



Original Article

Preparation of Aspirin Nanosuspension by Antisolvent Precipitation Method

Nguyen Van Khanh^{1,*}, Vu Van Thuong¹, Nguyen Thanh Hai¹, Hoang Anh Tuan²

¹VNU University of Medicine and Pharmacy, 144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

²108 Military Central Hospital, 1 Tran Hung Dao, Hai Ba Trung, Hanoi, Vietnam

Received 19 January 2021

Revised 30 March 2021; Accepted 20 April 2021

Abstract: This study aims to enhance the dissolution rate of a poorly-soluble drug, aspirin, by fabricating aspirin nanosuspensions using the anti-solvent precipitation. The study investigates the effect of the type of solvents, solvent to anti-solvent ratio, drug concentration, machines, stirring speed, ultrasonication technique and the temperature of solvent on the particle size and polydispersity index. The characterization of the original aspirin powder and nanoparticles was evaluated by differential scanning calorimetry and *in vitro* dissolution test. The results indicate that the selected formulation showed the smallest mean size of 228.2 ± 24.6 nm and a zeta potential of -40.3 ± 2.5 mV. The differential scanning calorimetry analysis demonstrates that aspirin nanoparticles possessed lower crystallinity than the raw aspirin powder. The dissolution of nanoparticle was significantly higher compared with the original drug in the *in vitro* dissolution test.

Keywords: aspirin, nanosuspension, anti-solvent precipitation, differential scanning calorimetry, dissolution.

* Corresponding author.

E-mail address: khanha7k64dkh@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4294>

Nghiên cứu bào chế hỗn dịch nano aspirin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi

Nguyễn Văn Khanh^{1,*}, Vũ Văn Thương¹, Nguyễn Thanh Hải¹, Hoàng Anh Tuấn²

¹Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

²Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, Số 1 Trần Hưng Đạo, Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 19 tháng 01 năm 2021

Chỉnh sửa ngày 30 tháng 3 năm 2021; Chấp nhận đăng ngày 20 tháng 4 năm 2021

Tóm tắt: Mục đích của nghiên cứu này nhằm cải thiện tốc độ hòa tan kém của aspirin bằng cách bào chế hỗn dịch nano aspirin bằng phương pháp kết tủa dược chất trong dung môi. Ảnh hưởng của các loại dung môi hòa tan, tỷ lệ dung môi hòa tan/kết tủa, nồng độ dược chất, thiết bị, tốc độ khuấy, kỹ thuật siêu âm và nhiệt độ của dung môi đến kích thước tiểu phân và chỉ số đa phân tán đã được tiến hành. Đặc tính của bột aspirin ban đầu và tiểu phân nano aspirin được đánh giá bằng phân tích nhiệt quét vi sai và thử nghiệm hòa tan *in vitro*. Kết quả nghiên cứu cho thấy công thức được lựa chọn có kích thước tiểu phân nhỏ nhất là $228,2 \pm 24,6$ nm và thế zeta là $-40,3 \pm 2,5$ mV. Phân tích nhiệt quét vi sai đã chứng minh rằng các hạt nano aspirin có độ kết tinh thấp hơn so với bột aspirin thô. Độ hòa tan của các hạt nano cao hơn đáng kể so với dược chất ban đầu trong thử nghiệm hòa tan *in vitro*.

Từ khóa: Aspirin, hỗn dịch nano, kết tủa trong dung môi, phân tích nhiệt quét vi sai, độ hòa tan.

1. Mở đầu

Aspirin (acid acetylsalicylic) là một thuốc chống viêm không steroid được dùng phổ biến trên toàn thế giới [1], ở liều ≤ 325 mg/ngày aspirin được sử dụng cho việc điều trị và phòng ngừa tim mạch, còn ở liều cao nó có tác dụng giảm đau, hạ sốt, trị cảm lạnh [2]. Do thuộc nhóm II trong bảng phân loại sinh dược học [3] nên aspirin có độ tan kém trong môi trường đường tiêu hóa dẫn tới sinh khả dụng đường uống thấp gây ảnh hưởng tới tác dụng của thuốc.

Rất nhiều phương pháp đã được ứng dụng trong các nghiên cứu trước để tăng độ tan và tốc độ hòa tan của aspirin như tạo phức liên kết với chitosan [4], gắn với tiểu phân nano bạc [5], nano lipid rắn [6], nghiền ướt [7]. Tuy nhiên trong

những năm gần đây hỗn dịch nano được sử dụng nhiều để khắc phục các vấn đề về tốc độ hòa tan và sinh khả dụng thấp của dược chất. Kỹ thuật bào chế hỗn dịch nano có thể được chia làm hai dạng chính là từ trên xuống (top down) và từ dưới lên (bottom up) [8]. Phương pháp từ trên xuống thường kết hợp với kỹ thuật đồng nhất hóa dưới áp suất cao [9]. Kỹ thuật này mặc dù được ứng dụng nhiều nhưng vẫn còn một số nhược điểm như thời gian bào chế kéo dài, khó đạt được kích thước phân bố hẹp, tổn năng lượng, nhiễm tạp, điều này gây nên sự quan tâm nhiều hơn vào kỹ thuật từ dưới lên [10]. Quá trình kết tủa trong dung môi là một trong những kỹ thuật để bào chế tiểu phân nano với nhiều ưu điểm như giá thành rẻ, diễn ra nhanh, thích hợp cho việc nâng quy mô lớn [11, 12] và đã được ứng dụng để bào chế

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: khanha7k64dkh@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4294>

nano hỗn dịch của nhiều loại dược chất như itraconazol [13], spironolacton [14], resveratrol [15], carvediol [16], atovaquon [17], isradipin [18], quercetin [19]. Do vậy, mục đích của nghiên cứu này là bào chế hỗn dịch nano aspirin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi để cải thiện tốc độ hòa tan của dược chất, đây là một phương pháp đơn giản, hiệu quả cao có thể dễ dàng ứng dụng ở quy mô lớn.

