

DOI: 10.59715/pntjmp.1.3.5

Nghiên cứu bào chế hệ Nano tự nhũ hóa (Snedds) chứa Berberin

Nguyễn Đăng Thoại¹, Nguyễn Kim Thuận¹, Châu Hoàng Long¹, Phạm Phương Thảo¹, Nguyễn Phước Vinh², Nguyễn Mạnh Huy¹

¹Khoa Dược - Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch

²Khoa Y - Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Berberin là một hoạt chất từ dược liệu được sử dụng nhiều trong y học cổ truyền và gần đây được nghiên cứu có tiềm năng tốt trong điều trị các bệnh chuyển hóa. Tuy nhiên, berberin có sinh khả dụng đường uống thấp do ít tan trong nước và hấp thu kém, chính vì thế, hệ vi tự nhũ hóa (SNEDDS - Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System) là một giải pháp cải thiện sinh khả dụng có tiềm năng ứng dụng cao.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Độ tan của berberin trong một số tá dược có khả năng điều chế SNEDDS được khảo sát, từ đó chọn lựa các tá dược có tiềm năng để xây dựng công thức với khả năng tải berberin tốt nhất; phương pháp bào chế và khảo sát đánh giá các tính chất của SNEDDS chứa berberin được tiến hành để sàng lọc và lựa chọn công thức. Hàm lượng berberin trong các công thức được định lượng bằng phương pháp quang phổ UV-Vis.

Kết quả: Trong các pha dầu khảo sát, berberin tan tốt trong Capryol 90, Peceol và nói chung tan tốt trong các chất diện hoạt Tween 80, Tween 20, Span 80 và Cremophor RH40. Với chất đồng diện hoạt, berberin tan tốt trong Transcutol HP, PEG 400 và propylen glycol. Hệ công thức SNEDDS chứa berberin được tạo thành đạt các yêu cầu về độ bền nhiệt động và kích thước giọt với thành phần gồm 15% Capryol 90, 45% Tween 20, 40% hỗn hợp đồng diện hoạt glycerin và PEG 400 tỷ lệ 1:1 tải được 1% berberin (CT I29). Quy trình định lượng berberin trong SNEDDS được thực hiện bằng phương pháp UV-Vis tại bước sóng 428 nm.

Kết luận: Đề tài đã xây dựng thành công công thức bào chế hệ SNEDDS chứa berberin quy mô phòng thí nghiệm. Hệ đạt các yêu cầu về độ bền nhiệt và kích thước giọt.

Từ khóa: Berberin, nano nhũ tương, Hệ nano tự nhũ hóa (SNEDDS), sinh khả dụng.

Abstract

Formulation of self - nanoemulsifying drug delivery system (Snedds) containing Berberine

Objectives: Berberine, a natural compound was usually to treat dysentery, amoeba infection or enteritis in traditional medicine and in recent years, it has been proved high potential for metabolic diseases treatment. However, berberine is low-water - soluble and low - absorbed, which leads to low bioavailability, and SNEDDS was proved as a potential solution.

Materials and Methods: Berberine solubility in several SNEDDS excipients was usually used to determined and from that, SNEDDS containing berberine was

Ngày nhận bài:

23/5/2023

Ngày phân biện:

28/10/2023

Ngày đăng bài:

20/01/2024

Tác giả liên hệ:

Nguyễn Mạnh Huy

Email: huynm@pnt.edu.vn

ĐT: 0985999798

formulated and evaluated. Quantification of berberine in SNEDDS was determined by UV-Vis spectrophotometry method.

Results: In oil phase, solubility of berberine was highest in Capryol 90, followed by Peceol and generally soluble in some surfactants such as Tween 80, Tween 20, Span 80 and Cremophor RH40. In cosurfactants, berberine was soluble highly in Transcutol HP, PEG 400 and propylen glycol, respectively. The selected components for 1% - loaded berberine SNEDDS (formula CT I29) were Capryol 90 (30%), Tween 20 as surfactant (40%) and PEG 400 : propylen glycol with ratio 1:1 as co-surfactants (30%), and met the properties of SNEDDS. UV-Vis method at wavelength of 428 nm was used for the quantification of berberine in SNEDDS.

Conclusion: The SNEDDS containing berberine was successfully prepared at laboratory scale. This SNEDDS met the physico - chemical properties of SNEDDS and droplet size.

Keywords: Berberine, microemulsion, SNEDDS, bioavailability .

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Berberin là một alkaloid tự nhiên được phân lập từ một số loài dược liệu thiên nhiên, được sử dụng trong y học cổ truyền để điều trị các hội chứng viêm ruột, nhiễm amip, lỵ [2] [3]. Các nghiên cứu gần đây cho thấy berberin nếu được hấp thu sẽ có nhiều tác dụng dược lý khác như hạ lipid, hạ đường huyết, chống ung thư,... [3]. Tuy nhiên, berberin có sinh khả dụng đường uống thấp do ít tan trong nước và hấp thu kém [4]. Vì vậy, nghiên cứu để tìm ra một dạng bào chế nhằm mục đích cải thiện sinh khả dụng đường uống để có thể ứng dụng rộng rãi berberin trong điều trị là một vấn đề

rất có ý nghĩa. Hệ nano tự nhũ hóa (SNEDDS) là hỗn hợp gồm pha dầu, chất diện hoạt, thành phần phụ và dược chất, có thể tự nhũ hóa nhanh chóng khi gặp môi trường nước, hình thành các giọt nhũ tương ở kích thước nanomet. Nhờ đó, khi sử dụng đường uống, SNEDDS không chỉ cải thiện khả năng hòa tan mà còn tăng cường khả năng hấp thu của thuốc vào hệ tuần hoàn, do kích thước giọt nhỏ dẫn đến diện tích bề mặt tiếp xúc lớn [5]. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục tiêu tìm kiếm, sàng lọc một công thức và quy trình bào chế SNEDDS chứa berberin quy mô phòng thí nghiệm có độ bền nhiệt động học, độ ổn định cao.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu - trang thiết bị

