



Original Article

## Preparation of Berberine Chloride Nanoparticles by Ball Milling Method

Tran Thi Van Anh<sup>1</sup>, Dao Viet Hung<sup>1</sup>, Pham Quoc Tuan<sup>1</sup>, Ha Thanh Hoa<sup>1</sup>,  
Nguyen Thi Minh Diep<sup>1</sup>, Nguyen Van Thang<sup>2</sup>, Ngo Thi Sau<sup>3</sup>  
Trinh Thi Duyen<sup>4</sup>, Nguyen Thanh Hai<sup>4</sup>, Nguyen Van Khanh<sup>4,\*</sup>

<sup>1</sup>*Phu Tho College of Medicine and Pharmacy, 2201 Hung Vuong, Gia Cam, Viet Tri, Phu Tho, Vietnam*

<sup>2</sup>*Tan Trao University, Km 6 Trung Mon, Yen Son, Tuyen Quang, Vietnam*

<sup>3</sup>*Department of Pharmacy - National Hospital of Obstetrics and Gynecology,  
43 Trang Thi, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam*

<sup>4</sup>*VNU University of Medicine and Pharmacy, 144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam*

Received 08 September 2022

Revised 07 November 2022; Accepted 07 November 2022

**Abstract:** Berberine is a quaternary benzyloquinoline alkaloid that has been used for the local treatment of gastrointestinal tract diseases. Recently, several pharmacological effects of berberine have been reported, which include anti-hypertension, antitumor, anti-hypercholesterolemia, and neuroprotective effects. However, berberine has exhibited poor aqueous solubility and low oral bioavailability. To overcome these limitations, this study aims to develop and investigate nano berberine. Nano berberine fabricated by ball milling method is a simple process and easily applied in the production scale. The characterization of nano berberine was evaluated, including appearance, particle size, potential zeta, dissolution *in vitro* in a phosphate buffer media (pH 6.8), differential scanning calorimetry (DSC) analysis, fourier transformed infrared spectroscopy (FTIR), and X-ray diffraction analysis (XRD). Results from this study showed that spray-dried nano berberine powder was almost uniform in size, particle size average of 570.7 nm, and potential zeta of -28.6 mV. The dissolution *in vitro* study revealed that nano berberine was about 2 times more soluble than raw berberine for 60 minutes. No incompatibility between drug and excipients can be observed through FTIR and DSC analysis. XRD analysis suggested that raw berberine and nano berberine might exist in a crystal form. Thus, findings from this study indicate that the physicochemical properties of spray-dried nano berberine may increase the bioavailability of oral berberine.

**Keywords:** Berberine, nano berberine, ball milling, spray drying, bioavailability.

\* Corresponding author.

E-mail address: [khanha7k64dkh@gmail.com](mailto:khanha7k64dkh@gmail.com)

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4437>

## Nghiên cứu bào chế nano berberin clorid bằng phương pháp nghiền bi

Trần Thị Vân Anh<sup>1</sup>, Đào Việt Hưng<sup>1</sup>, Phạm Quốc Tuấn<sup>1</sup>, Hà Thanh Hòa<sup>1</sup>,  
Nguyễn Thị Minh Diệp<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Thắng<sup>2</sup>, Ngô Thị Sáu<sup>3</sup>  
Trịnh Thị Duyên<sup>4</sup>, Nguyễn Thanh Hải<sup>4</sup>, Nguyễn Văn Khanh<sup>4,\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Cao đẳng Y Dược Phú Thọ, 2201 Hùng Vương, Gia Cẩm, Việt Trì, Phú Thọ, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Tân Trào, Km 6 Trung Môn, Yên Sơn, Tuyên Quang, Việt Nam

<sup>3</sup>Bệnh viện Phụ sản Trung ương, 43 Tràng Thi, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

<sup>4</sup>Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 08 tháng 9 năm 2022

Chỉnh sửa ngày 07 tháng 11 năm 2022; Chấp nhận đăng ngày 07 tháng 11 năm 2022

**Tóm tắt:** Berberin là một alkaloid benzyloquinolin bậc bốn, thường được sử dụng điều trị các bệnh tại chỗ đường tiêu hoá. Một số nghiên cứu gần đây cho thấy berberin còn có một số tác dụng hạ huyết áp, kháng ung thư, hạ cholesterol máu và bảo vệ thần kinh. Tuy nhiên, berberin có độ tan hoà tan kém, dẫn tới sinh khả dụng đường uống thấp. Do vậy, nghiên cứu này được phát triển để bào chế nano berberin nhằm khắc phục nhược điểm này. Bào chế nano berberin bằng kỹ thuật nghiền bi là phương pháp đơn giản, giúp dễ dàng ứng dụng ở quy mô sản xuất lớn. Bột nano berberin được đánh giá một số chỉ tiêu như hình thái, kích thước tiểu phân, thế zeta, độ hoà tan *in vitro*, giản đồ nhiệt DSC, phổ hồng ngoại biến đổi và phổ nhiễu xạ tia X. Kết quả nghiên cứu cho thấy bột nano berberin có kích thước gần đồng đều, kích thước tiểu phân trung bình 570,7 nm, thế zeta -28,6 mV. Độ hoà tan *in vitro* của nano berberine trong môi trường đệm phosphat pH 6,8 cao gấp khoảng 2 lần so với berberin nguyên liệu sau 60 phút hoà tan. Giản đồ nhiệt DSC và phổ hồng ngoại biến đổi cho thấy không có sự tương tác xảy ra giữa dược chất với tá dược trong quá trình bào chế. Phổ nhiễu xạ tia X đã chứng minh berberin nguyên liệu và nano berberin tồn tại ở trạng thái tinh thể. Các đặc tính lý hoá của bột nano berberin có thể giúp tăng sinh khả dụng của nano berberin dùng đường uống.

