



Original Article

In vivo Evaluation of Berberine-loaded Liposomes in the Exogenous Hyperlipidemia Animal Model

Duong Thi Thuan¹, Nguyen Thi Quynh Trang², Nguyen Thuy Duong²,
Nguyen Thanh Hai³, Pham Thi Minh Hue^{2,*}

¹College of Medicine and Pharmacy, Duy Tan University, 120 Hoang Minh Thao, Da Nang, Vietnam

²Hanoi University of Pharmacy, 13-15 Le Thanh Tong, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam

³VNU University of Medicine and Pharmacy, 144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

Received 11 November 2023

Revised 28 November 2023; Accepted 08 December 2023

Abstract: Berberine (BBR) is an alkaloid presenting exogenous cholesterol lowering and anti-hyperlipidemia therapeutic effects in the literature. In this study, the exogenous lipid-lowering effects of oral BBR-loaded liposomes were investigated in rats compared with free BBR within four weeks. The BBR-loaded liposomes at the daily oral dose of 25 mg BBR/kg of body weight in rats reduced total cholesterol (TC) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) by 22.34% ($p>0.05$), 43.93% ($p<0.05$), respectively. These values (TC and LDL-C) when rats were given BBR-loaded liposomes at the daily oral dose of 50 mg BBR/kg were 30.72% ($p<0.05$) and 42.77% ($p<0.05$) compared with those values of the untreated control group, respectively. Both doses of BBR-loaded liposomes have no signals in decreasing triglycerides.

Keywords: Berberine, berberine-loaded liposomes, anti-hyperlipidemia, animal model.

* Corresponding author.

E-mail address: hueptm@hup.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4573>

Đánh giá *in vivo* tác dụng hạ lipid máu ngoại sinh của liposome berberin trên mô hình động vật

Dương Thị Thuần¹, Nguyễn Thị Quỳnh Trang², Nguyễn Thùy Dương², Nguyễn Thanh Hải³, Phạm Thị Minh Huệ^{2,*}

¹Trường Y Dược, Đại học Duy Tân, 120 Hoàng Minh Thảo, Đà Nẵng, Việt Nam

²Trường Đại học Dược Hà Nội, 13-15 Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 11 tháng 11 năm 2023

Chỉnh sửa ngày 28 tháng 11 năm 2023; Chấp nhận đăng ngày 08 tháng 12 năm 2023

Tóm tắt: Berberin (BBR) là một alkaloid có nhiều tác dụng sinh học tiềm năng, trong đó có khả năng làm giảm lipid máu. Trong nghiên cứu này, hiệu quả làm giảm lipid máu của liposome BBR trên mô hình chuột cống được gây tăng lipid máu ngoại sinh được đánh giá so sánh với BBR tự do sau thời gian điều trị 4 tuần. Liposome BBR với liều uống hằng ngày tương ứng với 25 mg BBR/kg làm giảm cholesterol toàn phần (TC) ở mức 22,34 % nhưng không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), trong lúc đó liposome BBR ở liều này làm giảm cholesterol tỉ trọng thấp (LDL-C) ở mức 43,93% so với nhóm chứng bệnh ($p < 0,05$). Liposome BBR với liều tương ứng 50 mg BBR/kg làm giảm cả hai chỉ số TC và LDL-C một cách có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với tỉ lệ làm giảm lần lượt là 30,72% và 42,77% so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$). Cả 2 mức liều liposome BBR tương ứng với BBR 25 mg/kg và 50 mg/kg chưa thể hiện giảm triglycerid sau 4 tuần điều trị.

Từ khóa: Berberine, liposome berberin, hạ lipid máu, mô hình động vật.

1. Mở đầu

Rối loạn lipid máu là tình trạng tăng hoặc giảm mức lipid gây ra nhiều ảnh hưởng khác nhau tới sức khỏe con người. Những rối loạn này thường là tăng triglycerid, LDL hoặc cả hai [1].

BBR là một isoquinolin alkaloid bậc 4, được chiết xuất từ rễ, thân rễ và vỏ của một số loài thuộc chi Berberis, họ Hoàng liên gai (Berberidaceae) hoặc một số loài khác thuộc các chi Coptis, Hydrastis, Thlictrum, họ Mao lương (Ranunculaceae) [2]. Ngày nay, BBR đã được tổng hợp và sử dụng rộng rãi trong ngành Dược. Tác dụng truyền thống của BBR là kháng khuẩn và các ký sinh trùng đường ruột như *ly amip*, *E. Coli*, dùng điều trị tại chỗ các bệnh đường tiêu

hóa như đau bụng, tiêu chảy [2, 3]. Trong những năm gần đây, có nhiều nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* cho thấy BBR dạng clorid có nhiều tác dụng dược lý tiềm năng như làm giảm đường huyết [4-7], chống xơ vữa động mạch [8], bảo vệ nội mô [9, 10], bảo vệ thận [11], bảo vệ gan [12], bảo vệ tim trong suy tim và thiếu máu cục bộ [13], điều hòa miễn dịch [14, 15], chống oxy hóa [16], ức chế tế bào ung thư [17-19].

