

ĐÁNH GIÁ SỰ GIẢI PHÓNG CURCUMIN CỦA VẬT LIỆU CELLULOSE VI KHUẨN NẠP CURCUMIN ĐỊNH HƯỚNG DÙNG QUA ĐƯỜNG UỐNG

Nguyễn Xuân Thành*

Viện Nghiên cứu Khoa học và Ứng dụng - Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2

TÓM TẮT

Cellulose vi khuẩn (CVK) có nhiều ứng dụng trong lĩnh vực y sinh và các hệ thống phân phối thuốc tiên tiến. CVK tạo ra bởi *Acetobacter xylinum* trong môi trường chuẩn (MTC), nước dừa (MTD) và nước vo gạo (MTG). Curcumin được sử dụng hỗ trợ điều trị và phòng ngừa nhiều bệnh nhưng có những đặc điểm dược động học không thuận lợi. Các kết quả nghiên cứu về tốc độ giải phóng cho thấy, lượng curcumin được giải phóng ra từ CVK nạp curcumin nhanh trong 30 phút đầu, sau đó chậm dần. Curcumin giải phóng từ vật liệu CVK nạp curcumin dày 0,5 cm kéo dài 8 giờ, ở vật liệu dày 1 cm kéo dài đến 12 giờ. Vật liệu CVK nạp curcumin dày 1cm có khả năng giải phóng curcumin chậm hơn của vật liệu CVK nạp curcumin dày 0,5 cm. Curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-MTC nạp curcumin và CVK-MTD nạp curcumin với tốc độ chậm hơn vật liệu CVK-MTG nạp curcumin. Curcumin giải phóng từ các loại vật liệu CVK nạp curcumin đạt giá trị cao nhất ở pH = 6,8 và thấp nhất ở pH = 7,4.

Từ khóa: *Acetobacter xylinum*, cellulose vi khuẩn, đường uống, giải phóng chậm, vật liệu

MỞ ĐẦU

Curcumin có tác dụng sinh học phong phú, được sử dụng hỗ trợ điều trị và phòng ngừa nhiều bệnh như: Bệnh tim mạch, tiểu đường, viêm khớp, bệnh thần kinh,... và đặc biệt trong hỗ trợ điều trị ung thư. Tuy nhiên, curcumin là một hợp chất kỵ nước, độ hoà tan ở pH sinh lý rất thấp, có tốc độ chuyển hoá và thải trừ nhanh, bị thủy phân trong môi trường kiềm và phân huỷ khi gặp ánh sáng, nhiệt độ cao và điều kiện oxi hoá. Khả năng hấp thụ curcumin kém ở ruột có thể do độ tan thấp, ngoài ra còn bị phân huỷ ở pH trung tính hoặc kiềm và bị ảnh hưởng chuyển hóa của các enzyme tiêu hóa [5], [6]. Sun và các cộng sự đã đánh giá các hệ thống phân phối thuốc mới tiềm năng cho curcumin bao gồm các liposome, hạt nano polymer, hạt nano lipid rắn, mixen, nanosuspension, dạng nhũ tương nano,... và cho kết quả triển vọng nhằm cải thiện hoạt động sinh học của curcumin [7]. Vật liệu cellulose tạo ra từ vi khuẩn (CVK) được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực và đáng chú ý nhất được dùng làm hệ thống vận chuyển và phân phối thuốc. Huang và các cộng sự (2013) đã sử dụng vật liệu CVK nạp berberine và

nghiên cứu giải phóng *in vitro* của berberine trong môi trường dạ dày - ruột mô phỏng; các kết quả thu được cho thấy berberine được giải phóng kéo dài từ vật liệu CVK nạp berberine [4]. Nghiên cứu xác định thời gian, môi trường và tỷ lệ curcumin giải phóng từ các vật liệu CVK nạp curcumin nhằm tìm ra vật liệu mang curcumin giải phóng kéo dài và đáp ứng được các yêu cầu về dược động học.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu và trang thiết bị

Chủng vi sinh: Vi khuẩn *Acetobacter xylinum* tạo cellulose được phân lập từ dịch trà xanh lên men và được nuôi cấy tại phòng sạch Vi sinh – Động vật, Viện Nghiên cứu Khoa học và Ứng dụng, Trường ĐHSP Hà Nội 2.

