

FORMULASI, KARAKTERISASI DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN NANOSUSPENSI MORIN

Muhammad Dzakwan*, Widodo Priyanto

Nano Pharmaceutical Research Group, Departemen Teknologi Farmasi dan Biofarmasetika, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta, Jl. Let. Jend Sutoyo, Mojosongo, Jebres, Surakarta, Jawa Tengah 57127

*email: mdzakwan9@setiabudi.ac.id

ABSTRAK

Morin (3,5,7, 2,4'- pentahidroksiflavinon) adalah senyawa flavonoid golongan flavonol yang poten sebagai antioksidan. Morin bersifat lipofil, tidak larut dalam air sehingga ketersediaan hayati dan aplikasi klinis menjadi terbatas. Nanosuspensi adalah sistem dispersi koloidal, 100% mengandung bahan obat dengan ukuran 10-1000 nm, tidak mengandung bahan pembawa apapun kecuali sebagai bahan penstabil. Penelitian ini bertujuan membuat nanosuspensi morin yang stabil dengan metode sonopresipitasi. Karakterisasi nanosuspensi meliputi ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial, morfologi nanosuspensi, dan aktivitas antioksidan. Nanosuspensi morin dibuat dengan metode sonopresipitasi dengan frekuensi 50 kHz selama 8 menit dengan variasi bahan penstabil jenis surfaktan, polimer, dan kombinasi keduanya. Karakterisasi nanosuspensi meliputi ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial, morfologi partikel (TEM), stabilitas fisik, dan aktivitas antioksidan. Morin berhasil dikembangkan menjadi nanosuspensi dengan metode sonopresipitasi. Formula 7 dengan stabilizer SLS-Pluronic F68 (0,5:1) merupakan formula terpilih dengan ukuran partikel terkecil sebesar 182,7 nm, ukuran partikel seragam (PI : 0,210), stabil setelah penyimpanan 8 minggu dengan nilai zeta potensial -37,8 mV. Aktivitas antioksidan nanosuspensi morin meningkat sebesar 2-3 kali.

Kata kunci: Formulasi, karakterisasi, aktivitas antioksidan, nanosuspensi, morin

ABSTRACT

Morin (3,5,7, 2,4'- pentahydroxyflavone) is flavonoid compound sub group of flavonol. It has activity as antioxidant. Nevertheless, the poor of solubility leads to poor bioavailability and limits its application. The aim of this study was to created morin nanosuspension and obtain the stable formula based on the degree of particle size and stability of the nanosuspension. Morin nanosuspension was carried out by the sonoprecipitation method using surfactan, polymer and mix of both as stabilizer. The Characterization of nanosuspension included clarity, particle size, zeta potential, particle morphology, stability and antioxidant activity. Formula 7 with the polymer SLS-Pluronic F68 was the selected formula with particle size 182,7 nm, polydispersity index 0.210, potential zeta -37.8 mV and the most stable system during storage at room temperature for 8 weeks. Morin was successfully developed into nanosuspension by the sonoprecipitation method. The antioxidant activity morin nanosuspension was increased 2-3 times.

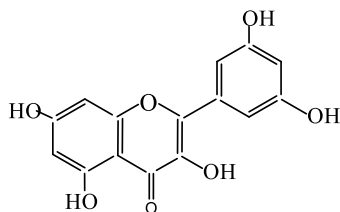
Keywords: Formulation, characterization, antioxidant activity, nanosuspension, morin

1. PENDAHULUAN

Morin (3,5,7, 2,4'- pentahidroksiflavinon, gambar 1) merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol yang banyak terdapat pada buah dan sayuran

seperti sawi hijau, jambu biji, biji almond, bawang putih, dan buah apel (Caselli *et al*, 2016; Madan-Kumar *et al*, 2015). Morin merupakan senyawa bioaktif yang memiliki beragam aktivitas sebagai antioksidan dan

antipenuaan dini (Markovic *et al*, 2012; Yong *et al*, 2018), antiinflamasi (Fang *et al*, 2003), neuroprotektif (Thangarajan *et al*, 2018), antikanker (Sharma *et al*, 2018) serta antidiabetes neuropati (Al-Sharari *et al*, 2014).



Gambar 1. Struktur kimia morin (Arriagada *et al*, 2016)

Penelitian yang dilakukan oleh Al-Numair *et al* (2014) menunjukkan bahwa morin memiliki aktivitas biologi sebagai antiinflamasi melalui efek antioksidatif. Morin merupakan molekul amfipatik dan sangat lipofil sehingga kelarutan dalam pelarut air sangat terbatas (Mendoza-Wilson *et al*, 2011). Yazdanshenas dan Gharib (2017) melaporkan bahwa morin memiliki kelarutan sangat rendah di dalam air sebesar ± 0.030 mg/ml sehingga tidak dapat di absorpsi secara maksimal di dalam tubuh. Morin diketahui memiliki ketersediaan hayati peroral yang sangat rendah sebesar 5,28 % (Li *et al*, 2019).