Tác dụng làm giảm lipid máu của BBR được khẳng định trong nhiều nghiên cứu trên động vật. Trên chuột cống, BBR ở cả 3 mức liều 50 mg/kg, 100 mg/kg và 150 mg/kg làm giảm cholesterol tỉ trọng thấp (LDL-C) ở mức 31-41%, giảm cholesterol toàn phần (TC) 29-33% so với nhóm chứng sau 8 tuần điều trị. Mức giảm không có sự

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: hueptm@hup.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1094/vnuees.4573>

khác biệt giữa các liều [20]. Trong lúc đó, trên chuột hamster, tỉ lệ giảm LDL-C ở mức liều 50 mg/kg là 26% và ở mức liều 100 mg/kg là 42% so với nhóm chứng sau 10 ngày điều trị [21]. Với mức liều BBR 380 mg/kg trên chuột cống sau 2 tuần điều trị, mức giảm triglycerid (TG) và TC lần lượt là 34,7% và 9% so với nhóm chứng [22]. Một nghiên cứu khác trên chuột cống ở mức liều 200mg/kg cho thấy, nồng độ TC và LDL-C trong máu cũng giảm có ý nghĩa thống kê sau thời gian điều trị 16 tuần [23].

Tuy nhiên, để có tác dụng này, BBR cần được hấp thu vào tuần hoàn. Trong khi đó, BBR bị hạn chế bởi sinh khả dụng đường uống kém (dưới 10%) do BBR có tính thấm kém, bị chuyển hóa lần đầu ngay tại ruột, bị ảnh hưởng bởi bơm tống thuốc có trên bề mặt niêm mạc ruột, bị tái bài tiết bởi chu trình gan mật [12, 24, 25]. Việc sử dụng BBR dạng thuốc truyền thống qua đường uống với liều cao để điều trị đã dẫn đến những tác dụng không mong muốn, biểu hiện trên đường ruột như: tiêu chảy, táo bón, đau bụng [7]. Những hạn chế về sinh khả dụng đường uống của BBR có thể được khắc phục bằng sử dụng hệ mang dược chất liposome.

Liposome là một trong những hệ nano mang dược chất, có nhiều ưu điểm so với các dạng thuốc rắn thông thường, có khả năng cải thiện sinh khả dụng của các dược chất kém tan trong nước, có tính tương hợp sinh học cao và an toàn khi sử dụng [26].

Liposome BBR đã được bào chế thành công và đánh giá tác dụng giảm lipid máu nội sinh trên động vật thực nghiệm cho kết quả khả quan [28]. Vì vậy, trong nghiên cứu này, hệ mang dược chất liposome tiếp tục được nghiên cứu đánh giá làm giảm lipid máu trên mô hình chuột được gây tăng lipid máu ngoại sinh bằng chế độ ăn giàu cholesterol.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu và động vật thí nghiệm

2.1.1. Mẫu thử

Mẫu thử là liposome BBR được pha lại từ proliposome BBR (có thành phần berberin,

hydrogenated soy phosphatidyl cholin, distearoylphosphatidyl glycerol, alpha-tocopherol, sodium deoxycholat và manitol [28]) với lượng nước cất thích hợp để được các nồng độ được chất tương ứng với các liều thử được thiết kế.

2.1.2. Hóa chất, thuốc thử, thuốc đối chiếu

BBR (Hàm lượng > 98%. CTPT: C₂₀H₁₈NO₄. MW: 336,36 g/mol; CAS number: 2086-83-1, Biological Technology - Trung Quốc). Artorvastatin 10 mg (biệt dược Lipitor, Pfizer – USA). Cholesterol 95% (công ty hóa chất Acros Organics – USA). Acid cholic (Hefei Bomei Biotechnology Co., Ltd – Trung Quốc). Propylthiouracil (PTU) (công ty CP SHDP Ba Đình – Việt Nam). Bộ kit định lượng các thông số sinh hóa: TC, LDL-C, HDL-C, TG (ERBA Diagnostics Mannheim – USA).

2.1.3. Động vật thí nghiệm

Chuột cống trắng chủng Wistar, cả hai giống, cân nặng từ 180-220 g, khỏe mạnh, do Học viện Quân y cung cấp.

Động vật được nuôi ổn định trong điều kiện phòng thí nghiệm ít nhất 5 ngày trước khi thực hiện nghiên cứu tại phòng nuôi động vật thí nghiệm Bộ môn Dược lý, Trường Đại học Dược Hà Nội. Chuột được nuôi dưỡng trong nhiệt độ trong khoảng 22 ± 3 °C, ánh sáng tự nhiên, 30% ≤ độ ẩm ≤ 70%, cho ăn bằng thức ăn tiêu chuẩn do Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương cung cấp, chu trình 12 giờ sáng/ tối, uống nước tự do.

