

TỔNG HỢP HỆ NANO HYDROXYPROPYL-BETA-CYCLODEXTRIN/ALGINATE LÀM VẬT LIỆU MANG THUỐC

Nguyễn Cao Hiền*, Tân Văn Hậu, Lê Thị Thanh Vân, Võ Tuấn Quốc

Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

*Email: hiennc@cntp.edu.vn

Ngày nhận bài: 29/6/2017; Ngày chấp nhận đăng: 28/11/2017

TÓM TẮT

Bài báo nghiên cứu tổng hợp một hệ nano mới được hình thành từ alginate và hydroxypropyl- β -cyclodextrin bằng phương pháp gelat ionotropic qua tương tác tĩnh điện giữa Ca^{2+} /alginate và hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Đặc tính hình thái và cấu trúc của các hạt nano được khảo sát bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM), kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM), phổ hồng ngoại (IR). Kích thước hạt nano thu được khá đồng đều trong khoảng 50 - 80 nm. Artesunate (thuốc điều trị sốt rét) được chọn làm mẫu tạo phức với vật liệu, hiệu suất mang thuốc đạt được 88%.

Từ khóa: Nanoparticle, hydroxypropyl- β -cyclodextrin, alginate, artesunate.

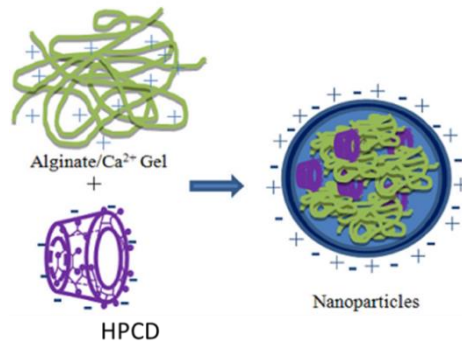
1. MỞ ĐẦU

Nghiên cứu các giải pháp nhằm cải thiện độ tan và tốc độ hòa tan của dược chất từ lâu đã thu hút sự quan tâm của các nhà khoa học. Các kỹ thuật đã được sử dụng bao gồm phân tán rắn, siêu vi tinh thể, đồng tinh thể, đồng bay hơi, đồng kết tủa, kết hợp polyme, hấp phụ bề mặt, tạo phức,... Trong các kỹ thuật này, tạo phức với cyclodextrin đạt hiệu quả tương đối cao trong việc cải thiện độ tan và tốc độ hòa tan dược chất. Tuy nhiên kết quả thử nghiệm cũng cho thấy, ở kích thước micromet phức thuốc truyền dẫn với tốc độ chậm do các rào cản enzym. Gần đây vật liệu nano sinh học được xem như lựa chọn lý tưởng bởi chúng đáp ứng được hầu hết các yêu cầu của một vật liệu mang thuốc [1].

Bài báo nghiên cứu tổng hợp một loại vật liệu mang thuốc mới trên nền hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPCD)/Alginate với kích thước hạt nhỏ hơn 100 nm, mẫu thuốc lựa chọn tạo phức là Artesunate (thuốc trị sốt rét). Kích cỡ hạt thu được phù hợp với kích thước điển hình của các đơn vị chức năng trong cơ thể sống, do đó cho phép chúng tương tác hiệu quả với các phân tử sinh học, tăng sinh khả dụng của thuốc đồng thời hạn chế một số tác dụng phụ do sự tồn tại lâu trên niêm mạc [2].

