

Tối ưu hóa thành phần chất nhũ hóa trong điều chế giá mang lipid cấu trúc nano tải miconazol nitrat

Đỗ Thị Thu Hà, Phạm Đình Duy*

Bộ môn Bảo chế, Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 6/9/2017; ngày chuyển phân biện 11/9/2017; ngày nhận phân biện 16/10/2017; ngày chấp nhận đăng 20/10/2017

Tóm tắt:

Mục tiêu của nghiên cứu là tối ưu hóa tỷ lệ của 4 chất nhũ hóa lecithin, Tween 80, Lutrol F127 và natri deoxycholat trong công thức giá mang lipid cấu trúc nano (NLC) tải miconazol nitrat. NLC tải miconazol nitrat được điều chế bằng phương pháp vi nhũ hóa. Các tính chất của NLC được xác định gồm: Kích thước tiểu phân trung bình, độ rộng dây phân bố kích thước tiểu phân, hệ số ổn định và hiệu suất mang dược chất. Quá trình thiết kế thực nghiệm và tối ưu hóa công thức được thực hiện bằng phần mềm Design Expert 7.1.5 theo mô hình D-optimal. Kết quả cho thấy, tỷ lệ tối ưu của chất nhũ hóa là 10% lecithin, 79,97% Tween 80, 1,37% Lutrol F127 và 8,66% natri deoxycholat cho hệ phân tán NLC có kích thước tiểu phân trung bình là 42,69 nm, dây phân bố kích thước tiểu phân là 1,2, hệ số ổn định là 0,03 và khả năng mang dược chất là 78,17%.

Từ khóa: Chất nhũ hóa, giá mang nanolipid, miconazol nitrat, tối ưu hóa.

Chỉ số phân loại: 3.4

Đặt vấn đề

Miconazol nitrat (MN) là thuốc kháng nấm phổ rộng được sử dụng rộng rãi trong phòng ngừa và điều trị bệnh nhiễm *Candida* da, nấm âm đạo [1], nhưng với các dạng bào chế thông thường, tác dụng kháng nấm bị giới hạn do MN ít tan trong nước [2]. Vì vậy, việc ứng dụng giá mang lipid cấu trúc nano (NLC) để tải hoạt chất miconazol phối hợp trong chế phẩm dùng ngoài vừa cải thiện độ tan vừa cải thiện tính thấm của dược chất.

Gần đây, tác giả Lê Khắc Tuấn và cộng sự [3] đã nghiên cứu bào chế NLC tải hoạt chất MN bằng phương pháp vi nhũ hóa. Nghiên cứu này đã xác định được thành phần và tỷ lệ các chất trong công thức bào chế vi nhũ tương như sau: Pha dầu (gồm 70% Compritol 888 ATO và 30% Capryol 90) phối hợp với hỗn hợp chất diện hoạt - đồng diện hoạt (Tween 80:propylene glycol = 3:1) theo tỷ lệ 2:8 và pha nước chiếm 50% khối lượng vi nhũ tương chưa pha loãng. Nghiên cứu sử dụng kỹ thuật bào chế NLC bằng phương pháp vi nhũ

hóa gồm 2 giai đoạn: (1) tạo nhũ tương nano, (2) phân tán nano lỏng vào một lượng lớn nước lạnh (2-8°C), pha lipid sẽ đông rắn và phân tán thành tiểu phân nano mịn. Quá trình đông rắn pha lipid sẽ đi kèm với sự kết tinh, làm diện tích bề mặt tiểu phân tăng đáng kể, đây là một trong những nguyên nhân làm hệ phân tán NLC kém ổn định, dải phân bố kích thước tiểu phân rộng. Do đó, việc phối hợp các chất diện hoạt là cần thiết trong quá trình điều chế và bảo quản NLC [4]. Bốn chất diện hoạt được dùng để khảo sát trong nghiên cứu là lecithin, Tween 80, Lutrol F127 và natri deoxycholat (SDC) với mục tiêu là tối ưu hóa tỷ lệ của 4 thành phần này để giảm kích thước tiểu phân trung bình, thu hẹp dải phân bố kích thước tiểu phân, đồng thời làm tăng độ ổn định vật lý của hệ phân tán NLC.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu

