



## STUDY ON PREPARATION BACTERIAL CELLULOSE NANOFIBERS COATED NANOLIPOSOMES CONTAINING DOXORUBICIN USING FOR ORAL ADMINISTRATION

*Nguyen Xuan Thanh; Cao Ba Cuong, Tran Thi Dong, Nguyen Thi Ngoc Bich, Bui Huy Tung*

*Hanoi National University of Education 2 , Viet Nam*

*Email address: [nguyenxuanthanh@hpu2.edu.vn](mailto:nguyenxuanthanh@hpu2.edu.vn)*

*<https://doi.org/10.51453/2354-1431/2024/1116>*

### Article info

*Received: 18/01/2024*

*Revised: 26/3/2024*

*Accepted: 25/4/2024*

### Keywords:

*Bacterial cellulose  
nanofibers,  
doxorubicin,  
nanoliposomes, oral  
administration,  
sustained release.*

### Abstract:

Doxorubicin (DOX) is a potential anti-cancer agent but has limited clinical applications due to serious side effects caused by parenteral administration and low oral bioavailability. Preparation of nanoliposomes (LIP) is considered an effective solution to increase the oral bioavailability of DOX. This study aims to prepare the LIP-DOX coated with bacterial cellulose nanofibers (NanoBCF) for oral administration. The LIP-DOX or NanoBCF-LIP-DOX was successfully prepared using the hydration method. The obtained LIP-DOX or NanoBCF-LIP-DOX have nano-sized size ( $< 200$  nm), with uniform distribution ( $PDI < 0.25$ ) and high encapsulation efficiency ( $> 80\%$ ). The release of DOX from LIP-DOX, or from NanoBCF-LIP-DOX lasts up to 12 hours. DOX release from NanoBCF-LIP-DOX was slower than from LIP-DOX. The release of DOX from LIP-DOX or from NanoBCF-LIP-DOX follows a diffusion mechanism and follows the Higuchi model (in NanoBCF-LIP-DOX) and the Korsmeyer-Peppas model (in LIP-DOX). The results demonstrated the successful preparation of the NanoBCF-LIP-DOX system to create a potential sustained-release DOX delivery system for oral administration.



## NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ HỆ NANOLIPOSOMES BỌC CÁC SỢI NANO CELLULOSE VI KHUẨN DẪN DOXORUBICIN DÙNG CHO ĐƯỜNG UỐNG

Nguyễn Xuân Thành,; Cao Bá Cường, Trần Thị Đông, Nguyễn Thị Ngọc Bích, Bùi Huy Tùng

Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2, Việt Nam

Địa chỉ Email: [nguyenxuanthanh@hpu2.edu.vn](mailto:nguyenxuanthanh@hpu2.edu.vn)

<https://doi.org/10.51453/2354-1431/2024/1116>

### Thông tin bài viết

Ngày nhận bài: 18/01/2024

Ngày sửa bài: 26/3/2024

Ngày duyệt đăng: 25/4/2024

### Từ khóa:

Doxorubicin, các sợi nano cellulose vi khuẩn,

đường uống, giải phóng kéo dài, nanoliposomes.

### Tóm tắt

Doxorubicin (DOX) là chất chống nhiều loại ung thư tiềm năng nhưng bị hạn chế trong các ứng dụng lâm sàng do tác dụng phụ nghiêm trọng gây ra bởi dùng thuốc theo đường tiêm và có sinh khả dụng đường uống thấp. Bào chế nanoliposomes (LIP) dẫn DOX (LIP-DOX) được dùng như giải pháp làm tăng sinh khả dụng đường uống của DOX. Nghiên cứu nhằm mục đích chuẩn bị và đánh giá sự giải phóng DOX của hệ LIP bọc các sợi nano cellulose vi khuẩn (NanoBCF) dẫn DOX dùng đường uống. Phương pháp nghiên cứu bào chế hệ LIP-DOX hoặc NanoBCF-LIP-DOX bằng phương pháp hydrate hóa. Kết quả hệ được bào chế với kích thước cỡ nano (< 200 nm), có phân bố kích thước hạt khá đồng đều (chỉ số PDI < 0,25) và với hiệu suất LIP hoá thu được khá cao (> 80%); Sự giải phóng của DOX từ LIP-DOX, hoặc từ NanoBCF-LIP-DOX kéo dài đến 12 giờ. DOX giải phóng từ NanoBCF-LIP-DOX chậm hơn từ LIP-DOX; Quá trình giải phóng DOX từ LIP-DOX hoặc từ NanoBCF-LIP-DOX theo cơ chế khuếch tán và tuân theo mô hình Higuchi (ở NanoBCF-LIP-DOX) và mô hình Korsmeyer-Peppas (ở LIP-DOX). Kết quả đã chứng minh bào chế thành công hệ NanoBCF-LIP-DOX nhằm tạo ra một hệ thống phân phối DOX giải phóng kéo dài tiềm năng dùng cho đường uống.

