng dung môi không phải nước với nồng độ tối thiểu, hàm lượng thành phần nhũ tương hóa có thể được giảm thiểu khi sử dụng để ổn định pha dầu, theo đó có thể tạo ra dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt an toàn

hơn so với dược phẩm nhũ tương cyclosporin có trên thị trường. Hàm lượng dung môi không phải nước có thể là từ 0,01-10,0% trọng lượng/thể tích, từ 0,1-5,0% trọng lượng/thể tích, và tốt nhất là từ 0,1-2,5% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm. Ngoài ra, trong trường hợp khi dung môi không phải nước là dầu thầu dầu, thì lượng dầu thầu dầu có thể gấp ít nhất 8 lần so với lượng thành phần hoạt tính là cyclosporin và không lớn hơn 2,5% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm, do đó hàm lượng này là hàm lượng mong muốn để bào chế dược phẩm nhũ tương nano ổn định theo sáng chế.

Dược phẩm nhũ tương nano theo sáng chế bao gồm một hay nhiều thành phần nhũ tương hóa giúp nhũ tương hóa dung môi không phải nước trong dung môi nước. Một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa được chọn bằng cách xem xét tỉ lệ của giá trị cân bằng ưa nước - kỵ nước (HLB: Hydrophilic-Lipophilic Balance) của từng thành phần nhũ tương hóa tùy thuộc vào giá trị HLB cần thiết của dung môi không phải nước, tốt nhất là tùy thuộc vào giá trị HLB cần thiết của dầu thầu dầu. Một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa có thể được chọn từ nhóm gồm các thành phần nhũ tương hóa ưa nước mà trong đó giá trị HLB ít nhất là 8, cụ thể là 10 hoặc cao hơn, và từ nhóm các thành phần nhũ tương hóa kỵ nước mà trong đó giá trị HLB nhỏ hơn 8, cụ thể là 6 hoặc thấp hơn.

Thành phần nhũ tương hóa theo sáng chế có thể là thành phần nhũ tương hóa ưa nước, thành phần nhũ tương hóa kỵ nước hoặc hỗn hợp của chúng.

Thành phần nhũ tương hóa ưa nước có thể là este axit béo, ete, axit hoặc tổ hợp ngẫu nhiên của chúng. Cụ thể là, dầu thầu dầu polyoxyetylen hydro hóa, este polyoxyetylen sorbitan của axit béo, este polyoxyetylen của axit béo, axit béo macrogol glyxerit, caprylocaproyl polyoxylglyxerit, poloxame, tyloxapol và vitamin E TPGS (D-alpha tocopheryl polyetylen glycol 1000 succinat) và nhiều loại khác có thể được sử dụng làm thành phần nhũ tương hóa ưa nước, nhưng thành phần nhũ tương hóa kỵ nước không bị giới hạn bởi những loại trên. Tốt hơn là, một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa kỵ nước có thể được chọn từ nhóm gồm dầu thầu dầu polyoxyetylen hydro hóa, este polyoxyetylen sorbitan của axit béo và este polyoxyetylen của axit béo, và tốt nhất là thành phần nhũ tương hóa ưa nước là dầu thầu dầu polyoxyl 35 hoặc polyoxyetylen sorbitan monooleat, và cả hai loại trên đều được bán trên thị trường dưới tên thương

mại là Cremophor EL™ hoặc ELP™ (BASF), và Polysorbate 80 (NOF corporation). Hàm lượng thành phần nhũ tương hóa ưa nước có thể là 0,01-10,0% trọng lượng/thể tích, 0,01-7,0% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm và tốt nhất là 0,1-5,0% trọng lượng/thể tích. Trong trường hợp dung môi không phải nước là dầu thầu dầu, thì một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa có thể được chọn từ nhóm gồm dầu thầu dầu polyoxyetylen hydro hóa, este polyoxyetylen sorbitan của axit béo và este polyoxyetylen của axit béo, và khi thành phần nhũ tương hóa ưa nước là dầu thầu dầu polyoxyetylen hydro hóa, thì lượng dầu thầu dầu polyoxyetylen hydro hóa mong muốn ít nhất gấp 1,6 lần lượng dầu thầu dầu (là dung môi không phải nước) và không lớn hơn 5,0% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm. Ngoài ra, khi dung môi không phải nước là dầu thầu dầu và thành phần nhũ tương hóa ưa nước là dầu thầu dầu polyoxyetylen hydro hóa, thì lượng thành phần nhũ tương hóa ưa nước mong muốn ít nhất gấp 12,8 lần lượng cyclosporin (là thành phần hoạt tính) và không lớn hơn 5,0% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm. Dịch nhũ tương nano ổn định có kích thước hạt trung bình vào khoảng 1-100 nm có thể dễ dàng được tạo thành với hàm lượng các chất được trình bày ở trên và cho thấy cảm giác tốt nhất khi được nhỏ vào mắt bởi vì thành phần nhũ tương hóa ưa nước chiếm 5,0% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm.

Thành phần nhũ tương hóa kỵ nước có thể là thành phần nhũ tương hóa ion hoặc không ion, tốt nhất thành phần nhũ tương hóa không ion. Este sorbitan của axit béo, dietylen glycol monoethyl ete, polyetylen glycol, propylen glycol, este propylen glycol của axit béo, este glyxerin của axit béo, oxy-alkanediol, lexitin và rượu béo cao phân tử (phân tử có 16 nguyên tử C hoặc hơn) có thể được sử dụng làm thành phần nhũ tương hóa kỵ nước, và tốt nhất là một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa kỵ nước có thể được chọn từ nhóm gồm este sorbitan của axit béo, este glyxerin của axit béo, dietylen glycol monoethyl ete, polyetylen glycol, propylen glycol và este propylen glycol của axit béo. Cụ thể, thành phần nhũ tương hóa kỵ nước tốt nhất là polyetylen glycol (PEG), propylen glycol, este sorbitan của axit béo và dietylen glycol monoethyl ete, và những chất này được bán sẵn trên thị trường với tên sản phẩm tương ứng là: Super Refined PEG 300™, Super Refined PEG 400™, Super Refined PEG 600™ (Croda), Propylene Glycol (Merck), Span 20, Span 80 (Croda) và Transcutol P (Gattefosse). Hàm lượng của thành phần nhũ tương hóa kỵ nước có thể là 0,01-7,0% trọng lượng/thể tích so với

tổng khối lượng của dược phẩm, và tốt nhất là 0,1-5,0% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm. Ngoài ra, thành phần nhũ tương hóa kị nước có thể là polyetylen glycol, propylen glycol và dietylen glycol monoethyl ete, và hàm lượng của các thành phần này chiếm ít nhất 0,1% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm, và tốt nhất là có hàm lượng gấp không lớn hơn 3 lần so với hàm lượng thành phần nhũ tương hóa ưa nước, trong đó thành phần nhũ tương hóa ưa nước tốt nhất là dầu thầu dầu polyoxyetylen hydro hóa. Ngoài ra, trong trường hợp này, tốt nhất là thành phần nhũ tương hóa kị nước có hàm lượng không lớn hơn 5,0% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm. Tốt nhất là thành phần nhũ tương hóa kị nước chiếm ít nhất 0,1% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm để tạo thành hỗn hợp nhũ tương nano ổn định, và tốt nhất là thành phần nhũ tương hóa kị nước chiếm hàm lượng gấp không lớn hơn 3 lần so với lượng thành phần nhũ tương hóa ưa nước (tốt nhất là dầu thầu dầu polyoxyetylen hydro hóa) và không lớn hơn 5,0% trọng lượng/thể tích có với khối lượng tổng để đạt được cảm giác dễ chịu hơn hẳn khi được nhỏ vào mắt.

Dung môi nước theo sáng chế là thành phần thích hợp cho việc bào chế dược phẩm nhỏ mắt, và nó có thể là nước tinh khiết vô trùng, dung dịch nước muối để tiêm.

Dung môi không phải nước theo sáng chế có thể được chọn từ nhóm gồm dầu thầu dầu, labrafac, miglyol 812, etyl oleat và isopropyl myristat, và tốt nhất là dung môi không phải nước là dầu thầu dầu.

Ngoài ra, thành phần nhũ tương hóa ưa nước tốt nhất là dầu thầu dầu polyoxyetylen hydro hóa hoặc este polyoxyetylen sorbitan của axit béo, và thành phần nhũ tương hóa kị nước có thể chọn từ nhóm gồm polyetylen glycol, propylen glycol và dietylen glycol monoethyl ete.

