

ẢNH HƯỞNG CỦA HÀM LƯỢNG ANASTROZOLE LÊN CÁC ĐẶC TRƯNG CỦA HỆ NANO 2-HYDROXYPROPYL- β -CYCLODEXTRIN/ALGINATE

Nguyễn Cao Hiền^{1,*}, Nguyễn Thanh Danh²,
Nguyễn Thị Hà¹, Trần Thị Minh Thu¹

¹Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

²Viện Công nghệ Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học Việt Nam

*Email: hiennc@cntp.edu.vn

Ngày nhận bài: 05/8/2018; Ngày chấp nhận đăng: 15/11/2018

TÓM TẮT

Vật liệu nano được tổng hợp trên cơ sở 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPCD) và alginate. Hiệu quả mang thuốc của vật liệu được thử nghiệm đối với thuốc trị ung thư vú anastrozole, một số đặc tính hóa lý của nanocomposite đã được nghiên cứu. Các hạt nano được tạo thành bằng phương pháp tạo gel dựa trên tương tác tĩnh điện của hệ Ca^{2+} /alginate và HPCD. Nghiên cứu cho thấy hàm lượng anastrozole ảnh hưởng không chỉ đến hiệu suất tổng hợp mà cả lên các đặc trưng hóa lý như kích thước hạt, độ hấp thu và tính chất nhiệt của sản phẩm. Kết quả nghiên cứu chỉ ra ở hàm lượng 5% anastrozole các hạt nano thu được có hình dạng, kích thước và sự phân bố khá đồng đều, kích thước trung bình khoảng 37-40 nm.

Từ khóa: Alginate, anastrozole, gelation, hydroxypropyl- β -cyclodextrin, nanocomposite.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tổng hợp các hạt nano từ polyme phân hủy sinh học làm vật liệu mang thuốc nhằm cải thiện tốc độ hòa tan, kiểm soát tốc độ giải phóng dược chất và tăng sinh khả dụng của thuốc đang thu hút sự quan tâm lớn từ các nhà hóa học [1]. Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng các polyme tổng hợp như polyglycolic acid, polylactide và copolymer của chúng mặc dù có khả năng tự phân hủy sinh học nhưng không phải là vật liệu lý tưởng bởi tính kỵ nước mạnh và khả năng tương hợp sinh học không cao, hơn nữa các dung môi hữu cơ sử dụng trong quá trình tổng hợp chúng có thể làm giảm hoạt tính sinh học của thuốc. Các polyme phân hủy sinh học có nguồn gốc tự nhiên như cyclodextrin, alginate và dẫn xuất của chúng tỏ ra hữu hiệu hơn do đáp ứng được các yêu cầu của vật liệu mang thuốc [1,2].

HPCD (2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin) là dẫn xuất của β -cyclodextrin thuộc họ oligosaccharide vòng với lỗ hồng trung tâm ưa chất béo và bề mặt ngoài ưa nước [2]. Đặc trưng quan trọng của β -cyclodextrin là có khả năng tạo phức chất, các thành phần lồng vào nhau ở trạng thái dung dịch và rắn theo kiểu chủ thể- khách thể. Tuy nhiên, các phân tử này phải có kích thước tương thích với lỗ hồng bên trong của cyclodextrin để tạo thành một phức chất ổn định [3,4].

Alginate là một polysaccharide khá phổ biến trong tự nhiên (trong thành tế bào của tảo nâu, rong biển). Anionalginate bao gồm một chuỗi các liên kết (1-4) giữa β -D-mannuronic acid và α -L-guluronic acid trong sự sắp xếp của lượng dư uronic acid. Với các khả năng kết dính, tự phân hủy và tương hợp sinh học cao, alginate trở thành nguyên liệu tiềm năng cho

nhiều ứng dụng dược phẩm và y sinh [5]. Các vi hạt với kích thước micro hoặc nano có thể thu được dễ dàng bằng việc kích thích quá trình tạo gel giữa alginate và các ion canxi [6, 7].