Ketersediaan hayati oral yang sangat rendah menimbulkan tantangan besar bagi keberhasilan aplikasi klinis morin, karena kadar obat dalam plasma tidak cukup untuk menghasilkan efikasi klinis (Liu *et al*, 2010). Ketersediaan hayati yang rendah juga

menyebabkan penggunaan morin menjadi sangat terbatas baik untuk penggunaan oral maupun topikal (Caselli *et al*, 2016; Yu *et al*, 2017).

Berbagai strategi telah dikembangkan untuk meningkatkan kelarutan dan ketersediaan hayati morin diantaranya liposom dan niosom (Waddad *et al*, 2013; Sultana *et al*, 2017), SNEDDS (Zhang *et al*, 2011), kompleks inklusi (Jullian *et al*, 2008; Lima *et al*, 2019), dan adsorpsi silika mesopori (Arriagada *et al*, 2016). Namun upaya tersebut hanya mampu meningkatkan kelarutan morin sebesar 18-34 $\mu\text{g/ml}$ (Zhang *et al*, 2011), karena keterbatasan metode tersebut dalam meningkatkan sifat fisiko-kimia morin terutama kelarutan.

Salah satu strategi yang dapat dikembangkan untuk meningkatkan kelarutan dan ketersediaan hayati adalah nanosiasi atau memperkecil ukuran partikel hingga mencapai derajat ukuran nanometer (Dizaj *et al*, 2015). Nanonisasi obat hidrofob atau lipofil seperti morin didasarkan pada peningkatan luas permukaan partikel sebagai akibat pengurangan ukuran partikel sampai skala nanometer sehingga difusivitas obat akan meningkat (Da Silva *et al*, 2020). Luas permukaan nanopartikel yang besar akan meningkatkan kelarutan dalam cairan dan laju disolusi (Fan *et al*, 2018).

Nanosuspensi adalah sistem dispersi koloidal yang 100% mengandung bahan obat dengan ukuran 10-1000 nm, tidak

mengandung bahan pembawa kecuali sebagai bahan penstabil surfaktan, polimer atau kombinasi keduanya (Patel *et al*, 2016). Nanosuspensi memiliki beberapa keuntungan yaitu meningkatkan kelarutan, laju disolusi dan ketersediaan hayati obat (Malamatari *et al*, 2018), mengurangi dosis yang diberikan dengan efek samping yang rendah (Al-Kassas *et al*, 2017) dan meningkatkan kepatuhan pasien (Zeng *et al*, 2019).

Nanosuspensi dapat dihasilkan melalui metode *bottom-up* dan *top-down* sesuai dengan perbedaan prinsip produksi (Purkayastha *et al*, 2019). Metode *bottom up* dilakukan dengan melarutkan obat dalam pelarut organik yang sesuai kemudian diendapkan melalui adisi non-pelarut dengan penambahan zat penstabil surfaktan atau polimer (Shid *et al*, 2013). Beberapa variasi metode *bottom up* yang telah banyak dikembangkan yaitu hidrosol (presipitasi), sonopresipitasi, flash nanopresipitasi, emulsifikasi-evaporasi dan cairan superkritis (Patel *et al*, 2016).

Metode sonopresipitasi merupakan metode yang menggabungkan antara hidrosol (presipitasi) dengan ultrasonikasi, dengan tujuan untuk mendapatkan derajat ukuran partikel yang lebih seragam dengan kisaran ukuran antara 10-1000 nm (Du *et al*, 2015). Metode ini membutuhkan peralatan yang lebih sederhana dan langkah pekerjaan lebih mudah (Purkayastha *et al*, 2019).

Sonopresipitasi telah berhasil digunakan untuk membuat nanosuspensi obat yang bersifat lipofil seperti fisetin (Dzakwan *et al*, 2017), klotrimazol (Gajera *et al*, 2019), isradipin (Dinh-Tran *et al*, 2014) dan kurkumin (Jiang *et al*, 2019).

