

TỔNG HỢP VÀ XÁC ĐỊNH TÍNH CHẤT VI NANG ĐƯỢC TẠO THÀNH TỪ QUÁ TRÌNH ĐỒNG KEO TỤ GIỮA GUM ARABIC VÀ CHITOSAN TẢI SORAFENIB

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF SORAFENIB-LOADED GUM ARABIC-CHITOSAN COMPLEX COACERVATION

Phan Chi Uyên^{1*}, Đỗ Thị Thúy Vân²

¹Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật - Đại học Đà Nẵng

²Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng

*Tác giả liên hệ: pcutyen@ute.udn.vn

(Nhận bài: 28/5/2022; Chấp nhận đăng: 07/11/2022)

Tóm tắt - Vi nang đang được sử dụng rộng rãi trong y dược như tá dược tải thuốc, nâng cao sinh khả dụng của các thuốc không tan trong nước. Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả đã tổng hợp vi nang Gum Arabic-Chitosan (GA-CS) để tải Sorafenib, một loại thuốc không tan trong nước, đang được sử dụng để chữa nhiều loại bệnh ung thư. Hình ảnh huỳnh quang, tán xạ ánh sáng động (DLS) và khả năng tải thuốc của vi nang đã được phân tích, đánh giá. Giá trị thế zeta cho thấy, tại pH 3,4, tỉ lệ thể tích thích hợp cho phản ứng giữa Chitosan 1% : Gum Arabic 5% là 1 : 1. Hình ảnh huỳnh quang cho thấy, Sorafenib đã được bao bọc thành công bởi vi nang; và từ dữ liệu DLS chúng ta biết được tán xạ ánh sáng động của các vi nang này khoảng 6,3 μ m.

Từ khóa - Vi nang; Sorafenib; Gum Arabic; Chitosan; tá dược

1. Đặt vấn đề

Vi nang là những hạt chất mang, có kích thước từ 1 – 1000 μ m [1], bắt đầu được nghiên cứu vào năm 1929. Tại thời điểm này, gelatin dạng hình cầu lần đầu tiên được tổng hợp thành công thông qua quá trình đồng keo tụ [2]. Vi nang được sử dụng rộng rãi để tải các hợp chất trong dược phẩm, mỹ phẩm hoặc thực phẩm, ví dụ như thuốc, protein, hormone, hương liệu, ... [3]. Do có lớp màng mỏng được hình thành trong quá trình phản ứng, nó có thể bao bọc các chất bên trong và cô lập chúng với môi trường bên ngoài [4]. Vì vậy, vi nang có vai trò bảo vệ và làm bền các chất bên trong khỏi các tác nhân oxy hóa, hoặc môi trường bên ngoài, ... [5]. Ngoài ra, vi nang còn có thể kiểm soát sự giải phóng của các chất bị bao bọc trong nó vào cơ thể người. Trong các loại vi nang thì vi nang tổng hợp từ Gum Arabic và Chitosan đang được đặc biệt chú trọng [6, 7].

Gum Arabic (GA) là một vật liệu phụ gia, thuộc nhóm polysaccharide, được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp do có bề mặt hoạt hóa rất tốt và độ nhớt thấp. Bề mặt GA chứa các nhóm carboxyl (-COOH), vì vậy dễ bị ion hóa tạo nên bề mặt mang điện tích âm. Vì vậy, nó được sử dụng phổ biến để tạo các hợp chất đồng phức hợp với protein hoặc polysaccharide mang điện tích dương khác [8]. Chitosan (CS) là hợp chất polysaccharide tự nhiên, một dạng dẫn xuất của chitin, được chiết xuất thông qua phản ứng deacetyl hóa chitin [9]. CS có một số lượng lớn các nhóm amino (-NH₂) và hydroxyl (-OH) nên bề mặt dễ dàng

