

NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO HỆ MANG NANO CHỨA TINH DẦU GẮC VÀ CURCUMIN

Phan Quốc Thông¹, Lý Ngọc Tài¹, Nguyễn Ngọc Thùy Trang², Lê Xuân Cường², Nguyễn Minh Hiệp²

¹Trường Đại học Khánh Hòa

²Trung tâm Công nghệ bức xạ và Công nghệ sinh học, Viện nghiên cứu Hạt nhân

Tóm tắt: Trong những năm gần đây, các hệ mang nano ngày càng được quan tâm nghiên cứu, đặc biệt trong lĩnh vực dược phẩm và thực phẩm chức năng. Trong bài báo này chúng tôi trình bày những kết quả nghiên cứu liên quan đến ảnh hưởng của tỷ lệ các chất hoạt động bề mặt Lecithin và Tween 80 (Lec:Tween) đến kích thước, độ bền phân tán và hiệu suất đóng gói của hệ mang nano chứa tinh dầu Gấc và Curcumin. Hệ mang nano được chế tạo bằng phương pháp đồng hóa tốc độ cao kết hợp với phương pháp rung siêu âm cường độ cao. Hạt nano sau khi chế tạo được đặc trưng kích thước, hình dạng hạt bằng phương pháp hiển vi điện tử truyền qua (TEM), độ bền phân tán được đặc trưng bằng thế Zeta, đường chuẩn và hiệu suất đóng gói Curcumin được đặc trưng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

Từ khóa: Hệ mang nano, Curcumin, TEM, Zeta, HPLC.

1. Mở đầu

Hệ mang nano đa chức năng được quan tâm nghiên cứu do những ứng dụng rộng rãi trong y sinh và thực phẩm bảo vệ sức khỏe, bao gồm phân phối hướng đích, liệu pháp kết hợp và bảo vệ sức khỏe [1-3]. Nhìn chung, những nghiên cứu này được phát triển với nhiều lĩnh vực khác nhau, trong số những hạt nano hay hệ mang đa chức năng, hệ mang nano bản chất lipid được nghiên cứu nhiều vì những ứng dụng rộng rãi và các đặc tính của chúng như khả năng phân tán, độ bền phân tán và khả năng đóng gói chất mang, kê cả các chất ưa nước và các chất kỵ nước, sinh khả dụng cao và khả năng phân hủy sinh học [4-8]. Một số nghiên cứu cho thấy, hệ mang nano bản chất lipid có nhiều ưu điểm khi được sử dụng để đóng gói các tác nhân vừa có khả năng chẩn đoán vừa có khả năng điều trị [9-11]. Ví dụ, hệ mang nano lipid-peptide được dùng để mang và phân phối cùng lúc nhiều tác nhân gồm plasmid DNA (pDNA) có chức năng chữa trị và hạt nano sắt từ có chức năng tăng cường ảnh cộng hưởng từ (MRI - magnetic resonance imaging), hoặc sử dụng hạt nano liposome để mang curcumin vừa đóng vai trò như tác nhân chữa trị và bảo vệ sức khỏe [10-12], curcumin là tinh chất được tách chiết từ củ nghệ vàng có rất nhiều đặc tính tốt, được nghiên cứu chuyên sâu trong những năm gần đây [5].

Trong nghiên cứu này, curcumin với những đặc tính tốt giúp bảo vệ sức khỏe, điều trị và hỗ trợ điều trị một số bệnh đã được chứng minh [5], cùng

với tinh dầu gấc được đóng gói trong hạt nano bản chất lipid. Nghiên cứu chế tạo hệ mang nano chứa tinh dầu gấc và curcumin với các thông số về độ kích thước, độ bền phân tán và hiệu suất đóng gói của hệ mang nano sẽ được nghiên cứu và trình bày trong bài báo này.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Curcumin (Viện Hoá học); Dầu gấc (Công ty cổ phần Dược Lâm Đồng); Lecithin (Junsei Chemical, Japan); Tween 80 (Samchun Pure Chemical, Korea); Ethanol (Merck Ltd., Germany)

