

INVITRO STUDY ON SOME PROPERTIES AND RELEASE PROCESS OF LOVASTATIN FROM THE CHITOSAN/GELATIN COMPOSITE CARRYING LOVASTATIN

Vu Quoc Manh¹ Pham Thi Thuy Ngan² Ha Ngoc Thao Nhi³
Vu Thi Thu Huong⁴ Le Thi Ngoc Mai⁵ Pham Dieu Thuong⁶ Vu Kim Chi⁷

^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7}Thanh Do University

Email: ¹vqmanh@thanhdouni.edu.vn; ²phtngan@thanhdouni.edu.vn; ³hnhi201104@gmail.com;

⁴vuthiuhuong042004@gmail.com; ⁵ngocmaile1708@gmail.com; ⁶phamthuong13022004@gmail.com;

⁷chivu7140@gmail.com

Received: 24/9/2024; Reviewed: 28/10/2024; Revised: 4/11/2024; Accepted: 6/12/2024

DOI: <https://doi.org/10.58902/tcnckhpt.v3i4.174>

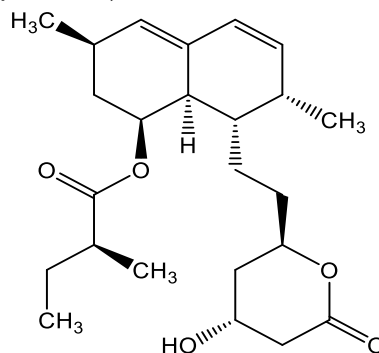
Abstract: Lovastatin (LOV) is one of the leading drugs chosen for the treatment of hyperlipidemia. However, LOV exhibits poor solubility and short half-life. Chitosan/gelatin composite materials carrying lovastatin (CGL) were fabricated using the solution method, and the properties of these materials were evaluated using modern techniques: Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Differential Scanning Calorimetry (DSC), and Field Emission Scanning Electron Microscopy (FESEM). The release content of LOV from the CGL composite system in buffer solutions at pH 2.0 and pH 7.4 was determined based on the optical absorbance of the drug-containing solutions using UV-Vis spectroscopy and calibration equations for LOV. The study focused on the fabrication of chitosan/gelatin composite system carrying LOV with the aim of reducing LOV particle size, evaluating the ability to control and release LOV from the chitosan/gelatin composite material. Analytical results indicated that the components within the material interact through physical interactions (hydrogen bonding and dipole interactions) without changing the chemical structure of LOV. The physical structure of LOV changed from a rod-shaped crystalline form to a spherical form. The release of LOV from the CGL composite material in buffer solutions at pH 2.0 and pH 7.4 was higher than that of LOV not carried by the chitosan/gelatin composite.

Keywords: The process of lovastatin release; Chitosan/gelatin combination; Invitro study of properties.

1. Giới thiệu

Lovastatin (LOV), một statin tự nhiên, là chất ức chế cạnh tranh và đặc hiệu của enzym 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A (HMG-CoA), do đó được dùng làm thuốc hạ cholesterol mạnh. LOV được hấp thu nhanh chóng ở ruột non khi dùng đường uống. Nồng độ huyết tương của LOV đạt cực đại trong vòng 4 giờ với thời gian bán hủy là 3 giờ và sinh khả dụng thấp 5% do khả năng hòa tan trong nước kém (Zolkiflee et al., 2017). Chitosan (CS) và gelatin (GEL) là những polymer sinh học có tính tương thích sinh học cao, không độc hại và dễ phân hủy sinh học trong điều kiện sinh lý (Coenen et al., 2018). Do vậy, những polymer này ngày càng được quan tâm nghiên cứu và ứng dụng vào nhiều lĩnh vực khác nhau đặc biệt là trong dược phẩm và y sinh.

Hình 1. Công thức cấu tạo của lovastatin (Được diễn Việt Nam V)



Nghiên cứu tập trung vào chế tạo hệ tổ hợp CS/GEL mang LOV (CGL) nhằm cải thiện độ hòa tan của LOV và kiểm soát quá trình giải phóng LOV ra khỏi hệ tổ hợp CGL. Các phương pháp quang phổ như IR, SEM được sử dụng để đánh giá

các nhóm chức cũng như hình thái cấu trúc của hệ tổ hợp CGL. Tính chất nhiệt của hệ tổ hợp CGL được đánh giá thông qua phương pháp phân tích nhiệt lượng quét vi sai (DSC). Phương pháp phổ hấp thụ tử ngoại khả kiến (UV-Vis) giúp xác định lượng LOV giải phóng từ hệ tổ hợp theo thời gian.

2. Tổng quan nghiên cứu

Có nhiều nghiên cứu cải thiện độ tan và khả năng hấp thụ của LOV trong cơ thể người cũng như tăng sinh khả dụng của thuốc trong quá trình điều trị, để phát triển các loại thuốc phù hợp. Một trong những kỹ thuật được nghiên cứu nhiều nhất là chế tạo các hạt nano hoặc hệ polymer mang thuốc để kiểm soát sự giải phóng thuốc. Các polymer được nghiên cứu cho hệ mang thuốc và tăng sinh khả dụng đã được nghiên cứu như: polymethacrylate được sử dụng làm tá dược, Eudragit (Suhair Al-NimryMai, 2015), poly (lactic-co-glycolic) acid (PLGA) (Langert et al., 2017), polyaniline (PANi) (Minisy et al., 2021), polycaprolactone (PCL) và polyethylene oxit (PEO) (Loc et al., 2018).

Vi hạt Eudragit L100 mang LOV thông qua phương pháp dung dịch sử dụng dung chất hoạt động bề mặt sodium dodecyl sulfate (SDS) ở nồng độ 0,25%, giúp tăng cường giải phóng thuốc LOV gấp 5 lần (Suhair Al-NimryMai, 2015). Hàm lượng LOV giải phóng từ hệ tổ hợp chitosan/carrageenan/polyaniline mang LOV (CsCLP) được chế tạo bằng phương pháp dung dịch đều được cải thiện độ tan của LOV. Kết quả thu được, mẫu CsCLP1955 với 5% khối lượng của polyanilin (PANi) và 5% khối lượng LOV có độ phân tán LOV tốt. Trong dung dịch đệm pH 2,0, hàm lượng LOV giải phóng đạt 61,7 - 74,3% sau 30 giờ thử nghiệm, trong khi ở đệm pH 7,4 tốt hơn, ở mức 68,5 - 78,1%, với tỷ lệ PANi tối ưu là 5% khối lượng (Thao et al., 2023). Trong một nghiên cứu khác, màng tổ hợp alginate/chitosan /lovastatin (ACL) được chế tạo có sử dụng chất tương hợp như polyethylene oxide (PEO) và polycaprolactone (PCL) ở các hàm lượng khác nhau (3-10%) (Loc et al., 2018). Các ảnh hưởng của chất tương hợp và hàm lượng của chúng đến việc giải phóng LOV từ màng ACL đã được nghiên cứu. Kết quả cho thấy việc giải phóng LOV có thể được kiểm soát bằng cách bổ sung các chất tương hợp và hàm lượng LOV được giải phóng từ ACL có chứa PEO là cao hơn so với màng ACL

có PCL.

