



NGHIÊN CỨU BẢO CHẾ NIOSOME METFORMIN

Lê Thùy Dung, Lê Trọng Nghĩa 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 of niosome metformin

Từ khóa:

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

Keywords:

Niosome metformin, sustained release, the thin film hydration, type 2 diabetes

ABSTRACT

Metformin is recommended to treat type 2 diabetes for first-line by ADA. However, metformin has short plasma half-life and rapid administration. This study was performed to find a new formulation for metformin in order to maintain the steady metformin concentration in blood which would lead to an increase in treatment and economic effects. Different nonionic surfactants (tween 80, span 80, span 60) and cholesterol (1:1, mol/mol) were used for the preparation of metformin-loaded niosomes by the thin film hydration method. The study surveyed the influences of different nonionic surfactants, sonication time, metformin loading method to mean particle size and encapsulation performance. The results showed that when the sonication time was 30 minutes, the formulations had smaller mean particle size and better encapsulation efficiency compared to that of being 15 minutes. Between the two studied loading methods, the active method created bigger mean size particles and better encapsulation performance than the passive method. The mean particles-size ranged from 0.6 μm (span 60) to 9.8 μm (tween 80+span 60). The highest encapsulation performance was 19.9% (tween 80) and 36.3% (tween 80+span 80) using the passive and the active method, respectively. Almost all formulations were stable over 30 preservation days.

TÓM TẮT

Metformin là thuốc trị đái tháo đường (ĐTĐ) sử dụng điều trị bước đầu dành cho bệnh nhân ĐTĐ type 2 theo phác đồ điều trị của Hiệp hội đái tháo đường Hoa Kỳ (ADA). Tuy nhiên, thuốc thường hấp thu nhanh chóng, thời gian bán thải ngắn. Vì vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm góp phần tìm kiếm dạng thuốc mới cho metformin, giúp kéo dài thời gian tồn tại của thuốc trong huyết tương, tăng hiệu quả điều trị và mang lại hiệu quả kinh tế thông qua việc kết hợp metformin vào niosome. Các chất hoạt động bề mặt (HDBM) không ion khác nhau (tween 80, span 80, span 60) và cholesterol (1:1, mol/mol) được sử dụng để tạo niosome bằng phương pháp hydrat hóa film mỏng. Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của những loại chất hoạt động bề mặt khác nhau, thời gian siêu âm, phương pháp đưa metformin vào niosome đến kích thước tiểu phân (hạt) và hiệu suất niosome hóa. Kết quả nghiên cứu cho thấy khi siêu âm hệ trong 30 phút cho kích thước hạt nhỏ hơn, hiệu quả đưa dược chất vào hệ tốt hơn khi siêu âm 15 phút. Đối với hai phương pháp đưa metformin vào niosome thì phương pháp chủ động tạo ra các hạt có kích thước lớn hơn và hiệu suất niosome hóa tốt hơn phương pháp thụ động. Kích thước trung bình các tiểu phân thay đổi từ 0,6 μm (span 60) đến 9,8 μm (tween 80+span 60), hiệu suất niosome hóa cao nhất với phương pháp thụ động là 19,9% (tween 80) và với phương pháp chủ động là 36,3% (tween 80+span 80). Hầu hết các công thức tạo ra đều giữ trạng thái nhũ ổn định hơn 30 ngày bảo quản.

Trích dẫn: Lê Thùy Dung, Lê Trọng Nghĩa và Lê Thanh Phước, 2016. Nghiên cứu bào chế niosome metformin. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 43a: 10-18.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Metformin là thuốc duy nhất thuộc nhóm biguanide còn lưu hành trên thị trường. Đây là một trong hai thuốc trị đái tháo đường (ĐTĐ) dùng đường uống thuộc danh mục thuốc thiết yếu của Tổ chức Y tế thế giới (2010). 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). Do đó, để đáp ứng được mục đích điều trị, bệnh nhân cần phải dùng thuốc nhiều lần trong ngày. Chính những điều này làm hạn chế sự tuân thủ theo phác đồ điều trị của bệnh nhân, tăng tác dụng phụ của metformin (buồn nôn, tiêu chảy, miệng có vị kim loại, giảm khả năng hấp thu vitamin B12 (Ford, M.D. *et al.*, 2001),...). Vì những lý do trên, việc nghiên cứu một dạng bào chế mới nhằm khắc phục những nhược điểm của metformin là cần thiết và niosome là một trong những hệ thống mang thuốc tiềm năng cho mục tiêu này.

Niosome là những tiểu phân hình cầu, có kích thước nhỏ, được tạo bởi thành phần chính là chất hoạt động bề mặt (HĐBM) không ion. Ngoài ra, người ta thường kết hợp chất HĐBM không ion với cholesterol giúp tạo tính bền vững cũng như góp phần vào việc tạo hình dáng cho hạt niosome. Các chất HĐBM không ion đóng vai trò quan trọng trong sự hình thành của niosome. Các chất HĐBM không ion thường được sử dụng trong bào chế niosome như span (20, 40, 60, 80) và tween (20, 60, 80).

