

LỰA CHỌN CÔNG THỨC TỐI ƯU CHO NANO NHŨ TƯƠNG CHỨA CURCUMIN

Nguyễn Duy Thư*, Nguyễn Thu Quỳnh, Bùi Thị Thanh Cham,
Bùi Thị Luyến, Phạm Hiền Giang, Bùi Hồng Việt
Trường Đại học Y Dược - ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Curcumin là hoạt chất thiên nhiên có tác dụng chống viêm, ức chế sự phát triển của tế bào ung thư nhưng ít tan nên sinh khả dụng thấp khi uống. Với ưu điểm dễ bào chế, ổn định hơn và kích thước nhỏ, nano nhũ tương chứa curcumin có thể thâm qua niêm mạc tiêu hóa và tăng sinh khả dụng. Trên cơ sở kết quả đánh giá một số yếu tố ảnh hưởng tới kích thước tiểu phân và độ ổn định, nghiên cứu tiếp tục sử dụng phần mềm Modde và Inform nhằm mục tiêu lựa chọn công thức tối ưu cho nano nhũ tương chứa curcumin. Nano nhũ tương chứa curcumin được bào chế bằng phương pháp nhũ hóa với sự hỗ trợ của kỹ thuật siêu âm kết hợp đồng nhất hóa. Đánh giá độ ổn định và kích thước tiểu phân bằng phương pháp hiển vi. Kết quả cho thấy kích thước tiểu phân của nano nhũ tương bị thay đổi rõ rệt khi thay đổi lượng Tween 80, nhưng không ảnh hưởng bởi lượng polyethylen glycol 400, mà PEG 400 chỉ chủ yếu ảnh hưởng đến độ ổn định của nano nhũ tương. Từ đó, công thức nano nhũ tương chứa curcumin đã được tối ưu và lựa chọn.

Từ khóa: *Dược học; nano nhũ tương; curcumin; tween; tối ưu.*

Ngày nhận bài: 27/12/2019; Ngày hoàn thiện: 13/01/2020; Ngày đăng: 11/6/2020

SELECTION OF OPTIMIZED NANO EMULSION FORMULATION CONTAINING CURCUMINE

Nguyen Duy Thu*, Nguyen Thu Quynh, Bui Thi Thanh Cham,
Bui Thi Luyen, Pham Hien Giang, Bui Hong Viet
TNU - University of Medicine and Pharmacy

ABSTRACT

Curcumin is a natural active composition used for effection and cancer, however, it has low bioavailability because of its dissolution in water in oral route, with its advantages that are easier to prepare, more stable, and small size of droplet, the nanoemulsion easily go through intestinal walls into blood and the bioavailability of curcumin in oral route could be improved. Base on recent results of the effective factors on droplet sizes of nanoemulsion, MODDE and Inform were used to optimize the formulation of curcumin nanoemulsion. Nanoemulsion comprising curcumin was prepared with an emulsion method with supporting high-speed homogenizer and ultrasound waves. The size of droplets and stability were evaluated by the micro crops method. The results showed that drops size of nanoemulsion was clearly affected by the amount of Tween 80 but not by amount of polyethylene glycol 400 that had almost effected on stability. So that the formulation of nanoemulsion containing curcumin was optimized and chosen.

Keywords: *Pharmacy; nano emulsion; curcumine; tween; optimization.*

Received: 27/12/2019; Revised: 13/01/2020; Published: 11/6/2020

* Corresponding author. Email: ndthu2008@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Curcumin là hoạt chất nguồn gốc thiên nhiên có tác dụng chống viêm, ức chế sự phát triển của tế bào ung thư nhưng vì ít tan nên sinh khả dụng thấp khi uống [1]. Để làm tăng sinh khả dụng của curcumin đường uống cần làm tăng độ tan, tăng tính thấm của curcumin qua đường tiêu hóa [2]. Với ưu điểm dễ bào chế, ổn định hơn và kích thước nhỏ, nano nhũ tương chứa curcumin có thể thấm qua niêm mạc tiêu hóa và tăng sinh khả dụng [3]-[5]. Từ kết quả nghiên cứu đánh giá của một số yếu tố ảnh hưởng tới phân bố kích thước tiểu phân (KTTP) và độ ổn định (DOD) của nano nhũ tương. Nghiên cứu tiếp tục sử dụng phần mềm Modde và Inform nhằm mục tiêu lựa chọn công thức tối ưu cho nano nhũ tương chứa curcumin.

