

Nghiên cứu bào chế và rắn hóa hệ nano tự nhũ hóa chứa fenofibrat

Nguyễn Huy Tân, Nguyễn Ngọc Chiến*

Viện Công nghệ Dược phẩm Quốc gia, Trường Đại học Dược Hà Nội

Summary

The main purpose of this study was to develop and solidify a self-nano emulsification drug delivery system (SNEDDS) containing fenofibrate to enhance the dissolution rate of fenofibrate. A ternary phase diagram were constructed to determine efficient self-emulsification regions. The optimal SNEDDS formulation selected contained Labrafil M1944CS (20 %), Acrysol EL135 (40 %), Transcutol HP (40 %). The particle size of Feno SNEDDS was approximately 150 nm. Using calcium silicate as an adsorbed material solidified SNEDDS. The powder solidified with fenofibrate content of 9.98 % was good appearance and released drug nearly 100% after 10 mins.

Keywords: Fenofibrate, SNEDDS, pseudoternary phase, calcium silicate.

Đặt vấn đề

Fenofibrat (Feno) là dẫn chất của acid fibríc, được sử dụng rộng rãi trong các phác đồ điều trị rối loạn mỡ máu. Tuy nhiên, do kém tan trong nước nên khả năng hòa tan và sinh khả dụng của Feno là rất thấp và kém ổn định^[4]. Để tăng sinh khả dụng của Feno, một trong các biện pháp là sử dụng hệ nano tự nhũ hóa (TNH) do có nhiều ưu điểm. Hệ TNH vừa có khả năng làm tăng độ tan của Feno, vừa tăng khả năng hấp thu và bảo vệ dược chất (DC) tránh khỏi ảnh hưởng một số yếu tố bất lợi từ đường tiêu hóa^[2, 3]. Vì vậy chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu xây dựng được công thức bào chế và rắn hóa hệ TNH chứa Feno.

Nguyên liệu, phương pháp nghiên cứu Nguyên liệu

Feno (Trung Quốc), dầu đậu nành, dầu hướng dương, Span 60, Tween 80, isopropyl myristat (Trung Quốc); Labrasol, Labrafil M1944CS, Transcutol HP (Gattefossé, Pháp); Acrysol EL135 (Corel Pharma Chem, Ấn Độ); PEG 400 (Singapore); calci silicat dạng lỗ xốp (Nhật Bản); Aerosil 200 (Đức); Neusilin US2 (Nhật Bản); Syloid 244FP Silica (Mỹ): Đạt tiêu chuẩn dược dụng. Các hóa chất khác đạt tiêu chuẩn phân tích.

Chịu trách nhiệm: Nguyễn Ngọc Chiến

Email: nguyennngocchien@yahoo.com

Ngày nhận: 28/7/2021

Ngày phản biện: 02/8/2021

Ngày duyệt bài: 24/9/2021

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp bào chế và đánh giá hệ TNH chứa Feno

Xác định độ tan của Feno trong tá dược: Cho vào microtube 2 ml một lượng chính xác khoảng 1 g tá dược lỏng, thêm từ từ dược chất vào, rồi lắc xoáy (Vortex mixer VM300 - Đài Loan) trong 10 phút đến khi dược chất thêm vào không tan thêm. Hỗn hợp sau đó được lắc đều ở nhiệt độ 25 °C trong 48 giờ (máy Bio - Shaker BR - 300LF - Nhật Bản) để cân bằng quá trình hòa tan. Sau đó ly tâm các microtube ở 6000 vòng/phút (máy HERMLE Labortechnik GmbH - Z 326k - Đức) trong 10 phút và xác định nồng độ Feno trong tá dược lỏng bằng phương pháp HPLC dưới đây.

Xây dựng giản đồ pha: Tham khảo nghiên cứu của Gun Gook Kim và CS^[1], giản đồ pha được xây dựng theo nguyên tắc: Bào chế các hỗn hợp gồm 3 thành phần: pha dầu (O) – chất diện hoạt (S) – chất đồng diện hoạt (Co.S) với các tỉ lệ khác nhau của 3 thành phần đó. Giản đồ pha được xây dựng từ các điểm có hình thức cảm quan là nhũ tương “tốt” bằng phần mềm Chemix School 7.0.

