

NGHIÊN CỨU ĐẶC TRƯNG VÀ TÍNH CHẤT CỦA MÀNG TỔ HỢP ALGINAT/CHITOSAN/LOVASTATIN

Thạch Thị Lộc⁽¹⁾, Thái Hoàng⁽²⁾

Lê Đức Giang⁽³⁾, Nguyễn Thị Quỳnh Giang⁽³⁾, Lê Thị Thủy⁽⁴⁾

¹ Nghiên cứu sinh chuyên ngành Hóa hữu cơ, Trường Đại học Vinh

² Viện Kỹ thuật Nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

³ Trường Đại học Vinh

⁴ Trường Cao đẳng Y tế Thanh Hóa

Ngày nhận bài 25/6/2018, ngày nhận đăng 17/8/2018

Tóm tắt: Công trình này nghiên cứu đặc trưng, tính chất của màng tổ hợp polyme alginat/chitosan mang thuốc lovastatin. Một số tính chất đặc trưng của màng tổ hợp đã được nghiên cứu như phổ hồng ngoại biến đổi FTIR, hình thái cấu trúc màng, độ bền nhiệt (DSC) và độ trương của màng. Kết quả cho thấy tổ hợp polyme có sự phân bố lovastatin trong màng tương đối đồng đều. Các đỉnh hấp thụ đặc trưng của từng polyme vẫn được thể hiện rõ trên phổ FTIR của màng tổ hợp nhưng đã có sự dịch chuyển nhẹ. Điều này chứng minh rằng alginat, chitosan và lovastatin có tương tác mạnh với nhau bởi sự tương tác lưỡng cực và liên kết hydro giữa các nhóm amin và hydroxyl trong chitosan với nhóm cacboxyl ở alginat. Nhiệt độ nóng chảy của màng composit thấp hơn so với lovastatin và màng có khả năng trương nở tốt trong nước trong 3-4 giờ, sau đó phân hủy theo thời gian do alginat bị hòa tan.

I. MỞ ĐẦU

Lovastatin (LOV) là một hợp chất lên men có nguồn gốc từ tự nhiên được phát hiện từ năm 1970. Nó được tìm thấy trong nấm sò và gạo men đỏ [8]. LOV là chất ức chế cạnh tranh với hydroxyl methylglutaryl coenzym (HMG-CoA), ngăn cản chuyển hóa HMG-CoA thành mevalonat, tiền chất của cholesterol, là thuốc chữa bệnh tim mạch có hiệu quả. LOV còn ức chế sinh tổng hợp cholesterol, làm giảm cholesterol trong tế bào gan, kích thích tổng hợp thụ thể LDL (lipoprotein tỉ trọng thấp), từ đó làm tăng vận chuyển LDL từ máu dẫn đến làm giảm nồng độ cholesterol trong huyết tương [2, 7]. Ứng dụng chính của LOV là để điều trị rối loạn lipid máu, phòng ngừa các bệnh tim mạch [1, 6]. Tuy nhiên hạn chế của LOV là thời gian bán thải chậm (3-4 giờ) và giá thành thuốc tương đối cao, nên việc kết hợp LOV với các chất mang là vấn đề cần đặt ra.

Chitosan (CS) là dẫn xuất deacetyl hóa của chitin - một loại polysacrit có nhiều trong vỏ các loài giáp xác như tôm, cua, ghẹ... Nó là một polyme sinh học đặc biệt, có thể ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như công nghiệp thực phẩm, nông nghiệp, sinh học, công nghiệp giấy... [6, 10]. Trong y sinh và hóa dược, CS được sử dụng làm màng chữa lành vết thương, giúp tái tạo mô xương, thuốc chữa bệnh và bao gói thực phẩm [3, 5]. Đặc biệt, CS còn là nguyên liệu quan trọng trong việc bào chế glucosamin [10]. Tuy nhiên, CS có nhược điểm là rất nhạy với ẩm, do đó hạn chế việc sử dụng polyme thiên nhiên này. Để khắc phục nhược điểm của CS, người ta thường phối hợp nó với các polyme tương đối bền với ẩm như alginat (AG). AG là loại polyme sinh học biển phong

