



Original Article

Formulation of Spray-dried Proliposomes Loaded with Berberin

Tran Thi Hai Yen, Tran Thi Nhu Quynh, Duong Thi Thuan, Pham Thi Minh Hue*

Hanoi University of Pharmacy, 13-15 Le Thanh Tong, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam

Received 16 April 2021

Revised 04 May 2021; Accepted 05 May 2021

Abstract: The aims of study was formulation and evaluation of berberin (BBR) loaded proliposomes by spray-drying method. BBR proliposomes were evaluated for appearance, spray-drying efficiency, morphology and differential scanning calorimetry (DSC). Liposomes, obtained after hydration, were evaluated for particle size, size distribution, morphology and entrapment efficiency. The results showed that BBR proliposomes were prepared by spray-drying method with molar ratio of Hydrogenated soy phosphatidyl choline (HSPC): Sodium deoxycholate (NaDC): vitamin E (vtE): BBR = 7: 1: 6: 6. Mixture of manitol and Aerosil at weight ratio of 97:3 was used as carrier. Results of DSC showed that berberin was dispersed molecularly into proliposomes powder. BBR liposomes, obtained after hydration, had average particle diameter of about 29 μm and entrapment efficiency was 22.23%.

Keywords: *proliposomes, liposomes, berberin, sodium deoxycholate, spray-dried*

* Corresponding author.

E-mail address: phamminhuehup@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4303>

Nghiên cứu bào chế proliposome berberin bằng phương pháp phun sấy

Trần Thị Hải Yến, Trần Thị Như Quỳnh, Dương Thị Thuần, Phạm Thị Minh Huệ*

Trường Đại Học Dược Hà Nội, 13-15 Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 16 tháng 4 năm 2021

Chỉnh sửa ngày 04 tháng 5 năm 2021; Chấp nhận đăng ngày 05 tháng 5 năm 2021

Tóm tắt: Mục tiêu của nghiên cứu là xây dựng công thức bào chế và đánh giá proliposome berberin (BBR) bằng phương pháp phun sấy. Bột proliposome BBR được đánh giá về hình thức, hiệu suất phun sấy, hình thái và đặc tính nhiệt vi sai. Liposome thu được sau khi hydrat hóa proliposome được đánh giá kích thước tiểu phân (KTTP), phân bố KTTP, hình thái liposome và hiệu suất liposome hóa. Kết quả cho thấy, proliposome BBR có tỉ lệ mol HSPC:NaDC:vtE:BBR= 7:1:6:6, sử dụng hỗn hợp chất mang manitol và Aerosil (tỉ lệ khối lượng 97:3) với khối lượng bằng khối lượng lipid, có hình thức bột màu vàng, khô, tơi. Kết quả phân tích nhiệt vi sai cho thấy berberin đã phân tán dưới dạng phân tử vào proliposome. Liposome BBR tạo thành sau khi hydrat hóa trong nước có đường kính tiểu phân trung bình khoảng 29,2 μm và hiệu suất liposome hóa đạt 22,23%.

Từ khóa: Proliposomes, liposomes, berberin, natri deoxycholat, phun sấy.

1. Mở đầu

Berberin (BBR) là một isoquinolin alkaloid thường có trong rễ, thân rễ, vỏ cây của những cây thuộc chi Berberis, Coptidis, Coscinium. BBR đã được sử dụng từ nhiều năm nay với tác dụng dược lý chính là điều trị tiêu chảy với hoạt tính kháng khuẩn phổ rộng. Một số nghiên cứu trong những năm gần đây chỉ ra rằng berberin có khả năng điều trị một số bệnh mạn tính như rối loạn lipid máu [1], động kinh [2],... Tuy nhiên, do khả năng thấm qua màng sinh học kém dẫn đến sinh khả dụng thấp nên ứng dụng trên lâm sàng còn hạn chế [1-3].

Proliposome là các hạt khô, trơn chảy tốt, khi thêm nước chúng phân tán thành hỗn dịch liposome,... Dược chất thân nước ở trong khoang thân nước, dược chất thân dầu nằm trong các lớp vỏ giúp tăng độ tan của dược chất ít tan,

tăng tính thấm của những dược chất thấm kém. Do tồn tại ở trạng thái rắn nên hầu hết các vấn đề về độ ổn định của liposome được giải quyết và dễ dàng ứng dụng được vào các dạng thuốc rắn. Proliposome có thể được bào chế bằng các phương pháp khác nhau như hydrat hóa màng film, phun sấy, phương pháp đối kháng dung môi siêu tới hạn, phương pháp bao hạt,... [4, 5].