Môi trường nuôi cấy [2], [3]: Môi trường chuẩn (MTC) gồm glucose (20 g), pepton (5 g), diamoni photphat (2,7 g), cao nấm men (5 g), acid citric (1,15 g), nước cất 2 lần (1000 ml). Môi trường nước dừa già (MTD) gồm glucose (20 g), pepton (10 g), diamoni photphat (0,5 g), amoni sulfat (0,5 g), nước dừa già (1000 ml). Môi trường nước vo gạo (MTG) gồm glucose (20 g), pepton (10 g), diamoni photphat (0,5 g), amoni sulfat (0,5 g), nước vo gạo (1000 ml).

Trang thiết bị: Nồi hấp khử trùng (HV-

* Tel: 0912 478845, Email: nguyentuanthanh@hpu2.edu.vn

110/HIRAIAMA - Nhật Bản); máy đo quang phổ UV- Vis 2450 (Shimadru - Nhật Bản); máy đo pH cầm tay (Windaus - Đức); cân phân tích (Sartorius - Thụy Sĩ); cân kỹ thuật (Đức); khuấy từ gia nhiệt (IKA - Đức); máy lắc tròn tốc độ chậm (Orbital Shakergallenkump - Anh); máy lắc (Lab companion, SKF - 2075, Hàn Quốc); bể rửa siêu âm (Thụy Sĩ); tủ sấy, tủ ẩm (Binder - Đức); buồng cấy vô trùng (Haraeus - Đức); máy cất nước hai lần (Anh); tủ lạnh bảo quản mẫu (Ý).

Vật liệu CVK nạp curcumin: CVK tạo ra từ các môi trường nuôi cấy (CVK-MTC, CVK-MTD, CVK-MTG) ở độ dày 0,5 và 1 cm được xử lý tinh sạch trước khi cho hấp thụ curcumin (ở điều kiện: Nồng độ curcumin là 1 mg/ml; thời gian hấp thụ là 120 phút, nhiệt độ hấp thụ 60°C và chế độ lắc 180 vòng/phút) thu được các vật liệu CVK nạp curcumin (CVK-MTC-CUR, CVK-MTD-CUR, CVK-MTG-CUR) để khảo sát khả năng giải phóng thuốc.

Phương pháp chuẩn bị các dung dịch đệm

Thí nghiệm đo curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-CUR được thực hiện trong các dung dịch đệm có pH là 2,0; 6,8; 7,4 [1], [4], [8]. Dung dịch đệm pH = 2,0: Hoà tan 6,57 g kali clorid trong nước, thêm 119 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M và thêm nước vừa đủ 1000 ml, đo pH và hiệu chỉnh pH nếu cần. Dung dịch đệm pH = 6,8: Hoà tan 28,80 g dinatri hydrophosphat và 11,45 g kali dihydrophosphat trong nước vừa đủ 1000 ml, đo pH và hiệu chỉnh pH nếu cần. Dung dịch đệm pH = 7,4: Hoà tan 0,6 g kali dihydrophosphat; 6,4 g dinatri hydrophosphat và 5,85 g natri clorid trong nước vừa đủ 1000 mL, đo pH và hiệu chỉnh pH nếu cần.

Phương pháp đánh giá giải phóng curcumin từ vật liệu CVK nạp curcumin

Lấy vật liệu CVK nạp curcumin (CVK-MTC-CUR, CVK-MTD-CUR, CVK-MTG-CUR) với độ dày 0,5 cm hoặc 1 cm vào các bình chứa 900 ml môi trường pH là 2; 6,8; 7,4 [4], [8]. Dùng máy khuấy từ gia nhiệt, tốc độ khuấy 50 vòng/phút, nhiệt độ 37°C ± 0,5°C.

Sau các khoảng thời gian 0,5 giờ, 1 giờ, 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 8 giờ, 12 giờ, 24 giờ, tiến hành rút mẫu để đo mật độ quang phổ của các mẫu đó. Số lượng mẫu được rút ra sau mỗi khoảng thời gian là 5 ml và được bổ sung lại 5 mL dung dịch đệm tương ứng. Tất cả các thí nghiệm được thực hiện 3 lần để tính toán lấy giá trị trung bình. Tỷ lệ giải phóng curcumin được tính theo công thức: $R(\%) = \frac{C_t \times V_1 + \sum_{i=1}^{t-n-1} C_i \times V_2}{m} \times 100\%$ (1).