Tujuan penelitian ini adalah menghasilkan nanosuspensi morin yang stabil dengan menggunakan variasi berbagai macam jenis bahan penstabil dengan metode sonopresipitasi. Karakterisasi nanosuspensi meliputi ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial, morfologi nanosuspensi dan aktivitas antioksidan.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Bahan

Morin 98% (Tocris Biotech Brand, Cina), polisorbate 80, sodium lauryl Sulfate (SLS, PT. Bratachem, Indonesia), polivinil alkohol (PVA, Sigma Aldrich USA), Pluronic F68 (PT. Megasetia, Indonesia), DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picryl Hydrazyl, Sigma Aldrich, USA). Etanol 96% (CV. Cipta Kimia, Indonesia) dan aqua demineralisata (semua kualitas farmasi).

2.2 Bahan

Pengaduk magnetik (Thermo Scientific, Cina), sonikator QSonica (Q 500, USA), analisis ukuran partikel dan zeta potensial (Malvern Zeta Sizer ZS 200, UK), spektrofotometer Uv-Vis Shimadzu (Seri 1800, Jepang), shaking thermostatic waterbath (Julabo GmbH, Eisenbahnstr,

Jerman), *transmission electron microscopy* (TEM, JEOL JEM 1400, Jepang), kuvet semimikro *disposable*, alat-alat gelas dan non gelas yang terdapat di laboratorium.

2.3 Metode

Tahap pertama adalah pembuatan nanosuspensi morin dengan metode sonopresipitasi, sebanyak 100 mg morin dilarutkan kedalam 5 ml etanol 96% (fase

organik). Tujuh jenis stabilizer masing-masing dilarutkan ke dalam 10 ml aqudest (fase air). Fase organik ditambahkan tetes demi tetes ke dalam fase air sampai terbentuk dispersi koloidal. Selanjutnya di lakukan sonikasi dengan sonikator tipe probe pada frekuensi 50 kHz selama 8 menit. Formula nanosuspensi morin tersaji pada tabel 1.

Tabel 1. Formula nanosuspensi morin dengan variasi jenis stabilizer

Bahan	Formula (%)						
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7
Morin	5	5	5	5	5	-	-
Sodium lauril sulfat	0,5	-	-	-	-	-	-
Polisorbat 80	-	0,5	-	-	-	-	-
Polivinil alkohol	-	-	1	-	-	-	-
Pluronic F68	-	-	-	1	-	-	-
SLS-polisorbat 80	-	-	-	-	0,5 : 1	-	-
SLS-PVA	-	-	-	-	-	0,5 : 1	-
SLS-Pluronic F68	-	-	-	-	-	-	0,5 : 1
Aquadest	94,5	94,5	94	94	93,5	93,5	93,5
Volume	20 ml						

Tahap kedua adalah karakterisasi nanosuspensi morin dengan melihat ukuran partikel dan indeks polidispersitas.

Tahap ketiga adalah uji stabilitas fisik nanosuspensi morin pada suhu kamar selama 8 minggu, dilakukan evaluasi kembali ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial, viskositas dan uji morfologi partikel (TEM). Formula yang paling stabil diliofilisasi, dan selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.).

Tahap keempat adalah uji aktivitas antioksidan nanosuspensi dan serbuk kasar morin dengan metode DPPH.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Bahan penstabil yang digunakan dalam pembuatan nanosuspensi morin harus memiliki kemampuan menjaga atau mencegah partikel tidak mengalami aglomerasi dan agregasi. Konsentrasi dan jenis bahan penstabil berpengaruh terhadap kemampuan untuk mencegah terjadinya aglomerasi partikel. Penelitian ini menggunakan tiga jenis bahan penstabil yaitu surfaktan ionik dan non ionik, polimer

dan kombinasi surfaktan-polimer. Penggunaan tiga jenis bahan penstabil ini bertujuan untuk mengetahui bahan penstabil manakah yang paling optimal

dalam mencegah aglomerasi dan agregasi partikel. Hasil karakterisasi nanaosuspensi ketujuh formula ditampilkan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil karakteristik nanosuspensi

Formula	Stabilizer	Konsentrasi (%)	Ukuran partikel _(nm)	PI
F 1	Sodium lauril sulfat	0,5	670,30	0,404
F 2	Polisorbat 80	0,5	764,60	0,377
F 3	Polivinil alkohol	1	1360,20	0,889
F 4	Pluronic F68	1	899,30	0,668
F 5	SLS-polisorbat 80	0,5 : 1	596,80	0,410
F 6	SLS-PVA	0,5 : 1	201,60	0,251
F 7	SLS-Pluronic F68	0,5 : 1	192,30	0,220

Hasil karakterisasi menunjukkan semua formula memiliki ukuran partikel 10-1000 nm, kecuali F3 yang memiliki ukuran partikel lebih besar dari 1000 nm. Jenis bahan penstabil F6 (SLS-PVA) dan F7 (SLS-Pluronic F68) memiliki ukuran partikel terkecil jika dibandingkan dengan jenis bahan penstabil lainnya dan sesuai target ukuran sebesar 100-300 nm. Penggunaan bahan penstabil kombinasi umumnya memiliki ukuran partikel lebih kecil jika dibandingkan dengan penstabil dalam bentuk tunggal (Verma *et al*, 2011). Kombinasi bahan penstabil memiliki efek perlindungan lebih optimal melalui mekanisme sterik dan elektronik.