2. Nguyên liệu và phương pháp

2.1. Nguyên liệu

Aspirin chuẩn 99,5% (Viện Kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh), aspirin nguyên liệu, glycerin, propylen glycol, aceton (Trung Quốc), nước tinh khiết (Việt Nam).

Tá dược và hóa chất đều đạt tiêu chuẩn dược dụng hoặc tinh khiết phân tích.

2.2. Thiết bị

Máy khuấy từ IKA-RCT basic (Đức), máy khuấy tốc độ cao IKA RW200 digital (Đức), máy siêu âm Elmasonic S100H (Đức), thiết bị đồng nhất hóa Homogenizer (Đức), hệ thống thiết bị đo kích thước tiểu phân và thế zeta Horiba SZ100 (Nhật Bản), Máy phân tích nhiệt vi sai quét DSC PT1000 LINSEIS (Đức), máy đo độ ẩm MB45 (Thụy Sĩ), máy đo quang UV-2600 Shimadzu (Nhật Bản), thiết bị đo độ hòa tan DRS-14 (Ấn Độ), máy ly tâm biocen 22R (Tây Ban Nha), tủ sấy Binder (Đức), cân phân tích AY 129 Shimadzu (Nhật Bản), cân kỹ thuật Sartorius PRACTUM612-1S (Đức).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Bào chế nano aspirin

Hỗn dịch nano aspirin được chế tạo bằng phương pháp kết tủa trong dung môi. Aspirin được hòa tan trong dung môi hữu cơ (glycerin, propylen glycol, aceton). Dung dịch chứa aspirin được phối hợp từ từ vào môi trường nước tinh khiết dưới sự tác động của một số thiết bị như máy khuấy từ, máy khuấy tốc độ cao, máy đồng

nhất hóa, máy siêu âm để thu được hỗn dịch nano. Thu tủa bằng cách ly tâm ở tốc độ 18000 vòng/phút trong 20 phút. Tủa thu được rửa với nước tinh khiết 2 lần, sau đó được sấy tinh ở 60 °C trong 10 giờ.

2.3.2. Đánh giá đặc tính hỗn dịch nano aspirin

i) Kích thước tiểu phân (KTTP), phân bố KTTP (PDI), thế zeta

Hỗn dịch nano được pha loãng với nước tinh khiết, tiến hành đo KTTP, chỉ số đa phân tán PDI và thế zeta bằng thiết bị phân tích kích thước Horiba SZ100. Tất cả các lần đo được tiến hành 3 lần lấy kết quả trung bình;

ii) Phân tích nhiệt quét vi sai

Đường cong dòng nhiệt của nano aspirin được so sánh với aspirin nguyên liệu. Sử dụng đĩa nhôm chứa mẫu 40 µl, đục thùng nắp, khối lượng mẫu khoảng từ 3-7 mg. Nhiệt độ quét từ 50-300 °C, tốc độ gia nhiệt 10 °C/phút. Trong quá trình thử, thổi khí argon với lưu lượng 50 ml/phút;

iii) Đánh giá độ hòa tan *in vitro*

Tiến hành thử độ hòa tan trên thiết bị cánh khuấy với thông số sau:

- Tốc độ cánh khuấy: 100 ± 2 vòng/ phút;
- Nhiệt độ môi trường hòa tan $37 \text{ °C} \pm 0,5 \text{ °C}$;
- Môi trường hòa tan: 900 ml nước tinh khiết;
- Khối lượng mẫu thử: chính xác khoảng 400 mg aspirin nguyên liệu hoặc nano aspirin.

Cho các mẫu thử vào cốc có chứa môi trường hòa tan, cho máy hoạt động. Sau các khoảng thời gian 5, 10, 15, 30, 60 phút hút mẫu thử đem định lượng. Mỗi lần hút chính xác 10 ml dung dịch thử sau đó bổ sung ngay bằng 10 ml nước tinh khiết vào cốc thử độ hòa tan; dung dịch thử hòa tan hút ra được lọc qua màng cellulose acetat 0,45 µm rồi đem định lượng bằng phương pháp đo quang ở nước sóng $\lambda = 277 \text{ nm}$.

Nồng độ aspirin đã hiệu chỉnh ở lần hút thứ n được tính theo công thức như sau:

$$C_n = C_{n0} + C_t$$

Trong đó:

C_n : nồng độ aspirin đã hiệu chỉnh ở lần hút thứ n (µg/ml);

C_{n0} : nồng độ aspirin định lượng được ở lần hút thứ n (µg/ml);

C_t : nồng độ aspirin định lượng được ở lần hút thứ t ($\mu\text{g/ml}$);

V_0 : thể tích dịch hòa tan đã hút (ml);

V : thể tích môi trường hòa tan (ml).

Mỗi mẫu thử làm 3 lần lấy kết quả trung bình.

Phương pháp định lượng aspirin bằng phương pháp đo quang ở nước sóng cực đại $\lambda = 277 \text{ nm}$ với khoảng nồng độ tuyến tính từ 5-50 $\mu\text{g/ml}$ được tiến hành theo hướng dẫn của hội nghị quốc tế về hài hoà hoá các yêu cầu kỹ thuật để đăng ký dược phẩm sử dụng trên người (International conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human use - ICH) [37].

