

## BÀO CHẾ VÀ THỬ NGHIỆM *In vitro* LIPOSOME METFORMIN

Lê Trọng Nghĩa, Lê Thùy Dung, Trần Thanh Xuân, Nguyễn Thiện Toàn và Lê Thanh Phước

Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 28/11/2015

Ngày chấp nhận: 24/05/2016

### Title:

Formulation and *in vitro* evaluation of liposome metformin

### Từ khóa:

Liposome metformin, giải phóng kéo dài, hydrat hóa film mỏng, giải phóng đường type 2

### Keywords:

Liposome metformin, sustained release, the thin film hydration, type 2 diabetes.

### ABSTRACT

Metformin is recommended to treat type 2 diabetes for first-line by ADA (American Diabetes Association). Because of its short plasma half-life and rapid administration, patients need to repeat administration of high doses. This reduces patient's compliance and induces more side-effects. The purpose of this study is to design the extended-release formulation to maintain steady state of plasma concentration for a longer period of time in order to reduce the frequency of administration, reduce toxicity and increase the treatment efficiency. Liposomal suspensions containing metformin hydrochloride with main membranous components being phosphatidylcholine (PC) and cholesterol (CHL) at different proportions changing from 20 to 30% (w/w) were prepared by the thin film hydration method. They were evaluated for mean size, drug entrapment efficiency, *in vitro* drug release in order to choose the optimized formulations. The results showed that all of the formulations had high degree of entrapment (61.7-74.3%) with sustained release of the drug being 8 hours. They were also affected by PC/CHL ratio (w/w) and liposomal membrane/metformin ratio (w/w). The most optimized formulation (F) showed the highest performance of over 74%, mean size of 521 nm and the best extended release (only 60% of drug was released after 8 hours). This formulation could be used to develop a new sustaining drug carrier system for metformin.

### TÓM TẮT

Metformin là thuốc được Hiệp hội giải phóng đường Hoa Kỳ (ADA) khuyến cáo điều trị bước đầu đối với bệnh nhân giải phóng đường (ĐTĐ) type 2. Tuy nhiên thuốc được hấp thu nhanh chóng (sau 2,5 giờ), thời gian bán thải ngắn (0,6-2,9 giờ) vì vậy bệnh nhân cần phải sử dụng thuốc nhiều lần trong ngày. Điều này làm giảm sự tuân thủ của bệnh nhân và tăng tác dụng phụ của thuốc. Vì vậy, nghiên cứu bào chế và đánh giá đặc tính của liposome metformin được thực hiện nhằm giảm số lần dùng thuốc trong ngày, tăng hiệu quả điều trị và giảm độc tính. Hệ phân tán liposome metformin được tạo ra bằng phương pháp hydrat hóa film mỏng, với thành phần chính của màng liposome là phosphatidylcholine (PC) kết hợp với cholesterol (CHL) có tỷ lệ cholesterol thay đổi từ 20-30%. Dựa vào khả năng liposome hóa, kích thước các tiểu phân (hạt) và kết quả phóng thích thuốc từ thử nghiệm *in vitro* để xác định hệ có công thức tối ưu nhất. Kết quả nghiên cứu cho thấy các công thức tạo ra đều cho hiệu suất liposome hóa cao (61,7-74,3%), có sự phóng thích thuốc chậm trong 8 giờ và bị ảnh hưởng bởi tỷ lệ khối lượng phosphatidyl choline/cholesterol và khối lượng màng liposome/metformin. Công thức tối ưu trong nghiên cứu (F) với tỷ lệ PC/CHL là 80/20 và tỷ lệ màng liposome/metformin là 4/1 có hiệu suất liposome hóa trên 74%, kích thước hạt trung bình 521 nm và cho thấy sự phóng thích thuốc kéo dài (sau 8 giờ chỉ giải phóng 60% được chất). Đây là công thức có tiềm năng phát triển dạng thuốc phóng thích kéo dài cho metformin.

Trích dẫn: Tác giả, 2016. Bào chế và thử nghiệm *In vitro* liposome metformin. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 43a: 19-25.