**Từ khóa:** Berberin, nano berberin, nghiền bi, sấy phun, sinh khả dụng.

### 1. Mở đầu

Hiện nay, hơn 50% hoạt chất được phát triển thành thuốc được biết tới là những chất có độ tan kém trong nước, dẫn tới sinh khả dụng theo đường uống thấp [1, 2]. Để khắc phục vấn đề này có rất nhiều các phương pháp cổ điển được sử

dụng như dùng hỗn hợp dung môi, tạo phức, hệ phân tán rắn hoặc tạo muối [3, 4].

Trong những năm gần đây, các phương pháp giảm kích thước tiểu phân xuống kích thước cỡ nanomet ngày càng được nhà khoa học quan tâm do làm tăng độ tan và tốc độ hoà tan của dược chất, từ đó tăng sinh khả dụng. Có rất nhiều phương pháp đã được ứng dụng để làm nhỏ kích

\* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: khanha7k64dkh@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4437>

thuốc tiểu phân như kết tủa trong dung môi, nghiền bi, dùng dung môi siêu tới hạn, kỹ thuật phun đông lạnh, đồng nhất hóa dưới áp suất cao [5].

Berberin (5,6-dihydro-9,10-dimethoxybenzo [g] -1,3-benzodioxolo [5,6-a] quinolizinium) là một alkaloid isoquinolin. Berberin có trong rễ, thân rễ, vỏ của những cây thuộc chi *Berberis*, *Hydrastis canadensis*, *Coptis*. Berberin cũng đã được sử dụng cho điều trị nhiễm trùng đường ruột bằng cách ức chế sự gia tăng của vi khuẩn *Helicobacter pylori*. Các nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng berberin có nhiều tác dụng sinh học quý như kháng virus, kháng khuẩn, chống viêm, hạ sốt và ngăn ngừa ung thư... [6]. Tuy nhiên berberin clorid chưa được ứng dụng nhiều trong điều trị lâm sàng do độ tan thấp ( $1,96 \pm 0,11$  mg/mL ở 25 °C trong nước) [7] và tính thấm kém trong đường tiêu hóa. Sinh khả dụng đường uống của berberin rất thấp (khoảng 5%) và được phân loại thuộc nhóm IV trong bảng phân loại BCS [8]. Do vậy, để cải thiện độ tan và tính thấm nhằm nâng cao sinh khả dụng của berberin một số dạng bào chế mới đã được triển khai như hệ nano mang thuốc, liposome, micell và phức hợp với phospholipid [9]. Trong nước, một số hệ có kích thước nano với berberin cũng đã được nghiên cứu như liposome, nano berberin [10-12].

Vì vậy, mục đích của nghiên cứu này là bào chế tiểu phân nano berberin clorid bằng kỹ thuật nghiền bi, sau đó dạng hỗn dịch của berberin clorid được chuyển về dạng bột nano berberin clorid bằng phương pháp phun sấy nhằm cải thiện độ tan cho dược chất, hứa hẹn có thể ứng dụng bột nano vào các dạng thuốc rắn dùng đường uống nhằm cải thiện sinh khả dụng cho berberin clorid.

## 2. Nguyên liệu và phương pháp

### 2.1. Nguyên liệu

Berberin clorid nguyên liệu (Trung Quốc); polyvinylpyrrolidon (PVP) K30, hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) E6, HPMC E15, natri lauryl sulfat (SLS), kali dihydrophosphat, natri hydroxid (Trung Quốc), poloxame 407 (Đức), Tween 80 (Mỹ), acetonitril HPLC, methanol

HPLC (Merk, Đức), nước tinh khiết (Việt Nam). Tá dược và hóa chất đều đạt tiêu chuẩn dược dụng hoặc tinh khiết phân tích. Berberin clorid chuẩn 87,1% do Viện Kiểm nghiệm thuốc thành phố Hồ Chí Minh cung cấp.

### 2.2. Thiết bị

Máy siêu âm Elmasonic S100H (Đức), tủ sấy Memmert UN110 (Đức), máy nghiền bi hành tinh (planetary ball mill) SFM-1 (Mỹ), hệ thống thiết bị phân tích kích thước, thế zeta Horiba SZ100 (Nhật Bản), cân kỹ thuật Sartorius PRACTUM612 – 1S (Đức), cân phân tích Sartorius QUINTIX224 – 1S (Đức), máy đo pH sension+ ph3 Hach (Trung Quốc), hệ thống máy HPLC Agilent 1260 Technologies với đầu dò DAD, bơm mẫu tự động (Agilent Technologies), máy thử độ hoà tan 708-DS Dissolution Apparatus Agilent Technologies (Mỹ), máy phân tích quét nhiệt vi sai DSC LINSEIS (Đức), máy quang phổ hồng ngoại FT-IR Agilent Cary 630 Agilent Technologies (Malaysia), tủ vi khí hậu LGC-4201 Daihan Labtech (Hàn Quốc), máy sấy phun SD-1010 (Eyela, Nhật Bản).

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.3.1. Định lượng berberin clorid bằng phương pháp HPLC

Pha động: hoà tan 3,4 g kali dihydrophosphat, 1,7 g natri laurylsulfat trong 1000 ml hỗn hợp dung môi gồm nước - acetonitril (1:1), lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: cân chính xác khoảng 10 mg berberin clorid, hoà tan hòa toàn vào bình định mức 100 ml trong pha động thu được dung dịch chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 100 µg/ml.