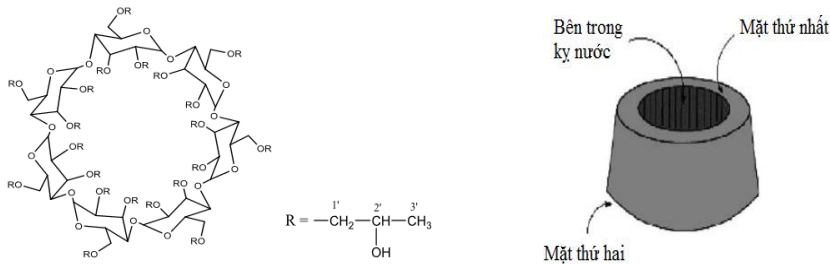
Các nanoparticle (HPCD)/Alginate Ca^{2+} được tạo thành bởi tương tác tĩnh điện theo cơ chế tạo phức đa ion (polyelectrolyte complexes) được mô tả như Hình 1. Trong đó, Alginate là một polymer phân hủy sinh học đóng vai trò tạo gel và ổn định độ keo.

HPCD là dẫn xuất ether của β -cyclodextrin thuộc họ oligosaccharide vòng với lỗ hồng trung tâm ưa chất béo và bề mặt ngoài ưa nước. Do sự hình thành cấu tạo ghề của các đơn vị glucopyranose, phân tử HPCD có hình dạng giống như hình nón cụt [3, 4].



Hình 1. Cơ chế tạo phức nano HPCD/Alginate

Các nhóm chức hydroxyl định hướng ở mặt ngoài hình nón, trong đó những nhóm hydroxyl bậc một ở rìa hẹp của hình nón và những nhóm hydroxyl bậc hai ở rìa rộng hơn. Lỗ hồng trung tâm được bọc bởi khung carbon và nguyên tử oxygen thuộc ether của đường. Vị trí lỗ hồng hẹp của HPCD có các nhóm hydroxyl bậc một và được gọi là mặt thứ nhất. Ngược lại, vị trí lỗ hồng rộng mang các nhóm hydroxyl bậc hai và được gọi là mặt thứ hai. Sự khác nhau giữa các nhóm hydroxyl bậc một và bậc hai cho phép hình thành chức năng chọn lọc trên rìa bậc một và bậc hai. Đây là cấu trúc lý tưởng để hình thành phức mang, các phân tử thuốc kém tan thường kỵ nước sẽ được “bao bọc” trong khoang trung tâm của phân tử HPCD [5, 6].



Hình 2. Công thức cấu tạo và mô hình phân tử HPCD

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Hóa chất

Bảng 1. Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu

Hóa chất	Độ tinh khiết	Xuất xứ
Beta-cyclodextrin	98%	Merck – Đức
Hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HPCD)	97%	Merck – Đức
Sodium alginate	> 96%	Merck – Đức
Calcium chloride	96%	Merck – Đức
Ethanol	96%	Việt Nam
Methanol	99,8%	Việt Nam
Acetonitrile	99,8%	Trung Quốc
Artesunate		Pháp

2.2. Tổng hợp nanoparticle HPCD/Alginate

Nhỏ dung dịch CaCl₂ vào dung dịch sodium alginate, khuấy 30 phút trên máy khuấy từ, thu được dung dịch gel trong suốt, nhỏ tiếp dung dịch HPCD (khảo sát tỷ lệ HPCD:alginate) tiếp tục khuấy thêm 60 phút (tốc độ 1200 vòng/phút). Kết quả thu được dung dịch gel trong suốt và đồng nhất. Dung dịch được để qua đêm ở nhiệt độ phòng. Sau đó, hỗn hợp được tách ly tâm lần đầu để loại bỏ những tác nhân dư. Gel sau ly tâm được rửa lại với nước khử ion 3 lần (mỗi lần ly tâm trong 30 phút, tốc độ 4000 vòng/phút). Mẫu được đông khô tại -40 °C trong 20 giờ. Kết quả thu được sản phẩm nano HPCD-alginate là chất bột, màu trắng.

Hiệu suất nano hóa được tính theo công thức:

$$H = \frac{\text{Khối lượng Nanoparticle}}{\text{Tổng khối lượng (Calcium alginate + HPCD)}} \times 100\%$$

Hình thái học của phức nano được xác định bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM-JEOL-JSM-7401F), kích thước hạt được xác định bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM-JEM-1400).