Xác định độ tan của Feno trong hệ tá dược TNH: Phương pháp xác định độ tan của Feno trong các hệ tá dược TNH tương tự phương pháp xác định độ tan Feno trong tá dược.

Đánh giá độ ổn định vật lý hệ TNH: Quan sát sự biến đổi về thể chất, mức độ phân lớp, màu

sắc của các hệ TNH chứa Feno ở điều kiện phòng (T_0 : 15 - 30°C) trong 30 ngày.

Phương pháp định lượng: Định lượng Feno bằng phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao (**HPLC**) với các điều kiện: Hệ thống Agilent 1260, cột Agilent XDB – C18 (150 mm x 4,6 mm, 5 μ m), pha động hỗn hợp methanol (MeOH) : dung dịch KH₂PO₄ 10⁻³ M pH 2,9 (80:20), detector DAD 291 nm, tốc độ dòng 1 ml/phút, thể tích tiêm: 20 μ l. Mẫu thử là hệ TNH pha trong MeOH, nồng độ 40 μ g/ml.

Đánh giá độ ổn định của nhũ tương chứa Feno: Phối hợp 0,3 ml hệ TNH vào cốc chứa 300 ml nước, duy trì nhiệt độ 37 °C. Sau các khoảng thời gian 0,5 giờ; 1 giờ; 2 giờ; 4 giờ; 8 giờ, hút 5 ml dịch vào ống Falcon và ly tâm (tốc độ 1300 vòng/phút, 15 phút) để loại các thành phần đã kết tinh, đồng thời bổ sung lại 5 ml nước vào cốc. Tiến hành đo kích thước giọt (KTG), PDI trên thiết bị Zetasizer Nano ZS90 - Malvern (Anh) và xác định hàm lượng Feno trong phần dịch sau ly tâm bằng phương pháp **HPLC** ở trên.

Phương pháp rắn hoá hệ TNH và đánh giá bột chứa hệ TNH sau rắn hóa

Phương pháp rắn hoá: Hệ TNH được rắn hoá bằng phương pháp hấp phụ lên các chất mang như sau: Phối hợp hệ TNH chứa Feno vào chất mang (đã rây qua rây 0,125 mm) trong cối sứ và trộn đều liên tục đến đồng nhất.

Phương pháp định lượng: Cân một lượng bột tương đương 40 mg FB vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml MeOH, đậy nắp, siêu âm

trong 10 phút cho tan hết. Bổ sung MeOH đến vạch, lắc đều. Pha loãng 10 lần bằng pha động, lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

Đánh giá độ hòa tan: Cân chính xác một lượng bột sau hấp phụ tương ứng với 40 mg Feno. Tiến hành trên máy thử hòa tan PHARMATEST, thiết bị cánh khuấy, tốc độ 50 vòng/phút, môi trường dung dịch NaLS 0,72% ở nhiệt độ 37 \pm 0,5 °C. Định lượng hàm lượng dược chất hòa tan bằng **HPLC** tại các thời điểm 10, 20, 30, 40, 50, 60 phút.

Kết quả và bàn luận

Kết quả bào chế TNH chứa Feno

Độ tan Feno trong tá dược

Kết quả khảo sát độ tan của Feno được trình bày tại bảng 1. Labrafil 1944 CS có khả năng hòa tan Feno nhiều nhất (độ tan Feno trong Labrafil 1944 CS: 55,72 mg/g) được lựa chọn làm pha dầu. Tương tự, Transcutol HP được chọn làm chất đồng diện hoạt. Trong nhóm chất diện hoạt, các tá dược Acrysol EL135, Labrasol, Tween 80 có khả năng hòa tan fenofibrat gần tương đương nhau (~ 70 mg/g) và đều cao hơn hẳn Span 60 (31,19 mg/g). Do đó, các thành phần hệ TNH gồm có Labrafil 1944 CS, Transcutol HP và 3 chất diện hoạt Acrysol EL135, Tween 80, Labrasol được chọn cho nghiên cứu tiếp theo.