Ngoài ra, chất ổn định còn được sử dụng cho hỗn hợp nhũ tương nano dùng nhỏ mắt theo sáng chế. Độ ổn định lí hóa của hỗn hợp nhũ tương dùng nhỏ mắt theo sáng chế có thể được cải thiện hơn khi chất ổn định được bổ sung vào. Chất ổn định có thể tạo ra độ nhớt nhờ mạng lưới giọt dầu của dịch nhũ tương nano bằng cách tạo thành một số cấu trúc liên kết nhờ sự hydrat trong dung môi nước, và có thể hoạt động như là chất ổn định dịch nhũ tương nano. Chất ổn định có thể bao gồm hợp chất dựa trên

xenluloza như cacboxymetyl xenluloza (CMC), hydroxypropyl metyl xenluloza (HPMC) và hydroxyetyl xenluloza (HEC); hợp chất dựa trên polyvinyl như rượu polyvinyllic (PVA) và polyvinylpyrrolidon (PVP); hợp chất dựa trên acrylic như cacbome; hợp chất dựa trên gôm như gôm gellan và gôm xanthan; polysaccarit như axit hyaluronic (HA), natri hyaluronat, natri alginat và dextran; hoặc tổ hợp ngẫu nhiên của chúng. Ngoài ra ra, chất ổn định có thể được chọn từ nhóm gồm cacboxymetyl xenluloza, gôm xanthan, axit hyaluronic và natri hyaluronat.

Do đó, hỗn hợp theo sáng chế có thể bao gồm cyclosporin, dung môi không phải nước, thành phần nhũ tương hóa ưa nước, thành phần nhũ tương hóa kỵ nước, chất ổn định và dung môi nước.

Ngoài ra, hỗn hợp sáng chế có thể là dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt chứa: cyclosporin; một hoặc nhiều dung môi không phải nước được chọn từ nhóm gồm este axit béo có 14-20 nguyên tử C và este axit béo có 6-12 nguyên tử C của glyxerol; một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa ưa nước; một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa kỵ nước; chất ổn định được chọn từ nhóm gồm hợp chất dựa trên xenluloza như cacboxymetyl xenluloza (CMC), hydroxypropyl metyl xenluloza (HPMC) và hydroxyetyl xenluloza (HEC), hợp chất dựa trên polyvinyl như rượu polyvinyllic (PVA) và polyvinylpyrrolidon (PVP), hợp chất dựa trên gôm như gôm gellan và gôm xanthan; polysaccarit như axit hyaluronic (HA), natri hyaluronat, natri alginat và dextran, và hỗn hợp của chúng; và dung môi nước.

Hàm lượng chất ổn định có thể là từ 0,001-10,0% trọng lượng/thể tích, từ 0,01 - 5,0% trọng lượng/thể tích, và tốt từ 0,01-2,0% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm.

Ngoài ra, dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt theo sáng chế còn có thể bao gồm chất điều chỉnh pH, chất đẳng trương hóa, chất bảo quản và chất đệm và chất cần thiết khác.

Chất điều chỉnh pH có thể là NaOH và HCl, và chúng được sử dụng để đạt được giá trị pH thích hợp bằng cách bổ sung lượng cần thiết nhờ phương pháp thông thường trong cùng lĩnh vực.

Chất đẳng trương hóa có thể được chọn từ nhóm gồm glyxerol, mannitol, sorbitol, natri clorua, kali clorua, axit boric và muối borat, và lượng chất đẳng trương hóa có thể nằm trong khoảng 0,01-10,0% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm, và có thể được sử dụng trong khoảng 0,1-3,0% trọng lượng/thể tích.

Chất bảo quản theo sáng chế có thể là hợp chất amoni bậc 4 bao gồm benzalkonium clorua, benzethonium clorua, xetalkonium clorua và polyquaternium-1 (cụ thể như Polyquad®) và các chất phù hợp khác; hợp chất dựa trên guanidin bao gồm PHMB và clorohexidin và các hợp chất phù hợp khác; clorobutanol; chất bảo quản dựa trên thủy ngân bao gồm thimerosal, phenyl mercury axetat và nitrat phenylmercuric; và chất bảo quản oxy hóa bao gồm phức oxyclozo ổn định (cụ thể như Purite®) và axit ankyl p-oxybenzoic (cụ thể như axit metyl p-oxybenzoic (PM)) và các hợp chất phù hợp khác.

Chất đệm theo sáng chế có thể là chất đệm bất kì mà sử dụng được để nhỏ mắt mà không bị hạn chế. Có thể là đệm axetat, đệm xitrat, đệm phosphat (cụ thể như natri phosphat hoặc hydrat của nó, natri dihydrophosphat hoặc hydrat của nó) và đệm borat như axit boric hoặc muối của nó. Hàm lượng chất đệm có thể được chọn phù hợp bởi những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực và chất đệm có thể được bổ sung với hàm lượng từ 0,001-10% trọng lượng/thể tích, tốt hơn là từ 0,01-5,0% trọng lượng/thể tích, và tốt nhất là từ 0,1-2,0% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm.

Ngoài ra, tốt nhất là kích thước hạt của hỗn hợp nhũ tương nano dùng nhỏ mắt theo sáng chế không lớn hơn 220 nm, và kích thước hạt của hỗn hợp có thể là từ 0-220 nm, và từ 0,3-220 nm.

Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt chứa: cyclosporin với hàm lượng từ 0,02-0,3% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm; dầu thầu dầu có hàm lượng gấp ít nhất 8 lần so với cyclosporin và không lớn hơn 2,5% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm; một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa ưa nước được chọn từ nhóm gồm dầu thầu dầu polyoxyetylen hydro hóa, este polyoxyetylen sorbitan của axit béo và este

polyoxyetylen của axit béo; một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa kị nước được chọn từ nhóm gồm este sorbitan của axit béo, este glyxerin của axit béo, dietylen glycol monoetyl ete, polyetylen glycol, propylen glycol và este propylen glycol của axit béo; và dung môi nước.

Thành phần nhũ tương hóa ưa nước có thể là dầu thầu dầu polyoxyetylen hydro hóa chiếm hàm lượng gấp ít nhất 1,6 lần hàm lượng dầu thầu dầu nói trên và không lớn hơn 5% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm.

Ngoài ra, thành phần nhũ tương hóa kị nước được chọn từ nhóm gồm polyetylen glycol, propylen glycol và dietylen glycol monoetyl ete, và chiếm hàm lượng 0,1% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm và gấp không lớn hơn 3 lần hàm lượng thành phần nhũ tương hóa ưa nước.

Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt: trong đó thành phần nhũ tương hóa ưa nước là dầu thầu dầu polyoxyetylen hydro hóa chiếm hàm lượng ít nhất gấp 12,8 lần lượng cyclosporin nói trên và không lớn hơn 5,0% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm; và thành phần nhũ tương hóa kị nước có thể được chọn từ nhóm gồm polyetylen glycol, propylen glycol và dietylen glycol monoetyl ete chiếm 0,1-5% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm.

Bệnh về mắt có thể là bệnh bên trong hoặc bên ngoài do chấn thương bên ngoài hoặc đeo kính áp tròng cứng, và tốt hơn là bệnh về mắt là hội chứng Sjogren hoặc hội chứng khô mắt, và tốt nhất là bệnh về mắt là hội chứng khô mắt.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết và đầy đủ hơn thông qua các ví dụ kèm theo. Tuy nhiên, cần hiểu rằng các ví dụ sau đây chỉ nhằm mục đích minh họa cho sáng chế mà không giới hạn phạm vi của sáng chế.

Mẫu thí nghiệm 1: Chuẩn bị dịch nhũ tương nano và đo kích thước hạt trung bình theo cách giống nhau và có sự thay đổi về loại và hàm lượng dung môi không phải nước

Hỗn hợp nhũ tương nano được chuẩn bị với lượng khác nhau của dầu thầu dầu, labrafac lipophile WL 1349 hoặc miglyol 812, và sau đó kích thước hạt trung bình của chúng được đo. Phương pháp cụ thể để chuẩn bị hỗn hợp nhũ tương nano như sau. Cyclosporin A và dung môi không phải nước được trộn lẫn với lượng được trình bày trên bảng 1 dưới đây và được hòa tan hoàn toàn ở 600-800 vòng/phút và 70°C bằng cách sử dụng máy khuấy (Super-Nuova™ Multi-place, Thermo Scientific). Pha dầu được tạo ra bằng cách bổ sung thành phần nhũ tương hóa ưa nước và kỵ nước với hàm lượng được trình bày trên bảng 1 vào dung dịch hỗn hợp đã được chuẩn bị ở trên rồi tiếp tục được khuấy ở cùng điều kiện. Tiếp đó, dung dịch thu được được làm mát đến nhiệt độ phòng và pha dầu được đưa vào dung dịch nước để rửa pha dầu một vài lần, rồi tiếp tục khuấy ở 400-500 vòng/phút và nhiệt độ phòng bằng cách sử dụng máy khuấy (Super-Nuova™ Multi-place, Thermo Scientific). Dung môi nước được thêm vào cho đến khi thể tích cuối cùng là 100 ml sau ít nhất 30 phút khuấy. Dịch nhũ tương tự tạo thành pha đồng nhất ổn định nhờ hệ tự nhũ hóa tạo nhũ tương nano (SNEDDS: Self Nano-Emulsifying Drug Delivery system). Kích thước hạt của dịch nhũ tương nano dùng nhỏ mắt được chuẩn bị bằng phương pháp trên được đo bằng cách sử dụng thiết bị đo kích hạt Zetasizer (Malvern Instruments, England), và thành phần và kích thước hạt trung bình (nm) được trình bày trên bảng 1 sau đây.