### 1. Giới thiệu

Doxorubicin (DOX) là một thuốc kháng sinh được phát hiện từ thập kỷ 50 của thế kỷ XX và được đưa vào sử dụng trong lâm sàng từ thập kỷ 70 của thế kỷ XX để điều trị nhiều bệnh ung thư khác nhau như ung thư vú, ung thư phổi, ung thư

buồng trứng,... (Ahmad, N., Ahmad, R., Alam, M.A., Ahmad, F.J, 2018; Aloss, K., Hamar, P, 2023). Tuy nhiên, DOX là thuốc có độc tính rất cao và có rất nhiều tác dụng phụ không mong muốn, đặc biệt là độc tính gây suy tủy, làm thiếu bạch cầu, giảm tiểu cầu, làm rối loạn nhịp tim,... và có thể dẫn đến tử vong (Aloss, K., Hamar,

P, 2023; Badshah, M., et al, 2017). Đặc biệt, do DOX tan tốt trong nước nên sau khi tiêm tĩnh mạch, các phân tử thuốc dễ dàng được khuếch tán và phân phối tự do trong toàn bộ cơ thể, dẫn đến có nhiều tác dụng phụ không mong muốn và hạn chế đạt liều lượng thích hợp cần thiết để ức chế tế bào ung thư (Cao, C. B., Ong, P. X., Nguyen, T. X., 2024). Vì thế, việc bào chế ra loại thuốc có tác dụng hướng đích để điều trị bệnh ung thư hiện nay là sự lựa chọn thích hợp để tăng hiệu quả của thuốc tại các khối u và giảm độc tính ở mô lành (Daeihamed, M., et al, (2017; Daeihamed M., et al, (2017). Nanoliposomes (LIP) là một trong những hệ dẫn thuốc có tác dụng hướng đích đang được chú trọng phát triển trong bào chế hiện đại (Ahmad, N., et al, 2018). Tuy nhiên, tính đến nay mới chỉ có hai loại công thức LIP-DOX dùng cho đường tiêm (chưa có công thức dùng cho đường uống) được cấp phép sử dụng trong lâm sàng gồm LIP-DOX bọc polyethylene glycol (PEG) (Doxil® và Lipodox® ở Hoa Kỳ, Caelyx® ở Châu Âu) và LIP-DOX không bọc PEG (Myocet® ở Châu Âu và Canada), cả hai loại này đều làm thay đổi đáng kể đặc tính dược động học và giảm độc tính trên tim (Ahmad, N., et al, 2018; He, H., et al, 2019). Đường uống được sử dụng đưa thuốc phổ biến, thông dụng nhất và là con đường ưa thích của hầu hết bệnh nhân vì mang lại nhiều lợi ích đáng kể như dễ sử dụng, dễ tuân thủ, linh hoạt, dễ kiểm soát,... Tuy nhiên, do đặc tính hóa lý của dược chất và các rào cản sinh lý như sự mất ổn định trong môi trường của đường tiêu hóa nên việc sử dụng nhiều dược chất qua đường uống đặt ra nhiều thách thức (He, H., et al, 2019). Hơn nữa, DOX có sinh khả dụng đường uống rất thấp (~5%) do tính thấm thấp của đường tiêu hóa, không bền trong dịch dạ dày và dễ bị chuyển hoá (Badshah, M., et al, 2017; Huang, L., et al, 2013; Kalaria, D.R., 2009).

