

NGHIÊN CỨU ĐIỀU CHẾ DUNG DỊCH NANO CURCUMIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN LẮC

Tóm tắt: Nghiên cứu điều chế nano curcumin ở dạng dung dịch bằng phương pháp nghiên cứu lắc với bi zirconia, tốc độ 20Hz trong 3 giờ. Cấu trúc, hình thái của hạt được phân tích bằng ảnh kính hiển vi tử truyền qua TEM, sự phân bố kích thước hạt được đo bằng tán xạ ánh sáng (DLS). Nghiên cứu ảnh hưởng của dung môi etanol với tác dụng hòa tan curcumin bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), kết quả cho thấy dung môi etanol không làm ảnh hưởng đến kích thước hạt. Sự có mặt chất hoạt động bề mặt RH40 trong quá trình tổng hợp với nồng độ khoảng 5,5% về khối lượng làm cho sự phân bố kích thước hạt rất hẹp và khá đồng đều. Kích thước hạt nano curcumin tập trung chủ yếu trong khoảng từ 10-100nm. Theo kết quả đo HPLC cho thấy rằng không có sự biến đổi hoặc phân hủy curcumin trong quá trình điều chế dung dịch nano curcumin.

I. GIỚI THIỆU CHUNG

Cây nghệ vàng có tên khoa học là *Curcuma Longa L.*, hay còn gọi là Uất kim, Khương hoàng, thuộc họ Gừng (*Zingiberaceae*) là một loại cây thân thảo, sống lâu năm, cao khoảng 1m. Theo GS. Đỗ Tất Lợi - tác giả của cuốn sách nổi tiếng “Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam” thành phần chính của củ Nghệ vàng là Curcumin và hai dẫn chất của nó là Desmethoxycurcumin và Bisdesmethoxycurcumin. Trong số ba chất trên Curcumin có hoạt tính mạnh nhất và chiếm khoảng 0,3% trong củ Nghệ vàng. Curcumin đã được nghiên cứu nhiều trên thế giới bởi những tác dụng điều trị như đặc tính kháng viêm, oxy hóa, kháng khuẩn, chống ung thư [1]. Tuy nhiên, sự hạn chế của curcumin trong điều trị là sự khó tan trong nước (dưới nồng độ 0.0001) và dễ bị thủy phân làm cho

|| Vũ Thị Hồng Phượng

Ngành Công nghệ Hóa Học, Viện Kỹ Thuật - Kinh Tế Biển, Trường Đại học Bà Rịa - Vũng Tàu

khả dụng sinh học thấp. Nano curcumin là một trong những hướng nghiên cứu đầy hứa hẹn để cải thiện sinh khả dụng cũng như độ tan của curcumin trong nước. Fatemeh Zabih và cộng sự đã điều chế hạt nano curcumin được bao phủ bởi poly (lactic-co-glycolic acid) bằng cách phun dung dịch polymer vào CO₂ siêu tới hạn đã được phân tán curcumin bằng siêu âm, hạt nano curcumin thu được có kích thước 63nm [1]. Nhóm của Tatsuaki Tagami đã điều chế nano curcumin bằng nghiền ăn mòn laser với kích thước hạt thu được khoảng 500nm. Nano curcumin được kết hợp với piperin cũng được nghiên cứu để sử dụng vào thuốc, hạt nano kích thước khoảng 183nm nhằm cải thiện khả dụng sinh học của curcumin. Xiaoyong Wan và cộng sự đã điều chế hệ nhũ kích thước từ 79,5 đến 618nm để bọc hạt curcumin và curcumin được bọc nhũ đã cải thiện được tính kháng viêm của curcumin [4]. Khả năng kháng ung thư của curcumin được bọc bởi tinh bột biến tính cũng được nghiên cứu [5]. Nhóm của Savita Bisht đã sử dụng hỗn hợp isopropylacrylamide, N-vinyl-2-pyrrolidone và poly(ethyleneglycol) monoacrylate để bọc hạt nano curcumin với kích thước thu được khoảng 50nm và phân tán tốt trong nước [6]. A. Anitha đã điều chế hạt nano dextran sulphate-chitosan kết hợp curcumin với kích cỡ hạt khoảng 200-300nm và đã chứng minh khả năng diệt tế bào ung thư [7]. Kết hợp curcumin và nano vàng để cải thiện khả dụng

