

Nghiên cứu bào chế vi cầu metformin hydroclorid giải phóng kéo dài bằng phương pháp bốc hơi dung môi từ nhũ tương

Phan Thị Kim Phụng^{1,2}, Lê Hậu¹, Lê Minh Quân^{1*}

¹BM. Công nghiệp Dược, Khoa Dược, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

²Khoa Y Dược, Trường Đại học Tây Nguyên

Summary

The aim of current study was to prepare ethyl cellulose-based microspheres containing metformin hydrochloride which release in an extended manner. The preparation was performed by solvent extraction evaporation method using solid-in-oil-in-water emulsification technique. The formulation and process factors (i.e. polymer type, solvent type, polymer concentration and emulsification speed) were tuned to achieve desired microsphere. As the results, the formulation employing ethyl cellulose 45 cps, ethyl acetate as solvent, polymer concentration at 100 mg/mL concomitantly with emulsification speed at 2000 rpm could be used to prepare microspheres having drug loading at 12.51% and the mean diameter of $266.0 \pm 6.5 \mu\text{m}$. The drug release from resultant microspheres was controlled with approximately 90% metformin hydrochloride released after 24 hours. The release kinetics complied with Korsmeyer-Peppas model. Therefore, the release mechanism was controlled by diffusion and polymer erosion simultaneously. The achieved microspheres could be used as component for sustained release dosage forms.

Keywords: Polymeric microsphere, ethyl cellulose, metformin, extended release.

Đặt vấn đề

Vi cầu (polymeric microsphere) là hệ mang thuốc hình cầu có kích thước từ $1 \mu\text{m}$ – $1.000 \mu\text{m}$. Thành phần chính của vi cầu gồm dược chất và tá dược được phân bố đồng đều trong khung polyme [1]. Trong hai thập niên gần đây, vi cầu nhận được nhiều sự quan tâm nghiên cứu vì chúng có kích thước hàng micromet đồng thời có khả năng kiểm soát sự phóng thích dược chất nhờ vào các polyme [2, 3]. Tùy thuộc vào tính chất polyme và dược chất, nhiều phương pháp có thể được lựa chọn để bào chế vi cầu, điển hình như: (1) - Phương pháp đông tụ (coacervation); (2) - Phương pháp bốc hơi dung môi từ nhũ tương (solvent extraction/evaporation), (3) - Phương pháp phun sấy (spray-drying method). Trong số này phương pháp bốc hơi dung môi từ nhũ tương có tính phổ biến, dễ dàng áp dụng và khả thi để nâng cấp trên quy mô lớn hơn [4].

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm bào chế vi cầu từ polyme ethyl cellulose (EC) chứa dược chất metformin hydroclorid (HCl) bằng phương pháp bốc hơi dung môi từ nhũ tương. Để có thể được sử dụng trong các dạng bào chế đường uống, vi cầu cần được thiết kế với kích thước trung bình trong khoảng $200 \mu\text{m}$ - $300 \mu\text{m}$, tỷ lệ tải dược chất lớn hơn 10% và có khả năng kiểm soát sự phóng thích metformin HCl trong 24 giờ.

Nguyên vật liệu và phương pháp

Nguyên liệu

Metformin HCl đạt tiêu chuẩn USP 40 được sản xuất bởi Hãng Vistin Pharma (Na Uy), các ethyl cellulose (EC) được hỗ trợ bởi Tập đoàn Colorcon (Singapore). Các tá dược khác gồm poly (vinyl alcol) (PVA) (Duksan, Hàn Quốc), ethyl acetat (EA) và dicloromethan (DCM) (Vina Chemsol, Việt Nam) đạt tiêu chuẩn dược dụng.