phủ nhất thể giới và là loại polyme sinh học nhiều thứ hai sau xenlulozơ. Khi hòa tan AG vào nước tạo dung dịch có độ nhớt cao nên nó được ứng dụng chủ yếu trong thực phẩm nhằm gia tăng thời gian bảo quản mà vẫn giữ được chất lượng ban đầu của thực phẩm. AG có ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khác nhau như thực phẩm, dược phẩm và các ứng dụng công nghiệp. Trong công nghệ bào chế thuốc, natri alginat được sử dụng làm chất ổn định, nhũ tương hóa hay chất tạo đặc cho dung dịch, làm vỏ bọc thuốc, làm chất phụ gia chế biến các loại thức ăn kiêng... [4, 9]. Mặt khác, AG còn là chất có thể tái tạo, phân hủy sinh học và hoàn toàn an toàn trong các thử nghiệm trên người cũng như động vật. Trong công trình trước [6], các màng chứa 10%-30% LOV đã được chế tạo và khảo sát một số tính chất, tuy nhiên màng tạo ra chưa được mỏng, kích thước LOV phân bố trong màng còn lớn. Công trình này đã nghiên cứu chế tạo và xác định một số đặc trưng, tính chất của màng polyme alginat/chitosan mang thuốc LOV với các hàm lượng khác nhau.

II. THỰC NGHIỆM

2.1. Nguyên liệu, hóa chất

Chitosan (độ deaxetyl hoá) 75-85%, độ phân tán polyme $1,61 \times 10^5$ Da (hãng Aldrich sản xuất). Alginate ở dạng bột màu trắng, độ nhớt 300-500 mpa.s (hãng Aldrich sản xuất). Lovastatin ở dạng chất rắn màu trắng, độ tinh khiết 98%. KCl rắn, NaOH rắn, KH_2PO_4 rắn, HCl 36,5% (Trung Quốc). Axit axetic (CH_3COOH) 1% được pha từ axit axetic 99,5% (Merck). Etanol (Merck).

2.2. Chế tạo màng tổ hợp AG/CS/LOV

Màng AG/CS/LOV được chế tạo theo phương pháp dung dịch [6] với tỉ lệ AG/CS là 8:2, hàm lượng LOV thay đổi từ 3-5-7-10% tổng khối lượng AG và CS.

Hòa tan AG vào 25ml H_2O và CS vào 20ml dung dịch CH_3COOH 1%. Khuấy mỗi dung dịch trên máy khuấy từ đến khi AG và CS tan hoàn toàn. Hòa tan thuốc LOV trong 10ml $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ rồi nhỏ từ từ vào dung dịch AG. Khuấy hỗn hợp trong 2 giờ rồi cho dung dịch CS vào và khuấy tiếp trong 2 giờ ở 60°C . Sau đó, hỗn hợp được siêu âm 3 lần, mỗi lần 5 phút rồi đổ ra đĩa petri cho bay hơi tự nhiên và sấy ở $50-60^\circ\text{C}$ đến khối lượng không đổi.

Bảng 1: Thành phần mẫu của các màng tổ hợp AG/CS/LOV

Tên mẫu	Khối lượng các thành phần	Ký hiệu mẫu
AG/CS/LOV =8 : 2 : 3%	0,08 : 0,02: 0,003	AC82L3
AG/CS/LOV =8 : 2 : 5%	0,08 : 0,02 : 0,005	AC82L5
AG/CS/LOV =8 : 2 : 7%	0,08 : 0,02 : 0,007	AC82L7
AG/CS/LOV =8 : 2 : 10%	0,08 : 0,02 : 0,01	AC82L10

2.3. Đặc trưng, tính chất của màng tổ hợp AG/CS/LOV

- Phổ hồng ngoại biến đổi FTIR của vật liệu tổ hợp AG/CS/LOV được ghi bằng máy Fourier Nexus tại Viện Kỹ thuật nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Hình thái cấu trúc của các mẫu vật liệu tổ hợp AG/CS/LOV được quan sát trên thiết bị hiển vi điện tử quét trường phát xạ (FESEM S- 4800, Hitachi, Nhật Bản) tại Viện Khoa học vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

- Tính chất nhiệt của màng compozit được đánh giá bằng phương pháp DSC trên máy phân tích nhiệt lượng quét vi sai 8271 Hitachi (trong môi trường N₂ ở 10^oC.min⁻¹, từ nhiệt độ phòng đến 250^oC) tại Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