Nghiên cứu trước đây cho thấy các hạt nano cyclodextrin/alginate có thể được tạo thành bởi tương tác tĩnh điện theo cơ chế tạo phức đa ion (polyelectrolyte complexes) [8]. Trong đó, alginate đóng vai trò tạo gel và ổn định độ keo, các hạt hydrogel còn được gọi là gelispheres được hình thành từ sự liên kết ngang giữa dung dịch alginate và các ion Ca^{2+} . Các phân tử thuốc thường được phân phối vào các lớp gelispheres để tạo thành một mạng lưới 3 chiều trước khi các hạt nano nạp thuốc được tạo ra.

Trong nghiên cứu này, một vật liệu mang thuốc mới được phát triển trên nền HPCD/alginate, với mẫu thuốc được lựa chọn là anastrozole, một loại thuốc điều trị ung thư vú. Ảnh hưởng của hàm lượng anastrozole đến hiệu suất mang thuốc và một số đặc trưng hóa lý như kích thước hạt, độ hấp thu, tính chất nhiệt của sản phẩm đã được xem xét.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phương pháp chung tổng hợp hệ nano HPCD/alginate

Nhỏ dung dịch $CaCl_2$ vào dung dịch sodium alginate, khuấy 30 phút trên máy khuấy từ, thu được dung dịch gel trong suốt. Nhỏ từng giọt dung dịch HPCD vào hỗn hợp trên, khuấy thêm 60 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 để loại bỏ những tác nhân dư. Gel sau ly tâm (30 phút, 4000 vòng/phút) được rửa lại với nước khử ion 3 lần. Mẫu được đông khô ở nhiệt độ $-40^\circ C$ trong 20 giờ. Kết quả thu được sản phẩm nano HPCD/alginate là chất bột, màu trắng [8].

2.2. Tổng hợp nano HPCD-alginate-anastrozole

Nhỏ từ từ dung dịch anastrozole (trong dung môi ethanol/nước 1:1) vào dung dịch $CaCl_2$ khuấy 60 phút trên máy khuấy từ (tốc độ 1200 vòng/phút), nhỏ tiếp dung dịch sodium alginate (6 mg/mL) vào hỗn hợp trên, khuấy thêm 60 phút thu được gel không màu. Gel này được để yên qua đêm, sau đó tách ly tâm lần đầu (30 phút, tốc độ 4000 vòng/phút) để loại bỏ tác nhân dư rồi được rửa lại với nước khử ion. Hòa tan gel trong nước, nhỏ từ từ dung dịch HPCD (1,2 mg trong 1mL nước), tiếp tục khuấy thêm trong 60 phút, tốc độ 1200 vòng/phút. Dung dịch gel thu được trong suốt và đồng nhất. Hệ gel để yên qua đêm sau đó được tách ly tâm rồi được rửa lại với nước khử ion 3 lần và sấy thăng hoa ở nhiệt độ $-40^\circ C$ trong 20 giờ.

Các hàm lượng anastrozole khảo sát (1%, 5%, 10% và 20%) được chuẩn bị theo công thức (1):

$$C(anas) = \frac{m_1}{m} \quad (1)$$

Để xác định hiệu suất mang thuốc đối với anastrozole, dung dịch nước rửa sau ly tâm ở các tỷ lệ khảo sát được phân tích bằng thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC-Agilent 1100 series). Lượng anastrozole trong nước ly tâm được xác định bằng phương pháp thiết lập đường chuẩn. Hiệu suất mang thuốc được tính theo công thức (2):

$$H(tp) = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \quad (2)$$

Trong đó: m_1 là khối lượng anastrozole đem tạo phức, m_2 là khối lượng anastrozole trong nước ly tâm, m là tổng khối lượng các chất phản ứng.