Phương pháp bào chế

Vi cầu được điều chế bằng phương pháp bốc hơi dung môi từ nhũ tương thông qua kỹ thuật tạo nhũ tương cấu trúc rắn/ dầu/ nước (solid/ oil/ water emulsification). Một lượng xác định EC được hòa tan hoàn toàn trong 10 mL dung môi (EA hoặc DCM). Phân tán metformin HCl

Chịu trách nhiệm: Lê Minh Quân

Email: leminhquan@ump.edu.vn

Ngày nhận: 09/9/2020

Ngày phản biện: 27/10/2020

Ngày duyệt bài: 29/10/2020

vào dung dịch polyme (sao cho tỉ lệ về khối lượng của dược chất/polyme là 0,4) bằng máy đồng nhất hóa (IKA T25, Đức) tốc độ 6000 rpm trong 4 phút. Nhũ hóa hỗn hợp thu được vào 30 mL dung dịch PVA 1%, khuấy ở 1000 rpm hoặc 2000 rpm trong 4 phút. Bổ sung 800 mL dung dịch PVA 0,5%; khuấy ở 1.000 rpm trong 120 phút để bốc hơi dung môi. Lọc hỗn hợp thu được dưới áp suất giảm, rửa ba lần với 500 mL nước. Sấy sản phẩm thu được trên lọc ở 50 °C đến độ ẩm không đổi. Bảo quản vi cầu trong bình kín để tiến hành các phân tích tiếp theo.

Trong quá trình xây dựng công thức và quy trình điều chế, các yếu tố như loại polyme, loại dung môi, nồng độ polyme và tốc độ khuấy trong quá trình nhũ hóa lần lượt được khảo sát để cho vi cầu có kích thước và tỉ lệ tải dược chất mong muốn.

Phương pháp đánh giá

Xác định tỉ lệ tải dược chất

Mẫu thử: Hòa tan 20 mg vi cầu vào vừa đủ 100 mL hỗn hợp ethanol : nước theo tỷ lệ 9:1 (tt/tt) trong bình định mức.

Mẫu trắng: Chuẩn bị tương tự mẫu thử với vi cầu placebo không chứa dược chất.

Hàm lượng metformin HCl trong vi cầu được xác định bằng phương pháp đo quang phổ hấp thụ UV ở bước sóng 236 nm, sử dụng đường chuẩn trong khoảng tuyến tính (0,5 µg/mL - 10 µg/mL). Tỉ lệ tải dược chất được tính theo công thức:

$$\text{Tỉ lệ tải (\%)} = \frac{\text{Khối lượng dược chất trong vi cầu}}{\text{Khối lượng vi cầu}} \times 100$$

Tiến hành thực nghiệm 3 lần, lấy giá trị trung bình.

Xác định kích thước: Kích thước vi cầu được xác định bằng thực nghiệm trên thiết bị đo kích thước hạt Malvern Mastersizer MS 3000 (n = 5). Giá trị Dv_{50} được ghi nhận là kích thước trung bình của mẫu thử.

Phân tích hình thái học: Hình dạng và hình thái bề mặt vi cầu được quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét Jeol JMS - 6400 (Mỹ).

Đánh giá độ giải phóng dược chất

Thử nghiệm được tiến hành trên thiết bị kiểu giỏ quay. Cho 200 mg vi cầu vào viên nang số 0, đặt viên nang vào giỏ quay, vận hành giỏ quay ở tốc độ ở 100 rpm trong 750 mL nước cất (nhiệt độ 37,0 °C ± 0,5 °C). Lấy mẫu (5 mL) tại các thời điểm 0,5; 1; 2; 3; 4; 6; 8; 10; 12; 16; 20; 24 giờ và bổ sung 5 mL môi trường bằng nước cất. Lọc mẫu thu được qua màng 0,45 µm. Dược chất trong mẫu thử được định lượng bằng phương pháp đo quang phổ hấp thụ UV ở bước sóng 232 nm.

Cơ chế giải phóng dược chất từ vi cầu được ngoại suy từ kết quả đánh giá sự tương thích của dữ liệu hòa tan với các mô hình động học bậc 0, bậc 1, mô hình Higuchi, mô hình Hixson - Crowell và mô hình Korsmeyer - Peppas.