Nguyên vật liệu: Berberin clorid là quà tặng từ Supelco thuộc Tập đoàn Sigma - Aldrich (Mỹ). Hóa chất và trang thiết bị sử dụng trong nghiên cứu: được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Hóa chất và trang thiết bị dùng trong nghiên cứu

TT	Hóa chất/ Trang thiết bị	Tiêu chuẩn/ Model	Xuất xứ
Hóa chất đạt tiêu chuẩn được dụng			
1	Capryol 90	TCCS	Gattefosse (Pháp)
2	Peceol	TCCS	Gattefosse (Pháp)
3	Dầu thầu dầu	TCCS	Trung Quốc
4	Labrafac PG	TCCS	Gattefosse (Pháp)
5	Lauroglycol	TCCS	Gattefosse (Pháp)
6	Tween 80	TCCS	Xilong (Trung Quốc)
7	Cremophor RH40	TCCS	Trung Quốc
8	Tween 20	TCCS	Xilong (Trung Quốc)
9	Span 80	TCCS	Xilong (Trung Quốc)

TT	Hóa chất/ Trang thiết bị	Tiêu chuẩn/ Model	Xuất xứ
Hóa chất đạt tiêu chuẩn dược dụng			
10	PEG 400	TCCS	Xilong (Trung Quốc)
11	Propylen glycol	TCCS	Xilong (Trung Quốc)
12	Triethylamin	TCCS	Trung Quốc
13	Transcutol HP	TCCS	Gattefosse (Pháp)
14	Glycerin	TCCS	Xilong (Trung Quốc)
15	Methanol	TCCS	Xilong (Trung Quốc)
16	Hệ đệm pH	ĐĐVN V	Việt Nam
17	Nước cất	ĐĐVN V	Việt Nam
Trang thiết bị			
1	Cân phân tích	Quintix 224-1S	Sartorius (Đức)
2	Cân kỹ thuật	Quintix 2102-1S	Sartorius (Đức)
3	Bể siêu âm có gia nhiệt	S40H	Elma (Đức)
4	Máy vortex	V1 plus	Boeco (Đức)
5	Micropipet	100-1000 µl	Vitlab GmbH (Đức)
6	Máy ly tâm 30 chỗ	Centrifuge 5420	Eppendorf (Đức)
7	Máy đo độ dẫn điện	AD331	Adwa (Hungary)
8	Máy đo kích thước	Nanozetasizer	Malvern (UK)
9	Máy đo quang phổ UV-Vis	Lambda 365	Perkin Elmer (Mỹ)
10	Tủ lạnh	Digital Inverter 243L	Samsung (Hàn Quốc)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng berberin trong SNEDDS bằng phương pháp quang phổ UV-Vis

Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng: Khảo sát và thẩm định quy trình phân tích theo hướng dẫn Q2(R1) tháng 11/2005 của ICH (The International Conference on Harmonisation) và đánh giá theo Sổ tay hướng dẫn đăng ký thuốc - Cục Quản Lý Dược Việt Nam. Tiến hành thẩm định các yêu cầu về độ đặc hiệu, tính tuyến tính, độ đúng và độ chính xác (độ lặp lại).

Chuẩn bị mẫu

- Dung môi sử dụng/ mẫu trắng: methanol.
- Mẫu chuẩn: berberin nguyên liệu trong methanol với nồng độ 20 µg/ml
- Mẫu giả dược (placebo): hệ SNEDDS không có hoạt chất berberin

- Mẫu thử: hệ SNEDDS chứa berberin cần xác định hàm lượng hoạt chất, pha loãng đến nồng độ thích hợp sao cho kết quả độ hấp thu nằm trong đường tuyến tính.

- Mẫu thử xác định độ đúng và độ chính xác: độ đúng được xác định ở các tỷ lệ phục hồi 80% - 100% - 120% (mỗi tỷ lệ 6 lần để xác định được độ chính xác lặp lại); trong đó tại tỷ lệ 100% sẽ thực hiện 6 mẫu ngày 1 và 6 mẫu ngày 2 để xác định độ chính xác trung gian.

2.2.2. Nghiên cứu bào chế hệ nano tự nhũ hóa (SNEDDS) chứa berberin

Khảo sát độ tan của berberin trong các tá dược tiềm năng

Độ tan của berberin trong các tá dược tiềm năng được xác định bằng phương pháp quá bão hòa, từ đó làm cơ sở để lựa chọn các tá dược tiềm năng cho điều chế SNEDDS.

Các bước thực hiện:

- Cân một lượng thừa berberin cho vào eppendorf loại 2 ml có chứa sẵn 1 ml từng loại tá dược, khuấy trộn khoảng 2 - 3 phút bằng máy vortex rồi siêu âm không gia nhiệt trong vòng 15 phút. Nếu dược chất tan hết trong tá dược thì tiến hành cân thêm cho đến khi đạt được “quá bão hòa”.
- Pha trong dung môi methanol đến độ pha loãng thích hợp rồi tiến hành đo độ hấp thu, xác định độ tan của berberin trong từng loại tá dược. Từng loại tá dược hòa tan trong dung môi methanol được pha loãng tương tự đến độ pha loãng ở trên để xác định tá dược đó có ảnh hưởng đến độ hấp thu tại bước sóng cực đại hay không.