Hạt Lovastatin Nanosponges được bào chế bằng phương pháp bay hơi dung môi nhũ tương sử dụng Eudragit RS 100 và ethyl cellulose và polyvinyl alcohol (PVA) làm chất ổn định và cuối cùng được bao bọc trong viên nang gelatin cứng. Độ hòa tan của tất cả các chế phẩm được cải thiện (từ không tan đến ít tan) so với thuốc LOV tinh khiết. Tất cả các chế phẩm, LOV giải phóng từ chế phẩm với tỷ lệ cao và thuốc được giải phóng hoàn toàn vào cuối giờ thứ 12 (Ranjitha et al., 2021). Các hạt nano chitosan mang lovastatin được chế tạo bằng phương pháp tạo gel-ion hóa. Kích thước của các hạt nano nằm trong khoảng 100nm - 800nm. Hiệu quả mang lovastatin giảm khi nồng độ chitosan tăng. Nghiên cứu giải phóng thuốc trong ống nghiệm của các mẫu cho thấy hiệu suất giải phóng cao đạt từ $78,88 \pm 0,025\%$ đến $87,42 \pm 0,020\%$ trong 24 giờ. Những kết quả này chỉ ra rằng các hạt nano chitosan/lovastatin có hiệu quả duy trì giải phóng thuốc trong thời gian dài (Shinde & More, 2011).

Phương pháp kéo sợi điện được sử dụng để chế tạo vật liệu sinh học tổng hợp mang LOV. Poly(L-lactic acid) (PLLA), kết hợp với LOV ở mức 5 hoặc 10% khối lượng đã cải thiện sự liên kết của sợi và độ mịn bề mặt, đồng thời tăng đường kính sợi. Hiệu suất mang thuốc cao (dao động từ 72% đến 82%) và quá trình giải phóng thuốc diễn ra theo hai giai đoạn: giải phóng nhanh trong ngày đầu tiên và giai đoạn giải phóng chậm ở ngày thứ hai, đạt đến mức ổn định sau 7 ngày (Zhu et al., 2017).

Tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào đánh giá khả năng giải phóng LOV từ hệ tổ hợp chitosan/gelatin mang LOV. Do đó, ảnh hưởng của tỷ lệ chitosan/gelatin cũng như nồng độ LOV trong hệ tổ hợp CGL đến khả năng giải phóng LOV ra khỏi hệ tổ hợp CGL sẽ được thực hiện ở nghiên cứu này.

3. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

3.1. Nguyên vật liệu

Hóa chất gồm: Gelatin (GEL) nhiệt độ bảo quản 2-8°C, độ hòa tan H₂O 67mg/mL ở 50°C, pH 4,0-6,0, cung cấp bởi Aladdin (Trung Quốc); Chitosan (CS) có độ deacetyl hoá 75-85% và độ nhớt 1220 cP, $M_n = 1,61.10^5$ Da, do hãng Sigma-Aldrich (Hoa Kỳ) sản xuất; Lovastatin (LOV) màu trắng ở dạng bột khô, có độ tinh khiết $\geq 98,0\%$, do

hãng Aldrich (Hoa Kỳ) sản xuất; nước cất 1 lần; các hóa chất khác như ethanol (99,9%), acetic acid (99,5%), hydrochloric acid (37%), sodium hydroxide, potassium dihydrogen phosphate, potassium chloride được cung cấp bởi hãng Xilong - Trung Quốc, các hóa chất được dùng luôn mà không cần tinh chế lại.

Thiết bị và dụng cụ gồm: Máy quang phổ UV1900 (YOKE – Trung Quốc); máy thử độ hòa tan 6 vị trí RC-6 (Guoming – Trung Quốc); Máy đo phổ hồng ngoại biến đổi Fourier Nexus 670 (Hoa Kỳ); Kính hiển vi điện tử quét trường phát xạ (FESEM) FESEM S- 4800 (Hitachi, Nhật Bản); Máy phân tích nhiệt quét vi sai DSC DSC-60 (Nhật Bản); cân phân tích AS ONE 2-8032-13 ASR224/E (ASPRO – Tây Ban Nha); máy khuấy từ gia nhiệt MS-H-S (Dlab – Hoa Kỳ); các dụng cụ thủy tinh như: Cốc có mỏ, đĩa petri, pipet, buret, bình định mức.

3.2. Phương pháp nghiên cứu

3.2.1. Phương pháp quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR)

Phổ FTIR của vật liệu tổ hợp CGL được ghi bằng thiết bị phổ hồng ngoại biến đổi Fourier Nexus 670 (Hoa Kỳ) tại Viện Kỹ thuật nhiệt đới – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Các mẫu được đo phổ ở vùng phổ từ 400 cm^{-1} đến 4000 cm^{-1} với độ phân giải 8 cm^{-1} , với 32 lần quét.

3.2.2. Phương pháp hiển vi điện tử quét trường phát xạ (FESEM)

Hình thái, cấu trúc của vật liệu tổ hợp CGL được quan sát và ghi ảnh FESEM trên thiết bị FESEM S 4800, Hitachi, Nhật Bản) trong môi trường khí trơ tại Viện Vệ sinh dịch tễ Trung Ương. Trước khi tiến hành, mẫu được phủ 1 lớp platin mỏng để không bị tích điện trên bề mặt mẫu.

3.2.3. Phương pháp nhiệt lượng quét vi sai (DSC)

Phổ DSC của vật liệu tổ hợp CGL được xác định trên thiết bị DSC-60 - Shimadzu (Nhật Bản) tại khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên – Đại học Quốc gia Hà Nội với tốc độ gia nhiệt $10^\circ\text{C}/\text{phút}$ trong khí N_2 từ 30°C tới 600°C .

3.2.4. Phương pháp phổ tử ngoại – khả kiến (UV-Vis)

Phổ tử ngoại – khả kiến (Ultraviolet-Visible – UV – Vis) được đo trên thiết bị UV- Vis YOKE UV1900 (YOKE – Trung Quốc) tại khoa Dược Trường đại học Thành Đô. Các dung dịch được đo

khoảng bước sóng $200\text{ nm} - 400\text{ nm}$, bước nhảy $0,2\text{ nm}$.