SLS merupakan bahan penstabil dengan mekanisme elektronik dengan menstabilkan muatan di permukaan partikel (Ghost *et al*, 2011). PVA dan Pluronic F68 bahan penstabil polimer yang mengandung

gugus fungsi seperti karboksilat, hidroksil, amin, ester memberikan efek halangan sterik membentuk lapisan dipermukaan partikel yang teradsorpsi dengan kuat sehingga interaksi antar partikel diminimalkan (Gao *et al.*, 2011).

Stabilizer Kombinasi elektronik - sterik akan memberikan efek perlindungan lebih optimal sehingga tidak terjadi agregasi dan aglomerasi partikel (George *et al*, 2013). Formula 6 dan 7 sebagai formula terpilih selanjutnya digunakan untuk pembuatan sediaan nanosuspensi dengan volume yang lebih besar dan dilakukan pengujian kembali terutama stabilitas fisik ukuran partikel.

Pembuatan nanosuspensi dalam jumlah besar menggunakan metode sonopresipotasi dengan freekuensi 50 kHz selama 8 menit. Penggunaan gelombang ultrasonikasi 50 kHz selama 8 menit merujuk pada hasil penelitian sebelumnya

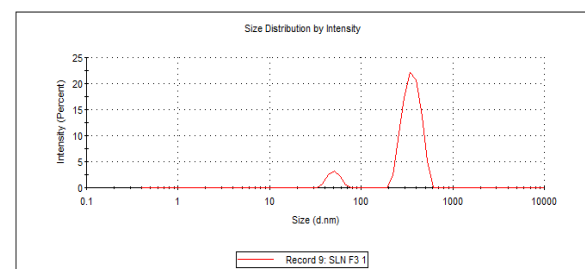
yang telah dilakukan oleh Dzakwan *et al* (2017) dengan zat aktif fisetin dan pada penelitian ini juga terbukti efektif mereduksi ukuran partikel morin hingga mencapai skala naometer. Ultrasonikasi dengan frekuensi 50 kHz memiliki energi kavitasi yang cukup optimal untuk berdifusi dalam medium cairan membentuk gelembung yang dapat memecah partikel, mencegah terjadinya nukleasi dan aglomerasi partikel (Liu *et al*, 2012; Esfandi *et al*, 2016). Lamanya waktu sonikasi berpengaruh terhadap ukuran partikel, semakin lama sonikasi maka semakin besar energi panas yang dilepaskan, hal ini akan menginduksi terjadinya aglomerasi kembali partikel (Ige *et al*, 2013). Sonikasi selama 8 menit adalah waktu yang optimal untuk mereduksi partikel morin menjadi berukuran nano, karena jika lebih dari 8 menit energi kavitasi akan semakin besar dilepaskan menjadi energi panas yang dapat menginduksi aglomerasi partikel (Dzakwan *et al*, 2017). Hal ini juga selaras dengan penelitian Ige *et al* (2013), ultrasonikasi lebih dari 8-10 menit terhadap fenofibrate tidak dapat mereduksi ukuran partikel secara optimal, akan tetapi menyebabkan terbentuknya pertumbuhan kristal dan aglomerasi. Hasil uji stabilitas fisik nanosuspensi morin F6 dan F7 tersaji pada tabel 3. Nanosuspensi morin F6 dan F7 berupa sistem dispersi koloidal berwarna kuning jernih, transparan, konsistensi sangat

encer dengan viskositas sangat rendah antara 5,05 – 6,86 cps.

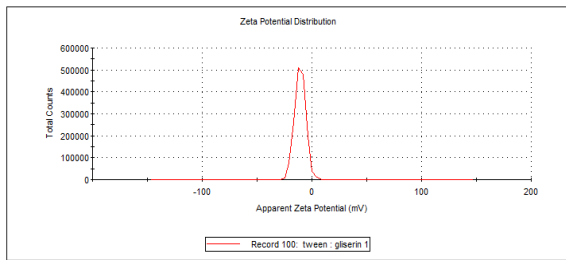
Ukuran partikel F6 menjadi lebih besar setelah penyimpanan selama 8 minggu ($Z_{average}$ 409,3 nm, gambar 2), ukuran partikel tidak seragam dengan nilai PI diatas 0,2 dan zeta potensial yang relatif rendah (ζ -10,70 mV, gambar 3) hal ini menunjukkan bahwa partikel tidak stabil selama penyimpanan dan mengalami agregasi partikel sehingga ukurannya menjadi lebih besar (tabel 3). Fenomena ini dapat dijelaskan melalui mekanisme Ostwald ripening dimana ukuran partikel yang tidak seragam menginduksi terjadinya difusi zat terlarut dari partikel yang berukuran kecil menuju ke partikel yang berukuran besar sehingga partikel tersebut akan semakin bertambah besar ukurannya dan terjadi agregasi (Verma *et al* 2011).