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Metformin là loại thuốc trị đái tháo đường (ĐTĐ) duy nhất thuộc nhóm biguanide được sử dụng trong lâm sàng (Anderson, P. O. *et al.*, 2002), là thuốc được khuyến cáo điều trị bước đầu dành cho bệnh nhân ĐTĐ type 2 (Andreja Marić, 2010; Nathan, D. M. *et al.*, 2009). Tuy nhiên, thuốc thường hấp thu nhanh chóng sau khi uống, thời gian bán thải ngắn 0,6-2,9 giờ và sinh khả dụng chỉ đạt khoảng 50-60% (Sweetman, S.C. *et al.*, 2005). Vì vậy, bệnh nhân phải sử dụng thuốc nhiều lần trong ngày để đạt hiệu quả, điều này làm giảm sự tuân thủ phác đồ điều trị của bệnh nhân và tăng tác dụng phụ của thuốc.

Liposome là những tiểu phân hình cầu, có kích thước nhỏ, gồm một nhân nước ở trong được bao bọc bởi một hoặc nhiều lớp màng lipid kép đồng tâm. Các lớp màng kép của liposome được tạo nên bởi các lipid tự nhiên hoặc tổng hợp, do đó liposome có tính tương thích sinh học tương đối với màng tế bào, phân hủy sinh học và ít bị hệ miễn dịch đào thải. Với cấu trúc đặc biệt, liposome có thể che chở và vận chuyển được cả những hoạt chất thân dầu và thân nước. Các hoạt chất thân nước sẽ nằm bên trong nhân nước của liposome và các hoạt chất thân dầu sẽ nằm bên trong lớp màng lipid kép (Laouini, A. C. *et al.*, 2012). Liposome được ứng dụng nhiều trong dược phẩm như là phương tiện giúp dung nạp thuốc tốt hơn do chúng có khả năng cải thiện độ bền, tính tan, khả năng thấm qua màng, giảm độc tính của thuốc và kéo dài thời gian phóng thích thuốc (Lian, T. *et al.*, 2001).

Với những đặc tính đặc biệt của một hệ mang thuốc mới, liposome có khả năng cải thiện được tính thấm qua màng, độ bền và giảm được độc tính của metformin. Đặc biệt, liposome có khả năng phóng thích thuốc chậm, vì vậy, sự kết hợp của liposome và metformin có tiềm năng tạo ra dạng thuốc mới có khả năng phóng thích kéo dài, góp phần tăng hiệu quả điều trị. Trên thế giới, một số nghiên cứu đã thực hiện bào chế và đánh giá một số đặc tính của hệ phân tán liposome metformin như Divakar P. *et al.* (2013), Manconi M. *et al.* (2013), Shruthi M. V. *et al.* (2014),... Các nghiên cứu đều bào chế thành công liposome metformin và tiến hành đánh giá một số đặc tính của liposome. Kết quả cho thấy thời gian phóng thích metformin từ hệ phân tán được cải thiện đáng kể, các tiểu phân tạo ra có độ đồng nhất cao. Tuy nhiên, các nghiên cứu thường được tiến hành với phương pháp phức tạp và đòi hỏi những trang thiết

bị hiện đại mà không phải phòng thí nghiệm nào cũng trang bị được.

Các nghiên cứu trong nước về liposome hiện chưa nhiều và chưa có nghiên cứu về hệ phân tán liposome metformin. Vì vậy, nghiên cứu về hệ phân tán liposome metformin là tiền đề góp phần vào nghiên cứu tạo ra một dạng thuốc mới cho metformin có hiệu quả tốt hơn. Nghiên cứu được tiến hành nhằm bào chế hệ phân tán liposome metformin bằng phương pháp hydrat hóa film mỏng và đánh giá một số đặc tính của hệ phân tán tạo thành.

## 2 NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP THÍ NGHIỆM

### 2.1 Nguyên vật liệu, thiết bị

#### 2.1.1 Nguyên vật liệu

Metformin hydrochloride (hàm lượng 99,8%, công ty Cổ phần Dược phẩm Cửu Long), phosphatidyl choline – PC (TQ), cholesterol – CHL (tách chiết từ mô não heo), diethyl ether (Chemsol – Việt Nam), chloroform (Chemsol-VN), disodium hydrogen phosphate dodecahydrate, sodium chloride, potassium dihydrogen phosphate (Guangdong Guanghua Sci-Tech-TQ).

#### 2.1.2 Thiết bị

Máy quang phổ hồng ngoại Thermo NICOLET 6700 FT-IR, Bể siêu âm Elma Transsonic T570, máy quang phổ JENWAY 6800UV/Vis, hệ thống xác định kích thước hạt bằng laser Microtrac S3500, hệ thống TEM (Transmission Electron Microscopy) JEOL JEM-1400.

