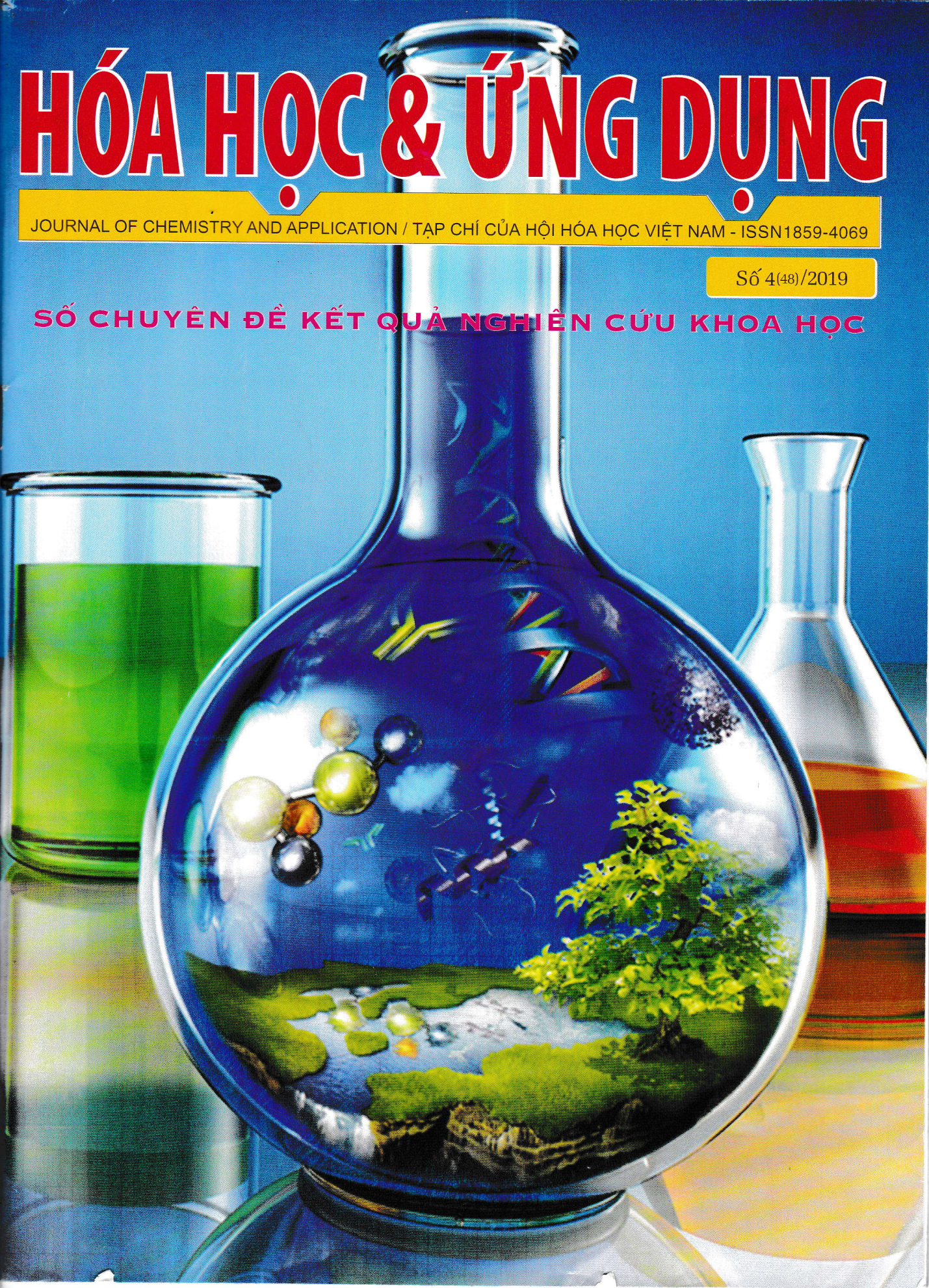


HÓA HỌC & ỨNG DỤNG

JOURNAL OF CHEMISTRY AND APPLICATION / TẠP CHÍ CỦA HỘI HÓA HỌC VIỆT NAM - ISSN1859-4069

Số 4(48)/2019

SỐ CHUYÊN ĐỀ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU KHOA HỌC



NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO NANO QUERCETIN DẠNG GEL

ỨNG DỤNG LÀM THỰC PHẨM CHỨC NĂNG

TRƯỜNG THỊ THÂN¹, NGUYỄN VĂN PHÚ¹, LÊ THỊ HIỀN¹, LÊ THẾ TÂM¹
PHAN THỊ DUNG², TRẦN THỊ TRÚC NGÂN³, LÝ THỊ HƯƠNG TRÀ³, LÊ THỊ THU HIỆP⁴

¹Viện Công nghệ Hóa sinh Môi trường, Trường Đại học Vinh

²Khoa Trung học cơ sở, Trường Cao đẳng Sư phạm Nghệ An

³Viện Sư phạm Tự nhiên, Trường Đại học Vinh

⁴Trung tâm Thực hành thí nghiệm, Trường Đại học Vinh

SUMMARY

Quercetin is a major constituent of various dietary products and recently its anti-cancer potential has been extensively explored, revealing its anti-proliferative effect on different cancer cell lines, both in vitro and in vivo. Though, quercetin possesses great medicinal value, its applications as a therapeutic drug are limited. Problems like low oral bioavailability and poor aqueous solubility make quercetin an unreliable candidate for therapeutic purposes. Additionally, the rapid gastrointestinal digestion of quercetin is also a major barrier for its clinical translation. Hence, to overcome these disadvantages quercetin-based nanoformulations are being considered in recent times. Nanoformulations of quercetin have shown promising results in its uptake by the epithelial system as well as enhanced