2. Đối tượng, phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên vật liệu, thiết bị

Nguyên liệu, tá dược: Curcumin, dầu, nước, Tween 80, Span 80, natri laurylsulfat (NaLS), glycerin, polyethylen glycol (PEG) 400... dùng trong đạt tiêu chuẩn dược dụng.

Thiết bị, dụng cụ: Máy siêu âm, cốc thủy tinh, kính hiển vi, máy đồng nhất hóa Ultra-turrax T25 IKA, máy quang phổ UV - Vis.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp bào chế

Nhũ tương nano chứa curcumin được bào chế bằng phương pháp nhũ hóa trực tiếp với hỗ trợ của siêu âm và đồng nhất hóa.

Chuẩn bị pha dầu, pha nước: Hòa tan dược chất, tá dược trong pha dầu, đun nóng đến 60°C. Hòa tan các tá dược nhũ hóa và các chất phụ tan trong nước, đun nóng đến 70°C. Phối hợp hai pha, tác động lực gây phân tán sử dụng máy đồng nhất hóa ở tốc độ 13000 vòng/phút để tạo thành nhũ tương thô dầu/nước (D/N).

Bào chế nano bằng cách siêu âm ở các tần số 40 Hz trong khoảng thời gian 3-15 phút. Đồng nhất hóa kích thước nano nhũ tương

bằng máy đồng nhất hóa Ultra-turrax T25 IKA ở 14000 vòng/phút trong 2 phút ở 25°C. Bảo quản trong lọ thủy tinh, nắp kín ở nhiệt độ phòng. Thời gian làm việc và thời gian nghỉ để siêu âm được đặt là 5 s và 7 s để chống quá nhiệt. Tuần hoàn nước lạnh qua bể chứa giúp ổn định nhiệt độ mẫu từ 40 - 45 độ.

Phương pháp đánh giá

- Đánh giá kích thước tiểu phân

Sản phẩm nano nhũ tương được đánh giá về hình dạng và KTTP trung bình bằng phương pháp kính hiển vi sử dụng kính hiển vi điện tử Olympus với vật kính dầu 100. Kích thước tiểu phân nhũ tương được đo trên vi trường và tính trung bình.

- *Đánh giá độ ổn định*: Bảo quản khoảng 15 ml nano nhũ tương trong lọ thủy tinh kín ở 25°C. Đánh giá hình dạng và KTTP nano nhũ tương ở các thời gian xác định bằng cách quan sát trên kính hiển vi điện tử Olympus trên vật kính dầu 100. Xác định độ ổn định là khoảng thời gian (ngày) khi nano nhũ tương đã có sự thay đổi về kích thước so với thời điểm ban đầu.

- *Hàm lượng curcumin*: sử dụng phương pháp quang phổ UV-VIS để định lượng curcumin trong sản phẩm ở bước sóng 460 nm.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Thiết kế thí nghiệm

Công thức nano được thiết kế như sau:

Curcumin	0,5%
Dầu đậu nành	1%
Tween 80	Thay đổi
PEG 400	Thay đổi
Na LS	Thay đổi
Nước vđ	100ml

Biến đầu vào trong thiết kế thí nghiệm tối ưu hoá nhũ tương chứa curcumin như ở bảng 1.

Bảng 1. Biến độc lập và khoảng biến thiên

Biến độc lập	Ký hiệu	Mức thấp	Mức cao
Tween 80 (%)	X ₁	1	3
PEG 400 (%)	X ₂	2,5	7,5
Na LS (%)	X ₃	0,25	0,75

Biến phụ thuộc (biến đầu ra):

- Kích thước nano nhũ tương trung bình (Y_1): $Y_1 \leq 270$ nm.

- Độ ổn định của nhũ tương (Y_2): $Y_2 \rightarrow \max$ (ngày).