Trong những năm gần đây, một số kỹ thuật đã được phát triển để nâng cao hiệu quả của LIP khi dùng bằng đường uống (Daeihamed,

M., et al, 2017; Makwana V., 2021). Một trong những phương pháp này liên quan đến việc chức năng hoá bề mặt LIP nhằm bảo vệ chúng khỏi môi trường tiêu hóa khắc nghiệt, tăng sự hấp thụ, giảm chuyển hoá,... [3, 16, 17] (Badshah, M., 2017; Nguyen, H.T., 2021; Nguyen, T. X., Huang, L., Gauthier, M., Yang, G., Wang, Q., 2016). Công thức LIP-DOX được phủ bởi nhiều lớp polyme mang điện đã được bào chế và chứng minh không chỉ cung cấp một cấu trúc bền chắc giúp bảo vệ DOX khỏi môi trường khắc nghiệt của dạ dày mà còn làm tăng sinh khả dụng của thuốc (Nguyen, H.T., Trinh, T.N., Vong, L.B., 2021). Ảnh hưởng của các thông số công thức LIP khác nhau (thành phần lipid, kích thước hạt,...) đối với sự hấp thu DOX qua đường uống đã được nghiên cứu *in vitro* và *in vivo* cho thấy hiệu quả của LIP đường uống phụ thuộc nhiều vào đặc tính hóa lý của công thức và dùng LIP có thể cải thiện sinh khả dụng đường uống của DOX (Nguyen, T. X., Huang, L., Gauthier, M., Yang, G., Wang, Q., 2016). Việc sử dụng các LIP qua trung gian taurine-chitosan để tăng cường hấp thu DOX qua đường uống đã được chứng minh (Badshah, M., Ullah, H., Khan, S. A., Park, J. K., Khan, T., 2017). Hơn nữa, cellulose vi khuẩn (BC) là một polyme tự hủy sinh học được tạo thành bằng con đường sinh học trong môi trường có các chất dinh dưỡng khác nhau (Nguyen, T. X., Huang, L., Liu, et al, 2014). BC có cấu tạo không gian theo kiểu mạng lưới bao gồm nhiều sợi nhỏ siêu mịn ở kích thước nanomet, có độ tinh khiết khá cao và có tính xốp chọn lọc, có khả năng thấm và hút nước tốt, giữ nước cao,... (Nguyen, T. X., Huang, L., Liu, 2014; Nguyen, T. X., Pham, M. V., Cao, C. B., 2020). Trong y học, BC được quan tâm và sử dụng làm mặt nạ để nuôi dưỡng da, tá dược, mạch máu nhân tạo dùng trong cấy ghép, hệ dẫn và phân phối dược chất, màng trị bỏng và tá dược,... BC được dùng làm vật dẫn và phân phối berberine *in vitro* qua đường uống (Nguyen, T. X., Huang, L., Liu, L., Abdalla, A. M. E., Gauthier, M., Yang, G., 2014)

Đặc biệt, BC còn là nguồn tạo sợi nano cellulose tự nhiên (Pham, H.M.T., Nguyen, L.V., Nguyen, Q.T, 2014). Các sợi nano cellulose vi khuẩn có thể dùng để chức năng hoá bề mặt của LIP và có thể giúp bảo vệ LIP ở môi trường có chứa enzyme và pH ở đường dạ dày ruột. Mục đích của nghiên cứu này nhằm bào chế hệ nanoliposomes bọc các sợi nano cellulose vi khuẩn dẫn DOX định hướng dùng cho đường uống.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu và trang thiết bị

Vật liệu: Màng BC tinh khiết được cung cấp từ một nghiên cứu khác (Singhsa, P., Narain, R., Manuspiya, H, 2018). Doxorubicin hydrochloride (Doxorubicin: DOX), cholesterol, lecithin, stearylamine được cung cấp bởi Công ty Glentham Life Sciences (Anh). Các hóa chất khác đều đạt tiêu chuẩn dùng trong phân tích.