delivery to the target site. The focus of the present study was to generate nanoparticles of quercetin with improved aqueous phase solubility, and to investigate their efficacy in treating cancer cells. Quercetin nanoparticles having particle size in the range 50-70nm and zeta potential of nanoemulsion - 12.8mV. The slow release of quercetin from the nanoemulsion was supposed to increase its bioavailability. Our results lead way toward unharnessed potential of quercetin in the form of its nanoparticles as an adjuvant therapy for clinical application in treating various cancers.

Keywords: Nano quercetin, emulsion, dietary sources, therapeutic applications, toxicity.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Quercetin điều biến các đáp ứng của cơ thể với các tác nhân ngoại lai xâm nhập vào cơ thể, ức chế hình thành các gốc tự do và tăng cường sức khỏe tuần hoàn bằng việc cải thiện, thúc đẩy và bảo vệ sự nguyên vẹn của các mao mạch nhỏ ở các mô. Quercetin có công dụng chống oxy hóa mạnh, giúp bồi bổ tim, phòng ngừa tai biến mạch não, phòng ngừa ung thư. Được sử dụng trong lĩnh vực dược phẩm, bột quercetin thường được sử dụng làm nguyên liệu cho viên nén, viên nang và hạt để làm ẩm thận, đánh mạnh lá lách và tăng cường khả năng miễn dịch của con người.

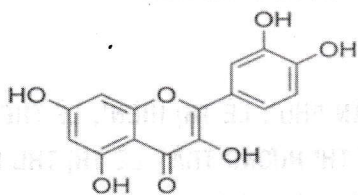
Tuy nhiên, do quercetin là một polyphenol kỵ nước nên nó khó tan trong nước, cơ thể khó hấp thu. Hơn nữa quercetin ở dạng bột trong quá trình sản xuất, bảo quản thủ công nên bột dễ lẫn vi khuẩn, nấm mốc, bụi và các