Kết quả và bàn luận

Nghiên cứu bào chế vi cầu

Nghiên cứu lựa chọn loại polyme và dung môi để hòa tan polyme

Các công bố trước đây đã chứng minh độ nhớt của polyme có ảnh hưởng đến tỉ lệ tải và kích thước tiểu phân của vi cầu tạo thành [5]. Trong nghiên cứu này, bốn công thức (CT) sử dụng EC độ nhớt 7 cps, 20 cps, 45 cps hoặc 100 cps đã được điều chế với cùng thông số quy trình (tốc độ khuấy trong quá trình nhũ hóa 1000 rpm).

Bảng 1. Khảo sát ảnh hưởng của loại ethyl cellulose đến kích thước và tỉ lệ tải dược chất các vi cầu

Công thức	CT1	CT2	CT3	CT4	CT5
Metformin (mg)	200	200	200	200	200
EC 7 cps (mg)	500	-	-	-	-
EC 20 cps (mg)	-	500	-	-	-
EC 45 cps (mg)	-	-	500	-	500
EC 100 cps (mg)	-	-	-	500	-
Loại dung môi	DCM	DCM	DCM	DCM	EA
Kích thước (µm) (n = 5, TB ± SD)	30,1 ± 3,0	69,6 ± 2,7	246,4 ± 7,2	Không tạo vi cầu	353,0 ± 5,6
Tỉ lệ tải (%) (n = 3, TB ± SD)	0,10 ± 0,01	0,97 ± 0,01	2,49 ± 0,02	Không tạo vi cầu	9,74 ± 0,05

Kết quả đánh giá vi cầu tạo thành cho thấy tỉ lệ tải được chất và kích thước trung bình tăng khi sử dụng EC độ nhớt cao. Đối với công thức sử dụng EC 100 cps, độ nhớt của dung dịch polyme quá lớn, quá trình nhũ hóa pha dầu vào dung dịch PVA không tạo được các giọt nhỏ. Do vậy, sản phẩm tạo thành có dạng sợi thay vì vi cầu.

Đối với phương pháp bốc hơi dung môi từ nhũ tương, động học hóa rắn của polyme quyết định đặc tính vi cầu tạo thành. Trường hợp sự hóa rắn của polyme diễn ra chậm, các chuỗi polyme sẽ có đủ thời gian để sắp xếp lại vị trí trong không gian và có xu hướng co lại (shrinkage). Điều này dẫn đến kích thước vi cầu tạo thành thường nhỏ hơn [6]. Về hiệu suất bắt giữ được chất, sự ảnh hưởng có phức tạp hơn. Trong quá trình điều chế, dược chất được phân tán trong pha dầu và pha dầu tiếp tục được nhũ hóa vào pha liên tục thân nước. Do vậy, dược chất thân nước có xu hướng thất thoát (leaking) từ trong giọt dầu ra pha liên tục bên ngoài. Hiệu suất bắt giữ được chất của vi cầu cao hay thấp phụ thuộc vào khả năng hạn chế sự thất thoát này. Nếu polyme hóa rắn nhanh trong quá trình tách loại dung môi, sự thất thoát dược chất sẽ bị giới hạn. Kết quả là tỉ lệ dược chất bắt giữ được trong vi cầu sẽ càng cao. Bên cạnh đó, tính ổn định của hệ phân tán trong pha dầu cũng đóng vai trò quan trọng giúp nâng cao hiệu suất bắt giữ dược chất [6].

Trong nghiên cứu này, khi tăng độ nhớt của EC, tốc độ hóa rắn của polyme trong quá trình tách loại dung môi diễn ra nhanh hơn, tạo thành vi cầu có kích thước lớn và tỉ lệ tải cao hơn.