### 2.2 Phương pháp thí nghiệm

#### 2.2.1 Xác định metformin sử dụng trong thí nghiệm

Xác định metformin được sử dụng bao gồm thử độ hòa tan trong nước, acetone, dichloromethane. Phân tích phổ hồng ngoại (FT-IR) để nhận diện các nhóm chức đặc trưng có trong phân tử. Phổ tử ngoại khả kiến (UV-Vis) nhằm xác định điểm cực đại hấp thu. Xác định nhiệt độ nóng chảy bằng máy đo điểm nóng chảy Bibby Stuart SMP3.

#### 2.2.2 Phương pháp bào chế hệ phân tán liposome

Tiến hành tạo hệ phân tán bằng phương pháp hydrat hóa film mỏng theo mô tả trong nghiên cứu của Bangham *et al.* (1964). Phương pháp này sau đó cũng được P.Divakar *et al.* (2013), Shruthi, M. V. *et al.* (2014) thực hiện cho thấy kết quả đạt

được khá cao. Các bước thực hiện có sửa đổi cho phù hợp với điều kiện thí nghiệm.

PC, CHL với tỷ lệ khác nhau (Bảng 1) được hòa tan trong hỗn hợp dung môi hữu cơ gồm 5 mL diethyl ether và 5 mL chloroform. Sau đó, loại bỏ dung môi hữu cơ sẽ tạo nên lớp film lipid. Dung môi cần được loại hoàn toàn khỏi hỗn hợp để tránh ảnh hưởng đến sản phẩm. Có thể tiến hành cô quay dung dịch bằng hệ thống cô quay áp suất thấp đến khi cạn dung môi, sau đó tiến hành thổi khí nitrogen trong 2 giờ hoặc để trong tủ hút ẩm qua đêm để loại bỏ đa lượng dung môi còn lại. Khi đã tạo được lớp film lipid khô hoàn toàn, hỗn hợp cần được đun cách thủy đến  $60 \pm 2^\circ\text{C}$  và chuẩn bị dung dịch đệm đã hòa tan lượng metformin xác định, điều nhiệt đến nhiệt độ  $60 \pm 2^\circ\text{C}$ . Quá trình hydrat hóa được thực hiện khi cho dung dịch đệm phosphate pH 7,4 chứa metformin vào màng lipid, khuấy bằng máy khuấy từ ở tốc độ 1.500 vòng/phút trong 15 phút. Trong suốt quá trình khuấy nhiệt độ cần duy trì ở  $60 \pm 2^\circ\text{C}$ . Quá trình hydrat hóa làm phá vỡ lớp màng lipid bám trên bình cầu và tạo nên các hạt liposome. Phương pháp này thường tạo ra các liposome có nhiều lớp và kích thước lớn. Do đó, cần làm nhỏ kích thước hạt sau bào chế. Hỗn dịch sản phẩm được siêu âm 10 phút bằng bể siêu âm Elma Transsonic T570, rồi ép lọc một lần qua màng lọc  $0,45 \mu\text{m}$ . Bảo quản sản phẩm ở  $2-8^\circ\text{C}$ .

### 2.2.3 Phương pháp đánh giá một số đặc tính của hệ phân tán liposome metformin

#### Xác định kích thước hạt và độ đồng đều kích thước

Hình dạng các hạt được quan sát bằng kính hiển vi điện tử Olympus CH20. Để xác định kích thước trung bình của các hạt thì tiến hành đo kích thước hạt bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động DLS (Dynamic light scattering). Thiết bị đo là hệ thống xác định kích thước hạt bằng laser Microtrac S3500. Đánh giá kết quả thông qua kích thước trung bình các hạt và đồ thị phân bố kích thước theo thể tích.

#### Xác định hiệu suất liposome hóa

Hiệu suất liposome hóa (hay hiệu suất mang metformin của các hạt liposome) được tiến hành theo phương pháp Berger N *et al.* (2001) dùng túi thẩm tích với ngưỡng giới hạn khối lượng phân tử đi qua là 14.000 Dalton. Túi thẩm tích được buộc kín một đầu, cho 1 mL hỗn dịch vào và buộc kín đầu còn lại. Treo túi lơ lửng trong bình tam giác có chứa 100 mL dung dịch đệm phosphat pH 7,4 sao cho túi ngập hoàn toàn trong dung dịch. Giữ hệ

thống ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Sau đó rút dung dịch bên ngoài túi thẩm tích pha loãng đến nồng độ thích hợp và đo mật độ quang ở bước sóng 232 nm. Hiệu suất liposome hóa được tính theo công thức (1).