tạp chất bên ngoài tiềm ẩn nhiều nguy cơ cho đường tiêu hóa, mà lại không đem lại hiệu quả điều trị cao. Vì vậy trong báo cáo này chúng tôi có sử dụng một số polymer thân nước, chất nhũ hóa, chất hoạt động bề mặt, hệ dung môi thích hợp để tiến hành phân tán các tiểu phân quercetin ở kích thước nano dạng gel nhằm tăng khả năng phân tán trong nước và nâng cao sinh khả dụng của quercetin. Nano quercetin ra đời với công nghệ nano tiên tiến, hiện đại đã khắc phục được nhược điểm này của quercetin. Với kích thước siêu nhỏ từ 50 - 100nm, nano quercetin phân tán tốt trong nước, độ tan tăng gấp nhiều lần so với quercetin thông thường (0,001%). Kích thước nano siêu nhỏ cũng giúp nano quercetin thẩm thấu vào máu nhanh chóng để phát huy hiệu quả điều trị tại hầu hết các cơ quan khác nhau trong cơ thể.

II. THỰC NGHIỆM

Đối tượng nghiên cứu:

Quercetin và nano quercetin.



Hình 1. Cấu trúc quercetin

Hóa chất và thiết bị:

Quercetin có độ tinh khiết > 95%.

Hóa chất: quercetin > 95%, ethanol 96%, nước khử ion, PEG (hãng Kanto, Nhật Bản), Lecithin, ethylen glycol (EG).

Thiết bị: bể siêu âm Elma, máy đo quang phổ UV-VIS (Agilent), cân phân tích độ chính xác 0,0001 gam, thiết bị tạo nhũ hóa Q - Sonica, máy khuấy từ gia nhiệt MR Hie - Standard. Ngoài ra còn thiết bị đo Zetasizer - Nano ZS (Malvern - UK), kính hiển vi điện tử phát xạ trường FESEM.

Quy trình chế tạo hệ nano quercetin:

Bước 1: Chuẩn bị pha phân tán bằng cách cho quercetin hoà tan trong dung môi ethanol với tỷ lệ 1 gam/12,5ml (khối lượng/thể tích) bằng máy khuấy có tốc độ 400-500 vòng/phút và kết hợp gia nhiệt với nhiệt độ 40 - 50°C trong thời gian 5 tiếng để tạo thành dung dịch đồng nhất.

Bước 2: Tạo hỗn hợp chất mang PEG/EG bằng cách phân tán đều hỗn hợp PEG/EG trong nước với tỷ lệ PEG/EG/nước là 1 gam/4,5ml/1,5ml (khối lượng/thể tích/thể tích) trong máy rung siêu âm trong thời gian 3 giờ ở nhiệt độ phòng;

Bước 3: Trộn pha phân tán và hỗn hợp chất mang PEG/EG trong thiết bị tạo nhũ có chứa chất nhũ hóa lecithin với tỷ lệ quercetin/ethanol/PEG/EG/nước/lecithin là 1 gam/12,5ml/1 gam/4,5ml/1,5ml (khối lượng/thể tích/khối lượng/thể tích/thể tích) trong thời gian 4 giờ ở nhiệt độ phòng; sản phẩm thu được để qua đêm và tạo ra hệ vi nhũ tương nano quercetin phân tán tốt trong nước.

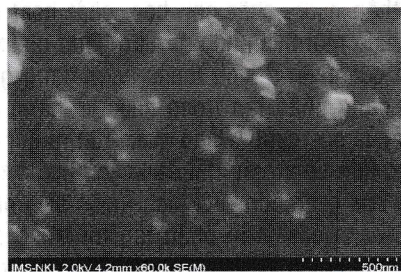
- Phổ hấp thụ của dung dịch quercetin trong nước được nghiên cứu trên thiết bị đo UV-Vis có độ phân giải 1nm. Mẫu đo được pha loãng trong nước khử ion với các độ pha loãng khác nhau sao cho nằm trong giới hạn của thiết bị đo.