Đầu tip 1 mL, đầu tip vàng (200 microliter), ống falcon 50 mL, ống Falcon 15 mL, eppendorf 2 mL, găng tay cao su size L và size M mua từ hãng Sigma.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chế tạo mẫu

Xác định độ hòa tan của curcumin trong tinh dầu gấc

Lượng dư curcumin được cho vào trong 30 mL tinh dầu gấc và khuấy ở nhiệt độ phòng, tốc độ 200 vòng/phút. Ở các mốc thời gian 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 24 h, 36 h, 48 h, 2 mL dịch hỗn hợp được lấy ra, cho vào ống eppendorf và quay ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng/phút trong 5 phút. Sau đó, phần

dịch nổi được pha loãng với ethanol đến các nồng độ thích hợp và tiến hành phân tích nồng độ bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) với điều kiện và quy trình như đã nêu ở trên.

Phương pháp tổng hợp hệ mang nano chứa tinh dầu gấc và curcumin

Hệ mang nano chứa tinh dầu gấc và curcumin được tổng hợp bằng phương pháp đồng hoá tốc độ cao kết hợp với phương pháp sử dụng sóng siêu âm để giảm kích thước [13]. Cụ thể, hỗn hợp chất hoạt động bề mặt giữa lecithin và tween 80 (w/w) được cho vào nước, khuấy ở 80 °C trong 2 giờ và được làm nguội về nhiệt độ phòng. Sau đó, curcumin và tinh dầu gấc (15%, w/w) được cho vào dịch phân tán của hỗn hợp chất hoạt động bề mặt được chuẩn bị ở trên và đồng hoá ở 19000 vòng/phút trong 5 phút. Dịch phân tán hệ mang nano thô thu được sẽ được giảm kích thước bằng sóng siêu âm bằng thiết bị Ultrasonic Liquid Processor trong 10 phút, công suất 40% (đánh 5 phút, nghỉ 5 phút). Dịch phân tán nano thu được sẽ được lọc qua màng lọc cellulose với kích thước lỗ lọc 3 µm để loại bỏ các thành phần hạt có kích thước lớn và dịch phân tán sau khi lọc sẽ được sử dụng cho các thí nghiệm sau.

2.2.2. Phương pháp đặc trưng mẫu

Dụng đường chuẩn curcumin

Curcumin độ tinh khiết 95% được hoà tan vào Ethanol ở các nồng độ 0,01 g/L, 0,0075, 0,005, 0,0025 và 0,001 g/L và được phân tích bằng thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) LC-20AD (Shimadzu, Nhật Bản) với dung dịch pha động là hỗn hợp ethanol:nước (90:10, v/v), pha tĩnh là cột InertSustain C18 (GL Sciences Inc., Nhật Bản), tốc độ dòng là 0,8 mL/phút và bước sóng hấp thụ là 423 nm. Đường chuẩn được dựng bằng phần mềm Microsoft Excel.

Xác định kích thước hạt, độ phân tán và thế zeta bằng thiết bị Zeta Sizer NanoZS

Trong phương pháp này, sử dụng tán xạ ánh sáng động tính toán sự phụ thuộc của cường độ tán

xạ ánh sáng (từ nguồn laser) vào thời gian tán xạ ánh sáng trong mẫu, từ đó xác định hệ số khuếch tán D và đường kính thủy động D_H của mẫu hạt trong huyền phù.

Xác định hình thái hệ mang nano chứa tinh dầu gấc và curcumin bằng kỹ thuật hiển vi (TEM)

Kính hiển vi điện tử truyền qua (Transmission Electron Microscopy - TEM): ngoài thông tin về hình dạng, kích thước và sự sắp xếp của các hạt, ảnh TEM phân giải cao còn có thể cho ta biết thông tin về cấu trúc tinh vi bên trong hạt mẫu. Dựa trên nguyên tắc hoạt động cơ bản của kính hiển vi quang học, kính hiển vi điện tử truyền qua có ưu điểm nổi bật nhờ bước sóng của chùm electron ngắn hơn rất nhiều so với ánh sáng nhìn thấy nên nó có thể quan sát với kích thước cỡ 0,2 nm