Trong công thức (1): R là tỷ lệ giải phóng curcumin; C_t là nồng độ của dung dịch curcumin trong dung dịch tại thời điểm t; V_1 là thể tích của dung dịch đệm tại các giá trị pH khác nhau; n là số lượng mẫu lấy ra từ dung dịch giải phóng; V_2 là thể tích dung dịch đệm thêm vào; m là khối lượng thuốc nạp vào các vật liệu CVK.

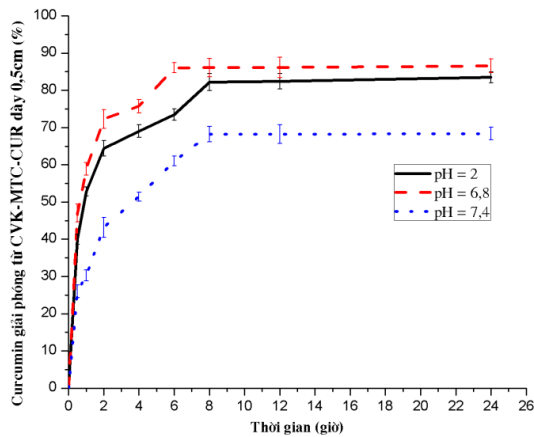
Xử lý thống kê

Các số liệu được phân tích, xử lý thông qua phần mềm Excel 2010 và được biểu diễn dưới dạng số trung bình ± độ lệch chuẩn. Kiểm định giả thiết về giá trị trung bình của hai mẫu bằng cách sử dụng test thống kê. Những khác biệt được coi là có ý nghĩa thống kê khi giá trị $p < 0,05$.

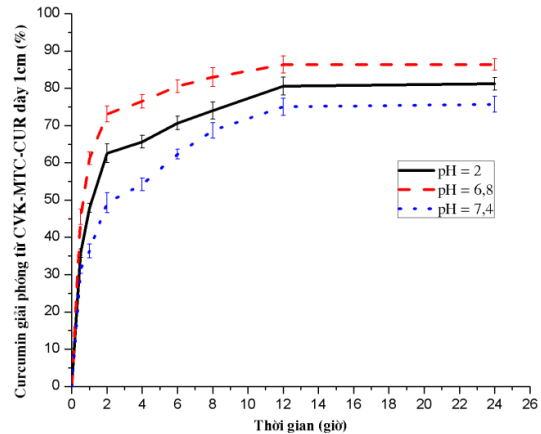
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Xác định tỷ lệ curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-MTC-CUR

Tỷ lệ curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-MTC-CUR dày 0,5 cm và 1 cm trong các môi trường pH khác nhau (Hình 1 và 2) cho thấy tốc độ giải phóng curcumin nhanh từ vật liệu CVK-MTC-CUR trong 0,5 giờ đầu tiên, đạt 45-47% (pH = 6,8), 35-40% (pH = 2) và 26-31% (pH = 7,4). Curcumin giải phóng kéo dài đến 8 giờ ở vật liệu dày 0,5 cm và đạt 86% (pH = 6,8), 82% (pH = 2) và 68% (pH = 7,4). Vật liệu CVK-MTC-CUR dày 1 cm sau 10 giờ giải phóng đạt giá trị cao nhất ở pH = 6,8 (86%), ở các pH khác đạt giá trị thấp hơn. Đồng thời kết quả còn thấy khả năng giải phóng curcumin của vật liệu CVK-MTC-CUR dày 1 cm chậm và kéo dài hơn so với vật liệu dày 0,5 cm.