- Kích thước và độ bền của các tiểu phân nano quercetin được đánh giá bởi phương pháp đo FESEM, DLS và thế Zeta.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Đặc trưng cấu trúc, hình thái và kích thước hạt nano quercetin

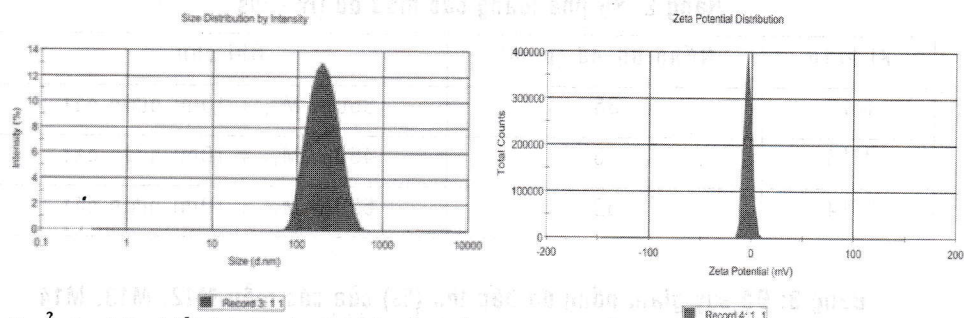
Đặc tính về hình thái và kích thước hệ nanoquercetin được xác định bằng kính hiển vi điện tử quét xạ trường (FESEM) (hình 2) cho thấy các hạt nano quercetin chế tạo được bọc bằng polyme PEG có dạng hình cầu với kích thước từ 60-70nm, dải phân bố kích thước là khá hẹp.



Hình 2. Ảnh FESEM của hạt nano Quercetin

Để đánh giá độ bền của mẫu nano quercetin, các mẫu được khảo sát bằng phương pháp phổ tán xạ laser động (DLS) trên máy đo thế Zetasizer. Giá trị thế zeta của mẫu bọc bằng PEG được thể hiện trên hình 3. Từ hình 3 ta thấy, mẫu nano quercetin có thế zeta đạt -12,8mV. Đối với các phân tử và các hạt đủ nhỏ, thế Zeta cao (âm hoặc dương) sẽ cho độ ổn định cao, hệ phân tán chống lại sự keo tụ.

Kết quả phân tích DLS cho 1 pic duy nhất, hoàn toàn không có sự kết khối, tạo ra các tập hợp hạt ở các vùng kích thước lớn hơn không đáng kể so với kết quả thu được trên ảnh FESEM, điều này khẳng định các tiểu phân nano phân tán đồng đều và có kích thước bé (hình 3, trái).



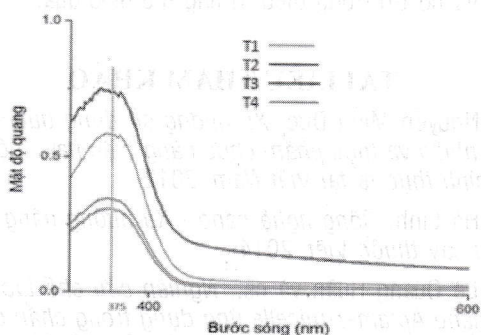
Hình 3. Ảnh phân bố kích thước (phải) và thế zeta (trái) của nano quercetin phân tán trong nước

Bảng 1: Sự pha loãng các mẫu đo UV - vis xác định đường chuẩn

Kí hiệu	Nồng độ dd/dd (ppm)	Ghi chú	Độ pha loãng
T1	5	15 μ l M ₁ + 5ml nước	200.000
T2	15	45 μ l M ₁ + 5ml nước	66.666
T3	20	90 μ l M ₁ + 5ml nước	3.333
T4	0,5	90 μ l M ₁ + 5ml nước	2.000.000

Kết quả đo phổ hấp thụ UV-vis

Đánh giá cường độ hấp thụ của mẫu nano quercetin chế tạo được bằng thiết bị quang phổ UV-vis, mẫu gel nano quercetin được pha loãng như sau: i) Pha loãng 1.000 lần tạo dung dịch mẹ: lấy 20 microl dung dịch gel nano chứa 5% quercetin pha với 20ml nước ta được dung dịch M₁. Từ M₁, ta pha loãng tiếp để có được các mẫu đo như trong bảng 1. Phổ hấp thụ của các mẫu đo nêu trong Hình 4 cho thấy các mẫu đều thể hiện hấp thụ đặc trưng của quercetin với cực đại hấp thụ tại 375nm. Kết quả này cho thấy các phân tử quercetin trong sản phẩm gel nano vẫn giữ nguyên bản chất hóa học. Bằng phương pháp đo phổ hấp thụ này ta có thể xây dựng được đường chuẩn để kiểm tra nồng độ quercetin.