Ma trận thí nghiệm được thiết kế bằng phần mềm Modde gồm 11 thí nghiệm được trình bày trong bảng 2. Các công thức (CT) nano nhũ tương chứa curcumin được bào chế và đánh giá 1 số chỉ tiêu chất lượng của nano nhũ tương. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ma trận thí nghiệm và biến phụ thuộc

CT	X_1 (%)	X_2 (%)	X_3 (%)	Y_1 (nm)	Y_2 (ngày)
CT1	1	2.5	0.25	385.1	18.7
CT2	3	2.5	0.25	266.7	26.5
CT3	1	7.5	0.25	350.9	33.6
CT4	3	7.5	0.25	270.2	30.1
CT5	1	2.5	0.75	361.6	22.6
CT6	3	2.5	0.75	257.2	32.5
CT7	1	7.5	0.75	336.0	28.4
CT8	3	7.5	0.75	241.5	44.6
CT9	2	5	0.5	242.4	40.5
CT10	2	5	0.5	248.1	41.7
CT11	2	5	0.5	256.2	43.0

3.2. Phân tích quy luật của thí nghiệm

Dữ liệu thực nghiệm của 11 công thức nano nhũ tương chứa curcumin được xử lý bằng phần mềm Form Rules nhằm phân tích chiều hướng ảnh hưởng của biến đầu vào đối với

các biến đầu ra và sau đó công thức được tối ưu bằng phần mềm Inform. Dữ liệu được đánh giá cho kết quả giá trị R^2 như trong bảng dưới đây:

Bảng 3. Giá trị R^2

	KTTP	DOD
R^2	99,29	99,58

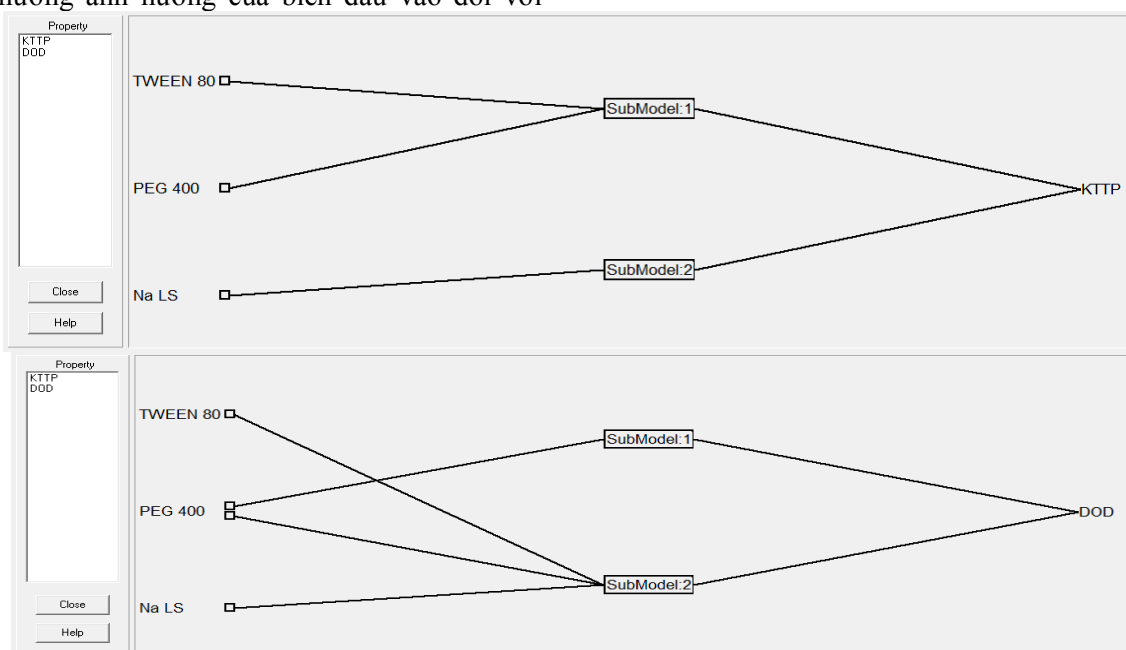
Tất cả $R^2 > 80$ cho thấy các biến đầu vào có mối tương quan chặt chẽ với các biến đầu ra.