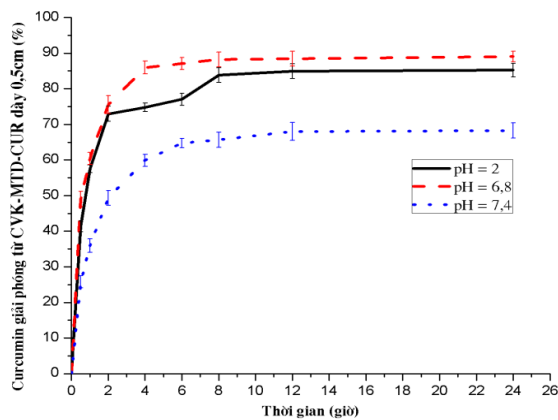


Hình 1. Tỷ lệ curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-MTC-CUR dày 0,5 cm trong các môi trường pH khác nhau (%)

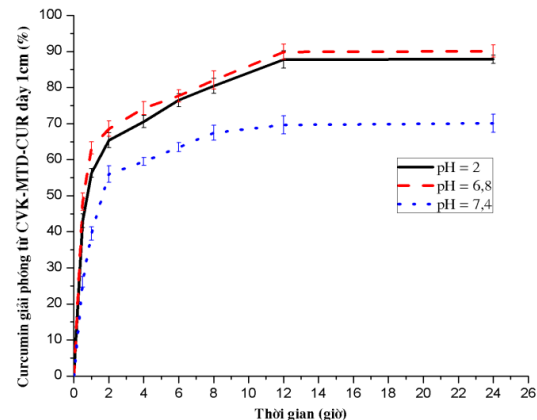


Hình 2. Tỷ lệ curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-MTC-CUR dày 1 cm trong các môi trường pH khác nhau (%)

Xác định tỷ lệ curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-MTD-CUR



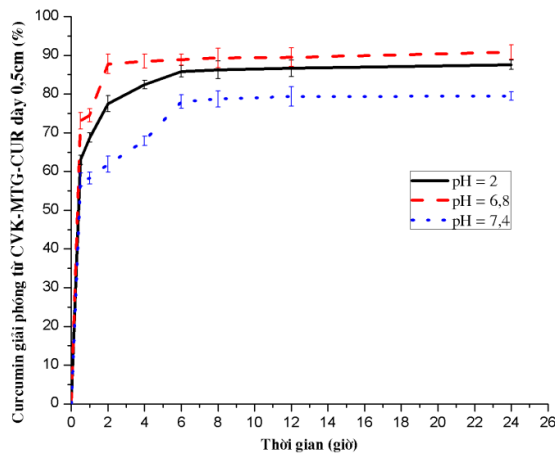
Hình 3. Tỷ lệ curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-MTD-CUR dày 0,5 cm trong các môi trường pH khác nhau (%)



Hình 4. Tỷ lệ curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-MTD-CUR dày 1 cm trong các môi trường pH khác nhau (%)

Kết quả thí nghiệm xác định tỷ lệ curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-MTD-CUR dày 0,5 và 1 cm trong các môi trường pH khác nhau cho thấy tốc độ giải phóng curcumin nhanh từ vật liệu CVK-MTD-CUR trong 0,5 giờ đầu tiên; đạt 48 - 49% (pH = 6,8), 41 - 43% (pH = 2) và 25 - 26% (pH = 7,4). Curcumin giải phóng kéo dài đến 8 giờ ở vật liệu dày 0,5 cm và đạt 88% (pH = 6,8), 83% (pH = 2) và 65% (pH = 7,4). Vật liệu CVK-MTD-CUR dày 1 cm sau 10 giờ giải phóng curcumin đạt giá trị cao nhất ở pH = 6,8 (89%), ở các pH khác đạt giá trị thấp hơn. Kết quả còn thấy khả năng giải phóng curcumin của vật liệu CVK-MTD-CUR dày 1 cm chậm và kéo dài hơn so với vật liệu dày 0,5 cm (Hình 3 và 4).

