

NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ GEL CHỨA TIỂU PHÂN NANO VITAMIN K₁

Ngô Thị Thu Trang*; Phạm Thị Ph- ong Dung*; Nguyễn Trần Linh*

TÓM TẮT

Khảo sát ảnh h- ớng của lipid (alcol cetylic, acid stearic, suppicire) và chất diện hoạt (span 80, tween 80, cremophor EL) đến giải phóng *in vitro* của vitamin K₁ từ hệ tiểu phân nano lipid rắn và từ gel. Kết quả cho thấy: hỗn hợp 0,5% alcol CETYLIC, 0,8% suppicire và 0,7% span 80, 1,5% tween 80 cho tỷ lệ giải phóng d- ợc chất cao nhất.

* Từ khóa: Gel lipid rắn; Vitamin K₁.

FORMULATION OF GEL CONTAINING NANOPARTICLES OF VITAMIN K₁

SUMMARY

A study was conducted on the influences of lipids (cetyl alcohol, stearic acid, suppicire) and surfactants (span 80, tween 80, cremophor EL) on in vitro drug release. The excipient mixture of 0.5% cetyl alcohol, 0.8% suppicire, 0.7% span 80, 1.5% tween 80 showed maximum drug release.

* *Key words: Gel solid lipid; Vitamin K₁.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Vài năm gần đây, vitamin K₁ xuất hiện trong mỹ phẩm và chế phẩm dùng ngoài để điều trị tĩnh mạch mạng nhện và cải thiện những triệu chứng: ban đỏ, ban xuất huyết, vết thâm tím do nhiều nguyên nhân khác nhau. Nh- ng hạn chế của nó khi dùng ngoài da là khả năng thấm và duy trì tác dụng trong thời gian dài. Có nhiều biện pháp để cải thiện tính thấm của d- ợc chất, trong đó có hệ tiểu phân nano lipid rắn với nhiều - u điểm: hạn chế kích ứng, kéo dài thời gian tác dụng, bao phủ bề mặt, tăng hydrat hóa lớp sừng và tăng tính thấm của d- ợc chất. Hệ tiểu phân nano lipid rắn còn có khả năng khóa tia tử ngoại (UV). Do vậy, bảo vệ d- ợc vitamin K₁, một d- ợc chất nhạy cảm với ánh sáng, trong lõi lipid rắn giúp tránh khỏi sự phân hủy của tia UV. Trên thế giới, đã có nghiên cứu về bào chế tiểu phân nano chứa vitamin K₁, nhiều chế phẩm dạng gel, cream chứa vitamin K₁ tự do và cả chế phẩm chứa hệ tiểu phân nano vitamin K₁. Nh- ng ở Việt Nam, ch- a có nghiên cứu nào về vấn đề này. Do vậy, nghiên cứu bào chế gel chứa tiểu phân nano vitamin K₁ là cần thiết.

Trong bài này, chúng tôi thông báo kết quả nghiên cứu b- ớc đầu về bào chế hệ tiểu phân nano lipid rắn chứa vitamin K₁, gel chứa hệ tiểu phân nano và kết quả đánh giá ảnh h- ớng của các thành phần trong hệ tiểu phân nano đến khả năng giải phóng *in vitro* của vitamin K₁ từ hệ tiểu phân nano và gel.

NGUYÊN LIỆU, THIẾT BỊ VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu và thiết bị.

- Vitamin K₁, alcol cetylic, axít stearic, suppocire, cremophor EL, span 80, tween 80, carbopol 940, glycerin, triethanolamin, ethanol tuyệt đối, natri clorid, natri dihydrophosphat, natri hydroxyd theo tiêu chuẩn d- ợc điển Trung Quốc hoặc tiêu chuẩn nhà sản xuất. Axít phosphoric, axít acetic, methanol tinh khiết dùng cho HPLC.

- Máy siêu âm LABSONIC® M, máy khuấy từ IKA - WERKE (Đức), máy quang phổ UV-VIS Cary 50, máy đo quang phổ UV-VIS HITACHI U1800 (Nhật), máy đo pH EUTECH INSTRUMENTS pH 510, máy ly tâm HERMLE Z200 A, kính hiển vi điện tử truyền qua JEM 1010, máy phân tích kích th- ớc hạt Zetasizer Nano ZS90, hệ thống đánh giá giải phóng thuốc qua màng Hanson Research, hệ thống HPLC THERMO-FINNIGAN và một số thiết bị khác.