- So sánh và lựa chọn các tá dược tiềm năng để khảo sát xây dựng công thức SNEDDS, đồng thời xác định tỷ lệ tải berberin trong SNEDDS.

Khảo sát xây dựng công thức SNEDDS chứa berberin bằng phương pháp giản đồ 3 pha

Các tá dược pha dầu, chất diện hoạt và đồng diện hoạt tiềm năng được phối hợp với nhau rồi thêm berberin với hàm lượng xác định. Trong đó, để hạn chế gây kích ứng đường tiêu hóa khi uống, nồng độ chất diện hoạt sử dụng $\leq 50\%$; trong khi pha dầu được sử dụng $\leq 30\%$ để tạo nhũ tương có cấu trúc D/N [7]; còn lại là chất đồng diện hoạt; mỗi bước nhảy 5%. Các công thức SNEDDS được tiến hành pha loãng 50 lần với nước cất tạo nhũ tương và đánh giá dựa vào cảm quan theo bảng 2.

Bảng 2. Phân loại cảm quan của nano nhũ tương [6]

Nhóm	Tính chất nhũ tương hình thành
I (Đạt)	Hình thành nhũ tương trong vòng 1 phút, nhũ tương trong suốt hoặc ánh xanh
II (Đạt)	Hình thành nhũ tương trong vòng 2 phút, nhũ tương có màu trắng ánh xanh
III (Không đạt)	Hình thành nhũ tương từ 2-3 phút và nhũ tương là chất lỏng màu trắng sữa
IV (Không đạt)	Hình thành nhũ tương chậm hơn 3 phút và xuất hiện vài giọt dầu
V (Không đạt)	Khó hình thành nhũ tương, xuất hiện giọt dầu

Khảo sát đánh giá độ bền nhiệt động học của SNEDD chứa berberin

Do khi vào cơ thể, SNEDDS sẽ được phân tán vào môi trường nước để tạo nano nhũ tương, do đó khảo sát đánh giá độ bền nhiệt động học của SNEEDS chứa berberin được thực hiện thông qua nano nhũ tương được tạo ra bằng cách pha loãng 50 lần với nước cất từ hệ SNEDDS tương ứng. Các khảo sát sau đây được thực hiện:

- Ly tâm với tốc 10.000 vòng/phút trong 10 phút.
- Chu trình đông - rã đông: thực hiện 6 chu kỳ đông - rã đông với mỗi chu kỳ kéo dài 12 giờ, gồm 6 giờ để trong ngăn đông tủ lạnh (-20°C) và 6 giờ để tại nhiệt độ phòng.
- Độ ổn định tại các nhiệt độ khác nhau: nhũ tương được bảo quản trong vòng 7 ngày tại ba mức nhiệt độ khác nhau (4°C trong ngăn mát tủ lạnh, nhiệt độ phòng, 40°C trong tủ sấy).
- Pha loãng trong các hệ đệm pH: SNEDDS được pha loãng 50 lần trong các hệ đệm pH lần

lượt là 1,2 - 4,5 và 6,8. Nhũ tương sau khi pha loãng được theo dõi và ghi nhận kết quả sau các mốc thời gian 1 - 3 - 6 - 12 - 24 và 48 giờ.

- Đo độ dẫn điện bằng máy đo độ dẫn điện cầm tay để xác định kiểu pha ngoại.
- Xác định phân bố kích thước của giọt nhũ tương (droplet size) bằng phương pháp sử dụng công nghệ tán xạ ánh sáng động với thiết bị Malvern Nanozetasizer
- Định lượng berberine có trong SNEDDS bằng phương pháp quang phổ UV-Vis (mục 2.2.1).

2.2.3. Xây dựng quy trình bào chế SNEDDS chứa berberin

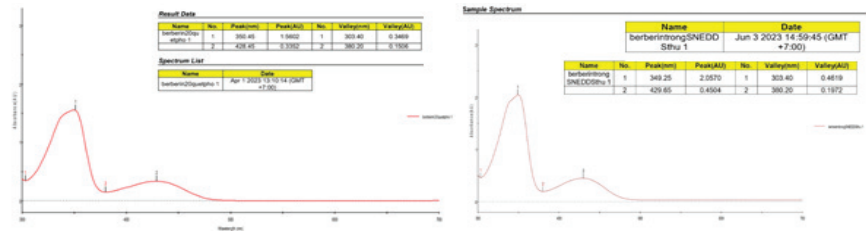
Các công thức SNEDDS chứa berberin sau khi được sàng lọc và lựa chọn qua các thử nghiệm độ bền sẽ được bào chế ở quy mô phòng thí nghiệm với cỡ mẫu 50 ml/lô. Thiết bị sử dụng thường quy và được sơ đồ hóa. Phương pháp bào chế là khuấy trộn và siêu âm.

Đánh giá độ ổn định của SNEDDS tạo thành qua đó thể hiện độ lặp lại của quy trình bào chế.