Trang thiết bị: Cân phân tích (Sartorius, Thụy Sĩ); Máy khuấy từ gia nhiệt HS15-26P (Misung, Hàn Quốc); Máy phân tích kích thước hạt nano SZ-100Z (Horiba Scientific, Nhật Bản); Máy đo pH, mV, nhiệt độ để bàn Lab 855 (SI Analytic, Đức); Túi thẩm tích Spectrumlab/Por 4, MWCO: 12-14 kD (Spectrum Labs, Mỹ); Bể siêu âm Ultrasound CB S-100H (Elma, Đức); Bộ Micropipette đơn kênh (Capp, Đan Mạch); Thiết bị giảm kích thước bằng cách đẩy qua màng (Estern Scientific, Mỹ); Máy đo quang phổ UV-Vis 2450 (Shimadzu, Nhật Bản); Máy thử độ hoà tan Agilent 708-DS (Agilent Technologies, Malaysia); Máy cô quay chân không WEV-101V (Daihan, Hàn Quốc) và một số trang thiết bị khác đạt tiêu chuẩn thí nghiệm.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phương pháp chuẩn bị các dung dịch đệm

Các dung dịch đệm có pH là 5,5; 7,4 được chuẩn bị theo Dược Điển Việt Nam và nghiên cứu khác (Golla, K., Reddy, P.S., Bhaskar, C., Kondapi A.K, 2013; Nguyen, H.T., Trinh, T.N., Vong, L.B, 2021). Hoà tan 1,68 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  vào 100 mL nước

cát, đo pH và hiệu chỉnh pH (nếu cần) bằng dung dịch NaOH 10% thu được dung dịch đệm ammonium sulfate pH = 5,5. Hoà tan 0,6 g kali dihydrophosphate; 6,4 g dinatri hydrophosphate và 5,85 g natri chloride trong nước vừa đủ 1000 mL, đo pH và hiệu chỉnh pH (nếu cần) thu được dung dịch đệm phosphate pH = 7,4. Hoà tan 140 mM NaCl và 10 mM acid 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazin ethanesulfonic trong nước cất, đo pH và hiệu chỉnh pH (nếu cần) bằng dung dịch NaOH 1 M hoặc HCl 1 M thu được dung dịch đệm HEPES pH = 7,4.

#### 2.2.2. Phương pháp chuẩn bị hệ liposomes dẫn DOX

LIP được bào chế từ lecithin, cholesterol và stearylamine (4:1:0,149; w/w) theo phương pháp hydrate hóa màng mỏng và giảm kích thước tiểu phân bằng phương pháp đùn/ép [2, 7, 17]. Hoà tan lecithin, cholesterol và stearylamine trong 50 mL cloroform trong bình cầu của hệ thống cất quay (ở nhiệt độ phòng). Cất quay trong khoảng 12 giờ với tốc độ 50 vòng/phút và ở 40°C. Sau đó, dung dịch đệm ammonium sulfate pH = 5,5 được sử dụng để hydrate hóa lớp màng mỏng lipid ở 60°C. LIP thu được sẽ được giảm kích thước và đồng nhất hoá bằng thiết bị đùn/ép. LIP đạt kích thước sẽ được đổi môi trường bên ngoài thành đệm HEPES pH = 7,4 bằng kỹ thuật thẩm tích. Nâng nhiệt độ của hỗn dịch LIP đã tạo chênh lệch pH lên 55 đến 60°C rồi hoà tan DOX vào và ủ trong 15 phút. LIP-DOX tạo thành được bảo quản ở nhiệt độ 2 đến 8°C.

#### 2.2.3. Phương pháp chế tạo các sợi nano cellulose vi khuẩn

Các sợi nano cellulose vi khuẩn (NanoBCF) được tạo ra theo kết quả của các công bố khác (Pham, H.M.T., Nguyen, L.V., Nguyen, Q.T, 2014; Thanki, K., Gangwal, R. P., Sangamwar, A. T., Jain, S, 2013). cụ thể như sau: Bột cellulose từ màng BC tinh khiết được tạo ra bằng cách sử dụng máy xay BC với vận tốc 1500 v/p trong thời gian ba phút, sau đó loại bỏ nước. Cân 50 g bột

cellulose cho vào một cốc thủy tinh 1000 mL, sau đó thêm 400 mL dung dịch acid  $H_2SO_4$  60%, tiến hành thủy phân trên máy khuấy từ với tốc độ 300 v/p trong thời gian 120 phút ở 60°C. Tiếp theo, cho 450 mL nước cất vào hỗn hợp để pha loãng và để loại bỏ axit từ hỗn hợp, sử dụng máy ly tâm ở 6000 v/p trong 15 phút cho đến khi phần nổi phía trên trở nên đục. Cuối cùng, phần lắng đọng ở phía dưới là NanoBCF.