2.1.4. Máy móc, thiết bị

Máy ly tâm lạnh Sigma 4-16KS (Sigma - Đức). Máy sinh hóa TC 3300 plus (Teco Diagnostic USA).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế liều thử in vivo cho mẫu thử

Liều mẫu thử liposome BBR được xây dựng dựa trên liều BBR đã được chứng minh có tác dụng hạ lipid máu trong nghiên cứu của Wang Y. và cộng sự. Kết quả nghiên cứu trên chuột cống cho thấy không có sự khác biệt đáng kể về tác dụng hạ lipid máu giữa ba mức liều BBR là 50, 100 và 150 mg/kg [20]. Vì vậy, liều BBR 50

mg/kg là căn cứ để tiến hành nghiên cứu. Liều thử 1: chuột cống trắng được uống liposome BBR tương ứng với 25 mg BBR/kg (một nửa liều đã tham khảo). Liều thử 2: chuột cống trắng được uống liposome BBR tương ứng với 50 mg BBR/kg (liều tương đương với liều đã tham khảo).

2.2.2. Đánh giá tác dụng hạ lipid máu của liposome berberin trên mô hình gây tăng lipid máu ngoại sinh

Mô hình tăng cholesterol máu ngoại sinh được xây dựng và điều chỉnh theo mô hình gây tăng cholesterol ngoại sinh cho chuột cống trắng bằng chế độ ăn giàu lipid của Nassiri và cộng sự (2009) bằng cách sử dụng hỗn hợp dầu cholesterol chứa hàm lượng thấp acid cholic và propylthiouracil trên chuột cống trắng [27].

Chuẩn bị hỗn hợp giàu cholesterol:

Đun nóng cách thủy 40 ml dầu lạc, cho 10 gam cholesterol vào, khuấy đều cho tan hết. Để nguội, cho thêm 1 gam acid cholic và 0,5 gam propylthiouracil, cuối cùng thêm dầu lạc vừa đủ 100 ml.

Bố trí thực nghiệm:

Động vật thực nghiệm là chuột cống trắng được nuôi ổn định trong điều kiện phòng thí nghiệm 5 ngày. Chuột được chia ngẫu nhiên thành 6 lô và cho uống hỗn hợp dầu cholesterol hoặc mẫu thử với thể tích 1 ml/100 g chuột. Các lô chuột thực nghiệm được bố trí như sau: lô chứng sinh lý được cho uống nước cất với thể tích 1 ml/100g chuột; lô chứng bệnh được cho uống hỗn hợp dầu cholesterol, sau đó 2 giờ được cho uống nước với thể tích 1 ml/100 g chuột; lô chứng dương được cho uống hỗn hợp dầu cholesterol, sau đó 2 giờ được cho uống atorvastatin liều 10 mg/kg; lô đối chiếu được cho uống hỗn hợp dầu cholesterol, sau đó 2 giờ được cho uống hỗn dịch BBR với liều 50 mg/kg; lô thử 1: uống hỗn hợp dầu cholesterol, sau đó 2 giờ được cho uống liposome BBR tương ứng với liều 25 mg BBR/kg; lô thử 2: uống hỗn hợp dầu cholesterol, sau đó 2 giờ được cho uống liposome BBR tương ứng với liều 50 mg BBR/kg. Chuột được uống hàng ngày như trên, liên tục trong 4 tuần. Vào ngày thứ 15 (sau 2 tuần) và ngày thứ 29 (sau 4 tuần) của thí nghiệm, các lô chuột được cho nhịn ăn qua đêm, lấy máu

tĩnh mạch đùi chuột, ly tâm lấy huyết thanh và tiến hành định lượng các thông số lipid máu.

Thông số đánh giá:

Nồng độ TC, LDL-C, TG và HDL-C tại thời điểm 2 tuần và 4 tuần. Tỷ lệ giảm nồng độ TC, LDL-C, TG của lô thử so với lô chứng bệnh được tính theo công thức:

$$H (\%) = (C_b - C_t) / C_b \times 100\%$$

Trong đó:

C_b: nồng độ TC, LDL-C, TG của lô chứng bệnh;

C_t: nồng độ TC, LDL-C, TG của lô thử.

2.2.3. Xử lý số liệu

Tất cả các số liệu được phân tích thống kê bằng phần mềm SPSS 20.0. Kết quả biểu diễn dưới dạng $M \pm SD$ (M: giá trị trung bình từng lô, SD: độ lệch chuẩn). So sánh giá trị trung bình giữa các lô bằng T-test. Sự khác biệt giữa các lô được coi là có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của liposome berberin tới nồng độ cholesterol toàn phần trên chuột gây tăng lipid máu ngoại sinh

Sau khi chuột cống trắng được gây tăng lipid máu ngoại sinh bằng phương pháp mô tả ở mục 2.2.2, nồng độ TC của lô chuột được xác định để đánh giá sự ảnh hưởng của liposome BBR lên nồng độ TC chuột cống sau 2 tuần và 4 tuần điều trị. Kết quả được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1 cho thấy, sau 2 tuần uống hỗn hợp dầu cholesterol, chuột ở lô chứng bệnh có nồng độ TC tăng so với lô chứng sinh lý với tỷ lệ tăng là 120,12% ($p < 0,01$). Sau 4 tuần, hỗn hợp dầu cholesterol đã làm tăng rõ rệt nồng độ TC của lô chứng bệnh so với lô chứng sinh lý là 216,57%; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Ở lô chứng dương cho thấy tại thời điểm 2 tuần, atorvastatin liều 10 mg/kg có xu hướng làm giảm nồng độ TC, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh ($p > 0,05$).