2.3.3. Phân tích thống kê

Chỉ số đặc trưng cho sự khác nhau (difference factor, f_1) giữa hai đồ thị giải phóng tính sai số phần trăm giữa hai đồ thị giải phóng tại tất cả các điểm lấy mẫu [35]:

$$f_1 = \frac{\sum_{j=1}^n |R_j - T_j|}{\sum_{j=1}^n R_j} \times 100$$

Trong đó: j là số thứ tự điểm lấy mẫu; n là số điểm lấy mẫu; R_j và T_j là phần trăm giải phóng của thuốc đối chiếu và thuốc thử tại thời điểm lấy mẫu thứ j ; $f_1 = 0$ khi đồ thị giải phóng của thuốc đối chiếu và thuốc thử giống hệt nhau và f_1 càng lớn khi đồ thị giải phóng của thuốc đối chiếu và thuốc thử càng khác nhau.

Chỉ số đặc trưng cho sự giống nhau

(similarity factor, f_2) giữa hai đồ thị giải phóng là biến đổi logarit của tổng bình phương sai số trung bình giữa phần trăm giải phóng thuốc đối chiếu và thuốc thử tại tất cả các điểm lấy mẫu [35]:

$$f_2 = 50 \times \lg \left\{ \left[1 + (1/n) \sum_{j=1}^n w_j |R_j - T_j|^2 \right]^{-0,5} \times 100 \right\}$$

Với w_j là trọng số tùy chọn; f_2 sẽ nhận giá trị từ 0 đến 100; $f_2 = 100$ khi đồ thị giải phóng của thuốc đối chiếu và thuốc thử giống hệt nhau và f_2 càng nhỏ khi đồ thị giải phóng của thuốc đối chiếu và thuốc thử càng khác nhau.

3. Kết quả nghiên cứu và bàn luận

3.1. Bào chế hỗn dịch nano aspirin

3.1.1. Khảo sát dung môi hòa tan aspirin

Tham khảo một số tài liệu nghiên cứu trước [19, 20, 26, 36], tiến hành bào chế các mẫu hỗn dịch nano aspirin như sau: hòa tan khoảng 0,5 aspirin vào trong 20 ml dung môi khác nhau (glycerin, propylen glycol, aceton) thu được dung dịch aspirin có nồng độ khoảng 25 mg/ml. Phối hợp từ từ vào dung dịch trên với tốc độ 20 ml/phút vào 60 ml nước tinh khiết (tỷ lệ thể tích nước/dung môi là 3) ở nhiệt độ 5-10 °C sử dụng máy khuấy từ với tốc độ 1400 vòng/phút. Hỗn dịch nano tạo thành được đo KTTTP, PDI. Kết quả thể hiện như trong Bảng 1.

Bảng 1. KTTTP, PDI của hỗn dịch nano aspirin khi sử dụng các dung môi khác nhau ($n=3$)

Mẫu	Dung môi	KTTTP (nm)	PDI
M1	Glycerin	315,0 ± 20,3	0,124 ± 0,095
M2	Propylen glycol	956,5 ± 33,4	0,213 ± 0,084
M3	Aceton	526,3 ± 30,2	0,197 ± 0,101

Kết quả Bảng 1 cho thấy khi sử dụng dung môi hữu cơ khác nhau để hòa tan aspirin thì thu được hỗn dịch có KTTTP và PDI cũng khác nhau. Khi sử dụng môi glycerin hòa tan aspirin để bào chế hỗn dịch cho KTTTP (315,0 nm) và PDI

(0,124) nhỏ nhất so với propylen glycol và aceton. Ngoài ra glycerin có giá thành rẻ, không độc, thích hợp cho sản xuất lớn.

Do vậy, sử dụng glycerin làm dung môi hòa tan aspirin cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.1.2. Khảo sát tỷ lệ giữa môi trường hòa tan và môi trường kết tủa

Tiến hành bào chế các mẫu hỗn dịch nano aspirin tương tự như mẫu M1 nhưng khác nhau về tỷ lệ thể tích giữa môi trường hòa tan (glycerin) với môi trường kết tủa (nước tinh khiết) thu được kết quả như trong Bảng 2.

Từ kết quả Bảng 2 cho thấy khi tỷ lệ thể tích nước/glycerin tăng từ 1 lên 2 thì KTTT tăng, tuy nhiên ở tỷ lệ 3 thì KTTT thu được nhỏ nhất (315,0 nm) còn khi tăng tỷ lệ nước/glycerin từ 3 lên 5 thì KTTT tăng.

Sự kết tập các tiểu phân sẽ ít khi hỗn dịch được pha loãng với nước bởi vì sự kết tập các tiểu phân được hình thành khi các tinh thể tiểu phân nhỏ va chạm với nhau và tần suất va chạm tinh thể sẽ phụ thuộc vào số lượng tinh thể trên thể tích dung môi. Hơn nữa khi tăng thể tích môi trường kết tủa (nước) thì dẫn tới tỷ lệ nước nhiều hơn sau khi phối hợp. Nồng độ glycerin trong

dung dịch là 50% khi ở tỷ lệ thể tích nước/glycerin = 1 trong khi chỉ là 25% ở tỷ lệ nước/glycerin = 3, điều này dẫn tới giảm độ hòa tan. Trong quá trình hình thành tinh thể lớn thì việc tăng thể tích môi trường kết tủa làm tăng khoảng cách khuếch tán giữa các tinh thể để hình thành tạo mầm tinh thể, do vậy ngăn cản sự lớn dần của hạt tinh thể [21, 22]. Ngoài ra, ở tỷ lệ nước/glycerin = 3 thì aspirin ở nồng độ quá bão hòa cao nên thu được kích thước hạt thường nhỏ hơn [23].

Tuy nhiên KTTT tăng từ 315,0 nm lên 636,7 nm khi tăng tỷ lệ nước/glycerin từ 3 lên 5. Nguyên nhân có thể là do chịu ảnh hưởng bởi sự kết tinh thứ cấp, xảy ra khi tiếp xúc với với sự có mặt của các tinh thể mẹ ở con khuấy, thành cốc và các sự kết tinh khác [24, 25].