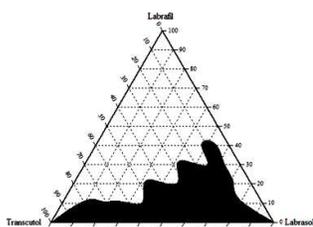
Bảng 1. Kết quả độ tan Feno (mg/g) trong chất mang (n = 3) (25°C)

Pha dầu		Chất diện hoạt		Chất đồng diện hoạt	
<i>Dầu đậu nành</i>	40,33 \pm 2,5	<i>Span 60</i>	31,19 \pm 1,1	<i>PEG 400</i>	41,15 \pm 3,3
<i>Dầu hướng dương</i>	36,75 \pm 3,0	<i>Acrysol EL135</i>	74,16 \pm 2,2	<i>Transcutol HP</i>	209,67 \pm 4,2
<i>Labrafil 1944CS</i>	55,72 \pm 1,1	<i>Tween 80</i>	68,84 \pm 2,0		
		<i>Labrasol</i>	70,17 \pm 3,0		

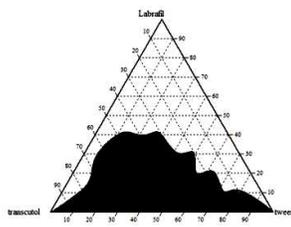
Kết quả xây dựng giản đồ pha

Kết quả xây dựng giản đồ pha được trình bày ở hình 1. Từ giản đồ pha có thể thấy rằng các hệ đều có khả năng tạo nhũ tương, vùng hình

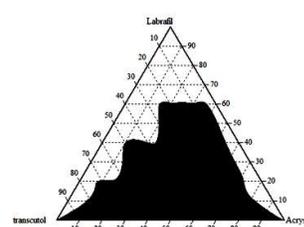
thành nhũ tương nằm tập trung ở vùng có tỉ lệ lớn của chất diện hoạt và đồng diện hoạt. Hệ S3 (Labrafil 1944 CS/Acrysol EL135/Transcutol HP) có vùng hình thành nhũ tương lớn nhất.



Hình 1.1. Giản đồ pha hệ S1: Labrafil 1944 CS - Labrasol - Transcutol HP



Hình 1.2. Giản đồ pha hệ S2: Labrafil 1944 CS - Tween 80 - Transcutol HP



Hình 1.3. Giản đồ pha hệ S3: Labrafil 1944 CS - Acrysol EL135 - Transcutol HP

Hình 1. Giản đồ pha vùng hình thành nhũ tương của 3 hệ TNH

Như vậy, hệ S3 (chất diện hoạt Acrysol EL135) được chọn cho nghiên cứu tiếp theo.

Độ tan Feno trong hệ tá dược TNH

Trong hệ S3, chọn các hệ tá dược TNH

tạo nhũ tương trong suốt, KTG nhũ tương nhỏ hơn 100 nm (20 công thức) để tiếp tục khảo sát. Độ tan Feno trong 20 hệ tá dược TNH S3 (mg/g) được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Độ tan Feno trong hệ TNH S3 (mg/g)

Tỉ lệ S-mix	Tỉ lệ pha đầu : S-mix				
	1:9 (1)	2:8 (2)	3:7 (3)	4:6 (4)	5:5 (5)
4:6 (D)	148,13				
5:5 (E)	142,42	131,54			
6:4 (F)	132,86	123,62	121,67		
7:3 (G)	96,44	92,77	89,85	86,56	
8:2 (H)	87,29	80,13	72,80	67,45	55,47
9:1 (K)	75,17	72,24	68,79	61,83	54,96

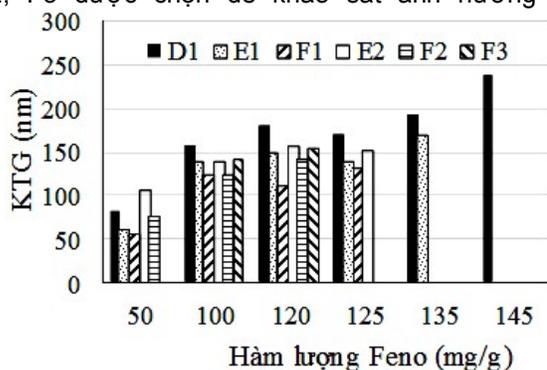
Tỉ lệ S-mix = Tỉ lệ diện hoạt : đồng diện hoạt.

