

NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ NANO RUTIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP KẾT TỦA TRONG DUNG MÔI

Nguyễn Thị Huyền¹, Nguyễn Thị Bảo Ngọc¹, Vũ Thị Thu Giang^{2*}

Tóm tắt

Mục tiêu: Bào chế hệ tiểu phân nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi và đánh giá một số đặc tính lý - hóa của hệ tiểu phân thu được. **Phương pháp nghiên cứu:** Ứng dụng kỹ thuật kết tủa trong dung môi để bào chế nano rutin sau đó loại dung môi bằng kỹ thuật phun sấy. Nano rutin tạo thành được đánh giá một số đặc tính như kích thước tiểu phân, chỉ số đa phân tán và thế zeta. **Kết quả:** Xây dựng thành công công thức bào chế nano rutin gồm rutin (nồng độ 10 mg/mL trong methanol), HPMC E15 (nồng độ 0,8% trong nước); chất diện hoạt là natri lauryl sulfat (NaLS, nồng độ 0,2% trong nước); tỷ lệ methanol/nước (1/10, tt/tt). Lựa chọn được một số thông số quy trình gồm tốc độ bơm dịch (120 giọt/phút), tốc độ khuấy từ (1.500 vòng/phút), thời gian khuấy (5 phút), sau đó, tiếp tục siêu âm trong 5 phút. Hệ tiểu phân nano sau khi phun sấy có dạng bột màu vàng, kích thước mịn, độ xốp cao. Sau khi phân tán lại trong nước cho kích thước tiểu phân (KTTP) là $246,2 \pm 20,4\text{nm}$; chỉ số đa phân tán (PDI) là $0,450 \pm 0,031$; thế zeta là $-37,2 \pm 2,3\text{mV}$. **Kết luận:** Bào chế được nano rutin theo phương pháp kết tủa trong dung môi và đánh giá một số đặc tính lý - hóa của tiểu phân thu được.

Từ khóa: Rutin; Nano; Kết tủa trong dung môi.

PREPARATION OF RUTIN NANOPARTICLES USING ANTI-SOLVENT PRECIPITATION METHOD

Abstract

Objectives: To prepare the rutin nanoparticles using the anti-solvent precipitation method and evaluate some physicochemical properties of the obtained particles.

¹Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

² Trường Đại học Dược Hà Nội

*Tác giả liên hệ: Vũ Thị Thu Giang (giangvtt@hup.edu.vn)

Ngày nhận bài: 18/9/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 20/10/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48.521>

Methods: The anti-solvent precipitation method was applied to prepare nano rutin and the solvent was removed using spray drying method. The prepared nano rutin was evaluated for some properties such as particle size, polydispersity index, and zeta potential. **Results:** The formulation of rutin nanoparticles was built, including rutin (concentration of 10 mg/mL in methanol), HPMC E15 (concentration of 0,8% in water); surfactant is sodium lauryl sulfate (NaLS, concentration 0,2% in water); methanol/water ratio (1/10, v/v). Some in-processing parameters were selected, including the fluid injection speed (120 drops/minute), the magnetic stirring speed (1500 rpm), stirring time (5 minutes); then continued sonication in 5 minutes. After spray drying, the nanoparticle was in yellow powder form with fine size and high porosity. When redispersion in water, the particle size of rutin nano was less than 250nm with the polydispersity index less than 0.5, and the zeta potential was $-37,2 \pm 2,3\text{mV}$. **Conclusion:** Rutin nanoparticles were successfully prepared by the anti-solvent precipitation method and evaluated some physicochemical properties of the obtained particles.

Keywords: Rutin; Nanoparticle; Anti-solvent precipitation.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là một trong những quốc gia có lợi thế về nguồn tài nguyên cây thuốc phong phú, nhiều loài cây có hàm lượng hoạt chất cao, có giá trị kinh tế, trong đó có thể kể đến hoa hòe. Thành phần hoạt chất chính của nụ hoa hòe là flavonoid; trong đó, rutin có hàm lượng lớn nhất, đặc biệt, hàm lượng rutin trong nụ hoa hòe trồng ở nước ta có thể lên đến 20%, cho giá trị khai thác lớn hơn so với các nước khác. Tác dụng nổi bật của rutin là chống oxy hóa, ngoài ra còn giúp chống viêm, tăng độ bền thành mạch, giảm mỡ máu, hạ huyết áp... [1]. Tuy nhiên, sinh khả dụng đường uống của

rutin tương đối thấp (khoảng 20%) do hoạt chất này có khối lượng phân tử lớn và độ tan trong nước thấp (125 mg/L) [2]. Cùng với sự phát triển của công nghệ nano, nhiều hệ mang thuốc kích thước nano đã được nghiên cứu nhằm khắc phục nhược điểm và nâng cao hiệu quả sử dụng rutin như phytosome/phức hợp phospholipid, vi/nano nhũ tương, hệ tự nhũ hoá, hệ tiểu phân nano... Trong đó, hệ tiểu phân nano với các kỹ thuật bào chế như đồng nhất áp suất cao [3, 4], nghiền bi [5, 6], kết tủa trong dung môi [7]... giúp tăng đáng kể độ tan của rutin. Một số nghiên cứu trong nước về bào chế nano rutin đã được tiến hành,

tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào sử dụng phương pháp kết tủa trong dung môi. Do đó, để cải thiện độ tan, góp phần nâng cao hiệu quả sử dụng của rutin, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu: *Bào chế được nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi và đánh giá một số đặc tính của sản phẩm được bào chế.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