Niosome là hệ mang thuốc có khả năng phân hủy sinh học, không độc, có độ bền tốt và giá thành rẻ, mang được lượng lớn hoạt chất với một thể tích tương đối nhỏ (Kazi, K.M. *et al.*, 2010), giúp tăng sinh khả dụng đường uống cao (Kamboj, S. *et al.*, 2014). Với những đặc tính nổi bật, niosome có khả năng giúp metformin cải thiện được tính thấm qua màng, tăng độ bền và giảm được độc tính. Đặc biệt, với khả năng phóng thích thuốc chậm, sự kết hợp của niosome và metformin có tiềm năng tạo ra dạng thuốc mới có khả năng làm tăng hiệu quả điều trị của metformin. Hiện tại, các nghiên cứu trên thế giới về niosome metformin đã được thực hiện bởi: Nitan Bharti Gupta *et al.* (2012), Anchal Sankhyan *et al.* (2013), Hasan A. A. *et al.* (2013). Các nghiên cứu đã bào chế thành công niosome metformin và tiến hành đánh giá một số đặc tính của hệ phân tán tạo thành. Mặc dù vậy, vẫn chưa nhận thấy có nghiên cứu nào về niosome metformin được thực hiện trong nước. Ngoài ra, các nghiên cứu trên thế giới chủ yếu tạo ra các niosome có thành phần tạo

màng chỉ từ một chất HĐBM không ion. Từ đó, đề tài hướng đến việc tạo ra các niosome với thành phần màng từ một hoặc hai chất HĐBM không ion và dựa trên kết quả đánh giá đặc tính sản phẩm để so sánh sự khác biệt giữa chúng. Đề tài được thực hiện cũng góp phần làm tiền đề để nghiên cứu phát triển dạng thuốc mới cho metformin.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

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), tween 80 – T80, span 60 – Sp60, span 80 – Sp80 (Xilong scientific – TQ), diethyl ether (Chemsol – Việt Nam), ethanol (Chemsol-Việt Nam), methanol (Chemsol – Việt Nam), disodium hydrogen phosphate dodecahydrate, sodium chloride, potassium dihydrogen phosphate, kali chloride (Guangdong Guanghua Sci-Tech-Trung Quốc).

2.1.2 Thiết bị

Máy quang phổ JENWAY 6800UV/Vis, hệ thống xác định kích thước hạt bằng laser Microtrac S3500, máy TEM JEOL JEM-1400, máy quang phổ hồng ngoại Thermo NICOLET 6700 FT-IR.

2.2 Phương pháp thí nghiệm

2.2.1 Tách cholesterol từ mô não heo nhằm phục vụ cho nghiên cứu

Dựa vào quy trình tách chiết chất béo từ mô não chuột của Folch *et al.* (1957), có sửa đổi, bổ sung cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm (PTN). Theo phương pháp của Folch hệ dung môi hòa tan mô não ban đầu là ethanol:chloroform (2:1, v/v), đề tài thay đổi và sử dụng hệ dung môi ethanol:diethyl ether, nhằm giảm tính độc hại và rút ngắn thời gian loại dung môi sau hòa tan. Quá trình được tiến hành cụ thể như sau: nguyên liệu được nghiền nhỏ, ngâm chiết với hỗn hợp ethanol:diethyl ether (40:50) trong 5 phút. Lọc lấy dung dịch và tiếp tục chiết một lần nữa. Phần dung dịch được thủy phân với hệ thống hoàn lưu bằng dung dịch KOH 15% trong 30 phút. Sau đó thêm 30 mL nước cất và chiết 2 lần với 30 mL diethyl ether. Làm bay hơi dung môi sẽ thu được cholesterol thô. Tiến hành kết tinh lại trong methanol để thu được cholesterol tinh khiết hơn.

2.2.2 Kiểm tra cholesterol sau tách chiết

Cholesterol sau khi tách và làm khô được tiến hành định tính bằng phản ứng màu Liebermann-Burchard (1885), đo nhiệt độ nóng chảy và sắc ký

bản mỏng theo phương pháp của Alexander Bilyk *et al.* (1991).

2.2.3 Phương pháp bào chế hệ phân tán niosome metformin

Tiến hành bào chế niosome theo phương pháp hydrat hóa film mỏng được mô tả trong nghiên cứu của Anchal Sankhyan và Parvin K Pawar (2013). Các bước thực hiện có sửa đổi cho phù hợp với điều kiện thí nghiệm.