Trong nghiên cứu trước, nhóm tác giả đã nghiên cứu bào chế liposome BBR sử dụng các thành phần phosphatidyl choline đậu nành hydrogen hóa (HSPC), natri deoxycholat (NaDC) và vitamin E bằng phương pháp tiêm ethanol [6]. Với các thành phần như vậy, hiệu suất liposome hóa đạt khoảng 37%. Proliposome BBR đã được bào chế bằng phương pháp hydrat hóa màng film [7]. Tuy nhiên, phương pháp phun sấy có ưu điểm dễ dàng nâng cấp quy mô và dễ triển khai vào sản xuất. Do vậy, nghiên cứu

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: phamminhhuehup@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4303>

được tiến hành với mục tiêu bào chế được bột proliposome BBR bằng phương pháp phun sấy và đánh giá bột proliposome thu được.

2. Nguyên liệu và phương pháp

2.1. Nguyên liệu và thiết bị

Nguyên liệu: berberin base (98 %) có xuất xứ Việt Nam; phosphatidylcholin đậu nành hydrogen hóa (HSPC) được cung cấp bởi Lipoid, Đức; vitamin E (VtE) có nguồn gốc từ CISME, Italia; natri deoxy cholat (NaDC), cellulose vi tinh thể (Avicel PH102), manitol, sorbitol, Aerosil có xuất xứ từ Trung Quốc; ethanol tuyệt đối được cung cấp bởi công ty hóa chất Đức Giang, Việt Nam; nước thẩm thấu ngược được điều chế tại phòng thí nghiệm (Việt Nam).

Thiết bị: cân phân tích Satorius BP121S; máy siêu âm Labsonic (Nhật); máy phun sấy Buchi Mini Spray Dryer B-191 (Thụy Sĩ); máy khuấy từ IKA RET basic (Đức); máy quang phổ UV-Vis U-1800 (Hitachi-Nhật Bản); máy phân tích kích thước Masterizer 3000E); ống li tâm chứa màng siêu lọc 50000 Dalton Milipore (Merk, Đức); máy li tâm Hermle Z200A (Đức); kính hiển vi điện tử quét SEM S-4800 (Hitachi, Nhật Bản); kính hiển vi quang học có kết nối camera NiKon (Nhật Bản); máy phân tích nhiệt vi sai DSC (Mettler Toledo, Thụy Sĩ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bào chế proliposome BBR

Proliposome BBR được bào chế bằng phương pháp phun sấy. HSPC, NaDC, VtE, BBR với tỉ lệ khối lượng 7:1:6:6 được hòa tan trong 60ml ethanol tuyệt đối, siêu âm 15 phút để các thành phần tan hoàn toàn [6]. Chất mang (manitol, sorbitol,...) được phân tán trong dung dịch ethanol, siêu âm 15 phút. Phun sấy hỗn dịch trên bằng máy phun sấy Buchi Mini Spray Dryer B-191 với các thông số: nhiệt độ khí vào 60 °C, tốc độ phun dịch 4 ml/phút, tốc độ thổi khí 70%, áp suất khí nén 3 kg/cm³. Sản phẩm thu được sau phun sấy được cho vào lọ thủy tinh đậy nút cao su, bảo quản trong bình hút ẩm ở nhiệt độ phòng.

2.2.2. Phương pháp hydrat hóa proliposome BBR

Cân khoảng 20 mg bột proliposome BBR, hydrat hóa với 10 ml nước tinh khiết ở 37 °C, lắc xoáy bằng máy vortex trong 4 phút, siêu âm hỗn dịch trong 10 phút ở cường độ 40 kHz để thu được hỗn dịch liposome berberin.

2.2.3. Phương pháp xác định hiệu suất phun sấy

Hiệu suất phun sấy được xác định bằng công thức dưới đây:

$$H (\%) = \frac{W_o}{W_T} \times 100\%$$

Trong đó:

W_o là khối lượng bột thu được sau phun sấy;

W_T là tổng khối lượng của lipid, chất mang, được chất trong hỗn hợp trước phun sấy.