#### 2.2.4. Phương pháp chế tạo hệ liposomes dẫn DOX bọc các sợi nano cellulose vi khuẩn

Tạo hỗn dịch NanoBCF bằng cách hòa tan trong nước nguyên chất có khuấy qua đêm với tỷ lệ 0,1% (w/v) lượng NanoBCF (Thanki, K., Gangwal, R. P., Sangamwar, A. T., Jain, S, 2013). Sau đó, thêm hỗn dịch LIP-DOX vào hỗn dịch có thể tích tương đương của NanoBCF ở nhiệt độ phòng và ủ trong 1 giờ trong điều kiện dùng khuấy từ liên tục.

#### 2.2.5. Phương pháp phân tích các tính chất của hệ nano

Sử dụng hệ thống phân tích kích thước hạt cỡ nano SZ-100Z (Aloss, K., Hamar, P, 2023) để đo kích thước hạt (KTTP), thế zeta (Zeta) và chỉ số đa phân tán (PDI) của hệ nano. Thế zeta được đo ở nhiệt độ buồng đo 25°C, sử dụng cuvet nhựa với điện cực carbon. KTTP và PDI được đo ở nhiệt độ buồng đo 25°C, góc đo 90°, số lần đo trên 1 lần đưa mẫu là 01 lần, sử dụng cuvet thạch anh.

Hiệu suất LIP hóa [2, 7] là phần trăm được chất gắn vào bên trong LIP. Tiến hành tách DOX tự do bằng túi thẩm tích, sau đó định lượng DOX trong LIP còn lại trong túi, so sánh với lượng DOX ban đầu (toàn phần) để tính hiệu suất LIP hóa theo công thức 1: Trong đó: Qt là lượng DOX được thêm vào theo lý thuyết, H là suất LIP hóa, Qd là lượng DOX được thẩm tách. Cụ thể như sau: Cho vào trong túi thẩm tích 1 thể tích chính xác chế phẩm. Treo túi thẩm tích ngập trong dung dịch đệm phosphate pH = 7,4. Thể tích dung dịch đệm gập 100 lần thể tích chế

phẩm trong túi. Để yên 24 giờ ở nhiệt độ từ 5 đến 10°C. Định lượng DOX trong môi trường ngoài túi thẩm tích bằng máy đo quang phổ UV-Vis 2450 ở bước sóng 480 nm.

#### 2.2.6. Đánh giá sự ổn định của hệ nano trong dịch tiêu hóa mô phỏng

Độ ổn định hóa lý của LIP-DOX hoặc NanoBCF-LIP-DOX được đánh giá trong môi trường dịch tiêu hóa mô phỏng gồm dịch dạ dày mô phỏng (SGF, pH = 1,2) và dịch ruột mô phỏng (SIF, pH = 6,8) [7, 16]. SGF với pH = 1,2 được điều chế bằng cách hòa tan 100 mg pepsin trong 5 mL dung dịch nước chứa 0,35 mL HCl đậm đặc, sau đó bổ sung 100 mg natri chloride, điều chỉnh thể tích (tối đa 50 mL) bằng nước và điều chỉnh pH về 1,2 bằng cách thêm HCl đậm đặc. SIF với pH = 6,8 được chuẩn bị bởi hòa tan 340 mg kali phosphate trong 10 mL dung dịch nước, sau đó thêm 3,85 mL NaOH 0,2 M và 500 mg pancreatin đã được thêm vào; Thể tích cuối cùng được định mức là 50 mL và pH được điều chỉnh về 6,8 bằng NaOH; Để mô phỏng tác dụng của muối mật thì natri taurocholate 3 mM đã được thêm vào SIF. Trong SGF và SIF, tương ứng, 1 mL công thức hệ nano được thêm vào 9 mL dịch tiêu hóa mô phỏng và hỗn hợp này sau đó được ủ trong 2 và 6 giờ (Nguyen, H.T., Trinh, T.N., Vong, L.B, 2021). Kích thước hạt, thế zeta và hiệu quả đóng gói được đánh giá như đã nêu cho mỗi công thức tại thời điểm bắt đầu hoặc kết thúc.