Kết quả cho thấy độ tan của Feno lớn nhất ở công thức hệ tá dược TNH D1 (148,13 mg/g) gồm Labrafil M1944CS (10%) – Acrysol EL135 (36%) – Transcutol HP (54%). Sáu công thức hệ tá dược TNH cho độ tan của Feno lớn hơn 100 mg/g, gồm các công thức D1, E1, E2, F1, F2, F3 được chọn để khảo sát ảnh hưởng

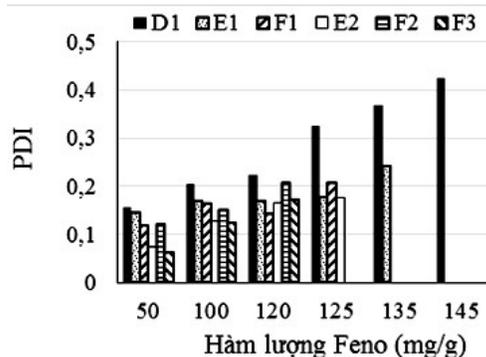
của tỉ lệ Feno.

Ảnh hưởng của tỉ lệ Feno tới các đặc tính của hệ TNH

Tiến hành phối hợp Feno vào hệ tá dược TNH với các hàm lượng từ 50 mg/g đến 145 mg/g. Kết quả KTG và PDI của các hệ TNH được thể hiện trong hình 2 và hình 3.



Hình 2. KTG của nhũ tương chứa hệ TNH (nm) có tỉ lệ Feno khác nhau



Hình 3. PDI của nhũ tương chứa hệ TNH có tỉ lệ Feno khác nhau

Về KTG, trừ công thức D1 khi phối hợp 145 mg/g Feno có KTG 239,4 nm; các công thức

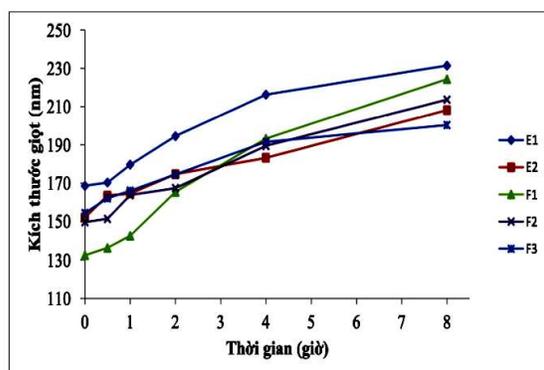
còn lại đều cho KTG < 200 nm. Về PDI, các công thức đều có chỉ số PDI < 0,3 (trừ công thức D1 khi

phối hợp lượng dược chất lớn hơn 120 mg/g). Để phối hợp được lượng dược chất tối đa vào hệ TNH mà vẫn đảm bảo về các chỉ tiêu hình thức cảm quan, KTG và PDI, 5 công thức E1, F1, E2, F2, F3 được lựa chọn với tỉ lệ Feno như sau: E1– 135 mg/g, F1– 125 mg/g, E2– 125 mg/g, F2 – 120 mg/g, F3– 120 mg/g. Đánh giá độ ổn định của 5 công thức này ở nhiệt độ phòng sau 30 ngày bảo quản nhận thấy rằng tất cả các công

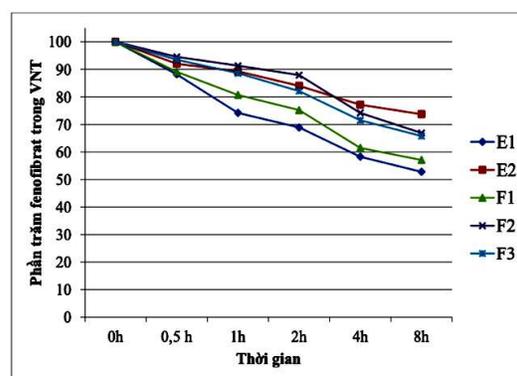
thức đều không bị phân lớp, không bị kết tủa dược chất và không biến đổi màu sắc. Có thể kết luận rằng các công thức hệ TNH đều ổn định về mặt vật lý trong 30 ngày.