Phân tích quy luật tác động

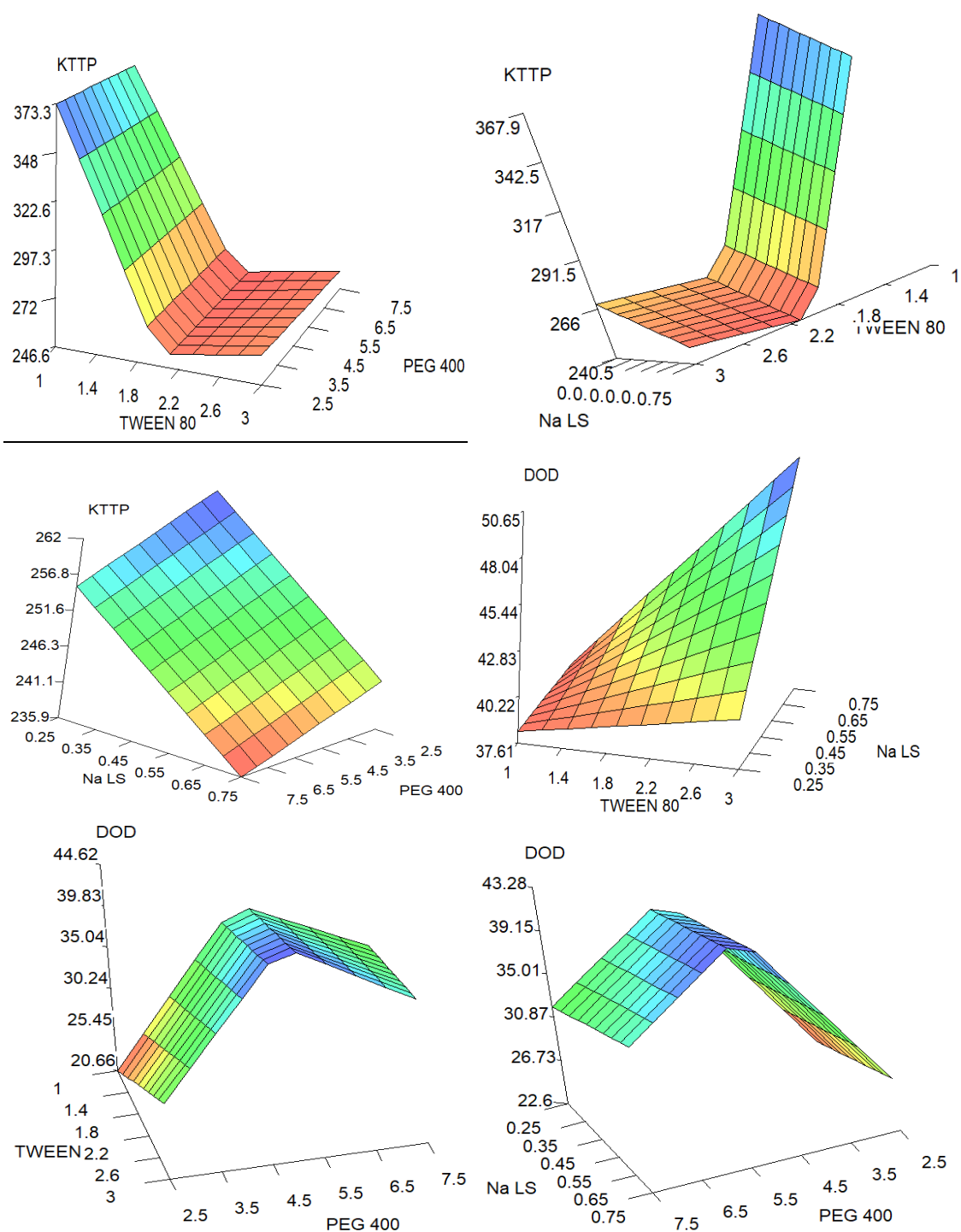
Theo kết quả từ phần mềm Form Rules (hình 1a) cho thấy: kích thước tiểu phân và độ ổn định đều bị ảnh hưởng bởi tất cả các biến đầu vào, tuy nhiên với mức độ khác nhau. Trong đó, X_1 cho thấy ảnh hưởng mạnh nhất đến Y_1 . Y_2 bị thay đổi nhiều nhất bởi X_2 .