#### 2.2.7. Đánh giá sự giải phóng DOX của hệ nano

Đánh giá sự giải phóng DOX từ hệ nano (LIP-DOX hoặc NanoBCF-LIP-DOX) hoặc từ dung dịch DOX được thực hiện bằng cách sử dụng máy thử độ hoà tan Agilent 708-DS (Agilent Technologies, Malaysia) theo phương pháp màng thẩm tích và ở trong môi trường dung dịch đệm phosphate pH = 7,4 (tương đương pH của máu) ở 37°C (Golla, K., Reddy, P.S., Bhaskar, C., Kondapi A.K., 2013). Lấy 2 mL của mỗi mẫu (LIP-DOX hoặc NanoBCF-LIP-DOX) được trộn

với 2 mL môi trường đệm phosphate pH = 7,4 được đặt trong túi thẩm tích Spectrumlab/Por 4, MWCO: 12-14 kD (Spectrum Labs, Mỹ), túi này được buộc kín và đặt vào 900 mL môi trường đệm phosphate pH = 7,4 và giữ ở nhiệt độ 37 ± 0,5°C với tốc độ khuấy của 100 vòng/phút. Sau các khoảng thời gian 0 giờ, 1 giờ, 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 8 giờ, 10 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 DOX được tính theo công thức 2:  $R(\%) = \frac{C_t}{C_0} \times 100\%$  (2). Trong công thức (2): R là tỷ lệ giải phóng DOX;  $C_t$  là nồng độ của dung dịch DOX 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 hệ nano.

#### 2.2.8. Đánh giá động học và cơ chế giải phóng dược chất

Mô hình động học giải phóng dược chất cho phép dự đoán lượng dược chất giải phóng ra khỏi dạng bào chế sau khoảng thời gian nhất định trong điều kiện thử nghiệm. Việc nghiên cứu động học giải phóng dược chất nhằm biết được bản chất của việc giải phóng dược chất ra khỏi dạng bào chế. DDSolver được sử dụng để xác định giá trị của các mô hình động học khác nhau [24]. Các mô hình khác nhau mô tả động học giải phóng dược chất bao gồm: Bậc không (Zero order); Bậc nhất (First

order); Higuchi; Hixson-Crowell; Korsmeyer-Peppas.

### 2.3. Xử lý số liệu

Phân tích xử lý các số liệu thông qua phần mềm Microsoft Excel 2016 và được trình bày dưới dạng “số trung bình ± độ lệch chuẩn” (± SD). DDSolver (tiện ích mở rộng hỗ trợ cho Microsoft Excel) (Zhang, Y., et al, 2010) và Analysis ToolPak (trong Microsoft Excel 2016) được dùng để phân tích dữ liệu. Khi giá trị p nhỏ hơn 0,05 thì những khác biệt được coi là có ý nghĩa thống kê. Mỗi công thức được đo lặp lại ít nhất 3 lần.

## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Chuẩn bị hệ LIP-DOX bọc và không bọc các sợi nano cellulose vi khuẩn

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy, hệ nano gồm LIP-DOX và NanoBCF-LIP-DOX được tạo thành với kích thước cỡ nhỏ (< 200 nm), có sự phân bố cỡ hạt khá đồng đều (chỉ số PDI < 0,25) và có hiệu suất LIP hoá thu được khá cao (> 90% với LIP-DOX và > 80% với NanoBCF-LIP-DOX). Như vậy, sau khi được bọc các sợi nano cellulose vi khuẩn (NanoBCF) thì hệ LIP-DOX có sự giảm điện thế zeta từ 52,4 (ở LIP-DOX) xuống còn 36,2 (ở NanoBCF-LIP-DOX) và hiệu suất LIP giảm nhẹ (84,3% ở NanoBCF-LIP-DOX). Kết quả nghiên cứu này cho thấy có sự tương đồng với kết quả ở một số công bố khác khi LIP được bọc bằng các polyme khác (Golla, K., Reddy, P.S., Bhaskar, C., Kondapi A.K.,2013) hoặc LIP được bọc bởi NanoBCF dẫn paclitaxel (Thanki, K., et al, 2013).