Sau 4 tuần, atorvastatin đã làm giảm nồng độ TC rõ rệt so với lô chứng bệnh với tỷ lệ giảm là 35,43% ($p < 0,05$). Như vậy, atorvastatin liều 10

mg/kg đã làm giảm nồng độ TC chuột cống trắng bị gây tăng lipid máu ngoại sinh bằng hỗn hợp dầu cholesterol sau 4 tuần. Ở lô đối chiếu, tại thời điểm 2 tuần và 4 tuần, chuột uống hỗn dịch BBR liều 50 mg/kg có nồng độ TC giảm tương ứng là 16,62% và 24,61% so với lô chứng bệnh, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Kết quả này khác với kết quả nghiên cứu của Wang và cộng sự [20] (BBR ở liều 50 mg/kg làm giảm TC 29% với $p < 0,01$) có thể là do thời gian nghiên cứu chưa đủ để phát huy tác dụng của BBR một cách rõ rệt hoặc cỡ mẫu chưa đủ lớn. Trong nghiên cứu này, thời gian thiết kế là 4 tuần, cỡ mẫu $n=8$ so với nghiên cứu của Wang và cộng sự, thời gian nghiên cứu kéo dài 8 tuần, cỡ mẫu $n=12$. Tuy nhiên, ở một nghiên cứu khác của Hu và cộng sự lại cho thấy chuột cống được uống BBR ở mức liều cao 380 mg/kg trong 2 tuần vẫn chưa có sự giảm nồng độ TC một cách có ý nghĩa thống kê (giảm 9% so với lô chứng với $p = 0,084$) [22]. Chuột uống hỗn dịch BBR liều 50 mg/kg sau 4 tuần có tỉ lệ giảm TC kém hơn lô uống chứng dương 16,76%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p=0,292$). Liposome BBR liều thấp tương ứng 25 mg BBR/kg có xu hướng làm giảm nồng độ TC so với lô chứng bệnh ở cả 2 thời điểm 2 tuần và 4 tuần với tỷ lệ giảm tương ứng là 14,4% và

22,34%. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Chuột uống liposome BBR ở liều này có tỉ lệ giảm TC kém hơn lô chứng dương 20,27 %, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p=0,276$). Ở lô thử 2, tại thời điểm 2 tuần, liposome BBR liều tương ứng 50 mg BBR/kg có xu hướng làm giảm nồng độ TC với tỷ lệ 33,24% (giảm nhiều hơn so với lô đối chiếu) khi so với lô chứng bệnh; tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Đến thời điểm 4 tuần, liposome BBR liều tương ứng 50 mg BBR/kg đã làm giảm nồng độ TC (giảm 30,72%) có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$). So với lô chứng dương, chuột uống liposome BBR ở liều tương ứng 50 mg BBR/kg có tỉ lệ giảm TC kém hơn 6,80%, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p=0,614$). Như vậy, liposome BBR liều tương ứng 50 mg BBR/kg có xu hướng làm giảm nồng độ TC nhiều hơn dạng hỗn dịch và tác dụng giảm TC đã xuất hiện vào thời điểm 4 tuần ($p < 0,05$), trong khi hỗn dịch BBR không làm thay đổi có ý nghĩa thống kê thông số này ($p > 0,05$). Kết quả này được cho là nhờ ưu điểm làm tăng nồng độ của BBR trong máu của dạng bào chế liposome BBR thể hiện trong kết quả nghiên cứu được động học trước đó [28] và một số nghiên cứu khác công bố [29, 30].

Bảng 1. Nồng độ cholesterol toàn phần huyết thanh chuột cống trắng trên mô hình gây tăng lipid máu ngoại sinh tại các thời điểm nghiên cứu

Lô	2 tuần			4 tuần		
	n	TC (mmol/L)	Tỷ lệ giảm (%) ^a	n	TC (mmol/L)	Tỷ lệ giảm (%) ^a
Chứng sinh lý	8	1,64 ± 0,17		8	1,81 ± 0,16	
Chứng bệnh	8	3,61 ± 1,42 ^{§§}		8	5,73 ± 1,86 ^{§§§}	
Chứng dương (atorvastatin 10 mg/kg)	7	2,36 ± 0,82	34,63	8	3,70 ± 1,03*	35,43
Đối chiếu (hỗn dịch BBR 50 mg/kg)	7	3,01 ± 0,14	16,62	8	4,32 ± 1,24	24,61
Thử 1 (liposome BBR 25 mg BBR/kg)	7	3,09 ± 0,36	14,40	8	4,45 ± 1,53	22,34
Thử 2 (liposome BBR 50 mg BBR/kg)	6	2,41 ± 0,41	33,24	8	3,97 ± 1,03*	30,72

Ghi chú: số liệu biểu diễn dưới dạng $M \pm SD$; §§§, $p < 0,001$ khi so sánh với lô chứng sinh lý; §§, $p < 0,01$ khi so sánh với lô chứng sinh lý; *, $p < 0,05$ khi so sánh với lô chứng bệnh; a: so với lô chứng bệnh.