Abstract - Microcapsules have widely been used in drug delivery to enhance the bioavailability of water-insoluble drugs. In this study, the Gum Arabic-Chitosan (GA-CS) microcapsule was prepared for loading Sorafenib, a water-insoluble drug, which is used for different cancers treatment. Fluorescence microscopy, dynamic light scattering (DLS), and drug loading of the microcapsule were analyzed and evaluated. The zeta potential revealed that the microcapsule would be successfully prepared at pH 3.4 with the volume ratio of 1:1 (1% Chitosan: 5% Gum Arabic). The fluorescence microscopy images showed that, Sorafenib was successfully encapsulated in GA-CS microcapsule; and the DLS data exhibited that their hydrodynamic size was about 6.3 μ m.

Key words - microcapsule; Sorafenib; Gum Arabic; Chitosan; drug delivery

bị ion hóa và mang điện tích dương. Nó có khả năng cạnh tranh sinh học cao, dễ dàng bị phân hủy sinh học và không độc, do đó đã được sử dụng rộng rãi để làm chất phụ gia trong dược phẩm, thực phẩm, mỹ phẩm, ... như microsphere (hạt cầu có kích thước micro), vật liệu nano, hydrogels, microgels, ... [10]. Ngoài ra, vi nang từ CS còn có khả năng làm chậm và kiểm soát sự giải phóng của thuốc, từ đó làm tăng sinh khả dụng của thuốc, đặc biệt là các loại thuốc không tan trong nước [11].

Thuốc được sử dụng trong nghiên cứu này là Sorafenib (Sor). Đây là một loại thuốc chữa được nhiều bệnh ung thư nhờ khả năng ngăn ngừa sự hình thành các mạch máu mới, từ đó cắt đứt nguồn dinh dưỡng nuôi lớn tế bào ung thư và ngăn ngừa sự phát triển của khối u [12, 13]. Tuy nhiên, Sor không tan trong nước, do đó sinh khả dụng của nó bị hạn chế [14, 15].

Để tăng khả năng truyền tải thuốc vào cơ thể, Sor được tải bởi các vi nang. Trong bài báo này, nhóm tác giả nghiên cứu tổng hợp vi nang Gum Arabic-Chitosan-tải Sor (GA-CS-Sor) thông qua quá trình đồng keo tụ. Để lựa chọn tỉ lệ khối lượng tại giá trị pH thích hợp cho quá trình phản ứng, nhóm tác giả đã đo giá trị thế zeta của hai dung dịch GA và CS. Sau khi tổng hợp, loại vi nang này đã được phân tích các đặc trưng dựa trên hình ảnh quang học thông thường và hình ảnh huỳnh quang phát xạ tia UV. Kích thước hạt được đo bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động. Khả năng tải thuốc của vi nang cũng đã được đo, tính toán và phân tích.

¹ The University of Danang - University of Technology and Education (Chiuuyen Phan)

² The University of Danang - University of Science and Education (Thithuyvan Do)

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Gum Arabic có khối lượng phân tử ~250.000 Da, Chitosan có khối lượng phân tử ~5.000 Da, và Sorafenib tự do (độ tinh khiết 99%) được mua từ công ty dược Đông Trung Quốc. Nước cất được sử dụng là nước cất hai lần; DMSO, glutaraldehyde 4% và methanol đều đạt tiêu chuẩn phân tích.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Giá trị thế zeta

Các dung dịch Gum Arabic và Chitosan có nồng độ 1% được chuẩn bị bằng cách hòa tan các chất rắn GA và CS vào nước cất 2 lần, khuấy liên tục trong 6 giờ ở nhiệt độ 50°C, điều chỉnh pH bằng HCl 0,1 mol L⁻¹ và NaOH 0,1 mol L⁻¹, giữ qua đêm ở nhiệt độ 4°C. Các giá trị thế zeta của dung dịch Gum Arabic và Chitosan tại các điểm pH khác nhau từ 3 đến 6, được đo ở nhiệt độ phòng bằng thiết bị đo Zetasizer 3000 (Malvern Instrument, Worcestershire, UK).