**Bảng 1. Đặc tính của hệ LIP-DOX bọc và không bọc NanoBCF (± SD, n = 3)**

Công thức	KTTP (nm)	PDI	Zeta (mV)	Hiệu suất (%)
LIP-DOX	119,6 ± 6,3	0,23 ± 0,06	52,4 ± 4,7	91,6 ± 5,3
NanoBCF-LIP-DOX	192,7 ± 7,5	0,24 ± 0,08	36,2 ± 3,5	84,3 ± 5,9

### 3.2. Đánh giá sự độ ổn định của hệ nano trong dịch tiêu hóa mô phỏng

Sự mất ổn định của LIP do sự kết tụ và phân rã trong môi trường đường tiêu hóa (GI) là hạn chế chính đối với việc sử dụng LIP bằng đường uống. Do đó, việc sử dụng thuốc đường uống hiệu quả phụ thuộc vào việc tăng tính ổn định của LIP được nạp thuốc trong GI. Đã có một số nỗ lực thay đổi tính ổn định của LIP bằng cách sử dụng polyme để ổn định chúng và cho phép sử dụng chúng trong phân phối qua đường miệng (Badshah, M., et al, 2017). Kết quả ở Bảng 2 cho thấy độ ổn định và tác dụng bảo vệ được nâng cao sau khi phủ NanoBCF trên bề mặt LIP được ủ trong SGF và SIF. Khi được ủ trong SGF và SIF, kích thước hạt của LIP-DOX tăng theo thời gian, cho thấy nó không ổn định trong môi trường GI. Quan sát này có thể được giải thích bởi khả năng LIP tích điện dương có thể hấp phụ các vật liệu tích điện âm trong môi trường GI,

điều này sẽ khiến LIP trở nên không ổn định và kết tụ. Hơn nữa, muối mật và các chất hoạt động bề mặt khác được tìm thấy trong đường tiêu hóa có tác động lớn đến sự ổn định cấu trúc của LIP. Ngoài ra, lipase tụy phá vỡ phospholipid, điều này có thể dẫn đến sự mất ổn định của LIP (Daeihamed, M., et al, 2017). Khi ủ trong SGF và SIF, kích thước hạt NanoBCF-LIP-DOX giảm nhẹ theo thời gian. Điều này có thể là do NanoBCF che chắn một phần bề mặt LIP trong môi trường GI. Hơn nữa, kết quả trong nghiên cứu này cũng cho thấy trong SGF và SIF, NanoBCF-LIP-DOX thể hiện độ ổn định tương đối cao hơn so với LIP-DOX. Kết quả ở Bảng 2 cho thấy NanoBCF-LIP-DOX có sự che chắn của lớp NanoBCF làm ngăn chặn sự rò rỉ thuốc từ sự tiếp xúc với LIP và phospholipid với môi trường GI. Sự rò rỉ DOX từ NanoBCF-LIP-DOX giảm hơn so với LIP-DOX khi được ủ trong SGF và SIF.

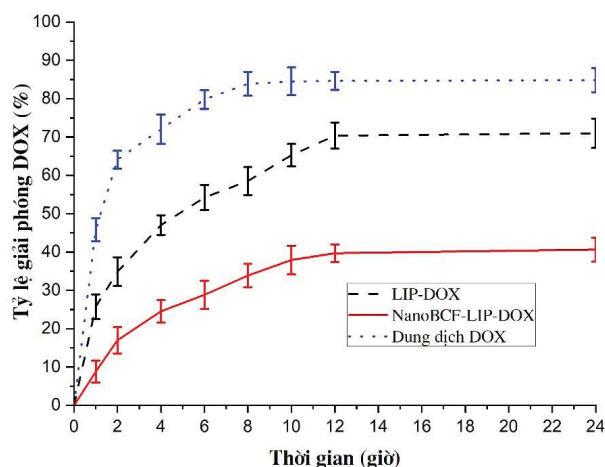
**Bảng 2. Độ ổn định của LIP-DOX và NanoBCF-LIP-DOX trong dịch tiêu hóa mô phỏng ở 37 °C (± SD, n = 3)**

