

Nghiên cứu bào chế hydrogel chứa vi nhũ tương ibuprofen dùng trên da

Hồ Hoàng Nhân*, Hoàng Thị Ngọc Duyên

Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế

Ngày nhận bài 24/3/2023; ngày chuyển phản biện 27/3/2023; ngày nhận phản biện 24/4/2023; ngày chấp nhận đăng 27/4/2023

Tóm tắt:

Đặt vấn đề: Ibuprofen (IBU) là dược chất thuộc nhóm giảm đau, kháng viêm không steroid (NSAIDs) với dạng bào chế tại chỗ dùng trên da sẽ giúp giảm tác dụng không mong muốn và chuyển hóa qua gan lần đầu. Để đảm bảo nồng độ hiệu quả của thuốc qua đường dùng trên da, nghiên cứu này được tiến hành nhằm mục đích xây dựng công thức hydrogel chứa vi nhũ tương (VNT) IBU dùng trên da và đánh giá chất lượng sản phẩm. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu khảo sát độ tan của IBU, xây dựng giản đồ pha, khảo sát tỷ lệ các tá dược trong công thức và đánh giá các đặc tính của VNT như kích thước giọt, hàm lượng dược chất bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao, khả năng giải phóng hoạt chất *ex vivo* qua da tai lợn bằng thiết bị Hanson Research. **Kết quả nghiên cứu:** Công thức hydrogel gồm xanthan 1% chứa VNT IBU 5% (kl/kl) dùng trên da gồm capryol 90 12,5%, acrysol K140 33,33%, propylen glycol 16,67% và nước vừa đủ 100% (kl/kl) với kích thước giọt bằng $25,69 \pm 2,12$ nm, phân bố kích thước bằng $0,226 \pm 0,095$. Công thức hydrogel gồm xanthan 1% chứa VNT IBU 5% (kl/kl) có khả năng thấm qua màng da tai lợn gấp 45 lần so với công thức hydrogel chứa IBU nguyên liệu. **Kết luận:** Đây là dạng bào chế đầy tiềm năng, có khả năng cải thiện sinh khả dụng của IBU với đường dùng trên da.

Từ khóa: hydrogel, ibuprofen, vi nhũ tương.

Chỉ số phân loại: 3.4

Đặt vấn đề

IBU (dẫn xuất của acid phenyl propionic) là một trong những NSAIDs được sử dụng trong điều trị viêm khớp dạng thấp, viêm cơ xương khớp và đau từ nhẹ đến trung bình. Nồng độ IBU trong huyết thanh và tác dụng giảm đau có mối tương quan với nhau. Do đó, nếu IBU hấp thu nhanh thì sẽ gây tác dụng giảm đau nhanh [1]. Tuy nhiên, vì tính thấm qua da kém nên rất khó để bào chế dạng dùng tại chỗ với nồng độ hiệu quả [2]. Để tăng khả năng thấm qua da của IBU, các dung dịch quá bão hòa, hệ eutecti và các dạng khác chứa chất diện hoạt không ion hóa hoặc acid béo đã và đang được nghiên cứu [3].

Nhằm mục tiêu cải thiện khả năng thấm qua da cũng như độ tan của IBU, VNT đã được nghiên cứu với thành phần bao gồm pha dầu, chất diện hoạt, chất đồng diện hoạt và pha nước. Dạng bào chế này trong suốt và bền vững với kích thước giọt 10-100 nm và có nhiều ưu điểm như làm tăng độ tan của dược chất, có độ bền nhiệt động cao, cải thiện khả năng thấm qua da so với dạng nhũ tương truyền thống [4].

Trên thế giới, H. Chen và cs (2006) [3] đã xây dựng công thức hydrogel chứa VNT IBU dùng trên da. Công thức VNT chứa IBU 3% sử dụng ethyl oleat làm pha dầu có tốc độ thấm tăng gấp 5,72-30,0 lần so với công thức chứa IBU bão hòa. Gôm xanthan 1,5% chứa VNT cho thấy sự ổn định không tách pha sau 3 tháng. B. Hajjar và cs (2017) [5] đã bào chế gel chứa VNT natri diclofenac 3% dùng trên da với caprylocaproyl polyoxyl-8 glycerid làm chất diện hoạt, diethylen glycol monoethyl ether làm chất đồng diện

hoạt và propylen glycol monolaurat làm pha dầu. Kích thước giọt của VNT và gel carbopol chứa VNT lần lượt là $114,4 \pm 0,472$ nm và $178 \pm 2,46$ nm; thế zeta lần lượt là $-33,3 \pm 0,64$ mV và $-33,0 \pm 0,40$ mV. Tỷ lệ giải phóng của VNT natri diclofenac và gel chứa VNT lần lượt là $76,67 \pm 8,63\%$ và $69,28 \pm 7,14\%$ sau 6 giờ, tốt hơn so với các mẫu chứng. A. Sharma và cs (2020) [6] đã tối ưu hóa công thức gel chứa VNT của nitrendipin dùng trên da với pha dầu kết hợp capmul và triacetin, chất diện hoạt là kolliphor ELP và chất đồng diện hoạt là transcutool HP. Công thức tối ưu có kích thước giọt $20,43 \pm 1,50$ nm, hàm lượng dược chất là $97,05 \pm 1,77\%$ và thế zeta là $-15,45 \pm 0,35$ mV. Gel chứa VNT nitrendipin hấp thu qua da tốt hơn so với dung dịch thuốc nhờ khả năng thấm và hòa tan tốt hơn.