2.2.2. Tổng hợp vi nang GA-CS-Sor

Vi nang được tổng hợp thông qua quá trình đồng keo tụ của 2 chất lưỡng tính, chất có điểm đẳng điện thấp (chất nhũ - GA) được cho vào hệ phản ứng trước, chất mang điểm đẳng điện cao (chất phức hợp - CS) được cho vào hỗn hợp phản ứng sau [16]. Quy trình thực hiện cụ thể như sau: Đầu tiên, cho 20 mL GA 5% (chất nhũ) vào cốc phản ứng, đun nóng ở 50°C và khuấy 1000 vòng/phút trong 5 phút, sau đó vừa khuấy vừa nhỏ vào từng giọt dung dịch Sor trong DMSO (nồng độ 1; 2; 3; 4; 5 và 6 mg mL⁻¹). Sau khi nhỏ xong tổng cộng 4 mL dung dịch Sor, hỗn hợp được khuấy thêm 5 phút nữa. Sau đó, 20 mL dung dịch CS 1% (chất phức hợp, đã được gia nhiệt ở 50°C) được nhỏ từ từ vào hỗn hợp trên. Giữ hỗn hợp ở điều kiện trên trong vòng 1 giờ để các chất phân tán đều vào nhau. Sau đó, hỗn hợp được điều chỉnh về pH 3,4 bằng HCl 0,1 mol L⁻¹ và NaOH 0,1 mol L⁻¹ rồi tiếp tục khuấy trong t (giờ) nữa để phản ứng xảy ra, các giá trị t (giờ) cần khảo sát lần lượt là 0,5; 1,0; 2,0 và 3,0 giờ. Sau đó, nhỏ dung dịch hỗn hợp trên vào 40 mL nước ấm 40°C và khuấy. Để làm bền vi nang, 10 mL glutaraldehyde 4% được cho chậm vào hỗn hợp trên (lượng glutaraldehyde đã được tính toán sử dụng dư [17]). Sau khi tiếp tục khuấy trong vòng 1 giờ, cốc phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ phòng. Hỗn hợp được ly tâm trong thời gian 5 phút ở tốc độ chậm 400 vòng/phút, phần chất rắn được rửa sạch Sor dư bằng methanol 2 – 3 lần, và rửa GA, CS dư, các vi nang có kích thước nhỏ bằng nước cất 2 – 3 lần. Sấy chân không chất rắn thu được ở 30°C trong 5 giờ. Vi nang thu được phân tán lại vào nước cất để phân tích kết quả.

2.2.3. Tính chất của vi nang

a. Hình thái vi nang

Hình ảnh của các vi nang (với nồng độ Sor ban đầu là 4 mg mL⁻¹) được ghi lại và phân tích bằng kính hiển vi huỳnh quang kết nối máy tính Nikon DS-Ri2 (Nikon Corporation; Japan) trong vùng ánh sáng trắng và vùng ánh sáng tử ngoại có bước sóng 375 nm.

b. Kích thước vi nang

Kích thước vi nang được đo theo phương pháp tán xạ

ánh sáng động (DLS) trên máy phân tích kích thước hạt cỡ micro LS 13 320 XR (Beckman Coulter, USA). Sau khi ly tâm, lọc rửa bằng nước cất nhiều lần, vi nang được phân tán lại vào nước cất và được tiến hành đo kích thước thủy động lực học.

2.2.4. Khả năng tải thuốc

Hàm lượng của Sor được tải bởi các vi nang được đo bằng máy Thermo Scientific Evolution 300 UV-Vis spectrometer (Thermo Scientific, Waltham, MA). Sau khi ly tâm, lọc, rửa bằng nước cất, tất cả phần dung dịch được gom lại với nhau, và định mức đến 250 mL bằng methanol, với lượng methanol khoảng 50% (với mục đích hòa tan lượng Sor không tan trong nước). Độ hấp thụ UV-Vis của Sor dư trong dung dịch được đo và nồng độ của nó được tính dựa trên đường chuẩn nồng độ - độ hấp thụ tia UV-Vis của Sor trong dung dịch nước : methanol (1:1, v/v), $y = 132,0 \cdot x + 0,03609$ và $R^2 = 0,9998$ (Hình 4a).