Xác định độ bền của hệ nano dựa vào sự thay đổi kích thước hạt và thế zeta (xác định bằng thiết bị Zeta Sizer NanoZS)

Đại lượng đặc trưng cho độ ổn định của hệ phân tán keo là thế Zeta (ζ). Các hạt với điện tích bề mặt nhất định sẽ hấp phụ từ dung dịch những ion có điện tích trái dấu. Thế Zeta thể hiện mức độ đẩy giữa các hạt tích điện cùng dấu gần nhau trong hệ phân tán, đối với các phân tử và các hạt đủ nhỏ. Thế Zeta cao (âm hoặc dương) sẽ cho độ ổn định cao, hệ phân tán tốt và sẽ chống lại sự keo tụ.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Kết quả xác định độ hòa tan của curcumin trong tinh dầu gấc

Độ hòa tan của curcumin trong tinh dầu gấc được thực hiện bằng phương pháp khuấy ở nhiệt độ phòng, tốc độ 200 vòng/phút. Ở các mốc thời gian 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, 12 h, 24 h, 36 h, 48 h các mẫu thí nghiệm được đặc trưng bằng phương pháp sắc ký HPLC để xác định hàm lượng curcumin hòa tan trong tinh dầu gấc, kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1: Độ hòa tan của curcumin trong tinh dầu gấc

Thời gian (giờ)	0	1	2	4	6	24	48
Nồng độ (mg/mL)	0	1.03	1.228	1.267	1.293	1.335	1.395

Kết quả bảng 1 cho thấy sau 2 giờ khuấy lượng curcumin hòa tan trong tinh dầu gấc gần như bão hòa, vì vậy trong nghiên cứu này sẽ sử dụng kết quả xác định độ hòa tan của curcumin bằng phương pháp khuấy ở nhiệt độ phòng, tốc độ 200 vòng/phút và thời gian khuấy là 2 giờ với tỷ lệ hòa tan curcumin/tinh dầu gấc là 1,228 mg/mL.

Bảng 2: Kết quả tổng hợp hệ mang nano chứa tinh dầu gấc và curcumin

Tỷ lệ Lec:Tween (w/w)	Kích thước hạt nano	Hệ số phân tán	Thế Zeta (mV)	Hiệu suất đóng gói (%) (tính theo lượng
-----------------------	---------------------	----------------	---------------	---

3.2. Kết quả tổng hợp hệ mang nano chứa tinh dầu gấc và curcumin

Từ phương pháp tổng hợp hệ mang nano được trình bày ở mục 2.2.1, kết quả tổng hợp hệ mang nano chứa tinh dầu gấc và curcumin được trình bày ở bảng 2.

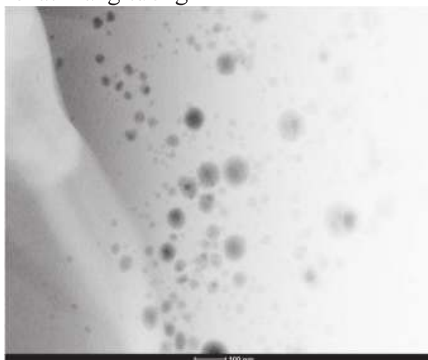
				Curcumin)
0:10	198,3 ± 4,1	0,432 ± 0,012	-24,3 ± 0,5	90,6 ± 2,8
1:9	145,8 ± 3,9	0,282 ± 0,014	-37,6 ± 0,7	92,1 ± 2,0
2:8	136,5 ± 3,1	0,248 ± 0,008	-39,6 ± 0,5	97,1 ± 1,5
3:7	157,2 ± 5,2	0,267 ± 0,012	-46,0 ± 0,3	97,0 ± 1,8
4:6	207 ± 4,8	0,368 ± 0,013	-48,1 ± 0,6	96,8 ± 1,2