Hoạt chất MN đạt tiêu chuẩn BP 2013, xuất xứ Ấn Độ. Compritol 888

ATO, capryol 90 đạt tiêu chuẩn USP-33, xuất xứ Pháp, và glyceryl mono stearate (GMS) đạt tiêu chuẩn BP 2007, xuất xứ Trung Quốc, được sử dụng làm pha lipid của NLC. Bốn chất diện hoạt được khảo sát là lecithin đạt tiêu chuẩn USP-26, xuất xứ Mỹ; Lutrol F127 đạt tiêu chuẩn USP-26, xuất xứ Mỹ, natri deoxycholat (SDC) đạt tiêu chuẩn BP 2007, xuất xứ Ấn Độ; Tween 80 đạt tiêu chuẩn USP-33, xuất xứ Pháp. Propylene glycol (PG) đạt tiêu chuẩn BP 2007, xuất xứ Trung Quốc, được sử dụng làm chất đồng diện hoạt. Tetrahydrofuran (THF) đạt tiêu chuẩn phân tích, xuất xứ Trung Quốc, được dùng làm dung môi trung gian hòa tan. Nước sử dụng là nước cất 1 lần.

Phương pháp nghiên cứu

Điều chế giá mang NLC tải miconazol:

Điều chế hỗn hợp lipid (mỗi lần điều chế tương ứng với 100 g hỗn hợp lipid):

- Thành phần hỗn hợp lipid bao gồm: 63% Compritol 888 ATO, 7%

*Tác giả liên hệ: Email: duyphamding1981@gmail.com

Optimization of surfactant concentration of miconazole nitrate loaded nanostructured lipid carrier

Thi Thu Ha Do, Dinh Duy Pham*

Pharmaceutics Department, Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 6 September 2017; accepted 20 October 2017

Abstract:

The objective of this research is to optimize the concentration of four emulsifiers, including lecithin, Tween 80, Lutrol F127, and sodium deoxycholate. The microemulsion method was employed to produce nanostructure lipid carrier (NLC) loading miconazole nitrate. The physicochemical properties of the NLC, such as particle size, span, stability factor (K_E), and entrapment efficiency were investigated. The Design Expert 7.1.5 software with the D-optimal model was used to design the experiments and optimize the formulation. The results showed that the optimized concentration of four surfactants was 10% lecithin: 79.97% Tween 80: 1.37% Lutrol F127: 8.66% sodium deoxycholate. The NLC dispersion had small average particle size (42.69 nm), small span (1.2), stability factor $K_E = 0.028 < 0.15$, and high entrapment efficiency (78.17%). It is concluded that the ratio of four emulsifiers used in the formulation of miconazole nitrate loaded nanostructured lipid carrier was successfully optimized with the D-optimal model.

Keywords: Emulsifier, miconazole nitrate, nanostructured lipid carrier, optimization.

Classification number: 3.4

Capryol 90 và 30% GMS.

- Cách thủy hỗn hợp Compritol 888 ATO và Capryol 90 ở nhiệt độ 80-85°C, dùng máy khuấy trộn đều với tốc độ 300 vòng/phút, trong 60 phút rồi để nguội được hỗn hợp 1. Cân GMS đúng tỷ lệ so với hỗn hợp trên vừa để nguội (hỗn hợp 1:GMS = 70:30). Đun chảy hỗn hợp này, tiếp tục trộn đều với tốc độ 300 vòng/phút trong 60 phút. Để nguội, bảo quản tránh ánh sáng.

Điều chế MN/hỗn hợp lipid thông qua việc sử dụng dung môi THF (mỗi lần điều chế tương ứng với lượng dung môi sử dụng là 100 ml THF):

- Thành phần điều chế gồm: 35 mg

MN, 3,5 g hỗn hợp lipid và 100 ml THF.

- Sử dụng máy cô quay Büchi R-210 ở tốc độ quay 3 để hòa tan MN và hỗn hợp lipid vào THF ở nhiệt độ 55°C trong 15 phút, sau đó loại bỏ THF bằng cách bật hệ thống hút chân không. Cô quay trong 90 phút.

Điều chế NLC bằng phương pháp vi nhũ tương (mỗi lần điều chế tương ứng với 20 g vi nhũ tương):

- Thành phần điều chế gồm: 10% hỗn hợp lipid chứa MN (kl/kl), 30% hỗn hợp chất nhũ hóa (lecithin, Tween 80, Lutrol và SDC) (kl/kl), 6% PG (kl/kl) và 54% nước cất (kl/kl).