Giai đoạn tạo film mỏng

Bảng 1: Thành phần các công thức niosome

Công thức	1	2	3	4	5
Pha hữu cơ					
Cholesterol (mmol)	0,475	0,475	0,475	0,475	0,475
T80 (mmol)	0,475	–	0,085	–	0,396
Sp80 (mmol)	–	0,475	0,389	–	–
Sp60 (mmol)	–	–	–	0,475	0,079
Diethyl ether (mL)	10	10	10	10	10
Pha nước (mL)	10	10	10	10	10

Phương pháp đưa metformin vào niosome

Metformin là dược chất có tính base vì vậy trong môi trường base chúng tồn tại ở dạng phân tử sẽ dễ dàng đi qua được lớp màng kép của niosome. Còn trong môi trường có tính acid chúng tồn tại dạng ion, không đi qua được lớp màng không phân cực của niosome. Vì vậy, nghiên cứu dựa vào đặc tính này của metformin thiết kế thành hai phương pháp đưa thuốc vào bên trong niosome là thụ động và chủ động. Sự khác nhau cơ bản của hai phương pháp này là với phương pháp chủ động sẽ dựa vào sự chênh lệch pH để đưa metformin vào bên trong niosome.

Phương pháp thụ động (phương pháp A): Đây là phương pháp đơn giản và thường được dùng phổ biến. Thí nghiệm thực hiện dựa trên nghiên cứu của Anchal Sankhyan và Parvin K Pawar (2013) và có bổ sung, thay đổi cho phù hợp với điều kiện PTN. Quá trình cụ thể: hòa tan lượng chính xác metformin vào 10 mL dung dịch đệm PBS (Phosphate Buffer Saline) pH 7,4, sau đó đun cách thủy đến 70±2°C. Dung dịch thuốc đã chuẩn bị được cho vào bình cầu chứa lớp film mỏng trước đó, khuấy với tốc độ 1.500 vòng/phút và duy trì nhiệt độ ở 70±2°C trong 1 giờ. Sau khi hydrat hóa, mẫu được siêu âm làm nhỏ kích thước.

Phương pháp chủ động (phương pháp B): Mặc dù đây là phương pháp ít được thực hiện, tuy nhiên, theo nhiều nghiên cứu về liposome, nó cho thấy khả năng mang lại hiệu suất bắt giữ thuốc cao.

Chất HDBM không ion và CHL với tỷ lệ khác nhau (Bảng 1) được hòa tan trong 10 mL diethyl ether. Sau đó, loại bỏ dung môi hữu cơ sẽ tạo nên lớp film mỏng. 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, tiếp tục cô quay để loại tối đa lượng dung môi. Khi đã tạo được lớp film mỏng khô hoàn toàn, hỗn hợp cần đun cách thủy đến 70±2 °C để chuẩn bị cho quá trình hydrat hóa. Quá trình hydrat hóa được thực hiện tùy theo phương pháp đưa thuốc vào niosome.

Dựa trên nghiên cứu của Bayer, L. D. *et al.* (1990) đã tạo ra các Liposome Doxorubicin với phương pháp đưa thuốc vào hệ bằng sự chênh lệch pH, cùng với đặc tính của metformin, hệ thành phần tạo màng để thiết kế phương pháp phù hợp giúp chủ động đưa metformin vào niosome bằng sự chênh lệch pH. Quá trình cụ thể như sau: hòa tan lượng chính xác metformin vào 5 mL dung dịch đệm pH 4,5, sau đó đun cách thủy đến 70±2°C. Dung dịch thuốc được cho từ từ vào bình cầu chứa lớp film mỏng, tiến hành khuấy với tốc độ 1.500 vòng/phút và duy trì ở nhiệt độ 70±2°C trong 1 giờ. Sau đó, mẫu được siêu âm trong 30 phút để làm giảm kích thước. Thêm tiếp 5 mL dung dịch đệm PBS pH 7,4 vào nhằm tạo sự chênh lệch pH giữa bên trong và bên ngoài niosome. Ủ khuấy với tốc độ 500 vòng/phút trong 1 giờ.

Sản phẩm tạo thành được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C.

2.2.4 Phương pháp đánh giá một số đặc tính của hệ phân tán niosome metformin

Xác định kích thước tiểu phân và độ đồng đều kích thước

Hình dạng các tiểu phân được quan sát bằng kính hiển vi điện tử Olympus CH20. Để xác định kích thước trung bình của các tiểu phân 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 tiểu phân và đồ thị phân bố kích thước theo thể tích. Ngoài ra, công thức cho hiệu suất niosome hóa cao nhất được xác định cấu trúc bằng phương pháp TEM (Transition Electronic Microscope).