Phân tích mặt đáp

Kết quả ở các hình 1a và b cho thấy: So với các biến đầu vào ảnh hưởng của lượng Tween 80 là rõ rệt nhất tới KTTP. KTTP giảm nhanh từ 373,3 nm xuống dưới 250 khi lượng Tween 80 tăng từ 1 lên 2%, tuy nhiên khi tiếp tục tăng lên 3% thì KTTP không thay đổi đáng kể. DOD chủ yếu bị ảnh hưởng bởi lượng PEG 400 mặc dù PEG ít ảnh hưởng đến KTTP của nano nhũ tương. KTTP và DOD ít bị ảnh hưởng khi thay đổi lượng NaLS.



Hình 1a. Quy luật ảnh hưởng giữa biến đầu vào và biến đầu ra



Hình 1b. Biểu đồ 3D mô tả mối liên quan giữa biến đầu vào và biến đầu ra

3.3. Lựa chọn công thức tối ưu

Công thức của nano nhũ tương chứa curcumin được tối ưu sử dụng phần mềm Inform như sau:

Curcumin	0.5%
Dầu đậu nành	1%
Tween 80	2,29%
PEG 400	7,11%
Na LS	0,49%
Nước vđ	100ml

Kết quả đầu ra của công thức tối ưu được dự đoán như trong bảng 4.

Bảng 4. Kết quả đầu ra công thức tối ưu

<i>Biến đầu ra</i>	<i>Y₁</i>	<i>Y₂</i>
<i>Kết quả</i>	240,50	44,33

Tiến hành bào chế thử 3 lần, mỗi lần 1000 ml theo công thức tối ưu. Sản phẩm thu được tiếp tục được đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng, kết quả như trong bảng 5.

Bảng 5. Đánh giá công thức tối ưu

<i>Tên chỉ tiêu</i>	<i>Lô 1</i>	<i>Lô 2</i>	<i>Lô 3</i>
KTTP (nm)	238,5 ±1,4	244,1 ± 2,2	241,0 ± 2,3
DOD (ngày)	43,68 ± 2.7	42,17 ± 1.8	44,16 ± 2.0

Kết quả trên cho thấy kết quả tương đồng với kết quả của phần mềm đã dự đoán chứng tỏ phép tối ưu hóa trên bộ dữ liệu các công thức tiến hành có độ tin cậy cao.

4. Kết luận

Kết quả thực nghiệm cho thấy kích thước tiểu phân của nano nhũ tương bị thay đổi rõ rệt khi thay đổi lượng Tween 80, nhưng không ảnh hưởng bởi lượng polyethylen glycol 400, mà PEG 400 chỉ chủ yếu ảnh hưởng đến độ ổn định của nano nhũ tương. Kích thước tiểu phân và độ ổn định ít bị thay đổi khi thay đổi lượng natri laurylsulfat. Từ đó, công thức nano nhũ tương chứa curcumin đã được tối ưu và lựa chọn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1]. R. A. Sharma, A. J. Gescher, and W. P. Steward, "Curcumin: The story so far," *European Journal of Cancer*, vol. 41, no. 13, pp. 1955-1968, 2005.
- [2]. P. Anand, A. B. Kunnumakkara, and R. A. Newman, "Bioavailability of curcumin: problems and promises," *Molecular pharmaceutics*, vol. 4, no. 6, pp. 807-818, 2007.
- [3]. C. S. Beevers, and S. Huang, "Pharmacological and clinical properties of curcumin," *Botanics: Targets and Therapy*, vol. 1, pp. 5-18, 2011.
- [4]. Q. Huang, H. Yu, and Q. Ru, "Bioavailability and delivery of nutraceuticals using nanotechnology," *Journal of Food Science*, vol. 75, pp. 50-57, 2011.
- [5]. A. Kumar, A. Ahuja, and J. Ali, "Curcumin-loaded lipid nanocarrier for improving bioavailability. stability and cytotoxicity against malignant glioma cells," *Drug Delivery*, vol. 23, no. 1, pp. 214-229, 2014.