Ở trong nước, Vũ Văn Duy và cs (2017) [7] đã bào chế hydrogel chứa VNT betamethason dipropionat dùng trên da. Công thức tối ưu chứa 0,064% betamethason dipropionat, 5% acid oleic, 11,6% cremophor RH40, 23,2% transcutool P và nước cất vừa đủ có kích thước giọt là 121,3 nm, tốc độ giải phóng $2,097 \pm 0,131$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{giờ}$ và lượng betamethason dipropionat lưu giữ trên da sau 24 giờ là $26,334 \pm 1,543$ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Nguyễn Thị Kim Liên và cs (2018) [8] đã bào chế gel VNT chứa cao khô rau đắng đất với thành phần tạo VNT gồm isopropyl myristat, tween 20, span 80 và nước. VNT rau đắng đất có pH 4,527, kích thước giọt 14 nm và bền sau 6 chu kỳ sốc nhiệt. Gel VNT rau đắng đất đạt các chỉ tiêu vật lý và thể hiện khả năng kháng khuẩn *in vitro* trên chủng *P. aeruginosa*. Huỳnh Trúc Thanh Ngọc và cs (2019) [9] đã bào chế VNT chứa 2% diclofenac dùng trên da với pha dầu là capryol 90, chất diện hoạt là tween 20, đồng dung môi là PEG 400 với tỷ lệ tương ứng là 2:1.

*Tác giả liên hệ: Email: hhnhan@huamed-univ.edu.vn

Formulation of ibuprofen-loaded microemulsion-based hydrogel for topical administration

Hoang Nhan Ho*, Thi Ngoc Duyen Hoang

Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Received 24 March 2023; accepted 27 April 2023

Abstract:

Background: Ibuprofen (IBU) is a nonsteroidal anti-inflammatory drug used to relieve pain and inflammation. Topical formulations of IBU can reduce unwanted side effects and first-pass metabolism in the liver. To enhance its water-poor solubility and permeability for topical administration, this study aimed to develop and characterise hydrogels containing IBU microemulsion. **Materials and methods:** Pseudo-ternary phase diagrams were constructed based on the evaluation of IBU solubility and the ratio of different excipients in the microemulsion formula. IBU microemulsion and IBU microemulsion-loaded hydrogels were characterised in terms of particle size and drug content by the high-performance liquid chromatography method. *Ex vivo* drug release through pig ear skin was evaluated using Hanson Research equipment. **Results:** The 1% xanthan gum hydrogel formula containing 5% (w/w) IBU microemulsion included 12.5% capryol 90, 33.33% acrysol K140, 16.67% propylene glycol and water (up to 100%, w/w) had a particle size of 25.69 ± 2.12 nm and a polydispersity index of 0.226 ± 0.095 . The permeated drug percentage through the pig ear skin of the 1% xanthan gum hydrogel formula containing 5% (w/w) IBU microemulsion was 45-fold greater than that containing IBU material. **Conclusion:** These results showed that IBU-loaded microemulsion-based hydrogel would be a promising drug delivery system for topical administration.

Keywords: hydrogel, ibuprofen, microemulsion.

Classification number: 3.4

VNT có kích thước giọt trung bình $216,80 \pm 0,28$ nm, pH 7,26, độ thấm qua màng là $41,72$ mg/cm² sau 180 phút.

Do đó, việc khảo sát các yếu tố thuộc công thức như loại và tỷ lệ pha dầu, loại và tỷ lệ chất diện hoạt, chất đồng diện hoạt là rất cần thiết. Thêm vào đó, VNT là dạng bào chế có độ nhớt thấp nên cần phải phối hợp với các tá dược tạo gel khác nhau để phù hợp cho việc dùng trên da. Nhằm góp phần nâng cao độ tan của IBU cũng như tăng cường khả năng thấm của dược chất qua da, nghiên cứu được thực hiện nhằm xây dựng được công thức hydrogel chứa VNT với nồng độ IBU 5% và đánh giá một số đặc tính lý hóa của sản phẩm bào chế được.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng

Nguyên liệu: IBU [2-(4-isobutylphenyl)-propionic acid] xuất xứ Trung Quốc, hàm lượng 99,5%. IBU chuẩn của Viện Kiểm nghiệm thuốc TP Hồ Chí Minh, hàm lượng 99,67%, số lô QT026 100715. Labrafac CC, peceol, capryol 90, labrafil M1944CS, labrasol, lauroglycol 90 do Công ty Gattefossé (Pháp) sản xuất được tài trợ từ Công ty Sapharchem ở TP Hồ Chí Minh. Acrysol K140, acrysol EL 135 từ Công ty Corel Pharma Chem (Ấn Độ). PEG 400, acid oleic, isopropanol, propylen glycol từ Xilong (Trung Quốc). Acetonitril, methanol, natri acetat, acid acetic băng đạt tiêu chuẩn HPLC (High performance liquid chromatography - sắc ký lỏng hiệu năng cao). Các hóa chất khác đều đạt tiêu chuẩn phân tích.

Thiết bị: Máy lắc xoay Vortex Labnet (Mỹ), bể lắc điều nhiệt Julabo SW22 (Đức), thiết bị ly tâm Hermle Labortechnik GmbH (Đức), máy khuấy từ IKA C-MAG HS-7, máy đo quang phổ UV-Vis JASCO V-630, thiết bị HPLC Shimadzu (CAT.NO 228) (Nhật Bản), thiết bị đánh giá khả năng phóng thích qua màng Hanson Research (Teledyne Technologies Incorporated, Mỹ), cân phân tích HR-250 AZ (Nhật Bản), màng lọc nylon 0,45 μ m.

Phương pháp nghiên cứu

Đánh giá độ tan của IBU: Thử độ tan của IBU trong các tá dược khác nhau, bao gồm acid oleic, labrafac CC, peceol, capryol 90, labrafil M1944CS, labrasol, acrysol K140, acrysol EL 135, PEG 400, lauroglycol 90, propylen glycol. Thử nghiệm được tiến hành bằng cách cho lượng dư IBU vào 1 ml mỗi tá dược trong ống ly tâm. Sau đó, hỗn hợp được trộn lắc xoay và giữ trong 7 ngày tại nhiệt độ 25°C trong bể lắc để đạt cân bằng. Sau đó, mẫu được ly tâm tại 10.000 vòng/phút trong 30 phút để loại IBU dư [10]. Hút phần dịch trong phía trên và tiến hành pha loãng mẫu bằng cách sử dụng dung môi isopropanol với tỷ lệ thích hợp rồi định lượng bằng phương pháp quang phổ UV-Vis, sử dụng máy Spectrophotometer JASCO V-630 (Nhật Bản), mẫu trắng là isopropanol cùng tá dược tương ứng. Mẫu được định lượng ở bước sóng 264 nm, sử dụng phương pháp so chuẩn để tính toán độ tan bão hòa của IBU [11].