Ở mẫu M1 tỷ lệ nước/glycerin = 3 thì hỗn dịch nano aspirin có KTTP và PDI nhỏ nhất, vì vậy tỷ lệ này được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 2. KTTP và PDI của hỗn dịch nano aspirin với tỷ lệ glycerin/nước khác nhau (n=3)

Mẫu	Tỷ lệ thể tích giữa nước/glycerin	KTTP (nm)	PDI
M4	1	525,6 ± 27,4	0,483 ± 0,069
M5	2	922,9 ± 23,6	0,217 ± 0,129
M1	3	315,0 ± 13,6	0,147 ± 0,098
M6	4	438,0 ± 15,1	0,244 ± 0,092
M7	5	636,7 ± 44,5	0,427 ± 0,143

Bảng 3. KTTP và PDI của hỗn dịch nano aspirin khi sử dụng nồng độ dung dịch aspirin khác nhau (n=3)

Mẫu	Nồng độ aspirin trong glycerin (mg/ml)	KTTP (nm)	PDI
M8	12,5	467, 6 ± 20, 5	0, 179 ± 0, 036
M9	15	480, 5 ± 42, 7	0, 193 ± 0, 049
M10	17,5	356, 1 ± 31, 0	0, 255 ± 0, 059
M11	20	361, 9 ± 33, 1	0, 203 ± 0, 117
M1	25	315,0 ± 13,6	0,147 ± 0,098
M12	30	399, 3 ± 35, 0	0, 193 ± 0, 070

3.1.3. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung dịch aspirin

Tiến hành bào chế các mẫu hỗn dịch nano aspirin tương tự như mẫu M1 nhưng khác nhau

về nồng độ dung dịch aspirin trong dung môi glycerin thu được kết quả như trong Bảng 3.

Một xu hướng chung là khi tăng nồng độ aspirin từ 12,5 lên 25 mg/ml thì KTTP của hỗn dịch nano aspirin có xu hướng giảm được thể hiện trong Bảng 3. Nguyên nhân là khi nồng độ

aspirin trong dung dịch cao thì tăng cả nồng độ quá bão hòa và tốc độ tạo mầm tinh thể, làm giảm KTTP [26]. Tuy nhiên khi tăng nồng độ aspirin lên cao 30 mg/ml thì các tiểu phân nano có xu hướng kết tập lại với nhau gây tăng KTTP do làm tăng số lượng mầm tinh thể gây kết tập tiểu phân [27]. Kết quả này cũng tương tự như nghiên cứu của Zhang và cộng sự [28]. Như vậy để thu được KTTP nhỏ cần phải tối ưu nồng độ dược chất tạo ra sự cân bằng giữa tốc độ tạo mầm tinh thể và động học kết tập tiểu phân [26].

KTTP thu được ở nghiên cứu này (315,0 nm) nhỏ hơn khi so sánh kết quả này so với nghiên cứu trước (1500-6000 nm) của A. Affonso và cộng sự [20]. Nguyên nhân chính có thể do nồng độ aspirin trong glycerin ở nghiên cứu của

Affonso khá cao (44,44 mg/ml) dẫn tới các tiểu phân nano có xu hướng kết tập lại với nhau gây tăng KTTP (trên 1000 nm). Như vậy nghiên cứu đã lựa chọn được nồng độ aspirin trong glycerin thích hợp khi so sánh với nghiên cứu trước.

Nồng độ aspirin trong glycerin là 25 mg/ml có KTTP và PDI nhỏ nhất do vậy được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.1.4. Khảo sát ảnh hưởng sự tác động của một số thiết bị

Tiến hành bào chế các mẫu hỗn dịch nano aspirin tương tự như mẫu M1 nhưng chỉ khác nhau về thiết bị tác động tới quá trình kết tinh khi phối hợp dung dịch aspirin trong glycerin vào nước thu được kết quả như trong Bảng 4.

Bảng 4. KTTP và PDI của hỗn dịch nano aspirin khi sử dụng các thiết bị khác nhau (n=3)

Mẫu	Thiết bị	KTTP (nm)	PDI
M1	Máy khuấy từ (tốc độ 1400 vòng/phút)	315,0 ± 13,6	0,147 ± 0,098
M13	Bể siêu âm (50 Hz, 100 W)	460,2 ± 35,3	0,218 ± 0,124
M14	Máy đồng nhất hóa tốc độ cao (2700 vòng/phút)	252,8 ± 7,5	0,262 ± 0,029
M15	Máy khuấy tốc độ cao(1400 vòng/phút)	427,6 ± 44,3	0,222 ± 0,081

Nhìn vào kết quả trong Bảng 4 nhận thấy khi sử dụng các thiết bị khác nhau thì hỗn dịch nano aspirin có KTTP và PDI khác nhau. Sự tác động của máy đồng nhất hóa tốc độ cao ở tốc độ 2700 vòng/phút thu được hỗn dịch có KTTP bé nhất do vậy được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.1.5. Khảo sát ảnh hưởng của tốc độ đồng nhất hóa

Tiến hành bào chế các mẫu hỗn dịch nano aspirin như mẫu M14 nhưng chỉ khác nhau về tốc độ đồng nhất hóa thu được kết quả như trong Bảng 5.

Kết quả thu được từ Bảng 5 cho thấy KTTP và PDI có sự khác nhau ở các tốc độ đồng nhất hóa. Tốc độ đồng nhất hóa là một yếu tố quan trọng bởi vì nó ảnh hưởng tới sự trộn lẫn giữa hai dung môi glycerin và nước [29]. Nhìn chung khi tăng tốc độ đồng nhất hóa từ 1350 lên 2700 vòng/phút thì KTTP giảm do làm tăng sự chuyển khối và sự khuếch tán giữa hai pha dẫn tới làm giảm quá trình tạo mầm tinh thể, KTTP nhỏ. Tuy nhiên khi tăng tốc độ ở mức cao (4050-5400 vòng/phút) thì KTTP có xu hướng tăng là do khi khuấy ở tốc độ cao quá thì sinh ra nhiệt năng làm tăng nhiệt độ dẫn tới tăng KTTP [30-32]. Tốc độ đồng nhất hóa 2700 vòng/phút được lựa chọn.