Khả năng tải thuốc (drug loading, DL%) và hiệu suất tải thuốc (encapsulation efficiency, EE%) của vi nang được tính dựa theo công thức (1) và (2):

$$DL\% = \frac{S_o - S_{dư}}{m_{rắn}} \cdot 100\% \quad (1)$$

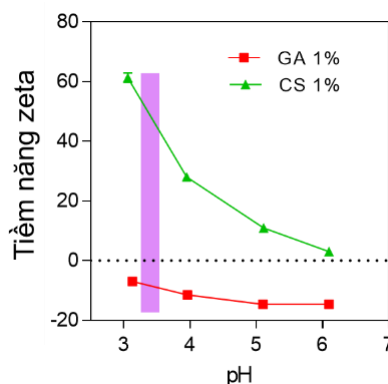
$$EE\% = \frac{S_o - S_{dư}}{S_o} \cdot 100\% \quad (2)$$

Trong đó, DL% là lượng thuốc được tải bởi vi nang; EE% là hiệu suất tải thuốc; S_o là nồng độ của Sor ban đầu; S_{dư} là lượng Sor dư không bị tải còn lại trong dung dịch, và m_{rắn} là tổng khối lượng vi nang cân được sau khi lọc, rửa và sấy.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Thế zeta của Gum Arabic và Chitosan

Quá trình đồng keo tụ giữa chất nhũ (GA) và chất phức hợp (CS) chủ yếu dựa trên lực tương tác tĩnh điện giữa 2 vật liệu mang điện tích trái dấu [16]. Do đó, việc đánh giá thế zeta của vật liệu rất quan trọng để lựa chọn tỉ lệ khối lượng và giá trị pH phù hợp cho quá trình đồng keo tụ này. Hình 1 thể hiện thế zeta của các dung dịch GA 1% và CS 1%. Kết quả cho thấy, trong khoảng giá trị pH từ 3 – 6, bề mặt của GA mang điện tích âm và giá trị này giảm từ -7 đến -14 khi pH tăng, trong khi đó điện tích trên bề mặt của CS lại có giá trị dương. Điện tích bề mặt của CS giảm mạnh khi pH tăng; cụ thể khi pH dung dịch bằng 3, giá trị thế zeta của nó là 63 nhưng khi pH dung dịch là 6 thì thế zeta xấp xỉ 0.