3.3. Thử nghiệm

3.3.1. Xây dựng phương trình đường chuẩn của lovastatin trong các dung dịch đệm pH 2,0 và pH 7,4

Cân chính xác 19 mg LOV chuẩn hòa tan vừa đủ trong 100 mL dung dịch đệm tương ứng pH 2,0 và pH 7,4. Pha loãng các dung dịch đã pha theo tỷ lệ 4; 6; 8; 10; 12; 14; 16; và 18 lần bằng các dung dịch đệm tương ứng. Quét phổ các dung dịch pha loãng ở bước sóng $200 - 400\text{ nm}$.

Trên phổ của dung dịch chuẩn xác định được bước sóng hấp thụ cực đại λ_{max} của LOV trong các dung dịch đệm có pH 2,0 và pH 7,4.

Vẽ đồ thị xác lập mối liên hệ giữa nồng độ C và bước sóng λ_{max} . Xác định hệ số tương quan R^2 .

3.3.2. Chế tạo vật liệu tổ hợp chitosan/gelatin mang lovastatin (CGL)

3.3.2.1. Chế tạo vật liệu mang lovastatin với tỷ lệ chitosan/gelatin khác nhau

Hòa tan $0,8\text{ gam}$ GEL tan trong 50 mL nước ở 80°C , sau đó để nguội đến nhiệt độ phòng thu được dung dịch X; Hòa tan $0,2\text{ gam}$ CS trong 50 mL dung dịch CH_3COOH 1% thu được dung dịch Y. Nhỏ từ từ dung dịch X vào dung dịch Y và khuấy với nhau trên máy khuấy từ, tốc độ 400 vòng/phút trong 30 phút để thu được dung dịch A (tỷ lệ $\text{CS/GEL} = 2/8$). Hòa tan $0,05\text{ gam}$ LOV (5% của tổng khối lượng GEL và CS) trong 10 mL $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ thu được dung dịch B. Nhỏ từ từ dung dịch B vào dung dịch A (tốc độ 30 giọt/phút) khuấy từ trong vòng 2 giờ (tốc độ 400 vòng/phút). Đổ dung dịch ra đĩa petri và để hơi tự nhiên khoảng 2 ngày thu được màng CS/GEL/LOV , được ký hiệu là CGL285. Tương tự với các tỷ lệ CS/GEL được thay đổi $3/7$, $5/5$, $7/3$, $8/2$ và hàm lượng LOV được giữ cố định 5% tổng khối lượng của GEL và CS. Các màng CS/GEL/LOV khác ký hiệu là CGL với tỷ lệ CS/GEL tương ứng. Hàm lượng và ký hiệu các mẫu được trình bày trong Bảng 1.

3.3.2.2. Chế tạo vật liệu chitosan/gelatin mang lovastatin với hàm lượng khác nhau

Tương tự như chế tạo vật liệu mang lovastatin với tỷ lệ chitosan/gelatin khác nhau, hàm lượng LOV thay đổi với tỷ lệ tương ứng 7%, 10%, 15%, 20% so với tổng khối lượng CS/GEL và tỷ lệ

CS/GEL được giữ cố định 5/5. Hàm lượng và ký hiệu các mẫu được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Thành phần và ký hiệu mẫu màng vật liệu tổ hợp CGL

Mẫu	m _{CS} (g)	m _{GEL} (g)	m _{LOV} (g)
CGL285	0,2	0,8	0,05
CGL375	0,3	0,7	0,05
CGL555	0,5	0,5	0,05
CGL735	0,7	0,3	0,05
CGL825	0,8	0,2	0,05
CGL557	0,5	0,5	0,07
CGL5510	0,5	0,5	0,1
CGL5515	0,5	0,5	0,15
CGL5520	0,5	0,5	0,2

3.4. Nghiên cứu giải phóng thuốc

Hàm lượng thuốc LOV giải phóng từ vật liệu CGL được nghiên cứu trong dung dịch đệm pH 2,0 và pH 7,4 tương ứng với độ pH trong dạ dày và tá tràng trong cơ thể con người.

Cân 0,015 gam CGL đưa vào 200 mL dung dịch đệm tương ứng. Hỗn hợp được khuấy liên tục ở 37°C trong 30 giờ liên tục trên máy thử độ hòa tan với tốc độ khuấy 200 vòng/phút. Sau mỗi 1 giờ khuấy, hút 5 mL dung dịch, đồng thời bổ sung 5 mL dung dịch đệm tương ứng vào hỗn hợp. Dịch hút được đo độ hấp thụ quang ở khoảng bước sóng từ 200 nm đến 400 nm trên thiết bị UV-Vis. Lượng LOV giải phóng được xác định theo phương trình đường chuẩn của LOV trong dung dịch đệm tương

ứng. Tỷ lệ phần trăm LOV giải phóng được xác định bằng phương trình sau:

$$\%LOV = \frac{m_{LOV}}{m_{LOV}^0} \cdot 100\%$$

Trong đó:

m_{LOV}: khối lượng LOV giải phóng tại thời điểm t.

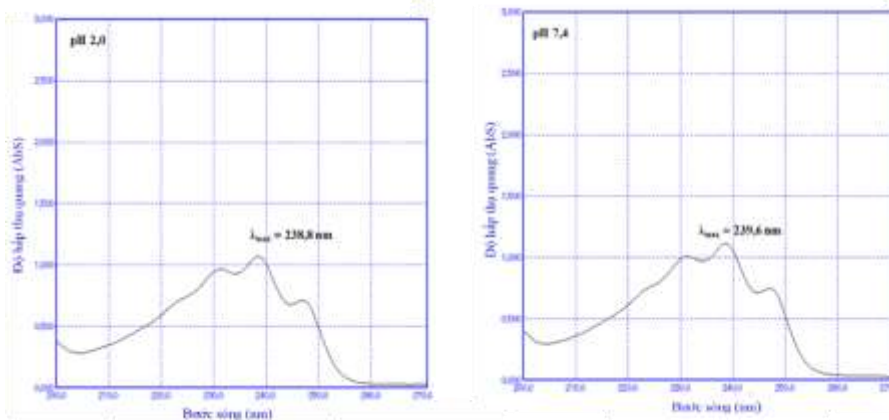
m_{LOV}⁰: khối lượng LOV ban đầu có trong mẫu CGL.