Đánh giá về khả năng nhũ hóa: Các chỉ tiêu đánh giá bao gồm: % độ truyền qua và khả năng dễ nhũ hóa. Đối với chất diện hoạt, có thể tiến hành như sau: lấy 0,5 ml chất diện hoạt (acrysol K140, acrysol EL135, labrafil M1944CS) thêm vào 0,5 ml dầu. Trộn hỗn hợp đồng nhất rồi lấy 0,1 ml hỗn hợp trên pha loãng với 50 ml nước cất để tạo thành nhũ tương [12]. Quan sát độ đục của nhũ tương tạo thành. Nhũ tương trên được để trong 2 giờ rồi đo độ truyền qua bằng máy đo quang phổ UV-Vis Spectrophotometer JASCO V-630 (Nhật Bản) tại bước sóng 638 nm, mẫu trắng là nước cất [12].

Các chất đồng diện hoạt (propylen glycol, lauroglycol 90) được sàng lọc để xây dựng công thức VNT. Chuẩn bị hỗn hợp chất đồng diện hoạt (0,1 g), chất diện hoạt (0,2 g) và dầu đã lựa chọn (0,3 g) để thực hiện đánh giá khả năng nhũ hóa theo như cách được mô tả trên rồi chọn ra chất đồng diện hoạt thích hợp [13].

Tiếp theo, thực hiện đánh giá tỷ lệ chất diện hoạt và chất đồng diện hoạt để xây dựng giản đồ pha. Chuẩn bị 0,3 g các tỷ lệ khác nhau (1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1, 4:1) của hỗn hợp chất diện hoạt và chất đồng diện hoạt (Smix) và 0,3 g dầu rồi thực hiện đánh giá như trên.

Xây dựng giản đồ pha: Để tìm ra khoảng nồng độ của các thành phần trong công thức VNT, tiến hành xây dựng giản đồ pha bằng cách sử dụng phương pháp chuẩn độ nước tại nhiệt độ phòng (25°C). Tỷ lệ Smix được lựa chọn là 1:1, 2:1, 3:1, 4:1. Sau đó, Smix được trộn với pha dầu với tỷ lệ tương ứng là 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 và 9:1 [5, 13, 14] tạo thành các hỗn hợp khác nhau. Tiếp theo, pha loãng hỗn hợp trên bằng cách nhỏ từ từ từng giọt nước kết hợp với khuấy từ với tốc độ 50 vòng/phút. Điểm cuối chuẩn độ là khi tạo thành nhũ tương đục hay mờ [5].

Giản đồ pha được xây dựng trên ternaryplot.com và tính diện tích phần VNT bằng công cụ WebPlotDigitizer. Tỷ lệ Smix được lựa chọn tương ứng với vùng VNT lớn nhất trên giản đồ pha [15].

Bào chế VNT và hydrogel VNT

Bào chế VNT IBU: IBU được hòa tan vào hỗn hợp dầu, chất diện hoạt và chất đồng diện hoạt với các tỷ lệ khác nhau, sau đó cho từ từ từng giọt nước. Trong khi thêm nước, sử dụng khuấy từ với tốc độ 50 vòng/phút trong 5 phút để tạo thành VNT. Tất cả VNT được bảo quản ở nhiệt độ phòng [3].

Bào chế hydrogel VNT IBU: Lựa chọn gồm xanthan là tá dược tạo gel để phối hợp với VNT [3, 16]. Phối hợp từ từ gồm xanthan vào VNT hoàn chỉnh kết hợp với khuấy trộn [3]. Các nồng độ chất tạo gel 1, 1,5 và 2% (kl/kl) được khảo sát [3].

Đánh giá đặc tính lý hóa của VNT chứa IBU

Tính chất: Đánh giá cảm quan VNT được tạo thành bằng cách quan sát các tính chất như trạng thái đồng nhất, trong suốt, khả năng tách pha.

Kích thước giọt và phân bố kích thước giọt (PDI): Các mẫu được đo bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động học (DLS - Dynamic light scattering), sử dụng thiết bị Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, Anh). Pha loãng mẫu VNT thu được bằng nước cất 2 lần với tỷ lệ thích hợp sao cho tốc độ đếm nằm trong khoảng 200-400 kcps, sử dụng cuvet nhựa để đo mẫu ở 25°C và ở góc tán xạ 90° [5, 6].

Đánh giá đặc tính lý hóa của hydrogel chứa VNT của IBU

pH: Cân chính xác khoảng 1 g gel, pha loãng 10 lần bằng nước cất, sau đó tiến hành xác định pH bằng máy đo pH (Mettler Toledo, Thụy Sĩ).

Hàm lượng IBU trong hydrogel: Định lượng IBU trong gel bằng phương pháp HPLC như sau:

- Chuẩn bị mẫu thử bằng cách lấy khoảng 0,1 g hydrogel chứa VNT pha loãng thành 10 ml dung dịch bằng isopropanol.
- Sử dụng hệ thống HPLC pha đảo, HPLC Shimadzu (CAT.

NO 228, Nhật Bản). Hệ thống HPLC sử dụng cột Thermo Fisher Scientific C18 (5 μ m x 4,6 mm x 25 cm, Mỹ), hệ tiêm mẫu tự động, dùng detector DAD. Pha động là hỗn hợp acetonitril - đệm natri acetat (pH 2,5) (70:30). Tốc độ dòng cố định 0,8 ml/phút và bước sóng xác định đặt ở 264 nm [3].