$$H = \frac{m_0 - m}{m_0} \times 100\% \quad (1)$$

Trong đó:

*H*: hiệu suất liposome hóa (%)

*m*<sub>0</sub>, *m*: khối lượng metformin cho vào ban đầu và khuếch tán qua màng thẩm tích ( $\mu\text{g}$ )

#### Đánh giá khả năng giải phóng dược chất từ hệ phân tán liposome metformin

Khả năng phóng thích dược chất từ hệ phân tán liposome metformin được tiến hành theo hướng dẫn thử nghiệm phóng thích dược chất từ liposome của FDA được Đào Thanh Tùng sử dụng trong nghiên cứu bào chế liposome doxorubicin (2012). Quá trình cụ thể: tiến hành rút 1 mL sản phẩm cho vào túi thẩm tích, rồi treo túi ngập trong bình tam giác chứa 100 mL dung dịch đệm phosphate pH 7,4. Khuấy dung dịch trong bình với tốc độ 100 vòng/phút ở nhiệt độ  $37 \pm 2^\circ\text{C}$ . Sau các khoảng thời gian nhất định tiến hành rút 5 mL dung dịch ngoài túi thẩm tích và bổ sung 5 mL dung dịch đệm mới vào bình. Dung dịch sau khi rút ra được pha loãng đến nồng độ thích hợp và đo mật độ quang ở bước sóng 232 nm. Kết quả đo mật độ quang được quy đổi về nồng độ metformin và phần trăm phóng thích tại thời điểm đó. Tổng phần trăm metformin giải phóng ở từng thời điểm được tính theo công thức (2).

$$\%GP = \frac{m_t}{m_0} \times 100; m_t = 100 \times C_t + 5 \sum_{j=1}^{t-1} C_j \quad (2)$$

Trong đó:

*m*<sub>*i,j*</sub>: khối lượng metformin ở thời điểm *i, j*.

*C*<sub>*i,j*</sub>: nồng độ metformin tại thời điểm *i, j*.

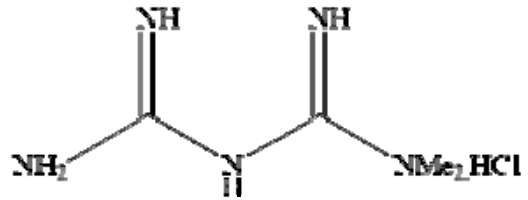
%GP: tổng phần trăm metformin phóng thích.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

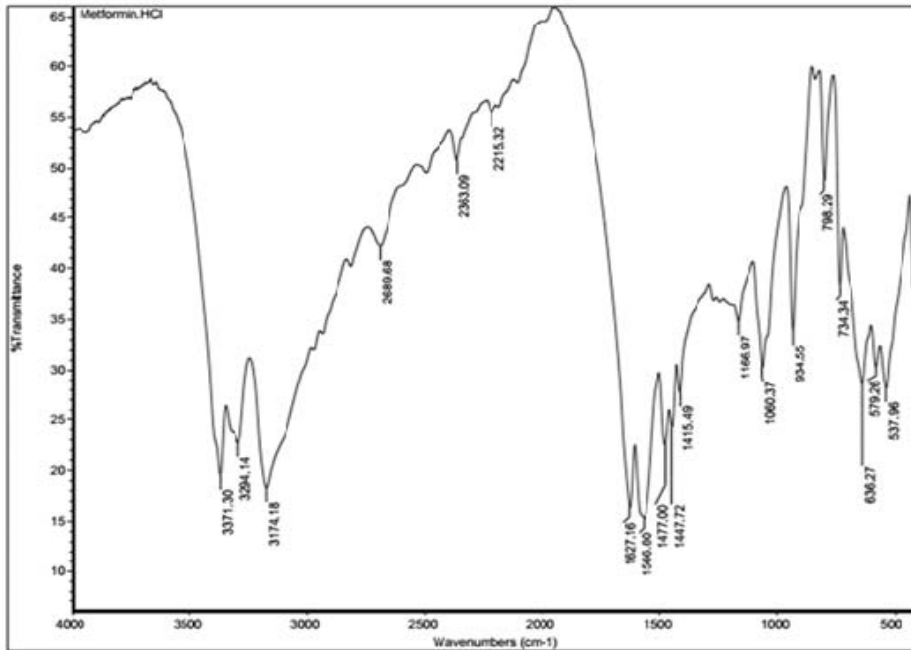
### 3.1 Đánh giá metformin sử dụng trong thí nghiệm