2.2.4. Phương pháp đánh giá proliposome BBR

i) Hình thức: bột proliposome BBR có màu vàng, khô, tơi. Hỗn dịch liposome BBR thu được sau khi hydrat hóa proliposome BBR có màu vàng, đục mờ;

ii) Kích thước tiểu phân liposome BBR sau khi hydrat hóa proliposome BBR: kích thước tiểu phân liposome BBR hình thành sau khi hydrat hóa proliposome BBR với nước được đánh giá bằng máy Mastersizer 3000E. Cho khoảng 400 ml nước thẩm thấu ngược vào cốc có mỏ 500 ml, đặt cốc vào máy đo Mastersizer 3000E, cho từ từ mẫu đã hydrat hóa vào cốc đo đến khi độ đục đạt khoảng 0,5 - 5%. Các thông số D[4,3] biểu diễn KTTTP trung bình theo thể tích; Span đánh giá phân bố KTTTP, Span càng nhỏ thì khoảng phân bố càng hẹp, Span < 5 là giá trị có thể chấp nhận được;

iii) Phương pháp xác định hàm lượng BBR trong bột proliposome BBR: cân chính xác khoảng 10 mg bột proliposome BBR, phân tán bằng 10 ml ethanol tuyệt đối trong bình định mức 25 ml, siêu âm 15 phút, sau đó bổ sung đến vạch bằng nước tinh khiết, siêu âm tiếp tục 15 phút. Lọc qua màng cellulose tái tổ hợp 0,45 μm, dung dịch thu được đem đo quang phổ UV-VIS ở bước sóng 348 nm với mẫu trắng là dung dịch ethanol 50%;

iv) Phương pháp xác định hiệu suất liposome hóa của liposome BBR thu được sau khi hydrat hóa proliposome BBR: Hydrat hóa proliposome

BBR theo phương pháp ở mục 2.2.2 thu được liposome BBR. Hỗn dịch liposome BBR được cho vào ống li tâm chứa màng siêu lọc 50000 Dalton, li tâm với tốc độ 5000 vòng/phút trong 30 phút. Sau li tâm, dược chất tự do đi qua được màng lọc, liposome BBR được giữ lại trên màng. Dược chất toàn phần là lượng dược chất có trong bột proliposome, được xác định bằng phương pháp nêu ở mục 2.2.4. Dược chất đã liposome hóa là lượng dược chất có trong hỗn dịch liposome BBR được giữ lại trên màng lọc. Lượng dược chất phía dưới ống ly tâm là lượng dược chất tự do được định lượng bằng phương pháp UV-Vis ở bước sóng 348 nm. Hiệu suất liposome hóa (%EE) được tính theo công thức:

$$\%EE = \left(1 - \frac{\text{Lượng dược chất tự do}}{\text{Lượng dược chất toàn phần}}\right) \times 100\%$$

v) Phương pháp đánh giá hình thái: Proliposome BBR, BBR nguyên liệu, HSPC, manitol được quan sát đặc điểm hình thái bằng kính hiển vi quang học có vật kính 10x, thị kính 10x và có gắn camera và máy hiển vi điện tử quét (Simazhu, Nhật Bản);

vi) Phương pháp phân tích nhiệt quét vi sai (DSC): chuẩn bị khoảng 5 - 10 mg mẫu NaDC, HSPC, BBR và mẫu proliposome BBR. Sau đó cho mỗi mẫu vào đĩa nhôm, hàn kín. Mẫu trắng là đĩa nhôm trống được hàn kín. Phân tích mẫu từ 30 °C đến 200 °C, tốc độ gia nhiệt là 10 °C/phút, lưu lượng khí nitơ là 50 ml/phút;

vii) Phương pháp đánh giá độ ổn định của bột proliposome BBR phun sấy: mẫu bột proliposome phun sấy được cho vào lọ thủy tinh có đáy nắp cao su và bảo quản trong bình hút ẩm ở nhiệt độ phòng. Sau các khoảng thời gian 1 tuần, 2 tuần, 4 tuần, 6 tuần đánh giá hàm lượng dược chất trong bột, và đặc tính của liposome thu được sau khi hydrat hóa.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Khảo sát loại chất mang

Proliposome với các thành phần HSPC:NaDC:vitE và các chất mang Avicel, manitol, sorbitol có đặc tính được mô tả ở Bảng 1 dưới đây.

Bảng 1. Ảnh hưởng của một số chất mang đến đặc tính của bột proliposome và liposome sau hydrat hóa (trung bình \pm SD, n=3)

Mẫu	Chất mang	Đặc tính của proliposome		Đặc tính của liposome		
		Hiệu suất phun sấy H (%)	Hàm lượng dược chất (%)	D[4,3] μ m	Span	Hiệu suất liposome hóa (EE%)
S1	Avicel PH102	30,38 \pm 3,76	6,16 \pm 0,69	56,6 \pm 2,1	2,598 \pm 0,052	15,70 \pm 0,77
S2	Manitol: Aerosil (8:2)	42,81 \pm 1,83	4,05 \pm 0,86	25,5 \pm 0,8	3,534 \pm 0,145	20,27 \pm 3,12
S3	Sorbitol: Aerosil (8:2)	22,97 \pm 2,45	6,86 \pm 0,23	31,5 \pm 1,9	4,476 \pm 0,202	16,37 \pm 1,32