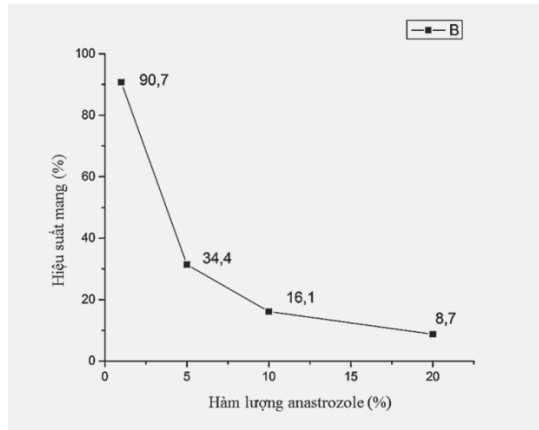
Kích thước hạt được xác định bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM-JEM-1400), tính chất nhiệt của hệ nano được xác định bằng phân tích nhiệt trọng lượng vi sai (TG-DTA-Labsys

Evo S60/58988). Sự hiện diện anastrozole trong hệ nano được nhận diện bởi phổ hồng ngoại IR (Equinox 55-Bruker, Đức).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của hàm lượng anastrozole đến hiệu suất mang thuốc

Ảnh hưởng của hàm lượng anastrozole đến hiệu suất mang thuốc được mô tả trong Hình 1. Hiệu suất giảm nhanh khi tăng hàm lượng thuốc. Biên độ giảm rộng (từ 90,7% xuống 8,7%), điều này cho thấy khả năng mang thuốc của hệ phụ thuộc nhiều vào hàm lượng anastrozole.

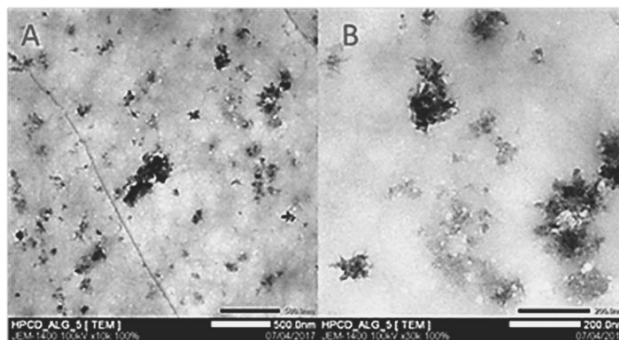


Hình 1. Ảnh hưởng của hàm lượng anastrozole đến hiệu suất mang thuốc

3.2. Ảnh hưởng của hàm lượng anastrozole đến hình thái học

3.2.1. Đặc điểm cấu trúc hạt nano HPCD/alginate

Kết quả khảo sát hình thái học của nano HPCD-alginate ở Hình 2 cho thấy các hạt có kích thước nano, nhưng phân bố trên bề mặt không đều và có sự kết tụ lại giữa các hạt.

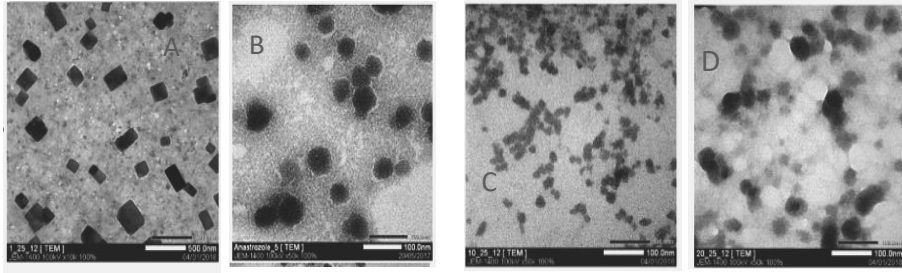


Hình 2. Ảnh TEM 500 nm (A) và TEM 200 nm (B) của nano HPCD/alginate

3.2.2. Ảnh hưởng của hàm lượng anastrozole đến kích thước hạt

Kết quả khảo sát ảnh TEM ở các hàm lượng khác nhau của anastrozole trong Hình 3 cho thấy, ở hàm lượng 5%, hạt nano có kích thước khá đồng đều dưới 50 nm và không có sự kết tụ giữa chúng. Ở mẫu 10% vẫn cho kích thước hạt nano và hầu như các hạt có kích thước gần giống nhau nhưng có sự kết tụ ở một số vị trí. Mẫu 20% anastrozole hầu như đều có sự kết tụ giữa các hạt nano. Mẫu 1% anastrozole có kích thước trong khoảng 90-168 nm, kích