2.4. Đánh giá độ trương của màng compozit

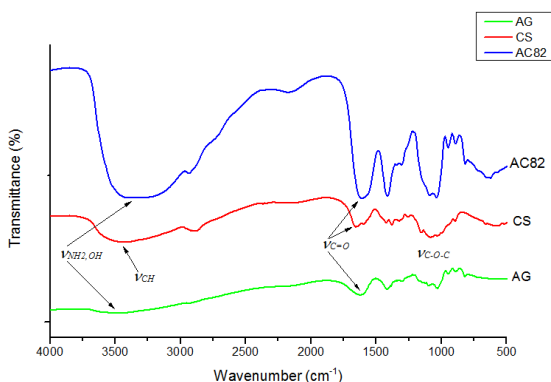
Ngâm màng tổ hợp trong nước cất 6 giờ. Sau mỗi giờ, lấy màng ra, sấy khô bề mặt màng rồi cân. So sánh khối lượng màng sau khi ngâm và ban đầu. Độ trương (Q) được tính theo công thức

$$Q = \frac{m_t - m_0}{m_0} \times 100\%$$

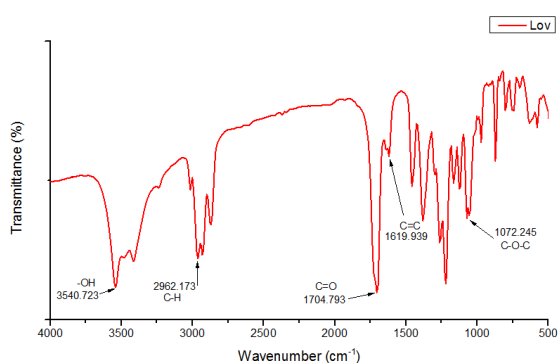
trong đó: m_t là khối lượng màng tại thời điểm t; m₀ là khối lượng màng ở thời điểm ban đầu.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phổ FTIR của tổ hợp AC82Lx



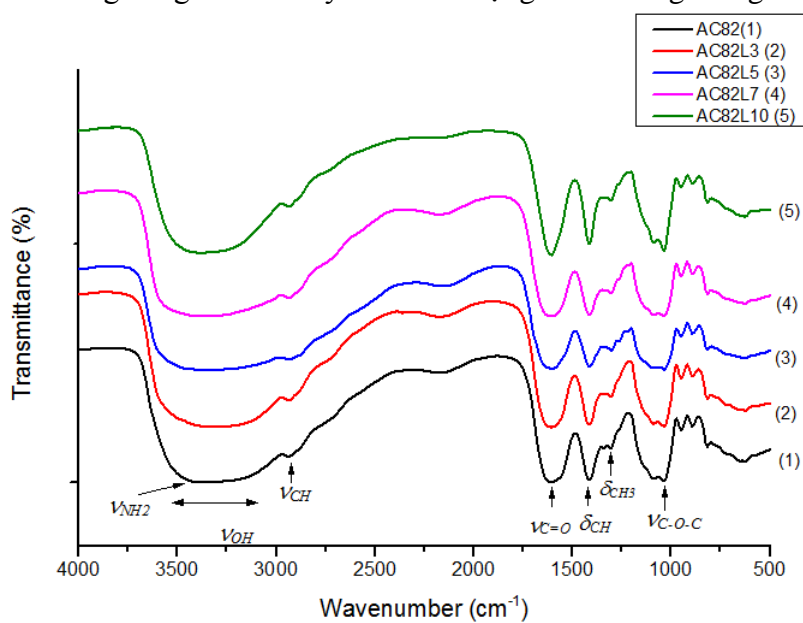
Hình 1: Phổ FTIR của AG, CS, tổ hợp AC82



Hình 2: Phổ FTIR của LOV

Kết quả khảo sát phổ hồng ngoại FTIR cho thấy có sự thay đổi nhẹ của một số đỉnh đặc trưng khi so sánh phổ FTIR của các màng AC82Lx (hình 3) với phổ FTIR của LOV (hình 2), CS và AG (hình 1). Dao động hóa trị của nhóm C=O ở các màng tổ hợp AC82Lx đều xác định ở 1604,511cm⁻¹. Bên cạnh đó, ta có thể nhận thấy được sự khác biệt về số sóng của nhóm C-H trong phổ FTIR của màng AC82Lx so với của CS, AG và LOV. Đặc biệt, các đỉnh tương ứng với nhóm NH₂, C=O, O-H trong phổ FTIR của màng AC82Lx cũng thay đổi đáng kể (3-105 cm⁻¹) so với các đỉnh tương tự trong phổ FTIR của AG, CS và LOV. Sự thay đổi này có thể là do sự tương tác giữa các nhóm -C=O, -