Tabel 3. Hasil uji stabilitas fisik nanosuspensi F6 dan F7

Parameter	F 6	F 7
Viskositas (cps)	5,05	6,86
Ukuran partikel (nm)	409,3	182,7
PI	0,475	0,210
Zeta potensial (mV)	-10,7	-37,8

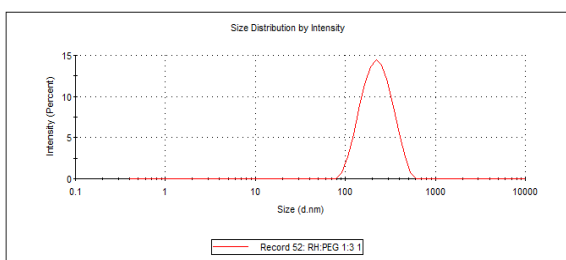


Gambar 2. Kurva Distribusi ukuran partikel F6

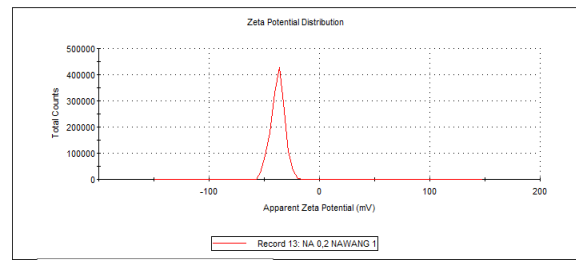


Gambar 3. Kurva Zeta potensial F6

Formula 7 lebih stabil jika dibandingkan dengan F6 karena tidak terjadi peningkatan ukuran partikel ($Z_{average}$ 182,7 nm, gambar 4), memiliki ukuran partikel yang lebih seragam dengan nilai indeks polidispersitas 0,2. Nilai zeta potensial yang tinggi (ζ -37,8 mV, gambar 5) menunjukkan bahwa SLS sebagai stabilizer anionik bekerja dengan memberikan muatan sejenis yang menyebabkan terjadi gaya tolak menolak antarpartikel dan mencegah aglomerasi partikel, sedangkan Pluronic F68 sebagai penstabil jenis polimer akan teradsorpsi pada permukaan partikel memberikan efek protektif melalui gaya tolak menolak antar partikel. Pluronic F68 memiliki gugus hidrofilik etilen oksida dan gugus hidrofobik propilen oksida yang teradsorpsi kuat pada bagian permukaan suatu partikel (Fairhurst and Lee, 2011).

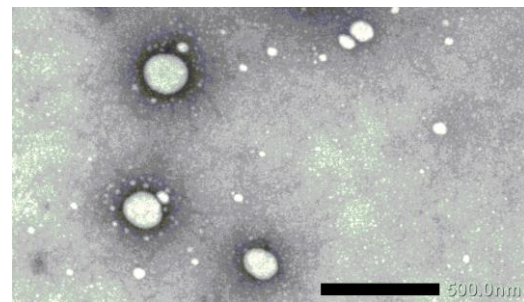


Gambar 4. Kurva Distribusi ukuran partikel F7



Gambar 5. Kurva Zeta potensial F7

Hasil uji morfologi partikel nanosuspensi morin F7 dengan TEM (gambar 6) menunjukkan bentuk partikel sferis dengan ukuran yang seragam dan tidak menunjukkan aglomerasi.



Gambar 6. Morfologi partikel nanosuspensi morin dengan TEM, perbesaran 10.000 x

Nanosuspensi morin dikeringkan dengan teknik liofilisasi menggunakan *freeze dryer*. Manitol dengan konsentrasi 1%, ditambahkan ke dalam nanosuspensi sebagai *cryoprotectant* untuk mencegah kerusakan dan agregasi partikel pada saat proses pembekuan (Kumar dkk., 2014).