Metformin sử dụng có dạng bột màu trắng, tan nhiều trong nước, không tan trong acetone và dichloromethane. Nhiệt độ nóng chảy được xác định 3 lần cho giá trị trung bình  $223^\circ\text{C}$ . Phổ tử ngoại khả kiến cho đỉnh hấp thụ cực đại trong khoảng bước sóng 232-233 nm. Kết quả này phù

hợp với nối đôi liên hợp trong công thức metformin và như vậy có thể định lượng metformin dễ dàng bằng phương pháp quang phổ. Phổ FT-IR có các mũi đặc trưng của nhóm amine bậc I ở 3371  $\text{cm}^{-1}$ , bậc II ở 3174  $\text{cm}^{-1}$ , imine ở 3294  $\text{cm}^{-1}$ , hai mũi ở 1448 và 1415  $\text{cm}^{-1}$  của liên kết C-H biến dạng, bất đối xứng. So sánh phổ với chuẩn của metformin (India Pharmacopoeia 2010) không có bất kỳ thay đổi nào đáng chú ý về vị trí các mũi tín hiệu. Như vậy metformin có độ tinh khiết cao và có thể sử dụng cho nghiên cứu này.



Hình 1: Công thức hóa học của Metformin

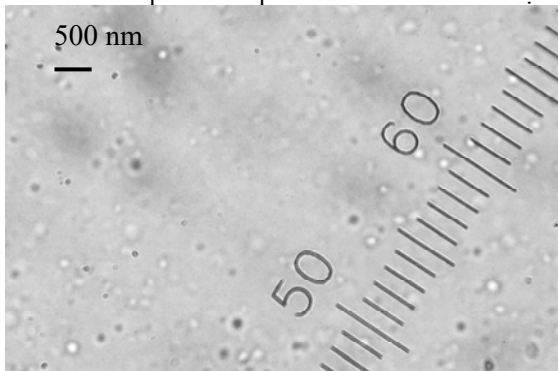


Hình 2: Phổ FT-IR của metformin hydrochloride sử dụng trong nghiên cứu

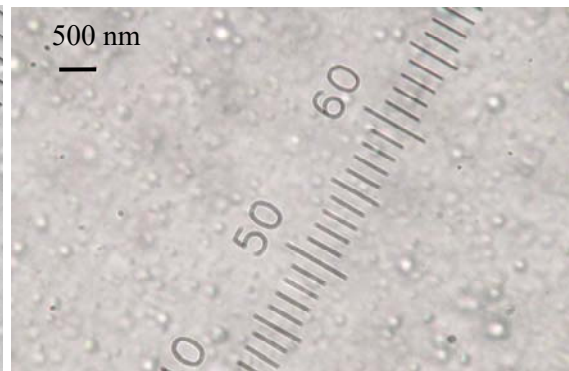
### 3.2 Đánh giá hệ phân tán liposome metformin

#### 3.2.1 Quan sát hình ảnh hạt qua kính hiển vi điện tử

Hình ảnh quan sát qua kính hiển vi với độ



phóng đại 400 lần, cho thấy các hạt tạo ra đều có kích thước rất nhỏ, hình tròn và khó có thể quan sát, xác định kích thước chính xác bằng kính hiển vi.



Hình 3: Ảnh chụp kính hiển vi của hệ phân tán liposome



3.2.2 Hiệu suất liposome hóa và kích thước trung bình của các công thức

Kết quả đánh giá hiệu suất liposome hóa của hệ phân tán liposome metformin tạo thành được thể hiện trong Bảng 1.

Kết quả liposome hóa cho thấy hiệu suất liposome hóa của các công thức có sự phụ thuộc vào tỷ lệ thành phần tạo màng liposome, tỷ lệ khối lượng màng trên khối lượng metformin sử dụng.

Các công thức nghiên cứu có hiệu suất liposome hóa tương đối cao và thay đổi từ 45,2% đến 74,3%. Tuy nhiên, vẫn có thể tối ưu khả năng mang thuốc bằng cách tạo ra proliposome. Trong nghiên cứu của Shruthi M. V. và ctv. (2014) cho thấy khi tạo ra proliposome metformin với các thành phần màng là sorbitol, soya lecithin và cholesterol đều cho các công thức có tỷ lệ mang thuốc trên 80% và có công thức lên đến 95%.