Dung dịch thử: mẫu thử là bột nano: Cân chính xác một lượng bột nano tương đương với khoảng 10 mg berberin clorid vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml pha động, lắc siêu âm trong 45 phút, để nguội, thêm pha động tới vạch, lắc đều, lọc qua màng 0,45 µm được dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký: cột thép không gỉ (4,6 x 250 mm) được nhồi pha tĩnh C18 (5 µm) (Eclipse XDB-C18). Detector quang phổ tử

ngoại đặt ở bước sóng 345 nm. Tốc độ dòng: 1 ml/phút. Nhiệt độ cột: nhiệt độ phòng. Thể tích tiêm: 10  $\mu$ l.

Tiến hành sắc ký các dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng berberin clorid trong các mẫu dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng berberin clorid chuẩn.

### 2.3.2. Bào chế nano berberin clorid bằng phương pháp nghiền bi

Nghiền bi: bi zirconium oxid, berberin clorid, chất diện hoạt, polyme, nước tinh khiết được cho vào buồng bi. Tiến hành nghiền bi ở tần số: 25-35 Hz, thời gian: 30-60 phút.

Quá trình sấy phun: thêm chính xác khoảng 100 ml nước tinh khiết thu được hỗn dịch loãng chứa nano berberin clorid, chuyển dạng nano berberin clorid ở dạng lỏng về dạng bột bằng phương pháp sấy phun với thông số kỹ thuật như sau: nhiệt độ đầu vào: 160 °C, áp lực súng phun: 3 atm, tốc độ phun dịch: 10 ml/phút, tốc độ thổi khí: 800 lít/giờ. Sản phẩm bột thu được bảo quản trong bình tránh ẩm ở nhiệt độ phòng.

### 2.3.3. Phương pháp đánh giá một số đặc tính của nano berberin clorid

#### Hình thái

Bột nano berberin clorid được chụp quét bằng kính hiển vi điện tử (SEM) để quan sát về hình thái tiểu phân.

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

Một lượng bột nhão nano berberin clorid hoặc bột sấy phun được phân tán trong 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.

#### Nhiệt lượng quét vi sai

Đặc tính nhiệt của các mẫu được đánh giá bằng thiết bị DSC PT1000 LINSEIS (Đức). Các mẫu được đánh giá bao gồm berberin clorid nguyên liệu, nano berberin clorid. Các mẫu (2-3 mg) được đặt trên một vi cốc nhôm và được làm nóng từ 10 °C đến 300 °C với tốc độ quét 10 °C/phút, thổi khí nitơ với tốc độ 40 mL/phút.

#### Nhiều xạ tia X

Nhiều xạ tia X của berberin clorid nguyên liệu, tá dược và nano berberin clorid thu được bằng máy đo nhiễu xạ tia X có độ phân giải cao (D8 Advance, Bruker, Đức). Các mẫu được quét theo các bước 0,02 ° từ 0 ° đến 70 ° (góc nhiễu xạ 2 $\theta$ ) ở 40 kV và được chiếu xạ Cu-K $\alpha$  ở 150 mA.

#### Quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier

Tương tác giữa berberin clorid và tá dược trong mẫu nano berberin clorid được khảo sát bằng máy quang phổ FT-IR (Cary 630, Agilent, Mỹ). Các mẫu được đánh giá bao gồm berberin clorid nguyên liệu, tá dược và nano berberin clorid. Quang phổ được ghi lại trên dải tần từ 4000 đến 650  $\text{cm}^{-1}$  với độ phân giải 2  $\text{cm}^{-1}$ .

#### Độ hòa tan in vitro

Tiến hành thử độ hòa tan trên thiết bị 708-DS Dissolution Apparatus Agilent Technologies (Mỹ) với thông số sau:

- Tốc độ cánh khuấy: 100  $\pm$  2 vòng/ phút;
- Nhiệt độ môi trường hòa tan 37 °C  $\pm$  0,5 °C;
- Môi trường hòa tan: 900 ml (môi trường đệm pH 6,8);
- Khối lượng mẫu thử: chính xác khoảng 250 mg berberin clorid nguyên liệu hoặc nano berberin clorid.

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 môi trường vào cốc thử độ hòa tan; dung dịch thử hòa tan hút ra được lọc qua màng cellulose acetat 0,45  $\mu$ m rồi đem định lượng bằng phương pháp HPLC-UV.

Hàm lượng berberin clorid đã hòa tan ở lần thứ n được tính theo công thức như sau:

$$C_n = C_{n0} + \sum_{t=1}^{n-1} \frac{V_0}{V} \times C_t$$

Trong đó:  $C_n$ : nồng độ berberin clorid đã hiệu chỉnh ở lần hút thứ n ( $\mu$ g/ml);  $C_{n0}$ : nồng độ berberin clorid định lượng được ở lần hút thứ n ( $\mu$ g/ml);  $C_t$ : nồng độ berberin clorid định lượng được ở lần hút thứ t ( $\mu$ 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.

### 3. Kết quả nghiên cứu

#### 3.1. Bào chế nano berberin clorid

##### 3.1.1. Khảo sát ảnh hưởng của loại polyme

Tiến hành bào chế nano berberin clorid bằng kỹ thuật nghiền bi với các chất ổn định khác nhau, công thức như sau: 1 g berberin clorid; 0,25 g polyme (tỷ lệ polyme/berberin clorid (kl/kl) là 25%); 0,05 g SLS (tỷ lệ chất điện hoạt/berberin clorid (kl/kl) là 5%), 5 ml nước tinh khiết ở tần số 30 Hz trong thời gian 40 phút. Nano berberin clorid trong hỗn dịch sau quá trình nghiền bi được đánh giá KTTT, chỉ số đa phân tán PDI và thế zeta. Kết quả thu được như trong Bảng 1.