Khả năng giải phóng dược chất ex vivo của hydrogel chứa VNT của IBU:

Chuẩn bị da tai lợn: Sử dụng màng da tai lợn nguyên vẹn được lấy trong vòng 2 giờ sau khi mổ và tách khỏi lớp sụn, loại bỏ lớp mỡ, lông bằng các dụng cụ phẫu thuật như dao mổ, panh, kéo phẫu thuật. Rửa sạch da với nước muối sinh lý, sau đó rửa với đệm muối phosphat (PBS) pH 7,4. Da có thể được sử dụng ngay hoặc bảo quản ở nhiệt độ -20°C và sử dụng trong vòng 1 tuần [17, 18]. Màng da tai lợn được kiểm tra mô học bằng cách nhuộm H&E (Hematoxylin & Eosin) để kiểm tra tính toàn vẹn trước khi tiến hành thử nghiệm [19].

Tiến hành đánh giá: Các hydrogel chứa VNT của IBU 5% và mẫu chứng chứa IBU được thử nghiệm (mẫu chứa hỗn dịch IBU 5% (kl/kl) được bào chế cụ thể như sau: phân tán 0,15 g IBU vào lượng nước vừa đủ thu được hỗn dịch IBU 5%, sau đó, cho từ từ gồm xanthan vào hỗn dịch trên và khuấy đều đến đồng nhất để thu được hydrogel gồm xanthan 1% chứa IBU 5%). Da được đặt ở giữa buồng cho và buồng nhận, với diện tích bề mặt khuếch tán là 1,77 cm², thể tích môi trường khuếch tán PBS là 7 ml. Giữ nhiệt độ 37±5°C trong suốt quá trình thử nghiệm với bề điều nhiệt. Dung dịch trong buồng nhận được khuấy từ với tốc độ 350 vòng/phút [3]. Cân 0,3 g mẫu thử để thử nghiệm. Tiến hành lấy mẫu trong 8 giờ tại các thời điểm nhất định. Mỗi lần lấy 1 ml đồng thời bổ sung ngay 1 ml môi trường khuếch tán mới. Sau đó, dung dịch thu được được định lượng bằng phương pháp HPLC.

Lượng IBU thẩm qua màng da tai lợn được biểu diễn theo thời gian. Tốc độ thẩm qua da của hoạt chất tại trạng thái dừng (J, μ g/cm²/giờ) và thời gian tiềm tàng được tính toán từ đồ thị biểu diễn khả năng giải phóng hoạt chất ex vivo. Hệ số thẩm qua da (P) được tính bằng cách lấy tốc độ thẩm qua da (J_{ss}) chia cho nồng độ IBU tại buồng cho (C_o): $P = J_{ss}/C_o$ [3, 20, 21].

Phương pháp xử lý thống kê: Xử lý thống kê với Microsoft excel 2010.

Kết quả

Độ tan của IBU

Kết quả độ tan được thể hiện ở bảng 1 cho thấy, trong số các tá dược dầu, độ tan của IBU trong capryol 90 là cao nhất (268±0,011 mg/ml), tiếp theo là peceol, acid oleic và labrafac CC. Trong các chất diện hoạt, IBU tan nhiều nhất trong acrysol K140 (374±0,042 mg/ml), tiếp theo là labrasol, acrysol EL135 và labrafil M1944CS. Trong các chất đồng diện hoạt, IBU tan nhiều nhất trong propylen glycol (201±0,007 mg/ml). Dựa trên kết quả thu được, lựa chọn pha dầu là capryol 90 để tiếp tục thử nghiệm tiếp theo.

Bảng 1. Kết quả độ tan của IBU trong các tá dược.

Loại tá dược	Tá dược	Độ tan (trung bình±SD, n=3) (mg/ml)
Tá dược dầu	Acid oleic	123±0,040
	Labrafac CC	113±0,028
	Peceol	235±0,036
	Capryol 90	268±0,011
Chất điện hoạt	Labrafil M1944CS	108±0,191
	Labrasol	295±0,147
	Acrysol EL135	285±0,118
	Acrysol K140	374±0,042
Chất đồng điện hoạt	Lauroglycol 90	113±0,041
	Propylene glycol	201±0,007

Đánh giá về khả năng nhũ hóa

Kết quả độ truyền qua của hỗn hợp sau khi được pha loãng với nước được thể hiện ở bảng 2. Acrysol K140 và acrysol EL135 nhũ hóa hoàn toàn capryol 90, trong khi labrafil M1944CS và labrasol nhũ hóa một phần và tạo váng dầu. Tuy acrysol K140 và acrysol EL135 có độ truyền qua gần như nhau (tương ứng là 100,13±0,43% và 99,55±2,81%), nhưng do IBU tan trong acrysol K140 nhiều hơn acrysol EL135 nên lựa chọn acrysol K140 làm chất điện hoạt để thực hiện thử nghiệm tiếp theo.

Bảng 2. Độ truyền qua của hỗn hợp capryol 90/chất điện hoạt sau khi pha loãng.

Pha dầu	Chất điện hoạt	Độ truyền qua T% (trung bình±SD, n=3)
Capryol 90	Acrysol K140	100,13±0,43
	Acrysol EL135	99,55±2,81
	Labrafil M1944CS	23,32±10,09
	Labrasol	8,45±4,80

Kết quả bảng 3 cho thấy, capryol 90 kết hợp với acrysol K140 và propylen glycol cho độ truyền qua lớn nhất (99,89±1,08%), có nghĩa là tổ hợp này cho mức độ nhũ hóa lớn nhất. Do đó lựa chọn 3 thành phần trên để bào chế VNT.

Bảng 3. Độ truyền qua của hỗn hợp capryol 90/acrysol K140/ chất đồng điện hoạt sau khi pha loãng.