Xác định hiệu suất niosome hóa

Xác định hiệu suất niosome hóa (hay hiệu suất mang metformin của các tiểu phân niosome) được tiến hành theo phương pháp được Berger N. *et al.* (2001) sử dụng là dùng túi thấm tích với ngưỡng giới hạn khối lượng phân tử đi qua là 14.000 Dalton. Túi thấm 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 PBS 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 thấm tích pha loãng đến nồng độ thích hợp và đo mật độ quang ở bước sóng 232 nm. Hiệu suất niosome hóa được tính theo công thức:

$$H = \frac{m_0 - m}{m_0} \times 100\%$$

Trong đó:

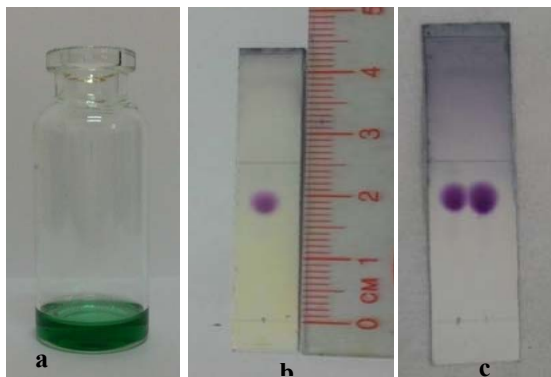
H: hiệu suất niosome hóa (%)

m_0 , m : khối lượng metformin ban đầu và khuếch tán qua màng thấm tích (μg).

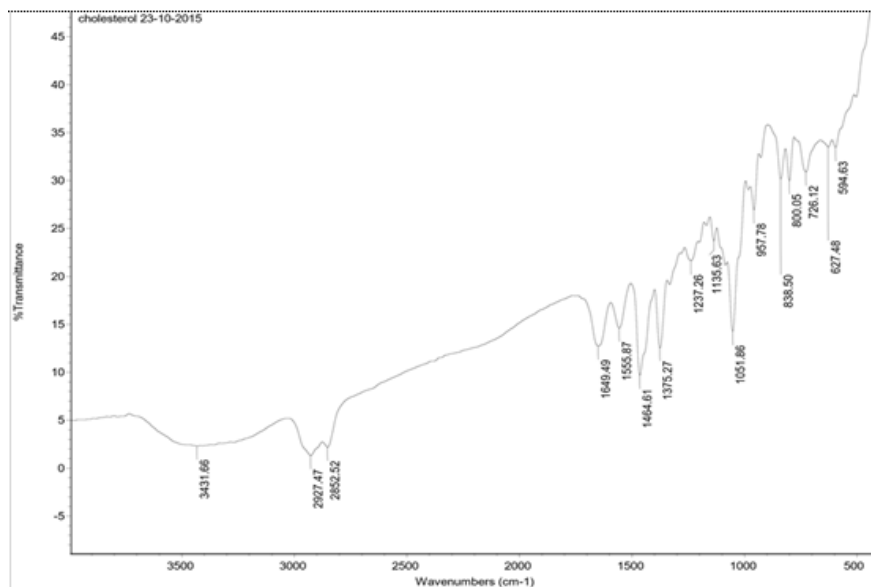
3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Tách cholesterol từ mô não heo

Quá trình tách chiết đạt hiệu suất trung bình 83%. Tất cả các phương pháp định tính cholesterol đều cho kết quả phù hợp: nhiệt độ nóng chảy trung bình ở 148,4 °C; phản ứng Liebermann-Burchard tạo hỗn hợp có màu xanh lá (dương tính) (Hình 2a); sắc ký lớp mỏng: cho một vết tròn có $R_f \approx 0,4$, phù hợp với kết quả theo phương pháp của Alexander Bilyk *et al.* (1991) (Hình 2b, c); quang phổ hồng ngoại biến đổi FT-IR (Hình 3); có các mũi đặc trưng của nhóm O-H ở 3432 cm^{-1} , C-H ở 2927, 2853 cm^{-1} , C=O ở 1649 cm^{-1} . Vậy cholesterol tách được có độ tinh khiết cao và có thể sử dụng cho nghiên cứu này.



Hình 1: a) kết quả thử nghiệm bằng phản ứng Liebermann-Burchard; b) sắc ký lớp mỏng theo phương pháp của Alexander Bilyk; c) sắc ký lớp mỏng so sánh giữa cholesterol tách chiết (bên trái) và cholesterol thương mại (Sigma Aldrich) (bên phải)