Hình 4. Phổ hấp thụ của các mẫu chứa quercetin ở các nồng độ khác nhau từ 0,5 đến 20ppm

Kết quả độ ổn định của gel nano Quercetin

Các mẫu đều thể hiện hấp thụ đặc trưng của quercetin với cực đại hấp thụ tại 375nm và thay đổi theo thời gian có dạng như trên hình 5 (kết quả đo mẫu M14). Độ suy giảm nồng độ hấp thụ của các mẫu được cho trong bảng 3 và hình 5. Kết quả này được giải thích là do các tiểu phân nano quercetin theo thời gian sẽ kết tập lại với nhau ở trạng thái rắn, quá trình này sẽ tiếp diễn tạo ra các hạt lớn hơn lắng xuống đáy làm giảm cường độ hấp thụ của quercetin trong dung dịch.

Theo thời gian, nồng độ của quercetin trong dung dịch giảm xuống. Tuy nhiên, trong dạng gel các tiểu phân nano quercetin vẫn giữ nguyên kích thước không bị phá vỡ như khi pha vào nước, điều này cho phép bảo quản lâu dài thuận tiện cho sử dụng thực tế.

Cơ chế nhả quercetin

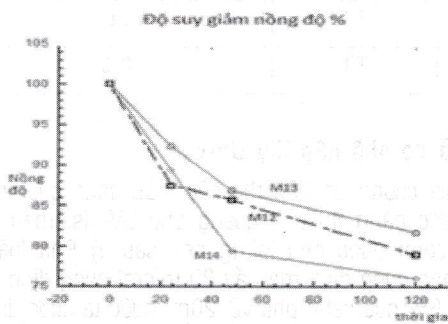
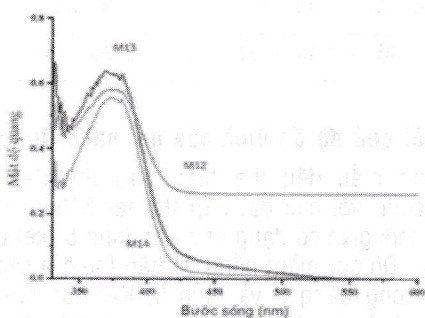
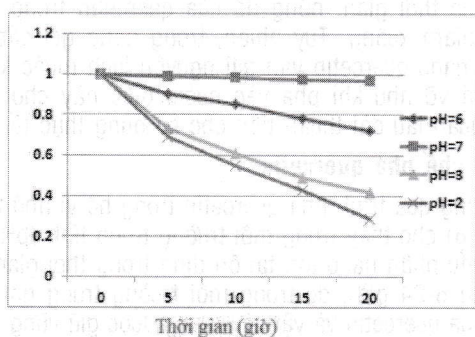
Trong quá trình nhả quercetin trong hệ vi nhũ tương (hình 6) cho thấy trong môi trường trung tính (pH = 7) các tiểu phân nano tồn tại ổn định trong thời gian khá dài (từ 6-24 giờ), do trong môi trường trung tính liên kết giữa quercetin và vật liệu mang được giữ vững trong quá trình phân tán, trong khi tại các giá trị pH < 7 (môi trường acid), liên kết này suy yếu dẫn tới tốc độ nhả quercetin tăng lên.