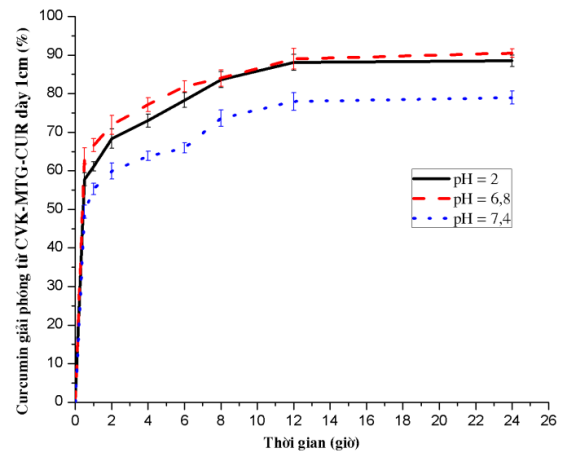
Xác định tỷ lệ curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-MTG-CUR



Hình 5. Tỷ lệ curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-MTG-CUR dày 0,5 cm trong các môi trường pH khác nhau (%)

Thí nghiệm xác định tỷ lệ thuốc curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-MTG-CUR dày 0,5 và 1 cm trong các môi trường pH khác nhau cho thấy tốc độ giải phóng curcumin nhanh từ vật liệu CVK-MTG-CUR trong 0,5 giờ đầu tiên; đạt 63-73% (pH = 6,8), 57-62% (pH = 2) và 49-57% (pH = 7,4). Curcumin giải phóng kéo dài đến 8 giờ ở vật liệu dày 0,5 cm và đạt 89% (pH = 6,8), 86% (pH = 2) và 78% (pH = 7,4). Vật liệu CVK-MTG-CUR dày 1 cm sau 10 giờ giải phóng đạt giá trị cao nhất ở pH = 6,8 (89%), ở các pH khác đạt giá trị thấp hơn. Kết quả còn thấy khả năng giải phóng của vật liệu CVK-MTG-CUR dày 1 cm chậm và kéo dài hơn so với vật liệu dày 0,5 cm (Hình 5 và 6).

Kết quả ở các Hình từ 1 đến 6 cho thấy curcumin từ vật liệu CVK-CUR trong các môi trường pH nghiên cứu được giải phóng nhanh trong 0,5 giờ đầu tiên. Curcumin từ vật liệu CVK-CUR dày 0,5 cm giải phóng kéo dài trong 8 giờ chậm hơn so với curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-CUR dày 1 cm (12 giờ). Curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-MTG-CUR và CVK-MTD-CUR với tốc độ chậm hơn vật liệu CVK-MTG-CUR. Curcumin giải phóng từ các loại vật liệu CVK-CUR đạt giá trị cao nhất ở pH = 6,8 và thấp nhất ở pH = 7,4, trung bình ở pH = 2. Kết quả nghiên cứu của Priya và các cộng sự



Hình 6. Tỷ lệ curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-MTG-CUR dày 1 cm trong các môi trường pH khác nhau (%)

trên vật liệu khác nạp CUR cho thấy: Sau 5, 12, 48 giờ curcumin giải phóng đạt giá trị cao nhất ở pH = 6,8, thấp nhất ở pH = 7,4 và trung bình ở pH = 4,5 [6]. Ngoài ra, Huang và các cộng sự đã sử dụng màng CVK lên men từ vi khuẩn *Gluconacetobacter xylinum* trong môi trường chuẩn (Hestrin-Schramm) dùng cho vận chuyển và giải phóng berberine *in vitro* [4]. Thí nghiệm nghiên cứu sự giải phóng berberine của CVK nạp berberine được thử nghiệm trong điều kiện mô phỏng ở dạ dày và ruột. Các kết quả thu được cho thấy berberine đã được giải phóng từ CVK nạp berberine với một tốc độ chậm trong pH thấp, trung bình trong điều kiện kiềm và tỷ lệ giải phóng nhanh nhất đã được quan sát với điều kiện gần như trung tính.

KẾT LUẬN

Curcumin giải phóng nhanh từ các vật liệu CVK nạp curcumin trong 30 phút đầu, sau đó chậm dần. Curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-CUR dày 0,5 cm kéo dài 8 giờ, ở vật liệu dày 1 cm kéo dài đến 12 giờ. Vật liệu CVK nạp curcumin dày 1 cm có khả năng giải phóng curcumin chậm hơn của vật liệu CVK nạp curcumin dày 0,5 cm. Curcumin giải phóng từ vật liệu CVK-MTG-CUR và CVK-MTD-CUR với tốc độ chậm hơn vật liệu CVK-MTG-CUR. Curcumin giải phóng từ các loại

vật liệu CVK nạp curcumin đạt giá trị cao nhất ở pH = 6,8 và thấp nhất ở pH = 7,4.