2.3. Tổng hợp nano HPCD-alginate-artesunate

Nhỏ từ từ dung dịch artesunate (1,6575 mg artesunate/mL alcohol:nước theo tỷ lệ 1:1) vào dung dịch HPCD (1,2 mg HPCD/mL nước), khuấy trên máy khuấy từ 30 phút. Sau đó, nhỏ tiếp dung dịch sodium alginate (4,5 mg alginate/mL nước) vào dung dịch hỗn hợp trên, khuấy trên máy khuấy từ 30 phút (tốc độ 1200 vòng/phút), thấy xuất hiện dung dịch dạng gel trong suốt. Sau đó, nhỏ tiếp dung dịch CaCl₂ (5,025 mg CaCl₂/mL nước) vào hỗn hợp trên, tiếp tục khuấy thêm 60 phút (tốc độ 1200 vòng/phút), dung dịch có dạng gel, màu trắng. Mẫu này được để ổn định qua đêm, rồi tách ly tâm lần đầu để loại bỏ những hóa chất còn dư lẫn trong mẫu. Sau đó, đem rửa lại với nước khử ion 3 lần, mỗi lần ly tâm trong 10 phút, tốc độ 4000 vòng/phút.

Để xác định hiệu suất tạo phức đối với Artesunate, tiến hành phân tích dung dịch nước rửa sau ly tâm của quy trình trên bằng thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC-Agilent 1100 series). Hàm lượng Artesunate trong nước ly tâm được xác định bằng phương pháp thiết lập đường chuẩn. Hiệu suất mang thuốc được tính theo công thức:

$$H(tp) = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\%$$

Trong đó: m₁ là khối lượng Artesunate đem tạo phức; m₂ là khối lượng Artesunate trong nước ly tâm.

Hình thái học của phức được xác định bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM- JEOL-JSM-7401F), kích thước hạt được xác định bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM-JEM-1400). Chứng minh sự có mặt của anastrozole trong phức dựa vào việc phân tích phổ hồng ngoại IR-Equinox 55-Bruker (Đức).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ HPCD/Alginate đến hiệu suất tổng hợp nano

Ảnh hưởng của tỷ lệ HPCD/Alginate đến hiệu suất tổng hợp nano được mô tả trong Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ HPCD/Alginate đến hiệu suất tổng hợp nano

Tỷ lệ HPCD:alginate	Thời gian (phút)	Tốc độ khuấy (vòng/phút)	Hiệu suất (%)			H. TB (%)
			Lần 1	Lần 2	Lần 3	
1:1	60	1200	57,65	57,65	60,77	58,69
1:5			74,07	75,95	76,27	75,43
1:8			91,65	88,84	91,65	90,71
1:10			86,21	82,50	88,52	85,74

Hiệu suất nano thu được đạt mức tối đa ở tỷ lệ 1:8. Điều này được giải thích là do lượng alginate chưa đủ để kết hợp với HPCD tạo thành sản phẩm ở các tỷ lệ 1:1 và 1:5. Ở tỷ lệ 1:8 lượng HPCD và alginate được sử dụng vừa đủ để kết hợp với nhau tạo thành sản phẩm. Trái lại, lượng alginate đã sử dụng vượt quá so với HPCD ở tỷ lệ 1:10.

3.2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng Artesunate đến hiệu quả tạo phức

Ảnh hưởng của hàm lượng Artesunate đến hiệu quả tạo phức được mô tả trong Bảng 3.