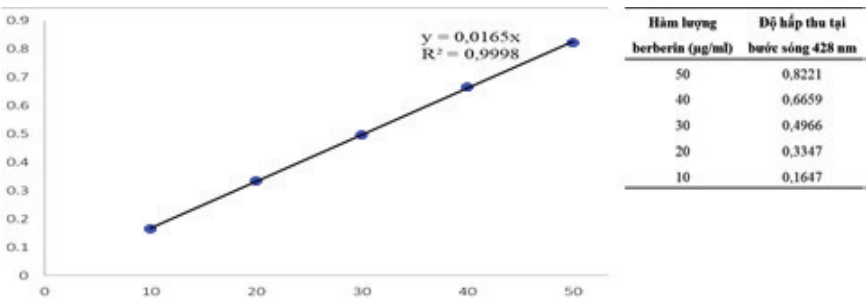
3. KẾT QUẢ

3.1. Xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng berberin trong SNEDDS bằng phương pháp quang phổ UV-Vis

Berberin nguyên liệu và SNEDDS được pha loãng trong methanol và quét phổ UV-Vis (Hình 1).



1a. Phổ UV-Vis của berberin nguyên liệu (mẫu chuẩn - bên trái) và mẫu thử (bên phải)



1b. Kết quả xây dựng đường tuyến tính tại bước sóng 428 nm

Hình 1. Kết quả xây dựng quy trình định lượng berberin trong SNEDDS bằng UV-Vis

Kết quả từ hình 1a cho thấy berberin trong methanol và có 2 đỉnh hấp thu cực đại tại bước sóng 350 nm và 428 nm. Độ hấp thu tại bước sóng cực đại tại 428 nm (λ_{max}) được chọn để xây dựng khoảng tuyến tính và quy trình định lượng berberin có trong SNEDDS do tại bước sóng 350 nm dễ bị ảnh hưởng bởi các loại tá dược. Phổ của mẫu thử tương đồng với mẫu chuẩn, do đó phương pháp định lượng có thể sử dụng để xác định hàm lượng berberin trong SNEDDS.

Khoảng tuyến tính được xây dựng trong khoảng từ 10 đến 50 µg/ml với phương trình hồi quy là $y = 0,0165x + 0,003$, $R^2 = 99,98\%$. Kết quả cụ thể được thể hiện trong hình 1b. Hệ số hồi quy a: $P_a = 1,082.10^{-6} < \alpha = 0,05$ chứng tỏ hệ số hồi quy a có ý nghĩa. Hệ số hồi quy b: $P_b = 0,5445 > \alpha = 0,05$ chứng tỏ hệ số b vô nghĩa (kết quả thống kê được xử lý bằng MS-Excel 365).

Cách tính kết quả định lượng: $x \text{ (mg)} = y/0,0165 \cdot \text{độ pha loãng}$, chia cho lượng cân để tính tỷ lệ % của hoạt chất.

Kết quả độ đúng và độ chính xác đạt yêu cầu (Bảng 3). Phương pháp định lượng đạt yêu cầu để sử dụng xác định hàm lượng berberin trong SNEDDS của nghiên cứu này.

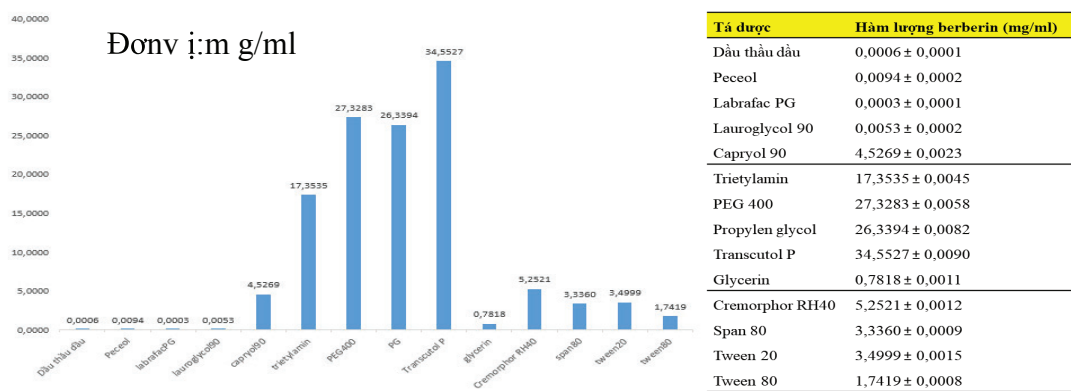
Bảng 3. Kết quả xác định độ đúng và độ chính xác của phương pháp định lượng

TT	Tỷ lệ thêm vào	Lượng berberin thêm vào (mg)	Độ hấp thu tại 428 nm	Lượng berberin tìm lại (mg)	Tỉ lệ tìm lại (%)	Ghi chú
1	80%	160.4	0.2636	159.76	99.60	Ngày 1
2		160.1	0.2699	163.58	102.17	
3		158.8	0.2696	163.39	102.89	
4		158.9	0.269	163.03	102.60	
5		160.2	0.2645	160.30	100.06	
6		160	0.2633	159.58	99.73	
Tỷ lệ tìm lại trung bình = 101,18% - RSD = 1,53% < 2% - Đạt						