LỜI CẢM ƠN

Kết quả nghiên cứu này được tài trợ kinh phí từ đề tài KHCN cấp Bộ, mã số: B2017-SP2-09. Xin trân trọng cảm ơn các thành viên đề tài đã đóng góp thực hiện các nội dung nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2009), *Dược điển Việt Nam IV*, Nxb Hà Nội.
2. Phan Phan Thị Huyền Vy, Bùi Minh Thy, Phùng Thị Kim Huệ, Nguyễn Xuân Thành, Triệu Nguyên Trung (2018), “Tối ưu hóa hiệu suất nạp thuốc famotidin của vật liệu cellulose vi khuẩn lên men từ dịch trà xanh theo phương pháp đáp ứng bề mặt và mô hình Box-Behnken”, *Tạp chí Dược học*, 501, tr. 3-6.
3. Hestrin S., Schramm M. (1954), “Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*, 2. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose”, *Biochem J.*, 58(2), pp. 345-352.
4. Huang L., Chen X., Nguyen Xuan Thanh, Tang H., Zhang L., Yang G. (2013), “Nano-cellulose

3D-networks as controlled-release drug carriers”, *Journal of Materials Chemistry B (Materials for biology and medicine)*, 1, pp. 2976-2984

5. Pandey M. K., Kumar S., Thimmulappa R. K., Parmar V. S., Biswal S., Watterson A. C. (2011), “Design, synthesis and evaluation of novel PEGylated curcumin analogs as potent Nrf2 activators in human bronchial epithelial cells”, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 43(1-2), pp. 16-24.

6. Priya P., Mohan R. R., Vasanthakumar V., Raj V. (2017), “Curcumin-loaded layer-by-layer folic acid and casein coated carboxymethyl cellulose/casein nanogels for treatment of skin cancer”, *Arabian Journal of Chemistry*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.07.010>.

7. Sun M., Su X., Ding B., He X., Liu X., Yu A., Lou H., Zhai G., (2012), “Advances in nanotechnology-based delivery systems for curcumin”, *Nanomedicine (Lond)*, 7(7), pp. 1085-1100.

8. Nguyen Xuan Thanh, Huang L., Liu L., Abdalla A. M. E., Gauthier M., and Yang G. (2014), “Chitosan-coated nano-liposomes for the oral delivery of berberine hydrochloride”, *Journal of Materials Chemistry B (Materials for biology and medicine)*, 2, pp. 7149-7159.

SUMMARY

EVALUATION OF THE CURCUMIN RELEASE OF CURCUMIN LOADED BACTERIAL CELLULOSE MATERIALS USING FOR ORAL ADMINISTRATION

Nguyen Xuan Thanh*

Institute of Scientific Research and Applications (ISA) - Hanoi Pedagogical University 2

Bacterial cellulose (BC) has various applications in the biomedical fields and advanced drug delivery systems. BC is produced by *Acetobacter xylinum* in the standard medium (STM), coconut medium (COM) and rice medium (RIM). Curcumin is used to support the treatment and prevention of many diseases, but has poor pharmacodynamic properties. The results show that curcumin release rate of curcumin loaded BC materials is fast in the first 30 minutes and later slow. Curcumin release from 0.5 cm thickness curcumin loaded BC materials last up to 8 hours, while 1 cm thickness curcumin loaded BC materials last up to 12 hours. The 1 cm thickness curcumin loaded BC materials are able to release the curcumin much slower than the 0.5 cm thickness curcumin loaded BC materials. Curcumin is released from curcumin loaded BC-STM and curcumin loaded BC-COM at a slower rate than the curcumin loaded BC-RIM material. Curcumin is released from curcumin loaded BC materials reached the highest value of pH 6.8 and lowest at pH 7.4.

Keywords: *Acetobacter xylinum, bacterial cellulose, delayed release, material, oral administration*

Ngày nhận bài: 27/4/2018; **Ngày phản biện:** 24/5/2018; **Ngày duyệt đăng:** 31/7/2018

* Tel: 0912 478845, Email: nguyensexuanthanh@hpu2.edu.vn