Bảng 2: Sự pha loãng các mẫu đo UV - vis

Kí hiệu	Nồng độ dd (ppm)	Ghi chú
M12	35	350 μ / M ₁₁ + 10ml nước cất
M13	45	450 μ / M ₁₁ + 10ml nước cất
M14	52	520 μ / M ₁₁ + 10ml nước cất

Bảng 3: Độ suy giảm nồng độ hấp thụ (%) của các mẫu M12, M13, M14

Thời gian (giờ)	Cường độ hấp thụ (a.u)			Độ suy giảm nồng độ hấp thụ (%)		
	M12	M13	M14	M12	M13	M14
0	0,560	0,623	0,671	100	100	100
24	0,517	0,651	0,6	92,32	104,49	89,41
48	0,481	0,559	0,58	85,89	89,73	86,44
120	0,379	0,492	0,54	67,68	78,97	80,48

**Hình 5. Phổ hấp thụ của mẫu M14 theo thời gian (a), Độ suy giảm nồng độ tính theo % phụ thuộc thời gian của các mẫu M12, M13 và M14 (b)****Hình 6. Sự giảm nồng độ theo thời gian ở các pH khác nhau**

IV. KẾT LUẬN

Sản phẩm Nano Quercetin dạng gel đã được chế tạo thành công với kích thước từ 50 - 70nm có khả năng tan hoàn toàn trong nước khắc phục được nhược điểm

của Quercetin. Sản phẩm có độ bền với thế zeta - 12,8mV, có độ ổn định tốt theo thời gian và cho thấy khả năng ứng dụng trong thực tế làm thực phẩm chức năng và hỗ trợ trong điều trị ung thư hiệu quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Minh Đức, *Xu hướng sử dụng dược liệu thiên nhiên và thực phẩm chức năng hiện nay: một số tình hình thực tế tại Việt Nam*, 2012.
2. Hà Linh, *Công nghệ nano - Xu hướng nâng tầm giá trị cây thuốc Việt*, 2014.
3. Lê Quang Huấn và cs., *Nghiên cứu chế tạo cấu trúc nano Aptamer-micelle ứng dụng trong chẩn đoán và điều trị ung thư*, Đề tài KHCB ĐHQĐ, Bộ KH và CN (2011-2013).

(Xem tiếp trang 80)

NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO NANO...

(Tiếp treo trang 8)

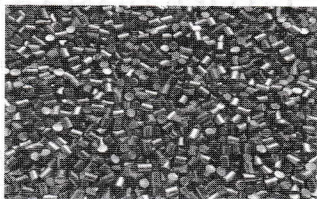
4. PGS.TS Nguyễn Cửu Khoa và cs., *Nghiên cứu phát triển các hệ chất mang nano có hiệu quả cao trong mang, nhả thuốc trên cơ sở dendrimer polyamidoamine*, Viện Hàn lâm KH và CN Việt Nam, 2010.
5. Trương Công Trí, Khuu Mỹ Lê, Nguyễn Minh Đức, *Nghiên cứu bào chế hệ tiểu phân Nano của rutin*, Y học TP. Hồ Chí Minh, tập 15, Phụ bản của Số 1, 2011.
6. Viện Dược liệu, *Cây thuốc và động vật làm thuốc Việt Nam*, Nxb Khoa học và Kỹ thuật, 2006.
7. Brighente I M C, Dias M, Verdi L G, Pizzolatti M G, *Antioxidant Activity and total phenolic content of some Brazilian species*, Pharmaceutol Boilogy, Vol. 45, No. 2, 2007, pp. 156-161.
8. Vijayalakshmi A, Ravichandiran V, Velraj M, Nirmala S, Jayakumari S. *Screening of flavonoid "quercetin" from the rhizome of Smilax china Linn for anti-psoriatic activity*. Asian Pac J Trop Biomed 2012; 2: 269-275.
9. Wang L, Wang B, Li H, Lu H, Qiu F, Xiong L, et al. *Quercetin, a flavonoid with anti-inflammatory activity, suppresses the development of abdominal aortic aneurysms in mice*. Eur J Pharmacol 2012; 690: 133-141.
10. Ha Phuong Thu, Nguyen Xuan Phuc et al. *In Vitro Apoptosis Enhancement of Hep-G2 Cells by PLA-TPGS and PLA-PEG Block Copolymer Encapsulated Curcumin Nanoparticles*. Chemistry Letters. 42, 2013, 255-257.
11. Le Mai Huong, Ha Phuong Thu, Nguyen Xuan Phuc et al. *Preparation and Antitumor-promoting Activity of Curcumin Encapsulated by 1,3-β-Glucan Isolated from Vietnam Medicinal Mushroom *Hericium erinaceum**, Chemistry letters 40, (8), 2011, 846-848.
12. T.P. Sari, Bimlesh Mann, Rajesh Kumar, R.R.B. Singh, Rajan Sharma, Minaxi Bhardwaj, S. Athira, *Preparation and characterization of nanoemulsion encapsulating curcumin*, Food Hydrocolloids, DOI: 10.1016/j.foodhyd.2014.07.011, In press.
13. A. Lewinska, J. Adamczyk, J. Pajak, S. Stoklosa, B. Kubis, P. Pastuszek, E. Słota, M. Wnuk, *Curcumin-mediated decrease in the expression of nucleolar organizer regions in cervical cancer (HeLa) cells*, Mutation Research 771, 2014, pp. 43-52.
14. Hye-Yeon Son, Mak-Soon Lee, Eugene Chang. *Formulation and Characterization of Quercetin-loaded Oil in Water Nanoemulsion and Evaluation of Hypocholesterolemic Activity in Rats*, 2019, Nutrients 11(2):244. DOI:10.3390/nu11020244.
15. Gururaj C. Aithal, Usha Yogendra Nayak, Chetan Mehta, Reema Narayan, Pratibha Gopalkrishna, Sudharsan Pandiyan and Sanjay Garg. *Localized In Situ Nanoemulgel Drug Delivery System of Quercetin for Periodontitis: Development and Computational Simulations*. Molecules 2018, 23, 1363. doi:10.3390/molecules23061363.