Bảng 1

Thành phần		Mẫu														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Thành phần hoạt tính (% trọng lượng/thể tích)	Cyclosporin	0,05	0,03	0,1	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,03	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,03
	Dầu thầu dầu	0,42	0,25	0,84												
	Labrafac				2	1,8	1,8	1,8	2	1,2						
	Miglyol 812										0,75	0,66	0,66	0,66	0,75	0,45
Thành phần nhũ tương hóa ưa nước (% trọng lượng/thể tích)	Polysorbat 80								1,6	0,8					1,6	0,8
	Cremophor ELP	1	1	4,8	2,4	2,4	1,6	1,6			2,4	2,4	1,6	1,6		
Thành phần nhũ tương hóa kỵ nước (% trọng lượng/thể tích)	Polyetylen glycol 400	0,4	0,3	0,8	0,6	0,4	0,4		0,4	0,2	0,6	0,4	0,4		0,4	0,2
	Propylene glycol	0,3	0,2	0,6		0,3	0,3					0,3	0,3			
	Transcutol P							0,4						0,4		
Dung môi nước	Nước cất	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s
	Kích thước hạt trung bình (nm)	41,05	31,04	35,29	45,92	48,33	58,51	54,21	76,15	73,25	30,72	32,76	42,16	44,8	62,95	60,31

Giá trị tối đa của tất cả chỉ số kích thước hạt của hỗn hợp nhũ tương nano trong các mẫu 1-15 được trình bày trên bảng 1 đều không vượt quá 220 nm, và như được trình bày trên bảng 1 ở trên, kết quả khẳng định rằng kích thước hạt trung bình trong hỗn hợp nhũ tương nano trong suốt đã chuẩn bị tất cả đều không vượt quá 100 nm. Dịch nhũ tương nano bao gồm cyclosporin là thành phần hoạt tích có thể được xác định là có kích thước hạt phù hợp khi kích thước hạt tối đa không lớn hơn 220 nm, và do đó kết quả khẳng định rằng hỗn hợp nhũ tương nano dùng nhỏ mắt có kích thước hạt trung bình rất nhỏ có thể được tạo thành theo phương pháp của sáng chế. Cụ thể là, các mẫu 1-3 cho thấy hiệu quả vượt trội trong việc tạo thành nhũ tương nano trong đó kích thước hạt trung bình lần lượt là 41,05, 31,04 và 35,29 nm, trong khi đó các 1-3 chứa tương đối ít dầu thầu dầu với hàm lượng lần lượt là 0,42, 0,25 và 0,84% trọng lượng/thể tích so với các dung môi không phải nước khác (cụ thể là labrafac và miglyol 812) và theo đó các mẫu 1-3 cũng chứa hàm lượng thấp thành phần nhũ tương hóa. Do môi không phải nước có thể gây kích thích cho mắt khi được nhỏ vào mắt, nên dầu thầu dầu có ưu điểm nó có thể giảm thiểu sự kích thích cho mắt vì thành phần dầu có trong dược phẩm nhỏ mắt, và theo đó có thể khẳng định rằng dầu thầu dầu là dung môi không phải nước tốt cho dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt.

Mẫu thí nghiệm 2: Chuẩn bị dịch nhũ tương nano và đo kích thước hạt trung bình theo cách giống nhau và có sự thay đổi về loại và hàm lượng thành phần nhũ tương hóa

Hỗn hợp nhũ tương nano của các mẫu 16-36 được tạo thành bằng phương pháp giống như được trình bày trong mẫu thí nghiệm 1 nhờ sử dụng dầu thầu dầu cùng với dung môi không phải nước, và có sự thay đổi hàm lượng dầu thầu dầu cũng như loại và hàm lượng thành phần nhũ tương hóa. Thành phần và hàm lượng của dịch nhũ tương nano đã chuẩn bị được trình bày trên bảng 2 dưới đây.

Bảng 2

Thành phần		Mẫu																				
		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
Thành phần hoạt tính (% trọng lượng/thể tích)	Cyclosporin	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,03	0,1	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,03	0,1	0,05	0,05	0,05	0,05
Dung môi không phải nước (% trọng lượng/thể tích)	Dầu thầu dầu	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,25	0,84	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,25	0,84	0,42	0,42	0,42	0,42
Thành phần nhũ tương hóa ưa nước (% trọng lượng/thể tích)	Polysorbat 80	1,6	0,4	1,4	0,8	0,8	0,4	1,6													0,8	
	Cremophor ELP								2,4	1,6	1,2	1,6	2,4	1,6	2,4	1,6	1,2	4,8	2,4	1,8		2,4
Thành phần nhũ	Span 80	0,4	0,1				0,1	0,4	0,6	0,4	0,8											
	Span 20			0,6																		

Thành phần	Mẫu																				
	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
tương hóa kị nước (%) trọng/thể tích)	Polyetylen Glycol 300										0,4	0,6									
	Polyetylen Glycol 400			0,2									0,4	0,6		0,3	1,2	0,4	0,4		
	Propylen glycol																	0,3	0,3		
	Transcutol P					0,2									0,4						
Dung môi nước	Nước cất	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s
	Kích thước hạt trung bình	73,52	84,3	59,18	67,64	67,21	73,46	30,11	43,41	48,5	49,26	40,38	41,5	19,53	25,04	39,62	25,5	31,6	32,25	118,3	98,52

Như được trình bày trên bảng 2, kết quả xác định rằng kích thước hạt trung bình trong hỗn hợp nhũ tương nano của các mẫu 16-34 đều không lớn hơn 100 nm, và chỉ số kích thước hạt trung bình của chúng phân tán trong phạm vi rất hẹp. Do đó, kết quả khẳng định rằng hỗn hợp nhũ tương nano dùng nhỏ mắt có kích thước hạt trung bình không lớn hơn 100 nm và phân tán trong phạm vi rất hẹp có thể được tạo thành khi trộn cyclosporin, dầu thầu dầu, thành phần nhũ tương hóa ưa nước, thành phần nhũ tương hóa kỵ nước và dung môi nước theo thành phần như trên bảng 2.

Trên bảng 2, các mẫu 35 và 36 được tạo thành bằng cách chỉ sử dụng thành phần nhũ tương hóa ưa nước mà không sử dụng thành phần nhũ tương hóa kỵ nước, điều đó phù hợp với kết quả dịch nhũ tương thu được đục và sự phân phối kích thước hạt rộng, và cụ thể hơn, kết quả khẳng định rằng mẫu 36 có sự phân bố hạt rất không phù hợp vì sự phân tán kích thước hạt của chúng dao động rất rộng trong khoảng 17,02-382,5 nm. Do đó, có thể khẳng định rằng sự kết hợp thành phần nhũ tương hóa ưa nước và thành phần nhũ tương hóa kỵ nước là tối ưu để tạo thành dịch nhũ tương có kích thước hạt và sự phân bố hạt phù hợp.

Sự phân tán kích thước hạt phù hợp là điều quan trọng để tạo thành dược phẩm nhỏ mắt, và do đó sự phân tán kích thước hạt của mẫu 33 được chuẩn bị bằng phương pháp theo sáng chế đã được so sánh với sự phân tán kích thước hạt của dược phẩm nhỏ mắt Restasis™ có bán trên thị trường.

Kết quả so sánh được minh họa trên Fig.1.

Như được minh họa trên Fig.1, hỗn hợp theo sáng chế (mẫu 33) có sự phân tán kích thước hạt rất hẹp, trong khoảng 8,721-43,82 nm, trong khi sự phân tán kích thước hạt của dược phẩm nhỏ mắt Restasis™ nằm trong khoảng rất rộng 21,04-712,4 nm.

Thật vậy, cả hai hỗn hợp nhũ tương nano theo sáng chế đều phù hợp để tạo thành dược phẩm nhỏ mắt khi so với dược phẩm nhỏ mắt Restasis™, và công đoạn lọc vô trùng bằng lưới lọc 0,22 μm có thể thực hiện được do kích thước hạt tối đa của hỗn hợp nhũ tương nano theo sáng chế không lớn hơn 220 nm.

Mẫu thí nghiệm 3: Tối ưu thành phần và hàm lượng của hỗn hợp nhũ tương nano

Sự hình thành dịch nhũ tương nano phụ thuộc vào hàm lượng của từng thành phần đã được kiểm chứng để xác định hàm lượng phù hợp tương ứng của dung môi không phải nước, thành phần nhũ tương hóa ưa nước, thành phần nhũ tương hóa kỵ nước để tạo thành hỗn hợp nhũ tương nano nhỏ mắt chứa cyclosporin theo sáng chế.