Kết quả độ ổn định của nhũ tương chứa hệ TNH Feno

Kết quả KTG của nhũ tương và hàm lượng Feno trong nhũ tương theo thời gian được thể hiện trong hình 4 và hình 5.



Hình 4. Sự thay đổi KTG nhũ tương theo thời gian



Hình 5. Sự thay đổi hàm lượng Feno trong nhũ tương theo thời gian

Kết quả từ hình 4 cho thấy KTG của nhũ tương tăng lên theo thời gian. Trong đó, hai công thức F3 và E2 có mức độ tăng KTG nhỏ nhất với giá trị KTG khoảng 200 nm sau 8 giờ. Hình 5 cho thấy hàm lượng dược chất còn lại trong nhũ tương đều có xu hướng giảm dần theo thời gian do hiện tượng tái kết tinh dược chất. Sau 8 giờ, công thức E2 có tỉ lệ Feno còn lại trong nhũ tương cao nhất (73,7%), công thức E1 có tỉ lệ Feno còn lại trong nhũ tương

thấp nhất (52,8%). Như vậy, công thức E2 (Labrafil M1944CS (20%) – Acrysol EL135 (40%) – Transcutol HP (40%) được lựa chọn để nghiên cứu tiếp.

Kết quả rắn hoá hệ TNH

Ảnh hưởng của chất hấp phụ

Hệ TNH theo công thức E2 được tiến hành rắn hoá bằng phương pháp hấp phụ với các chất mang khác nhau thu được kết quả như sau:

Bảng 3. Ảnh hưởng của chất hấp phụ tới tính chất của bột sau rắn hoá

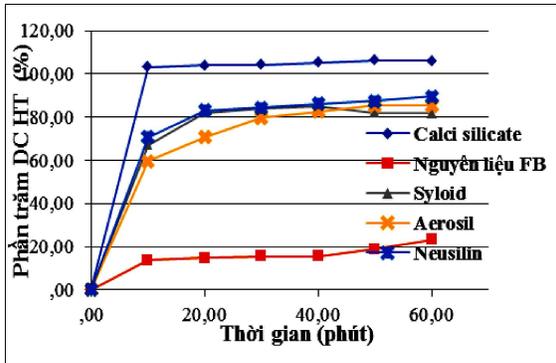
Tỉ lệ hệ TNH: chất mang (ml/g)	Aerosil 200	Neusilin US2	Syloid	Calci silicat
1:1	Bột khô, tơi xốp			
2:1	Bột khô, tơi xốp			
3:1	Bột nhão, kết dính	Bột nhão, kết dính	Bột nhão, kết dính	Bột khô, tơi xốp
4:1				Bột khô, tơi xốp
5:1				Bột nhão, kết dính

Bảng 3 cho thấy calci silicat có khả năng hấp phụ hệ TNH tốt hơn so với các chất mang khác, bột sau rắn hoá vẫn đảm bảo tính chất khô, tơi xốp khi tỉ lệ hệ TNH : chất mang là 4:1 (ml/g). Ngoài ra, hàm lượng Feno trong bột sau rắn hoá với chất mang calci silicat là $9,98 \pm 0,02$ (%), cao hơn so với hàm lượng Feno trong bột

sau rắn hoá với chất mang Aerosil 200, Neusilin US2, Syloid với giá trị lần lượt là $8,31 \pm 0,02$ (%), $8,29 \pm 0,03$ (%), $8,25 \pm 0,01$ (%).

Độ hoà tan

Kết quả từ hình 6 cho thấy tất cả các công thức bột sau rắn hoá đều có độ hoà tan cao hơn đáng kể so với bột Feno nguyên liệu.



Hình 6. Đồ thị độ hòa tan của bột hấp phụ Feno theo thời gian

Calci silicat là tá dược hấp phụ cho kết quả độ hòa tan (HT) tốt nhất (sau 10 phút hòa tan 100 % lượng Feno được hấp phụ), các công thức khác có kết quả độ hòa tan Feno sau 10 phút đạt từ 59,5 % đến 70,7 % (gấp 4-5 lần bột Feno nguyên liệu) và sau 60 phút đạt từ 85,4 % đến 89,6 % (gấp 3,5 lần bột Feno nguyên liệu).