* *Nguyên liệu:* Rutin (hàm lượng 98%, Trung Quốc), chuẩn rutin (hàm lượng 88,2%, Viện Kiểm nghiệm Thuốc, Thành phố Hồ Chí Minh). Các nguyên liệu, hoá chất như hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) E6, polyvinyl pyrrolidon (PVP) - K30, natri lauryl sulfat (NaLS), HPMC E15, polyvinyl alcohol (PVA), Tween 80, Poloxamer 188, ethanol đạt tiêu chuẩn dược dụng, methanol, natri hydroxid (NaOH), kali dihydrophosphat (KH_2PO_4) đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích.

* *Thiết bị, dụng cụ:* Thiết bị cân Sartorius (Đức), thiết bị khuấy tốc độ cao IKA RW200 (Đức), máy khuấy từ IKA-RCT (Đức), máy siêu âm Elmasonic (Đức), máy đo thế zeta và kích thước tiểu phân Horiba SZ100 (Nhật Bản), máy đo quang UV-2600

Shimadzu (Nhật Bản), máy đo độ hòa tan 708-DS Agilent (Mỹ), máy sấy phun Eyela (Nhật Bản), máy phân tích phổ hồng ngoại Agilent (Mỹ), máy phân tích nhiệt quét vi sai DSC LINSEIS (Đức), máy đo nhiễu xạ tia X D8 Advance, Bruker (Đức)...

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Phương pháp bào chế nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi:*

Dung dịch dược chất được chuẩn bị bằng cách hòa tan rutin trong 5mL dung môi hữu cơ, sau đó lọc qua màng cellulose acetat 0,45 μm thu được dung dịch 1. Dung dịch polyme và chất điện hoạt được hòa tan trong nước rồi lọc qua màng cellulose acetat 0,45 μm thu được dung dịch 2. Dung dịch 1 được phối hợp vào dung dịch 2 bằng cách phun bằng kim tiêm (đường kính trong 0,838mm) với tốc độ 120 giọt/phút, dưới tác động của máy khuấy từ với tốc độ 1.500 vòng/phút hoặc máy siêu âm. Hỗn hợp tạo thành được xác định KTTP, PDI và thế zeta. Tiến hành đo ba lần và lấy kết quả trung bình. Sử dụng phương pháp phun sấy để loại dung môi với các thông số: Áp suất súng phun là 10 kPa, nhiệt độ đầu vào là 160°C, tốc độ phun dịch 1.000 mL/giờ, tốc độ thổi khí là 0,4 m³/phút. Bột nano rutin được bảo quản trong bình hút ẩm ở điều kiện nhiệt độ phòng.

* Phương pháp đánh giá nano rutin:

Hình thức: Thử bằng cảm quan để xác định màu sắc, độ mịn...

Kích thước tiểu phân và PDI: Bột nano rutin được phân tán trong nước với nồng độ thích hợp, sử dụng thiết bị Horiba SZ100 để đo KTTP, PDI và thế zeta.

Định lượng rutin bằng phương pháp đo quang phổ hấp thụ ở $\lambda_{\max} = 256,5\text{nm}$, nhóm nghiên cứu đã thẩm định phương pháp và xây dựng được phương trình đường chuẩn: $y = 0,0335x + 0,0332$ (y là độ hấp thụ quang, x là nồng độ rutin ($\mu\text{g/mL}$), mẫu trắng sử dụng là methanol) [8].

Đánh giá ảnh hưởng của tá dược tới độ hấp thụ quang của rutin bằng cách đo độ hấp thụ quang của mẫu placebo và mẫu thử ở bước sóng $256,5\text{nm}$, kết quả cho thấy mẫu placebo có tỷ lệ độ hấp thụ so với mẫu thử $< 1\%$, chứng tỏ tá dược không ảnh hưởng tới độ hấp thụ quang của rutin ở bước sóng $256,5\text{nm}$.

Đánh giá độ tan bão hòa: Mẫu nghiên cứu (bột nano rutin và rutin nguyên liệu) được cho một lượng dư vào môi trường nước, khuấy từ từ đến khi tan bão hòa. Sau từng khoảng thời gian xác định, lấy một thể tích dịch đem lọc qua màng $0,45\mu\text{m}$ rồi pha loãng đến nồng độ thích hợp và đo quang phổ hấp thụ tại bước sóng

$256,5\text{nm}$. Kết quả được xác định khi độ tan của rutin tại hai thời điểm khác nhau không quá 5% .