Bảng 5. KTTP và PDI của hỗn dịch nano aspirin ở tốc độ đồng nhất hóa khác nhau (n=3)

Mẫu	Tốc độ đồng nhất hóa (vòng/phút)	KTTP (nm)	PDI
M16	1350	662,4 ± 60,1	0,425 ± 0,011
M14	2700	248,8 ± 4,1	0,230 ± 0,032
M17	4050	454,5 ± 30,0	0,270 ± 0,093
M18	5400	379,7 ± 23,1	0,346 ± 0,055

Bảng 6. KTTP và PDI của hỗn dịch nano aspirin khi không và có sự tác động của thiết bị siêu âm (n=3)

Mẫu	Tác động của bể siêu âm (50 Hz, 100 W)	KTTP (nm)	PDI
M14	Không	225,7 ± 23,3	0,185 ± 0,117
M19	Có	377,1 ± 16,4	0,343 ± 0,049

3.1.6. Khảo sát ảnh hưởng của thiết bị siêu âm

Tiến hành bào chế hỗn dịch nano aspirin tương tự như mẫu M14 nhưng khác nhau về có sự tác động của thiết bị siêu âm thu được kết quả như trong Bảng 6.

Khi sử dụng thêm thiết bị siêu âm để tạo hỗn dịch nano aspirin thì KTTP lại có xu hướng tăng lên (Bảng 6). Nguyên nhân có thể do sóng siêu âm gây ra, hình thành các bong bóng và làm tăng sự va chạm giữa các tiểu phân trong môi trường lỏng gây tăng KTTP [29].

Nhận thấy sóng siêu âm không làm nhỏ KTTP của hỗn dịch nano aspirin do vậy trong quá trình bào chế sẽ không sử dụng kết hợp thêm tác động của thiết bị siêu âm.

3.1.7. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ môi trường kết tủa

Tiến hành bào chế hỗn dịch nano aspirin tương tự như mẫu M14 nhưng khác nhau về nhiệt độ môi trường kết tủa aspirin (nước tinh khiết) thu được kết quả như trong Bảng 7.

Bảng 7. KTTP và PDI của hỗn dịch nano aspirin khi thay đổi nhiệt độ môi trường kết tủa (n=3)

Mẫu	Nhiệt độ môi trường kết tủa (°C)	KTTP (nm)	PDI
M20	0 - 5	316,3 ± 16,2	0,215 ± 0,030
M14	5 - 10	218,1 ± 12,8	0,322 ± 0,052
M22	10 - 15	274,6 ± 19,1	0,274 ± 0,097
M23	15 - 20	376,6 ± 18,6	0,330 ± 0,090
M24	20	762,4 ± 32,3	0,490 ± 0,054

Kết quả Bảng 7 cho thấy nhiệt độ môi trường kết tủa ảnh hưởng tới KTTP và PDI của hỗn dịch. KTTP giảm dần khi giảm nhiệt độ từ 20 °C xuống 5 °C và có tăng nhẹ khi ở nhiệt độ từ 0-5 °C. Về bản chất thì tốc độ tạo mầm tỷ lệ nghịch với nhiệt độ môi trường kết tủa, nhiệt độ đóng vai trò quan trọng trong việc kiểm soát KTTP và phân bố KTTP. Ở nhiệt độ cao thì các tiểu phân nano có KTTP lớn hơn được hình thành, còn ở nhiệt độ thấp thì độ hòa tan của dược chất trong môi trường kết tủa giảm làm tăng nồng độ quá bão hòa dẫn tới giảm KTTP, ngoài ra ở nhiệt độ thấp còn giảm sự khuếch tán và lớn dần tinh thể do vậy KTTP cũng bé hơn [22, 33]. Kết quả này cũng tương tự với kết quả của Zhang và cộng sự [30].

Ở nhiệt độ môi trường từ 5-10 °C có KTTP nhỏ nhất do vậy được chọn cho bào chế hỗn dịch. Như vậy từ các kết quả trên thì các thông số của quá trình bào chế hỗn dịch nano aspirin đã được lựa chọn.

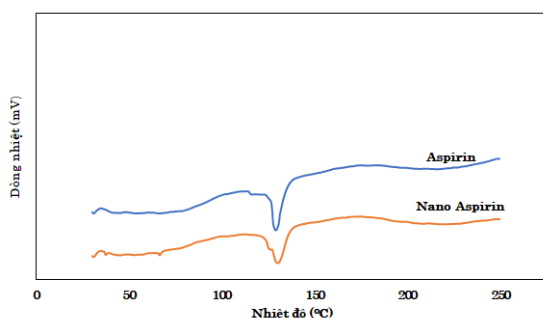
3.2. Đánh giá một số đặc tính của nano aspirin bào chế được

3.2.1. Phân tích nhiệt quét vi sai

Kết quả phân tích nhiệt quét vi sai nano aspirin và aspirin nguyên liệu thu được như trong Hình 1.

Điểm chảy của mẫu nano aspirin và aspirin nguyên liệu tương đương nhau khoảng 125 °C. Tuy nhiên enthalpy quá trình nóng chảy của nano aspirin thấp hơn aspirin nguyên liệu.

Enthalpy quá trình nóng chảy tỷ lệ thuận với mức độ tinh thể của aspirin, những kết quả trên chỉ ra rằng quá trình kết tủa trong dung môi làm giảm mức độ tinh thể của aspirin. Kết quả này cũng phù hợp so với một số nghiên cứu trước [19, 21].