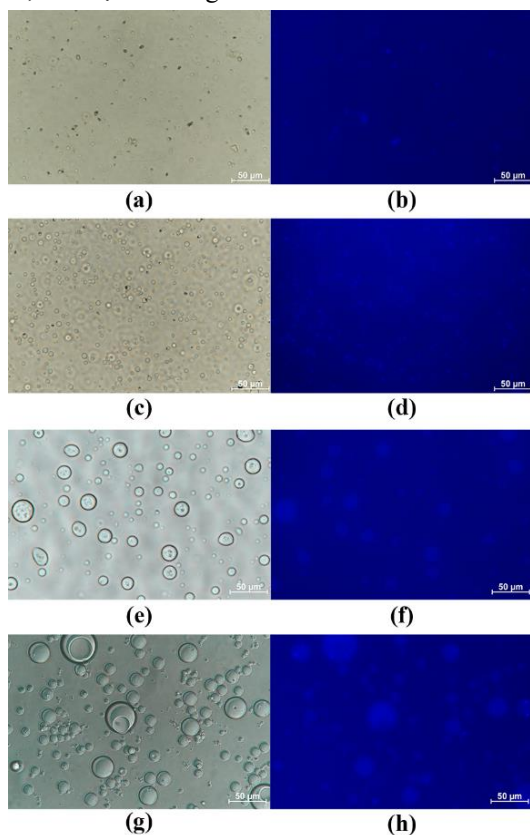


Hình 1. Tiềm năng zeta của GA và CS trong vùng pH 3 – 6

Kết quả này phù hợp với đặc trưng của chúng. GA là anion polysaccharide, với bề mặt bên ngoài mang nhiều nhóm carboxyl với giá trị pK_a khoảng 3.5, do đó trong khoảng pH 3 – 6, GA mang điện tích âm. Ngược lại, CS (pK_a là 6.8) là cation polysaccharide, với nhiều nhóm amino trên bề mặt [18]. Như vậy có thể thấy rằng, trong khoảng pH 3 – 6, nếu điều chỉnh tỉ lệ khối lượng chất nhũ và chất phức hợp thích hợp thì quá trình có thể xảy ra.

3.2. Tổng hợp vi nang

Để phản ứng đạt hiệu suất tốt nhất thì tổng nồng độ của các chất phản ứng (m/v) khoảng 3% [19]. Do đó, giá trị pH phù hợp của quá trình đồng keo tụ giữa GA và CS được chọn là 3.4, với tỉ lệ khối lượng giữa GA (tiềm năng zeta ~-11 mV) và CS (tiềm năng zeta ~50 mV) là 5:1. Vì vậy, dung dịch GA được chuẩn bị có nồng độ là 5%, CS có nồng độ 1%, và tỉ lệ thể tích giữa GA 5% : CS 1% là 1:1.



Hình 2. Hình ảnh kính hiển vi dưới ánh sáng trắng (trái) và huỳnh quang phát xạ tia tử ngoại (phải) của GA-CS-Sor sau thời gian phản ứng (a), (b) 0.5 giờ; (c), (d) 1 giờ; (e), (f) 2 giờ và (g), (h) 3 giờ

Hình ảnh của sản phẩm dưới kính hiển vi được thể hiện ở Hình 2. Vi nang trong Hình 2a và 2b với các hạt kích thước rất bé và rời rạc, cho thấy thời gian phản ứng 30 phút chưa đủ để các chất phản ứng kết hợp lại tạo vi nang. Ít nhất 60 phút phản ứng thì phản ứng tạo được sản phẩm, tuy nhiên kích thước hạt còn quá bé với đường kính dưới 1 μm (Hình 2c). Khi tăng thời gian phản ứng, kích thước vi nang tăng dần. Sau 2 giờ phản ứng, vi nang đạt kích thước micromet phù hợp (đường kính khoảng 10 μm , Hình 2e). Hình 2g cho thấy khi thời gian phản ứng là 3 giờ, các sản phẩm vi nang có kích thước rất không đồng đều. Tuy đa số hạt có kích thước 5 μm , vẫn có một số vi nang có kích

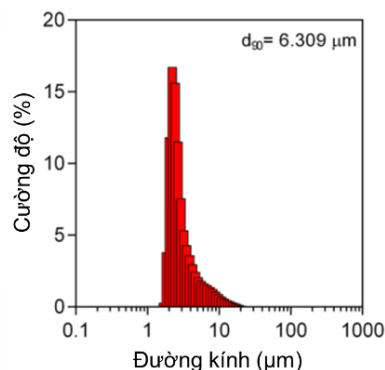
thước rất lớn, đường kính khoảng 40 μm , được tạo nên do sự tụ tập của các hạt nhỏ (< 5 μm). Vì vậy, thời gian phản ứng 2 giờ được chọn là thời gian thích hợp cho phản ứng tổng hợp vi nang giữa GA và CS.

Ngoài ra, hình ảnh huỳnh quang trong vùng UV tương ứng (Hình 2d, 2f và 2h) cho thấy Sor được phân tán đều vào các hạt vi nang với các hạt có ánh sáng xanh đặc trưng. Điều này có thể giải thích do hệ liên hợp $\pi \dots \pi$ trong cấu trúc phân tử, Sor có thể hấp thụ tia UV và phát xạ lại ánh sáng xanh, mà GA và CS không có.