4. Kết quả nghiên cứu

4.1. Phương trình đường chuẩn lovastatin trong các dung dịch đệm pH 2,0 và pH 7,4

Từ phổ UV-Vis của dung dịch LOV (trong dung dịch đệm pH 2,0 và dung dịch đệm pH 7,4) xác định được bước sóng hấp thụ cực đại của LOV trong các dung dịch đệm tương ứng là pH 2,0 có λ_{max} = 238,8 nm và pH 7,4 có λ_{max} = 239,6 nm (Hình 2) (Pushpalatha, D et al., 2021). Từ kết quả quét phổ UV-Vis của các dung dịch pha loãng, dùng phần mềm Excel xử lý số liệu thu được (độ hấp thụ quang tương ứng các nồng độ pha loãng) và dựng được phương trình đường chuẩn của LOV trong dung dịch đệm pH 2,0 là: Abs = 1325,7C_{LOV} + 0,0599 (R² = 0,9916) và dung dịch pH 7,4 là: Abs = 21956C_{LOV} + 0,0412 (R² = 0,9951). Cả hai phương trình đường chuẩn đều có hệ số hồi quy R² ≈ 1, do vậy được dùng để xác định nồng độ LOV giải phóng từ các hệ tổ hợp trong môi trường pH tương ứng.

Hình 2. Phổ UV-Vis của LOV trong dung dịch đệm pH 2,0 và pH 7,4



4.2. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR)

FTIR của CS, GEL, LOV và các mẫu tổ hợp CGL được thể hiện trên Hình 2. Các số sóng đặc trưng cho một số nhóm chức trong những phổ IR này được liệt kê trong Bảng 2. Trên phổ có thể quan sát thấy, FTIR của GEL với dao động nhóm amide A, amide B, amide bậc I, amide bậc II và

amide bậc II có tín hiệu lần lượt là 3281 cm⁻¹, 3067 cm⁻¹, 1631 cm⁻¹, 1538 cm⁻¹ và 1238 cm⁻¹. Mặt khác, dao động biến dạng và dao động kéo dãn của CH cũng được xác định ở 2935 cm⁻¹, 1449 cm⁻¹ và 1334 cm⁻¹ (Chinh et al., 2019).

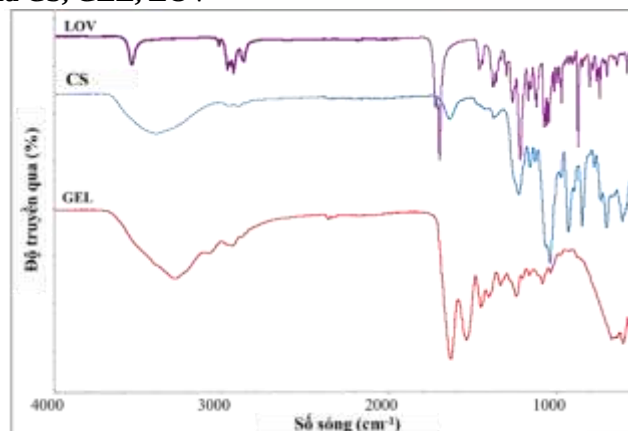
Trên phổ FTIR của CS được thể hiện trên xuất hiện peak ở 3362 cm⁻¹ được quy kết cho dao động

kéo dẫn của nhóm -NH_2 và -OH . Peak ở 1641 cm^{-1} và 1581 cm^{-1} được cho dao động nhóm -CONH_2 và -NH_2 tương ứng. Các peak ở 2811 cm^{-1} và 2865 cm^{-1} là tín hiệu của dao động kéo dài của liên kết C-H . Dao động kéo dẫn của nhóm C=O và C-O-C lần lượt cho tín hiệu hấp thụ ở 1722 cm^{-1} và 1067 cm^{-1} (Drabczyk et al., 2020).

Với phổ của LOV peak đặc trưng cho dao động

hóa trị của nhóm -OH xuất hiện ở 3537 cm^{-1} . Tín hiệu đặc trưng cho dao động hóa trị của các nhóm CH no xuất hiện ở vân phổ 2964 cm^{-1} ; 2928 cm^{-1} và 2865 cm^{-1} . Peak đặc trưng cho dao động của liên kết C=C , nhóm C=O , dao động đối xứng của nhóm C-O-C lần lượt là 1696 cm^{-1} và 1722 cm^{-1} và 1066 cm^{-1} (Abdel Hakiem et al., 2021).

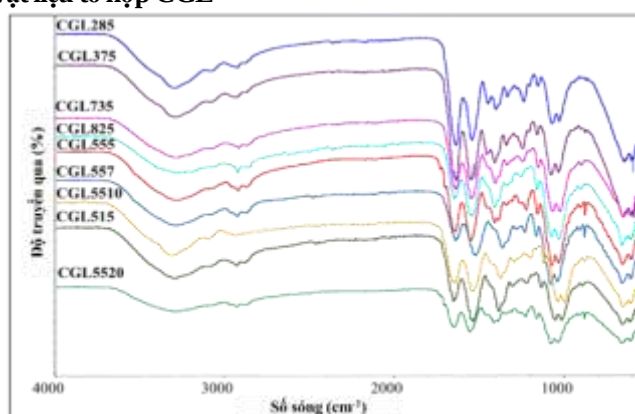
Hình 3. Phổ FTIR của CS, GEL, LOV



LOV: lovastatin; CS: chitosan; GEL: gelatin

Phổ FTIR của tổ hợp vật liệu CGL chứa LOV (Hình 4) quan sát thấy các tín hiệu phổ ứng với các nhóm đặc trưng trong CS, GEL và LOV đều xuất hiện trong phổ FTIR của các hệ vật liệu tổ hợp CGL. Tín hiệu đặc trưng của các nhóm chức được thống kê trong Bảng 2.

Hình 4. Phổ FTIR của vật liệu tổ hợp CGL



Ký hiệu mẫu theo Bảng 1

Bảng 2. Số sóng đặc trưng của các nhóm chức của GEL, CS, LOV và tổ hợp CGL

	$\nu_{\text{OH,NH}_2}$	$\nu_{\text{CH,no}}$	$\nu_{\text{C=O}}$	δ_{OH}	$\delta_{\text{C-O}}$	$\nu_{\text{C-O-C}}$
CS	3362	2866	1641	1582	1067	1028
GEL	3281	2935	1631	1538	-	-
LOV	3537	2865	1722	-	-	1066
CGL285	3293	2867	1631	1544	1073	1030
CGL375	3292	2868	1633	1548	1074	1029
CGL555	3290	2874	1639	1543	1071	1028
CGL735	3284	2874	1633	1548	1067	1026
CGL825	3282	2843	1644	1538	1066	1022