Bàn luận

Độ tan của Feno trong các hệ tá dược TNH là khác nhau, lớn nhất (148,13 mg/g) trong hệ gồm Labrafil M1944CS (10 %) – Acrysol EL135 (36 %) – Transcutol HP (54 %). Khi cố định tỉ lệ pha dầu : S-mix (chất diện hoạt và đồng diện hoạt), tăng tỉ lệ chất diện hoạt trong S-mix thì độ tan của Feno cũng giảm dần. Điều này có thể giải thích do độ tan của Feno trong đồng diện hoạt Transcutol HP (209,6 mg/g) cao hơn hẳn so với độ tan trong tá dược dầu Labrafil M1944CS (55,7 mg/g) và độ tan trong chất diện hoạt Acrysol EL135 (74,1 mg/g), do đó, việc tăng tỉ lệ pha dầu hoặc tỉ lệ chất diện hoạt trong S-mix đều làm giảm hàm lượng Transcutol HP trong hệ, do đó độ tan của Feno có xu hướng giảm. Độ ổn định của nhũ tương được khảo sát thông qua KTG của nhũ tương và hàm lượng dược chất còn lại trong nhũ tương theo thời gian. KTG của nhũ tương tăng lên theo thời gian. Các công thức E1, F1 có mức độ tăng kích thước lớn nhất; các công thức E2, F2, F3 có mức độ tăng kích thước nhỏ hơn. Nguyên nhân có thể do tỉ lệ pha dầu ở các công thức E1, F1 nhỏ (10 %), làm giảm độ ổn định của nhũ tương, dẫn đến KTG nhũ tương tăng lên nhanh chóng. Hàm lượng dược chất còn lại trong nhũ tương

theo thời gian (công thức E1, E2, F1, F2, F3) đều có xu hướng giảm dần theo thời gian do hiện tượng tái kết tinh dược chất.

Chất mang calci silicat có khả năng hấp phụ hệ TNH và giải phóng dược chất tốt nhất so với các chất mang còn lại (Aerosil 200, Syloid, Neusilin US2). Calci silicat thuộc nhóm silica dạng lỗ xốp, khác với cấu trúc lỗ xốp của nhóm silic thông thường, tá dược này có cấu trúc tinh thể hình cánh hoa (petaloid) tạo thành rất nhiều lỗ xốp kích thước cỡ nanomet nên có diện tích bề mặt lớn, có khả năng mang thuốc cao nên có thể hấp phụ và giữ lại các tiểu phân dược chất kích thước nano. Bột sau rắn hoá có màu trắng hoặc gần trắng, khô, tơi xốp, giải phóng được 100% lượng fenofibrat sau 10 phút.

Kết luận

Bột chứa hệ TNH Feno đã được bào chế thành công. Bột khô, tơi xốp thu được từ hỗn hợp chất mang calci silicat phối trộn với hệ TNH E2 theo tỉ lệ 1:4. Công thức hệ TNH E2 (Labrafil M1944CS (20 %) – Acrysol EL135 (40 %) – Transcutol HP (40 %) chứa 12,5 % Feno có các đặc tính: KTG khoảng 150 nm, PDI < 0,3 và ổn định về mặt vật lý sau 30 ngày bảo quản ở nhiệt độ phòng. Độ hòa tan Feno từ bột 100 % sau 10 phút.

Tài liệu tham khảo

- Kim G. G. et al. (2013), "Enhancement of oral bioavailability of fenofibrate by solid self-microemulsifying drug delivery systems", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 39 (9), pp. 1431-1438.
- Raman S. K. et al. (2015), "Nanoemulsion for lymphatic absorption: Investigation Fenofibrate nanoemulsion system for lymphatic uptake", *International Journal of ChemTech Research*, 7 (2), pp. 832 – 841.
- Vanitasagar S., Subhashini N. J. P. (2013), "Novel self nanoemulsion drug delivery system of Fenofibrate with improved bioavailability", *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4 (2), pp. 511 - 521 .
- Xia D. et al. (2016), "Spray drying of fenofibrate loaded nanostructured lipid carriers", *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11 (4), pp. 507-515.