Pha dầu	Chất điện hoạt	Chất đồng điện hoạt	Độ truyền qua T% (trung bình±SD, n=3)
Capryol 90	Acrysol K140	Propylen glycol	99,89±1,08
		Lauroglycol 90	80,75±8,10

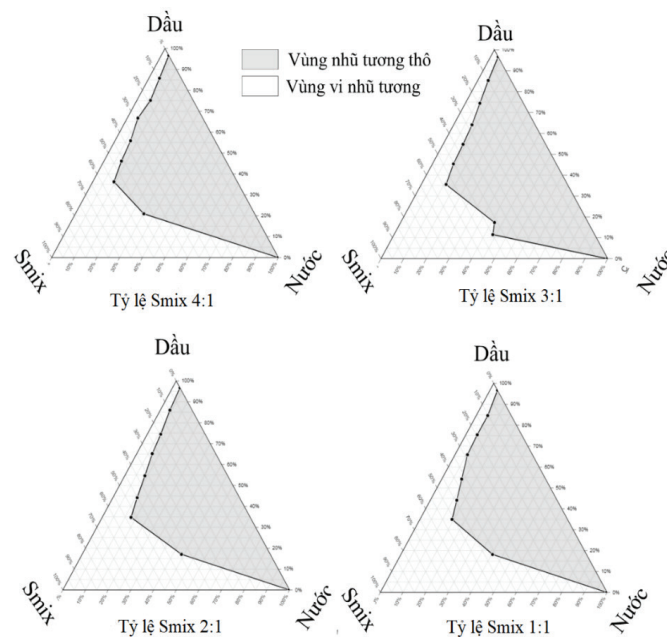
Kết quả bảng 4 cho thấy, trong số các tỷ lệ acrysol K140/propylen glycol, tỷ lệ 1:1, 2:1, 3:1 và 4:1 có độ truyền qua lớn hơn so với các tỷ lệ còn lại. Nhận thấy, khi lượng propylene glycol (chất đồng điện hoạt) lớn hơn lượng acrysol K140 (chất điện hoạt) (tỷ lệ khối lượng/khối lượng) thì tác dụng nhũ hóa sẽ kém đi. Do đó, tiến hành xây dựng các giản đồ pha với tỷ lệ 1:1, 2:1, 3:1 và 4:1.

Bảng 4. Độ truyền qua của hỗn hợp capryol 90/acrysol K140/propylen glycol sau khi pha loãng.

Pha dầu	Chất điện hoạt	Chất đồng điện hoạt	Tỷ lệ Smix	Độ truyền qua T% (trung bình±SD, n=3)
Capryol 90	Acrysol K140	Propylen glycol	4:1	100,00±2,03
			3:1	99,94±1,45
			2:1	99,19±1,94
			1:1	95,21±4,77
			1:2	52,06±10,87
			1:3	39,36±12,35

Xây dựng giản đồ pha

Hình ảnh giản đồ pha của capryol 90 (pha dầu)/acrysol K140-propylen glycol (Smix)/nước được thể hiện ở hình 1. Diện tích vùng VNT tương ứng với tỷ lệ Smix 2:1 bằng 30179,87 px² (pixel) lớn nhất, tiếp theo là tỷ lệ 1:1 (29808,54 px²), 4:1 (27760,88 px²) và 3:1 (27265,27 px²). Do đó lựa chọn tỷ lệ Smix là 2:1 cho công thức VNT.



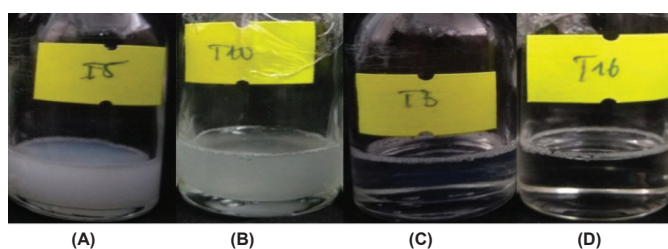
Hình 1. Giản đồ pha xác định vùng hình thành VNT của capryol 90 (dầu)/acrysol K140-propylen glycol (Smix)/nước.

Bào chế VNT IBU

Tiến hành bào chế VNT với tỷ lệ các thành phần công thức và tính chất thu được kết quả ở bảng 5 và hình 2. Có thể thấy, các mẫu T16 đến T20 trong suốt và bền vững, do đó lựa chọn các mẫu này để đo kích thước giọt.

Bảng 5. Tính chất của các công thức VNT IBU.

Công thức	% O	% Smix	% nước	% IBU	Tính chất
T1	5	25	65	5	Trong mờ, 1 ngày sau đục
T2	7,5	25	62,5	5	Đục
T3	5	30	60	5	Trong, hơi mờ
T4	7,5	30	57,5	5	Trong, hơi mờ đục, 1 ngày sau chuyển đục
T5	10	30	55	5	Đục
T6	5	35	55	5	Trong, hơi mờ, sau 1 tuần thấy tách pha ít
T7	7,5	35	52,5	5	Trong, hơi mờ, sau 1 tuần thấy tách pha ít
T8	10	35	50	5	Trong, hơi mờ, sau 1 tuần thấy tách pha ít
T9	5	40	50	5	Đục, tách pha sau 2-3 ngày
T10	7,5	40	47,5	5	Đục, tách pha sau 2-3 ngày
T11	10	40	45	5	Đục, tách pha sau 2-3 ngày
T12	5	45	45	5	Đục, tách pha sau 2-3 ngày
T13	8,75	45	41,25	5	Hơi đục, tách pha sau 2-3 ngày
T14	12,5	45	37,5	5	Hơi đục, tách pha sau 2-3 ngày
T15	5	50	40	5	Hơi đục, tách pha sau 2-3 ngày
T16	8,75	50	36,25	5	Trong suốt
T17	12,5	50	32,5	5	Trong suốt
T18	5	55	35	5	Trong suốt
T19	8,75	55	31,25	5	Trong suốt
T20	5	60	30	5	Trong suốt



Hình 2. Hình ảnh một số mẫu VNT. (A) Đục do kích thước giọt lớn dẫn đến kết tụ; **(B)** Đục do không nhũ hóa hết 2 pha; **(C)** VNT trong mờ; **(D)** VNT trong.