3.1. Hàm lượng của dung môi không phải nước

Hỗn hợp đã được chuẩn bị bằng cách sử dụng phương pháp giống như được trình bày ở mẫu thí nghiệm 1 với hàm lượng của cyclosporin, thành phần nhũ tương hóa ưa nước và thành phần nhũ tương hóa kỵ nước được cố định, trong khi hàm lượng của dầu thầu dầu được thay đổi lần lượt là 2,5% trọng lượng/thể tích, 3,0% trọng lượng/thể tích và 3,5% trọng lượng/thể tích, và sự hình thành dịch nhũ tương nano đã được kiểm chứng.

Kết quả được trình bày trên bảng 3 dưới đây.

Bảng 3

Cyclosporin	0,05g	0,05g	0,05g
Dầu thầu dầu	2,5g	3,0 g	3,5g
Cremophor ELP	5,0g	5,0g	5,0g
PEG 400	2,0g	2,0g	2,0g
Nước để tiêm	q.s → 100 ml	q.s → 100 ml	q.s → 100 ml
Kích thước hạt trung bình (nm)	45,75	105,0	chưa có thông tin

Như được trình bày trên bảng 3, sự vượt trội trong hình thành dịch nhũ tương nano có kích thước hạt 45,75 nm đã được khẳng định khi dầu thầu dầu được thêm 2,5% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm, nhưng kích thước hạt tăng lên khi tăng hàm lượng dầu thầu dầu lên 3,0% trọng lượng/thể tích và kích thước không thể đo được khi tăng hàm lượng dầu thầu dầu lên 3,5% trọng lượng/thể tích. Kết quả trên khẳng định rằng dầu thầu dầu (là dung môi không phải nước) tốt nhất là được đưa vào với hàm lượng gấp 8 lần hoặc hơn cyclosporin (là thành phần hoạt tính) để tạo thành hỗn hợp nhũ tương nano theo sáng chế, và hàm lượng tối đa của dầu thầu dầu trong hỗn hợp

chứa 5% trọng lượng/thể tích chất hoạt động bề mặt ưa nước là không lớn hơn 2,5% trọng lượng/thể tích.

3.2. Hàm lượng thành phần nhũ tương hóa

Thành phần nhũ tương hóa ưa nước và thành phần nhũ tương hóa kỵ nước là những thành phần thiết yếu để tạo thành dịch nhũ tương nano nhưng chúng gây ra tình trạng suy giảm về cảm giác nếu được đưa vào quá nhiều, ngược lại khi chúng được đưa vào với lượng không đủ thì dạng nhũ tương nano không thể được tạo thành, vì vậy lựa chọn hàm lượng thành phần nhũ tương hóa ưa nước và thành phần nhũ tương hóa kỵ nước vừa đủ là điều quan trọng. Do đó, hàm lượng thành phần nhũ tương hóa ưa nước và thành phần nhũ tương hóa kỵ nước cần thiết để tạo thành hỗn hợp nhũ tương nano dùng nhỏ mắt theo sáng chế đã được khẳng định thông qua thí nghiệm đối chứng. Lượng dầu thầu dầu (là dung môi không phải nước) đã được định mức gấp 8 lần hoặc hơn so với lượng cyclosporin, và việc tạo hỗn hợp nhũ tương nano đã được thực hiện dưới điều kiện giống như ở mẫu thí nghiệm 1 với Cremophor ELP là thành phần nhũ tương hóa ưa nước và polyetylen glycol 400 (PEG 400) là thành phần nhũ tương hóa kỵ nước. Hàm lượng của từng thành phần nhũ tương hóa và kết quả hình thành nhũ tương nano được trình bày trên bảng 4 dưới đây.

Bảng 4

Thành phần	1	2	3	4	5
Cyclosporin	0,05g	0,05g	0,05g	0,05g	0,03g
Dầu thầu dầu	0,42g	0,42g	0,42g	0,42g	0,25g
Cremophor ELP	1,8g	1,8g	0,6g	0,4g	0,4g
Polyetylen glycol 400	2,0g	5,0g	2,0g	2,5g	0,1g
Nước để tiêm	q.s → 100ml	q.s → 100ml	q.s → 100ml	q.s → 100ml	q.s → 100ml
Kích thước hạt trung bình (nm)	22,96	27,25	74,53	127,9	48,67
Ghi chú	-	-	- Sự phân bố hạt rộng	-	-

			- Hình thành hỗn hợp đục		
--	--	--	-----------------------------	--	--

Như trình bày trên bảng 4, dịch nhũ tương nano có kích thước hạt trung bình không lớn hơn 100 nm được tạo thành trong mọi hỗn hợp bao gồm Cremophor ELP (là thành phần nhũ tương hóa ưa nước) gấp 1,6 lần hoặc nhiều hơn so với lượng dầu thầu dầu hoặc bao gồm PEG 400 (là thành phần nhũ tương hóa kỵ nước) gấp tối đa 3 lần so với thành phần nhũ tương hóa ưa nước, nhưng kết quả khẳng định rằng sự tạo thành dịch nhũ tương nano tương đối khó khăn trong hỗn hợp mà trong đó lượng Cremophor ELP ít hơn 1,6 lần so với lượng dầu thầu dầu và lượng PEG vượt quá 3 lần so với lượng Cremophor ELP. Hơn nữa, dịch nhũ tương nano được tạo thành nhưng không thể duy trì pha của nó do sự ổn định thấp khi chứa thành phần nhũ tương hóa kỵ nước nhỏ dưới 0,1% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm. Cảm giác khó chịu do nhỏ dược phẩm mất trở nên tồi tệ hơn khi hàm lượng của từng thành phần nhũ tương hóa ưa nước hoặc thành phần nhũ tương hóa kỵ nước vượt quá 5% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm, và điều đó khẳng định rằng tốt nhất là hỗn hợp chứa thành phần nhũ tương hóa ưa nước trong khoảng gấp 1,6 lần hàm lượng dầu thầu dầu (là dung môi không phải nước) đến không lớn hơn 5% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm, và chứa thành phần nhũ tương hóa kỵ nước với hàm lượng trong khoảng 0,1% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm hoặc không lớn hơn 3 lần hàm lượng thành phần nhũ tương hóa ưa nước cho đến không lớn hơn 5% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm để tạo thành hỗn hợp nhũ tương nano có độ ổn định vượt trội cũng như gây cảm giác dễ chịu hơn hẳn khi nhỏ vào mắt.

Mẫu thí nghiệm 4: Hỗn hợp nhũ tương nano bổ sung chất ổn định

Như đã khẳng định trong các mẫu thí nghiệm 1-3, hỗn hợp nhũ tương nano có kích thước hạt trung bình không lớn hơn 100 nm có thể được tạo thành chỉ bằng cách bổ sung cyclosporin, dung môi không phải nước, thành phần nhũ tương hóa ưa nước và thành phần nhũ tương hóa kỵ nước. Hơn nữa, chất ổn định có thể bổ sung một cách có lựa chọn để tạo thành hỗn hợp nhũ tương nano dùng nhỏ mắt để cải thiện độ ổn định bởi vì việc duy trì độ ổn định của kích thước hạt sau khi tạo thành hỗn hợp nhũ tương nano

dùng nhỏ mắt rất quan trọng. Do đó, có thể khẳng định rằng chất ổn định có thể góp phần duy trì và làm ổn định kích thước hạt của dịch nhũ tương nano có thể được duy trì khi chất ổn định được thêm vào.

4.1 Chuẩn bị hỗn hợp nhũ tương nano có bổ sung chất ổn định và kích thước hạt trung bình của hỗn hợp nhũ tương nano

Cụ thể, hỗn hợp nhũ tương nano được chuẩn bị theo hàm lượng được trình bày trên bảng 5 sau đây. Chất ổn định và chất đẳng trương hóa được cho ngâm nước trong dung môi nước và pH được điều chỉnh về 7,2 bằng cách sử dụng NaOH và HCl. Pha dầu được tạo thành bằng cách sử dụng phương pháp giống như ở mẫu thí nghiệm 1 trong đó cyclosporin, dung môi không phải nước và thành phần nhũ tương hóa có hàm lượng được trình bày trên bảng 5 được hòa tan hoàn toàn, tiếp đó hỗn hợp được đưa vào dung môi nước, và được khuấy bằng máy khuấy (Super-Nuova™ Multi-place, Thermo Scientific) ở điều kiện 400-500 vòng/phút và nhiệt độ phòng. Pha duy nhất được hình thành nhờ SNEDDS như ở mẫu thí nghiệm 1. Kích thước hạt của hỗn hợp nhũ tương nano tạo thành được đo theo cách giống như ở mẫu thí nghiệm 1. Kích thước hạt trung bình của từng mẫu nhũ tương nano được trình bày trên bảng 5 sau đây.