- Cân hỗn hợp lipid chứa MN, từng thành phần chất nhũ hóa trong hỗn hợp, PG theo đúng tỷ lệ cần khảo sát. Làm tan chảy hỗn hợp lipid chứa MN, lecithin, Tween 80 và PG trong cốc thủy tinh 2 lớp ổn nhiệt ở 80-85°C trong 30 phút, song song khuấy từ ở tốc độ 3. Cho từ từ dung dịch nước chứa Lutrol và SDC (đã làm nóng ở 80°C) vào hỗn hợp trong cốc ổn định nhiệt, tiếp tục khuấy từ để phân tán đều 2 pha. Sau khi đã cho hết dung dịch nước vào, tiếp tục khuấy từ trong 5 phút. Dùng máy đồng nhất hóa khuấy ở tốc độ 24.000 vòng/phút trong 2 phút. Sau đó, pha loãng theo tỷ lệ 1:10 bằng cách dùng bơm tiêm thủy tinh (đã được làm nóng ở 80-85°C) hút 10 ml vi nhũ tương cho vào 90 ml nước cất (đã được làm lạnh ở 0-2°C), dưới lực khuấy 6.000 vòng/phút trong 1 phút. Bảo quản ở nhiệt độ khoảng 8°C.

Khảo sát các đặc tính của NLC:

Xác định hiệu suất mang dược chất: Hiệu suất mang dược chất của tiểu phân NLC được xác định theo phương pháp thừa trừ. Lượng MN toàn phần (m_p) và lượng MN tự do (bao gồm lượng tan trong pha nước và kết tinh trên bề mặt tiểu phân) (m_d) được xác định bằng phương pháp tạo phức màu với dung dịch xanh bromocresol 0,1 mM trong đệm citrate pH 3,5. Phức hợp MN - bromocresol được chiết bằng chloroform và đo độ hấp thụ ở bước sóng 421 nm [5, 6]. Mẫu để định lượng MN toàn phần chính là hệ phân tán NLC sau điều chế. Trong khi đó, mẫu để định lượng MN tự do là phần dung dịch trong suốt thu được ở phần dưới ống siêu lọc ly tâm Vivaspın® 6 (Sartorius) sau khi ly tâm 4.000 vòng/phút trong 30 phút.

Hút 1 ml mẫu cần định lượng cho vào bình chiết, thêm 5 ml dung dịch đệm amoni acetat pH 3,5, 10 ml dung dịch xanh bromocresol 0,01 M lắc nhẹ rồi chiết bằng 5 ml chloroform. Làm 4 lần như vậy, mỗi lần lắc mạnh trong vòng 2 phút. Gộp dịch chloroform thu được từ 4 lần chiết, đem đo quang ở

bước sóng 421 nm. Kết quả được lấy trung bình của 3 lần lặp lại.

Sau khi lượng miconazole toàn phần và tự do được xác định thì hiệu suất mang được chất của NLC được tính bằng các công thức sau:

Lượng MN bị bắt giữ:

$$m_e = m_{tp} - m_{td}$$

với m_{tp} là lượng MN toàn phần; m_{td} là lượng MN tự do.

Hiệu suất mang được chất (Entrapment Efficiency - EE) của tiểu phân:

$$\%EE = \frac{m_e}{m_{tp}} \times 100\% = \frac{m_{tp} - m_{td}}{m_{tp}} \times 100\%$$

Xác định kích thước và sự phân bố kích thước tiểu phân: Kích thước tiểu phân NLC và phân bố kích thước tiểu phân được xác định bằng máy LB550 (Nhật) theo nguyên tắc tán xạ laser. Dịch NLC được pha loãng với nước cất theo tỷ lệ 1/100 ở nhiệt độ phòng trước khi tiến hành đo. Lượng mẫu cần dùng cho mỗi lần đo khoảng 3 ml. Kích thước tiểu phân trung bình có được dựa trên kết quả 3 lần đo.