2. Ph- ợng pháp nghiên cứu.

- Ph- ợng pháp bào chế:

+ Bào chế hệ tiểu phân nano vitamin K₁: bằng ph- ợng pháp siêu âm kết hợp với khuấy từ. Bào chế mỗi mẫu 100 ml chứa 0,25 g vitamin K₁, 3 loại lipid (alcol cetylic, axít stearic, suppocire), 2 loại chất diện hoạt thân n- ớc (tween 80, cremophor EL) và 1 loại chất diện hoạt thân dầu (span 80) với tỷ lệ khác nhau.

+ Bào chế chế phẩm gel từ hệ tiểu phân nano vitamin A palmitat: bào chế 100 ml gel với công thức: Carbopol 940: 0,4 g; hệ tiểu phân nano vitamin K₁: 50 ml(t- ợng đ- ợng với 0,125 g vitamin K₁); glycerin: 10 ml; triethanolamin: 1 ml; n- ớc cất vừa đủ:100 ml.

- Ph- ợng pháp đánh giá hệ tiểu phân nano:

+ Đánh giá giải phóng vitamin K₁ từ hệ tiểu phân nano bằng hệ thống giải phóng qua màng Hanson Research (màng cellulose acetat 0,2 μm). Môi tr- ờng giải phóng là hỗn hợp ethanol: dung dịch đệm phosphat pH 7,5 (1:4) ở 37°C. Tốc độ khuấy 400 vòng/phút. Thể tích mẫu thử: 0,5 ml. Sau 30 phút lấy mẫu một lần trong 3 giờ. Xác định hàm l- ợng vitamin K₁ giải phóng bằng ph- ợng pháp quang phổ hấp thụ UV ở b- ớc sóng 277 nm.

+ Định l- ợng hàm l- ợng vitamin K₁ trong hệ tiểu phân nano: sử dụng hệ thống HPLC Thermo Finnigan với các thông số: cột Altech C18 (250 x 4,6 mm, 5 μm), tốc độ dòng 1,2 ml/phút; detector UV (b- ớc sóng phát hiện 226 nm); thể tích tiêm mẫu 20 μl; pha động là hỗn hợp methanol: dung dịch axít acetic 0,25 M (99:1). Mẫu thử: 2,0 ml hệ tiểu phân nano đ- ợc hòa tan trong ethanol đun nóng vừa đủ 50 ml. Làm lạnh để lipid kết tủa, ly tâm lấy phần dịch và pha loãng 10 lần bằng pha động.

+ Đánh giá hình thái và kích th- ớc tiểu phân của hệ tiểu phân nano bằng kính hiển vi điện tử truyền qua.

+ Đánh giá kích th- ớc và phân bố kích th- ớc tiểu phân bằng máy Zetasizer Nano ZS90.

- Ph- ợng pháp đánh giá gel chứa hệ tiểu phân nano vitamin K₁:

+ Đánh giá giải phóng vitamin K₁ từ gel: màng cellulose acetat 0,45 μm, khối l- ợng gel thử 0,25 - 0,35 g với điều kiện và thiết bị thử t- ợng tự nh- ph- ợng pháp đánh giá giải phóng vitamin K₁ từ hệ tiểu phân nano.

+ Định l- ợng nồng độ vitamin K₁ trong gel bằng HPLC với thiết bị và điều kiện sắc kí t- ợng tự nh- ph- ợng pháp định l- ợng vitamin K₁ trong hệ tiểu phân nano. Mẫu thử là 1,0 g gel phân tán trong hỗn hợp n- ớc: ethanol (25:75) ở 70 - 80°C tạo thành 100 ml dung dịch và pha loãng 5 lần bằng pha động.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Khảo sát ảnh h- ớng của các thành phần công thức đến l- ợng vitamin K₁ giải phóng từ hệ tiểu phân nano.

Dựa vào ph- ợng pháp thiết kế mặt hợp tử tại tâm, phần mềm MODDE 8.0, chúng tôi thu đ- ợc thiết kế thí nghiệm.

Bảng 1: Bảng thiết kế thí nghiệm.