Người phản biện: TS LÊ HUYỀN TRÂM

CÔNG NGHỆ CHẾ TẠO...

(Tiếp treo trang 51)

Hình ảnh mẫu thuốc phóng 6/7FL do nhóm tác giả chế tạo trên dây chuyền Nhà máy Z như hình 2 dưới đây:



Hình 2. Mẫu thuốc phóng 6/7FL do nhóm tác giả chế tạo năm 2018

4. Kết quả bắn chỉ tiêu xạ thuật thuốc phóng 6/7FL do nhóm tác giả chế tạo trên pháo 30mm hải quân (kiểu AO-18)

Nhóm tác giả đã tiến hành tiến hành tổng lắp đạn 30mm hải quân từ đạn cấp 2 của Nga, trong đó đạn được Nhà máy Y lắp, ngòi giả nhồi thuốc nổ giả, thuốc phóng dùng thuốc phóng 6/7FL với lượng nhồi w là 114 gam.

IV. KẾT LUẬN

Thuốc phóng 6/7FL do nhóm tác giả chế tạo có các chỉ tiêu xạ thuật đáp ứng được yêu cầu để làm liều phóng cho đạn 30mm hải quân. Từ các kết quả nghiên cứu có thể khẳng định với điều kiện hiện nay, chúng ta hoàn toàn có thể làm chủ công nghệ để sản xuất loạt các mìn thuốc phóng một gốc thuần hóa, đặc biệt là các mìn thuốc phóng như 6/7FL dùng cho đạn 30mm hải quân.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. <https://anninhthudo.vn/quan-su/anh-can-can-hoa-than-ak630-tren-chien-ham-co-the-ban-5000-vien-phut/766580.antd>.
2. <https://anninhthudo.vn/quan-su/anh-uy-luc-kinh-hoang-tu-hoa-than-ak630m2-nga-co-the-khac-10000-phat-phut/791306.antd>.
3. Ю М Михайлов, "Физикохимия флегматизированных порохов", Черноголовка, Редакционно- 2001, ст. 7-8,
4. В.И.Гиндич, Технология пироксилиновых порохов Том 2; ст. 283. *

Người phản biện: TS NGUYỄN MINH TUẤN

Hóa học & Ứng dụng

Số chuyên đề (04)/2019