OH trong LOV với NH₂, nhóm OH trong CS và C=O, C-O, OH trong AG thông qua các tương tác lưỡng cực và liên kết hydro. Ngoài ra, sự thay đổi hàm lượng LOV có ảnh hưởng không nhiều đến cấu trúc của màng tổ hợp AC82Lx. Điều này thể hiện khi so sánh kết quả với công trình trước [6], các đỉnh đặc trưng của các dao động đều xuất hiện và dịch chuyển không đáng kể khi thay đổi hàm lượng LOV trong màng.



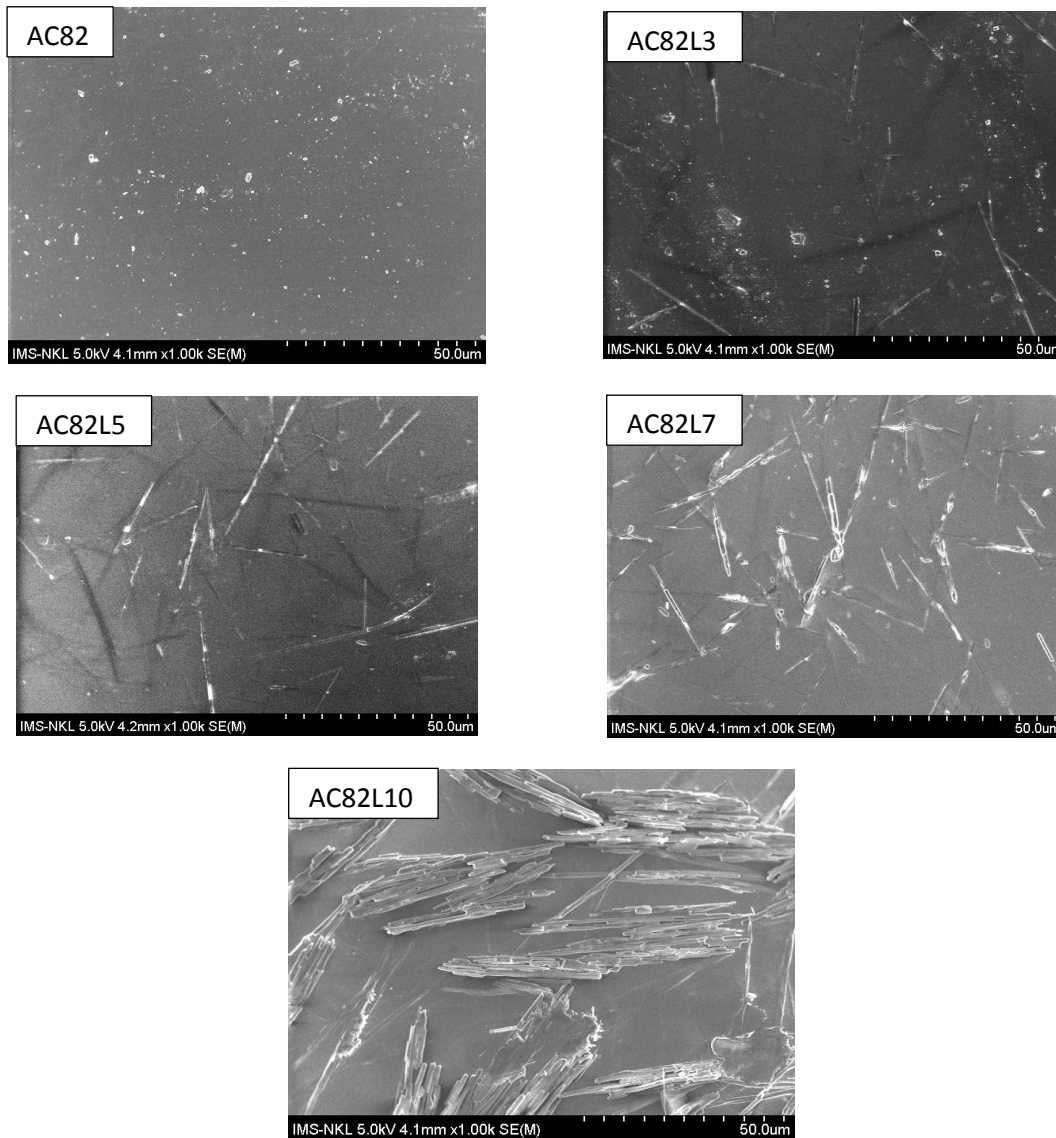
Hình 3: Phổ FTIR của màng tổ hợp AC82, AC82L3, AC82L5, AC82L7, AC82L10