C ông thức	Thành phần							
	Vita min K ₁ (g)	L oại CM	L- ợng CM (g)	Suppo cure (g)	Loại CDH thân n- ớc	L- ợng CDH thân n- ớc (g)	Sp an 80 (g)	N- ớ c cất vừa đủ (ml)
1	0,25	A C	0,5	0,8	CEL	1,5	0, 3	100
2	0,25	A S	0,5	0,8	CEL	2	0, 3	100
3	0,25	A C	2,5	0,8	CEL	2	0, 7	100
4	0,25	A S	2,5	0,8	CEL	1,5	0, 7	100
5	0,25	A C	0,5	2	CEL	2	0, 7	100
6	0,25	A S	0,5	2	CEL	1,5	0, 7	100
7	0,25	A C	2,5	2	CEL	1,5	0, 3	100
8	0,25	A S	2,5	2	CEL	2	0, 3	100
9	0,25	A C	0,5	0,8	T80	1,5	0, 7	100
1 0	0,25	A S	0,5	0,8	T80	2	0, 7	100
1 1	0,25	A C	2,5	0,8	T80	2	0, 3	100
1 2	0,25	A S	2,5	0,8	T80	1,5	0, 3	100
1 3	0,25	A C	0,5	2	T80	2	0, 3	100
1 4	0,25	A S	0,5	2	T80	1,5	0, 3	100
1	0,25	A	2,5	2	T80	1,5	0,	100

5		C					7	
1 6	0,25	A S	2,5	2	T80	2	0, 7	100
1 7	0,25	A C	1,5	1,4	CEL	1,75	0, 5	100
1 8	0,25	A C	1,5	1,4	CEL	1,75	0, 5	100
1 9	0,25	A C	1,5	1,4	CEL	1,75	0, 5	100

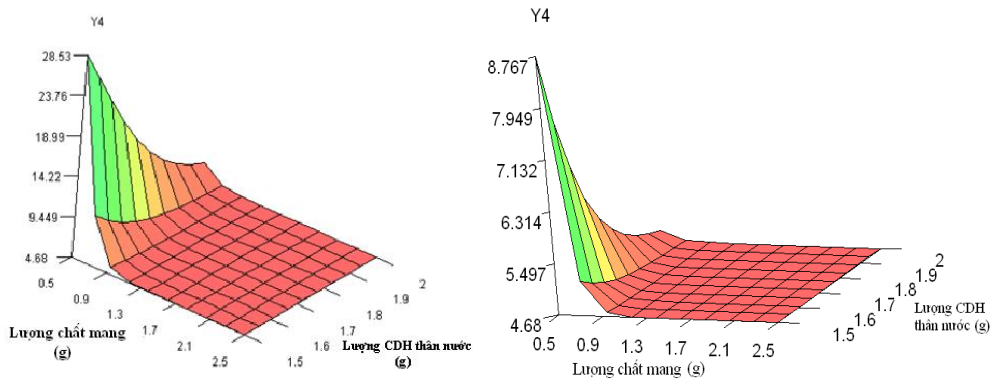
(AC: alcol cetylic; AS: axit stearic; CEL: Cremophor EL; T80: tween 80)

Chúng tôi chỉ tiến hành bào chế 15 công thức trong bảng thiết kế thí nghiệm bằng phương pháp siêu âm và bỏ qua các công thức 4, 8, 12 và 16 (do lượng axit stearic lớn ảnh hưởng đến thể chất). Sau đó, đánh giá giải phóng.

Bảng 2: Kết quả đánh giá độ giải phóng của vitamin K₁ từ các mẫu theo công thức thiết kế.

Công thức	Phần trăm vitamin K ₁ giải phóng (%) ở các giờ					
	0,5	1	1,5	2	2,5	3
1	23,88	23,29	44,19	36,82	38,60	41,65
2	43,32	59,72	51,39	53,24	53,16	48,86
3	0,66	13,22	9,65	7,35	5,98	0,99
5	15,68	18,48	21,08	25,05	26,66	27,08
6	10,92	16,68	31,23	44,61	53,39	61,41
7	3,64	2,76	3,71	3,21	3,42	3,90
9	1,19	1,71	13,15	28,56	46,45	65,76
10	0,49	1,61	1,50	1,72	3,15	5,29
11	0,10	1,10	0,27	0,06	0,30	0,33
13	13,36	15,58	17,73	20,79	20,76	21,95
14	10,05	12,44	14,33	12,96	13,76	14,26
15	1,66	3,61	7,06	8,94	11,47	13,01
17	1,08	2,03	4,22	7,37	10,85	12,82
18	3,37	4,11	5,30	7,16	9,04	9,37
19	1,61	2,41	3,81	5,47	7,76	8,74

Tiếp tục đánh giá ảnh hưởng của một số thành phần trong công thức với sự trợ giúp của phần mềm FormRules 2.0.