thuốc trung bình hạt nano khoảng 135-140 nm và có dạng hình hộp. Kết quả này chỉ ra rằng, tỷ lệ giữa các thành phần không phân cực (anastrozole) và phân cực (HPCD, alginate) trong hệ composite đã ảnh hưởng đến kích thước và hình dáng hạt nano. Ở hàm lượng dưới 10% anastrozole, quá trình kết tụ khó xảy ra; ngược lại, ở hàm lượng lớn hơn 10% quá trình này khá thuận lợi.

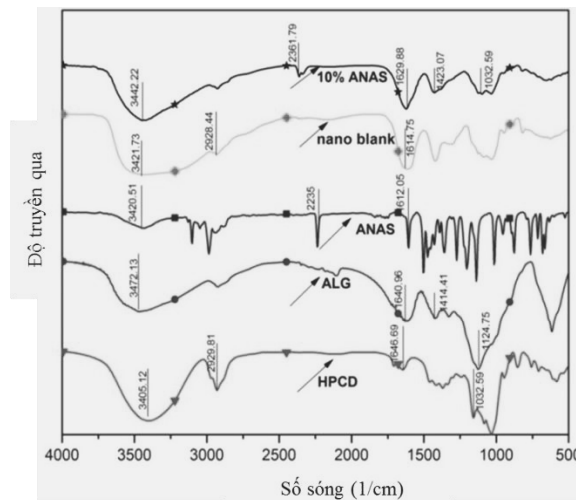


Hình 3. Ảnh TEM kích thước hạt nano (A) ở hàm lượng 1% anastrozole, (B) ở hàm lượng 5% anastrozole, (C) ở hàm lượng 10% anastrozole và (D) ở hàm lượng 20% anastrozole.

3.2.3. Đặc trưng phổ hồng ngoại

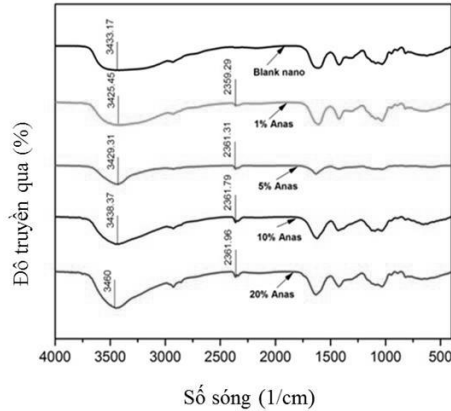
Phổ FT-IR của các thành phần và hệ nanoparticle HPCD-alginate-anastrozole được mô tả ở Hình 4. Quan sát phổ FT-IR của HPCD cho thấy nhóm -OH có tần số dao động hấp thụ ở 3405 cm^{-1} . Tần số dao động hấp thụ của nhóm C-O-C là $1084\text{-}1032\text{ cm}^{-1}$. Phổ FT-IR của alginate cho mũi dao động ở 1124 cm^{-1} tương ứng với C-O-C đặc trưng cho cấu trúc saccharide của sodium alginate. Thêm vào đó, peak ở 1614 cm^{-1} và 1414 cm^{-1} được ấn định đối với dao động hấp thụ của nhóm carboxylate bất đối xứng và đối xứng của muối (-COO-). Phổ FT-IR của anastrozole có tần số dao động của nhóm -CN ở tần số 2235 cm^{-1} , nhóm amin bậc 2 ở nhánh vòng thơm có tần số dao động trong phạm vi 3438 cm^{-1} . Các nhóm -C=C trong vòng thơm có tần số dao động từ $1606\text{ cm}^{-1}\text{-}1427\text{ cm}^{-1}$.