Bảng 2: Thống kê đỉnh đặc trưng của các màng tổ hợp

Mẫu Dao động	Số sóng (cm ⁻¹)				
	AC82	AC82L3	AC82L5	AC82L7	AC82L10
ν _{NH2}	3401,171	3394,157	3394,157	3394,157	3394,157
ν _{CH}	2931,318	2939,032	2931,318	2931,318	2931,318
ν _{C=O}	1604,511	1604,511	1604,511	1604,511	1604,511
δ _{CH}	1411,661	1411,661	1411,661	1411,661	1411,661
δ _{CH3}	1303,665	1303,665	1303,665	1303,665	1303,665
ν _{C-O-C}	1033,675	1033,675	1033,675	1033,675	1033,675

3.2. Hình thái cấu trúc của màng tổ hợp AC82Lx

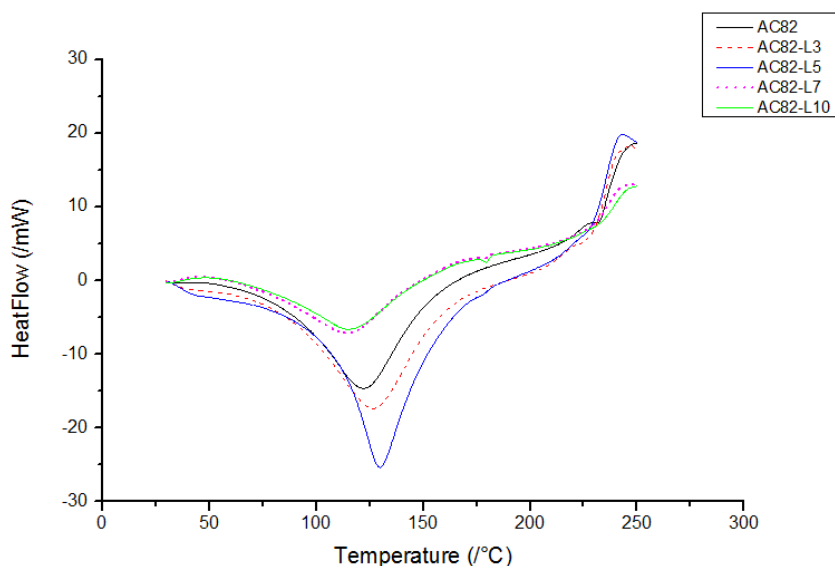
Hình 4 thể hiện ảnh FESEM của các màng tổ hợp AC82Lx cho thấy CS và LOV đã phân tán vào AG. Sự giảm kích thước pha phân tán của CS trong nền AG là do tương tác tốt giữa AG, CS và LOV thông qua các liên kết hydro và tương tác lưỡng cực. LOV có dạng hình que và có kích thước trong khoảng 20-50 μ m phân tán không đồng đều trong màng.



Hình 4: Ảnh FESEM của các tổ hợp AC82Lx

Kích thước của pha phân tán trong màng pha trộn tăng khi hàm lượng LOV cao có thể là do tương tác thuốc - thuốc trở nên mạnh hơn tương tác của polyme - thuốc và dẫn đến sự kết tụ thuốc với kích thước lớn hơn. Kết quả này tương tự khi hàm lượng thuốc LOV từ 10-30% [6].