Đánh giá độ hòa tan của bột nano rutin: Tiến hành đánh giá độ hoà tan của rutin nguyên liệu và nano rutin trên thiết bị 708-DS Dissolution Apparatus theo phụ lục 11.4 Dược điển Việt Nam V. Điều kiện tiến hành: Thiết bị cánh khuấy với tốc độ 100 ± 2 vòng/phút; nhiệt độ môi trường: $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$; mẫu thử: 50mg nguyên liệu rutin hoặc khoảng 555,5mg bột nano rutin tương ứng với 50mg rutin; môi trường hòa tan: 900mL dung dịch đệm phosphat pH 6,8; thời gian lấy mẫu: 5 phút, 10 phút, 15 phút, 30 phút, 60 phút; thể tích lấy mẫu: 10mL. Mẫu sau đó được lọc qua màng cellulose acetat $0,45\mu\text{m}$, pha loãng tới nồng độ thích hợp rồi định lượng bằng phương pháp UV-VIS ở bước sóng $256,5\text{nm}$. Nồng độ rutin đã hòa tan ở lần thứ n được tính theo công thức sau:

$$C_n = C_{n0} + \sum_{t=1}^{n-1} \frac{V_0}{V} \times C_{t0}$$

Trong đó:

C_n : Nồng độ rutin đã hiệu chỉnh ở lần hút thứ n ($\mu\text{g/mL}$).

C_{n0} : Nồng độ rutin đo được ở lần hút thứ n ($\mu\text{g/mL}$).

V_0 : Thể tích dịch hòa tan đã hút (mL).

V : Thể tích môi trường hòa tan (mL).

Phân tích nhiệt vi sai DSC: Lấy lượng mẫu khoảng 6mg cho vào đĩa nhôm dung tích 40 μ L, gia nhiệt liên tục trong điều kiện nhiệt độ quét từ 40 - 300°C, tốc độ gia nhiệt là 10°C/phút.

* *Phương pháp đo quang phổ hồng ngoại IR*: 5 - 10mg mẫu thử được đặt

trực tiếp lên mặt của thiết bị đo. Mẫu được quét phổ trên thiết bị hồng ngoại với dải bước sóng 4000 - 400 cm^{-1}

* *Phương pháp đo nhiễu xạ tia X*: Mẫu nghiên cứu được đưa vào thiết bị đo nhiễu xạ tia X với các thông số: Quét mẫu góc 5 - 50°C với tốc độ quay góc là $\theta = 1^\circ/\text{phút}$, nhiệt độ 25°C.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Bào chế nano rutin

* *Khảo sát loại dung môi*: Nano rutin được bào chế bằng phương pháp kết tủa trong dung môi với dung dịch dược chất gồm 0,1g rutin (20 mg/mL) trong 5mL dung môi, dung dịch chất ổn định gồm 0,5g HPMC E15 (1%), 0,1g NaLS (0,2%) trong 50mL nước cất. Nano rutin tạo thành được đánh giá KTTP, chỉ số đa phân tán PDI, thế zeta. Kết quả được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Đặc tính của nano rutin bào chế với các dung môi khác nhau (n = 3).

Mẫu	Dung môi	KTTP (nm)	PDI	Thế zeta (mV)
M1	Methanol	486,9 \pm 25,9	0,433 \pm 0,041	-21,8 \pm 0,8
M2	Ethanol	1659,6 \pm 37,2	0,565 \pm 0,088	-9,2 \pm 0,2
M3	Methanol:Ethanol=1:1	Có tiêu phân quan sát được bằng mắt thường		

Kết quả khảo sát cho thấy, sử dụng methanol làm dung môi thu được nano rutin với KTTP và PDI thấp nhất (486,9nm và 0,433), giá trị tuyệt đối của thế zeta (21,8mV) cũng cao hơn các trường hợp còn lại. Vì vậy, methanol được lựa chọn làm dung môi hòa tan để tiếp tục nghiên cứu.

* *Khảo sát loại polyme*: Nano rutin được bào chế bằng phương pháp kết tủa trong dung môi với dung dịch dược chất gồm 0,1g rutin (20 mg/mL) trong 5mL dung môi methanol, dung dịch chất ổn định gồm 0,5g polyme (1%), 0,1g NaLS (0,2%) trong 50mL nước cất. Kết quả thu được như trong bảng 2.

Bảng 2. Đặc tính của nano rutin bào chế với các polyme khác nhau (n = 3).

Mẫu	Loại polyme	KTTP (nm)	PDI	Thế Zeta (mV)
M1	HPMC E15	486,9 ± 25,9	0,433 ± 0,041	-21,8 ± 0,8
M4	HPMC E6	708,7 ± 181,7	0,674 ± 0,052	-15, ± 0,45
M5	PVP K30	598,9 ± 130,4	1,095 ± 0,054	-13,6 ± 0,8
M6	PVA	727,8 ± 184	0,965 ± 0,091	-16,7 ± 1,1

Kết quả cho thấy KTTP và PDI nhỏ nhất khi sử dụng HPMC E15 (486,9nm và 0,433). Bên cạnh đó, mẫu M1 sử dụng HPMC E15 cũng cho trị tuyệt đối thế zeta cao nhất là 21mV. Do đó, HPMC E15 được lựa chọn làm chất ổn định cho các nghiên cứu tiếp theo.