Hệ số ổn định: Hệ số này được xác định dựa trên phương pháp của Tang và cộng sự [7]. Sau khi điều chế NLC, hút 10 ml dịch phân tán cho vào ống ly tâm 15 ml, ly tâm 5 chu kỳ. Mỗi chu kỳ mẫu được ly tâm với tốc độ 3.750 vòng/phút trong 1 giờ, sau đó nghỉ 20 phút. Hút lấy phần dịch trong phía trên và đo kích thước tiểu phân. Hệ số ổn định được tính theo công thức: $K_E = \frac{R_0 - R}{R_0} \times 100\%$, với R_0 là kích thước tiểu phân trước khi ly tâm và R là kích thước tiểu phân sau khi ly tâm. Kết quả được lấy trung bình của 3 lần lặp lại.

Khảo sát tương quan hồi quy và tối ưu hóa tỷ lệ các chất nhũ hóa:

Thành phần của hỗn hợp chất nhũ hóa để điều chế NLC gồm lecithin,

Tween 80, Lutrol và SDC. Từng thành phần này được chọn làm những biến số độc lập trong quá trình khảo sát tương quan hồi quy và tối ưu hóa với các tính chất NLC như kích thước tiểu phân trung bình (y_1), độ rộng dãy phân bố kích thước tiểu phân (span) (y_2), hệ số ổn định (y_3), hiệu suất mang được chất (y_4). Các biến độc lập này có những ràng buộc và giới hạn được thể hiện trong bảng 1.

Từ các ràng buộc và giới hạn trên, một ma trận thực nghiệm được thiết lập theo mô hình D-optimal (bảng 2). Dữ liệu thu thập được sau khi thực nghiệm được sử dụng làm dữ liệu phân tích tương quan hồi quy và tối ưu hóa bằng phần mềm Design-Expert v7.1.5 (Stat-Ease, Inc). Kết quả của việc phân tích tương quan hồi quy được thể hiện bằng bảng kết quả ANOVA (ý nghĩa thống kê của phương trình hồi quy) và biểu

Bảng 1. Khoảng giá trị thực nghiệm của các yếu tố.

Thành phần/ hỗn hợp chất nhũ hóa	Đơn vị	Biến số	Giới hạn dưới	Trung tâm	Giới hạn trên
Lecithin	%	x_1	0	5	10
Tween 80	%	x_2	70	85	100
Lutrol F127	%	x_3	0	5	10
SDC	%	x_4	0	5	10

$$x_1 + x_2 + x_3 + x_4 = 100\%$$

Bảng 2. Dữ liệu thực nghiệm theo mô hình D-optimal

TN	Ma trận mô hình D-optimal				Dữ liệu thực nghiệm (n=3)			
	x_1	x_2	x_3	x_4	y_1	y_2	y_3	y_4
1	6,7	76,7	10	6,7	99±19	1,7±0,1	0,01±0,006	47,4±1,6
2	0	83,3	10	6,7	43±2	1,1±0,1	0,01±0,003	67,8±2,5
3	6,7	86,7	6,7	0	161±8	2,2±0,1	0,49±0,025	80,9±3,2
4	5	85	5	5	131±4	1,3±0,1	0,25±0,013	63,2±2,6
5	5	80	5	10	10±1	0,2±0,1	1,76±0,061	73,2±3,5
6	10	90	0	0	160±9	1,6±0,5	0,45±0,028	76,7±2,3
7	0	90	10	0	308±41	6,1±0,8	0,57±0,037	78,3±3,1
8	10	80	0	10	33±4	0,8±0,1	0,15±0,009	80,1±4,2
9	5	85	5	5	205±9	4,1±0,7	0,74±0,045	65,0±4,6
10	10	80	5	5	98±3	1,6±0,2	0,01±0,005	81,7±2,2
11	10	90	0	0	117±15	1,9±0,2	0,26±0,011	79,5±3,6
12	5	85	5	5	107±10	1,5±0,1	0,53±0,018	64,0±1,2
13	10	70	10	10	61±4	1,2±0,1	0,17±0,008	79,1±1,6
14	5	90	0	5	87±9	1,4±0,1	0,47±0,033	78,9±0,9
15	0	96,7	3,3	0	117±6	1,7±0,1	0,18±0,007	75,6±1,3
16	10	80	10	0	187±28	1,4±0,3	0,30±0,022	80,1±3,8
17	10	80	0	10	25±1	0,9±0,1	0,05±0,006	78,3±1,9
18	0	90	0	10	34±1	0,8±0,1	0,47±0,012	69,4±2,3
19	0	90	0	10	29 ±3	0,9±0,1	0,17±0,004	67,4±2,5

Trong đó: x_1 là tỷ lệ lecithin (%); x_2 là tỷ lệ Tween 80 (%); x_3 là tỷ lệ Lutrol (%); x_4 là tỷ lệ SDC (%); y_1 là kích thước tiểu phân trung bình (nm); y_2 là span; y_3 là hệ số bền vững (%); y_4 là hiệu suất mang được chất (%).