Hình 1: Mặt đáp của Y_4 theo l- ợng chất mang (alcol cetylic) và l- ợng CDH thân n- ớc (tween 80) (suppocire 0,8g, span 80 0,7g)

Hình 2: Mặt đáp của Y_4 theo l- ợng chất mang (axít stearic) và l- ợng CDH thân n- ớc (tween 80) (suppocire 0,8 g, span 80 0,7 g)

L- ợng chất mang alcol cetylic và l- ợng CDH thân n- ớc (teen 80) ảnh h- ớng đến tỷ lệ (%) vitamin K₁ giải phóng từ hệ tiêu phân. Khi l- ợng chất mang alcol cetylic tăng từ 0,5 g lên 1,3 g, l- ợng vitamin K₁ giải phóng từ hệ tiêu phân nano giảm nhiều. Trong khi đó, nếu tăng từ 1,3 - 2,5 g không ảnh h- ớng tới tỷ lệ vitamin K₁ giải phóng. Thông th- ờng, CDH làm tăng tốc độ giải phóng d- ợc chất. Tuy nhiên, trong tr- ờng hợp này, khi l- ợng alcol cetylic dùng khoảng từ 0,5 - 1,3 g và tăng khối l- ợng tween 80 thì tỷ lệ phần trăm vitamin K₁ giải phóng giảm. T- ợng tự nh- alcol cetylic, l- ợng axit stearic cũng ảnh h- ớng tới tỷ lệ vitamin K₁ giải phóng, nằm trong giới hạn từ 0,5 - 0,9 g nếu sử dụng CDH thân n- ớc là tween 80. Mô hình ảnh h- ớng t- ợng tự alcol cetylic, tỷ lệ vitamin K₁ giải phóng luôn nhỏ hơn với tất cả các mẫu (hình 2).

Kết quả thu đ- ợc cho thấy alcol cetylic phối hợp với suppcire là chất mang tốt hơn cho hệ tiêu phân nano. Ch- a thể kết luận cremophor EL hay tween 80 có hiệu quả hơn, nh- ng mẫu bào chế với tween 80 có phần trăm vitamin K₁ giải phóng cao nhất sau 3 giờ. Do vậy, chúng tôi lựa chọn tween 80 cho những nghiên cứu tiếp theo.

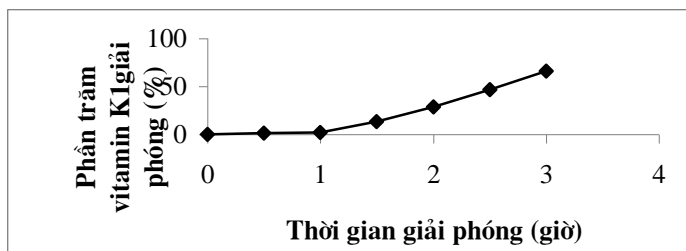
2. Đánh giá một số đặc tính của hệ tiêu phân nano vitamin K₁.

Lựa chọn công thức 9 là công thức cho mẫu có thể chất, tốc độ giải phóng ổn định nhất và l- ợng vitamin K₁ giải phóng lớn nhất sau 3 giờ để đánh giá một số đặc tính của hệ tiêu phân nano.

- Định l- ợng hàm l- ợng vitamin K₁:

Hàm l- ợng vitamin K₁ trong hệ tiêu phân nano lipid rắn đ- ợc xác định bằng ph- ơng pháp HPLC đạt 91,2% so với lý thuyết.

- Đánh giá sự giải phóng vitamin K₁ từ hệ tiêu phân nano:

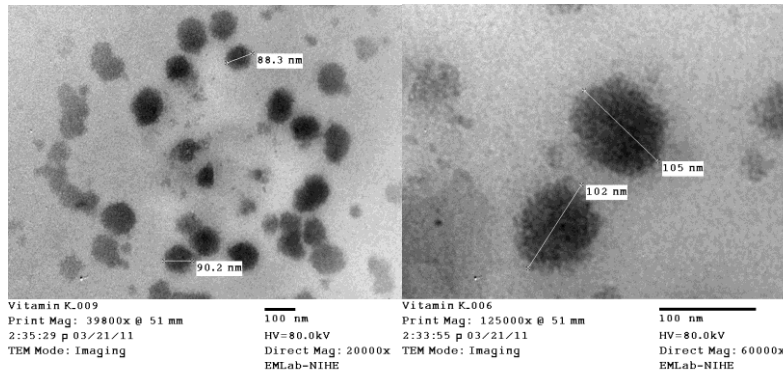


Hình 3: Tỷ lệ (%) của vitamin K₁ giải phóng từ hệ tiêu phân nano công thức 9.