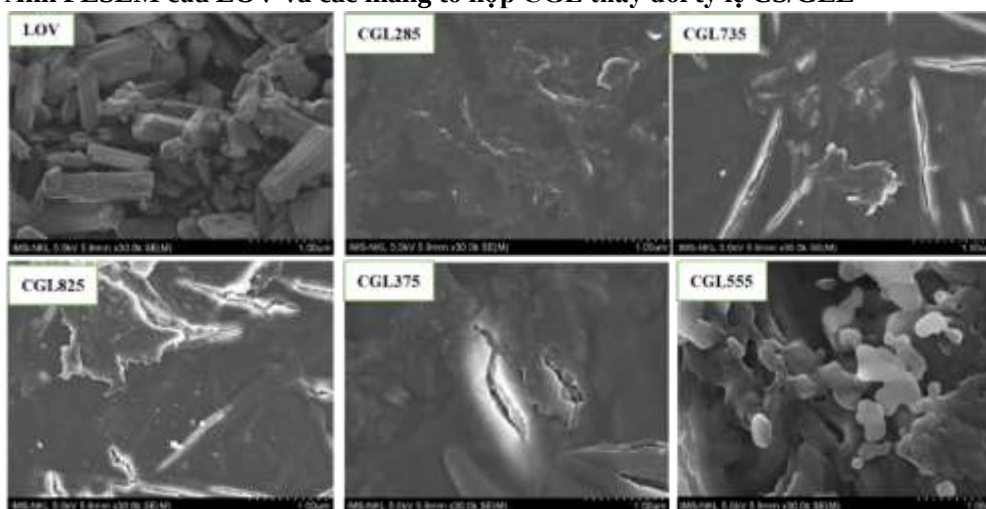
	$\nu_{\text{OH,NH}_2}$	$\nu_{\text{CH, no}}$	$\nu_{\text{C=O}}$	δ_{OH}	$\delta_{\text{C-O}}$	$\nu_{\text{C-O-C}}$
CGL557	3293	2870	1637	1540	1070	1025
CGL5510	3288	2876	1635	1532	1072	1027
CGL5515	3291	2860	1642	1539	1068	1023
CGL5520	3286	2872	1639	1545	1072	1021

4.3. Hình thái cấu trúc của tổ hợp CGL

Trên ảnh FESEM (Hình 5) thấy rõ LOV có dạng tinh thể, hình que với độ dài khoảng 5 – 10 μm . Với các vật liệu CGL, các hạt LOV đã được hòa tan trong $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ sau đó phân tán vào trong nền polymer làm giảm kích thước của hạt LOV. Với các màng CGL555 có kích thước hạt nhỏ nhất (khoảng 100 nm) và phân tán đồng đều nhất, các

màng tổ hợp khác thấy có hiện tượng kết tụ lại với nhau và hình thái dạng hạt chuyển về dạng thanh như ban đầu do tương tác giữa polymer-polymer và thuốc-thuốc. Cấu trúc không gian được tạo nên nhờ liên kết hydro, các hạt LOV phân tán đều vào cấu trúc không gian này và cũng hình thành liên kết hydro với các polymer nên nên có thể phân tán vào hệ polymer nền.

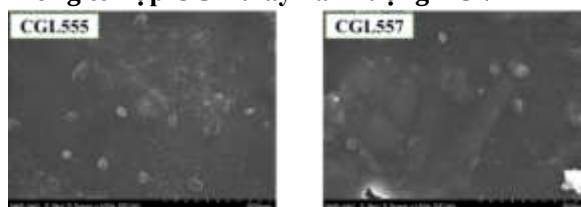
Hình 5. Ảnh FESEM của LOV và các màng tổ hợp CGL thay đổi tỷ lệ CS/GEL



Khi tăng hàm lượng LOV nên các mẫu đều xuất hiện sự kết tụ của các hạt LOV dẫn đến sự phân bố không đồng đều các hạt LOV trong nền và làm tăng kích thước hạt (Hình 6). Điều này có thể được giải thích như sau: ở nồng độ LOV nhỏ, tương tác giữa thuốc và polymer mạnh hơn tương tác giữa thuốc và thuốc. Do đó, polymer có thể hấp thụ một lượng lớn thuốc và thuốc có thể phân bố

đều đặn trong các màng CGL, dẫn đến các hạt LOV có kích thước nhỏ hơn. Ngược lại, khi sử dụng nồng độ LOV cao, tương tác thuốc-thuốc chiếm ưu thế và mạnh hơn tương tác thuốc-polymer. Do đó, LOV có thể kết tụ trong cấu trúc của màng CGL và không thể được hấp thụ hoàn toàn vào các polymer, khiến kích thước hạt LOV lớn hơn (Hoang et al., 2020).

Hình 6. Ảnh FESEM của màng tổ hợp CGL thay hàm lượng LOV



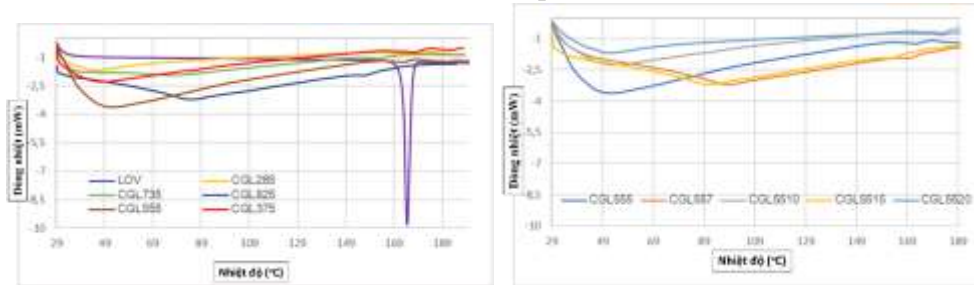


4.4. Tính chất nhiệt của màng tổ hợp CGL

Từ giản đồ nhiệt DSC của LOV thấy chỉ xuất hiện duy nhất một peak nhiệt tại 174,6°C ứng với nhiệt nóng chảy của LOV, kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đó (Verma et al., 2020;

Górniak et al., 2016). Trong khi, giản đồ DSC của các mẫu vật liệu CGL xuất hiện hai đỉnh nhiệt, ứng với sự khử nước của các nhóm ura nước trong CS, GEL và sự nóng chảy của LOV.

Hình 7. Giản đồ DSC của LOV và vật liệu tổ hợp CGL



Từ Hình 7 ta thấy, khi đưa LOV vào tổ hợp CS/GEL, điểm nóng chảy của LOV giảm và thấp hơn so với LOV tinh khiết. Sự giảm nhiệt độ nóng chảy của LOV trong mẫu CGL do các hạt LOV tương tác và phân tán tốt với các polymer. Khi giảm tỷ lệ CS/GEL, nhiệt độ khử nước của tổ hợp tăng. Điều này có thể giải thích do hàm lượng CS

giảm làm giảm số lượng nhóm ura nước trong CS, từ đó làm nhiệt độ khử nước của CGL tăng lên (Thang et al., 2020). Khi tăng hàm lượng LOV đều làm peak nhiệt khử nước của mẫu vật liệu tăng lên so với mẫu có cùng tỷ lệ CS/GEL. Nhiệt độ nóng chảy của LOV và các màng CGL được thống kê trong Bảng 3.