Hasil uji aktivitas antioksidan antara morin serbuk murni dan nanosuspensi menunjukkan adanya perbedaan dilihat dari nilai IC_{50} (tabel 4). Antioksidan morin serbuk murni sebesar 76,13 $\mu\text{g/ml}$ tidak berbeda jauh dengan hasil dari literatur sebesar 71,0 $\mu\text{g/ml}$. Markovic *et al* (2012)

menjelaskan bahwa aktivitas antioksidan morin disebabkan karena adanya gugus hidroksil bebas pada posisi atom C-2, C -3 dan C-4' yang sangat reaktif melepaskan atom H untuk bereaksi dan meredam aktivitas radikal bebas (ROS).

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antioksidan morin

Morin	Antioksidan (IC ₅₀)
Serbuk murni	76,13 µg/ml
Referensi (Ji and Lee, 2012)	71,0 µg/ml
Nanosuspensi	33,20 µg/ml

Aktivitas antioksidan nanosuspensi morin meningkat sebesar 2-3 kali dibandingkan dengan serbuk murninya hal ini disebabkan karena reduksi ukuran partikel sampai skala nanometer akan meningkatkan luas permukaan spesifik dan kelarutan partikel sehingga distribusi dan konsentrasi komponen bioaktif akan semakin besar hal ini proporsional dengan aktivitas antioksidan zat tersebut (Jahan *et al*, 2016; Zhao *et al*, 2019).

4. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah morin dapat diformulasi menjadi nanosuspensi dengan metode sonopresipitasi. Formula 7 dengan stabilizer SLS-Pluronic F68 (0,5:1) merupakan formula terpilih dengan ukuran partikel terkecil sebesar 182,7 nm dan ukuran partikel seragam (PI : 0,210). Formula 7 merupakan formula yang paling stabil

setelah penyimpanan selama 8 minggu dengan nilai zeta potensial -37,8 mV. Aktivitas antioksidan nanosuspensi morin meningkat sebesar 2-3 kali.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada LPPM Universitas Setia Budi Surakarta yang telah mendanai penelitian ini melalui Program Hibah Internal Universitas dengan nomor kontrak 09/LPPM/USB/PD/III/2019.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Numair K S, Chandramohan G, Alsaif M A, Veeramani C and El-Newehy A S., 2014. Morin, a Flavonoid, on Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Experimental Myocardial Ischemic Rats, *Afr J Tradit Complement Altern Med*, **11**(3):14–20.
- Al-Sharari S D, Al-Rejaie S S, Abuohashish H M, Aleisa A M, Parmar M Y and Ahmed M M., 2014. Ameliorative Potential of Morin in Streptozotocin-Induced Neuropathic Pain in Rats, *Trop. J. Pharm. Res*, **13**: 1429–1436.
- Al-Kassas R, Bansal M and Shaw J., 2017. Nanosizing Techniques for Improving Bioavailability of Drugs, *J Control Release*, **28** (260):202–212
- Arriagada F, Correa O, Gunther G, Nonell S, Mura F, Olea-Azar C and Morales J.,2016. Morin Flavonoid Adsorbed on Mesoporous Silica, A Novel Antioxidant Nanomaterial, *PLoS ONE*, **11**(11): 1-22
- Bhavin Y, Gajera B Y, Shah D A and Dave R H., 2019. Development of an Amorphous Nanosuspension by Sonoprecipitation-Formulation and Process Optimization using Design of Experiment methodology, *International Journal of Pharmaceutics*, **559**: 348-359
- Caselli A, Cirri P, Santi A and Paoli P., 2016. Morin: Apromising Natural Drug, *Curr Med Chem*, **23**(8): 774–791.