Hình 2: Phổ FT-IR của cholesterol

Bảng 2: Kết quả giải phổ FT-IR của cholesterol tách được

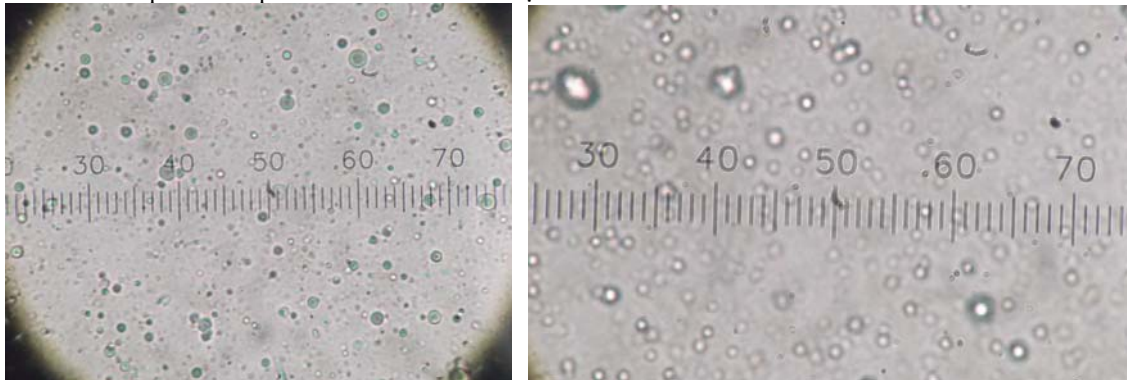
Liên kết đặc trưng	Dao động Stretching cm^{-1}				Dao động Bending cm^{-1}		
	O-H	C-H (Olefinic)	C-H (béo)	C=O	C-O	C-H (béo)	C-H
Cholesterol chuẩn	3437	2933	2902	1631	1056	1467	1381
Cholesterol tách	3432	2927	2853	1649	1052	1465	1375

3.2 Đánh giá hệ phân tán niosome

3.2.1 Quan sát hình ảnh tiểu phân qua kính hiển vi

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

Hình ảnh quan sát qua kính hiển vi với độ



Hình 3: Ảnh chụp kính hiển vi của hệ phân tán niosome metformin có độ phóng đại 400 lần

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

phân tán niosome metformin tạo thành được thể hiện trong Bảng 3.

Kết quả đánh giá hiệu suất niosome hóa của hệ

Bảng 3: Hiệu suất niosome hóa và kích thước trung bình của các công thức khảo sát

Công thức	Chất HDBM	Thời gian siêu âm (phút)	Hiệu suất niosome hóa* (TB ± SE) (%)	Kích thước hạt trung bình (μm)
A1.15	T80	15	19,88 ± 0,797	3,700
A1.30	T80	30	19,93 ± 0,683	6,030
A2.15	Sp80	15	5,40 ± 1,213	1,426
A2.30	Sp80	30	3,37 ± 0,483	0,597
A3.15	T80 + Sp80	15	19,73 ± 0,739	2,657
A3.30	T80 + Sp80	30	18,35 ± 0,436	2,633
A4.15	Sp60	15	13,98 ± 0,494	2,359
A4.30	Sp60	30	16,84 ± 0,618	0,762
A5.15	T80 + Sp60	15	11,40 ± 0,492	3,040
A5.30	T80 + Sp60	30	18,22 ± 0,690	2,653
B1	T80	30	35,14 ± 0,757	4,890
B2	Sp80	30	30,23 ± 0,319	2,202
B3	T80 + Sp80	30	36,32 ± 0,509	2,457
B4	Sp60	30	33,77 ± 0,574	9,810
B5	T80 + Sp60	30	33,37 ± 1,343	5,900

*Các thử nghiệm được lặp lại 3 lần

3.2.3 Kích thước hạt

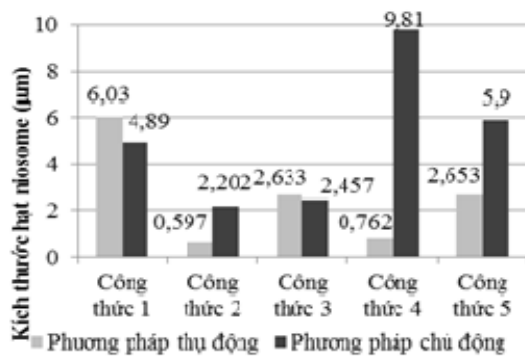
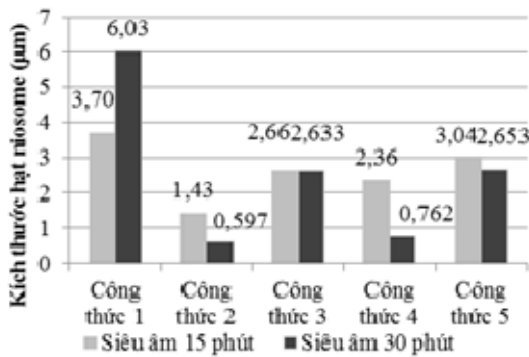
Đa số các công thức tạo ra tiểu phân niosome có kích thước tương đối lớn và thay đổi từ 0,597 μm đến 9,81 μm . Kích thước trung bình bị ảnh hưởng bởi thành phần tạo màng niosome, thời gian siêu âm và phương pháp đưa dược chất vào hệ. Các công thức với sự tham gia của Sp80 ở cả hai phương pháp và thời gian siêu âm đều có kích thước hạt nhỏ hơn các công thức khác. Các công thức 2, 4, 5 cho thấy phương pháp chủ động đưa metformin vào niosome có sự tăng kích thước đáng kể so với phương pháp thụ động. Trái lại, công thức 1 và 3 lại có sự giảm kích thước. Như vậy, phương pháp đưa dược chất vào niosome có ảnh hưởng đáng kể đến kích thước hạt niosome. Với phương pháp đưa metformin vào niosome thụ động, thực hiện siêu âm ở 2 khoảng thời gian là 15 phút và 30 phút sau bào chế để làm giảm kích thước tiểu phân. Kết quả cho thấy khi siêu âm trong 30 phút đa số các công thức có sự giảm kích thước so với chỉ siêu âm trong 15 phút, nhiều nhất là công thức 4 từ 2,36 μm xuống 0,762 μm . Riêng công thức 1 khi siêu âm lâu hơn thì lại làm tăng kích thước. Như vậy, siêu âm là một phương pháp hữu hiệu, đơn giản để làm giảm kích thước tiểu phân niosome sau bào chế và không nên áp dụng