Bảng 1. KTTT, PDI, thế zeta của hỗn dịch nano berberin clorid với các chất ổn định khác nhau (n=3)

Mẫu	Chất ổn định	KTTT (nm)	PDI	Thế zeta (mV)
M1	HPMC E6	545,7 ± 15,3	0,589 ± 0,020	-27,4 ± 1,2
M2	HPMC E15	936,1 ± 26,2	0,748 ± 0,026	-26,9 ± 1,5
M3	PVP K30	1041,3 ± 21,9	0,724 ± 0,034	-26,6 ± 1,4

Khi sử dụng các chất ổn định khác nhau thì KTTT và PDI của hỗn dịch nano berberin clorid khác nhau. Trong đó, khi dùng HPMC E6 cho KTTT (545,7 nm) và PDI (0,589) nhỏ nhất. Các chất ổn định là thành phần rất quan trọng được cho vào hỗn dịch nhằm ngăn chặn sự kết tập tiểu phân [13], các polyme như HPMC, PVP K30 có vai trò tạo ra hiệu ứng không gian, giúp ổn định hệ hỗn dịch [14]. Giá trị tuyệt đối thế zeta của các mẫu hỗn dịch đều cao (> 25 mV), nguyên nhân là do trong công thức sử dụng chất điện hoạt ion hoá SLS. Nhìn chung giá trị tuyệt đối thế zeta khoảng 30 mV là yêu cầu tối thiểu để đảm bảo độ ổn định của hệ hỗn dịch [15], tuy nhiên khi kết hợp với các chất ổn định mang bản chất là polyme thì giá trị tuyệt đối thế zeta khoảng 20 mV là đủ để giúp ổn định hệ hỗn dịch [13]. Sử dụng polyme là HPMC E6 để bào chế nano berberin clorid theo phương pháp nghiền bi thu được hỗn dịch nano có KTTT và PDI nhỏ

nhất. Vì thế, HPMC E6 được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

##### 3.1.2. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ polyme

Tiến hành bào chế nano berberin clorid bằng kỹ thuật nghiền bi theo công thức như M1 nhưng chỉ khác nhau về tỷ lệ HPMC E6/berberin clorid (kl/kl). Kết quả thu được trong Bảng 2.

Khi không sử dụng polyme HPMC E6 thì KTTT lớn nhất (906,3 nm), khi thêm polyme thì KTTT giảm đi, tuy nhiên khi tăng tỷ lệ HPMC E6/berberin clorid từ 5% lên 25% thì KTTT hầu như không thay đổi. Thế zeta giảm đi khi tăng tỷ lệ polyme trong công thức. Ở tỷ lệ polyme so với được chất thấp thì bề mặt tiểu phân được chất không bị bao phủ nhiều các polyme thân nước do vậy chất điện hoạt ion hóa SLS tiếp xúc và bám lên trên tiểu phân được chất dẫn tới giá trị thế zeta cao [16]. Mẫu M5 có KTTT thấp và thế zeta cao, sử dụng một lượng nhỏ polyme là thích hợp cho các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 2. KTTT, PDI và thế zeta của hỗn dịch nano berberin clorid theo tỷ lệ HPMC E6 (n=3)

Mẫu	Tỷ lệ HPMC E6/berberin clorid (kl/kl) (%)	KTTT (nm)	PDI	Thế zeta (mV)
M4	0	906,3 ± 20,5	0,643 ± 0,026	-35,7 ± 3,2
M5	5	550,6 ± 14,3	0,524 ± 0,037	-33,5 ± 2,1
M6	15	546,4 ± 16,7	0,573 ± 0,021	-29,2 ± 1,7
M1	25	545,7 ± 15,3	0,589 ± 0,020	-27,4 ± 1,2

3.1.3. Khảo sát ảnh hưởng của loại chất điện hoạt

Tiến hành bào chế nano berberin clorid bằng kỹ thuật nghiền bi theo công thức như M5 nhưng khác nhau về loại chất điện hoạt. Kết quả thu được trong Bảng 3.

Sử dụng chất điện hoạt SLS trong nghiên cứu để bào chế nano berberin clorid sẽ thu được

KTTP nhỏ nhất (550,6 nm), PDI nhỏ nhất (0,524), giá trị tuyệt đối thế zeta cao (33,5 mV) khi so sánh với Polyxame 407 và Tween 80. Điều này chứng tỏ khi sử dụng chất điện hoạt ion hóa có ảnh hưởng tới KTTP nhiều hơn khi so sánh với các chất điện hoạt không ion hóa, kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Dhapte và cộng sự [17]. Vì vậy, SLS được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 3. KTTP, PDI và thế Zeta của hỗn dịch nano berberin clorid theo loại chất điện hoạt (n=3)

Mẫu	Chất điện hoạt	KTTP (nm)	PDI	Thế zeta (mV)
M5	SLS	550,6 ± 14,3	0,524 ± 0,037	-33,5 ± 2,1
M7	Polyxame 407	754,3 ± 17,5	0,673 ± 0,083	-26,5 ± 1,3
M8	Tween 80	1024,3 ± 26,7	0,650 ± 0,067	-30,1 ± 1,4

Bảng 4. KTTP, PDI và thế Zeta của hỗn dịch nano berberin clorid theo tỷ lệ chất điện hoạt (n=3)

Mẫu	Tỷ lệ SLS/berberin clorid (kl/kl) (%)	KTTP (nm)	PDI	Thế zeta (mV)
M9	0	670,5 ± 6,71	0,632 ± 0,038	-26,3 ± 1,8
M10	1	550,4 ± 16,2	0,546 ± 0,029	-28,6 ± 1,2
M5	5	550,6 ± 14,3	0,524 ± 0,037	-33,5 ± 2,1

3.1.4. Khảo sát ảnh hưởng tỷ lệ chất điện hoạt

Tiến hành bào chế nano berberin clorid bằng kỹ thuật nghiền bi như công thức M5 nhưng khác nhau về tỷ lệ chất điện hoạt/berberin clorid. Kết quả thu được trong Bảng 4.