Hình 1. Giảm độ phân tích nhiệt quét vi sai (DSC) của nano aspirin và aspirin nguyên liệu.

3.2.2. Kích thước tiểu phân, PDI và thế zeta

Mẫu bột aspirin được phân tán vào trong một lượng nước thích hợp, sau đó được đo KTTT, PDI và thế zeta. Kết quả thu được như trong Bảng 8.

Bảng 8. KTTT, PDI và thế zeta của bột nano aspirin bào chế được (n=3)

KTTT (nm)	PDI	Thế zeta (mV)
228,2 ± 24,6	0,282 ± 0,096	- 40,3 ± 2,5

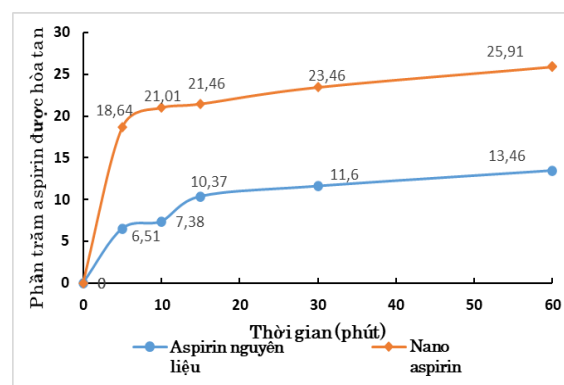
Kết quả cho thấy KTTT của nano aspirin nhỏ 228,2 nm, PDI hẹp (0,282) và giá trị tuyệt đối thế zeta cao (40,3 mV). Như vậy hỗn dịch nano aspirin có thể có độ ổn định cao do giá trị tuyệt đối thế zeta lớn hơn 30 mV [34].

3.2.3. Đánh giá độ hòa tan *in vitro*

Kết quả thử độ hòa tan *in vitro* của mẫu bột nano aspirin và aspirin nguyên liệu được thể hiện như trong Hình 2.

So sánh kết quả thử độ hòa tan của mẫu nano aspirin so với aspirin nguyên liệu dựa theo chỉ số khác nhau (f_1) và chỉ số giống nhau (f_2). Theo hướng dẫn của FDA thì f_1 nhỏ hơn 15 (0-15) và giá trị f_2 lớn hơn 50 (50-100) thì hai đồ thị giải phóng giống nhau [35]. Như vậy đồ thị hòa tan

của nano aspirin và aspirin nguyên liệu là khác nhau do giá trị f_1 (55,4) lớn hơn 15 và giá trị f_2 (45,5) nhỏ hơn 50. Từ những kết quả trên có thể kết luận rằng nano aspirin có độ hòa tan cao hơn aspirin nguyên liệu. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với nghiên cứu của Affonso và cộng sự [20]. Tuy nhiên độ hòa tan của aspirin trong nghiên cứu khá thấp so với độ tan của aspirin trong nước ở 37 °C [38] điều này có thể do dạng đa hình của nguyên liệu aspirin ban đầu có độ hòa tan kém. Một dược chất có thể kết tinh dưới nhiều dạng tinh thể khác nhau tùy theo điều kiện kết tinh và mỗi dạng đa hình sẽ ảnh hưởng tới nhiều yếu tố của dược chất như độ tan, tốc độ hòa tan, độ ổn định [39].



Hình 2. Kết quả thử độ hòa tan *in vitro* của mẫu bột nano aspirin và aspirin nguyên liệu.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã bào chế được hỗn dịch nano aspirin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi. Kích thước tiểu phân nano aspirin bị ảnh hưởng bởi các yếu tố như dung môi hòa tan dược chất, nồng độ dung dịch dược chất, tỷ lệ thể tích giữa môi trường hòa tan và môi trường kết tủa dược chất, thiết bị tác động và nhiệt độ môi trường kết tủa. Độ hòa tan *in vitro* của aspirin cao hơn so với nguyên liệu do vậy cần tiếp tục nghiên cứu đánh giá sinh khả dụng *in vivo* trên động vật thí nghiệm để chứng minh ưu điểm của nano aspirin so với nguyên liệu thông thường, và mục tiêu xa hơn là có thể giảm liều sử dụng cho bệnh nhân.