Bảng 3. Nhiệt độ nóng chảy của LOV và các màng CGL

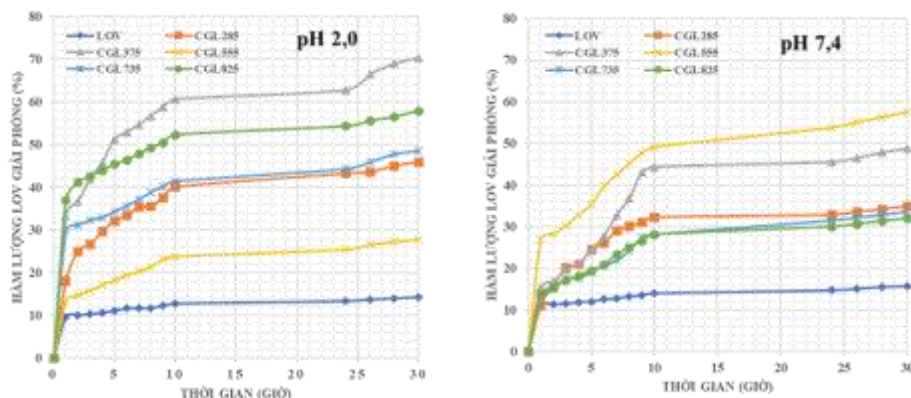
Mẫu	Peak nhiệt 1 (°C)	Peak nhiệt 2 (°C)
LOV	-	174,6
CGL285	51,8	172,9
CGL375	55,7	171,7
CGL555	51,6	172,6
CGL735	52,9	172,0
CGL825	86,9	171,7
CGL557	55,8	172,7
CGL5510	57,3	172,9
CGL5515	90,7	173,0
CGL5520	55,5	173,1

4.5. Độ thị giải phóng của LOV từ CGL trong dung dịch đệm pH 2,0 và pH 7,4

Hình 8 mô tả sự giải phóng thuốc LOV từ CGL và mẫu LOV tinh khiết trong dung dịch đệm pH 2,0 và pH 7,4. Với LOV tinh khiết đều giải phóng chậm trong dung dịch đệm pH 2,0 và pH 7,4 điều này được giải thích do độ tan của LOV tan kém trong dung môi nước (Umakant Verma, J. B. Naik,

2014). Độ pH của dung dịch và tỷ lệ CS/GEL có tác động đáng kể đến sự giải phóng LOV khỏi vật liệu tổ hợp. Ở dung dịch pH 2,0 LOV có xu hướng giải phóng nhanh hơn. Tỷ lệ CS và GEL thay đổi, ảnh hưởng đến việc giải phóng LOV một cách bất thường. Điều này có thể được giải thích bằng sự khác biệt trong tương tác giữa các phân tử thuốc và phân tử polymer.

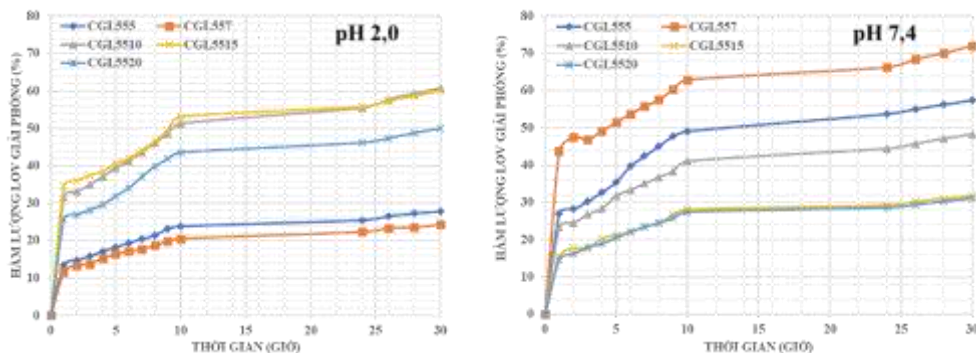
Hình 8. Đồ thị giải phóng LOV từ mẫu tổ hợp CGL (tỷ lệ CS/GEL thay đổi), LOV trong dung dịch đệm pH 2,0 và pH 7,4



Hình 9 mô tả sự giải phóng LOV từ các tổ hợp CGL với nồng độ LOV thay đổi. Khi hàm lượng LOV thay đổi cũng ảnh hưởng đến khả năng giải phóng LOV ra khỏi tổ hợp CGL. Khi tăng hàm lượng LOV khả năng giải phóng LOV ra khỏi hệ tổ hợp trong pH 7, 4 cao hơn trong pH 2,0. Điều này có thể do khi tăng hàm lượng các hạt LOV có xu hướng kết tụ lại với nhau làm giảm tương tác

giữa LOV với các polymer và tăng tương tác giữa các polymer giúp tăng độ bền giữa các polymer. Trong pH 7,4 chủ yếu do sự trương nở của các polymer giúp giải phóng LOV cục bộ do vậy hàm lượng giải phóng LOV trong dung dịch đệm pH 7,4 tăng lên. Từ kết quả giải phóng cho thấy hàm lượng 7% LOV là phù hợp để phát triển nghiên cứu tiếp theo.

Hình 9. Đồ thị giải phóng LOV từ mẫu tổ hợp CGL (thay đổi hàm lượng LOV) trong dung dịch đệm pH 2,0 và pH 7,4



5. Bàn luận

Từ các kết quả cho thấy, số sóng của dao động kéo dài và dao động biến dạng của amide trong GEL thấp hơn so với dao động N-H tự do. Điều này đã chứng minh các nhóm amide tham gia vào liên kết hydro trong mỗi phân tử GEL giúp giữ ổn định cấu trúc GEL (Zhang et al., 2011). Trong hệ tổ hợp, xuất hiện các tín hiệu đặc trưng của thành phần trong hệ tổ hợp nhưng có sự dịch chuyển nhỏ so với ban đầu. Những thay đổi này do sự hình thành các tương tác vật lý trong tổ hợp như liên kết hydro, tương tác tĩnh điện giữa nhóm NH_3^+ của CS và nhóm COO^- của GEL. Những peak này thay đổi không đáng kể khi tỷ lệ polymer cũng như hàm lượng LOV thay đổi, cho thấy các polymer tương tác tốt với nhau và với LOV. Đồng

thời những tương tác này không làm thay đổi cấu trúc của LOV từ đó giúp giữ nguyên tính chất hóa học cũng như các tác dụng dược lý của LOV.