Bảng 5

Thành phần		Mẫu							
		37	38	39	40	41	42	43	44
Thành phần hoạt tính (% trọng lượng/thể tích)	Cyclosporin	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Dung môi không phải nước (% trọng lượng/thể tích)	Dầu thầu dầu	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
Thành phần nhũ tương hóa (% trọng lượng/thể tích)	Cremophor ELP	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4
	Polyetylen glycol 400	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Chất ổn định (% trọng)	Natri Hyaluronat	0,1	-	-	-	-	-	-	-
	Natri Alginat	-	0,2	-	-	-	-	-	-

lượng/thể tích)	Hydroxypropylmetyl xenluloza	-	-	0,5	-	-	-	-	-
	Polyvinylpyrrolidon	-	-	-	1,2	-	-	-	-
	Hydroxyetyl xenluloza	-	-	-	-	0,5	-	-	-
	Rượu polyvinyllic	-	-	-	-	-	1,4	-	-
	Gôm xanthan	-	-	-	-	-	-	0,2	-
	Natri Cacboxymetyl xenluloza	-	-	-	-	-	-	-	0,5
Chất đẳng trương hóa (v/v%)	Glyxerol	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2
Nhân tố điều chỉnh pH	NaOH, HCl	q.s →7,2	q.s →7,2	q.s →7,2	q.s →7,2	q.s →7,2	q.s →7,2	q.s →7,2	q.s →7,2
Dung môi nước	Nước cất (ml)	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s
	Kích thước hạt trung bình	28,15	25,62	61,75	40,41	60,33	41,03	33,93	33,15

Như được trình bày trên bảng 5, hỗn hợp nhũ tương nano có kích thước hạt trung bình không lớn hơn 100 nm được tạo thành ngay cả khi bổ sung chất ổn định, và kết quả cũng khẳng định rằng sự phân tán kích thước hạt của hỗn hợp được tạo thành khá hẹp. Qua đó có thể khẳng định rằng kích thước hạt và sự phân tán kích thước hạt tốt nhất của hỗn hợp nhũ tương nano theo sáng chế có thể được duy trì ngay cả khi được bổ sung chất ổn định.

4.2. Đánh giá độ ổn định với nhiệt độ của hỗn hợp nhũ tương nano

Hỗn hợp nhũ tương nano được tạo thành với hàm lượng được trình bày trên bảng 6 sau đây bằng cách sử dụng phương pháp giống như ở mẫu thí nghiệm 4 (1). Để đánh giá sự ổn định lý hóa của hỗn hợp nhũ tương nano, lượng cyclosporin và kích thước hạt trung bình của hỗn hợp nhũ tương nano đã được phân tích trong khi lưu trữ hỗn hợp nhũ tương nano 2 tuần ở điều kiện $70 \pm 2^\circ\text{C}$. Lượng cyclosporin đã được đo bằng phương pháp sắc ký sử dụng hệ thống sắc ký lỏng siêu hiệu năng (UPLC) ACQUITY (Waters Asia Ltd., 396 Alexandra Road #04-06 BP Tower, Singapore 119954) với điều kiện phân tích được trình bày trên bảng 7 sau đây.

Bảng 6

Thành phần		Mẫu																
		45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
Thành phần hoạt tính (% trọng lượng/thể tích)	Cyclosporin	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Dung môi không phải nước (% trọng lượng/thể tích)	Dầu thầu dầu	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
Thành phần nhũ tương hóa (% trọng lượng/thể tích)	Cremophor ELP	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	1,8	1,8	1,8	1,8
	Polyetylen glycol 400	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
	Propylen Glycol							0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Chất ổn định (% trọng lượng/thể tích)	Natri Hyaluronat		0,1						0,1									
	Polyvinylpyrrolidon			1,8						1,8					1,8			
	Natri Alginat				0,2						0,2							
	Natri Cacboxymethyl xenuloza					0,5						0,5				0,5	0,2	
	Polyvinylalcohol						1,4						1,4					

Thành phần		Mẫu																	
		45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	
	Gôm xanthan														0,1	0,1		0,2	
Chất đẳng trương hóa (v/v%)	Glyxerol	2	2	2	2	2	2	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	
Chất điều chỉnh pH	NaOH, HCl	q.s → 7,2	q.s → 7,2	q.s → 7,2	q.s → 7,2	q.s → 7,2	q.s → 7,2	q.s → 7,2	q.s → 7,2	q.s → 7,2	q.s → 7,2	q.s → 7,2	q.s → 7,2	q.s → 7,2	q.s → 7,2	q.s → 7,2	q.s → 7,2	q.s → 7,2	
Dung môi nước	Nước cất (ml)	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	

Bảng 7. Điều kiện phân tích UPLC

Cột	Cột UPLC (sắc kí lỏng siêu hiệu năng) 1HSS T3,8 μm 2,1 $\times$ 100 mm
Bước sóng của máy dò tia cực tím	210 nm
Nhiệt độ cột	75°C
Nhiệt độ mẫu	25°C
Tốc độ dòng	0,250 ml/phút
Lượng bơm	5 μl
Thời gian chạy	20 phút
Pha di động	Axetonitrin (ACN) : nước = 68:32

Kết quả đo hàm lượng (%) của cyclosporin và kích thước hạt trung bình (nm) trong hỗn hợp nhũ tương nano (đã được lưu trữ 2 tuần ở điều kiện nhiệt độ cao) được trình bày trên bảng 8 sau đây.

Bảng 8

Mục	Thời gian (tuần)	Mẫu																
		45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
Hàm lượng	0	101,97	102	101,66	98,32	99,91	98,32	101,87	100,6	100,36	101,7	100,91	101,64	100,76	101,4	100,35	102,24	102,24
	1	97,17	103,8	103,55	100,7	103,3	101,1	97,85	98,02	97,08	100,1	99,45	99,93	97,03	99,58	99,6	98,7	98,7
	2	92,96	99,93	102,47	96,83	94,64	96,83	90,32	91,86	98,73	96,93	98,18	94,64	91,15	98,04	100,5	99,26	99,26
Kích thước	0	17,85	30,59	25,41	24,06	33,15	36,11	18,53	32,64	30,14	23,19	32,44	37,8	25,04	41,85	38,38	48,13	36,88
	1	30,12	27,9	28,26	24,34	35,15	50,85	21,02	34,57	31,66	23,55	34,54	46,91	31,81	42,39	35,98	44,33	34,08
	2	50,04	23,92	29,86	23,63	33,66	50,8	53,06	34,29	38,84	27,79	35,31	51,53	54,98	42,5	36,27	44,19	38,62

Như được trình bày trên bảng 8, hàm lượng cyclosporin trong tất cả các mẫu 45-61 đều phù hợp với tiêu chí phân tích (90-110%) và kích thước hạt trung bình không lớn hơn 100 nm được duy trì dưới nhiệt độ cao $70 \pm 2^\circ\text{C}$ thậm chí sau 2 tuần. Hàm lượng cyclosporin trong tất cả các mẫu 45, 51 và 57 mà trong đó chất ổn định không được thêm vào đều không thấp hơn 90%, qua đó khẳng định rằng kích thước hạt được duy trì không lớn hơn 100 nm, nhưng các mẫu còn lại mà trong đó chất ổn định được bổ sung thì sự sụt giảm hàm lượng cyclosporin và sự thay đổi kích thước hạt rất thấp. Từ kết quả trên có thể khẳng định rằng hỗn hợp nhũ tương nano theo sáng chế có thể duy trì độ ổn định lí hóa của nó dưới điều kiện nhiệt độ cao, và đặc biệt là độ ổn định lí hóa còn có thể được nâng cao hơn khi chất ổn định được thêm vào.

Mẫu thí nghiệm 5: Đánh giá sự ổn định của hỗn hợp nhũ tương nano

5.1. Đánh giá sự ổn định lâu dài của hỗn hợp nhũ tương nano

Để sử dụng được làm dược phẩm nhỏ mắt, độ ổn định lí hóa lâu dài của hỗn hợp cần được bảo toàn dưới điều kiện bảo quản tăng tốc ($40 \pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm không khí không lớn hơn 25%), là điều kiện thí nghiệm mà độ ổn định lí hóa trong thời gian bảo quản 6 tháng có thể được sử dụng làm dữ liệu tương đương để đánh giá độ ổn định lí hóa trong thời gian bảo quản 24-36 tháng ở nhiệt độ phòng ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm không khí $40 \pm 5\%$). Do đó, hỗn hợp nhũ tương nano của các mẫu 45-61 được bảo quản trong 6 tháng dưới điều kiện nhiệt độ phòng và điều kiện tăng tốc, và hàm lượng của cyclosporin và kích thước hạt trong hỗn hợp nano nhũ tương được đo ở các thời điểm tháng thứ 0, tháng thứ 3, và tháng thứ 6. Phương pháp đo hàm lượng cyclosporin và kích thước hạt giống như ở mẫu thí nghiệm 3.

Kết quả của thí nghiệm trên được trình bày trên bảng 9 và bảng 10 sau đây.

Như được trình bày trên bảng 9 và bảng 10, hỗn hợp nhũ tương nano của các mẫu 45-61 được khẳng định là rất ổn định dưới điều kiện nhiệt độ phòng (bảng 9) và điều kiện tăng tốc (bảng 10) do ít có sự thay đổi về hàm lượng cũng như kích thước hạt trong thời gian dài.