3.2. Ảnh hưởng của liposome berberin tới nồng độ cholesterol LDL-C trên chuột gây tăng lipid máu ngoại sinh

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của liposome BBR lên nồng độ LDL-C trên chuột cống trắng ở mô hình gây tăng lipid máu ngoại sinh bằng hỗn hợp dầu cholesterol sau 4 tuần được trình bày ở Bảng 2.

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy, chuột cống trắng sau 4 tuần gây tăng lipid máu bằng hỗn hợp dầu cholesterol đã làm tăng rõ rệt nồng độ LDL-C của lô chứng bệnh so với lô chứng sinh lý; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Như vậy, sau 4 tuần uống hỗn hợp dầu cholesterol, chuột cống trắng đã có sự tăng nồng độ LDL-C rõ rệt. Ở lô chứng dương, chuột được uống atorvastatin với liều 10 mg/kg có nồng độ LDL-C giảm rõ rệt so với lô chứng bệnh với tỷ lệ giảm là 49,71%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Ở lô đối chiếu, hỗn dịch BBR liều 50 mg/kg có xu hướng làm giảm nồng độ LDL-C so với lô chứng bệnh với tỷ lệ giảm là 32,08%, tuy

nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Kết quả này khác với nghiên cứu của Wang (nonHDL-C giảm 31% với $p = 0,024$) [20]. So với lô chứng dương, chuột uống hỗn dịch BBR liều 50 mg/kg có tỉ giảm LDL-C kém hơn 35,05%, nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p = 0,205$). Ở lô thử 1, chuột uống liposome BBR liều 25 mg/kg đã làm giảm nồng độ LDL-C so với lô chứng bệnh với tỷ lệ giảm là 43,93%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Ở lô thử 2, liposome BBR liều 50 mg/kg làm giảm nồng độ LDL-C 42,77% so với lô chứng bệnh, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Như vậy, liposome BBR làm giảm LDL-C trên chuột cống trắng gây tăng lipid máu ngoại sinh với tỉ lệ là 43,93% và 42,77% so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$) tương ứng với 2 mức liều 25 mg BBR/kg và 50 mg BBR/kg. So với lô chứng dương, tỉ lệ làm giảm LDL-C của liposome BBR ở liều tương ứng với BBR 25 mg/kg và 50 mg/kg kém hơn lần lượt là 11,49% và 13,79%. Tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê (p lần lượt là 0,72 và 0,52).

Bảng 2. Nồng độ cholesterol LDL-C huyết thanh chuột cống trắng trên mô hình gây tăng lipid máu ngoại sinh sau 4 tuần

Lô	n	LDL-C (mmol/L)	Tỷ lệ giảm (%) ^a
Chứng sinh lý	8	0,23 ± 0,16	
Chứng bệnh	8	3,46 ± 1,37 ^{§§§}	
Chứng dương (atorvastatin liều 10 mg/kg)	8	1,74 ± 0,71 ^{**}	49,71
Đối chiếu (hỗn dịch BBR liều 50 mg/kg)	8	2,35 ± 1,07	32,08
Thử 1 (liposome BBR liều 25 mg BBR/kg)	8	1,94 ± 1,32 [*]	43,93
Thử 2 (liposome BBR liều 50 mg BBR/kg)	8	1,98 ± 0,75 [*]	42,77

Ghi chú: số liệu biểu diễn dưới dạng $M \pm SD$; §§§, $p < 0,001$ khi so sánh với lô chứng sinh lý; *, $p < 0,05$ khi so sánh với lô chứng bệnh; **, $p < 0,01$ khi so với lô chứng bệnh; a: so với lô chứng bệnh.

3.3. Ảnh hưởng của liposome berberin tới nồng độ cholesterol HDL-C trên chuột gây tăng lipid máu ngoại sinh

Sau 4 tuần điều trị, chuột được lấy máu để đánh giá ảnh hưởng của liposome BBR lên nồng độ HDL-C trên chuột cống trắng được gây tăng lipid máu ngoại sinh bằng hỗn hợp dầu cholesterol. Kết quả được trình bày ở Bảng 3.

Sau 4 tuần gây tăng lipid máu ngoại sinh bằng hỗn hợp dầu cholesterol, nồng độ HDL-C ở lô chứng bệnh tăng so với lô chứng sinh lý với tỷ lệ tăng là 70,71%; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh nồng độ HDL-C ở lô chứng dương uống atorvastatin liều 10 mg/kg, lô đối chiếu uống hỗn dịch BBR liều 50 mg/kg và lô thử 1 uống liposome BBR liều tương ứng

25 mg BBR/kg so với lô chứng bệnh ($p > 0,05$). Khi so với lô chứng dương, chuột uống hỗn dịch BBR liều 50 mg/kg làm giảm HDL-C với tỉ lệ 6,71% ($p=0,556$) trong khi chuột uống liposome BBR với liều 25 mg BBR/kg làm tăng HDL-C với tỉ lệ 23,49% ($p=0,056$). Ở lô thử 2, chuột uống liposome BBR liều 50 mg BBR/kg làm giảm nồng độ HDL-C so với lô chứng bệnh với tỷ lệ giảm là 21,30%; khác biệt có ý nghĩa thống

kê ($p < 0,05$). Ở liều cao, liposome BBR tương ứng 50 mg BBR/kg làm giảm HDL-C so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$), giảm HDL-C so với lô chứng dương ($p=0,266$). Tuy nhiên, tác dụng này xảy ra trên nền chuột ở lô chứng bệnh có sự tăng chỉ số HDL-C có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý ($p < 0,001$). Vì vậy, việc liposome BBR liều cao làm giảm HDL-C khó đánh giá.