Kết quả thu được ở Bảng 1 cho thấy, hiệu suất phun sấy giảm dần qua các mẫu S2, S1, S3. Kết quả ở Bảng 1 cho thấy hiệu suất phun sấy giảm dần khi sử dụng lần lượt các chất mang là manitol, Avicel, sorbitol. Điều này có thể được giải thích do sự tắc sủng phun trong quá trình phun sấy khi sử dụng chất mang là Avicel PH102

dẫn đến hiệu suất phun sấy khi sử dụng chất mang Avicel thấp hơn so với manitol. Avicel PH102 bản chất là cellulose vi tinh thể, không tan trong ethanol, kích thước giữ nguyên trong quá trình phân tán trong ethanol. Trong khi đó manitol, sorbitol tan một phần trong ethanol nên kích thước của các hạt này nhỏ hơn kích thước

ban đầu khi được phân tán trong ethanol do đó không xảy ra hiện tượng tắc súng phun. Hiệu suất phun sấy có thể liên quan đến điểm nóng chảy của mỗi loại chất mang, nhiệt độ phun sấy càng thấp hơn điểm nóng chảy của chất mang thì các chất mang ít bị chảy lỏng, bám dính lên thành buồng sấy, hiệu suất phun sấy càng cao. Điểm nóng chảy của manitol (166-168 °C), sorbitol (88-102 °C). Khi phun sấy ở 60 ° C thì chênh lệch nhiệt độ phun sấy và nhiệt độ nóng chảy của manitol cao hơn sorbitol. Do đó hiệu suất phun sấy khi sử dụng chất mang manitol cao hơn khi sử dụng chất mang sorbitol.

Hàm lượng dược chất trong bột sau phun sấy giảm dần khi sử dụng chất mang sorbitol, Avicel PH 102 và manitol. Hàm lượng dược chất trong bột sau phun sấy khi sử dụng chất mang là manitol thấp nhất, có thể liên quan đến hiệu suất phun sấy của manitol là cao nhất, nên lượng dược chất phân tán trong một khối lượng bột lớn, do đó hàm lượng dược chất trong bột thấp nhất.

Từ kết quả ở Bảng 1 cho thấy D[4,3] của các mẫu liposome BBR sau khi hydrat hóa proliposome BBR giảm dần lần lượt khi sử dụng chất mang Avicel, manitol và sorbitol. Điều này

có thể giải thích do độ tan của các chất mang trong nước là khác nhau. Chất mang tan tốt trong nước thì phần lõi nước bên trong của liposome càng nhỏ, dẫn đến kích thước của liposome càng nhỏ. Avicel PH102 hầu như không tan trong nước do đó khi sử dụng chất mang Avicel PH102, KTTP của liposome BBR thu được là lớn nhất. Mặc dù độ tan trong nước của sorbitol (2000 g/l) cao hơn manitol (229 g/l) nhưng proliposome sử dụng sorbitol bị dính các hạt với nhau thành từng đám sau khi phun sấy. Do đó, KTTP của mẫu S3 cao hơn so với mẫu S2. Ngoài ra, hiệu suất liposome hóa cao nhất khi sử dụng chất mang là manitol. Từ các kết quả trên, chất mang manitol cho hiệu suất phun sấy, hiệu suất liposome hóa cao nhất, KTTP của liposome nhỏ hơn cả, do đó lựa chọn manitol để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Khảo sát tỉ lệ Aerosil

Proliposome BBR được bào chế bằng chất mang manitol với các tỉ lệ Aerosil khác nhau, có các đặc tính được thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của Aerosil đến đặc tính của proliposome và liposome BBR (trung bình \pm SD, n=3)

Mẫu	Chất mang	Đặc tính của bột proliposome BBR		Đặc tính của liposome BBR		
		Hiệu suất phun sấy (%)	Hàm lượng dược chất (%)	D[4,3] μ m	Span	Hiệu suất liposome hóa (EE%)
S4	Manitol	30,34 \pm 3,46	6,51 \pm 1,23	49,3 \pm 1,6	1,987 \pm 0,012	14,57 \pm 1,08
S5	Manitol: Aerosil (97:3)	39,61 \pm 3,08	5,87 \pm 1,54	40,8 \pm 0,8	2,101 \pm 0,128	18,87 \pm 1,94
S6	Manitol: Aerosil (9:1)	45,56 \pm 2,53	4,98 \pm 0,54	34,2 \pm 1,2	2,539 \pm 0,114	19,26 \pm 2,23
S2	Manitol: Aerosil (8:2)	42,81 \pm 1,83	4,05 \pm 0,86	25,5 \pm 0,8	3,534 \pm 0,145	20,27 \pm 3,12
S7	Manitol: Aerosil (7:3)	41,20 \pm 1,71	3,65 \pm 0,76	13,0 \pm 0,8	2,586 \pm 0,099	22,45 \pm 0,78
S8	Manitol: Aerosil (6:4)	39,09 \pm 0,51	3,20 \pm 0,24	11,3 \pm 0,5	2,450 \pm 0,231	26,46 \pm 1,69