Vi cầu thu được từ CT3 sử dụng EC 45 cps

có tỉ lệ tải đạt 2,49%, cao hơn so với công thức dùng EC 7 cps và 20 cps. Tuy nhiên, giá trị này vẫn chưa đạt được mục tiêu nghiên cứu. CT5 được điều chế sử dụng EA để thay thế DCM trong vai trò dung môi hòa tan polyme. Tỉ lệ tải được chất của vi cầu được cải thiện đáng kể (trung bình 9,74%). Điều này có thể được giải thích bởi EA có độ phân cực cao hơn DCM (4,4 so với 3,1). Do đó, metformin HCl (với đặc tính thân nước) sẽ có ái lực với EA cao hơn, giúp hạn chế thất thoát dược chất trong giọt dầu ra pha ngoại trong quá trình nhũ hóa. Mặt khác, do tính tan trong nước khoảng 8,7%, EA khuếch tán vào pha ngoại nhanh hơn DCM trong quá trình tách loại. Kết quả là vi cầu hóa rắn gần như tức thời và kích thước trung bình tăng ngoài khoảng 200 μm - 300 μm .

Như vậy có thể thấy tốc độ hóa rắn polyme nhanh giúp tạo vi cầu có tỉ lệ tải dược chất cao hơn nhưng đồng thời cũng làm vi cầu có kích thước lớn. Để tạo được vi cầu có kích thước đủ nhỏ nhưng vẫn tải được lượng dược chất phù hợp, cần điều chỉnh các thông số điều chế như nồng độ polyme và tốc độ khuấy trong giai đoạn nhũ hóa.

Nghiên cứu xác định nồng độ polyme và tốc độ khuấy

Ở nội dung này, nồng độ polyme được điều chỉnh tăng đến 100 mg/mL (CT6), song song với việc tăng tốc độ khuấy trong quá trình nhũ hóa (2000 rpm, CT7) (bảng 2).

Khi tăng nồng độ polyme từ 50 mg/mL lên 100 mg/mL, tỉ lệ tải dược chất tăng từ 9,74% lên 13,54% do polyme bị hóa rắn nhanh hơn ở nồng độ cao. Đồng thời, kích thước vi cầu cũng tăng tương ứng từ 353,0 μm lên 551,0 μm .

Bảng 2. Thông số điều chế vi cầu có điều chỉnh nồng độ polyme và tốc độ khuấy

Công thức	CT5	CT6	CT7
Dược chất (mg)	200	400	400
EC 45 cps (mg)	500	1000	1000
Loại dung môi	EA	EA	EA
Thể tích dung môi (mL)	10	10	10
Tốc độ khuấy (vòng/phút)	1000	1000	2000
Kích thước (μm) (n = 5)	353,0 \pm 5,6	551,0 \pm 8,3	266,0 \pm 6,5
Tỉ lệ tải (%) (n = 3)	9,74 \pm 0,05	13,54 \pm 0,07	12,51 \pm 0,05

CT7 với nồng độ polyme tăng đến 100 mg/mL đồng thời tăng tốc độ khuấy trong quá trình nhũ hóa lên 2.000 rpm giúp tạo vi cầu có kích thước trung bình 266,0 μm và tỉ lệ tải 12,51%. Sự tăng tốc độ khuấy giúp phân tán hiệu quả pha dầu thành các giọt có kích thước

nhỏ, từ đó hóa rắn và hình thành vi cầu đạt theo yêu cầu thiết kế. Dữ liệu thu được góp phần củng cố các kết quả nghiên cứu đã công bố trước đây về ảnh hưởng của các thông số điều chế đến tính chất vi cầu tạo thành [7, 8].