phương pháp này khi thành phần tạo màng niosome chỉ có một chất hoạt động bề mặt là T80.

Madhavi M. *et al.* (2013) đã tạo ra các niosome metformin có các hạt có kích thước ở thang μm . Các niosome được tạo ra thông qua proniosome với sự tham gia của các chất HĐBM là Sp80 và T80 có kích thước hạt tương ứng là 3,5 và 2,26 μm .

3.2.4 Hiệu suất niosome hóa

Niosome được tạo ra bởi những chất HĐBM khác nhau cho hiệu suất niosome hóa khác nhau. Điều này là do các chất HĐBM sẽ ảnh hưởng trực tiếp đến cấu trúc và độ ổn định của màng. Nhìn chung, các công thức có thành phần chất HĐBM gồm T80+Sp80 đều cho hiệu suất niosome hóa cao hơn những công thức khác. Thời gian siêu âm tăng cũng làm tăng đáng kể hiệu suất niosome hóa ở các công thức 1, 4, 5 và làm giảm không đáng kể hiệu suất niosome hóa ở công thức 2 và 4. Hiệu suất tăng là do sau khi niosome được tạo ra có thể có cấu trúc nhiều lớp, khiến dược chất khó vào được bên trong. Thời gian siêu âm càng lâu, thì các lớp vỏ bên ngoài càng dễ bị phá vỡ và hình thành niosome mới, tạo điều kiện thuận lợi cho dược chất gắn vào bên trong niosome.



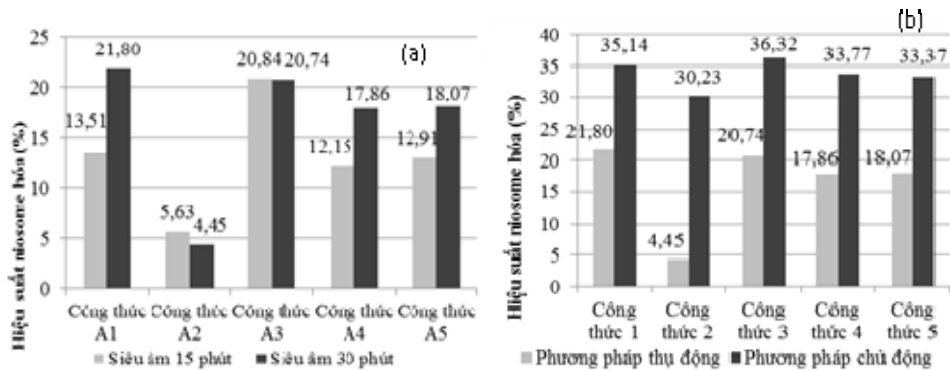
Hình 4: Ảnh hưởng thời gian siêu âm (a) và phương pháp đưa metformin vào niosome (b) đến kích thước hạt

Hiệu suất niosome hóa còn bị ảnh hưởng bởi phương pháp đưa metformin vào niosome. Phương pháp thụ động đều có hiệu suất thấp, cao nhất chỉ đạt 21,8% (công thức 1). Phương pháp chủ động cho hiệu suất niosome hóa cao hơn và thay đổi từ 30,23% đến 36,23%. Tất cả các công thức đều có sự tăng đáng kể hiệu suất niosome hóa khi thay đổi từ phương pháp thụ động sang chủ động. Trong đó, sự tăng nhiều nhất được thể hiện rõ ở công thức 2 từ 4,45% lên 30,23%.