TT	Tỷ lệ thêm vào	Lượng berberin thêm vào (mg)	Độ hấp thu tại 428 nm	Lượng berberin tìm lại (mg)	Tỉ lệ tìm lại (%)	Ghi chú
7	100%	201	0.3331	201.88	100.44	Ngày 1
8		200.2	0.3356	203.39	101.60	
9		201.7	0.3386	205.21	101.74	
10		200.1	0.3375	204.55	102.22	
11		200	0.3362	203.76	101.88	
12		200.5	0.3301	200.06	99.78	
Tỷ lệ tìm lại trung bình = 101,28% - RSD = 0,95% < 2% - Đạt						
13	100%	201	0.3351	203.09	101.04	Ngày 2
14		200.2	0.3296	199.76	99.78	
15		201.7	0.3368	204.12	101.20	
16		200.1	0.3295	199.70	99.80	
17		200	0.3299	199.94	99.97	
18		200.5	0.3311	200.67	100.08	
Tỷ lệ tìm lại trung bình = 100,31% - RSD = 0,64% < 2% - Đạt Thống kê kết quả từ 7 - 18 để xác định độ chính xác trung gian thu được kết quả: Tỷ lệ tìm lại trung bình = 100,79% - RSD = 0,92% < 2% - Đạt						
19	120%	242.5	0.4045	245.15	101.09	Ngày 2
20		242.7	0.4013	243.21	100.21	
21		238.9	0.4004	242.67	101.58	
22		241.2	0.4055	245.76	101.89	
23		240	0.3999	242.36	100.98	
24		239.5	0.4008	242.91	101.42	
Tỷ lệ tìm lại trung bình = 101,20% - RSD = 0,58% < 2% - Đạt						

3.2. Nghiên cứu bào chế SNEDDS chứa berberin

3.2.1. Kết quả độ tan của berberin trong các tá dược (Hình 2)



Hình 2. Kết quả khảo sát độ tan của berberin trong các tá dược

Kết quả cho thấy với các loại pha dầu khảo sát, khả năng hòa tan berberin từ cao đến thấp lần lượt là capryol 90, peceol 90, lauroglycol 90, dầu thầu dầu và labrafac PG. Với chất diện hoạt, các chất diện hoạt không ion hóa có khả năng hòa tan như nhau là cremophor RH40, tween 20, span 80, tween 80. Độ tan của berberin trong các chất đồng diện hoạt từ cao đến thấp lần lượt gồm transcitol P, PEG 400, propylen glycol, triethylamin và glycerin.

3.2.2. Kết quả xây dựng giản đồ 3 pha

Từ kết quả khảo sát độ tan, các công thức sau đây (bảng 4) được lựa chọn để khảo sát xây dựng giản đồ pha.

Bảng 4. Bảng thành phần công thức xây dựng giản đồ 3 pha

Công thức (CT)	Pha dầu (PD)	Chất diện hoạt (S)	Đồng diện hoạt (CoS)
A	Capryol	Tween 20	Transcitol P
B	Capryol	Cremophor RH40	Transcitol P
C	Capryol	Tween 80	Transcitol P
D	Capryol	Span 80	Transcitol P
E	Capryol	Tween 20	Glycerin và Propylen glycol (1:1)
F	Capryol	Cremophor RH40	Glycerin và Propylen glycol (1:1)
G	Capryol	Tween 80	Glycerin và Propylen glycol (1:1)
H	Capryol	Span 80	Glycerin và Propylen glycol (1:1)
I	Capryol	Tween 20	Glycerin và PEG 400 (1:1)
K	Capryol	Cremophor RH40	Glycerin và PEG 400 (1:1)
L	Capryol	Tween 80	Glycerin và PEG 400 (1:1)
M	Capryol	Span 80	Glycerin và PEG 400 (1:1)

Khả năng hòa tan hoạt chất là yếu tố quan trọng để lựa chọn pha dầu thích hợp phải có khả năng hòa tan cao hoạt chất để đạt được sự tải hoạt chất một cách tối ưu, do đó capryol 90 với khả năng hòa tan berberin cao nhất được lựa chọn. Đối với chất đồng diện hoạt, kết quả độ tan của berberin có sự khác biệt không quá lớn nên cả 4 chất đồng diện hoạt là tween 20, cremophor RH40, tween 80 và span 80 đều được khảo sát. Chất đồng diện hoạt có khả năng nhũ hóa cao pha dầu với sự có mặt của chất diện hoạt sẽ được ưu tiên lựa chọn, nên glycerin mặc dù có khả năng hòa tan hoạt chất thấp tuy nhiên có khả năng hỗn hòa với nước góp phần làm tăng độ nhớt qua đó làm tăng độ bền, độ ổn định của nhũ tương tạo thành nên được lựa chọn để phối hợp với các chất đồng diện hoạt có khả năng hòa tan cao để khảo sát xây dựng giản đồ pha. Hàm lượng berberin 1% được lựa chọn để khảo sát.

Kết quả xây dựng khảo sát xây dựng giản đồ pha khi pha loãng SNEDDS chứa 1% berberin 50 lần với nước cất được thể hiện trong bảng 3. Tổng cộng có 720 công thức được khảo sát.