Khi không sử dụng SLS thì mẫu nano thu được có KTTP cao nhất (670,5 nm) và giá trị tuyệt đối thế zeta thấp nhất (26,3 mV). Sử dụng SLS là một chất điện hoạt anion hóa có vai trò ổn định hỗn dịch dựa vào lực đẩy tĩnh điện [16]. Việc kết hợp giữa polyme và chất điện hoạt có vai trò làm giảm KTTP và tăng giá trị tuyệt đối

thế zeta của mẫu, tăng tỷ lệ chất điện hoạt cũng làm tăng giá trị tuyệt đối thế zeta [18]. Do vậy, tỷ lệ SLS/berberin clorid (kl/kl) là 1% được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.1.5. Khảo sát ảnh hưởng tần số nghiền

Tiến hành bào chế nano berberin clorid bằng kỹ thuật nghiền bi với công thức M10 như sau: 1 g berberin clorid; 0,05 g HPMC E6 (tỷ lệ HPMC E6/berberin clorid (kl/kl) là 5%); 0,01 g SLS (tỷ lệ SLS/berberin clorid (kl/kl) là 1%), 5 ml nước tinh khiết ở tần số khác nhau trong thời gian 40 phút. Kết quả thu được như trong Bảng 5.

Bảng 5. KTTP, PDI và thế zeta của hỗn dịch nano berberin clorid theo tần số nghiền (n=3)

Mẫu	Tần số (Hz)	KTTP (nm)	PDI	Thế zeta (mV)
M11	25	648,5 ± 19,4	0,441 ± 0,009	-29,4 ± 1,2
M10	30	550,4 ± 16,2	0,546 ± 0,029	-28,6 ± 1,2
M12	35	846,1 ± 12,9	0,612 ± 0,015	-27,3 ± 1,1

KTTP nhỏ nhất khi nghiền ở tần số  $f = 30$  Hz (550,4 nm). Điều này có thể được giải thích là do ở tần số  $f = 30$  Hz hình thành cả lực va chạm và lực mài mòn trong quá trình nghiền bị còn khi nghiền ở tần số thấp hơn ( $f = 20$  hoặc  $25$  Hz) thì lực mài mòn là cơ chế chính gây gây vỡ tiểu phân, ngược lại ở tần số nghiền quá cao ( $f = 35$  Hz) thì các viên bi sẽ bị lực ly tâm ép vào thành, vì thế không có quá trình mài mòn hay va đập xảy ra dẫn tới kích thước tiểu phân tăng. Nghiền bi với tần số  $f = 30$  Hz thu được KTTP nhỏ nhất, được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

### 3.1.6. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian nghiền

Tiến hành bào chế nano berberin clorid bằng kỹ thuật nghiền bi với công thức M10 nhưng khác nhau về thời gian. Kết quả thu được trong Bảng 6.

Nghiền bi berberin clorid với polyme là HPMC E6 và chất diện hoạt là SLS trong thời gian 40 phút sẽ thu được KTTP thấp nhất (550,4 nm) và PDI (0,546) bé nhất. Vì vậy, thời gian 40 phút lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 6. KTTP, PDI và thế zeta của hỗn dịch nano berberin clorid theo thời gian nghiền (n=3)

Mẫu	Thời gian nghiền (phút)	KTTP (nm)	PDI	Thế zeta (mV)
M13	30	925,8 ± 19,4	0,823 ± 0,019	-29,4 ± 1,2
M10	40	550,4 ± 16,2	0,546 ± 0,029	-28,6 ± 1,2
M14	50	618,5 ± 24,7	0,707 ± 0,026	-30,4 ± 1,3
M15	60	625,3 ± 19,3	0,713 ± 0,021	-32,5 ± 0,8

Bảng 7. KTTP, PDI, thế zeta của bột nano berberin clorid (n=3)

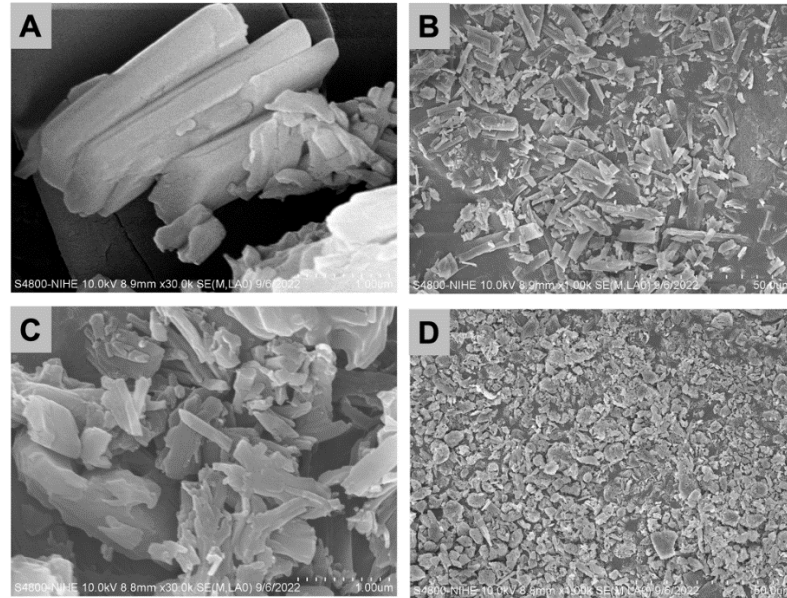
Mẫu	KTTP (nm)	PDI	Thế zeta (mV)
Nano berberin clorid	570,7 ± 13,6	0,576 ± 0,034	-28,6 ± 1,1