Hệ polymer tương tác với nhau tạo bộ khung, do vậy khi phân tán các hạt LOV vào hệ polymer, các hạt LOV chui vào cấu trúc của hệ polymer này. Điều này có thể là do sự hình thành các liên kết hydro và tương tác điện giữa các nhóm hydroxyl, amin và carbonyl của GEL và CS với các nhóm hydroxyl và carbonyl của LOV (Thuan et al., 2020) giúp các hạt LOV tương tác tốt với hệ polymer nền và phân tán tốt hơn trong màng dẫn tới các hạt LOV chuyển sang dạng hình cầu kích thước khoảng 50 – 200 nm. Ở tỷ lệ thấp số lượng tương tác lưỡng cực ít hơn, do đó khả năng tạo liên kết hydro giữa polymer nền với LOV tốt hơn, từ

đó khả năng phân tán vào nền cũng tốt hơn; Khi tỷ lệ CS tăng lên dẫn đến số lượng tương tác lưỡng cực tăng lên khi đó làm giảm số lượng liên kết hydro giữa polymer nền và LOV từ đó làm giảm sự phân tán LOV vào polime nền dẫn đến là có sự kết tụ của các hạt LOV (Hung et al., 2022).

Kết quả DSC cho thấy khi đưa LOV vào hệ tổ hợp đều làm giảm nhiệt độ nóng chảy của LOV, do LOV tinh khiết có độ kết tinh cao, khi đưa vào tổ hợp sẽ giảm độ kết tinh từ đó làm giảm nhiệt độ nóng chảy so với LOV ban đầu.

Việc giảm kích thước hạt LOV dẫn đến sự cải thiện độ tan của LOV trong các môi trường đệm pH khác nhau. Ở pH 2,0 LOV có xu hướng giải phóng nhanh, điều này có thể là do ở pH 2,0 proton H^+ tấn công các phân tử CS và GEL làm lỏng lẻo cấu trúc của tổ hợp từ đó làm LOV dễ hòa tan hơn (Thang et al., 2020). Mẫu CGL555 có thể được chọn là phù hợp vì, LOV giải phóng tốt hơn trong dung dịch đệm pH 7,4 và chậm hơn trong dung

dịch đệm pH 2,0. Do đó, LOV được bảo vệ trong môi trường dạ dày và được giải phóng tốt ruột, nơi LOV được hấp thu tốt hơn qua thành tế bào (Hung et al., 2022).

6. Kết luận

Nghiên cứu chế tạo thành công hệ tổ hợp CS/GEL mang LOV bằng phương pháp dung dịch. Hạt LOV phân tán đồng đều trong tổ hợp. Kích thước hạt giảm đáng kể và hạt chuyển từ dạng thanh sang dạng hình cầu có đường kính 50 – 200 nm. Nhiệt độ nóng chảy của LOV đều giảm từ 1 – 3°C khi được đưa vào hệ tổ hợp CS/GEL. Kết quả giải phóng LOV cho thấy khi đưa LOV vào tổ hợp CS/GEL đều cải thiện độ hòa tan trong dung dịch đệm pH 2,0 và pH 7,4 so với dạng tinh khiết từ (tăng từ 1,94 – 4,91 lần). Hệ có tỷ lệ khối lượng giữa CS/GEL = 5/5 và hàm lượng LOV chiếm 7% tổng khối lượng polymer là mô hình phù hợp của hệ tổ hợp CS/GEL mang LOV.

Tài liệu tham khảo

- Abdel Hakiem, A. F., Mohamed, N. A., & Ali, H. R. H. (2021). FTIR spectroscopic study of two isostructural statins: Simvastatin and Lovastatin as authentic and in pharmaceuticals. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 261, 120045. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.120045>.
- Chinh, N. T., Manh, V. Q., Trung, V. Q., Lam, T. D., Huynh, M. D., Tung, N. Q., Trinh, N. D., & Hoang, T. (2019). Characterization of Collagen Derived From Tropical Freshwater Carp Fish Scale Wastes and Its Amino Acid Sequence. *Natural Product Communications*, 14(7), 1934578X1986628. <https://doi.org/10.1177/1934578X19866288>.
- Coenen, A. M. J., Bernaerts, K. V., Harings, J. A. W., Jockenhoevel, S. & Ghazanfari, S. (2018). Elastic materials for tissue engineering applications: Natural, synthetic, and hybrid polymers. *Acta Biomaterialia*, 79, 60–82. <https://doi.org/10.1016/J.ACTBIO.2018.08.027>.
- Drabczyk, A., Kudłacik-Kramarczyk, S., Głąb, M., Kędzierska, M., Jaromin, A., Mierzwiński, D. & Tyliszczak, B. (2020). Physicochemical Investigations of Chitosan-Based Hydrogels Containing Aloe Vera Designed for Biomedical Use. *Materials*, 13(14), 3073. <https://doi.org/10.3390/ma13143073>.
- Górnaiak, A., Gajda, M., Pluta, J., Czapór-Irزابek, H. & Karolewicz, B. (2016). Thermal, spectroscopic and dissolution studies of lovastatin solid dispersions with acetylsalicylic acid. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 125(2), 777–784. <https://doi.org/10.1007/s10973-016-5279-z>.
- Hoang, T., Thuy, N. C., Loc, T. T., Mai, T. T., Huynh, M. D., Trang, N. T. T., Giang, L. D., Mao, C. V., Lam, T. D., Giang, B. L., Ramadass, K., Sathish, C. I. & Quan, L. V. (2020). Characterization of chitosan/alginate/lovastatin nanoparticles and investigation of their toxic effects in vitro and in vivo. *Scientific Reports*, 10(1), 909. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57666-8>.
- Hung, H. M., Manh, V. Q., Thao, V. T. T., Thuy, D. T. P., Dung, P. T., Viet, N. T. B., Linh, D. K., Linh, N. N., Oanh, D. T. Y., Chinh, N. T., Trung, V. Q., & Hoang, T. (2022). Evaluation of the effect of the chitosan/carrageenan ratio on lovastatin release from chitosan/carrageenan based biomaterials. *Vietnam Journal of Chemistry*, 60, 72–78.