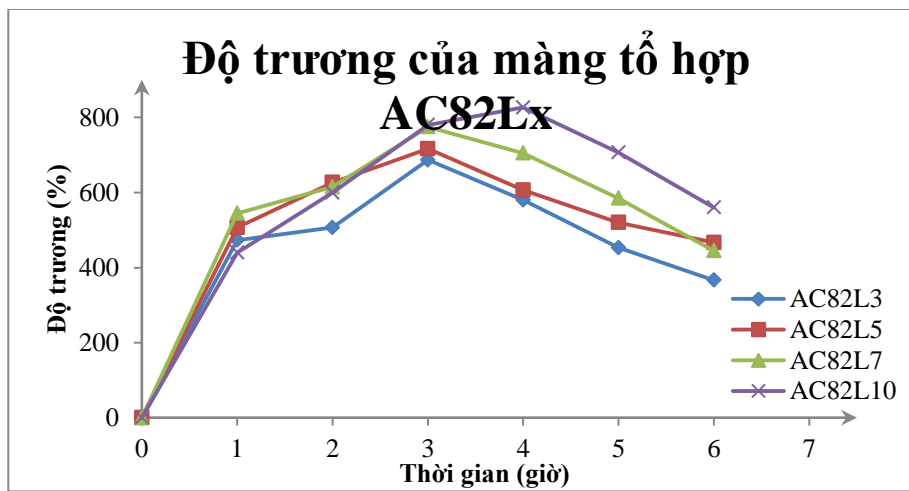
3.3. Đặc trưng nhiệt của tổ hợp màng AC82Lx



Hình 5: Giảm đồ DSC của các màng tổ hợp AC82, AC82Lx

Có thể quan sát được nhiệt độ nóng chảy của LOV (175°C) cao hơn nhiệt độ nóng chảy của CS ($106,8^{\circ}\text{C}$), AG ($119,7^{\circ}\text{C}$) và các màng tổ hợp AC82Lx. Bên cạnh đó, vị trí pic nóng chảy của các mẫu màng tổ hợp AC82Lx thay đổi khi thay đổi hàm lượng LOV. Cụ thể, nhiệt độ nóng chảy của các màng tổ hợp AC82L3, AC82L5, AC82L7 và AC82L10 lần lượt là $126,89^{\circ}\text{C}$; $129,91^{\circ}\text{C}$; $115,36^{\circ}\text{C}$ và $115,61^{\circ}\text{C}$, trong khi nhiệt độ nóng chảy của AC82 là $122,39^{\circ}\text{C}$. Như vậy, hàm lượng LOV có ảnh hưởng đến đặc trưng nhiệt của màng tổ hợp tương tự kết quả ở công trình [6]. Khi thêm LOV vào polyme nền AG/CS, nhiệt độ nóng chảy màng cao hơn do ảnh hưởng của LOV. Khi hàm lượng LOV cao, tương tác giữa thuốc - polyme và thuốc - thuốc làm giảm nhiệt độ nóng chảy của màng.

3.4. Độ trương của các màng AC82Lx



Hình 6: Đồ thị biểu diễn độ trương của tổ hợp màng ngâm trong nước sau 6 giờ

Kết quả nghiên cứu về độ trương của tổ hợp màng AG/CS/LOV sau 6 giờ trong nước cất cho thấy rằng trong giai đoạn đầu tiên (1-3 giờ), khối lượng của màng tăng lên (hình 6). Cụ thể tại 3 giờ, độ trương của AC82L3, AC82L5 và AC82L7 và AC82L10 lần lượt là 686,66%; 716,66%; 775% và 780%.

Tuy nhiên, ở giai đoạn sau, độ trương giảm dần. Sau 6 giờ, mẫu AC82L3 có độ trương là 366,67% và AC82L10 có độ trương lớn nhất đạt 560%. Có thể giải thích rằng, sau 4 giờ liên kết giữa các polyme bị phá vỡ, AG hòa tan trong nước dẫn đến giảm khối lượng màng. Mặt khác, AG có thể mang theo thuốc, khi AG hòa tan, một phần thuốc sẽ kéo ra với AG nên độ trương của màng giảm.