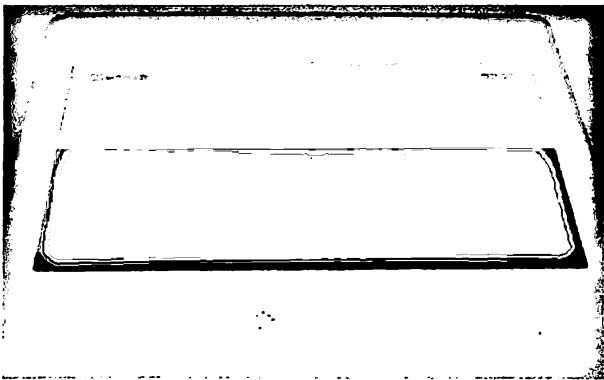
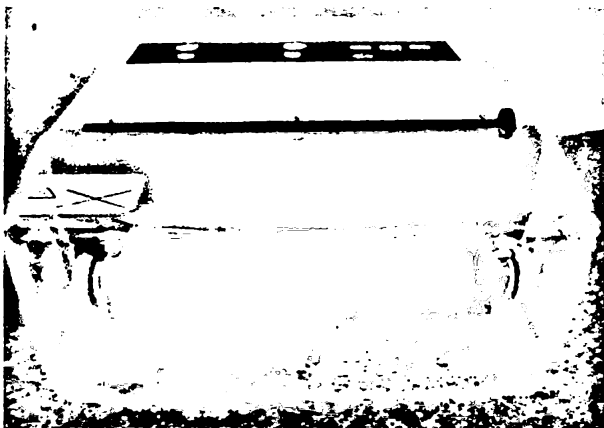
sinh học của curcumin cũng được nghiên cứu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng phương pháp nghiền lắc để điều chế nano curcumin. Khảo sát sự ảnh hưởng của dung môi, chất hoạt động bề mặt RH40 đến quá trình hình thành nano curcumin.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Hóa chất - dụng cụ

Hóa chất: Vinypyrrolidone K30 (PVPk30), Các hóa chất Cremophor @RH40, Ethanol, Poly Ethylenglycol (PEG 6000), Sodium dodecyl sulphate là hóa chất tinh khiết được mua từ Sigma. Curcumin 95% cung cấp từ Công ty Friendship.

Dụng cụ: Máy khuấy từ gia nhiệt; Máy nghiền lắc (Mill MM301)

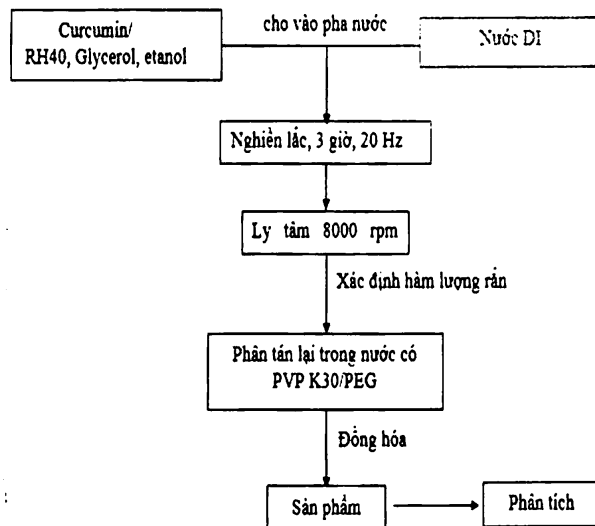


2.2. Quy trình tổng hợp

Quy trình điều chế được thực hiện theo kỹ thuật nghiền lắc, được tiến hành theo các bước sau: Cân 2g curcumin cho vào 10g dung môi