Kết quả bảng 6 cho thấy, T18 có kích thước giọt nhỏ nhất là 22,38 nm với PDI 0,211 còn T19 có kích thước giọt lớn nhất là 29,08 và PDI 0,307.

Bảng 6. Kích thước giọt và PDI của các công thức VNT.

Công thức	Kích thước giọt (nm)	PDI
T16	23,78±1,53	0,247±0,071
T17	25,69±2,12	0,226±0,095
T18	22,38±1,97	0,211±0,068
T19	29,08±3,51	0,307±0,083
T20	22,99±1,18	0,226±0,069

Bào chế và đánh giá tính chất lý hóa của hydrogel chứa VNT IBU

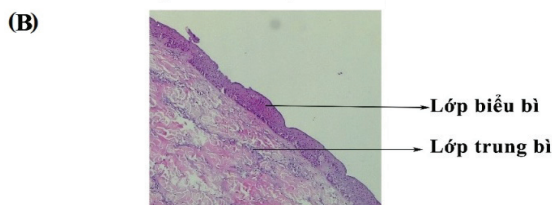
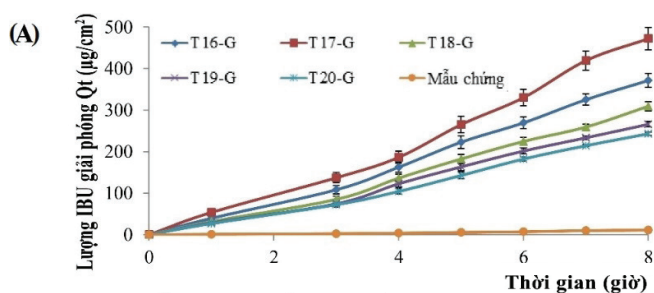
Sau khi khảo sát các nồng độ tá dược tạo gel gồm xanthan (1-2%), hydrogel sử dụng gồm xanthan 1% có thể chất đặc, đồng nhất, mịn, thích hợp cho dạng dùng trên da được sử dụng để phối vào các công thức VNT chứa IBU đã được lựa chọn. Kết quả bảng 7 cho thấy, các công thức gel đều đạt yêu cầu trong suốt, đặc, đồng nhất, mịn, pH đo được có giá trị 4,52 đến 4,93 đạt yêu cầu phù hợp với khoảng pH của da 4,1-5,8, hàm lượng trong khoảng 4,87-5,00%.

Bảng 7. Tính chất, pH và hàm lượng của các gel chứa VNT IBU 5%.

Mẫu gel	Tính chất	pH	Hàm lượng (%)
T16-G	Trong suốt, đặc, đồng nhất, mịn	4,52±0,12	4,87±0,07
T17-G	Trong suốt, đặc, đồng nhất, mịn	4,86±0,19	5,00±0,07
T18-G	Trong suốt, đặc, đồng nhất, mịn	4,68±0,10	4,94±0,08
T19-G	Trong suốt, đặc, đồng nhất, mịn	4,79±0,07	4,92±0,06
T20-G	Trong suốt, đặc, đồng nhất, mịn	4,93±0,06	4,88±0,06

Đánh giá khả năng giải phóng dược chất qua màng da tai lợn

Kết quả đánh giá khả năng giải phóng dược chất được thể hiện ở hình 3 cho thấy, kết quả tốc độ thẩm qua da của hoạt chất tại trạng thái dừng (J) lần lượt là 52,86, 72,55, 43,80, 35,65 và 34,96 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{giờ}$; thời gian tiềm tàng t_{lag} lần lượt là 0,52, 0,66, 0,57, 0,54 và 0,53 giờ, tương ứng với các công thức T16-G, T17-G, T18-G, T19-G và T20-G. So với mẫu chứng có J là 1,61 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{giờ}$, các công thức đều có tốc độ thẩm cao hơn, với công thức T17-G có khả năng giải phóng dược chất tốt nhất với tốc độ thẩm gấp 45 lần nên lựa chọn T17-G là công thức tối ưu. Dựa vào hình ảnh nhuộm H&E của màng da tai lợn, lớp màu tím phía ngoài là lớp biểu bì, ngăn cách bên dưới qua lớp trung bì, chứng tỏ sự nguyên vẹn của màng trước khi thử giải phóng.



Hình 3. (A) Đồ thị biểu diễn khả năng giải phóng IBU từ hydrogel chứa VNT qua màng da tai lợn (n=6); **(B)** Hình ảnh tiêu bản da tai lợn sau khi nhuộm H&E.

Bàn luận

VNT gồm có pha dầu, pha nước, chất diện hoạt và chất đồng diện hoạt. Qua khảo sát, IBU tan nhiều nhất trong pha dầu là capryol 90, nên lựa chọn capryol là pha dầu. Qua kết quả khảo sát, acrysol K140 là chất diện hoạt có khả năng hòa tan IBU cao nhất và propylen glycol là chất đồng diện hoạt có khả năng hòa tan IBU cao nhất. Tuy nhiên, để xây dựng được công thức VNT tối ưu, không chỉ dựa vào độ tan của IBU trong các tá dược mà còn cần phải dựa vào khả năng nhũ hóa của các tá dược đó. Do đó, cần phải xem xét kết quả đánh giá khả năng nhũ hóa của tá dược để lựa chọn công thức tốt nhất. Dựa vào khả năng nhũ hóa của các tá dược, lần lượt lựa chọn acrysol K140 và propylen glycol là chất diện hoạt và chất đồng diện hoạt trong công thức VNT. Điều này có thể là do trong các tá dược chất diện hoạt khảo sát, giá trị HLB (hệ số phân bố dầu nước) nếu sắp xếp theo thứ tự tăng dần thì có thứ tự như sau: labrafil M1944CS (9), labrasol (12), acrysol K140 (14-16), acrysol EL135 (15,4), đồng thời số lượng nhóm oxyethylen tương ứng của chúng cũng tăng dần nên khả năng nhũ hóa tạo thành VNT ở trường hợp sử dụng acrysol, ngược lại tạo nhũ tương thô khi sử dụng labrafil, labrasol [22, 23]. Xây dựng giản đồ pha để xác định vùng VNT và tìm ra tỷ lệ acrysol K140, propylen glycol. Tỷ lệ Smix 2:1 là tối ưu nhất với vùng hình thành VNT lớn nhất.