- Da Silva F L O, De Freitas Marques, M B, Cato C K and Carneiro G., 2020. Nanonization Techniques to Overcome Poor Watersolubility with Drugs, *Expert Opinion on Drug Discovery*, **15**(5): 1-12
- Dinh-Tran T T, Lien-Tran P H, Nguyen M N U, Tran K T M, Pham M N, Tran P C and Vo T V., 2014. Amorphous Isradipine Nanosuspension by the Sonoprecipitation Methode, *International Journal of Pharmaceutics*, **474** (1-2): 146-150
- Dzakwan M, Pramukantoro G E, Mauludin R and Wikarsa S., 2017. Formulation and characterization of fisetin nanosuspension, *Materials Science and Engineering*, **259** (012016): 1-5
- Du J, Li X, Zhao H, Zhou Y, Wang L, Tian S and Wang Y., 2015. Nanosuspensions of Poorly Water Soluble Drugs Prepared by Bottom-Up Technologies, *International Journal of Pharmaceutics*, **495**(1-2): 738-749
- Dizaj S M, Vazifehasl Z and Salatin S., 2015. Nanosizing of Drugs: Effect on Dissolution Rate, *Res Pharm Sci*, **10**(2):95–108
- Shid R L, Dhole S N, Kulkarni N and Shid S L.,2013. Nanosuspension : A Review, *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, **22**(1): 98-106.
- Esfandi E, Ramezani V and Moghaddam S P H.,2016. Clarithromycin Dissolution Enhancement by Preparation of Aqueous Nanosuspensions Using Sonoprecipitation Technique, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, **13**(3): 809-818
- Fairhust D and Lee R W., 2011. The Zeta Potential & its Use in Pharmaceutical Applications - Part 1: Charged Interfaces in Polar & Non-Polar Media & the Concept of the Zeta Potential, *Drug Development and Delivery*, **11**(6): 60-64
- Fang S H, Hou Y C, Hsiu S I, Ghao P D, Chiang B I., 2003. Morin Sulfate / Glucorinides Exert Anti-inflammatory Activity on Activated Macrophages and Decreased in the Incidence of Septic Shock, *Life Science*, **74**:743-756
- Fan M, Geng S and Liu Y., 2018. Nanocrystal Technology as A Strategy to Improve Drug Bioavailability and Antitumor Efficacy for the Cancer Treatment, *Curr Pharm Des*, **24**(21):2416–2424.
- Gao L, Liu G, Wang X, Lie F, Xu Y and Ma J., 2011. Preparation of a Chemically Stable Quercetin Formulation Using Nanosuspension Technology, *International Journal of Pharmaceutics*, **404**: 231-237
- Ghost I, Bose S, Vippagunta R and Harmon F., 2011. Nanosuspension for Improving the Bioavailability of a Poorly Soluble Drug and Screening of Stabilizing Agents to Inhibit Crystal Growth, *International Journal of Pharmaceutics*, **409**: 260-268
- Ige P P, Baria R K and Gattani S G., 2013. Fabrication of Fenofibrate Nanocrystals by Probe Sonication Methode for Enhancement of Dissolution Rate and Oral Bioavailability, *Colloids and Surface B : Biointerfaces*, **108**: 366-373
- Jahan N, Aslam S, Rahman K U, Fazala T, Anwar F and Sahera R.,2016. Formulation and Characterisation of Nanosuspension of Herbal Extracts for Enhanced Antiradical Potential, *Journal of Experimental Nanoscience*, **11**(1): 72-80
- Ji Y Y and Lee H S., 2012. Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activities of Morin Isolated from Mulberry Fruits (*Morus alba* L), *Journal of The Korean Society for Applied Biological Chemistry*, **55**: 485-489
- Jiang L, Wang J, Jiang J, Zhang C, Zhao M, Chen Z, Na Wang, Hu D, Liu X, Peng H and Lian M., 2019. Sonodynamic Therapy in Atherosclerosis by Curcumin Nanosuspensions: Preparation design, Efficacy Evaluation, and Mechanisms Analysis, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **146**: 101 – 110