* *Khảo sát nồng độ polyme:* Tiến hành bào chế nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi với dung dịch dược chất gồm 0,1g rutin trong 5mL dung môi methanol, dung dịch chất ổn định gồm HPMC E15 và 0,1g NaLS trong 50mL nước cất. Kết quả khảo sát các nồng độ HPMC E15 khác nhau thu được như trong bảng 3.

Bảng 3. Đặc tính của nano rutin bào chế với các nồng độ HPMC E15 khác nhau (n = 3).

Mẫu	Nồng độ polyme (%)	KTTP (nm)	PDI	Thế zeta (mV)
M7	0,6	1506,9 ± 47,1	1,244 ± 0,034	-22,1 ± 0,3
M8	0,8	433,6 ± 36,9	0,456 ± 0,052	-24,7 ± 0,8
M1	1	486,9 ± 25,9	0,433 ± 0,041	-21,8 ± 0,8
M9	1,2	1920,5 ± 34,2	1,339 ± 0,034	-22,0 ± 0,5

Với nồng độ HPMC E15 là 0,8%, có thể thấy nano rutin có KTTP nhỏ nhất (433,6nm). PDI của mẫu M8 (0,8%) và M1 (1%) khá tương đồng, trong khi mẫu M7 và M9 có khoảng phân bố kích thước lớn (PDI >1). Từ kết quả thu được, lựa chọn nồng độ HPMC E15 là 0,8% để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

* *Khảo sát nồng độ dược chất:* Nano rutin được bào chế bằng phương pháp kết tủa trong dung môi với dung dịch dược chất gồm rutin trong 5mL dung môi methanol (nồng độ 5 mg/mL; 10 mg/mL; 20 mg/mL; 30 mg/mL; 50 mg/mL),

dung dịch chất ổn định gồm 0,4g HPMC E15 và 0,1g NaLS trong 50mL nước cất. Kết quả thu được như trong bảng 4.

Bảng 4. Đặc tính của nano rutin bào chế với các nồng độ rutin khác nhau (n = 3).

Mẫu	Nồng độ rutin (mg/mL)	KTTP (nm)	PDI	Thế zeta (mV)
M10	5	435,0 ± 54,3	0,559 ± 0,096	-22,8 ± 0,8
M11	10	316,1 ± 19,1	0,442 ± 0,036	-41,4 ± 7,2
M8	20	433,6 ± 36,9	0,456 ± 0,052	-24,7 ± 0,8
M12	30	701,0 ± 175,3	0,591 ± 0,091	-23,9 ± 0,7
M13	50	Quan sát thấy tiểu phân bằng mắt thường		

Ở nồng độ 10 mg/mL, có thể thấy nano rutin có KTTP và PDI nhỏ nhất (316,1nm và 0,442), sau đó khi tăng nồng độ rutin thì KTTP lại tăng lên. Trong các mẫu khảo sát, trị tuyệt đối thế zeta của mẫu M11 (10 mg/mL) lớn nhất (41,4mV). Do đó, lựa chọn nồng độ rutin là 10 mg/mL để tiếp tục nghiên cứu.

* *Khảo sát tỷ lệ dung môi hòa tan và dung môi kết tủa:* Tiến hành bào chế nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi với dung dịch dược chất gồm 0,05g rutin trong 5mL dung môi methanol (nồng độ 10 mg/mL), dung dịch chất ổn định gồm HPMC E15 0,8% và NaLS 0,2% trong nước cất. Thể tích dung môi kết tủa được khảo sát là: 25mL, 50mL, 75mL, 100mL. Kết quả thu được như trong bảng 5.

Bảng 5. Đặc tính của nano rutin bào chế với tỷ lệ dung môi khác nhau (n = 3).

Mẫu	Tỷ lệ dung môi hoà tan/dung môi kết tủa	KTTP (nm)	PDI	Thế zeta (mV)
M14	1/5	2400,9 ± 44,6	0,663 ± 0,048	-31,0 ± 4,5
M11	1/10	316,1 ± 19,1	0,442 ± 0,036	-41,4 ± 7,2
M15	1/15	827,2 ± 85,3	0,637 ± 0,030	-31,6 ± 2,4
M16	1/20	1494,3 ± 75,9	0,449 ± 0,033	-36,0 ± 0,2

Như vậy, tại tỷ lệ dung môi hoà tan/dung môi kết tủa tương ứng là 1/10 nano rutin thu được có KTTP và PDI nhỏ nhất (316,1nm và 0,442). Bên cạnh đó, trị

tuyệt đối thể zeta của mẫu M11 (tỷ lệ 1/10) cũng cao nhất. Do vậy, tỷ lệ dung môi hòa tan/dung môi kết tủa là 1/10 được lựa chọn để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

* *Khảo sát chất điện hoạt*: Tiến hành bào chế nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi với dung dịch dược chất gồm 0,05g rutin trong 5mL dung môi methanol, dung dịch chất ổn định gồm HPMC E15 0,8% và chất điện hoạt 0,2% trong 50mL nước cất. Kết quả khảo sát các chất điện hoạt khác nhau thu được như trong bảng 6.