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy, các mẫu S2, S5, S6, S7, S8 (có Aerosil trong thành phần chất mang) có hiệu suất phun sấy cao hơn so với mẫu

S4 (không có Aerosil trong thành phần chất mang). Sự có mặt của Aerosil trong chất mang góp phần làm tăng hiệu suất phun sấy. Aerosil

làm giảm sự bám dính của bột proliposome BBR lên thành buồng sấy dẫn tới tăng hiệu suất phun sấy. Hiệu suất phun sấy cao nhất khi sử dụng lượng Aerosil là 10% so với tổng khối lượng chất mang, khi tăng dần tỉ lệ Aerosil lên 20%, 30%, 40% so với tổng khối lượng chất mang, hiệu suất phun sấy có xu hướng giảm dần. Điều này có thể do tỉ lệ Aerosil càng nhiều, khối lượng của chất mang càng giảm nên sản phẩm dễ bị hút qua đường khí ra, dẫn đến hiệu suất phun sấy giảm.

Kết quả ở Bảng 2 nhận thấy khi tăng dần tỉ lệ Aerosil, hàm lượng dược chất trong bột sau phun sấy giảm dần. Aerosil có cấu trúc rỗng xốp, khi kết hợp Aerosil vào thành phần chất mang, dược chất có thể bị giam trong cấu trúc của Aerosil và khó thoát ra ngoài khi hydrat hóa. Do đó, khi tỉ lệ Aerosil càng nhiều, thì lượng dược chất bị giam giữ càng lớn, làm giảm hàm lượng dược chất trong bột.

Từ kết quả ở Bảng 2 cho thấy khi tăng dần tỉ lệ Aerosil trong thành phần chất mang, các mẫu có KTTP giảm dần, hiệu suất liposome hóa tăng

dần. Khi tỉ lệ Aerosil tăng dần, lượng manitol trong thành phần chất mang giảm dần nên lõi nước ở trong liposome giảm dần, do đó KTTP giảm dần. Kích thước càng lớn, cấu trúc liposome càng khó bền chặt, do đó hiệu suất liposome hóa càng thấp.

Việc bổ sung Aerosil vào thành phần chất mang nhằm mục đích làm giảm bám dính của khối bột lên thành buồng sấy, từ đó tăng hiệu suất phun sấy mà không làm ảnh hưởng đến hàm lượng dược chất trong khối bột. Để đảm bảo được hàm lượng dược chất trong khối bột đồng thời tránh bám dính khi phun sấy, mẫu S5 có hàm lượng Aerosil chiếm 3% được chọn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

3.3. Khảo sát tỉ lệ lipid:chất mang

Các đặc tính của proliposome BBR được bào chế với các tỉ lệ lipid:chất mang khác nhau được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của tỉ lệ khối lượng lipid:chất mang đến đặc tính của bột proliposome và liposome BBR (trung bình \pm SD, n=3)

Mẫu	Lipid: chất mang	Hiệu suất phun sấy H (%)	Hàm lượng dược chất trong bột (%)	D[4,3] μ m	Span	Hiệu suất liposome hóa (EE%)
S9	1:1	23,66 \pm 2,14	8,19 \pm 1,02	29,2 \pm 1,5	1,792 \pm 0,015	23,22 \pm 2,14
S10	1:1,5	32,98 \pm 2,84	7,01 \pm 1,65	36,3 \pm 1,0	1,987 \pm 0,117	20,47 \pm 0,87
S5	1:2	39,61 \pm 3,08	5,87 \pm 1,54	40,8 \pm 0,8	2,101 \pm 0,128	18,87 \pm 1,94

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy, khi giảm dần tỉ lệ khối lượng lipid:chất mang, hiệu suất phun sấy tăng dần, hàm lượng dược chất trong bột giảm dần. Nguyên nhân do lượng chất mang càng nhiều thì sự bám dính của bột lên thành buồng sấy càng giảm nên hiệu suất phun sấy càng tăng. Hàm lượng dược chất trong khối bột sau phun sấy giảm dần theo thứ tự các mẫu S9, S10, S5 do lượng chất mang tăng dần.