đồ 3D bề mặt. Trong khi đó, kết quả tối ưu hóa được thể hiện bằng giá trị tối ưu của biến đầu vào (x_i), giá trị dự đoán của tính chất sản phẩm (y_i) và giá trị mức độ mong muốn (desirability).

Thực nghiệm kiểm chứng:

Điều chế 3 lô hệ phân tán NLC với các tỷ lệ tối ưu của từng thành phần chất nhũ hóa, sau đó đánh giá các tính chất của NLC. Cuối cùng, so sánh các giá trị dự đoán từ phần mềm Design-Expert 7.1.5 với giá trị trung bình của 3 lần thực nghiệm. Việc so sánh này được dựa trên giá trị

$$\text{"Bias"} (\%) = \frac{|\text{giá trị dự đoán} - \text{giá trị thực nghiệm}|}{\text{giá trị dự đoán}} \times 100\%$$

Kết quả và bàn luận

Trong quá trình nghiên cứu sàng lọc các chất nhũ hóa ảnh hưởng đến quá trình điều chế giá mang lipid cấu trúc nano, thì các thực nghiệm cho thấy rằng các chất nhũ hóa như lecithin, Lutrol F127, SDC và Tween 80 khi được sử dụng phối hợp với nhau theo từng giai đoạn điều chế, giúp cho

việc điều chế NLC thuận lợi hơn. Vì vậy đề tài chọn phối hợp cả 4 chất nhũ hóa này vào trong việc điều chế NLC tải MN.

Khảo sát tương quan hồi quy giữa tỷ lệ các thành phần chất nhũ hóa và tính chất của NLC

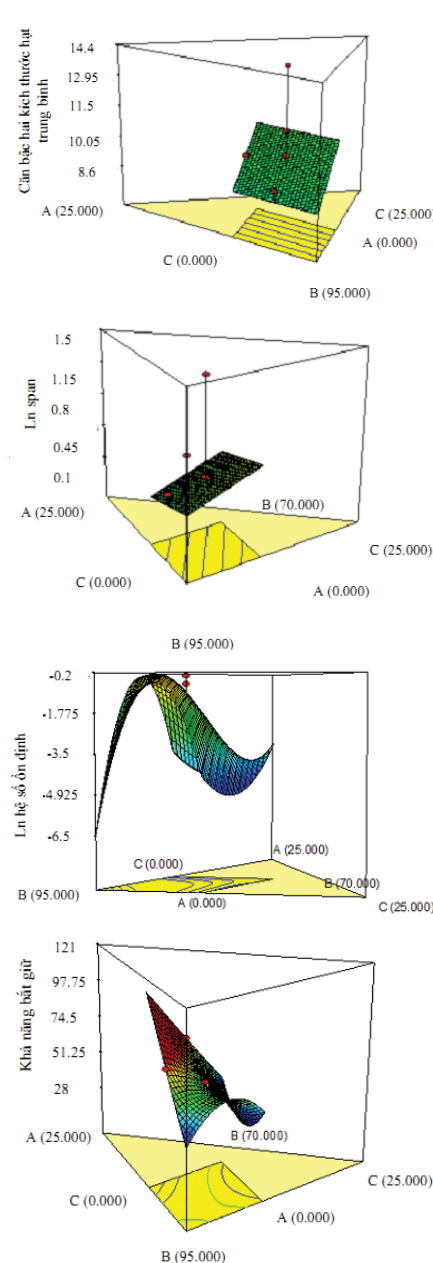
Nghiên cứu đã xem xét mối quan hệ giữa thành phần chất diện hoạt và tính chất hệ NLC tạo thành. Đây là bước quan trọng để tiến đến tối ưu hóa công thức bào chế NLC.