Bảng 3. Nồng độ cholesterol HDL-C huyết thanh chuột cống trắng trên mô hình gây tăng lipid máu ngoại sinh sau 4 tuần

Lô	n	HDL-C (mmol/L)
Chứng sinh lý	8	0,99 ± 0,03
Chứng bệnh	8	1,69 ± 0,32 ^{§§§}
Chứng dương (atorvastatin liều 10 mg/kg)	8	1,49 ± 0,35
Đối chiếu (hỗn dịch BBR liều 50 mg/kg)	8	1,39 ± 0,27
Thử 1 (liposome BBR liều 25 mg BBR/kg)	8	1,84 ± 0,33
Thử 2 (liposome BBR liều 50 mg BBR/kg)	8	1,33 ± 0,15*

Ghi chú: số liệu biểu diễn dưới dạng $M \pm SD$; §§§, $p < 0,001$ khi so sánh với lô chứng sinh lý; *, $p < 0,05$ khi so sánh với lô chứng bệnh.

3.4. Ảnh hưởng của liposome berberin tới nồng độ triglycerid trên chuột gây tăng lipid máu ngoại sinh

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của liposome BBR lên nồng độ TG trên chuột cống trắng ở mô hình gây tăng lipid máu ngoại sinh bằng hỗn hợp dầu cholesterol sau 4 tuần được trình bày ở Bảng 4.

Sau 4 tuần chuột được uống hỗn hợp dầu cholesterol, nồng độ TG ở lô chứng bệnh chưa

có sự khác biệt so với lô chứng sinh lý ($p > 0,05$). Như vậy, trong mô hình này hỗn hợp dầu cholesterol chưa có khả năng gây tăng nồng độ TG trên chuột cống trắng sau 4 tuần. Ở các lô chứng dương, lô đối chiếu và các lô thử, nồng độ TG tại thời điểm 4 đều không khác biệt so với lô chứng bệnh ($p > 0,05$). So với lô chứng dương, sự khác biệt về nồng độ TG ở các lô uống hỗn dịch, lô thử đều không có sự khác biệt ($p > 0,05$).

Bảng 4. Nồng độ triglycerid huyết thanh chuột cống trắng trên mô hình gây tăng lipid máu ngoại sinh sau 4 tuần

Lô	n	TG (mmol/L)
Chứng sinh lý	10	1,32 ± 0,40
Chứng bệnh	8	1,13 ± 0,84
Chứng dương (atorvastatin liều 10 mg/kg)	8	1,03 ± 0,33
Đối chiếu (hỗn dịch BBR liều 50 mg/kg)	8	1,29 ± 0,37
Thử 1 (liposome BBR liều 25 mg BBR/kg)	8	1,46 ± 0,56
Thử 2 (liposome BBR liều 50 mg BBR/kg)	8	1,43 ± 0,76

4. Kết luận

Liposome BBR làm giảm nồng độ LDL-C trên chuột cống gây tăng lipid máu ngoại sinh ở

cả 2 mức liều 25 mg BBR/kg và 50 mg BBR/kg lần lượt là 43,93% và 42,77% sau 4 tuần điều trị so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$). Ở mức liều tương ứng với 50 mg BBR/kg, liposome BBR

làm giảm nồng độ TC với mức giảm 30,72% so với lô chứng bệnh ($p < 0,05$). Trong lúc đó, BBR tự do không làm giảm các chỉ số TC, LDL-C, TG một cách có ý nghĩa thống kê. Kết quả nghiên cứu cho thấy, liposome berberin có tiềm năng hơn so với BBR tự do trong điều trị rối loạn lipid máu. Điều này chứng tỏ hệ mang dược chất liposome khắc phục được nhược điểm tan kém và thẩm kém của berberin, có thể tạo ra thuốc mới hiệu quả và an toàn ứng dụng vào thực tiễn trong điều trị lipid máu cao.

Lời cảm ơn

Công trình khoa học này được hỗ trợ kinh phí từ Sở Khoa học và Công nghệ Hà Nội (đề tài mã số 01C-06/04-2020-03).