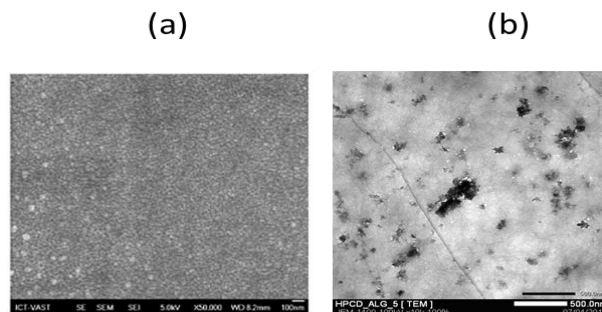
Bảng 3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng Artesunate đến hiệu quả tạo phức

Hàm lượng artesunate (%)	Tỷ lệ HPCD:alginate	Hiệu suất (%)			H. TB (%)
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	
5	1:8	82,55	79,97	79,97	80,83
10		88,89	87,55	87,55	88,00
12		86,55	85,00	86,55	86,03
15		82,43	81,11	81,00	81,51

Với tỷ lệ HPCD:alginate bằng 1:8 khi tăng dần hàm lượng artesunate từ 5% - 10% thì hiệu suất sản phẩm tăng. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng hàm lượng artesunate lên đến 15% thì nano tổng hợp được chứa các thành phần không đồng nhất và hiệu suất không tăng mà lại giảm.

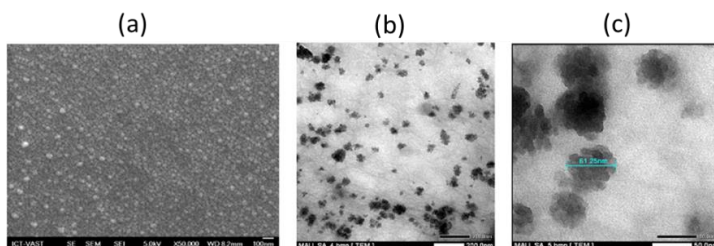
3.3. Hình thái sản phẩm

Kết quả khảo sát hình thái học cho thấy các hạt nano HPCD/Alginate thu được có kích thước khá đồng đều từ 50 - 80 nm. Hình 3 là kết quả khảo sát hình ảnh SEM (a) và TEM (b) của mẫu nano thu được tại điều kiện tối ưu. Kích thước hoàn toàn phù hợp với ứng dụng làm vật liệu mang thuốc.



Hình 3. Ảnh SEM (a) TEM (bx1000) của nano HPCD/Alginate

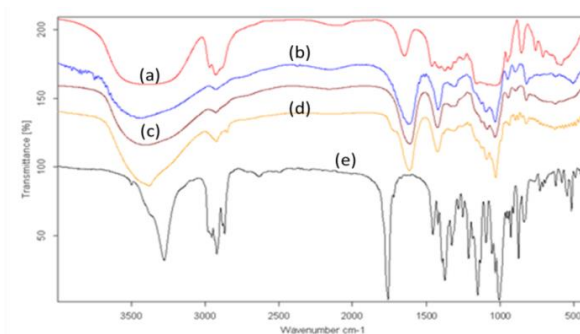
Kết quả hình thái học của phức nano HPCD/Alginate/Artesunate có kích thước đồng đều hơn trong khoảng 60 - 75 nm (Hình 4).



Hình 4. Ảnh SEM (a) và TEM (b) và TEM (c) của phức nano HPCD/Alginate/Artesunate

3.4. Các phổ hồng ngoại

Các phổ IR của Alginate, HPCD và nanoparticle HPCD/alginate được mô tả trên Hình 5.



Hình 5. Phổ IR của Alginate (a), HPCD (b), nano HPCD/alginate (c), nano HPCD/alginate/artesunate (d), Artesunate (e)