etanol và 5g glycerol được chứa trong beaker 100ml và một lượng xác định chất hoạt động bề mặt RH40 và khuấy mạnh ở 400rpm bằng máy khuấy từ và gia nhiệt 50-60°C cho đến khi tan hoàn toàn thu được dung dịch A. Sau đó nhỏ giọt dung dịch A vào 22g nước DI và khuấy mạnh bằng cá từ ở 400-500rpm dung dịch trong suốt chuyển sang màu vàng chanh, tiếp tục chuyển dung dịch vào lọ nhựa 100ml đã được chứa bi zirconia nghiền lắc với tốc độ 20Hz từ 3 giờ (nếu lắc lâu sẽ bị nóng lên). Lọc Bi và ly tâm ở 8000rpm lấy phần rắn loại bỏ các dung dịch và tái phân tán lại trong nước DI có chứa sẵn chất phân tán như polymer (PVP K30 và PEG6000) hoặc hợp chất cao phân tử và sau đó đồng hóa bằng máy IKA T25 ở tốc độ 6000-8000rpm để được hỗn dịch curcumin 5%.

Hình 1: Sơ đồ điều chế nano curcumin bằng quy trình nghiền lắc



2.3. Khảo sát sự ảnh hưởng của dung môi đến sự hình thành nano curcumin

Thực hiện khảo sát sự ảnh hưởng của dung môi etanol lên kích thước hạt theo quy trình điều chế mục 2.2. Thay đổi hàm lượng etanol từ 0; 0,25; 0,5; 1,0; 1,5; 2 gram. Thành phần curcumin, RH40 và nước không đổi lần lượt là 0,01; 1 và 16 gram để chế tạo các mẫu từ B1 đến B5.

Bảng 1: Bảng giá trị khảo sát sự thay đổi khối lượng etanol

Thành phần	B1	B2	B3	B4	B5	B6
Curcumin(g)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
RH40(g)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Ethanol(g)	2,00	1,50	1,00	0,50	0,25	0,00

2.4. Khảo sát sự ảnh hưởng của chất hoạt động bề mặt RH40

Thay đổi các nồng độ chất hoạt động bề mặt RH40 để nghiên cứu sự ảnh hưởng đến sự hình thành nano curcumin dựa theo quy trình 2.2. Khối lượng RH40 được khảo sát từ 0,50 đến 1,50gram và các thành phần chất khác được giữ cố định như: curcumin, etanol, H₂O lần lượt là 0,01; 2; 16 gram (Bảng 2).

Bảng 2: Khảo sát sự ảnh hưởng của RH40 lên kích thước hạt nano curucmin.

Thành phần	A1	A2	A3	A4	A5
Curcumin(g)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
RH40 (g)	1,50	1,25	1,00	0,75	0,50
Ethanol(g)	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00

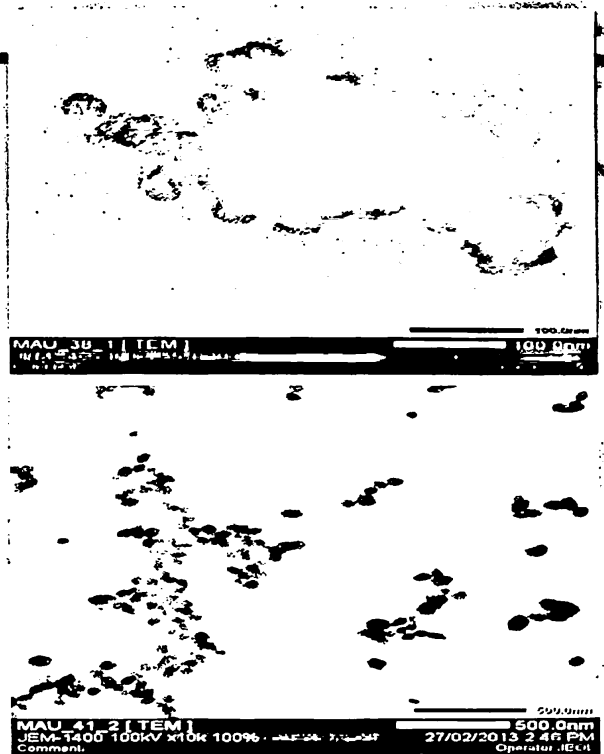
2.5. Các phương pháp đánh giá hạt nano curcumin