Bảng 6. Đặc tính của nano rutin bào chế với các chất điện hoạt khác nhau (n = 3).

	Chất điện hoạt	KTTP (nm)	PDI	Thể zeta (mV)
M17	NaLS ether	1045,6 ± 9,0	0,577 ± 0,042	-23,2 ± 0,8
M11	NaLS	316,1 ± 19,1	0,442 ± 0,036	-41,4 ± 7,2
M18	Poloxamer 188	616,9 ± 39,5	0,507 ± 0,069	-15,3 ± 0,2
M19	Tween 80	489,9 ± 34,4	0,583 ± 0,138	-18,7 ± 1,2

Kết quả cho thấy, việc sử dụng các chất điện hoạt khác nhau dẫn đến thay đổi về KTTP và PDI của nano rutin. Sử dụng chất điện hoạt NaLS cho nano rutin có KTTP và PDI nhỏ nhất (316,1nm và 0,442). Do đó, lựa chọn chất điện hoạt NaLS để tiếp tục nghiên cứu.

* *Khảo sát ảnh hưởng của thiết bị phân tán*: Tiến hành bào chế nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi với các thông số kỹ thuật đã lựa chọn, sử dụng các thiết bị phân tán khác nhau. Kết quả thu được như trong bảng 7.

Bảng 7. Đặc tính của nano rutin bào chế với các thiết bị trộn khác nhau (n = 3).

	Thiết bị	KTTP (nm)	PDI	Thể Zeta (mV)
	Khuấy từ	316,1 ± 19,1	0,442 ± 0,036	-41,4 ± 7,2
	Khuấy trộn tốc độ cao	1225,3 ± 15,5	1,372 ± 0,007	-20,5 ± 1,2
	Siêu âm	335,9 ± 124,8	0,461 ± 0,004	-30,1 ± 0,7

Số liệu thu được cho thấy, bào chế với máy khuấy từ ở tốc độ 1.500 vòng/phút và siêu âm thu được nano rutin có KTTP và PDI tương đương nhau, thấp hơn so với sử dụng máy khuấy trộn tốc độ cao. Vì vậy, lựa chọn phương pháp bào chế là khuấy từ ở tốc độ 1.500 vòng/phút trong 5 phút kết hợp với siêu âm để tiến hành nghiên cứu.

* *Khảo sát thời gian siêu âm*: Dựa trên các thông số kỹ thuật đã lựa chọn, bào chế nano rutin trong điều kiện khuấy từ tốc độ 1.500 vòng/phút trong 5 phút, sau đó tiếp tục siêu âm trong các thời gian khác nhau. Kết quả đánh giá đặc tính nano rutin được như sau:

Bảng 8. Đặc tính của nano rutin khi bào chế với thời gian siêu âm khác nhau (n = 3).

Thời gian	KTTP (nm)	PDI	Thế Zeta (mV)
3 phút	525,4 ± 25,9	0,592 ± 0,117	-33,0 ± 0,1
5 phút	229,1 ± 42,2	0,439 ± 0,028	-39,1 ± 7,8
10 phút	526,2 ± 50,8	0,537 ± 0,051	25,7 ± 0,6

Kết quả nghiên cứu cho thấy, thời gian 5 phút siêu âm cho kết quả KTTP và PDI là nhỏ nhất (230,6nm và 0,439). Vì vậy, bào chế nano rutin sử dụng khuấy từ ở tốc độ 1500 vòng/phút trong 5 phút sau đó tiếp tục siêu âm 5 phút cho nano rutin có KTTP và PDI nhỏ nhất. Từ các kết quả nghiên cứu trên, xây dựng được công thức bào chế nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi với các thông số kỹ thuật: Nồng độ dung dịch rutin trong methanol là 10 mg/mL; nồng độ dung dịch HPMC E15 trong nước là 0,8%; nồng độ dung dịch NaLS trong nước là 0,2%; tỷ lệ dung môi hòa tan/dung môi kết tủa là 1/10; tốc độ tiêm bằng kim tiêm xi lanh là 120 giọt/phút; khuấy từ tốc độ 1500 vòng/phút trong 5 phút rồi siêu âm tiếp trong 5 phút.