Bảng 9

Mục	Thời gian (tháng)	Mẫu																
		45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
Hàm lượng	0	101,97	102,0	101,66	98,32	99,91	98,32	101,87	100,6	100,36	101,7	100,91	101,64	100,76	101,4	100,35	102,24	102,24
	3	96,08	103,43	101,37	99,45	100,63	100,56	96,24	102,57	101,36	100,64	101,17	102,74	96,07	103,89	103,60	104,26	102,68
	6	96,33	103,26	101,49	101,85	104,24	103,62	98,84	104,22	102,57	101,08	104,85	102,23	99,37	103,51	104,58	105,97	100,18
Kích thước	0	17,85	30,59	25,41	24,06	33,15	36,11	18,53	32,64	30,14	23,19	32,44	37,8	25,04	41,85	38,38	48,13	36,88
	3	21,08	31,44	26,97	24,24	35,44	45,79	18,62	32,96	31,20	25,77	32,75	44,30	19,19	41,90	50,55	36,68	39,26
	6	20,88	31,14	26,52	24,20	35,25	45,66	18,63	33,05	31,20	22,16	32,36	44,46	19,64	48,30	52,81	36,47	41,18

Bảng 10

Mục	Thời gian (tháng)	Mẫu																
		45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
Hàm lượng	0	101,97	102,0	101,66	98,32	99,91	98,32	101,87	100,6	100,36	101,7	100,91	101,64	100,76	101,4	100,35	102,24	102,24
	3	102,27	99,79	100,47	101,39	103,49	101,97	105,02	96,70	100,28	99,10	105,87	106,93	106,18	99,27	100,60	104,49	104,62
	6	102,86	100,87	102,21	102,01	101,95	102,31	102,01	102,54	101,87	99,95	102,18	103,35	107,29	102,39	104,02	103,43	99,84
Kích thước	0	17,85	30,59	25,41	24,06	33,15	36,11	18,53	32,64	30,14	23,19	32,44	37,8	25,04	41,85	38,38	48,13	36,88
	3	31,99	41,36	41,45	34,02	54,54	74,07	29,10	48,86	47,68	31,80	60,35	71,25	23,77	44,96	58,16	41,02	40,46
	6	31,47	40,70	40,88	33,80	54,79	73,64	29,20	49,81	47,56	31,62	58,92	71,62	23,78	45,39	55,42	41,15	43,02

5.2. Đánh giá sự ổn định phân tán của hỗn hợp nhũ tương nano

Để đánh giá sự ổn định lâu dài của hỗn hợp nhũ tương nano so với dịch nhũ tương và huyền phù, thí nghiệm kiểm tra độ ổn định phân tán đã được tiến hành bằng cách sử dụng thiết bị Turbiscan (Turbiscan Ageing Station, Formulaction, Pháp) theo hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất. Các thành phần của hỗn hợp nhũ tương nano, dịch nhũ tương và dịch huyền phù sử dụng trong thí nghiệm được trình bày trên bảng 11 sau đây, và hỗn hợp nhũ tương nano được chuẩn bị bằng cách sử dụng phương pháp giống như ở mẫu thí nghiệm 4 (1). Phương pháp chuẩn bị dịch nhũ tương như sau: chất ổn định và chất đẳng trương hóa của bảng 11 được cho ngâm nước trong dung môi nước và pH của chúng được điều chỉnh về 7,2 bằng cách sử dụng NaOH và HCl. Pha dầu được chuẩn bị bằng cách hòa tan hoàn toàn cyclosporin, dung môi không phải nước và thành phần nhũ tương hóa với hàm lượng được trình bày trên bảng 11 nhờ phương pháp giống như ở mẫu thí nghiệm 1. Pha dầu đã chuẩn bị được đưa vào dung môi nước rồi hỗn hợp được khuấy ở 400-500 vòng/phút và nhiệt độ phòng bằng cách sử dụng máy khuấy (Super-Nuova™ Multi-place, Thermo Scientific). Hỗn hợp được nhũ hóa bằng cách sử dụng máy khuấy tốc độ cao (Homomixer T-Basic 25, IKA™) với tốc độ khuấy 9000-17500 vòng/phút, và dịch nhũ tương được tạo thành nhờ quá trình loại bỏ bọt khí và quá trình làm mát đến nhiệt độ phòng. Dịch huyền phù của thí nghiệm được chuẩn bị nhờ phương pháp sau: chất ổn định và chất đẳng trương hóa ở bảng 11 được cho ngâm nước trong dung môi nước và pH của chúng được điều chỉnh về 7,2 bằng cách sử dụng NaOH và HCl. Cyclosporin và thành phần nhũ tương hóa với hàm lượng được trình bày trên bảng 11 được đưa vào dung môi nước rồi hỗn hợp được khuấy ở 400-500 vòng/phút và nhiệt độ phòng bằng cách sử dụng máy khuấy (Super-Nuova™ Multi-place, Thermo Scientific) trong 10 phút. Hỗn hợp tiếp tục được làm phân tán bằng cách sử dụng máy khuấy tốc độ cao (Homomixer T-Basic 25, IKA™) với tốc độ khuấy 9000-17500 vòng/phút, và dịch huyền phù được tạo thành nhờ quá trình loại bỏ bọt khí và quá trình làm mát đến nhiệt độ phòng.

Bảng 11

Thành phần (% trọng lượng/thể tích)		Mẫu		Nhũ tương	Huyền phù
		62	63		
Thành phần hoạt tính	Cyclosporin	0,05	0,05	0,05	0,05
Dung môi không phải nước	Dầu thầu dầu	0,42	0,42	1,26	-
Thành phần nhũ tương hóa	Cremophor ELP	1,8	1,8	-	-
	Polysorbat 80	-	-	1,0	1,0
	polyetylen glycol 400	0,4	0,4	-	-
	Propylen glycol	0,3	0,3	-	-
Chất ổn định	Natri Cacboxymetyl xenluloza	0,1	1,0	-	0,5
	Gôm xanthan	0,1	0,6	0,6	0,3
Thành phần đệm	Axit boric	0,2	1,0	-	-
Chất đẳng trương hóa	Glyxerol	1,7	0,3	2,2	2,2
Chất điều chỉnh pH	NaOH	q.s →7,2	q.s → 7,2	q.s → 7,2	q.s →7,2
Dung môi nước	Nước cất (ml)	q.s	q.s	q.s	q.s

Sự biến thiên độ ổn định phân tán theo thời gian dưới nhiệt độ nhất định có thể đo được bằng cách sử dụng thiết bị Turbiscan, và do đó, độ ổn định phân tán được đo ở 50°C phù hợp với hướng dẫn của nhà sản xuất. Cụ thể, hỗn hợp nhũ tương nano, dịch nhũ tương và dịch huyền phù được lắc và được bơm vào thiết bị Turbiscan tương ứng, rồi được ủ ở 50°C trong 48 giờ, và mô hình biến thiên của từng mẫu theo chỉ số độ ổn định Turbiscan (TSI) thu được (được đo bởi thiết bị Turbiscan) đã được quan sát.

Kết quả TSI của các mẫu 62 và 63 được minh họa trên Fig.2.

Như được minh họa trên Fig.2, giá trị TSI của hỗn hợp nhũ tương nano sau 48 giờ là 9,2 (mẫu 62) và 10,6 (mẫu 63). Các giá trị TSI này là rất thấp so với giá trị TSI của dịch nhũ tương (cụ thể là 62,4) và dịch huyền phù (cụ thể là 93,8) được đo ở cùng điều kiện. Từ kết quả trên có thể khẳng định rằng độ ổn định của hỗn hợp nhũ tương nano được tạo thành rõ ràng vượt trội so với dịch nhũ tương hay huyền phù hiện có.

Mẫu thí nghiệm 6: thử nghiệm giải phóng dược phẩm trong ống nghiệm của hỗn hợp nhũ tương nano

Để khẳng định hỗn hợp nhũ tương nano được tạo thành có giải phóng cyclosporin A (là thành phần hoạt tính) với tốc độ thích hợp hay không, khảo nghiệm giải phóng từ màng xenluloza trong ống nghiệm để đánh giá sự giải phóng dược phẩm đã được tiến hành. Các thành phần của hỗn hợp nhũ tương nano dùng cho khảo nghiệm này giống hệt như thành phần của mẫu 62 và mẫu 63 trong mẫu thí nghiệm 5(2), và được chuẩn bị bằng phương pháp giống như ở mẫu thí nghiệm 4(1). Dược phẩm Retasis™ có sẵn trên thị trường được sử dụng làm dược phẩm đối chứng.