- Xác định hạt curcumin bằng SEM và TEM;
- Sự phân bố kích thước hạt được đo bằng DLS;
- Xác định nồng độ nano curcumin và theo dõi độ bền hạt curcumin bằng HPLC và UV-Vis.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc tính của dung dịch nano curucmin

Dung dịch hạt nano curcumin được điều chế bằng phương pháp nghiền quay với nồng độ hạt curcumin thấp (0.1 đến 0,5%) trong môi trường nước có màu vàng nhạt. Ảnh TEM cho thấy kích thước hạt khoảng dưới 100nm (Hình 2).

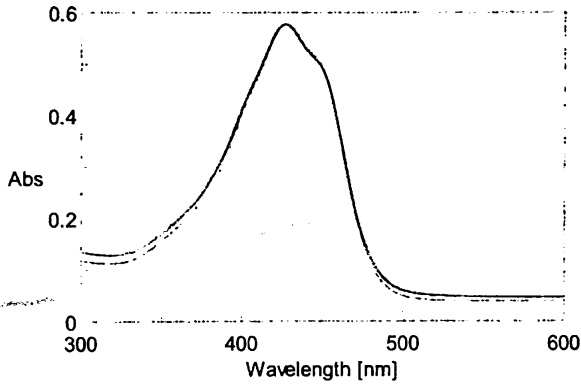


Hình 2: Ảnh TEM của hạt nano curcumin.



Hình 3: Ảnh SEM của mẫu sản phẩm điều chế theo quy trình nghiền lắc; Ảnh SEM của mẫu hạt curcumin không sử dụng RH40

Ngoài dung dịch nano Curcumin cũng được quan sát độ ổn định của hạt nano trong dung dịch bằng phương pháp UV-Vis như kết quả trong Hình 3 cho thấy các đỉnh hấp thụ của dung dịch sau thời gian quan sát 4 và 7 ngày trùng khớp nhau không có sự dịch chuyển đỉnh hấp thụ. Kết quả này cho thấy sự không kết tụ của hạt và không có sự biến đổi chất trong dung dịch.



Hình 4: Phổ UV-Vis của B5 quan sát trong 1, 4, 7 ngày

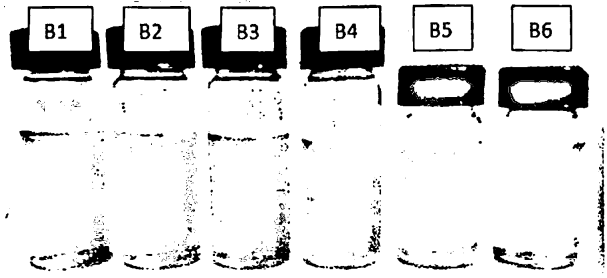
3.2. Sự ảnh hưởng của ethanol đến hình thành nano curcumin

Quá trình hòa tan curcumin để tạo thành dung dịch đồng nhất có khả năng ảnh hưởng bởi nồng độ ethanol và có thể ảnh hưởng đến quá trình hình thành hạt nano trong dung dịch. Nồng độ ethanol được thay đổi từ 0 đến 2 gram và các thành phần khác không đổi, dung dịch thu được có màu vàng nhạt hình 5, từ kết quả đo DLS cho thấy kích thước hạt khoảng 10-100nm (Hình 6).