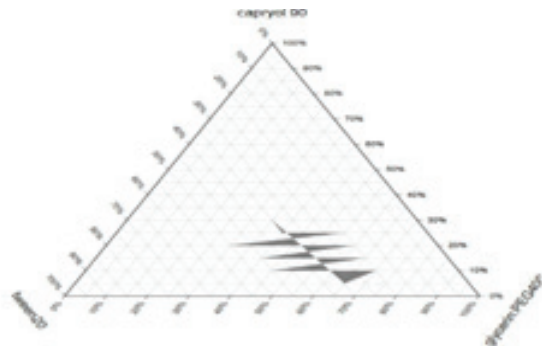
Bảng 5. Kết quả khảo sát xây dựng giản đồ 3 pha

TT	Tỷ lệ % PD - S - CoS	Kết quả khảo sát các thành phần công thức											
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M
1	5:5:90	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
2	5:10:85	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
3	5:15:80	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa

TT	Tỷ lệ % PD - S - CoS	Kết quả khảo sát các thành phần công thức											
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M
4	5:20:75	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
5	5:25:70	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
6	5:30:65	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	II	Tủa	Tủa	Tủa
7	5:35:60	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
8	5:40:55	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
9	5:45:50	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	I	Tủa	Tủa	Tủa
10	5:50:45	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
11	10:5:85	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
12	10:10:80	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
13	10:15:75	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
14	10:20:70	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	II	Tủa	Tủa	Tủa
15	10:25:65	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	II	Tủa	Tủa	Tủa
16	10:30:60	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	II	Tủa	Tủa	Tủa
17	10:35:55	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
18	10:40:50	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
19	10:45:45	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	I	Tủa	Tủa	Tủa
20	10:50:40	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
21	15:5:80	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
22	15:10:75	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
23	15:15:70	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	II	Tủa	Tủa	Tủa
24	15:20:65	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
25	15:25:60	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
26	15:30:55	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	II	Tủa	Tủa	Tủa
27	15:35:50	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	II	Tủa	Tủa	Tủa
28	15:40:45	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
29	15:45:40	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	I	Tủa	Tủa	Tủa
30	15:50:35	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
31	20:5:75	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
32	20:10:70	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
33	20:15:65	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
34	20:20:60	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	II	Tủa	Tủa	Tủa
35	20:25:55	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa

TT	Tỷ lệ % PD - S - CoS	Kết quả khảo sát các thành phần công thức											
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M
36	20:30:50	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
37	20:35:45	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
38	20:40:40	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
39	20:45:35	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
40	20:50:30	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	I	Tủa	Tủa	Tủa
41	25:5:70	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
42	25:10:65	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
43	25:15:60	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
44	25:20:55	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	II	Tủa	Tủa	Tủa
45	25:25:50	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	II	Tủa	Tủa	Tủa
46	25:30:45	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
47	25:35:40	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	II	Tủa	Tủa	Tủa
48	25:40:35	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
49	25:45:30	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
50	25:50:25	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
51	30:5:65	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
52	30:10:60	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
53	30:15:55	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
54	30:20:50	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
55	30:25:45	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
56	30:30:40	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
57	30:35:35	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	II	Tủa	Tủa	Tủa
58	30:40:30	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
59	30:45:25	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa
60	30:50:20	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa	Tủa

Dữ liệu từ bảng 3 cho thấy đa số các công thức berberin bị tủa khi pha loãng; chỉ có công thức I với 16/60 thành phần tạo được nhũ tương có cảm quan đạt điểm I hoặc II (theo thang điểm của bảng 2). Vùng tạo nano nhũ tương được thể hiện qua giản đồ 3 pha (hình 3).



Hình 3. Vùng tạo vi nhũ tương của công thức I

3.2.3. Khảo sát đánh giá độ bền nhiệt động học của SNEDD chứa berberin

Ly tâm

Nhũ tương được đánh giá độ bền qua thử nghiệm ly tâm. Kết quả (bảng 6) được đánh giá là “Đạt” nếu sau khi ly tâm không xảy hiện tượng tách lớp hoặc kết bông; ngược lại thì sẽ đánh giá là “Không đạt (KĐ)”.

Bảng 6. Kết quả thử nghiệm ly tâm

CT	% PD	% S	% CoS	KQ	CT	% PD	% S	% CoS	KQ
I6	5	30	65	Đạt	I27	15	35	50	Đạt
I9	5	45	50	Đạt	I29	15	45	40	Đạt
I14	10	20	70	Đạt	I34	20	20	60	Đạt
I15	10	25	65	Đạt	I40	20	50	30	Đạt
I16	10	30	60	Đạt	I44	25	20	55	KĐ
I19	10	45	45	Đạt	I45	25	25	50	KĐ
I23	15	20	65	Đạt	I47	25	35	40	KĐ
I26	15	30	55	Đạt	I57	30	35	35	KĐ

Qua khảo sát ly tâm, bốn công thức I44, I45, I47, I57 không đạt.

Chu trình đông – rã đông và bảo quản ở các nhiệt độ khác nhau

Tất cả 12 công thức đều vượt qua được các thử nghiệm đông - rã đông và bảo quản ở 3 mức nhiệt độ khác nhau, không có công thức nào xảy hiện tượng kết bông hoặc tách lớp.

Pha loãng trong các hệ đệm pH

Hệ đệm pH 1,2 được chuẩn bị từ HCl đậm đặc, các hệ đệm 4,5 và 6,8 được chuẩn bị theo hướng dẫn của Dược điển Việt Nam V, kết quả được thể hiện trong bảng 7.