### 3.2. Đánh giá một số đặc tính của nano berberin clorid bào chế được

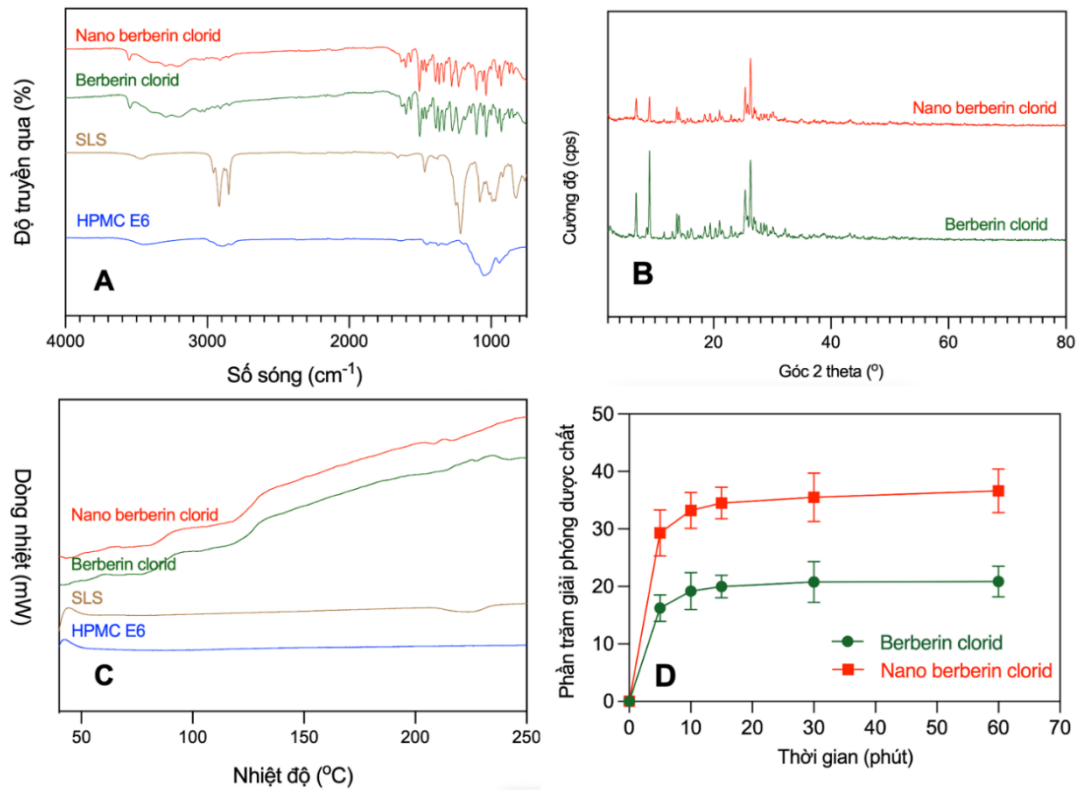
Tiến hành bào chế 3 mẻ nano berberin clorid ở phòng thí nghiệm bằng kỹ thuật nghiền bi (1 g berberin clorid; 0,05 g polyme HPMC E6; 0,01 g SLS và 5 ml nước tinh khiết) ở tần số 30 Hz trong thời gian 40 phút sau đó đưa hỗn dịch nano berberin clorid tạo thành về dạng bột bằng phương pháp sấy phun. Nano berberin clorid được đánh giá một số đặc tính, kết quả thể hiện trong Bảng 7, Hình 1 và Hình 2.

Hình ảnh SEM cho thấy bột berberin clorid nguyên liệu có dạng hình que, nhiều góc cạnh với kích thước cỡ khoảng vài chục micromet còn nano berberin clorid có kích thước bé hơn khoảng dưới 1  $\mu\text{m}$ . Ngoài ra nano berberin clorid có hình dạng đồng đều, ít góc cạnh hơn nhiều so với nguyên liệu.

Berberin clorid nguyên liệu có các pic ở bước sóng  $2907\text{ cm}^{-1}$  và  $2847\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng cho liên kết C-H (alkan);  $1599\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng cho liên kết C=N,  $1505\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng cho liên kết C=C ở vòng thơm;  $1058\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng cho liên kết C-O;  $1036\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng cho liên kết C-H [19]. Phổ hồng ngoại của nano berberin clorid cũng cho các pic đặc trưng tương tự khi so sánh với berberin clorid nguyên liệu. Giảm độ nhiệt DSC của berberin clorid có các pic thu nhiệt ở  $81,4\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $118,1\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $208,4\text{ }^\circ\text{C}$  và  $216,9\text{ }^\circ\text{C}$ . Nano berberin clorid có các pic thu nhiệt tương tự nguyên liệu ở  $73,9\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $113,7\text{ }^\circ\text{C}$ ;  $209,3\text{ }^\circ\text{C}$  và  $222,9\text{ }^\circ\text{C}$ . Các kết quả này có thể chỉ ra rằng không có sự tương tác giữa berberin clorid với các tá dược trong quá trình nghiền ướt và phun sấy.