Kết quả phổ FT-IR của nano HPCD-alginate-anastrozole cho thấy, mũi có tần số trên nhánh vòng chứa nhóm amin bậc 2 của anastrozole đã dịch chuyển từ 3438 cm^{-1} lên thành 3420 cm^{-1} . Mũi tần số của nhóm -C=C trong vòng thơm từ 1606 cm^{-1} đã xuống còn 1612 cm^{-1} , do nhóm này rút điện tử gây ảnh hưởng đến nhóm -COO- của alginate làm cho tần số của nano thuốc tại peak đó kéo về nhiều hơn. Dữ liệu phổ FT-IR đã khẳng định rằng hệ mang HPCD/alginate là hệ chất mang thích hợp thuốc anastrozole.



Hình 4. Phổ FT-IR của các thành phần và nano mang thuốc

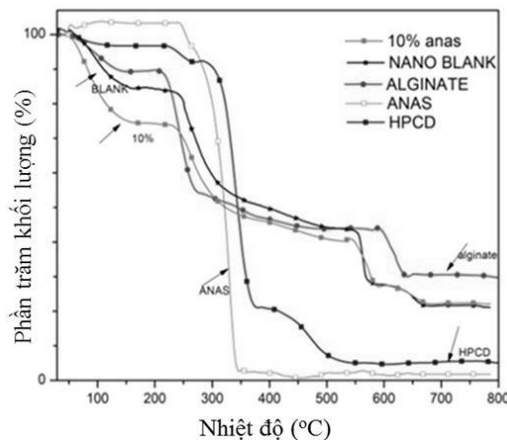
Kết quả khảo sát phổ hồng ngoại của các mẫu nano ở các hàm lượng thuốc khác nhau được mô tả Hình 5. Phổ FT-IR của nano HPCD/alginate không có sự xuất hiện của nhóm chức -CN, mẫu 1% anastrozole nhóm-CN có tần số 2359 cm^{-1} và peak rất thấp, nhưng ở mẫu 5%, 10%, 20% xuất hiện nhóm -CN với tần số dao động hấp thụ 2361 cm^{-1} và peak rõ hơn so với mẫu 1%. Khi tăng tỷ lệ anastrozole, tần số của nhóm -CN bị dịch chuyển, vì vậy có sự tương tác giữa tỷ lệ thuốc và các chất trong hệ nano. Các nhóm chức khác có sự dịch chuyển tần số không đáng kể giữa các mẫu.



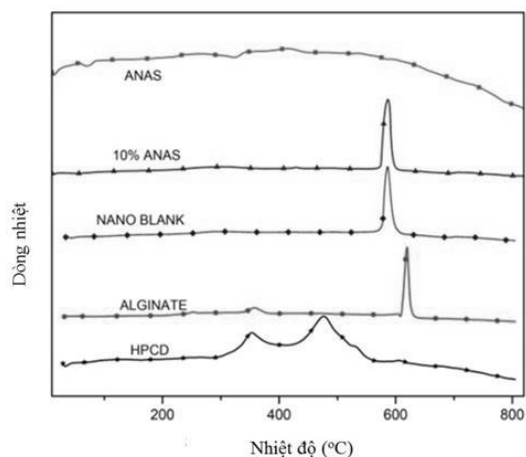
Hình 5. Phổ FT-IR của nano HPCD/alginate/anastrozole ở các tỷ lệ 1%, 5%, 10%, 20%

3.3. Phân tích nhiệt trọng lượng vi sai TG-DTA

Kết quả phân tích nhiệt trọng lượng vi sai của các chất tham gia và với mẫu nano chứa 10% anastrozole trong các giản đồ Hình 6 và Hình 7 cho thấy, ở khoảng nhiệt dưới 250 $^{\circ}\text{C}$ chỉ có mẫu alginate và các phức nano có sự giảm khối lượng (10% đến 25%) do quá trình mất nước còn lại trong mẫu. Ở khoảng nhiệt độ trên 300 $^{\circ}\text{C}$ sự giảm khối lượng ở các mẫu HPCD và anastrozole xảy ra mạnh hơn các mẫu còn lại (trên 90%). Ở mẫu alginate và các phức nano, trên 800 $^{\circ}\text{C}$ khối lượng còn lại (22%) là các hợp chất vô cơ sau quá trình phân hủy. Trong vùng nhiệt độ khảo sát tổng khối lượng mất đi của mẫu nano HPCD/alginate (78,9%) lớn hơn khối lượng hao hụt của alginate (70%) và nhỏ hơn của HPCD (94,9%). Đối với mẫu 10% anastrozole có khối lượng mất đi (77,9%) xấp xỉ với khối lượng mất đi của nanoHPCD/alginate (78,9%) và sự chênh lệch đó có khả năng là do sự hiện diện của thuốc trong mẫu 10% anastrozole.