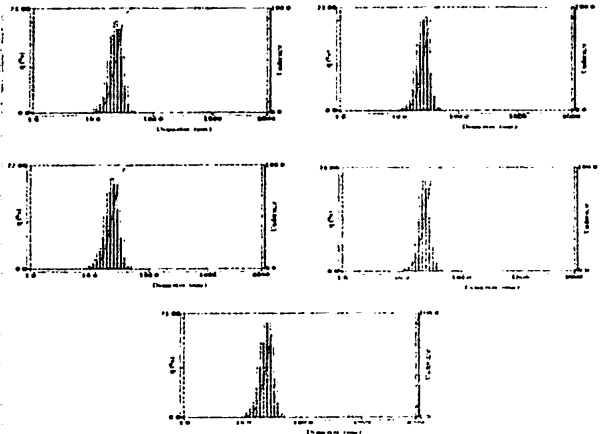
Từ kết quả này cho thấy nồng độ ethanol không ảnh hưởng đến kích thước hạt khi curcumin hòa tan hoàn toàn, lượng ethanol giúp cho curcumin dễ tan hơn và độ nhớt của pha hữu cơ nhỏ hơn dễ dàng nhỏ giọt vào pha hữu cơ.

3.3. Sự ảnh hưởng của RH40 đến quá trình điều chế dung dịch nano curcumin

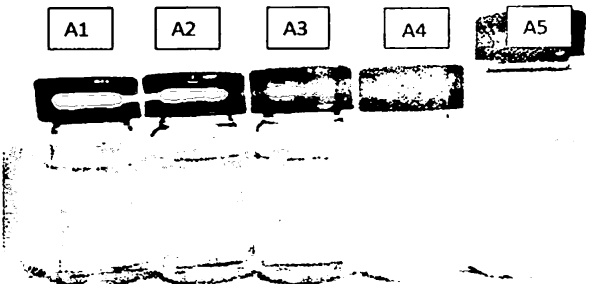
Quá trình hình thành hạt nano trong dung dịch bị ảnh hưởng bởi tính kỵ nước và khả năng bao bọc của polyme cũng như chất hoạt động



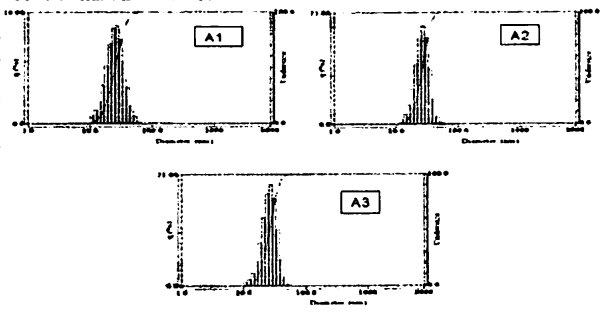
Hình 5: Ảnh các mẫu nano curcumin với các nồng độ ethanol



Hình 6: Ảnh DLS của dung dịch nanocurcumin trong nồng độ ethanol khác nhau



Hình 7: Dung dịch curcumin với nồng độ RH40 khác nhau



Hình 8: Ảnh DLS của 3 mẫu A1, A2, A3

bề mặt. Vì vậy trong nghiên cứu này RH40 được khảo sát từ 0-2 gram để xác định nồng độ tối ưu để tạo dung dịch hạt nano curcumin có độ phân bố kích thước hạt hẹp nhất. Dung dịch thu được ở các nồng độ cho thấy từ A1-A3 dung dịch trong suốt và mẫu A4 và A5 đục. Điều này cho thấy hệ dung dịch đục và không trong suốt bởi do kích thước của curcumin lớn hơn. Kết quả đo DLS của 3 mẫu A1, A2, A3 có kích thước khoảng 10-100nm và dải phân bố kích thước của A3 hẹp nhất chứng tỏ phân bố kích thước đều nhất.