Hình 1. Hình thái tiểu phân berberin clorid nguyên liệu (A, B) và nano berberin clorid (C, D).



Hình 2. Phổ hồng ngoại biến đổi (A), phổ nhiễu xạ tia X (B), giản đồ nhiệt DSC (C) và độ hoà tan *in vitro* (D) của berberin clorid nguyên liệu và nano berberin clorid.



Phổ nhiễu xạ tia X của berberin clorid có nhiều pic nhiễu xạ, đặc biệt có đỉnh nhiễu xạ mạnh ở  $6,9^\circ$ ;  $9,2^\circ$ ,  $20,5^\circ$  và  $21,4^\circ$ . Chứng tỏ nguyên liệu berberin clorid tồn tại ở trạng thái kết tinh. Phổ nhiễu xạ tia X của nano berberin clorid vẫn có nhiều pic nhiễu xạ tương đồng so với berberin clorid nguyên liệu. Tuy nhiên cường độ tại các đỉnh nhiễu xạ của mẫu nano đều giảm, đặc biệt ở góc  $6,9^\circ$  và  $9,2^\circ$ . Điều này cho thấy có thể có một tỷ lệ nhỏ berberin clorid chuyển từ trạng thái kết tinh sang trạng thái vô định hình. Kết quả cũng tương đồng với một số nghiên cứu trước [20, 21].

Độ hòa tan *in vitro* của bột nano berberin clorid cao hơn so với berberin clorid nguyên liệu. Sau 5 phút, mẫu nano berberin clorid hòa tan được 29,3% cao gấp 1,8 lần so với berberin clorid nguyên liệu (16,2%). Từ phút thứ 5 đến phút 60, độ hòa tan của mẫu nano berberin clorid và berberin clorid nguyên liệu đều tăng nhưng không nhiều.

So sánh với hai nghiên cứu trước trong nước về thời gian bào chế berberin bằng kỹ thuật nghiền bi (120 giờ) [10, 11] thì phương pháp trong nghiên cứu này có thời gian nghiền ngắn hơn rất nhiều khoảng 40 phút. Ngoài ra các đặc tính lý hoá của bột nano berberin clorid cũng được đánh giá chi tiết hơn.

#### 4. Kết luận

Nghiên cứu đã bào chế được nano berberin clorid bằng kỹ thuật nghiền bi. Công thức bào chế được lựa chọn gồm 1 g berberin clorid nguyên liệu; 0,05 g HPMC E6; 0,01 g SLS và 5 ml nước tinh khiết; được nghiền ướt ở tần số 30 Hz trong thời gian 40 phút. Bột nano berberin clorid bào chế được có kích thước gần đồng đều với kích thước tiểu phân trung bình 570,7 nm, thế zeta -28,6 mV, độ hòa tan *in vitro* trong môi trường đệm phosphat pH 6,8 cao gấp khoảng 2 lần so với berberin clorid nguyên liệu sau 60 phút hoà tan. Không nhận thấy có sự tương tác xảy ra giữa dược chất với tá dược trong quá trình bào chế dựa vào giản đồ nhiệt DSC và phổ hồng ngoại biến đổi. Phổ nhiễu xạ tia X đã chứng minh

nano berberin clorid vẫn tồn tại ở trạng thái tinh thể giống như berberin clorid nguyên liệu.

#### 5. Lời cảm ơn

Tập thể tác giả xin chân thành cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Phú Thọ đã tài trợ kinh phí; Trung tâm Nghiên cứu và Chuyển giao Công nghệ Dược, Trường Cao đẳng Y Dược Phú Thọ; Bộ môn Bảo chế và Công nghiệp Dược phẩm, Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội đã hỗ trợ thực hiện nghiên cứu này.

#### Tài liệu tham khảo

- [1] S. Stegemanna, F. Leveiller, D. Franchi, H. D. Jong, H. Linden, When Poor Solubility Becomes an Issue: from Early Stage to Proof of Concept, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 31, No. 5, 2007, pp. 249-261, <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2007.05.110>.
- [2] C. A. Lipinski, Avoiding Investment in Doomed Drugs, is Poor Solubility an Industry Wide Problem?, *Curr Drug Dis*, Vol. 4, 2001, pp. 17-19.
- [3] A. Jouyban, In Silico Prediction of Drug Solubility in Water-dioxane Mixtures using the Jouyban-Acree Model, *Pharmazie*, Vol. 62, No. 1, 2007, pp. 46-50, <https://doi.org/10.1691/ph2007.1.6057>.
- [4] F. I. Kanaze, E. Kokkalou, I. Niopas, M. Georgarakis, A. Stergiou, D. Bikiaris, Dissolution Enhancement of Flavonoids by Solid Dispersion in PVP and PEG Matrixes: a Comparative Study, *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 102, No. 1, 2006, pp. 460-471, <https://doi.org/10.1002/app.24200>.
- [5] R. Mauludin, R. H. Müller, C. M. Keck, Kinetic Solubility and Dissolution Velocity of Rutin Nanocrystals, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 36, No. 4-5, 2009, pp. 502-510, <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2008.12.002>.
- [6] E. Mirhadi, M. Rezaee, B. M. Nikouei, Nano Strategies for Berberine Delivery, *A Natural Alkaloid of Berberis*, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Vol. 104, 2018, pp. 465-473, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.05.067>.
- [7] S. K. Battu, M. A. Repka, S. Maddineni, A. G. Chittiboyina, M. A. Avery, S. Majumdar, Physicochemical Characterization of Berberine Chloride: A Perspective in the Development of a Solution Dosage Form for Oral Delivery, *AAPS*