- <https://doi.org/10.1002/vjch.202200078>.
- Langert, K. A., Goshu, B., & Stubbs, E. B. (2017). Attenuation of experimental autoimmune neuritis with locally administered lovastatin-encapsulating poly(lactic-co-glycolic) acid nanoparticles. *Journal of Neurochemistry*, 140(2), 334–346. <https://doi.org/10.1111/jnc.13892>.
- Loc, T. T., Hoang, T., Chinh, N. T. & Giang, L. D. (2018). The effects of the compatibilizers on the lovastatin release from the alginat/chitosan/lovastatin composite. *Vietnam Journal of Chemistry*, 56(3), 389–295.
- Minisy, I. M., Salahuddin, N. A., & Ayad, M. M. (2021). In vitro release study of ketoprofen-loaded chitosan/polyaniline nanofibers. *Polymer Bulletin*, 78(10), 5609–5622. <https://doi.org/10.1007/s00289-020-03385-z>.
- Pushpalatha, D., Abdul, K. W., Manjunath, K. & Brunda, S. (2021). Formulation and evaluation of lovastatin loaded nanosponges. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 11(3), 041–056. <https://doi.org/10.30574/wjarr.2021.11.3.0404>.
- Ranjitha, R., Elango, K., Devi Damayanthi, R. & Sahul Hameed Niyaz, U. (2021). Formulation and Evaluation of Lovastatin Loaded Nanosponges for the treatment of Hyperlipidemia. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 5653–5660. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2021.00983>.
- Shinde, A. J., & More, H. N. (2011). Lovastatin Loaded Chitosan Nanoparticles: Preparation, Evaluation and In vitro Release Studies. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 4(12), 1869–1876.
- Suhair Al-NimryMai, K. K. (2015). Preparation and characterization of lovastatin polymeric microparticles by coacervation-phase separation method for dissolution enhancement. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(14), 43277.
- Thang, D. X., Chinh, N. T., Giang, B. L., Dung, H. T., Sathish, C. I., Vinu, A. & Hoang, T. (2020). Characterization and Drug Release Control Ability of Chitosan/Lovastatin Particles Coated by Alginate. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 20(12), 7347–7355. <https://doi.org/10.1166/jnn.2020.18889>.
- Thao, V. T. T., Nhung, N. T. H., Manh, V. Q., Linh, N. N., Viet, N. T. B. & Trung, V. Q. (2023). Synthesis and characterization of chitosan/carrageenan/polyaniline-based biocomposite as lovastatin carrier and its drug release ability in buffer solutions. *HNUE Journal Of Science*, 68(3), 64–74.
- Thuan, N. D., Chinh, N. T., Thanh, D. M., Huyen, N. T. , Lam, T. D., Dung T. H., Quan, L. V., Trung, V. Q., Trinh, N. D. & Thai, H. (2020). Influence of the Preparation Method on Some Characteristics of Alginate/Chitosan/Lovastatin Composites. *Advances in Polymer Technology*, 2020, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2020/7879368>.
- Umakant Verma, J. B. & Naik, V. J. M. (2014). Preparation of Freeze-dried Solid Dispersion Powderusing Mannitol to Enhance Solubility of Lovastatin and Development of Sustained Release Tablet Dosage Form. *American Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*, 1(1), 11–26.
- Verma, R., Nagpal, M., Singh, T. G., Singh, M. & Aggarwal, G. (2020). Improved Efficacy of Lovastatin from Soluplus-PEG Hybrid Polymer- Based Binary Dispersions. *Current Bioactive Compounds*, 16(8), 1164–1171. <https://doi.org/10.2174/1573407216666191218142852>.
- Zhang, F., Wang, A., Li, Z., He, S. & Shao, L. (2011). Preparation and Characterisation of Collagen from Freshwater Fish Scales. *Food and Nutrition Sciences*, 02(08), 818–823. <https://doi.org/10.4236/fns.2011.28112>.
- Zhu, Y., Pyda, M., & Cebe, P. (2017). Electrospun fibers of poly (L-lactic acid) containing lovastatin with potential applications in drug delivery. *Journal of Applied Polymer Science*, 134(36). <https://doi.org/10.1002/app.45287>.
- Zolkiflee, N. F., Meor Mohd Affandi, M. M. R. & Majeed, A. B. A. (2017). Lovastatin: History, physicochemistry, pharmacokinetics and enhanced solubility. In *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 8(1), 90-102.

NGHIÊN CỨU INVITRO TÍNH CHẤT VÀ QUÁ TRÌNH GIẢI PHÓNG LOVASTATIN TỪ HỆ TỔ HỢP CHITOSAN/GELATIN MANG LOVASTATIN

Vũ Quốc Mạnh¹ Phạm Thị Thùy Ngân² Hà Ngọc Thảo Nhi³
Vũ Thị Thu Hương⁴ Lê Thị Ngọc Mai⁵ Phạm Diệu Thương⁶ Vũ Kim Chi⁷

^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7}Trường Đại học Thành Đô

Email: ¹vqmanh@thanhdouni.edu.vn; ²phttnngan@thanhdouni.edu.vn; ³hnhi201104@gmail.com;

⁴vuthi.huong042004@gmail.com; ⁵ngocmaile1708@gmail.com; ⁶phamthuong13022004@gmail.com;

⁷chivu7140@gmail.com

Ngày nhận bài: 24/9/2024; Ngày phản biện: 28/10/2024; Ngày tác giả sửa: 4/11/2024;

Ngày duyệt đăng: 6/12/2024

DOI: <https://doi.org/10.58902/tcnckhpt.v3i4.174>

Tóm tắt: Lovastatin (LOV) là một trong những thuốc hàng đầu được lựa chọn trong điều trị mỡ máu. Tuy nhiên, LOV có độ tan kém và thời gian bán hủy ngắn. Vật liệu tổ hợp chitosan/gelatin mang lovastatin (CGL) thường được chế tạo bằng phương pháp dung dịch, các tính chất của vật liệu tổ hợp được đánh giá bằng các phương pháp hiện đại: Phương pháp quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR); Phương pháp nhiệt lượng quét vi sai (DSC); Phương pháp hiển vi điện tử quét trường phát xạ (FESEM). Hàm lượng LOV giải phóng từ hệ tổ hợp CGL trong dung dịch đệm pH 2,0 và pH 7,4 có thể được xác định dựa trên độ hấp thụ quang học của dung dịch chứa thuốc bằng phổ tử ngoại - khả kiến (UV-Vis) và các phương trình đường chuẩn của LOV. Nghiên cứu tập trung chế tạo hệ tổ hợp chitosan/gelatin mang LOV với mục đích làm giảm kích thước hạt LOV, đánh giá khả năng kiểm soát và giải phóng LOV ra khỏi hệ tổ hợp chitosan/gelatin. Kết quả phân tích cho thấy các thành phần trong hệ tương tác với nhau bằng tương tác vật lý (liên kết hydro, tương tác lưỡng cực) do vậy, không làm thay đổi cấu tạo hóa học của LOV. Cấu trúc vật lý của LOV chuyển từ dạng tinh thể hình thanh sang dạng hình cầu. LOV giải phóng khỏi hệ tổ hợp CGL trong dung dịch đệm pH 2,0 và pH 7,4 cao hơn so với LOV không được mang bởi tổ hợp chitosan/gelatin.

Từ khóa: Quá trình giải phóng lovastatin; Tổ hợp chitosan/gelatin; Nghiên cứu invitro tính chất.