**Bảng 1: Hiệu suất liposome hóa của các công thức khảo sát và kích thước trung bình**

Tên mẫu	PC:CHL (g:g)	L/Met* (g:g)	Hiệu suất liposome hóa** (TB ± SE) (%)	Kích thước trung bình (µm)
A	60:40	5:1	68,21 ± 0,050	0,292
B	70:30	5:1	72,68 ± 0,004	0,262
C	80:20	5:1	72,81 ± 0,133	4,760
D	60:40	4:1	70,38 ± 0,047	0,803
E	70:30	4:1	73,75 ± 0,068	0,691
F	80:20	4:1	74,27 ± 0,031	0,521
G	60:40	6:1	45,17 ± 0,004	0,773
H	70:30	6:1	61,72 ± 0,200	0,546
I	80:20	6:1	63,52 ± 0,043	1,290

\*L/Met: tỷ lệ về khối lượng của tổng thành phần tạo màng liposome và metformin

\*\*Các thử nghiệm được lặp lại 3 lần

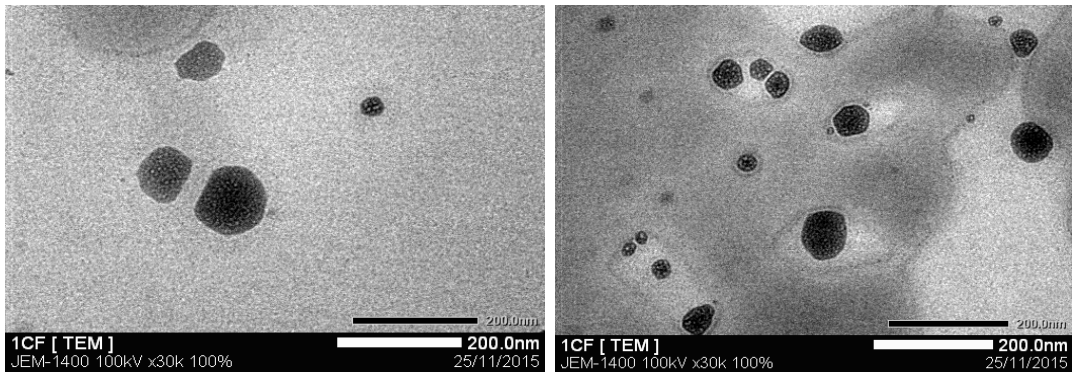
Các công thức có tỷ lệ PC/CHL 80:20 đều cho khả năng mang thuốc cao hơn các tỷ lệ khác và cao nhất là với công thức F (74,27%). Từ đây cho thấy vai trò của cholesterol trong cấu trúc màng lipid kép của liposome. Nếu cấu trúc màng chỉ tạo nên từ các phân tử lipid, chúng sẽ trở nên rất lỏng lẻo, có nhiều kẽ hở và không bền. Cholesterol được ví như “chất xi-măng” giúp trám lại các kẽ hở trong cấu trúc đó, cải thiện sự linh động, tăng độ bền, giảm tính thấm và đặc biệt giúp tăng khả năng giữ thuốc, hạn chế sự rò rỉ (Vemuri, S. et al., 1995). Nhưng khi cholesterol được dùng ở tỷ lệ cao chúng sẽ phá vỡ cấu trúc cân bằng của lớp màng lipid kép, làm tăng thể tích các hạt liposome, tăng sự xuất hiện các kẽ hở gây rò rỉ thuốc và do đó làm giảm khả năng giữ thuốc. Bên cạnh đó, hiệu suất liposome hóa cũng bị ảnh hưởng bởi tỷ lệ khối lượng màng và metformin, khối lượng màng càng lớn hơn khối metformin thì hiệu suất liposome hóa lại càng giảm. Với nhóm công thức D, E, F mặc dù có tỷ lệ thấp nhất tuy nhiên lại cho hiệu suất liposome hóa tốt nhất, cả ba công thức đều đạt trên 70%. Như vậy, sự tăng khối lượng tạo màng không tỷ lệ thuận với sự tăng khả năng mang thuốc.