Cụ thể, màng (màng este xenluloza 100 kDa) đã được cắt thành kích thước phù hợp và được ngâm hơn 1 giờ trong dung dịch trung bình (70% Metanol + 30% dung dịch muối cân bằng (BSS)). Dung dịch trung bình được chuẩn bị 100 ml trong các cốc có kích cỡ giống nhau, và các thanh từ có hình dạng và kích thước giống nhau được đặt vào mỗi cốc. Đầu đối diện của các màng được gấp lại và được kẹp vào thanh kẹp, và hỗn hợp nhũ tương nano và dược phẩm đối chứng được đưa vào trong màng tương ứng, và nhúng các màng chứa dược phẩm vào các cốc ở cùng độ cao trong khi màng chìm hoàn toàn trong cốc nhưng không tiếp xúc với thanh từ. Việc khuấy được thực hiện trong cùng thời gian và cùng tốc độ 150 vòng/phút. Các mẫu được lấy ở các thời điểm thích hợp và được đo hàm lượng cyclosporin nhờ thử nghiệm đo hàm lượng bằng phương pháp UPLC theo cách giống như ở mẫu thí nghiệm 4(2).

Thông qua kết quả thử nghiệm giải phóng dược phẩm, có thể khẳng định rằng hỗn hợp nhũ tương nano của mẫu 62 và mẫu 63 thường duy trì được nồng độ dược phẩm không đổi sau 5 giờ kể từ khi bắt đầu thử nghiệm và đạt đến nồng độ trạng thái dừng. Theo đó, điểm cuối của thử nghiệm giải phóng dược phẩm được đặt là 6 giờ sau khi bắt đầu thử nghiệm. Nồng độ của dược phẩm trong mẫu 62 đo được sau 5 giờ là

52,0% và sau 6 giờ (điểm cuối) là 54,2%. Các nồng độ này rất giống với nồng độ 55,3% (sau 5 giờ) và 56,3% (sau 6 giờ) của dược phẩm đối chứng (Restasis™), và qua đó có thể khẳng định rằng hỗn hợp nhũ tương nano được tạo thành là dược phẩm phù hợp để nhỏ mắt.

Mẫu thí nghiệm 7: Đánh giá sự kích thích ở mắt của dược phẩm nhũ tương nano

Việc đánh giá sự kích thích ở mắt đã được tiến hành để kiểm tra cảm giác bằng cách nhỏ vào mắt hỗn hợp của mẫu 62 trong hỗn hợp nhũ tương nano được tạo thành. 30 µl hỗn hợp nhũ tương nano của mẫu 62 đã được sử dụng cho cả hai mắt của 40 người lớn khỏe mạnh, tiếp đó cảm giác nóng rát và cảm giác có dị vật của giọt nhỏ vào mắt của từng người được đánh giá và ghi điểm sau 10 phút theo thang điểm trên bảng 12 sau đây. Restasis™ được sử dụng làm dược phẩm đối chứng.

Bảng 12

Thang điểm	Cảm giác nóng rát	Cảm giác có dị vật
0	Không ngứa, rất mịn	Cảm giác không có dị vật, không có cảm giác sệt
1-2	Ít ngứa (ít nhức)	Hơi có cảm giác có dị vật và sệt
3-4	Ngứa (nhức)	Cảm giác có dị vật liên tục kèm theo hơi đau, cảm giác sệt đặc
5	Lập tức có cảm giác kích thích và rất khó chịu	Cảm giác có dị vật kéo dài và sệt đặc kèm đau mạnh

Kết quả được trình bày trên bảng 13 và Fig.3.

Bảng 13

Đối tượng	Cảm giác nóng rát		Cảm giác có dị vật	
	Mẫu 62	Restasis™	Mẫu 62	Restasis™
1	0	4	0	4
2	1	3	1	3
3	1	0	1	0
4	2	2	0	2

Đối tượng	Cảm giác nóng rát		Cảm giác có dị vật	
	Mẫu 62	Restasis™	Mẫu 62	Restasis™
5	2	0	1	0
6	2	4	1	3
7	3	2	0	0
8	2	0	1,5	1
9	2	1	0	0
10	1	0	0	0
11	0	0	1	1
12	1	3	0	0
13	0	2	0	0
14	0	1	0	0
15	2	1	0	2
16	0	0	2	2
17	2	1	1	1
18	0	3	0	0
19	1	3	1	2
20	0	0	0	0
21	3	2	3	1
22	1	3	3	1
23	1	0	2	0
24	0	3	0	0
25	0	1	0	0
26	1	4	0	4
27	0	0	2	1
28	3	4	1	1
29	0	0	1	0
30	0	2	0	2
31	4,5	3,5	3	3
32	0	1	0	1
33	0	1	0	0
34	3	4	2	1
35	0	2	1	1

Đối tượng	Cảm giác nóng rát		Cảm giác có dị vật	
	Mẫu 62	Restasis™	Mẫu 62	Restasis™
36	1	2	0	1
37	3	2	0	1
38	0	2	1	1
39	0	1	0	1
40	0	2	1	1
Tổng số	42,5	69,5	30,5	42
Trung bình	1,1	1,7	0,8	1,1

Như được trình bày trên bảng 13 và Fig.13, được phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt của mẫu 62 cho thấy điểm trung bình về cảm giác nóng rát là 1,1 và điểm trung bình về cảm giác có dị vật là 0,8, điểm số này thấp hơn so với được phẩm đối chứng Restasis™ có điểm số về cảm giác nóng rát và cảm giác có dị vật lần lượt là 1,7 và 1.1. Từ kết quả trên có thể khẳng định rằng, hỗn hợp nhũ tương nano dùng nhỏ mắt là được phẩm cho thấy cảm giác khi nhỏ vào mắt được cải thiện so với được phẩm Restasis™ hiện có.

Được phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt theo sáng chế được đặc trưng bởi có kích thước hạt trung bình không lớn hơn 200 nm, tốt nhất là không lớn hơn 100 nm và có sự phân tán hạt hẹp, và do đó có thể áp dụng việc lọc vô trùng, độ ổn định có thể được cải thiện và có hiệu quả vượt trội trong cải thiện các biểu hiện lâm sàng như cảm giác có dị vật và rối loạn thị giác. Do đó, được phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt theo sáng chế có thể được sử dụng hiệu quả làm được phẩm nhỏ mắt.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt chứa:

cyclosporin có hàm lượng từ 0,02-0,3% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm;

dầu thầu dầu có hàm lượng gấp ít nhất 8 lần hàm lượng cyclosporin và không lớn hơn 2,5% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm;

một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa ưa nước được lựa chọn từ nhóm bao gồm dầu thầu dầu polyoxyl 35, các este polyoxyetylen sorbitan của axit béo và este polyoxyetylen của axit béo;

một hoặc nhiều thành phần nhũ tương hóa kỵ nước được chọn từ nhóm bao gồm este sorbitan của axit béo, este glyxerin của axit béo, dietylen glycol monoetyl ete, polyetylen glycol, propylen glycol và este propylen glycol của axit béo; và

dung môi nước.

2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó thành phần nhũ tương hóa ưa nước là dầu thầu dầu polyoxyl 35 và hàm lượng của thành phần nhũ tương hóa ưa nước gấp ít nhất 1,6 lần hàm lượng dầu thầu dầu và không lớn hơn 5% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm.

3. Dược phẩm theo điểm 2, trong đó thành phần nhũ tương hóa kỵ nước ít nhất được chọn từ nhóm gồm polyetylen glycol, propylen glycol và dietylen glycol monoetyl ete, và hàm lượng của thành phần nhũ tương hóa kỵ nước chiếm ít nhất 0,1% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm và gấp không lớn hơn 3 lần hàm lượng thành phần nhũ tương hóa ưa nước.

4. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó:

thành phần nhũ tương hóa ưa nước là dầu thầu dầu polyoxyl 35 và hàm lượng của thành phần nhũ tương hóa ưa nước gấp ít nhất 12,8 lần lượng cyclosporin và không lớn hơn 5,0% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm; và

thành phần nhũ tương hóa kị nước ít nhất được chọn từ nhóm gồm polyetylen glycol, propylen glycol và dietylen glycol monoetyl ete, và hàm lượng của thành phần nhũ tương hóa kị nước chiếm 0,1-5% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm.

5. Dược phẩm theo điểm 3, trong đó thành phần nhũ tương hóa kị nước ít nhất được chọn từ nhóm gồm polyetylen glycol và propylen glycol.

6. Dược phẩm theo điểm 3, trong đó thành phần nhũ tương hóa kị nước là polyetylen glycol và propylen glycol.

7. Dược phẩm theo điểm 4, trong đó thành phần nhũ tương hóa kị nước ít nhất được chọn từ nhóm gồm polyetylen glycol và propylen glycol.

8. Dược phẩm theo điểm 4, trong đó thành phần nhũ tương hóa kị nước là polyetylen glycol và propylen glycol.

9. Dược phẩm theo một trong các điểm 1-8, trong đó dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt còn bao gồm một hoặc nhiều chất ổn định được chọn từ nhóm gồm cacboxymetyl xenluloza (CMC), hydroxypropyl metyl xenluloza (HPMC), hydroxyetyl xenluloza (HEC), rượu polyvinyllic (PVA), polyvinylpyrrolidon (PVP), cacbome, gồm gellan, gồm xanthan, axit hyaluronic (HA), natri hyaluronat, natri alginat và dextran.