2. Đánh giá một số đặc tính của nano rutin bào chế được

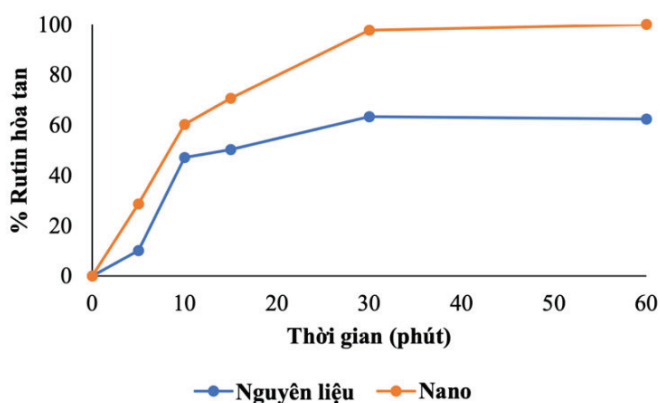
Bào chế nano rutin ở quy mô 15g rutin/mẻ (3 mẻ) bằng phương pháp kết tủa trong dung môi theo các thông số quy trình đã được lựa chọn, loại dung môi bằng phương pháp phun sấy. Nano rutin được đánh giá một số đặc tính, kết quả thể hiện như trong bảng 9, bảng 10 và hình 1.

Bảng 9. Đặc tính của nano rutin trước và sau khi loại dung môi (n = 3).

Chỉ tiêu	Hình thức	KTTP (nm)	PDI	Thế Zeta (mV)
Bột nano rutin phun sấy	Bột tơi mịn, màu vàng	246,2 ± 20,4	0,450 ± 0,031	- 37,2 ± 2,3
Mẫu hỗn dịch nano rutin trước khi loại dung môi		229,1 ± 42,2	0,439 ± 0,028	-39,1 ± 7,8

Bảng 10. Độ tan bão hoà trong nước của nano rutin so với rutin nguyên liệu (n = 3).

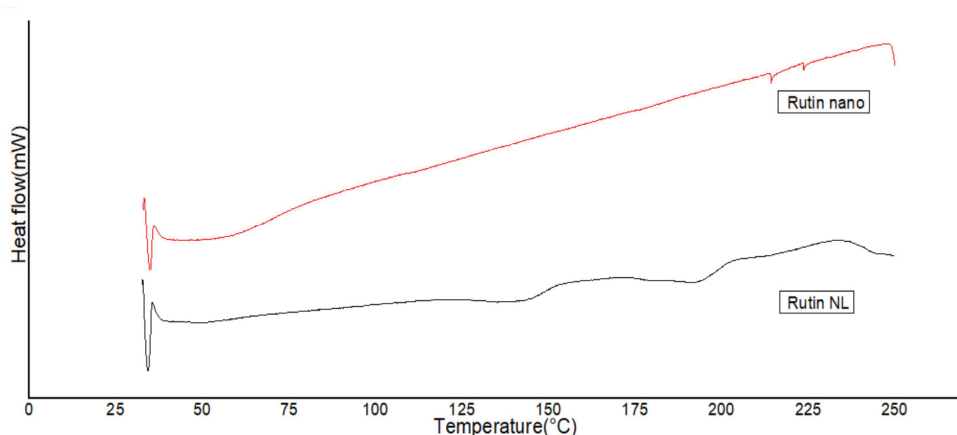
Mẫu thử	Độ tan bão hoà (mg/mL)
Rutin nguyên liệu	0,113 ± 0,022
Nano rutin	7,448 ± 0,265

**Hình 1.** Độ hòa tan của rutin nguyên liệu và nano rutin trong môi trường pH 6,8.

Bột nano rutin thu được sau phun sấy có KTTTP, PDI và thế zeta khá tương đồng với mẫu nano trong hỗn dịch bào chế, KTTTP sau khi phun sấy lớn hơn so với trước khi phun sấy (246,2 > 229,1nm). Bào chế dạng nano làm tăng đáng kể độ tan bão hòa của rutin so với nguyên liệu (tăng gấp 65,91 lần). Độ hoà tan sau 5 phút của nano rutin gấp 2,83 lần so với dạng nguyên liệu (28,69% so với 10,12%). Ở thời điểm 60 phút, độ hoà tan của rutin nguyên liệu là 62,42%, trong khi

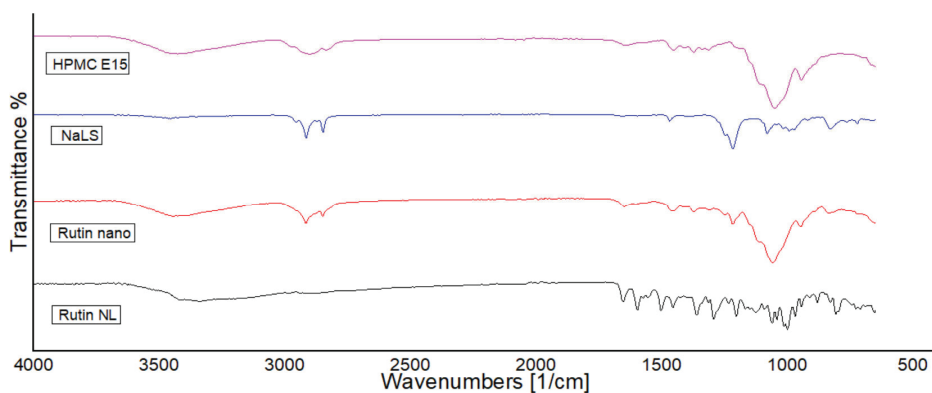
nano rutin đã giải phóng gần như hoàn toàn (100%). Điều này chứng tỏ nano rutin có khả năng giải phóng trong môi trường pH 6,8, cao hơn đáng kể so với dạng nguyên liệu.