Về kích thước trung bình các tiểu phân, sản phẩm tạo ra ngoài việc làm nhỏ kích thước bằng

phương pháp siêu âm còn được ép một lần qua màng lọc 0,45 µm. Kết quả cho thấy đa số các công thức có kích thước nhỏ hơn 1 µm. Trong đó, công thức B có kích thước trung bình hạt nhỏ nhất là 262 nm. Như vậy, siêu âm và nén ép qua màng lọc là phương pháp hiệu quả giúp làm giảm kích thước các hạt và đạt được độ đồng đều cao. Ngoài ra, nếu muốn đạt được các liposome đơn lớp, kích thước nhỏ có thể tiến hành siêu âm trong nhiều giờ. Tuy nhiên siêu âm có thể làm tăng sự thủy phân và oxy hóa lipid (Hwang, K. J. et al., 1987). Còn với phương pháp nén ép qua màng lọc, cần nén ép nhiều lần để đạt được kích thước mong muốn, điều này cũng có thể gây nứt vỡ liposome. Vì vậy, cần khảo sát và lựa chọn phương pháp đồng nhất kích thước phù hợp.

3.2.3 Kết quả TEM

Dựa vào kết quả xác định kích thước hạt trung bình (Bảng 1), B là công thức cho kích thước tiểu phân nhỏ nhất. Tuy nhiên, F lại là công thức cho hiệu suất liposome hóa tốt và kích thước tương đối nhỏ. Vì vậy, công thức F được lựa chọn để xác định hình dạng các tiểu phân qua kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM). Kết quả ảnh TEM cho thấy các hạt tạo ra đa số có dạng gần như khối cầu.



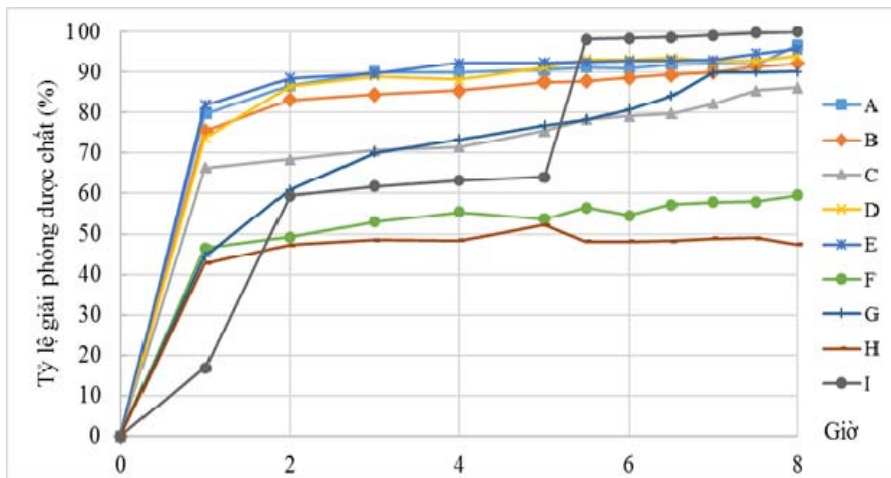
Hình 4: Ảnh chụp TEM của mẫu F

3.2.4 Khả năng giải phóng dược chất từ hệ phân tán liposome metformin

Kết quả giải phóng dược chất sau 8 giờ được thể hiện ở Hình 5.

Đồ thị giải phóng dược chất cho thấy nghiên cứu đã tạo ra được các công thức có khả năng giải

phóng chậm metformin. Sau 8 giờ thí nghiệm, công thức F và H có khả năng phóng thích tốt nhất (phóng thích dưới 60%). Công thức I có sự tăng đột biến nồng độ từ giờ thứ 5 qua giờ thứ 6, như vậy công thức này có độ bền không tốt, không tạo được hệ giải phóng thuốc chậm, tuy nhiên, sự giải phóng có kéo dài hơn dạng quy ước.



Hình 5: Đồ thị giải phóng metformin từ các công thức

Khi so sánh kết quả phóng thích metformin của các công thức F và H với công thức liposome metformin tối ưu nhất được Divakar *et al.* (2013) điều chế cho thấy có sự phóng thích kéo dài hơn. Trong nghiên cứu của Divakar, hệ liposome metformin có dữ liệu phóng thích từ thí nghiệm *in vitro* tốt nhất được tạo nên từ phosphatidylcholine: cholesterol với tỷ lệ 6:4 (mole/mole), sau 6 giờ đã phóng thích hết 64% metformin.