Kết quả nghiên cứu cho thấy chất HĐBM không ion là yếu tố quan trọng, ảnh hưởng quyết định đến cấu trúc, đặc tính lý hóa, độ bền, kích thước, hiệu suất niosome hóa và có thể ảnh hưởng đến khả năng giải phóng hoạt chất của niosome. Dựa vào các kết quả phân tích ở trên cho thấy nếu chỉ sử dụng T80 và cholesterol (1:1, mol/mol) thì không phù hợp để tạo niosome. Công thức tạo ra hạt có kích thước lớn, độ bền không cao và dễ có sự kết tụ xảy ra làm tăng thể tích nhanh, tách lớp. Điều này có thể là do đầu thân nước của T80 lớn,

trong dây alkyl có nối đôi đó đó làm tăng tính thấm và kém bền. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Anchal Sankyan và Pravin K Pawar (2013). Ảnh hưởng của chất HĐBM khác nhau còn được thể hiện rõ ràng nhất ở kích thước hạt và hiệu suất niosome hóa. Khi so sánh giữa các công thức 2 (Sp80) và các công thức 3 (Sp60) thì kích thước hạt và hiệu suất niosome hóa của Sp60 luôn lớn hơn Sp80. Điều này có thể lý giải dựa vào công thức phân tử của Sp60 và Sp80, chúng có đầu thân

nước là giống nhau và đuôi kỵ nước có chiều dài như nhau. Tuy nhiên, Sp80 có một dây alkyl không no dẫn đến làm tăng tính thấm và giảm khả năng mang thuốc của cấu trúc niosome. Sự khác biệt này cũng có thể là do ảnh hưởng của chỉ số HLB gây ra. Theo nhiều nghiên cứu, chỉ số HLB thấp thì cho hiệu suất niosome hóa không tốt (Dharashivkar, S. et al., 2013). Cả Sp60 và Sp80 đều có chỉ số HLB thấp, nhưng HLB của Sp80 thấp hơn Sp60.



Hình 5: Ảnh hưởng của thời gian siêu âm (a) và phương pháp đưa metformin vào niosome (b) đến hiệu suất niosome hóa

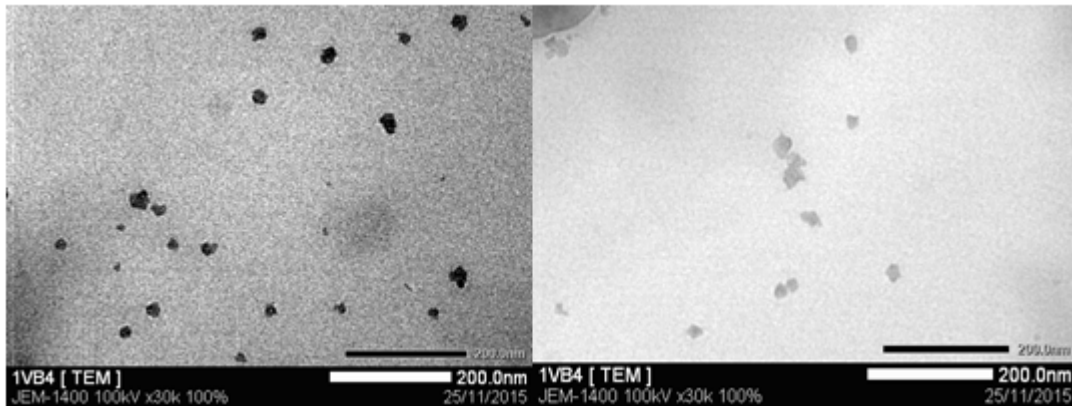
Trong sự kết hợp của hai chất HĐBM để có chỉ số HLB là 8,6 (chỉ số HLB được cho là mang lại hiệu suất niosome hóa cao nhất (Jessy Shaji and Akshay Shah, 2015)) cho thấy hiệu suất niosome hóa là cao hơn hẳn so với các công thức có chỉ số HLB thấp. Tuy nhiên, trong các công thức kết hợp đều có dây alkyl không no trong công thức là T80 nên kích thước hạt tạo ra đa số lớn.

Về ảnh hưởng của phương pháp đưa dược chất vào niosome cho thấy cách chủ động có hiệu suất niosome hóa và kích thước tiểu phân lớn hơn so với cách thụ động. Công thức 3 có sự giảm kích thước nhưng không đáng kể. Điều này có thể giải thích dựa trên đặt tính thân nước-kỵ nước của dược chất. Metformin là một dược chất thân nước do đó nó sẽ nằm bên trong nhân nước của niosome. Khi metformin vào bên trong càng nhiều sẽ làm cho nhân nước càng lớn lên và làm tăng đáng kể kích thước của niosome.