- Jullian C, Orosteguis T, Perez-Cruz, F, Shancez P, Mendizabal F and Olea-Azhar C., 2008. Complexation of Morin With Three Kinds of Cyclodextrin A Thermodynamic and Reactivity Study, *Spectrochimica Acta Part A*, **71**: 269-275
- Kumar S, Gokhale R and Burgess D., 2014. Sugars as Bulking Agents to Prevent Nano-crystal Aggregation During Spray or Freeze-drying, *International Journal of Pharmaceutics*, **471**: 303-311
- Liu D, Xu H, Tian B, Yuan K, Pan H, Ma S, Yang X and Pan W., 2012. Fabrication of Carvedilol Nanosuspensions Through the Anti-Solvent Precipitation-Ultrasonication Method for the Improvement of Dissolution Rate and Oral Bioavailability, *AAPS PharmSciTech*, **13**(1): 295-304
- Liu Y T, Hao H P, Xie H G, Lai L, Wang Q, Liu C X and Wang G J., 2010. Extensive Intestinal First-Pass Elimination and Predominant Hepatic Distribution of Berberine Explain Its Low Plasma Levels in Rats, *Drug Metab. Dispos*, **38**: 1779–1784
- Li J, Yang Y, Ning E, Peng Y and Zhang J., Mechanisms of Poor Oral Bioavailability of Flavonoid Morin in Rats: From Physicochemical to Biopharmaceutical Evaluations, *European Journal of Pharmaceutics Sciences*, **128**: 290-298
- Lima B D S, Campos C D A, da Silva Santos A C R, Santos V C N, Trindade G D G G, Shanmugam S, Pereira E W M, Marreto R V, Duarte M C, da Silva Almeida J R G, Quintans J D S S, Quintans Jr L J and Araujo A A D S., 2019. Development of morin/Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Inclusion Complex: Enhancement of Bioavailability, Antihyperalgesic and anti-inflammatory Effects, *Food and Chemical Toxicology*, **126**: 15-24
- Madan Kumar P, Naveen Kumar P, Devaraj H, and Niranjali Devaraj, S., 2015. Morin, a Dietary Flavonoid, Exhibit Anti-Fibrotic Effect and Induces Apoptosis of Activated Hepatic Stellate Cells by Suppressing Canonical NF- κ B Signaling, *Biochimie*, **110**: 107-118
- Markovic Z, Milenkovic D, Dorovic J, Markovic J M D, Stepanic V, Lucic B and Amic D., 2012. Free Radical Scavenging Activity of Morin 2'-O-Phenoxide Anion, *Food Chemistry*, **135**: 2070-2077
- Mendoza-Wilson A M, Santacruz-Ortega H and Quintana R R B., 2011. Relationship Between Structure, Properties and Radical Scavenging Activity of Morin, *Journal of Molecular Structure*, **995**: 134-141
- Malamatari M, Taylor K M G and Malamataris S., 2018. Pharmaceutical Nanocrystals: Production by Wet Milling and Applications, *Drug Discov Today*, **23**(3):534–547
- Purkayastha H D and Imanur Hossian S K., 2019. Nanosuspension: A Modern Technology Used In Drug Delivery System, *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, **11**(3): 1-3
- Patel H M, Patel B B and Shah C N., 2016. Nanosuspension: A novel approach to enhance solubility of poorly water soluble drugs - A review, *International Journal of Advances in Pharmaceutics*, **5**(2): 21-19
- Sharma S H, Kumara J S, Chellappan D R and Nagarajana, S., 2018. Molecular Chemoprevention by Morin – A Plant Flavonoid that Targets Nuclear Factor Kappa B in Experimental Colon Cancer, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **100**: 367-373
- Sultana F, Neog M K, and Khan Rasool M K., 2017. Targeted Delivery of Morin, A Dietary Bioflavanol Encapsulated Mannosylated Liposomes to the Macrophages of Adjuvant-Induced Arthritis Rats Inhibits Inflammatory Immune Response and Osteoclastogenesis, *European*

- Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **115**: 229-242
- Thangarajan S, Vedagiri A, Somasundaram S, Sakthimanogaran R and Murugesan, M., 2018. Neuroprotective Effect of Morin on Lead Acetate- Induced Apoptosis by Preventing Cytochrome C Translocation Via Regulation of Bax/Bcl-2 Ratio, *Neurotoxicology and Teratology*, **66**:35-45
- Verma S, Kumar S, Gokhale R and Burgess D J., 2011. Physical Stability of Nanosuspension : Investigation of the Role Stabilizers on Ostwald Ripening, *International Journal of Pharmaceutics*, **406**: 145-152
- Waddad A Y, Abad S, Yu F, Munyendo W L L, Wang J, Huixia L and Zhou J., 2013. Formulation, Characterization and Pharmacokinetics of Morin Hydrate Niosome Prepared from Various Non- Ionic Surfactans, *International Journal of Pharmaceutics*, **456**(2): 446-458
- Yazdanshenas R and Gharib F., 2017. Solubility and Thermodynamic Functions Measurement of Morin Hydrate in Different Alcohol, *Journal of Molecular Liquids*, **233**:9-14
- Yong H J and Ahn J J., 2018. Antioxidant and Skin Protection Effect of Morin Upon UV-A Exposure, *Biomedical Dermatology*, **2**(12):2-7
- Yu J, Wan K and Sun, X., 2017. Improved Transdermal Delivery of Morin Efficiently Inhibits Allergic Contact Dermatitis, *International Journal of Pharmaceutics*, **530**(1-2): 145-154
- Zeng C, Zheng R and Yang X., 2019. Improved Oral Delivery of Tilianin Through Lipid-Polymer Hybrid Nanoparticles to Enhance Bioavailability, *Biochem Biophys Res Commun*, **519** (2):316–322
- Zhang J, Peng Q, Shi S, Zhang Q, Sun X, Gong T and Zhang Z., 2011. Preparation, Characterization and In Vivo Evaluation of a Self Nanoemulsion Drug Delivery System Loaded with Morin Phospholipid Complex, *Int. J. Nanomedicine*, **6**: 3405-3414
- Zhaoa J, Yang J and Xiea Y., 2019. Improvement Strategies for the Oral Bioavailability of Poorly Water-Soluble Flavonoids : Anoverview, *International Journal of Pharmaceutics*, **570**: 1-21