Tài liệu tham khảo

- [1] G. C. Curhan, A. J. Bullock, S. E. Hankinson, W. C. Willett, F. E. Speizer, M. J. Stampfer, Frequency of Use of Acetaminophen, Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, and Aspirin in US Women, *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, Vol. 11, No. 8, 2002, pp. 687-693, <https://doi.org/10.1002/pds.732>.
- [2] Antithrombotic Trialists (ATT) Collaboration, Aspirin in the Primary and Secondary Prevention of Vascular Disease: Collaborative Meta-analysis of Individual Participant Data from Randomised Trials, *The Lancet*, Vol. 373, 2009, pp. 1849-1860, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60503-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60503-1).
- [3] Y. Golfar, A. Shayanfar, Prediction of Biopharmaceutical Drug Disposition Classification System (BDDCS) by Structural Parameters, *J Pharm Pharm Sci*, Vol. 22, No. 1, 2019, pp. 247-269, <https://doi.org/10.18433/jpps30271>.
- [4] S. Luo, H. Man, X. Jia, Y. Li, A. Pan, X. Zhang, Y. Songa, Preparation and Characterization of Acetylsalicylic Acid/chitosan Nanoparticles and its Antithrombotic Effects, *Des Monomers Polym*, Vol. 21, No. 1, 2018, pp. 172-181, <https://doi.org/10.1080/15685551.2018.1534317>.
- [5] S. Ahmad, H. Rashid, Q. Jalil, S. Munir, B. Barkatullah, S. Khan, R. Ullah, A. Shahat, H. M. Mahmood, A. A. N. A. A. Mishari, A. B. Bari, Polymers Encapsulated Aspirin Loaded Silver Oxide Nanoparticles: Synthesis, Characterization and its Bio-Applications, *Sains Malaysiana*, Vol. 48, No. 9, 2019, pp. 1887-1897, <http://dx.doi.org/10.17576/jsm-2019-4809-09>.
- [6] T. H. Gugu, S. A. Chime, A. A. Attama, Solid Lipid Microparticles: An Approach for Improving Oral Bioavailability of Aspirin, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 10, No. 5, 2015, pp. 425-432, <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2015.06.004>.
- [7] O. Dandah, M. Najafzadeh, M. Isreb, R. Linforth, C. Tait, A. Baumgartner, D. Anderson, Aspirin and Ibuprofen, in Bulk and Nanofoms: Effects on DNA Damage in Peripheral Lymphocytes from Breast Cancer Patients and Healthy Individuals, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, Vol. 826, 2018, pp. 41-46, <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2017.12.001>.
- [8] C. Keck, R. Muller, Drug Nanocrystals of Poorly Soluble Drugs Produced by High Pressure Homogenisation, *Eur J Pharm Biopharm*, Vol. 62, No. 1, 2006, pp. 3-16, <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2005.05.009>.
- [9] B. Vaneerdenbrugh, G. Vandennooter, P. Augustijns, Top-down Production of Drug Nanocrystals: Nanosuspension Stabilization, Miniaturization and Transformation into Solid Products, *Int J Pharm*, Vol. 364, No. 1, 2008, pp. 64-75, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.07.023>.
- [10] H. Dewaard, W. Hinrichs, H. Frijlink, A Novel Bottom-up Process to Produce Drug Nanocrystals: Controlled Crystallization During Freeze-drying, *J Control Release*, Vol. 128, No. 2, 2008, pp. 179-183, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.03.002>.
- [11] E. M. Michal, A. H. Margaret, P. J. Keith, O. W. I. Robert, Drug Nanoparticles by Antisolvent Precipitation: Mixing Energy versus Surfactant Stabilization, *Langmuir*, Vol. 22, No. 21, 2006, pp. 8951-8959, <https://doi.org/10.1021/la061122t>.
- [12] S. Sana, K. Boodhoo, V. Zivkovic, Production of Starch Nanoparticles through Solvent-antisolvent Precipitation in a Spinning Disc Reactor, *Green Processing and Synthesis*, Vol. 8, No. 1, pp. 507-515, <https://doi.org/10.1515/gps-2019-0019>.
- [13] X. Zhang, H. Chen, F. Qian, Y. Cheng, Preparation of Itraconazole Nanoparticles by Anti-solvent Precipitation Method Using a Cascaded Microfluidic Device and an Ultrasonic Spray Drier, *Chemical Engineering Journal*, Vol. 334, 2018, pp. 2264-2272, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.12.002>.
- [14] Y. Dong, W. K. Ng, S. Shen, S. Kim, R. B. H. Tan, Preparation and Characterization of Spironolactone Nanoparticles by Antisolvent Precipitation, *Int J Pharm*, Vol. 375, No. 1-2, 2009, pp. 84-88, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.03.013>.
- [15] D. H. Kuk, E. S. Ha, D. H. Ha, W. Y. Sim, S. K. Lee, J. S. Jeong, J. S. Kim, I. Baek, H. Park, D. H. Choi, J. W. Yoo, S. H. Jeong, S. J. Hwang, M. S. Kim, Development of a Resveratrol Nanosuspension Using the Antisolvent Precipitation Method without Solvent Removal, Based on a Quality by Design (QbD) Approach, *Pharmaceutics*, Vol. 11, No. 12, 2019, pp. 1-22, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11120688>.
- [16] D. Liu, H. Xu, B. Tian, K. Yuan, H. Pan, S. Ma, X. Yang, W. Pan, Fabrication of Carvedilol Nanosuspensions Through the Anti-Solvent Precipitation-Ultrasonication Method for the Improvement of Dissolution Rate and Oral Bioavailability, *AAPS Pharm Sci Tech*, Vol. 13,