Từ các hình ảnh trên Hình 2 có thể đánh giá ban đầu Sor đã được tải thành công vào các vật liệu chất mang, và thời gian phản ứng để tạo vi nang có kích thước phù hợp là 2 giờ.

3.3. Kích thước vi nang

Theo các nghiên cứu, kích thước hạt của vi nang rất quan trọng trong việc tải thuốc và truyền thuốc vào cơ thể, do nó ảnh hưởng đến tốc độ giải phóng thuốc [20]. Khi kích thước hạt nhỏ, bề mặt tiếp xúc của hạt lớn dẫn đến tốc độ giải phóng thuốc nhanh, và ngược lại. Tuy nhiên, thuốc khi được tải bởi các hạt có kích thước nhỏ có thể phân bố đồng đều hơn so với các hạt lớn [20]. Do đó, các vi nang cần có kích thước hạt nhất định đảm bảo sự phân bố thuốc đồng đều, và từ đó có thể kiểm soát tốt hơn hàm lượng thuốc được tải và được giải phóng từ các vật liệu này. Kết hợp kết quả từ hình ảnh huỳnh quang với kích thước thủy động học DLS của GA-CS-Sor cho thấy hạt phân bố khá đều và độ phân bố của hạt khá hẹp với kích thước hạt trung bình d_{90} khoảng 6.3 μm (Hình 3). Ngoài ra, Hình 3 còn cho thấy không có dấu hiệu của những hạt có kích thước lớn vài trăm hay vài nghìn μm , chứng tỏ sự phân tán của chúng trong nước là khá tốt và không có hiện tượng những hạt nhỏ tụ hợp lại với nhau [21].



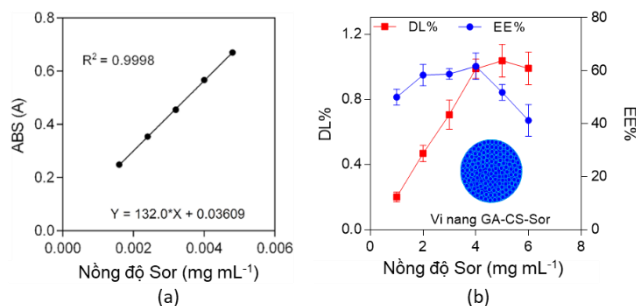
Hình 3. Phân bố kích thước hạt vi nang GA-CS-Sor

3.4. Khả năng tải thuốc

Khả năng tải thuốc được đánh giá bởi lượng thuốc được tải DL% và hiệu suất tải thuốc EE%. Sor là thuốc không tan trong nước, do đó đã gây trở ngại trong việc tăng nồng độ ban đầu của Sor, nếu nồng độ tăng quá cao, khi nhỏ từ từ Sor đang hòa tan trong dung môi DMSO vào hệ phân ứng trong dung môi nước sẽ gây kết tủa cục bộ [20], từ đó gây ra việc tải thuốc không đều vào các hạt vi nang, hoặc kết tủa và không thể bị bao bọc lại bởi các hạt này. Do đó, nồng độ Sor được lựa chọn nghiên cứu từ 1 – 6 mg mL^{-1} .

Kết quả ở Hình 4b cho thấy, tuy lượng thuốc được tải ít, với DL% bé hơn 1.2%, nhưng hiệu suất tải thuốc khá cao, với EE% đạt đến 60% khi nồng độ Sor là 4 mg mL^{-1} .