Phân tích ANOVA phương trình tương quan hồi quy được dùng như là một mô hình để dự đoán cho từng hàm mục tiêu thu được. Thông qua giá trị phân tích, ảnh hưởng và mức tương quan ảnh hưởng giữa các yếu tố (lecithin, Tween 80, Lutrol và SDC) đến kích thước tiểu phân trung bình, phân bố kích thước tiểu phân (span), hệ số ổn định, hiệu suất mang dược chất được thể hiện ở bảng 3 và hình 1.

Bảng 3. Phân tích phương sai và phương trình tương quan hồi quy theo mô hình D-optimal.

Thông số	y_1	y_2	y_3	y_4
Độ lệch chuẩn	2,04	0,56	0,56	1,13
Trung bình	9,63	0,32	-1,68	72,98
C.V. %	21,18	176,62	33,34	1,88
R^2	0,75	0,46	0,95	0,99
Adj R^2	0,70	0,35	0,86	0,98
Phương trình tương quan hồi quy giữa các yếu tố	$\sqrt{y_1} = 0,12x_1 + 0,12x_2 + 0,33x_3 - 0,59x_4$	$\ln(y_2) = (-0,01)x_1 + 0,01x_2 + 0,04x_3 - 0,10x_4$	$\ln(y_3) = (-15,28x_1 - 0,09x_2 - 15,77x_3 + 6,24x_4 + 0,18x_1x_2 + 2,11x_1x_3 + 0,03x_1x_4 + 0,18x_2x_3 + (-0,06)x_2x_4 + 0,10x_3x_4 - 0,02x_1x_2x_3 - 0,01x_1x_3x_4$	$y_4 = 61,14x_1 + 0,09x_2 - 166,59x_3 - 15,38x_4 - 0,60x_1x_2 + 6,07x_1x_3 - 10,28x_1x_4 + 1,93x_2x_3 + 0,24x_2x_4 + 22,63x_3x_4 + 0,07x_1x_2x_3 + 0,12x_1x_2x_4 - 0,21x_1x_3x_4 - 0,26x_2x_3x_4$

x_1, x_2, x_3, x_4 lần lượt tương ứng với % của lecithin, Tween 80, Lutrol và SDC.



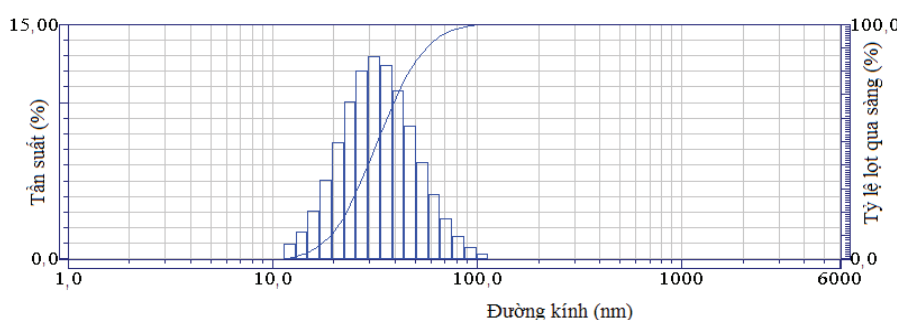
Hình 1. Biểu đồ 3D thể hiện sự tương quan của các yếu tố (x_1 =A: lecithin, x_2 =B: Tween 80, x_3 =C: Lutrol, x_4 =D: SDC) trên từng tính chất NLC (kích thước tiểu phân trung bình, phân bố kích thước tiểu phân (span), hệ số ổn định, hiệu suất mang dược chất).

Tối ưu hóa các thành phần chất nhũ hóa

Tính chất mong muốn của NLC là kích thước tiểu phân nhỏ, độ ổn định và khả năng mang dược chất cao. Kích thước tiểu phân nhỏ giúp tiểu phân bám dính vào bề mặt tế bào chặt chẽ

Bảng 4. Kết quả tối ưu, giá trị dự đoán và thực nghiệm kiểm chứng.