Khi lượng chất mang giảm dần, KTTP của liposome, hiệu suất liposome hóa giảm dần. Điều này có thể giải thích do lượng chất mang

càng nhiều, mật độ các thành phần của liposome tăng trên bề mặt chất mang càng ít, sau khi hydrat hóa cấu trúc liposome càng lỏng lẻo, nên KTTP lớn và hiệu suất liposome hóa thấp. Từ kết quả thu được ở Bảng 3, chọn mẫu S9 có tỉ lệ lipid:chất mang là 1:1 để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo. Mẫu proliposome phun sấy S9 có hiệu suất liposome hóa sau hydrat đạt 23%. Thành phần cấu tạo nên liposome gồm phosphatidylcholin dạng nành hydrogen hóa, natri deoxycholat và vitamin E cho hiệu suất liposome hóa ở nghiên cứu bào chế liposome BBR bằng

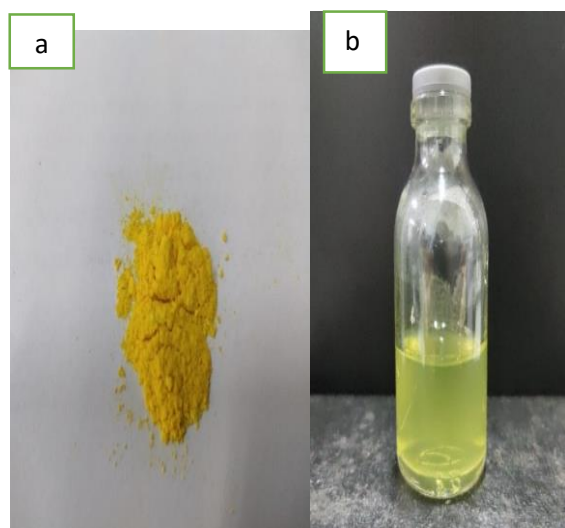
phương pháp tiêm ethanol đạt 37% [6]. Do đó, có thể tiếp tục cải thiện thành phần cấu tạo lớp màng phospholipid kép của liposome để cải thiện hiệu suất liposome hóa sau khi hydrat hóa bột proliposome. Ngoài ra, liposome bào chế bằng phương pháp tiêm ethanol có kích thước trong khoảng nanomet [6] nhưng kích thước liposome thu được sau khi hydrat hóa proliposome nằm trong khoảng micromet. Kết quả này cũng hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu khác trên thế giới [8]. Trong thành phần của bột proliposome, lớp màng film phospholipid bao xung quang chất mang mannitol, do đó khi hydrat hóa bằng tạo thành các liposome nhiều lớp có kích thước cỡ micromet [9].

3.4. Đánh giá một số đặc tính của proliposome BBR

Mẫu proliposome BBR S9 được đánh giá một số đặc tính về hình thức, hình thái, phổ DSC, độ ổn định trong điều kiện bảo quản.

3.4.1. Hình thức

Bột proliposome BBR có màu vàng, khô, tơi (Hình 1a). Hỗn dịch liposome BBR thu được sau khi hydrat hóa proliposome BBR theo phương pháp mô tả ở mục 2.2.2 có màu vàng, đục mờ không còn tiểu phân chưa tan hết (Hình 1b)



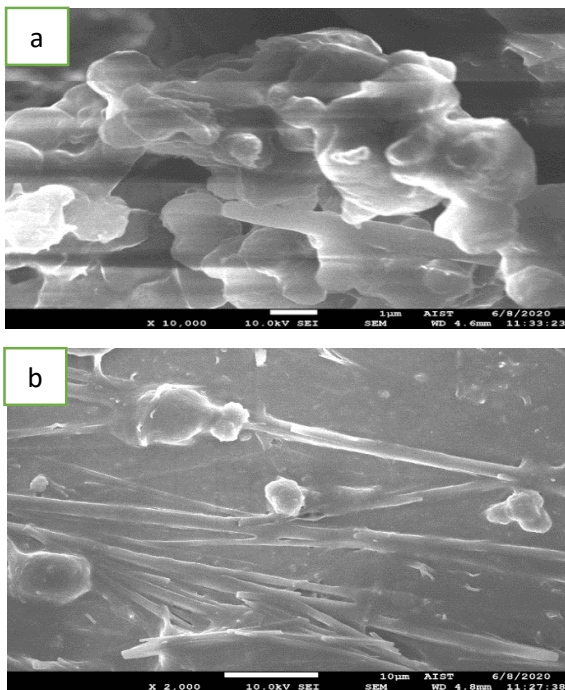
Hình 1. a) Bột proliposome BBR; b) Hỗn dịch liposome BBR sau hydrat hóa.