Phân tích nhiệt vi sai (DSC): Từ hình ảnh phổ DSC nhận thấy rutin nguyên liệu có pic nhiệt ở 183 - 194°C, đây chính là điểm nóng chảy của nguyên liệu. Tuy nhiên, phổ của nano rutin bị mất các pic ở khoảng nhiệt độ này, chứng tỏ rutin gần như đã chuyển từ trạng thái tinh thể sang trạng thái vô định hình.



Hình 2. Phổ DSC của rutin nguyên liệu và bột nano rutin.

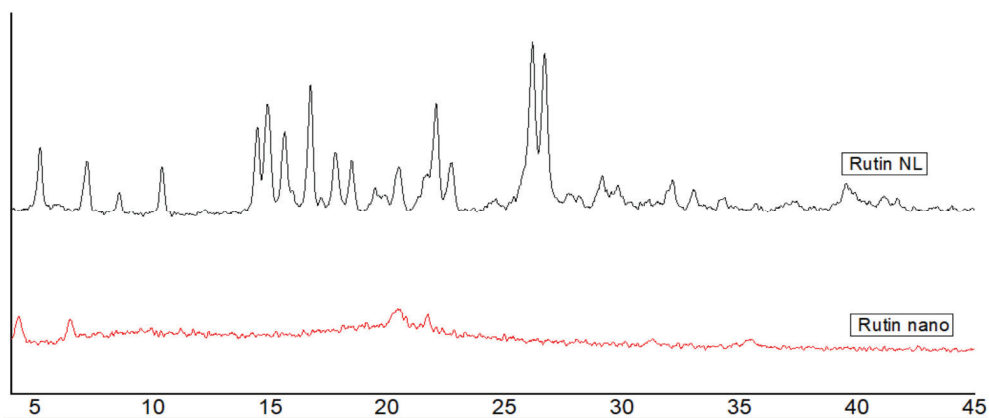
Phổ hồng ngoại (FTIR) của rutin nguyên liệu có đỉnh hấp thụ đặc trưng tại các số sóng $3420,96\text{cm}^{-1}$ (liên kết O-H), $1293,67\text{cm}^{-1}$ (liên kết C-O-C), 1651cm^{-1} (liên kết C=O) và $1594,91\text{cm}^{-1}$ (liên kết C=C). Kết quả phân tích cho thấy phổ hồng ngoại của nano rutin khá tương đồng với phổ của HPMC E15 và NaLS, khác biệt với phổ của rutin nguyên liệu. Điều này có thể do hàm lượng rutin trong hệ nano tương đối thấp so với HPMC E15 và NaLS, dẫn đến đỉnh hấp thụ đặc trưng của rutin bị che khuất bởi đỉnh hấp thụ của hai tá dược này. Qua phân tích phổ hồng ngoại, chưa thấy rõ được tương tác giữa dược chất và tá dược trong quá trình bào chế.



Hình 3. Phổ FTIR của rutin nguyên liệu, nano rutin và tá dược.

Phổ nhiễu xạ tia X: Rutin nguyên liệu có nhiều pic nhiễu xạ với các đỉnh pic đặc trưng tại các vị trí ($14,8^\circ$; $16,2^\circ$; 26°), chứng tỏ rutin nguyên liệu tồn tại ở

trạng thái tinh thể và có độ tinh khiết cao. Ở hệ nano, các đỉnh đặc trưng của nano rutin đã bị biến mất ở khoảng vùng này. Hiện tượng này cũng tương tự như kết quả ở giản đồ DSC, các kết quả này đều chứng minh rằng trạng thái kết tinh của nguyên liệu đã chuyển sang dạng vô định hình trong quá trình kết tủa và phun sấy.



Hình 4. Phổ nhiễu xạ tia X của nano rutin và rutin nguyên liệu.