Ngoài ra mẫu A1 cũng được đo TEM và theo hình 7 cho thấy kích thước hạt của curcumin rất đều với kích thước khoảng 50 nm.

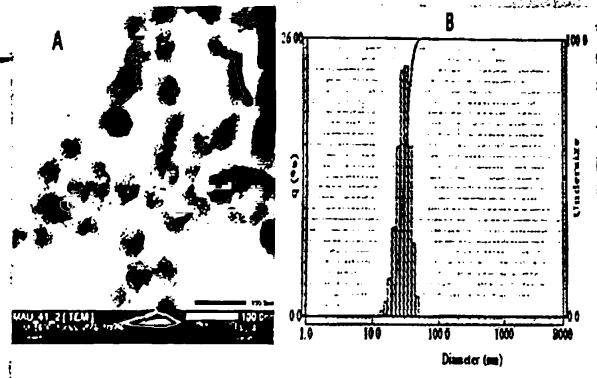
3.4. Sự ổn định curcumin trong quá trình điều chế

Phân tích nguyên liệu curcumin và dung dịch nano curcumin bằng HPLC. Theo hình 9 cho thấy cả hai trường hợp xuất hiện cả 1 mũi với thời gian lưu của nguyên liệu curcumin và nano curcumin lần lượt là 29.430 và 29.38 phút và không xuất hiện mũi lạ. Do đó quá trình điều chế nano curcumin không gây ra sự phân hủy hoặc biến đổi phân tử curcumin.

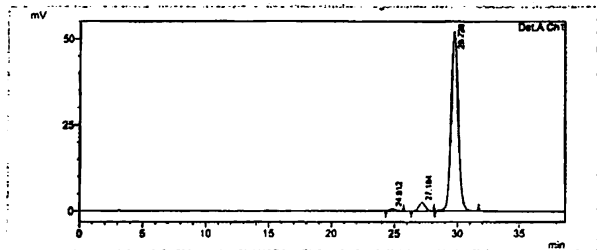
IV. KẾT LUẬN

Đã đưa ra quy trình điều chế nano curcumin bằng phương pháp nghiền quay với kích thước hạt dưới 10-100nm và đã nghiên cứu sự ảnh hưởng của dung môi ảnh hưởng đến kích thước hạt nano curcumin. Trong quá trình tổng hợp không thấy có sự phân hủy curcumin hoặc chuyển hóa curcumin thành chất khác.

V.T.H.P



Hình 8: Ảnh TEM của mẫu A3 với RH40 1g



Hình 9: Phổ sắc ký nano curcumin

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. F. Zabihi et al. (2014) Polymeric coating of fluidizing nano-curcumin via anti-solvent supercritical method for sustained release, *J. of Supercritical Fluids* 89, pp 99–105.
- [2]. Tagami, T., et al., (2014), Simple and effective preparation of nano-pulverized curcumin by femtosecond laser ablation and the cytotoxic effect on C6 rat glioma cells in vitro, *International Journal of Pharmaceutics*.
- [3]. C.Moorthiet al. (2012), Preparation and characterization of curcumin-piperine dual drug loaded nanoparticles, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 841-848.
- [4]. X. Wang et al. (2008) Enhancing anti-inflammation activity of curcumin through O/W nanoemulsions, *Food Chemistry*, 108 419–424.
- [5]. H. Yu, Q. Huang, (2010) Enhanced in vitro anti-cancer activity of curcumin encapsulated in hydrophobically modified starch, *Food Chemistry*, 119 669–674.
- [6]. Savita Bisht et al. (2007) Polymeric nanoparticle-encapsulated curcumin ("nanocurcumin"): a novel strategy for human cancer therapy, *Journal of Nanobiotechnology*, 5:3.
- [7]. A. Anitha et al. (2011) Preparation, characterization, in vitro drug release and biological studies of curcumin loaded dextran sulphate-chitosan nanoparticles *Carbohydrate Polymers*, 84, 1158–1164.