10. Dược phẩm theo một trong các điểm 1-8, trong đó dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt còn bao gồm một hoặc nhiều chất ổn định được chọn từ nhóm gồm cacboxymetyl xenluloza (CMC), gồm xanthan, axit hyaluronic (HA) và natri hyaluronat.

11. Dược phẩm theo một trong các điểm 1-8, trong đó dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt còn bao gồm một hoặc nhiều chất ổn định được chọn từ nhóm gồm cacboxymetyl xenluloza (CMC) và gồm xanthan.

12. Dược phẩm theo một trong các điểm 1-8, trong đó dược phẩm dạng nhũ tương nano dùng cho mắt còn bao gồm cacboxymetyl xenluloza (CMC) và gồm xanthan.

13. Dược phẩm theo một trong các điểm 9-12, trong đó thành phần chất ổn định có hàm lượng từ 0,01-2,0% trọng lượng/thể tích so với tổng khối lượng của dược phẩm.

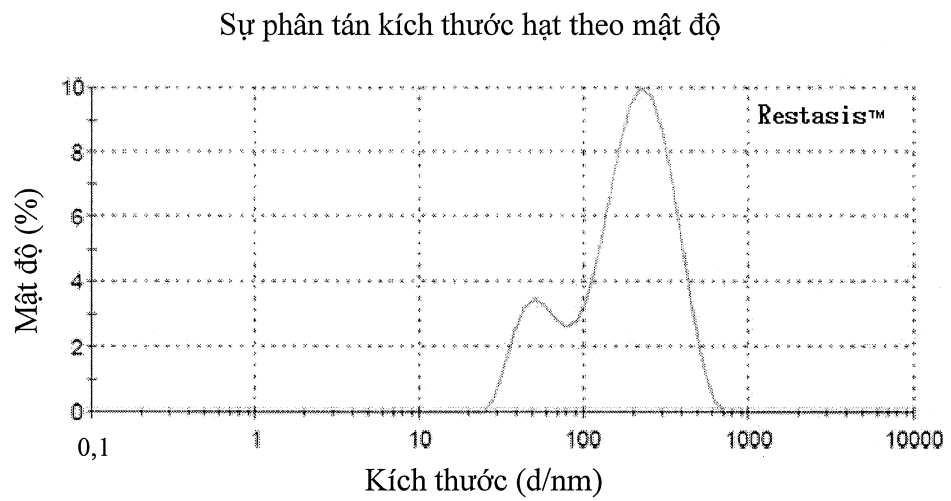
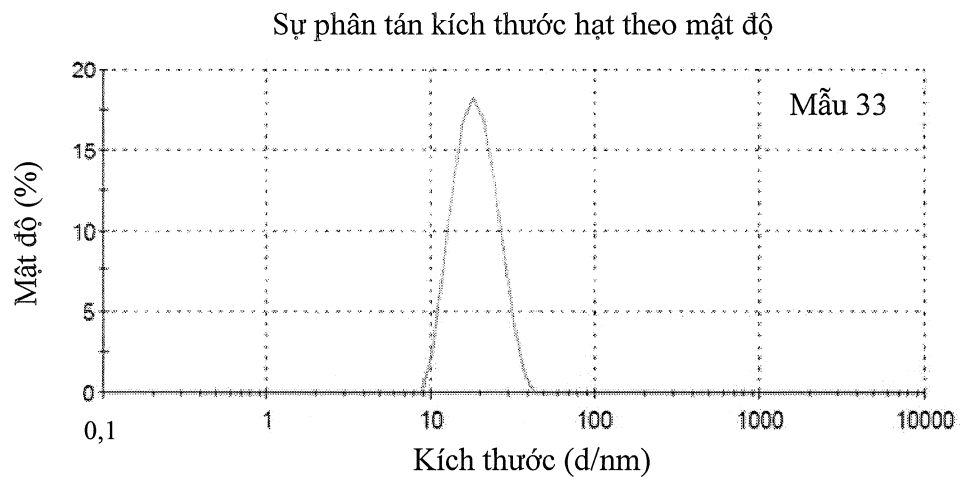


Fig.1

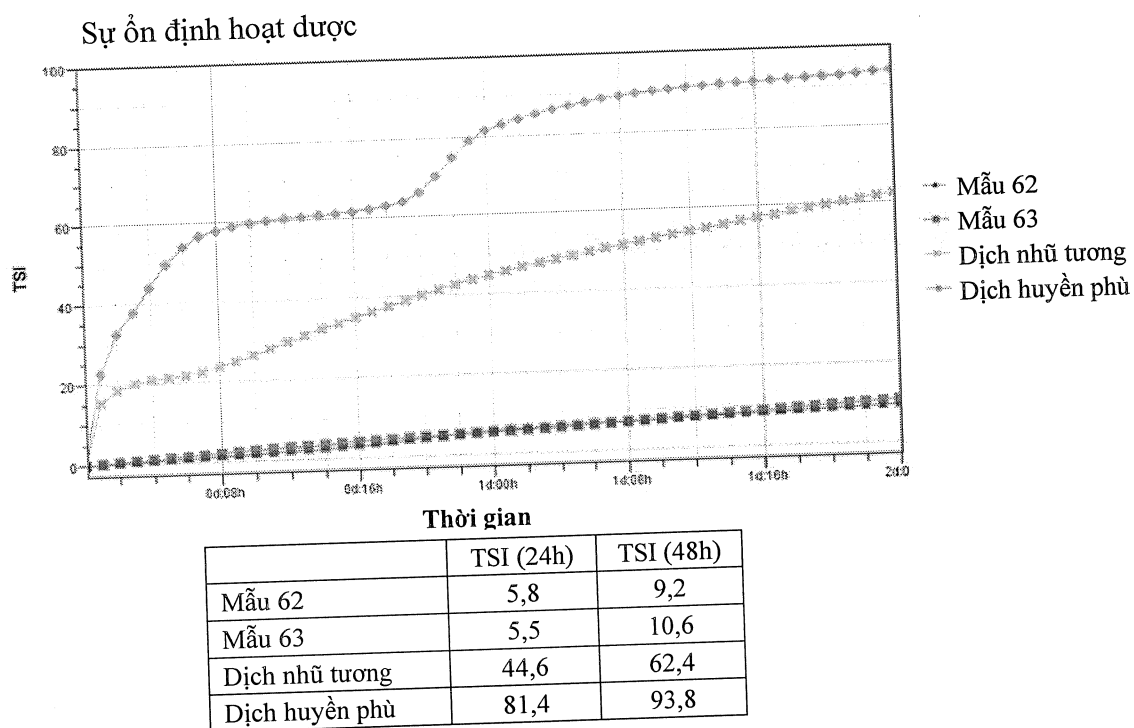


Fig.2

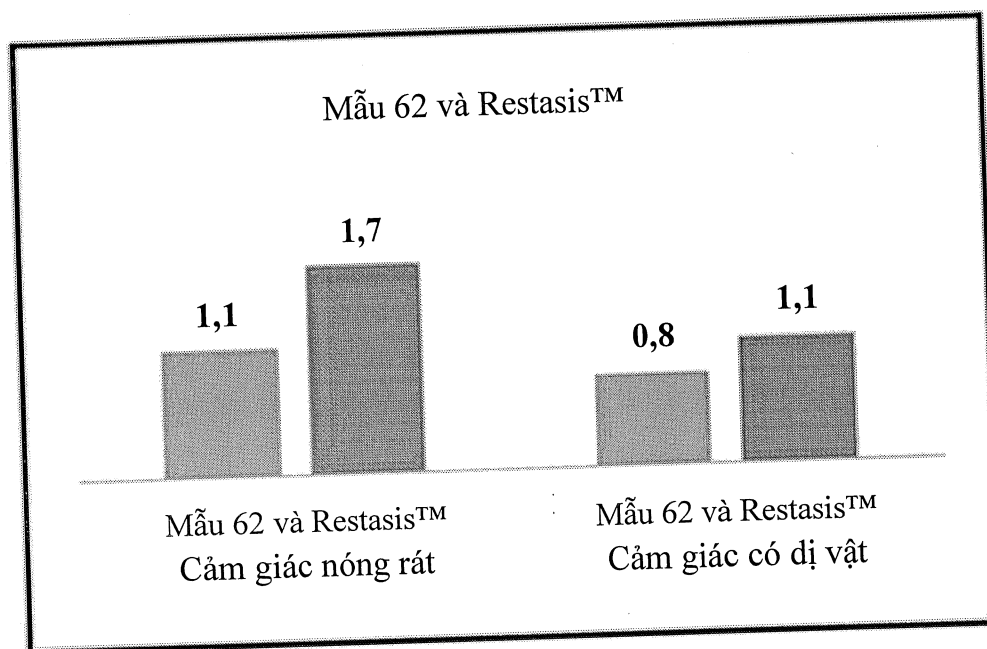


Fig.3