Như vậy, nồng độ tối đa của Sor được tải trong vi nang khi phân bố vào nước là 2.4 mg mL^{-1} , cao hơn rất nhiều so với Sor tự do trong nước ($\sim 0.001 \text{ mg mL}^{-1}$) [22]. Khi nồng độ dung dịch Sor ban đầu tăng thì DL% và EE% tăng, nhưng khi nồng độ cao hơn 5 mg mL^{-1} thì DL% không tăng thêm được nữa, kết quả này được hiển thị rõ khi EE% giảm đáng kể. Điều này có thể giải thích do khả năng kết tủa của Sor tăng khi thay đổi từ dung môi DMSO sang dung môi nước, từ đó làm giảm khả năng bao bọc của các chất nhũ và chất phức hợp. Hoặc cũng có thể do không gian trống của vi nang giảm; do đó lượng thuốc phân bố vào giữa các không gian đó cũng giảm. Như vậy, nồng độ Sor 4 mg mL^{-1} là nồng độ tốt nhất được sử dụng tạo vi nang.



Hình 4. (a) Đường tiêu chuẩn của Sor trong dung dịch hỗn hợp nước : methanol (1:1), (b) DL% và EE% của GA-CS-Sor

4. Kết luận

Nhóm tác giả đã nghiên cứu, tổng hợp thành công vi nang Gum Arabic-Chitosan (được sử dụng như các chất phụ gia) để tải Sorafenib. Kết quả cho thấy, với 20 mL dung dịch Gum Arabic 5%, 20 mL dung dịch Chitosan 1% và 4 mL dung dịch Sorafenib 4 mg mL^{-1} , thì sau 2 giờ vi nang có dạng hình cầu sẽ tạo thành, với kích thước hạt phân bố đều ở giá trị khoảng $6,3 \mu\text{m}$. Ngoài ra, tại nồng độ Sorafenib như trên thì khả năng phân tán Sorafenib của vi nang cao hơn nhiều so với độ tan của thuốc tự do trong nước. Vì vậy, vi nang Gum Arabic-Chitosan-Sorafenib được đánh giá là có tiềm năng để sử dụng trong y học, nâng cao khả năng tải thuốc, từ đó sẽ nâng cao sinh khả dụng của Sorafenib.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J.-C. Kim, M.-E. Song, E.-J. Lee, S.-k. Park, M.-J. Rang, H.-J. Ahn, Preparation and Characterization of Triclosan-Containing Microcapsules by Complex Coacervation, *J. Dispersion Science and Technology* 22 (6) (2001) 591–596.
- [2] H.G.B. de Jong, H.R. Kruyt, Coacervation (Partial miscibility on colloid systems) (Preliminary communication), *Proceedings of the Koninklijke Akademie Van Wetenschappen Te Amsterdam* 32(6/10) (1929) 849-856.
- [3] Y. Yang, M. Anvari, C.-H. Pan, D. Chung, Characterisation of interactions between fish gelatin and gum arabic in aqueous solutions, *Food Chemistry* 135 (2012) 555–561.
- [4] S.S. Bansode, S.K. Banarjee, D.D. Gaikwad, S.L. Jadhav, R.M. Thorat, Microencapsulation: A review., *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 1(2) (2010) 38–43.
- [5] S. Javanbakht, P. Nezhad-Mokhtari, A. Shaabani, N. Arsalani, M. Ghorbani, Incorporating Cu-based metal-organic framework/drug nanohybrids into gelatin microsphere for ibuprofen oral delivery, *Materials Science & Engineering C* 96 (2019) 302–309.
- [6] T. Moschakis, B.S. Murray, C.G. Biliaderis, Modifications in stability and structure of whey protein-coated o/w emulsions by interacting chitosan and gum arabic mixed dispersions, *Food Hydrocolloids* 24 (2010) 8–17.
- [7] C. Butstraen, F. Salaün, Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan, *Carbohydrate Polymers* 99 (2014) 608–616.
- [8] K. Pala, S. Roy, P.K. Paridac, A. Duttac, S. Bardhan, S. Das, K. Jana, P. Karmakar, Folic acid conjugated curcumin loaded biopolymeric gum acacia microsphere for triple negative breast cancer therapy in invitro and in vivo model, *Materials Science & Engineering C* 95 (2019) 204–216.