4 KẾT LUẬN

Hệ phân tán liposome metformin được bào chế thành công bằng phương pháp hydrat hóa film mỏng, với thành phần chính của màng liposome là PC kết hợp với CHL. Các công thức được tạo ra dựa trên sự thay đổi của tỷ lệ PC/CHL và khối lượng màng liposome/metformin. Kết quả thực nghiệm cho thấy các công thức đều có tỷ lệ liposome hóa cao, thay đổi từ 61,7 đến 74,3%, kích

thước hạt phân bố rộng từ 0,262 đến 4.760  $\mu\text{m}$ . Hầu hết các công thức đều phóng thích ổn định, kéo dài trong khoảng thời gian nghiên cứu. Trong đó, công thức F với thành phần PC/CHL là 80:20 và tỷ lệ khối lượng màng liposome/metformin là 4:1 có tỷ lệ liposome hóa cao nhất (74,24%) và cho thấy tiềm năng tạo ra hệ giải phóng thuốc kéo dài nhất (sau 8 giờ chỉ giải phóng dưới 60% metformin). Như vậy, các công thức đều có tiềm năng nghiên cứu phát triển thành dạng thuốc giải phóng kéo dài, đặc biệt là công thức F, nếu được tiếp tục nghiên cứu, tối ưu hóa có thể nâng cao hiệu suất liposome hóa, giảm kích thước và tạo được sự phóng thích kéo dài, ổn định.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Anderson, P. O., Knoben, J. E. and Troutman, W. G., 2002. Handbook of Clinical drug data McGrawHill Companies. pp.650-651, 656-657.
- Andreja Marić, 2010. Metformin – more than “gold standard” in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia Crostica*, 39-3: 95-104.
- Bangham A.D.; Horne R. W, 1964. Negative Staining of Phospholipids and Their Structural Modification by Surface-Active Agents As Observed in the Electron Microscope. *Journal of Molecular Biology*, 8 (5): 660–668.
- Berger, N., Sachse, A., Bender, J., Schubert, R. and Brandl, M., 2001. Filter extrusion of liposomes using different devices: comparison of liposome size, encapsulation efficiency, and process characteristics. *International Journal of Pharmaceutics*. 223 (1-2): 55-68.
- Divakar, P., Kumar, D. P., Praveen, C., Sowmya, C. and Suryaprakash, C. R., 2013. Formulation and In Vitro Evaluation of Liposomes Containing Metformin Hydrochloride. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 4 (2): 480-485.
- Đào Thanh Tùng, 2012. Nghiên cứu bào chế liposome doxorubicin. Luận văn thạc sĩ dược học. Đại học Dược Hà Nội. Hà Nội.
- Hwang, K. J., Padki, M. M. and Chow, D. D., 1987. *Biochimica et Biophysica Acta*, 901-988.
- Laouini, A. C. *et al.*, (2012). Preparation, Characterization and Application of Liposomes: State of the Art. *Journal of Colloid Science and Biotechnology*, 1: 147-168.
- Lian, T. and Ho, R. J., 2001. Trends and developments in liposome drug delivery systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90 (6): 667-680.
- Manconi, M., corresponding author Amparo Nácher, Virginia Merino, Matilde Merino-Sanjuan, Maria Letizia Manca, Carla Mura, Simona Mura, Anna Maria Fadda, and Octavio Diez-Sales, 2013. Improving Oral Bioavailability and Pharmacokinetics of Liposomal Metformin by Glycerolphosphate–Chitosan Microcomplexation. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 14 (2): 485-496.
- Metformin hydrochloride tablet, 2010. In: *Indian Pharmacopoeia*. Indian Pharmacopoeia Commission. Ghaziabad. Vol. 1: 368.
- Nathan, D. M., Buse, J.B., Davidson, M.B., Ferrannini, E., Holman, R.R., Sherwin, R. and Zinman, B., 2009. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*, 32 (1): 193-203.
- Shruthi, M. V., Parthiban, S., Senthilkumar, G. P. and Tamiz Mani, T., 2014. Evaluation of potential hypoglycemic activity of proliposomal gel containing metformin hydrochloride. *Asian Journal of Research in Biological and Pharmaceutical Sciences*, 2 (2): 77-88.
- Sweetman, S.C. and Martindale, 2005. The complete drug reference. 34th.ed. London: Pharmaceutical Press. pp.2756.
- Vemuri, S. and Rhodes C. T., 1995. Preparation and characterization of liposomes as therapeutic delivery systems: a review. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 70(2): 95-111.
- [www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm199635.pdf](http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm199635.pdf).