Như vậy, nghiên cứu đã tạo ra được hệ phân tán niosome metformin, tuy nhiên, khi so sánh các công thức tạo ra trong nghiên cứu này và nghiên cứu của Madhavi M. et al. (2013) cho thấy có sự tương đồng về kích thước nhưng hiệu suất liposome hóa vẫn còn thấp hơn đáng kể. Sự khác biệt này chủ yếu là do ảnh hưởng của phương pháp bào chế khác nhau và các trang thiết bị khác nhau. Mặc dù trong nghiên cứu này chưa tạo được các công thức có hiệu suất cao, nhưng nó được tiến hành với quy trình đơn giản, trang thiết bị thông thường và có thể dễ dàng áp dụng ở quy mô lớn. Các công thức vẫn có thể tối ưu hơn khi tiến hành khảo sát đầy đủ ảnh hưởng của từng yếu tố trong quy trình bào chế.

3.2.5 Kết quả TEM

Dựa vào kết quả kích thước hạt trung bình và hiệu suất niosome hóa (Bảng 3), công thức B3 được lựa chọn để khảo sát hình dạng qua ảnh TEM. Kết quả TEM (Hình 6) cho thấy các hạt tạo ra có dạng gần như tròn.



Hình 6: Ảnh một số hạt niosome qua hệ thống TEM trong công thức B3

4 KẾT LUẬN

Hệ phân tán niosome metformin được bào chế thành công bằng phương pháp hydrat hóa film mỏng. Các công thức được nghiên cứu dựa trên sự thay đổi về thành phần niosome, thời gian siêu âm và phương pháp đưa metformin vào niosome. Kết quả thực nghiệm cho thấy khi siêu âm hệ trong 30 phút cho kích thước hạt nhỏ hơn, hiệu quả đưa dược chất vào hệ tốt hơn. Phương pháp đưa dược chất bằng cách chủ động vào niosome cho hiệu suất niosome hóa và kích thước tiểu phân lớn hơn so với phương pháp thụ động. Kích thước trung bình các tiểu phân thay đổi từ 0,6 μm (span 60) đến 9,8 μm (tween 80+span 60). Hiệu suất cao nhất là 36,3% khi tiến hành đưa metformin vào niosome theo phương pháp chủ động với thành phần màng tween 80+span 80. Hầu hết công thức tạo thành có độ bền ổn định, tuy nhiên cần thử nghiệm giải phóng dược chất để tìm ra công thức phù hợp phát triển hệ thống mang thuốc mới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 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.
- Bilyk, A., Piazza, G.J., Bistline Jr., G.R. and Haas, M.J., 1991. Separation of cholesterol and fatty acylglycerols, acids and amides by thin-layer Chromatography. *Lipids*, 26/5: 405-406.
- Dharashivkar, S., Sahasrabudhe, S. and Saoji, A., 2013. Silver sulfadiazine niosomes: a novel sustained release once a day formulation for burn treatment. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6/1: 611-616.
- Folch, J., Less, M., Sloane Stanley, GH., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *The Journal of Biological Chemistry*, 226/1: 497-509.
- Ford, M.D., Delaney, K.A., Ling, L.J. and Erickson, T., 2001. *Clinical Toxicology*. W.B. Saunders Company., Philadelphia, PA., p. 426.
- Gupta, N.B., Loona, S. and Khan, M.U., 2012. Preparation and Characterization of Metformin Proniosome Gel for Treatment of Diabetes Mellitus. *International Journal of Pharmaceutical Science Review and Research*, 15/2: 108-114.
- Hasan, A.A., Madkor, H. and Wageh, 2013. Formulation and evaluation of metformin hydrochloride-loaded niosomes as controlled release drug delivery system. *Drug delivery*, 20/3-4: 120-126.
- Jessy Shaji and Akshay Shah, 2015. Niosome: a novel drug delivery system. *World journal of pharmaceutical research*, 4/6: 853-876.
- Kamboj, S., Saini, V. and Bala, S., 2014. Formulation and Characterization of Drug Loaded Nonionic Surfactant Vesicles (Niosomes) for Oral Bioavailability Enhancement. *The Scientific World Journal*, 2014: 1-8.
- Kazi, K.M., Mandal, A.S., Biswas, N., Guha, A., Chatterjee, S., Behera, M. And Kuotsu, K., 2010. Niosome: a future of targeted drug delivery systems. *Journal of Advanced*

- Pharmaceutical Technology and Research, 1: 374-80.
- Liebermann, N. C., 1885. Uber das Oxychinoterpen. Biological and Environmental Research, 18: 1803.
- Sankhyan, A. and Pawar, P.K., 2013. Metformin loaded non-ionic surfactant vesicles: optimization of formulation, effect of process variables and characterization. Journal of Pharmaceutical Science, 21/7: 1-8.
- Sweetman, S.C. and Martindale, 2005. The complete drug reference. 34th.ed. London: Pharmaceutical Press. pp.2756.
- WHO, March 2010. Model List of Essential Medicines.16th edition, World Health Organization, p. 24.