- [9] E. Palma, N. Costa, R. Molinaro, M. Francardi, D. Paolino, D. Cosco, M. Fresta, Improvement of the therapeutic treatment of inflammatory bowel diseases following rectal administration of mesalazine-loaded chitosan microparticles vs Asamax(R), *Carbohydr Polym* 212 (2019) 430-438.
- [10] C. Luo, Q. Yang, X. Lin, C. Qi, G. Li, Preparation and drug release property of tanshinone IIA loaded chitosanmontmorillonite microspheres, *International Journal of Biological Macromolecules* 125 (2019) 721–729.
- [11] E. Palma, N. Costa, R. Molinaro, M. Francardi, D. Paolino, D. Cosco, M. Frest, Improvement of the therapeutic treatment of inflammatory bowel diseases following rectal administration of mesalazine-loaded chitosan microparticles vs Asamax, *Carbohydrate Polymers* 212 (2019) 430–438.
- [12] L. Liu, Y. Cao, C. Chen, X. Zhang, A. McNabola, D. Wilkie, S. Wilhelm, M. Lynch, C. Carter, Sorafenib blocks the RAF/MEK/ERK pathway, inhibits tumor angiogenesis, and induces tumor cell apoptosis in hepatocellular carcinoma model PLC/PRF/5, *Cancer Res* 66(24) (2006) 11851-8.
- [13] C. Phan, J. Shen, K. Yu, J. Liu, G. Tang, Hydrogen Bonds, Topologies, Energy Frameworks and Solubilities of Five Sorafenib Salts, *Int J Mol Sci* 22(13) (2021).
- [14] R. Iyer, G. Fetterly, A. Lugade, Y. Thanavala, Sorafenib: a clinical and pharmacologic review, *Expert Opin Pharmacother* 11(11) (2010) 1943-55.
- [15] C.U. Phan, J. Shen, K. Yu, J. Mao, G. Tang, Impact of Crystal Habit on the Dissolution Rate and In Vivo Pharmacokinetics of Sorafenib Tosylate, *Molecules* 26(11) (2021).
- [16] N.D. Gonçalves, C.R.F. Grosso, R.S. Rabelo, M.D. Hubinger, A.S. Prata, Comparison of microparticles produced with combinations of gelatin, chitosan and gum Arabic, *Carbohydrate Polymers* 196 (2018) 427–432.
- [17] H. Espinosa-Andrews, O. Sandoval-Castilla, H. Vázquez-Torres, E.J. Vernon-Carter, C. Lobato-Calleros, Determination of the gum Arabic–chitosan interactions by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and characterization of the microstructure and rheological features of their coacervates, *Carbohydrate Polymers* 79(3) (2010) 541-546.
- [18] G. Huang, Q. Chen, W. Wu, J. Wang, P.K. Chu, H. Bai, G. Tang, Reconstructed chitosan with alkylamine for enhanced gene delivery by promoting endosomal escape, *Carbohydrate Polymers* 227 (2020) 115339-115350.
- [19] A.S. Prata, C.R.F. Grosso, Production of microparticles with gelatin and chitosan, *Carbohydrate Polymers* 116 (2015) 292-299.
- [20] N.K. Varde, D.W. Pack, Microspheres for controlled release drug delivery, *Expert Opinion on Biological Therapy* 4:1 (2005) 35-51.
- [21] H. Espinosa-Andrews, O. Sandoval-Castilla, H. Vázquez-Torres, E.J. Vernon-Carter, C. Lobato-Calleros, Determination of the gum Arabic–chitosan interactions by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and characterization of the microstructure and rheological features of their coacervates, *Carbohydrate Polymers* 79 (2010) 541–546.
- [22] C. Liu, Z. Chen, Y. Chen, J. Lu, Y. Li, S. Wang, G. Wu, F. Qian, Improving Oral Bioavailability of Sorafenib by Optimizing the "Spring" and "Parachute" Based on Molecular Interaction Mechanisms, *Molecular pharmaceutics* 13(2) (2016) 599-608.