Tài liệu tham khảo

- [1] V. Natesan, S. J. Kim, Lipid Metabolism, Disorders and Therapeutic Drugs - Review. *Biomolecules & Therapeutics*, Vol. 29, No. 6, 2021, pp. 596-604, <https://doi.org/10.4062/biomolther.2021.122>.
- [2] M. A. Neag, A. Mocan, J. Echeverría, R. M. Pop, C. I. Bocsan, G. Crişan, A. D. Buzoianu, Berberine: Botanical Occurrence, Traditional uses, Extraction Methods, and Relevance in Cardiovascular, Metabolic, Hepatic, and Renal Disorders, *Frontiers in Pharmacology*, Vol. 9, 2018, pp. 557, <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00557>.
- [3] M. Tillhon, L. M. O. Guamán, P. Lombardi, A. I. Scovassi, Berberine: New Perspectives for Old Remedies. *Biochemical Pharmacology*, Vol. 84, No. 10, 2012, pp. 1260-1267, <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.07.018>.
- [4] I. M. A. Masri, M. K. Mohammad, M. O. Tahaa, Inhibition of Dipeptidyl Peptidase IV (DPP IV) is One of the Mechanisms Explaining the Hypoglycemic Effect of Berberine, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, Vol. 24, No. 5, 2009, pp. 1061-1066, <https://doi.org/10.1080/14756360802610761>.
- [5] Y. Chen, Y. Wang, J. Zhang, C. Sun, A. Lopez, Berberine Improves Glucose Homeostasis in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats in Association with Multiple Factors of Insulin Resistance, *ISRN Endocrinology* 2011, 2011, pp. 519371, <https://doi.org/10.5402/2011/519371>.
- [6] X. Xia, J. Yan, Y. Shen, K. Tang, J. Yin, Y. Zhang, D. Yang, H. Liang, J. Ye, J. Weng, Berberine Improves Glucose Metabolism in Diabetic Rats by Inhibition of Hepatic Gluconeogenesis, *PLoS One*, Vol. 6, No. 2, 2011, pp. e16556, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016556>.
- [7] J. Yin, H. Xing, J. Ye, Efficacy of Berberine in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus, *Metabolism*, Vol. 57, No. 5, 2008, pp. 712-717, <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2008.01.013>.
- [8] L. Chi, L. Peng, N. Pan, X. Hu, Y. Zhang, The Anti-atherogenic Effects of Berberine on Foam Cell Formation Are Mediated Through the Upregulation of Sirtuin 1, *International Journal of Molecular Medicine*, Vol. 34, No. 4, 2014, pp. 1087-1093, <https://doi.org/10.3892/ijmm.2014.1868>.
- [9] C. Wang, J. Li, X. Lv, M. Zhang, Y. Song, L. Chen, Y. Liu, Ameliorative Effect of Berberine on Endothelial Dysfunction in Diabetic Rats Induced by High-fat Diet and Streptozotocin, *European Journal of Pharmacology* Vol. 620, No. 1-3, 2009, pp. 131-137, <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.07.027>.
- [10] M. Xiao, L. N. Men, M. G. Xu, G. B. Wang, H. T. Lv, C. Liu, Berberine Protects Endothelial Progenitor Cell from Damage of TNF- α Via the PI3K/AKT/Enos Signaling Pathway, *European Journal of Pharmacology*, No. 743, 2014, pp. 11-1, <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.09.024>.
- [11] M. S. Othman, G. Safwat, M. Aboulkhair, A. E. A. Moneim, The Potential Effect of Berberine in Mercury-induced Hepatorenal Toxicity in Albino Rats, *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, Vol. 69, 2014, pp. 175-181, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.04.012>.
- [12] X. Zhang, F. Qiu, J. Jiang, C. Gao, Y. Tan, Intestinal Absorption Mechanisms of Berberine, Palmatine, Jateorhizine, and Coptisine: Involvement of P-glycoprotein, *Xenobiotica* Vol. 41, No. 4, 2011, pp. 290-296, <https://doi.org/10.3109/00498254.2010.529180>.
- [13] W. Chang, K. Li, F. Guan, F. Yao, Y. Yu, M. Zhang, G. M. Hatch, L. Chen, Berberine Pretreatment Confers Cardioprotection Against Ischemia-Reperfusion Injury in a Rat Model of Type 2 Diabetes. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, Vol. 21, No. 5, 2016, pp. 486-494, <https://doi.org/10.1177/1074248415627873>.
- [14] X. Liu, X. Zhang, L. Ye, H. Yuan, Protective Mechanisms of Berberine Against Experimental Autoimmune Myocarditis in A Rat Model, *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, Vol. 79, 2016, pp. 222-230, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.02.015>.