Biến x	Tên	Tỷ lệ (%)	Biến y	Tên	Dự đoán	Thực nghiệm (n=3)	Bias (%)
x ₁	Lecithin	10	y ₁	Kích thước tiểu phân trung bình (nm)	42,05	42,69±6,02	1,52
x ₂	Tween 80	79,97	y ₂	Span	0,82	1,20±0,02	46,3
x ₃	Lutrol	1,37	y ₃	Hệ số ổn định	0,03	0,028±0,001	6,67
x ₄	SDC	8,66	y ₄	Hiệu suất mang dược chất (%)	79,80	78,17±2,48	2,04
x ₁ + x ₂ + x ₃ + x ₄ = 100%					Mức độ mong muốn: 0,80		



Hình 2. Biểu đồ phân bố kích thước tiểu phân cho công thức tối ưu.

hơn, dễ kiểm soát sự phóng thích hoạt chất, đồng thời sẽ làm tăng chuyển động Brown, giúp hệ phân tán ổn định về mặt động học, tránh các hiện tượng vật lý không bền [8].

Từ kết quả nhận được của việc phân tích tương quan hồi quy, mô hình đáp ứng bề mặt D-optimal đã dự đoán được điểm tối ưu và tính chất của NLC tương ứng (bảng 4).

Thực nghiệm kiểm chứng

Giá trị dự đoán của kích thước tiểu phân trung bình, hệ số ổn định và hiệu suất mang dược chất gần với giá trị thực nghiệm (Bias nhỏ), chứng tỏ mô hình đáng tin cậy. Tuy nhiên giá trị Bias của span lớn (46,3%) do khả năng dự đoán của mô hình thấp mặc dù đã chuyển dạng $\ln(y_2)$ ($R^2 = 0,46$). Kết quả span thực nghiệm lớn hơn so

với dự đoán, nhưng giá trị span bằng 1,20 vẫn có thể chấp nhận do hệ NLC tạo thành tương đối đồng nhất (hình 2).

Kết luận

Hệ phân tán NLC tải miconazol được điều chế bằng phương pháp vi nhũ tương đã được tối ưu hóa tỷ lệ của từng thành phần chất diện hoạt như sau: 10% lecithin, 79,97% Tween 80, 1,37% Lutrol và 8,66% SDC. Tương ứng với các tỷ lệ này, tính chất của NLC được tạo thành đạt kích thước tiểu phân trung bình là 42,69 nm, dãy phân bố kích thước tiểu phân hẹp là 1,2, hệ số ổn định là 0,03 và khả năng mang dược chất hoạt chất là 78,17%. Kết quả này cho thấy mô hình D-optimal đã dự đoán thành công điểm tối ưu và tính chất của NLC tương ứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] R. Pignatello, A. Mangiafico, V. Pantò, G. Puglisi, and P.M. Furneri (2008), "Solid Dispersions of Chitosan Glutamate for the Local Delivery of Miconazole: Characterization and In Vitro Activity", *The Open Drug Delivery Journal*, **2**, pp.44-51.
- [2] A.A. Al-Badr (2005), "Miconazol Nitrat: Comprehensive Profile", *Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology*, **32**, pp3-65, doi: 10.1016/S0099-5428(05)32001-6.
- [3] Lê Khắc Tuấn, Phạm Đình Duy (2017), "Điều chế giá mang lipid cấu trúc nano chứa miconazol nitrat bằng phương pháp vi nhũ tương", *Tạp chí Dược học*, **57(494)**, tr.21-25.
- [4] F. Han, S. Li, R. Yin, H. Liu, and L. Xu (2008), "Effect of surfactants on the formation and characterization of a new type of colloidal drug delivery system: Nanostructured lipid carriers", *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **315(1-3)**, pp.210-216.
- [5] M. Pedersen and M.R. Rassing (1990), "Miconazole and miconazole nitrate chewing gum as drug delivery systems - a practical application of solid dispersion technique", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **16(1)**, pp.55-74.
- [6] K. Wrobel, K. Wrobel, I.M. de la Garza Rodriguez, P.L. Lopez-de-Alba, and L. Lopez-Martinez (1999), "Determination of miconazole in pharmaceutical creams using internal standard and second derivative spectrophotometry", *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **20(1-2)**, pp.99-105.
- [7] Tang Jin-guo, Xia Qiang, and L. Guang-yu (2010), "Storage Stability of Alpha-Lipoic Acid-loaded Lipid Nanoparticles", *The Chinese Journal of Process Engineering*, **10(2)**, pp.332-338.
- [8] E. Souto and R. Müller (2007), "Lipid Nanoparticles (Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers) for Cosmetic, Dermal, and Transdermal Applications", *Nanoparticulate Drug Delivery Systems*, pp.213-233.