- PharmSciTech, Vol. 11, No. 3, 2010, pp. 1466-1475, <https://doi.org/10.1208/s12249-010-9520-y>.
- [8] R. Shen, J. J. Kim, M. Yao, T. A. Elbayoumi, Development and Evaluation of Vitamin E d- $\alpha$ -tocopheryl Polyethylene Glycol 1000 Succinate-mixed Polymeric Phospholipid Micelles of Berberine as an Anticancer Nanopharmaceutical, *Int J Nanomedicine*, Vol. 26, No. 11, 2016, pp. 1687-1700, <https://doi.org/10.2147/IJN.S103332>.
- [9] A. Thomas, S. Kamble, S. Deshkar, L. Kothapalli, S. Chitlange, Bioavailability of Berberine: Challenges and Solutions, *Istanbul J Pharm*, Vol. 51, No. 1, 2020, pp. 141-153, <https://doi.org/10.26650/IstanbulJPharm.2020.0056>.
- [10] N. H. Tuyen, P. T. K. Ngan, M. N. T. Anh, H. T. Duong, L. H. A. Thu, P. T. Dung, P. T. Hong, N. V. K. Thanh, Fabrication of Berberine Nanoparticles and Evaluation of Antifungal Activity on Candida Albicans, *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, Vol. 62, No. 7, 2020, pp. 12-16 (in Vietnamese).
- [11] D. T. Sinh, V. N. Kieu, P. D. P. Dung, N. H. Tuyen, N. V. K. Thanh, M. N. T. Anh, A Study of Fabrication of Berberine Nanoparticles by Roll Milling Method and Their Ability to Inhibit Cancer Cell Lines, *Can Tho University Journal of Science*, Vol. 56, No.2, 2020, pp. 33-40, <https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2020.109> (in Vietnamese).
- [12] D. T. Thuan, A. Isomäki, U. Paaver, I. Laidmäe, A. Tõnisoo, T. T. H. Yen, K. Kogermann, A. Raal, J. Heinämäki, P. T.M. Hue, Nanoformulation and Evaluation of Oral Berberine-Loaded Liposomes, *Molecules*, Vol. 26, No. 9, pp. 1-18, <https://doi.org/10.3390/molecules26092591>.
- [13] Y. Wang, L. Zhang, Q. Wang, D. Zhang, Stability Issue of Nanosuspensions in Drug Delivery, *Journal of Controlled Release*, Vol. 172, No. 3, 2013, pp. 1126-1141, <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.08.006>.
- [14] S. Verma, B. D. Huey, D. J. Burgess, Scanning Probe Microscopy Method for Nanosuspension Stabilizer Selection, *Langmuir*, Vol. 25, No. 21, 2009, pp. 12481-12487, <https://doi.org/10.1021/la9016432>.
- [15] Y. C. Wang, D. R. Zhang, Z. P. Liu, G. P. Liu, C. X. Duan, L. J. Jia, F. F. Feng, X. Y. Zhang, Y. Q. Shi, Q. Zhang, In Vitro and In Vivo Evaluation of Silybin Nanosuspensions for Oral and Intravenous Delivery, *Nanotechnology*, Vol. 21, No. 15, 2010, pp. 1-12, <https://doi.org/10.1088/0957-4484/21/15/155104>.
- [16] S. Verma, R. Gokhale, D. J. Burgess, A Comparative Study of Top-down and Bottom-up Approaches for the Preparation of Micro/nanosuspensions, *Int. J. Pharm*, Vol. 380, No. 1-2, 2009, pp. 216-222, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.07.005>.
- [17] V. Dhapte, V. Pokharkar, Polyelectrolyte Stabilized Antimalarial Nanosuspension Using Factorial Design Approach, *J. Biomed. Nanotechnol*, Vol. 7, No. 1, 2011, pp. 139-141, <https://doi.org/10.1166/jbns.2010.1037>.
- [18] S. K. Singh, K. K. Srinivasan, K. Gowthamarajan, D. S. Singare, D. Prakash, N. B. Gaikwad, Investigation of Preparation Parameters of Nanosuspension by Top-down Media Milling to Improve the Dissolution of Poorly Water-Soluble Glyburide, *Eur. J. Pharm. Biopharm*, Vol. 78, No. 3, 2011, pp. 441-446, <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2011.03.014>.
- [19] P. Lam, K. K. Lee, S. H. Kok, G. Y. Cheng, X. Tao, D. K. Hau, M. C. Yuen, K. Lam, R. Gambari, C. Chui, R. S. Wong, Development of Formaldehyde-free Agar/gelatin Microcapsules Containing Berberine HCl and Gallic Acid and their Topical and Oral Applications, *Soft Matter*, Vol. 8, No. 18, 2012, pp. 5027-5037, <https://doi.org/10.1039/C2SM07236J>.
- [20] M. Kakran, N. G. Sahoo, L. Li, Z. Judeh, Y. Wang, K. Chong, L. Loh, Fabrication of Drug Nanoparticles by Evaporative Precipitation of Nanosuspension, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 383, No. 1-2, 2010, pp. 285-292, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2009.09.030>.
- [21] M. U. K. Sahibzada, A. Sadiq, H. S. Faidah, M. Khurram, M. U. Amin, A. Haseeb, M. Kakar, Berberine Nanoparticles with Enhanced In Vitro Bioavailability: Characterization and Antimicrobial Activity, *Drug Design, Development and Therapy*, Vol. 12, 2018, pp. 303-312, <https://doi.org/10.2147/DDDT.S156123>.