Theo nghiên cứu của H. Chen và cs (2006) [3], việc bào chế VNT khá đơn giản và dễ thực hiện. Mặc dù tăng tỷ lệ pha dầu sẽ làm cho kích thước giọt càng lớn nhưng do IBU tan trong pha dầu nên nồng độ pha dầu được lựa chọn là 5-12,5%. Theo các nghiên cứu khác về VNT [3, 5, 16] và đồng thời cần đảm bảo nồng độ nước vừa đủ để tạo gel, nồng độ Smix được lựa chọn là 25-60%, còn lại là nước. Sau khi khảo sát các công thức, nhận thấy vùng VNT tối ưu khi ở vùng nồng độ Smix 50-60%, do đó vùng này sẽ được lựa chọn nhằm tối ưu hóa cho nghiên cứu sau.

Các công thức T16 đến T20 được pha loãng và đánh giá kích thước giọt bằng phương pháp DLS. Kết quả công thức T18 và T20 có kích thước giọt thấp nhất, còn T19 có kích thước giọt cao nhất. PDI của các công thức đều dưới 0,3 (trừ T19 có PDI 0,307). Nhìn chung, khi tăng tỷ lệ dầu và giảm tỷ lệ Smix thì kích thước giọt sẽ tăng. Các công thức được phối gel và thử giải phóng dược chất qua màng.

Tá dược tạo gel có ảnh hưởng rõ ràng đến đặc tính của VNT. Qua tham khảo các tài liệu [3, 16, 24] lựa chọn gồm xanthan với các nồng độ 1, 1,5 và 2% để làm tá dược tạo gel. Sau khi khảo sát, gồm xanthan với nồng độ 1% được lựa chọn do công thức với hàm lượng gồm xanthan 1,5 và 2% tạo thành gel rất đặc, nhớt dính, lợn cợn, không mịn. Điều này được giải

thích do công thức có hàm lượng nước thấp, gồm xanthan 1,5 và 2% tương tự không đồng đều tạo thành gel không đồng nhất.

Khi phối vào gel, theo nghiên cứu của B. Hajjar và cs (2017) [5], cấu trúc của VNT vẫn giữ nguyên, không bị tách pha sau 5 chu kỳ nóng - lạnh, mặc dù kích thước giọt có tăng từ 114,4 lên 178,8 nm so với công thức VNT. Do đó, trong các nghiên cứu tiếp theo, nhằm đánh giá độ ổn định của hydrogel chứa VNT IBU, các chỉ tiêu như tính chất, độ nhớt, pH, hàm lượng dược chất, kích thước giọt, PDI, khả năng tách pha, tính chất cơ học của gel... sau quá trình bảo quản mẫu nhũ tương ở các điều kiện khác nhau sẽ được tiếp tục khảo sát.

Kết quả nhuộm H&E ở hình 3B cho thấy, mặt ngoài của da là lớp mỏng toàn vẹn màu xanh đậm, còn mặt trong tương ứng là lớp dày màu đỏ hồng. Ở lớp biểu bì, đi từ trong ra ngoài là các lớp tế bào đáy, lớp tế bào gai, lớp tế bào hạt, lớp bóng và lớp sừng. Lớp trung bì ở phía dưới với các sợi collagen và elastin [25]. Hình ảnh của da tai lợn đã nhuộm H&E chứng tỏ da tai lợn toàn vẹn và có thể áp dụng để đánh giá nghiên cứu qua màng *ex vivo*.

Sau khi đánh giá giải phóng dược chất qua màng da tai lợn bằng thiết bị Hanson Research cho thấy, nhìn chung việc tăng hàm lượng dầu và giảm hàm lượng chất diện hoạt sẽ giúp giải phóng dược chất tốt hơn. So sánh với kết quả của mẫu chứng, hydrogel chứa VNT thu được có tốc độ thấm cao hơn nhiều (tốc độ thấm của T17 cao gấp 45 lần so với mẫu chứng). Điều này chứng tỏ đây là dạng bào chế dùng trên da đầy tiềm năng, có khả năng cải thiện sinh khả dụng của IBU với đường dùng trên da. So với sản phẩm Deep Relief của Công ty TNHH Rohto - Mentholatum Việt Nam chứa IBU 5%, hoặc Boots IBU 5%, 10% của Công ty The Mentholatum Company Limited (Anh) có sử dụng ethanol/isopropanol có thể kết hợp thêm với kiềm hóa để làm tăng độ tan của IBU, công thức kem IBU Fiterman 5% của Công ty Fiterman Pharma (Romani) thì công thức VNT ở dạng gel không chứa ethanol/isopropanol sẽ phù hợp đối với các trường hợp quá mẫn hoặc kích ứng với các dung môi này. Đồng thời, giá trị pH thu được là $4,86 \pm 0,19$, nằm trong khoảng pH sinh lý da nên hạn chế được việc gây kích ứng.

Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng được công thức bào chế tối ưu của hydrogel gồm xanthan 1% chứa VNT IBU 5% dùng trên da gồm capryol 90 12,5%, acrysol K140 33,33%, propylen glycol 16,67% và nước vừa đủ 100%, với kích thước giọt bằng $25,69 \pm 2,12$ nm và PDI bằng $0,226 \pm 0,095$. Đây là cơ sở để phát triển các nghiên cứu tiếp theo nhằm ứng dụng dạng bào chế hydrogel chứa VNT IBU trong sản xuất dược phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M. Klueglic, A. Ring, S. Scheuerer, et al. (2005), "Ibuprofen extrudate, a novel, rapidly dissolving ibuprofen formulation: Relative bioavailability compared to ibuprofen lysinate and regular ibuprofen, and food effect on all formulations", *J. Clin. Pharmacol.*, **45**(9), pp.1055-1061.
- [2] T. Yano, A. Nakagawa, M. Tsuji, et al. (1986), "Skin permeability of various non-steroidal anti-inflammatory drugs in man", *Life Sci.*, **39**(12), pp.1043-1050.
- [3] H. Chen, X. Chang, D. Du, et al. (2006), "Microemulsion-based hydrogel formulation of ibuprofen for topical delivery", *Int. J. Pharm.*, **315**(1-2), pp.52-58.
- [4] M.J. Lawrence, G.D. Rees (2000), "Microemulsion-based media as novel drug delivery systems", *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **45**(1), pp.89-121.
- [5] B. Hajjar, K.I. Zier, N. Khalid, et al. (2017), "Evaluation of a microemulsion-based gel formulation for topical drug delivery of diclofenac sodium", *J. Pharm. Invest.*, **48**(7), pp.351-362.
- [6] A. Sharma, A.P. Singh, S.L. Harikumar (2020), "Development and optimization of nanoemulsion based gel for enhanced transdermal delivery of nitrendipine using Box-Behnken statistical design", *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **46**(2), pp.329-342.
- [7] Vũ Văn Duy, Nguyễn Thị Hương, Nguyễn Thạch Tùng (2017), "Nghiên cứu xây dựng công thức bào chế vi nhũ tương betamethason dipropionat", *Tạp chí Dược học*, **57**(7), tr.17-20.
- [8] Nguyễn Thị Kim Liên, Lê Xuân Trường, Trần Văn Thành (2018), "Bào chế gel vi nhũ tương từ cao khô Rau đắng đất [*Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC., Molluginaceae]", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, **61**(5), tr.11-15.
- [9] Huỳnh Trúc Thanh Ngọc, Trương Đình Quỳnh Ngân, Bùi Nguyễn Huyền Linh (2019), "Nghiên cứu điều chế vi nhũ tương chứa 2% diclofenac", *Tạp chí Y Dược học Cần Thơ*, **22-25**, tr.1-7.
- [10] L. Hu, J. Yang, W. Liu, et al. (2011), "Preparation and evaluation of ibuprofen loaded microemulsion for improvement of oral bioavailability", *Drug Deliv.*, **18**(1), pp.90-95.
- [11] M. Górecki, M. Sosada, B. Pasker, et al. (2016), "Preparation of ibuprofen emulsions with rapeseed phospholipids and vegetable oils", *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, **50**(2), pp.271-276.
- [12] M. Aqil, M. Kamran, A. Ahad, et al. (2016), "Development of clove oil based nanoemulsion of olmesartan for transdermal delivery: Box-Behnken design optimization and pharmacokinetic evaluation", *Journal of Molecular Liquids*, **214**, pp.238-248.
- [13] B. Dhawan, G. Aggarwal, S.L. Harikumar (2014), "Enhanced transdermal permeability of piroxicam through novel nanoemulgel formulation", *Int. J. Pharm. Invest.*, **4**(2), pp.65-76.
- [14] S. Das, S.H. Lee, P.S. Chow, et al. (2020), "Microemulsion composed of combination of skin beneficial oils as vehicle: Development of resveratrol-loaded microemulsion based formulations for skin care applications", *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, **194**, DOI: 10.1016/j.colsurfb.2020.111161.
- [15] S. Kotta, A.W. Khan, S. H. Ansari, et al. (2015), "Formulation of nanoemulsion: A comparison between phase inversion composition method and high-pressure homogenization method", *Drug Deliv.*, **22**(4), pp.455-466.
- [16] P. Spiclin, M. Homar, A.Z. Valant, et al. (2003), "Sodium ascorbyl phosphate in topical microemulsions", *Int. J. Pharm.*, **256**(1-2), pp.65-73.
- [17] A. Abruzzo, N. Armenise, F. Bigucci, et al. (2017), "Surfactants from itaconic acid: Toxicity to HaCaT keratinocytes *in vitro*, micellar solubilization, and skin permeation enhancement of hydrocortisone", *Int. J. Pharm.*, **524**(1-2), pp.9-15.
- [18] F. Bigucci, A. Abruzzo, B. Saladini, et al. (2015), "Development and characterization of chitosan/hyaluronan film for transdermal delivery of thiocolchicoside", *Carbohydr. Polym.*, **130**, pp.32-40.
- [19] A.H. Fischer, K.A. Jacobson, J. Rose, et al. (2008), "Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections", *CSH Protoc.*, **2008**, DOI: 10.1101/pdb.prot4986.
- [20] M. Alberti, Y. Dancik, G. Sriram, et al. (2017), "Multi-chamber microfluidic platform for high-precision skin permeation testing", *Lab Chip*, **17**(9), pp.1625-1634.
- [21] P.A. Lehman (2014), "A simplified approach for estimating skin permeation parameters from *in vitro* finite dose absorption studies", *J. Pharm. Sci.*, **103**(12), pp.4048-4057.
- [22] Gattefossé (2023), *Lipid Excipients for Topical Drug Delivery*, <https://www.pharmaexcipients.com/excipient-suppliers-list/gattefossé-lipid-excipients/>, accessed March 1, 2023.
- [23] Corel Pharma Chem (2023), *ACRYSOL® Castor Oil Derivatives*, <https://www.corelpharmachem.com/products/acrysol/>, accessed March 2, 2023.
- [24] E.A. Lee, P. Balakrishnan, C.K. Song, et al. (2010), "Microemulsion-based hydrogel formulation of itraconazole for topical deliver", *J. Pharm. Invest.*, **40**(5), pp.305-311.
- [25] M.K. In, K.C. Richardson, A. Loewa, et al. (2019), "Histological and functional comparisons of four anatomical regions of porcine skin with human abdominal skin", *Anat. Histol. Embryol.*, **48**(3), pp.207-217.