Bảng 7. Kết quả độ bền khi pha loãng trong các hệ đệm pH

CT	pH 1,2	pH 4,5	pH 6,8
I6	KĐ sau 48g	Đạt	KĐ sau 48g
I9	KĐ sau 1g	KĐ sau 1g	KĐ sau 1g
I14	KĐ sau 1g	KĐ sau 1g	KĐ sau 1g
I15	KĐ sau 1g	KĐ sau 1g	KĐ sau 1g
I16	KĐ sau 48g	Đạt	KĐ sau 48g
I19	KĐ sau 1g	KĐ sau 1g	KĐ sau 1g
I23	KĐ sau 1g	KĐ sau 1g	KĐ sau 1g
I26	KĐ sau 1g	KĐ sau 1g	KĐ sau 1g
I27	KĐ sau 48g	Đạt	KĐ sau 48g
I29	KĐ sau 48g	Đạt	KĐ sau 48g
I34	KĐ sau 1g	KĐ sau 1g	KĐ sau 1g
I40	KĐ sau 1g	KĐ sau 1g	KĐ sau 1g

Kết quả cho thấy 4 công thức I6, I16, I27 và I29 có độ bền cao nhất khi pha loãng trong các hệ đệm pH khác nhau. Do chu trình làm rỗng hệ tiêu hóa chỉ diễn ra trong vòng từ 2 - 3 giờ, do đó, việc đạt độ bền trong vòng 24 giờ tại các pH trên là đạt yêu cầu. Chính vì vậy, 4 công thức nêu trên được lựa chọn các thử nghiệm tiếp theo.

Độ dẫn điện

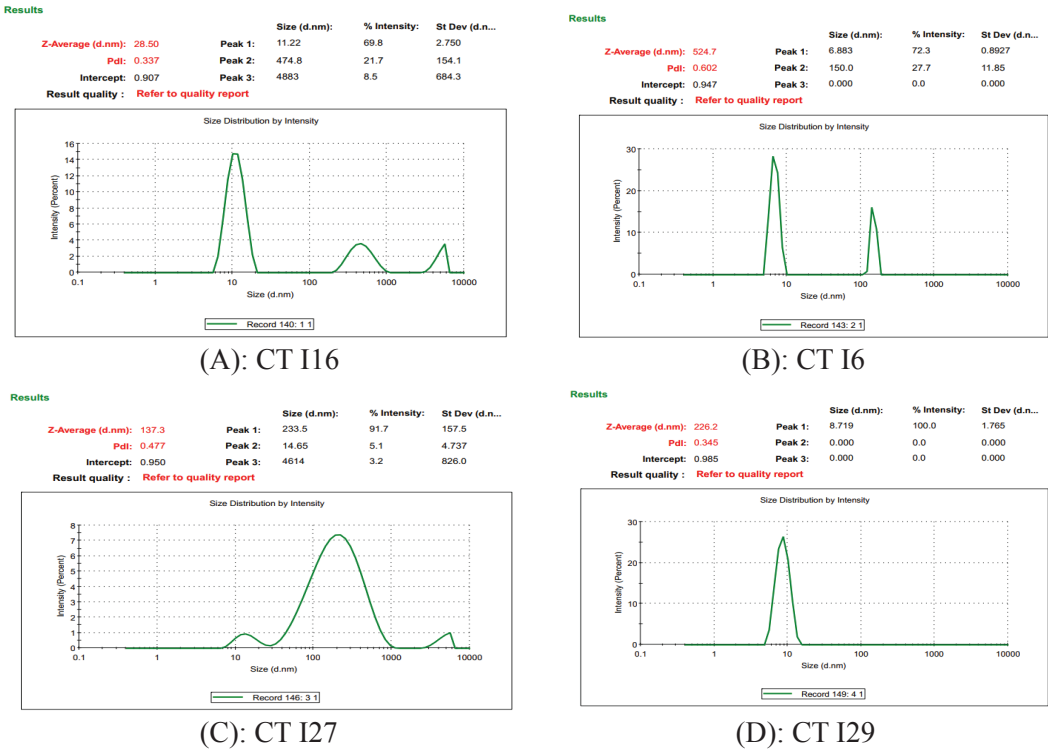
Thử nghiệm độ dẫn điện được thực hiện để xác định kiểu nhũ tương, kết quả như sau:

- I6: 77,4 μ S
- I16: 104,7 μ S
- I27: 86,2 μ S
- I29: 68,3 μ S

Kết quả cho thấy nhũ tương có khả năng dẫn điện, qua đó xác định pha ngoại là pha nước.

Kết quả đo kích thước giọt

SNEDDS được pha loãng với nước cất và gửi mẫu đo kích thước giọt tại ĐH Quốc tế - ĐH Quốc gia TP. HCM (hình 4).



Hình 4. Kết quả đo kích thước giọt nhũ tương của 4 công thức

Kết quả cho thấy CT I29 tạo được nano nhũ tương có kích thước giọt nhỏ hơn 10 nm với độ phân bố thấp nhất và không hình thành các vùng kích thước giọt lớn. CT I29 được lựa chọn để xây dựng quy trình bào chế ở quy mô phòng thí nghiệm.