Kết quả phổ IR của nano HPCD-alginate-artesunate (Hình 5) cho thấy mũi dao động $C = O$ của nhóm acid có tần số là 1611 cm^{-1} . Như vậy, mũi dao động $C = O$ của nhóm acid dịch chuyển từ 1611 cm^{-1} đến 1756 cm^{-1} (khoảng 145 cm^{-1}). Bên cạnh đó, mũi dao động của nhóm peroxide lần lượt là 938 cm^{-1} và 895 cm^{-1} . Như vậy mũi dao động của nhóm peroxide đã dịch chuyển từ 938 cm^{-1} đến 942 cm^{-1} (khoảng 4 cm^{-1}), từ 873 cm^{-1} đến 895 cm^{-1} (khoảng 22 cm^{-1}). Do trong phân tử artesunate có nhóm $C = O$ của acid và nhóm peroxide đều là nhóm rút điện tử nhưng nhóm $C = O$ rút điện tử mạnh hơn nhóm peroxide nên làm cho độ dịch chuyển của nó nhiều hơn so với nhóm peroxide. Điều đó chứng minh rằng artesunate đã đi vào mạng lưới polymer của nano HPCD-alginate.

4. KẾT LUẬN

Tổng hợp thành công một hệ nano mới trên nền HPCD/Alginate bằng phương pháp gelat ionotrophic. Ảnh hưởng của tỷ lệ HPCD:Alginate đến hiệu suất tổng hợp nano đã được khảo sát, hiệu suất đạt cực đại là 90,71% ứng với tỷ lệ HPCD:ALG bằng 1:8.

Hiệu quả sử dụng của vật liệu được khẳng định bằng việc tạo phức với một loại dược chất kém tan Artesunate. Kết quả cho thấy độ tan của dược chất được cải thiện rõ rệt, kích thước hạt thu được bé hơn 100 nm phù hợp với kích thước điển hình của các đơn vị chức năng trong cơ thể sống, do đó cho phép chúng tương tác hiệu quả với các phân tử sinh học, tăng sinh khả dụng của thuốc.

Hiệu suất tổng hợp nano và hiệu quả tạo phức với dược chất có thể điều chỉnh bằng sự kiểm soát tỷ lệ hàm lượng các chất phản ứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kiparissides C., Kammona O. - Nanoscale carriers for targeted delivery of drugs and therapeutic biomolecules, *The Canadian Journal of Chemical Engineering* **91** (4) (2013) 638-651.
2. Thanh Danh Nguyen *et al.* - Synthesis and Characterization of β -cyclodextrin/alginate nanoparticle as a novel drug delivery system, *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly* **29** (3) (2015) 429-435.
3. R. Arun *et al.* - Cyclodextrins as drug carrier molecule: A Review, *Scientia Pharmaceutica* **76** (2008) 567-598.
4. Loftsson T., Brewster M. E., Masson M. - Role of cyclodextrins in improving oral drug delivery, *American Journal of Drug Delivery* **2** (4) (2004) 261-275.
5. Paolino D., Fresta M. - Drug delivery systems, *Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation* (2006) 437-495.
6. Martin Del Valle E. M. - Cyclodextrins and their uses: A review, *Process Biochemistry* **39** (9) (2004) 1033-1046.

ABSTRACT

SYNTHESIS OF HYDROXYPROPYL-BETA-CYCLODEXTRIN/ALGINATE NANOPARTICLE AS A NOVEL DRUG DELIVERY SYSTEM

Nguyen Cao Hien*, Tan Van Hau, Le Thi Thanh Van, Vo Tuan Quoc
Ho Chi Minh City University of Food Industry
*Email: hiennc@cntp.edu.vn

The aim of this work was to study a novel nanoparticle system formed from alginate and hydroxypropyl- β -cyclodextrin by ionotropic gelation method and to evaluate their potential for the association and delivery of drugs. The nanoparticles were prepared by electrostatic interactions between Ca^{2+} /alginate gel and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Morphology and structure characterization of nanoparticles was investigated by scanning electron micrographs (SEM), transmission electron microscope (TEM), infrared spectra (IR). The nanoparticle size was about 50 – 80 nm and their structure quite regular and consistent. Atersunate, chosen as a model drug, was incorporated into the nanocarriers with association efficiency of 88 %.

Keywords: Nanoparticle, hydroxypropyl- β -cyclodextrin, alginate, atersunat.