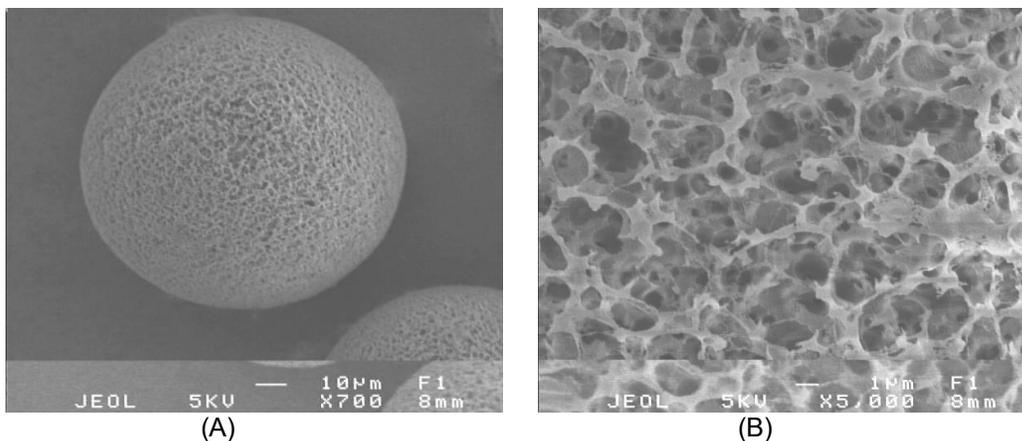
Như vậy, quá trình nghiên cứu đã xác định

các thông số điều chế phù hợp. Cụ thể, hòa tan 1.000 mg EC 45 cps trong 10 mL dung môi ethyl acetat. Phân tán 400 mg metformin HCl vào dung dịch polyme bằng máy đồng nhất hóa tốc độ 6.000 rpm trong 4 phút. Nhũ hóa hỗn hợp thu được vào 30 mL dung dịch PVA 1%, khuấy ở 2.000 rpm trong 4 phút. Bổ sung 800 mL dung dịch PVA 0,5%; khuấy ở 1.000 rpm trong 120 phút để tách loại và bay hơi dung môi. Vi cầu tạo thành được lọc, rửa và sấy trước khi

bảo quản trong bình kín.

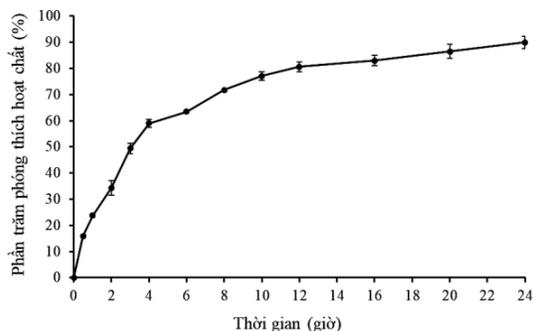
Đánh giá các tính chất của vi cầu tạo thành

Vi cầu tạo thành có kích thước trung bình $266,0 \pm 6,5 \mu\text{m}$ và tỉ lệ tải 12,51%. Phân tích hình thái của vi cầu dưới kính hiển vi điện tử quét cho thấy vi cầu có cấu trúc xốp. Các lỗ xốp liên thông tạo thành các kênh khuếch tán trong một mạng lưới polyme đồng nhất.

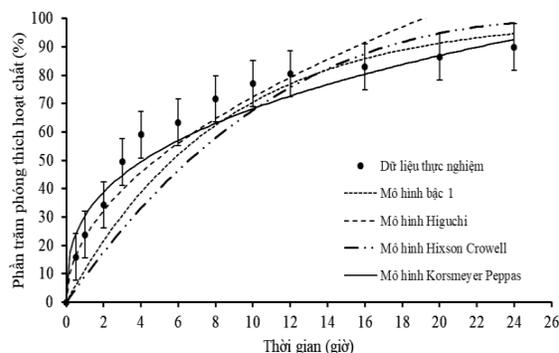


Hình 1. Ảnh hiển vi điện tử quét của (A) vi cầu và (B) lỗ xốp của vi cầu

Về độ giải phóng dược chất, vi cầu có khả năng kiểm soát sự phóng thích của metformin HCl trong 24 giờ. Sau hai giờ thử nghiệm, khoảng 35% lượng dược chất đã được phóng thích. Tốc độ giải phóng ở các giờ đầu nhanh do cấu trúc xốp trên bề mặt của vi cầu tạo điều kiện thuận lợi cho dược chất hòa tan và khuếch tán ra môi trường. Tốc độ phóng thích dược chất được duy trì đến giờ thứ 4, sau đó chậm dần và kết thúc với xấp xỉ 90% dược chất được phóng thích sau 24 giờ.