- No. 1, 2012, pp. 295-304,
<https://doi.org/10.1208/s12249-011-9750-7>.
- [17] H. Kathpalia, S. Juvekar, S. Shidhaye, Design and In Vitro Evaluation of Atovaquone Nanosuspension Prepared by pH Based and Anti-solvent Based Precipitation Method, *Colloid and Interface Science Communications*, Vol. 29, 2019, pp. 26-32,
<https://doi.org/10.1016/j.colcom.2019.01.002>.
- [18] D. B. Shelar, S. K. Pawar, P. R. Vavia, Fabrication of Isradipine Nanosuspension by Anti-solvent Microprecipitation-high-pressure Homogenization Method for Enhancing Dissolution Rate and Oral Bioavailability, *Drug Deliv Transl Res*, Vol. 3, No. 5, 2013, pp. 384-391,
<https://doi.org/10.1007/s13346-012-0081-3>.
- [19] M. Kakran, N. G. Sahoo, L. Li, Z. Judeh, Fabrication of Quercetin Nanoparticles by Anti-solvent Precipitation Method for Enhanced Dissolution, *Powder Technology*, Vol. 223, 2012, pp. 59-64,
<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2011.08.021>.
- [20] A. Affonso, V. R. Naik, Microcrystallization Methods for Aspirin, Mebutamate, and Quinine Sulfate, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 60, No. 10, 1971, pp. 1572-1574,
<https://doi.org/10.1002/jps.2600601032>.
- [21] M. Kakran, N. G. Sahoo, I. L. Tan, L. Li, Preparation of Nanoparticles of Poorly Water Soluble Antioxidant Curcumin by Antisolvent Precipitation Methods, *J Nanopart Res*, Vol. 14, No. 3, 2012, pp. 3-11,
<https://doi.org/10.1007/s11051-012-0757-0>.
- [22] C. Li, C. Li, Y. Le, J. F. Chen, Formation of Bicalutamide Nanodispersion for Dissolution Rate Enhancement, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 404, No. 1-2, 2011, pp. 257-263,
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.11.015>.
- [23] A. S. Paulino, G. Rauber, C. E. M. Campos, M. H. P. Maurício, R. R. de Avillez, G. Capobianco, S. G. Cardoso, S. L. Cuffini, Dissolution Enhancement of Deflazacort Using Hollow Crystals Prepared by Antisolvent Crystallization Process, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 49, No. 2, 2013, pp. 294-301,
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2013.03.014>.
- [24] S. Yee. Wong, Y. Cui, A. S. Myerson, Contact Secondary Nucleation as a Means of Creating Seeds for Continuous Tubular Crystallizers, *Crystal Growth & Design*, Vol. 13, No. 6, 2013, pp. 2514-2521,
<https://doi.org/10.1021/cg4002303>.
- [25] Y. Cui, A. S. Myerson, Experimental Evaluation of Contact Secondary Nucleation Mechanisms, *Crystal Growth & Design*, Vol. 14, No. 10, 2014, pp. 5152-5157,
<https://doi.org/10.1021/cg500861f>.
- [26] J. Tao, S. F. Chow, Y. Zheng, Application of Flash Nanoprecipitation to Fabricate Poorly Water-Soluble Drug Nanoparticles, *Acta Pharmaceutica Sinica B*, Vol. 9, No. 1, 2019, pp. 4-18,
<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2018.11.001>.
- [27] B. Sinha, R. H. Müller, J. P. Möschwitzer, Bottom-up Approaches for Preparing Drug Nanocrystals: Formulations and Factors Affecting Particle Size, *Int J Pharm*, Vol. 453, No. 1, 2013, pp. 126-141,
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.01.019>.
- [28] H. X. Zhang, J. X. Wang, Z. B. Zhang, Y. Le, Z. G. Shen, J. F. Chen, Micronization of Atorvastatin Calcium by Antisolvent Precipitation Process, *Int J Pharm*, Vol. 374, No. 1-2, 2009, pp. 106-113,
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.02.015>.
- [29] A. L. Abhijit, R. P. Sanjaykumar, Antisolvent Crystallization of Poorly Water Soluble Drugs, *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, Vol. 4, No. 5, 2013, pp. 337-341,
<https://doi.org/10.7763/IJCEA.2013.V4.321>.
- [30] Z. Zhang, Z. Shen, J. Wang, H. Zhao, J. Chen, J. Yun, Nanonization of Megestrol Acetate by Liquid Precipitation, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, Vol. 48, No. 18, 2009, pp. 8493-8499,
<https://doi.org/10.1021/ie900944y>.
- [31] M. Kakran, N. G. Sahoo, L. Li, Z. Judeh, Particle Size Reduction of Poorly Water Soluble Artemisinin via Antisolvent Precipitation with a Syringe Pump, *Powder Technology*, Vol. 237, 2013, pp. 468-476,
<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2012.12.029>.
- [32] A. F. Kardos, J. Toth, J. Gyenis, Preparation of Protein Loaded Chitosan Microparticles by Combined Precipitation and Spherical Agglomeration, *Powder Technology*, Vol. 244, 2013, pp. 16-25,
<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2013.03.052>.
- [33] Z. Wang, J. Chen, Y. Le, Z. Shen, Preparation of Ultrafine Beclomethasone Dipropionate Drug Powder by Antisolvent Precipitation, *Industrial and Engineering Chemistry Research*, Vol. 46, No. 14, 2007, pp. 4839-4845,
<https://doi.org/10.1021/ie0615537>.
- [34] I. Aghrbi, V. Fülöp, G. Jakab, N. K. Szab, E. Balogh, I. Antal, Nanosuspension with Improved Saturated Solubility and Dissolution Rate of Cilostazol and Effect of Solidification on Stability, *Journal of Drug Delivery Science and*

- Technology, Vol. 61, 2020, pp. 1-10, <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102165>.
- [35] P. Costa, J. M .S. Lobo, Modeling and Comparison of Dissolution Profiles, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 13, No. 2, 2001, pp. 123-133, [https://doi.org/10.1016/S0928-0987\(01\)00095-1](https://doi.org/10.1016/S0928-0987(01)00095-1).
- [36] A. Viçosa, J. Letourneau, F. Espitalier, M. Ré, An Innovative Antisolvent Precipitation Process as a Promising Technique to Prepare Ultrafine Rifampicin Particles, *Journal of Crystal Growth*, Vol. 342, No. 1, 2012, pp. 80-87, <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2011.09.012>.
- [37] The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)*, 2005, pp. 6-13.
- [38] J. B. Dressman, A. Nair, B. Abrahamsson, D. M. Barends, D. W. Groot, S. Kopp, P. Langguth, J. E. Polli, V. P. Shah, M. Zimmer, Biowaiver Monograph for Immediate-release Solid Oral Dosage Forms: Acetylsalicylic Acid, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 101, No. 8, 2012, pp. 2653-2667, <https://doi.org/10.1002/jps.23212>.
- [39] T. Yuka, M. Mihoko, Y. Hiroshi Y, O. Shino, A. Hiroaki, T. Kazufumi, T. Katsuo, I. Masayuki, Y. Masashi, M. Yusuke, Intergrowth of Two Aspirin Polymorphism Observed with Raman Spectroscopy, *Journal of Crystal Growth*, Vol. 532, 2020, pp. 1-28, <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2019.125430>.