3.4.2. Hình thái



Hình 2. Đặc điểm các mẫu bột được quan sát bằng kính hiển vi quang học.
a) Bột BBR nguyên liệu; b) mannitol;
c) HSPC; d) Bột proliposome BBR phun sấy.

Hình ảnh dưới kính hiển vi quang học cho thấy bột BBR nguyên liệu là các tinh thể có dạng hình hộp chữ nhật xen lẫn các tinh thể hình kim; manitol bao gồm các tinh thể có dạng hình trụ; HSPC gồm các hạt nhiều hình dạng dính vào nhau; bột proliposome BBR gồm các hạt hình cầu sắp xếp xung quanh các tinh thể hình trụ. Sau khi phun sấy hỗn hợp manitol phân tán trong dung dịch lipid, sản phẩm bột proliposome BBR là các hạt có hình cầu sắp xếp xung quanh các tinh thể hình trụ.



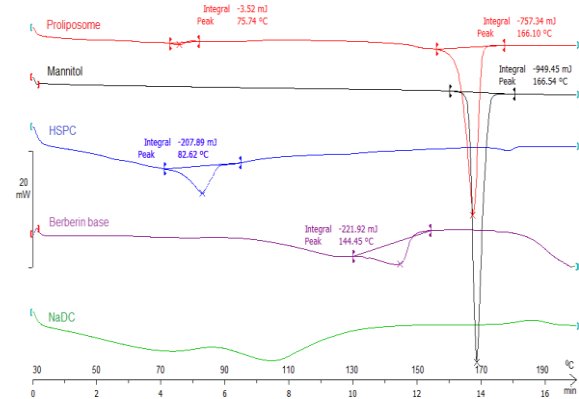
Hình 3. Hình ảnh chụp SEM của proliposome và liposome BBR.

- Hình ảnh chụp SEM của proliposome BBR phun sấy ở độ phóng đại 10000x;
- Hình ảnh chụp SEM của liposome BBR thu được sau khi hydrat hóa proliposome BBR ở độ phóng đại 2000x.

Dưới kính hiển vi điện tử quét, proliposome BBR là các hình cầu kích thước khoảng 1-5 μm bao quanh các hình trụ dài của tinh thể đường manitol. Liposome BBR được tạo thành sau khi hydrat hóa proliposome BBR có dạng hình cầu kích thước khoảng 1-5 μm , xen lẫn là các tinh thể đường manitol hình trụ. Kết quả này nhỏ hơn so

với kích thước liposome đo được trên thiết bị Mastersizer (KTTP trung bình khoảng 30 μm). Điều này có thể giải thích do thiết bị Mastersizer đưa ra thông số kích thước trung bình của liposome. Trong khi đó, hình ảnh chụp SEM đưa ra một vài liposome BBR trong vi trường.

3.4.3. Phân tích nhiệt quét vi sai (DSC)



Hình 4. Phổ DSC của manitol, proliposome BBR, HSPC, NaDC, berberin base.

Kết quả ở Hình 4 cho thấy, manitol có một peak thu nhiệt ở 166,54 $^{\circ}\text{C}$ tương ứng với nhiệt độ nóng chảy. HSPC có một peak thu nhiệt ở 82,62 $^{\circ}\text{C}$ tương ứng với nhiệt độ chuyển pha. BBR có một peak thu nhiệt ở 144,45 $^{\circ}\text{C}$ tương ứng với nhiệt độ nóng chảy. Phổ DSC của proliposome BBR có hai peak thu nhiệt ở 75,4 $^{\circ}\text{C}$ và 166,10 $^{\circ}\text{C}$ tương ứng với nhiệt độ chuyển pha của HSPC và nhiệt nóng chảy của manitol có trong proliposome BBR. Ở mẫu proliposome BBR, peak thu nhiệt của BBR không được phát hiện, do đó có thể BBR đã phân bố trong proliposome dưới dạng phân tử.

3.4.4. Độ ổn định của proliposome BBR

Mẫu proliposome BBR phun sấy S9 được đánh giá độ ổn định. Sau các khoảng thời gian bảo quản, bột vẫn giữ đặc điểm khô tơi, có màu vàng. Hàm lượng dược chất trong bột proliposome và đặc tính của liposome BBR sau khi hydrat hóa ở các thời điểm được thể hiện ở Bảng 4 dưới đây.