Đồ thị giải phóng trên cho thấy: tỷ lệ vitamin K₁ đ- ợc giải phóng từ hệ tiêu phân trong giờ đầu t- ợng đối thấp. Nguyên nhân có thể do thành phần mang d- ợc chất trong hệ tiêu phân là các lõi lipid rắn. Để giải phóng khỏi lõi này, lipid phải đ- ợc bào mòn dần d- ới tác động của nhiệt độ và thẩm - ốt dung môi. Tuy nhiên, sau 1 giờ l- ợng vitamin K₁ giải phóng tăng nhanh dần. Sau 3 giờ, 65,76% vitamin K₁ đ- ợc giải phóng từ hệ với tốc độ t- ợng đối ổn định.

- Hình dạng, kích th- ớc, phân bố kích th- ớc của hệ tiêu phân nano:

Hình ảnh chụp từ kính hiển vi điện tử truyền qua cho thấy: các tiểu phân có dạng hình cầu, màu đen đậm, là những tiểu phân chứa d- ợc chất trong lõi lipid, các tiểu phân khác không chứa d- ợc chất có màu sáng hơn (hình 4).



Hình 4: ảnh chụp hệ tiểu phân nano của công thức 9 qua kính hiển vi điện tử truyền qua.

Hệ tiểu phân tạo đ- ợc có kích th- ớc t- ơng đối nhỏ và đồng đều. Đ- ờng kính tiểu phân trung bình 92,64 nm. 99,8% tiểu phân có đ- ờng kính < 1.000 nm. Khoảng phân bố kích th- ớc t- ơng đối hẹp, chủ yếu nằm trong khoảng từ 10 - 300 nm.

3. Đánh giá một số tính chất của gel chứa hệ tiểu phân nano.

Bào chế gel chứa hệ tiểu phân nano theo công thức 9 với thành phần đã nêu ở trên. Hàm l- ợng vitamin K₁ trong gel đ- ợc định l- ợng theo ph- ơng pháp HPLC đạt 81,60% so với lý thuyết.

Bảng 3: Tỷ lệ (%) vitamin K₁ giải phóng từ gel chứa hệ tiểu phân nano (Công thức 9)

Thời gian (giờ)	1	2	4	6	8
Phần trăm vitamin K ₁ giải phóng (%)	7,72	12,5 8	9,3 7	9,67	7, 45

L- ợng vitamin K₁ giải phóng tăng dần và đạt giá trị lớn nhất ở thời điểm 2 giờ sau đó duy trì và giảm dần. Tỷ lệ vitamin K₁ giải phóng từ gel t- ơng đối thấp. Nguyên nhân có thể do hàm l- ợng vitamin K₁ trong gel quá thấp, d- ợc chất nằm sâu trong lõi lipid rắn nên ch- a thể giải phóng hoàn toàn.

KẾT LUẬN

Hệ tiểu phân nano lipid rắn chứa vitamin K₁ với loại và tỷ lệ tá d- ợc khác nhau đã đ- ợc bào chế và đánh giá một số đặc tính. Trên cơ sở đó, lựa chọn công thức với 0,5% alcol cetylic, 0,8% suppicire, 0,7% span 80 và 1,5% tween 80. Mẫu tiểu phân nano có thể chất, tốc độ giải phóng ổn định nhất và tỷ lệ vitamin K₁ giải phóng lớn nhất sau 3 giờ. Hệ tiểu phân nano bào chế đ- ợc có tiểu phân hình cầu, kích th- ớc t- ơng đối nhỏ và đồng đều. Chúng tôi cũng đã bào chế gel từ hệ tiểu phân nano trên và sơ bộ đánh giá một số đặc tính của gel.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Thị Thắm. Nghiên cứu bào chế gel chứa tiểu phân nano vitamin A. Khóa luận tốt nghiệp D- ợc sĩ Đại học khóa 2005 - 2010. Tr- ờng Đại học D- ợc Hà Nội. 2010.
2. Hou D, Xie C, Huang K, et al. The production and characteristics of solid lipid nanoparticles (SLNs). Biomaterials. 2003, 24 (10), pp.1781-1785.
3. Iscan Y, Wissing S. A, Hekimoglu S et al. Solid lipid nanoparticles (SLN) for topical drug delivery: incorporation of the lipophilic drugs N, N-diethyl-m-toluamide and vitamin K. Pharmazie, 2005, 60 (12), pp.905-909.

4. *Jenning V, Gysler A, Schafer-Korting M et al.* Vitamin A loaded solid lipid nanoparticles for topical use: occlusive properties and drug targeting to the upper skin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2000, 49(3), pp.211-218.

5. *Liu C. H, Wu C. T, Fang J. Y.* Characterization and formulation optimization of solid lipid nanoparticles in vitamin K1 delivery. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2010, 36 (7), pp.751-761.