KẾT LUẬN

Bằng phương pháp dung dịch, chúng tôi đã chế tạo và nghiên cứu một số tính chất đặc trưng của màng tổ hợp alginat/chitosan/lovastatin. Màng tổ hợp được tạo ra với điều kiện thích hợp là tỉ lệ alginat/chitosan 8:2, nhiệt độ 60°C, có siêu âm với thời gian khuấy 4 giờ. Phổ FTIR cho thấy alginat, chitosan và lovastatin đã tương tác với nhau bằng tương tác lưỡng cực - lưỡng cực và liên kết hydro nên gây ra sự dịch chuyển một số pic đặc trưng. Ảnh FESEM chỉ ra rằng lovastatin với kích thước từ 20-50µm phân tán khá đồng đều trong màng và có xu hướng kết tụ với nhau khi tăng hàm lượng thuốc. So sánh với kết quả nghiên cứu trước [6], sau khi thay đổi một số điều kiện chế tạo màng, tổ hợp polyme được tạo ra mỏng và mịn hơn, các đỉnh pic của mỗi nhóm chức được thể hiện rõ ràng hơn. Với nồng độ các chất thấp và có gia nhiệt, CS và LOV được phân tán tốt hơn trong nền AG. Ngoài ra, tính chất nhiệt và độ trương của các màng tổ hợp polyme cũng đã được nghiên cứu. Nhiệt độ nóng chảy của các tổ hợp màng thay đổi khi hàm lượng lovastatin thay đổi. Bên cạnh đó, các màng polyme có khả năng trương trong nước và độ trương phụ thuộc vào nồng độ lovastatin trong màng. Độ trương của màng tăng lên ở giai đoạn đầu và giảm rõ rệt ở giai đoạn sau do sự tan của alginat và phá vỡ liên kết giữa các polyme.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Văn Hân, *Tác dụng của lovastatin*, Sức khỏe và Đời sống, 2009.
- [2] Hiệp hội Y tế - Dược sĩ Mỹ, *Lovastatin*, 2011.
- [3] Nguyễn Thị Mỹ Lan, Huỳnh Thị Phương Linh, Lê Thị Mỹ Phước, Nguyễn Quốc Hiến, *Bước đầu nghiên cứu hiệu ứng làm lành vết thương của hỗn hợp Chitosan tan trong nước - Bacterial cellulose - Nano bạc*, Tạp chí phát triển KH & CN, tập 12, số 09, 2009.
- [4] Phạm Thị Quỳnh, Phạm Thị Cang, Phùng Mạnh Quyết, Trương Văn Huy, Lê Thị Phương Nga, Ngô Thị Hà Phương, *Tìm hiểu về cấu trúc, tính chất, chức năng và ứng dụng của alginat*, Trường Đại học Công nghiệp thực phẩm Thành phố Hồ Chí Minh, 2012.
- [5] Nguyễn Thị Ngọc Tú, Phạm Thị Mai, *Ứng dụng chitosan trong y tế*, Tạp chí Dược học, Số 3, 1995, 14-15.

- [6] Chinh N. T., Ly N. T. H, Mai T. T., Trang N. T. T., Loc T. T., Giang L. D., Tung N. Q, Hoang T., *Characteristic and properties of chitosan/alginate polymer blend carrying lovastatin drug*, Journal of Science and Technology, 54 (2B), 2016, 118-124.
- [7] Gunde-Cimerman N, Cimerman A., *Pleurotus fruiting bodies contain the inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase-lovastatin*, Exp Mycol. 19 (1), 1995, 1-6.
- [8] Liu J., Zhang J., Shi Y., Grimsgaard S., T. Alraek, Fonnebo V., *Chinese red yeast rice (Monascus purpureus) for primary hyperlipidemia: a meta-analysis of randomized controlled trials*, Chin Med 1 (1), 2006, 4-11.
- [9] Lee K. Y. & Mooney D. J., *Alginate: properties and biomedical applications*, Progress in Polymer Science 7, 2012, 106-126.
- [10] YuyingSun, Jiquan Zhang, Shengjun Wua, Shujun Wanga, *Preparation of d-glucosamine by hydrolysis of chitosan with chitosanase and β -d-glucosaminidase*, International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 61, 2013, 160-163.

SUMMARY

CHARACTERISTICS AND PROPERTIES OF CHITOSAN/ALGINATE/LOVASTATIN COMPOSITE FILMS

This study aims to learn about the preparation and properties of alginate/chitosan polyme films blend carrying lovastatin drug. Some characteristics of composite films have been investigated by many methods, such as Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM), differential scanning calorimeter and swelling capacity. The results show that the composite had a relatively homogeneous distribution of lovastatin. The characteristic signs in the FTIR of each agent still appeared in the FTIR spectra of the composite films however they had a slightly shift. This proved that the alginate, chitosan and lovastatin had strong interaction together by the dipole-dipole interaction and hydrogen bonding between the amine and hydroxyl groups in chitosan with the carboxyl group in alginate. The melting temperature of the composite films were lower than these of lovastatin and the films were able to swell in water for 3-4 hours, then disintegrate over time as alginate dissolved.