Bảng 4. Các đặc tính của bột proliposome và liposome BBR sau hydrat hóa tại các thời điểm (trung bình \pm SD, n=3)

Thời điểm	D[4,3] μ m	Span	Hiệu suất liposome hóa (%)	Hàm lượng dược chất (%)
Ban đầu	29,2 \pm 1,5	1,792 \pm 0,015	23,22 \pm 2,14	8,19 \pm 1,02
2 tuần	30,1 \pm 1,1	1,231 \pm 0,008	23,01 \pm 1,21	8,11 \pm 2,16
4 tuần	28,6 \pm 0,9	1,482 \pm 0,010	23,65 \pm 2,01	7,85 \pm 1,67
6 tuần	29,5 \pm 1,6	1,854 \pm 0,024	23,02 \pm 2,34	7,92 \pm 1,21

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy hàm lượng dược chất trong bột proliposome BBR ít thay đổi trong quá trình bảo quản 6 tuần bảo quản. Liposome BBR thu được sau khi hydrat hóa proliposome BBR tại các thời điểm sau 2 tuần, 4 tuần, 6 tuần có D[90], D[4,3], Span, hiệu suất liposome hóa gần như không thay đổi.

4. Kết luận

Proliposome BBR được bào chế bằng phương pháp phun sấy với tỉ lệ mol các thành phần HSPC:NaDC:vtE:BBR= 7:1:6:6, hỗn hợp manitol và Aerosil ở tỉ lệ khối lượng 97:3 bằng khối lượng lipid; ethanol được sử dụng làm dung môi phun sấy. Bột proliposome BBR phun sấy có màu vàng, khô toi, hàm lượng dược chất trong bột đạt khoảng 8%. Kết quả phân tích nhiệt vi sai DSC cho thấy BBR có thể đã phân tán trong bột proliposome dưới dạng phân tử. Liposome BBR thu được sau khi hydrat hóa proliposome BBR có KTTP từ 27,7 μ m - 30,7 μ m, hiệu suất liposome hóa đạt khoảng 23%. Các kết quả thu được là tiền đề để tiếp tục thực hiện các nghiên cứu tiếp theo nhằm đưa BBR vào dạng bào chế ứng dụng dùng đường uống.

Tài liệu tham khảo

- [1] W. Kong, J. Wei, A. Parrveen et al., Berberine is A Novel Cholesterol-Lowering Drug Working Through A Unique Mechanism Distinct From Statins, *Nature Medicine*, Vol. 10, No. 12, 2004, pp. 1344-1351, <https://doi.org/10.1038/nm1135>.
- [2] S. K. Kulkarni, A. Dhir, on The Mechanism of Antidepressant-Like Action of Berberine Chloride, *European Journal of Pharmacology*, Vol. 589, No. 1-3, 2008, pp. 163-172, <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.05.043>.
- [3] Y. T. Ho, J. S. Yang, T. C. Li et al., Berberine Suppresses in Vitro Migration and Invasion of Human SCC-4 Tongue Squamous Cancer Cells Through the Inhibitions of FAK, IKK, NF-Kb, U-PA and MMP-2 and-9, *Cancer Letters*, Vol. 279, No. 2, 2009, pp. 155-162, <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2009.01.033>.
- [4] S. Muneer, Z. Masood, S. Butt et al., Proliposomes as Pharmaceutical Drug Delivery System: A Brief Review, *Journal of Nanomedicine and Nanotechnology*, Vol. 8, No. 3, 2017, pp. 448-450, <https://doi.org/10.4172/2157-7439.1000448>.
- [5] H. K. Omer, N. R. Hussein, A. Ferraz et al., Spray-Dried Proliposome Microparticles for High-Performance Aerosol Delivery Using a Monodose Powder Inhaler, *AAPS PharmSciTech*, Vol. 19, No. 5, 2018, pp. 2434-2448, <https://doi.org/10.1208/s12249-018-1058-4>.
- [6] T. T. H. Yen, T. T. N. Quynh, D. T. Thuan, P. T. M. Hue, Preparation of Berberin Liposomes, Contained Sodium Deoxycholate by Ethanol Injection Method, *Journal of Pharmaceutical Research and Drug information*, Vol. 11, No. 4, 2020, pp. 11-17 (in Vietnamese).
- [7] T. T. H. Yen, T. T. Hue, P. T. M. Hue et al., Preparation of Berberin Proliposomes by Film Deposition on Carrier Surface Method, *VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 36, No. 2, 2020, pp. 9-15, <https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4204>.
- [8] R. G. Ahmed, S. Sherif, Z. Zainab et al., Silymarin Spray-Dried Proliposomes: Preparation, Characterization and Cytotoxic Evaluation, *Drug Delivery Letters*, Vol. 10, No. 1, 2020, pp. 14-23, <https://doi.org/10.2174/2210303109666190722114211>.
- [9] A. Bangham, M. M. Standish, J. C. Watkins Diffusion of Univalent Ions Across the Lamellae of Swollen Phospholipids, *Journal of Molecular Biology*, Vol. 13, No. 1, 1965, pp. 238-252.