- [15] H. Li, X. L. Li, M. Zhang, H. Xu, C. C. Wang, S. Wang, R. S. Duan, Berberine Ameliorates Experimental Autoimmune Neuritis by Suppressing Both Cellular and Humoral Immunity, *Scandinavian Journal of Immunology* Vol. 79, No. 1, 2014, pp. 12-19, <https://doi.org/10.1111/sji.12123>.
- [16] T. Ahmed, A. U. Gilani, M. Abdollahi, M. Daglia, S. F. Fabavi, S. M. Nabavi, Berberine and Neurodegeneration: A Review of Literature, *Pharmacological Reports*, Vol. 67, No. 5, 2015, pp. 970-979, <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2015.03.002>.
- [17] B. Liu, G. Wang, J. Yang, X. Pan, Z. Yang, L. Zang, Berberine Inhibits Human Hepatoma Cell Invasion Without Cytotoxicity in Healthy Hepatocytes, *PloS One*, Vol. 6, No. 6, 2011, pp. e21416, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021416>.
- [18] L. Wang, L. Liu, Y. Shi, H. Cao, R. Chaturvedi, M. W. Calcutt, T. Hu, X. Ren, K. T. Wilson, D. B. Polk, F. Yan, Berberine Induces Caspase-Independent Cell Death in Colon Tumor Cells Through Activation of Apoptosis-Inducing Factor, *PloS One*, Vol. 7, No. 5, 2012, pp. e36418, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036418>.
- [19] Y. T. Ho, J. S. Yang, T. C. Li, J. J. Lin, J. G. Lin, K. C. Lai, C. Y. Ma, W. G. Wood, J. G. Chung, Berberine Suppresses In Vitro Migration and Invasion of Human SCC-4 Tongue Squamous Cancer Cells Through the Inhibitions of FAK, IKK, NF- κ B, 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>.
- [20] Y. Wang, X. Yi, K. Ghanam, S. Zhang, T. Zhao, X. Zhu, Berberine Decreases Cholesterol Levels in Rats Through Multiple Mechanisms, Including Inhibition of Cholesterol Absorption, *Metabolism*, Vol. 63, No. 9, 2014, pp. 1167-1177, <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.05.013>.
- [21] W. Kong, J. Wei, P. Abidi, M. Lin, S. Inaba, C. Li, Y. Wang, Z. Wang, S. Si, H. Pan, S. Wang, J. Wu, Y. Wang, Z. Li, J. Liu, J. D. Jiang, Berberine is a Novel Cholesterol-lowering Drug Working Through A Unique Mechanism Distinct from Statins, *Nat Med*, Vol. 10, No. 12, 2004, pp. 1344-1351, <https://doi.org/10.1038/nm1135>.
- [22] Y. Hu, E. A. Ehli, J. Kittelsrud, P. J. Ronan, K. Munger, T. Downey, K. Bohlen, L. Callahan, V. Munson, M. Jahnke, Lipid-lowering Effect of Berberine in Human Subjects and Rats, *Phytomedicine*, Vol. 19, No. 10, 2012, pp. 861-867, <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.05.009>.
- [23] X. X. Chang, H. M. Yan, Q. Xu, M. F. Xia, H. Bian, T. F. Zhu, X. Gao, The Effects of Berberine on Hyperhomocysteinemia and Hyperlipidemia in Rats Fed with A Long-term High-fat Diet, *Lipids in Health and Disease*, Vol. 11, No. 86, 2012.
- [24] Y. T. Liu, H. P. Hao, H. G. Xie, L. Lai, Q. Wang, C. X. Liu, G. T. Wang, Extensive Intestinal First-pass Elimination and Predominant Hepatic Distribution of Berberine Explain Its Low Plasma Levels in Rats, *Drug Metab Dispos* Vol. 38, No. 10, 2010, pp. 1779-1784, <https://doi.org/10.1124/dmd.110.033936>.
- [25] P. L. Tsai, T. H. Tsai, Hepatobiliary Excretion of Berberine, *Drug Metabolism Disposition*, Vol. 32, No. 4, 2004, pp. 405-412, <https://doi.org/10.1124/dmd.32.4.405>.
- [26] H. He, Y. Lu, J. Qi, Q. Zhu, Z. Chen, W. Wu, Adapting Liposomes for Oral Drug Delivery, *Acta Pharm Sin B* Vol. 9, No. 1, 2019, pp. 36-48, <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2018.06.005>.
- [27] M. N. Asl, F. Zamansoltani, E. Abbasi, M. M. Daneshi, A. A. Zangivand, Effects of Urtica Dioica Extract on Lipid Profile in Hypercholesterolemic Rats, *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao = Journal of Chinese Integrative Medicine* Vol. 7, No. 5, 2009, pp. 428-33.
- [28] T. T. Duong, T. T. H. Yen, L. T. Nguyen, T. D. Nguyen, T. Q. T. Nguyen, T. H. L. Nghiem, H. T. Pham, A. Raal, J. Heinämäki, T. M. H. Pham, Berberine-loaded Liposomes for Oral Delivery: Preparation, Physicochemical Characterization and In-Vivo Evaluation in An Endogenous Hyperlipidemic Animal Model, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 616, 2022, pp. 121525, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.121525>.
- [29] J. Jia, K. Zhang, X. Zhou, J. Ma, X. Liu, A. Xiang, F. Ge, Berberine-loaded Solid Proliposomes Prepared using Solution Enhanced Dispersion by Supercritical CO₂: Sustained Release and Bioavailability Enhancement, *Journal of Drug Delivery Science Technology*, Vol. 51, 2019, pp. 356-363, <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.03.021>.
- [30] T. X. Nguyen, L. Huang, L. Liu, A. M. E. Abdalla, M. Gauthier, G. Yang, Chitosan-coated Nanoliposomes for the Oral Delivery of Berberine Hydrochloride, *Journal of Materials Chemistry B*, Vol. 2, No. 41, 2014, pp. 7149-7159.