BÀN LUẬN

Rutin là một hợp chất với nhiều tác dụng dược lý và tiềm năng khai thác tốt, do đó một số nghiên cứu trong nước và trên thế giới về bào chế dạng nano để cải thiện sinh khả dụng của rutin đã được tiến hành. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp kết tủa trong dung môi, là phương pháp tương đối đơn giản, không yêu cầu các thiết bị phức tạp, dễ dàng tạo ra tiểu phân có kích thước cỡ nano. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy sử dụng dung môi hòa tan là methanol và tỷ lệ dung môi hòa tan/dung môi kết tủa là 1/10 cho nano rutin có KTTP và PDI nhỏ nhất, tương

đồng với nghiên cứu của Sonia Gera và CS [9]. Hỗn dịch nano là hệ phân tán không ổn định về mặt nhiệt động và có thể dẫn đến sự kết tụ của các hạt, do đó, cần có chất ổn định để duy trì độ ổn định vật lý. HPMC E15 có ái lực cao và có thể dễ dàng hấp phụ trên bề mặt dược chất, ngăn cản sự kết tụ dược chất; vì vậy, sử dụng HPMC E15 cho hỗn dịch nano rutin có KTTP nhỏ nhất trong các polyme khảo sát. Nồng độ HPMC E15 sử dụng là 0,8%, khá tương đồng với nghiên cứu của Sonia Gera và CS [9] sử dụng HPMC E15 (1%). Kết quả nghiên cứu tạo ra nano rutin có KTTP ($246,2 \pm 20,4$ nm) và

PDI ($0,450 \pm 0,031$), cao hơn so với nghiên cứu của Sonia Gera (KTTP là $122,85 \pm 5,02\text{nm}$ và PDI là $0,12 \pm 0,02$). Điều này có thể do nghiên cứu của Sonia Gera có sự kết hợp của HPMC E15 với chất diện hoạt sodium dodecyl sulphat và chất ổn định là lecithin đậu nành. Nghiên cứu sử dụng phương pháp phun sấy để loại dung môi, ngoài ra, cũng có thể sử dụng phương pháp đông khô, tuy nhiên, phương pháp này đòi hỏi thiết bị chuyên dụng.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã bào chế thành công nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi. Công thức bào chế gồm rutin (nồng độ 10 mg/mL trong methanol), HPMC E15 (nồng độ $0,8\%$ trong nước); chất diện hoạt là natri laurylsulfat (nồng độ $0,2\%$ trong nước); tỷ lệ methanol/nước ($1/10$, tt/tt). Khảo sát và lựa chọn được một số thông số kỹ thuật gồm: Tốc độ bơm dịch 120 giọt/phút , tốc độ khuấy từ 1500 vòng/phút , thời gian khuấy 5 phút , sau đó tiếp tục siêu âm trong 5 phút . Thông số quy trình phun sấy để bào chế bột nano rutin gồm: Áp suất súng phun 10kPa , nhiệt độ đầu vào 160°C , tốc độ phun dịch 1.000 mL/giờ , tốc độ thổi khí $0,4 \text{ m}^3/\text{phút}$.

Đã đánh giá được các đặc tính lý hoá của nano rutin bào chế gồm hình thức (bột toi mịn, màu vàng), KTTP ($246,2 \pm 20,4\text{nm}$), PDI ($0,450 \pm 0,031$), thế zeta ($-37,2 \pm 2,3\text{mV}$). Bột nano rutin thu được có độ tan bão hoà trong nước gấp $65,91$ lần so với dạng nguyên liệu. Trong môi trường pH $6,8$, rutin giải phóng hầu như hoàn toàn từ hệ tiểu phân nano sau 60 phút , cao hơn $1,6$ lần so với rutin nguyên liệu. Phân tích nhiệt vi sai DSC và phổ nhiễu xạ tia X của bột nano thu được cho thấy rutin tồn tại chủ yếu ở trạng thái vô định hình.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gullón B, et al. Rutin: A review on extraction, identification and purification methods, biological activities and approaches to enhance its bioavailability. *Trends in Food Science & Technology*. 2017; 67:220-235.
2. Manach C, et al. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr*. 2005; 81(1 Suppl):230-242.
3. Mauludin R, RH Müller, and CM Keck. Development of an oral rutin nanocrystal formulation. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009; 370(1-2):202-209.

4. Phan Nguyễn Quỳnh Anh. Nghiên cứu tạo hệ nano từ rutin. *Trường Đại học Bách Khoa. Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh*. 2017.
5. Liu T, et al. Preparation nanocrystals of poorly soluble plant compounds using an ultra-small-scale approach. *Aaps Pharmscitech*. 2017; 18(7):2610-2617.
6. Mai Thị Thảo. Bào chế bột nano rutin bằng kỹ thuật nghiền bi. *Trường Đại học Y Dược. Đại học Quốc gia Hà Nội*. 2019.
7. Zhao X, et al. Development of silymarin nanocrystals lyophilized power applying nanosuspension technology. *China Journal of Chinese Materia Medica*. 2009; 34(12):1503-1508.
8. Nguyễn Thị Bảo Ngọc. Nghiên cứu bào chế nano rutin bằng phương pháp kết tủa trong dung môi. *Khoá luận tốt nghiệp đại học ngành dược học. Trường Đại học Y Dược. Đại học Quốc gia Hà Nội*. 2022.
9. Gera, S., et al. Rutin nanosuspension for potential management of osteoporosis: effect of particle size reduction on oral bioavailability, *in vitro* and *in vivo* activity. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2020; 25(8):971-988.