Hình 6. Giản đồ TGA của các thành phần và của nano composite



Hình 7. Giảm đồ DTAcủa các thành phần và của nano composite

4. KẾT LUẬN

Tổng hợp thành công một hệ nano nền HPCD/alginate bằng phương pháp tạo gel, ứng dụng của vật liệu được khẳng định bằng việc mang thuốc trị ung thư vú kém tan anastrozole. Ảnh hưởng của hàm lượng anastrozole đến hiệu suất mang thuốc và một số đặc trưng hóa lý của sản phẩm đã được khảo sát.

Hiệu suất mang thuốc của hệ nanoHPCD/alginate/anastrozole giảm dần khi tăng hàm lượng anastrozole. Kích thước hạt nano bị ảnh hưởng khi thay đổi hàm lượng anastrozole. Ở hàm lượng 5% anastrozole cho hình dạng và kích thước hạt đồng đều, kích thước trung bình khoảng 37-40 nm. Tuy nhiên, ở các mẫu 10% và 20% anastrozole có hiện tượng kết tụ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Arun R., Ashok K.C.K, Sravanthi V. V. N. S. S. - Cyclodextrins as drug carrier molecule: A review, *Scientia Pharmaceutica* **76** (4) (2008) 567-598.
2. 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.
3. Paolino D., Sinha P., Fresta M., Ferrari M.- Drug delivery systems, in *Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation*, John Wiley & Sons (2006) 437-495.
4. Valle E. M. M. D. - Cyclodextrins and their uses: A review, *Process Biochemistry* **39** (9) (2003) 1033-1046.
5. Gombotz W.R., Wee S.F. – Protein release from alginate matrices, *Advanced Drug Delivery Reviews* **31** (1998) 267–285.
6. Rajaonarivony M, Vauthier C, Couarraze G. - Development of a new drug carrier made from alginate, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **82** (1993) 912–917.
7. Bowersock T.L., HogenEsch H., Suckow M., Porter R.E., Jackson R., Park K. - Oral vaccination with alginate microsphere systems, *Journal of Controlled Release* **39** (1996) 209–220.
8. T. D. Nguyen, T. H. N. Tran, C.H. Nguyen, C. Im, C. H. Dang - Synthesis and characterization of β -cyclodextrin/alginate nanoparticle as a novel drug delivery system, *Journal of Controlled Release* **29** (3) (2015) 429-435.

ABSTRACT

EFFECT OF LOADED ANASTROZOLE ON PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATIONS OF THE NANOCOMPOSITE, 2-HYDROXYPROPYL- β -CYCLODEXTRIN/ALGINATE

Nguyen Cao Hien^{1,*}, Nguyen Thanh Danh²,
Nguyen Thi Ha¹, Tran Thi Minh Thu¹

¹Ho Chi Minh City University of Food Industry

²Institute of Chemical Technology, VAST

*Email: hiennc@cntp.edu.vn

Nanocomposites based on natural polysaccharides, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin and alginate as an effective drug nanocarriers for anastrozole have been synthesized and well defined by physicochemical characterizations. The nanocomposites were produced from alginate and 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPCD) by using the ionotropic gelation method which carried out based on electrostatic interactions between Ca^{2+} /alginate gel and HPCD. The present work showed that content of anastrozole principally effected not only on the size, shapes of the nanocomposites but on their absorption and thermal properties. The results showed that the content of anastrozole (5%) might be suitable to prepare the spherical nanocomposites with small size and uniform distribution.

Keywords: Nanocomposite, hydroxypropyl- β -cyclodextrin, alginate, anastrozole, gelation.