Kết quả định lượng hàm lượng berberin trong SNEDDS

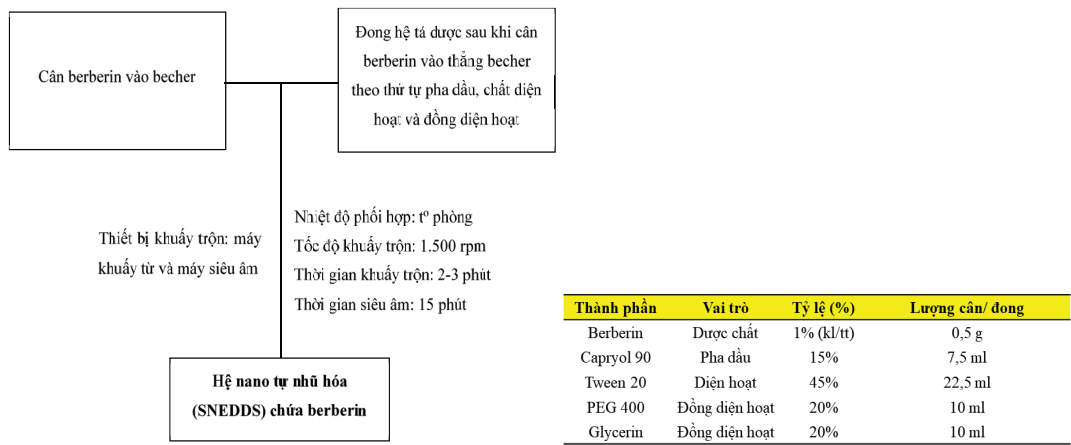
SNEDDS chứa berberin được bào chế trong phòng thí nghiệm với quy mô 50 ml/lô và thực hiện 3 lô với quy trình trong mục 3.3. SNEDDS chứa berberin được để yên tại nhiệt độ phòng trong vòng 72 giờ trước khi thực hiện định lượng, kết quả thu được như sau:

Bảng 8. Kết quả định lượng berberin trong SNEDDS

CT	Độ hấp thu tại λ max 428 nm	Độ pha loãng	Hàm lượng berberin (mg/ml)	Lượng cân (mg)	Đánh giá
I29	0,1720	100 lần	1,0424	1,0	104,24% - Đạt
	0,1719	100 lần	1,0418	1,0	104,18% - Đạt
	0,1718	100 lần	1,0412	1,0	104,12% - Đạt
	Trung bình		1,0418 $\pm$ 0,0006	1,0	104,18 $\pm$ 0,06% - Đạt

3.3. Xây dựng quy trình bào chế SNEDDS chứa berberin quy mô phòng thí nghiệm

Công thức và quy trình bào chế cỡ lô 50 ml tại phòng thí nghiệm được thể hiện trong hình 5.



Hình 5. Công thức và sơ đồ quy trình bào chế SNEDDS chứa berberin cỡ lô 50 ml
Với kết quả định lượng và thực tế việc pha chế cho thấy quá trình bào chế đơn giản, công thức ổn định và qui trình cho độ lặp lại ở quy mô phòng thí nghiệm.

4. BÀN LUẬN

Việc lựa chọn các thành phần SNEDDS là rất quan trọng, yêu cầu phải có khả năng hòa tan tốt hoạt chất, tạo ra hệ tự nhũ ổn định, không bị tủa hoạt chất sau khi hòa tan với môi trường nước. Trên thế giới, Zhongcheng Ke và cộng sự (2014) sử dụng pha dầu là dầu thầu dầu (18,8%), Tween 20 (37,6%) và glycerol (37.6%) để tạo thành SNEDDS chứa berberin với tỷ lệ tải 6% và kích thước giọt trung bình khoảng 62 nm [8]. Kết quả nghiên cứu đã sàng lọc được CT I29 là hệ SNEDDS tốt nhất có thể tải được berberin tỷ lệ 1% (kl/tt) với kích thước giọt dưới 10 nm, tuy tỉ lệ tải hoạt chất thấp hơn nhưng kích thước giọt tốt hơn so với nghiên cứu của nước ngoài.

Kết quả đo phân bố kích thước giọt cho thấy ngoài CT I29 ổn định thì 3 CT I6, I16 và I27 tuy có kết quả khảo sát độ bền nhiệt động học đạt yêu cầu nhưng việc hình thành các vùng kích thước giọt nhũ tương lớn cho thấy có sự kết tụ giữa các giọt nhũ tương; do đó CT I29 được lựa chọn để xây dựng quy trình bào chế cỡ lô 50 ml và cho thấy độ ổn định, độ lặp lại quy trình.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng được công thức và qui trình bào chế SNEDDS có thành phần gồm

15% capryol 90 (PD), 45% tween 20 (S), 30% hỗn hợp CoS gồm glycerin và PEG 400 với tỷ lệ 1:1, berberin tải được 1% đạt yêu cầu về độ bền nhiệt động học và phân bố kích thước giọt. Qui trình bào chế có độ ổn định và lặp lại với cỡ lô 50 ml.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Y tế (2017), “Dược điển Việt Nam V”, NXB Y học.
- Đỗ Tất Lợi (2015), “Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam”, NXB Y học (tái bản)
- Dương Thị Thuần và cộng sự (2022), “Berberine - hợp chất tiềm năng trong phát triển thuốc mới”, VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences, 38(4), tr. 1-12.
- Trịnh Thị Loan, et al. (2019), “Nghiên cứu bào chế liposome berberin bằng phương pháp tiêm ethanol”, Tạp chí Dược học, 59(3), tr. 54-58.
- Akiladevi D, Hari Prakash, Biju Gb, Madumitha N (2020), “Nano-novel approach: Self Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS)”, Research Journal of Pharmacy and Technology, 13(2), pp. 983-990.
- Jaiswal P. and Aggarwal G. (2013),

- “Bioavailability Enhancement of Poorly Soluble Drugs By SMEDDS: A Review”, *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 3(1), pp. 98-109.
7. Prakash C. Senapati et al., (2016), “Mixed surfactant based (SNEDDS) self-nanoemulsifying drug delivery system presenting efavirenz for enhancement of oral bioavailability”, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 80, pp. 42-51.
8. Zhongcheng Ke, et al. (2015), “Formulation Design and In vitro Evaluation of Berberine - Loaded Self - Nanoemulsifying Drug Delivery System”, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(5), pp. 747-752.