Hình 2. Đồ thị giải phóng dược chất của vi cầu chứa metformin HCl (CT7) (n = 3)



Hình 3. Hình biểu diễn sự tương thích của dữ liệu phóng thích với các mô hình

Kiểm định sự phù hợp của dữ liệu độ hòa tan với các mô hình động học cho thấy metformin HCl phóng thích từ vi cầu tuân theo mô hình Korsmeyer - Peppas (hình 3) với hệ số xác định R^2 có giá trị 99,62 (bảng 3).

Bảng 3. Hệ số tương quan của dữ liệu giải phóng dược chất với các mô hình động học

Mô hình	Bậc 0	Bậc 1	Higuchi	Hixson-Crowell	Korsmeyer-Peppas
R^2	48,19	86,03	93,84	75,58	99,62
Hệ số k	6,05	0,12	22,87	0,14	0,23
Tham số n	-	-	-	-	0,66

Với tham số n có giá trị bằng 0,66, sự phóng thích dược chất được ngoại suy theo cơ chế hỗn hợp, không tuân theo định luật Fick. Trong đó, sự khuếch tán của dược chất từ khung EC và sự bào mòn khung (do hiện tượng giãn dãn của chuỗi polyme) đồng thời tác động có ý nghĩa lên động học của quá trình giải phóng metformin HCl từ vi cầu.

Kết luận

Nghiên cứu đã xác định được thành phần công thức và thông số quy trình phù hợp để tạo vi cầu chứa metformin HCl giải phóng có kiểm soát trong 24 giờ. Đồng thời, với kích thước và tỉ lệ tải phù hợp, vi cầu tạo thành có thể được sử dụng như một sản phẩm trung gian để điều chế các dạng bào chế phóng thích kéo dài đường uống.

Tài liệu tham khảo

1. Lengyel M., Kállai-Szabó N., Antal V., Laki A.J., Antal I. (2019), "Microparticles, microspheres, and microcapsules for advanced drug delivery", *Scientia Pharmaceutica*, 87 (3), pp. 20-51.
2. Kim K. K., Pack D. W. (2006), "Microspheres for drug delivery", *BioMEMS and Biomedical Nanotechnology*, Springer, Boston, MA, pp. 19-50.
3. Bale S., Khurana A., Reddy A. S. S., Singh M., Godugua C. (2016), "Overview on therapeutic applications of microparticulate drug

delivery systems", *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 33 (4), pp. 309-361.

4. Hwisa N. T., Katakam P., Chandu B. R., Adiki S. K. (2013), "Solvent evaporation techniques as promising advancement in microencapsulation", *Biological Medicinal Chemistry*, 1 (1), pp. 8-22.

5. Pi C., Yuan J., Liu H., Zuo Y., Feng T. (2018), "In vitro and in vivo evaluation of curcumin loaded hollow microspheres prepared with ethyl cellulose and citric acid", *International Journal of Biological Macromolecules*, 115, pp. 1046-1054.

6. Yoon Y., Park K. (2004), "Control of encapsulation efficiency and initial burst in polymeric microparticle systems", *Archives of Pharmacal Research*, 27 (1), pp. 1-12

7. Minh-Quan L., Violet F., Paniagua C., Garric X., Venier M. C. (2018), "Penta-block copolymer microspheres: Impact of polymer characteristics and process parameters on protein release", *International Journal of Pharmaceutics*, 535 (1-2), pp. 428-437.

8. Khairnar G., Mokale V., Naik J. (2014), "Formulation and development of nateglinide loaded sustained release ethyl cellulose microspheres by O/W solvent emulsification technique", *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 44 (6), pp. 411-422.