Kết quả bảng 2 cho thấy, khi thay đổi tỷ lệ Lec:Tween (w/w) kích thước hạt nano có sự thay đổi nhưng không đáng kể, hạt nano đạt kích thước lớn nhất khi tỷ lệ Lec:Tween là 4:6 và đạt kích thước nhỏ nhất khi tỷ lệ tương ứng là 2:8. Bên cạnh đó thế Zeta và hệ số phân tán cũng có sự thay đổi khi thay đổi tỷ lệ giữa Lec:Tween (kết quả ở bảng 2), trong khi đó hiệu suất đóng gói của hệ mang nano tương đối cao (tất cả đều trên 90%), điều đó cho thấy hạt nano được chế tạo bằng phương pháp đồng hóa tốc độ cao kết hợp với phương pháp rung siêu âm tốc độ cao cho kết quả hiệu suất đóng gói chất mang trong

đối tốt, kết quả này cũng phù hợp với một số nghiên cứu của nhóm đã được công bố trước đây [13, 14].

Với mục tiêu của nghiên cứu này là chế tạo hệ mang nano chứa tinh dầu gấc và curcumin có kích thước nhỏ, hiệu suất đóng gói cao và độ bền phân tán tốt, vì vậy tỷ lệ Lec:Tween 2:8 (w/w) được chọn để chế tạo hệ mang nano.

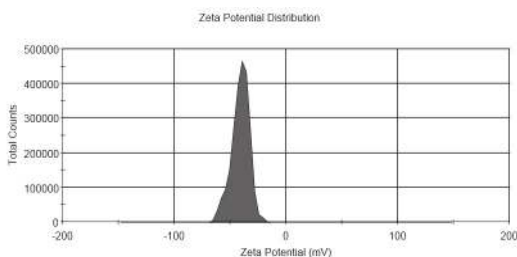
Kết quả đặc trưng hình dạng và kích thước hạt nano được đặc trưng bằng kỹ thuật hiển vi điện tử truyền qua (TEM) được trình bày ở hình 1.



Hình 1: Kết quả ảnh TEM hệ mang nano chứa tinh dầu gấc và curcumin

Kết quả chỉ thấy kích thước ảnh TEM của hệ mang nano trung bình khoảng 136 nm, có dạng hình cầu và đơn phân tán, với kích thước này hệ mang nano sẽ tăng khả năng hấp thụ vào cơ thể, khả năng lưu thông máu và sinh khả dụng của dược chất (curcumin) và cơ chất khác (tinh dầu gấc) được mang trong hệ nano được tăng cao hàng trăm thậm chí hàng nghìn lần [14, 15].

Kết quả đo thế Zeta và hệ số phân tán của hệ mang nano với tỷ lệ Lec:Tween 2:8 (w/w) lần lượt là -39,6 mV và 0,248 (bảng 2) cho thấy khả năng phân tán và độ bền phân tán của hệ mang nano là tương đối tốt, đáp ứng yêu cầu của hệ mang nano về khả năng và độ bền phân tán [14, 15].



Hình 5: Kết quả đo thế Zeta hệ mang nano chứa tinh dầu Gấc và Curcumin

4. Kết luận

Đã chế tạo được hệ mang nano chứa tinh dầu gấc và curcumin bằng phương pháp đồng hóa tốc độ cao kết hợp với phương pháp rung siêu âm

cường độ cao. Trong đó hệ mang nano với tỷ lệ Lec:Tween 2:8 (w/w) được chọn, hệ mang nano có kích thước trung bình của các hạt nano khoảng 136 nm, dạng hình cầu và đơn phân tán, hiệu suất đóng

gói đạt khoảng 97,1%, thế Zeta và hệ số phân tán của hệ mang nano lần lượt là -39,6 mV và 0,248.

Kết quả này cho thấy hệ mang nano chứa tinh dầu gấc và curcumin được chế tạo bằng phương pháp trên đáp ứng tốt yêu cầu của một hệ mang nano ứng dụng trong y sinh và thực phẩm bảo vệ sức khỏe nhờ kích thước nano, khả năng lưu thông máu và sinh khả dụng của dược chất và các chất được mang

bên trong hệ nano được tăng lên hàng trăm, thậm chí hàng nghìn lần, mở ra hướng mới trong ứng dụng y sinh và thực phẩm bảo vệ sức khỏe [14, 15].

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả cảm ơn đề tài nghiên cứu khoa học cấp Trường Đại học Khánh Hòa mã số KHTN-19.21 đã hỗ trợ kinh phí để thực hiện công trình nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Svenson S, Prud'homme RK. Multifunctional nanoparticles for drug delivery applications: imaging, targeting, and delivery. Springer Science & Business Media; 2012.
2. Mo R, Jiang T, Di J, Tai W, Gu Z. Chemical Society Reviews. 2014;43:3595–3629.
3. Reddy GR, Bhojani MS, McConville P, Moody J, Moffat BA, Hall DE, Kim G, Koo YEL, Woolliscroft MJ, Sugai JV, Johnson TD, Philbert MA, Kopelman R, Rehemtulla A, Ross BD. Clinical Cancer Research. 2006;12:6677–6686.
4. Miller AD. Journal of drug delivery. 2013;2013:165981.
5. Marks JR, Placone J, Hristova K, Wimley WC. J Am Chem Soc. 2011;133:8995–9004.
6. Namiki Y, Fuchigami T, Tada N, Kawamura R, Matsunuma S, Kitamoto Y, Nakagawa M. Accounts of chemical research. 2011;44:1080–1093.
7. Pattni BS, Chupin VV, Torchilin VP. Chemical Reviews. 2015;115:10938–10966.
8. Wang Y, Miao L, Satterlee A, Huang L. Advanced Drug Delivery Reviews. 2015;87:68–80.
9. Na K, Lee SA, Jung SH, Shin BC. Colloids and surfaces B, Biointerfaces. 2011;84:82–87.
10. Ren L, Chen S, Li H, Zhang Z, Zhong J, Liu M, Zhou X. Acta biomaterialia. 2016;35:260–268.
11. Phua KK, Nair SK, Leong KW. Nanoscale. 2014;6:7715–7729.
12. Kauffman KJ, Dorkin JR, Yang JH, Heartlein MW, DeRosa F, Mir FF, Fenton OS, Anderson DG. Nano Lett. 2015;15:7300–7306.
13. Nguyen MH, Yu H, Kiew TY, Hadinoto K, Eur J Pharm Biopharm. 2015;96:1-10.
14. Howell M, Mallela J, Wang C, Ravi S, Dixit S, Garapati U, Mohapatra S. J Control Release. 2013;167:210–218.
15. Tavernier G, Andries O, Demeester J, Sanders NN, De Smedt SC, Rejman J. J Control Release. 2011;150:238–247.

RESEARCH AND FABRICATION NANO-CARRIER SYSTEM CONTAINS GAC ESSENTIAL OILS AND CURCUMIN

Phan Quoc Thong¹, Ly Ngoc Tai¹, Nguyen Ngoc Thuy Trang², Le Xuan Cuong², Nguyen Minh Hiep²

¹University of Khanh Hoa

²Center for Radiation Technology and Biotechnology, Nuclear Research Institute

Abstract: *In recent years, nano-carrier systems have been increasingly interested in research, especially in the field of pharmaceuticals and health foods. In this paper, we present the research results related to the effect of the ratio of surfactants Lecithin and Tween 80 (Lec: Tween) on the size, dispersiveness and packaging efficiency of Nano-carrier system contains Gac essential oils and Curcumin. Nano-carrier system is made by high-speed assimilation method combined with high-intensity ultrasonic method. shape and size of nanoparticles after fabrication is characterized by the transmission electron microscopy (TEM) method, the dispersiveness is characterized by the Zeta potential, the calibration curve and the Curcumin packaging efficiency are characterized by High performance liquid chromatography (HPLC).*

Keywords: *Nano-carrier system, Curcumin, TEM, Zeta, HPLC.*