Công thức	KTPP (nm)		Zeta (mV)		Hiệu suất (%)	
	Bắt đầu	Kết thúc	Bắt đầu	Kết thúc	Bắt đầu	Kết thúc
LIP-DOX						
SGF với pH 1,2	119,6 ± 6,3	187,0 ± 10,6	52,4 ± 4,7	60,5 ± 5,7	91,6 ± 5,3	40,6 ± 9,5
SIF với pH 6,8	119,6 ± 6,3	165,0 ± 9,3	52,4 ± 4,7	78,7 ± 6,1	91,6 ± 5,3	55,2 ± 10,7
<b>NanoBCF-LIP-DOX</b>						
SGF với pH 1,2	192,7 ± 7,5	195,7 ± 8,6	36,2 ± 3,5	38,7 ± 4,1	84,3 ± 5,9	80,6 ± 4,3
SIF với pH 6,8	192,7 ± 7,5	198,5 ± 9,4	36,2 ± 3,5	37,6 ± 3,9	84,3 ± 5,9	78,8 ± 5,5

### 3.3. Đánh giá sự giải phóng DOX của hệ nano

Tỷ lệ DOX được giải phóng từ dung dịch DOX, hoặc từ LIP-DOX, hoặc từ NanoBCF-LIP-DOX trong môi trường pH = 7,4 được trình bày ở Hình 1 cho thấy, tốc độ giải phóng DOX (từ dung dịch DOX, hoặc từ LIP-DOX, hoặc từ NanoBCF-LIP-DOX) xảy ra nhanh trong 120 phút đầu tiên, đạt 16,96-64,11% (16,96% từ NanoBCF-LIP-DOX; 34,87% từ LIP-DOX; 64,11% từ dung dịch DOX). Sự giải phóng của DOX được kéo dài đến

12 giờ ở LIP-DOX và đạt khoảng 70%; trong khi DOX được giải phóng kéo dài đến 12 giờ ở NanoBCF-LIP-DOX và đạt khoảng 40%. Ngoài ra, kết quả ở Hình 1 còn cho thấy sự giải phóng DOX từ NanoBCF-LIP-DOX chậm và kéo dài hơn so với từ LIP-DOX hay từ dung dịch DOX. Kết quả nghiên cứu này cho thấy hàm lượng thuốc giải phóng trong 120 phút đầu ít hơn nhưng thời gian giải phóng kéo dài hơn so với các nghiên cứu khác [7, 16, 23].



Hình 1. Tỷ lệ DOX giải phóng từ hệ nano trong môi trường dịch dạ dày mô phỏng ( $\pm$  SD, n = 3)

**3.4. Đánh giá động học và cơ chế giải phóng DOX của hệ nano**

Đánh giá động học giải phóng DOX (từ LIP-DOX hoặc NanoBCF-LIP-DOX) trong môi trường pH = 7,4 được thực hiện theo các mô hình như: Bậc không (Zero order); Bậc nhất (First order); Higuchi; Hixson-Crowell; Korsmeyer-Peppas. Dựa trên kết quả phân tích có thể xác định được động học quá trình giải phóng DOX từ LIP-DOX hoặc từ NanoBCF-LIP-DOX, nhằm tìm ra cơ chế giải phóng DOX của LIP-DOX hoặc của NanoBCF-LIP-DOX. Kết quả trình bày ở Bảng 3 cho biết các thông số động học của quá trình giải phóng DOX từ LIP-DOX hoặc từ NanoBCF-LIP-DOX trong dung dịch pH = 7,4. Phân tích động học giải phóng DOX từ LIP-DOX hoặc từ

NanoBCF-LIP-DOX trong dung dịch pH = 7,4 theo thời gian như được nêu ở Bảng 3 cho thấy, DOX được giải phóng từ LIP-DOX tuân theo mô hình Korsmeyer-Peppas vì phương trình hồi quy tuyến tính theo mô hình này có hệ số tương quan R<sup>2</sup> lớn nhất (R<sup>2</sup> = 0,9643) và với hệ số giải phóng n = 0,494 (n > 0,45) nên cơ chế giải phóng của DOX theo cơ chế khuếch tán không theo định luật Fick (khuếch tán kèm theo sự bào mòn); Trong khi, quá trình giải phóng DOX từ NanoBCF-LIP-DOX tuân theo mô hình Higuchi vì phương trình hồi quy tuyến tính theo mô hình này có hệ số tương quan R<sup>2</sup> lớn nhất (R<sup>2</sup> = 0,9482) và với hệ số giải phóng n = 0,364 (n < 0,45) nên DOX giải phóng theo cơ chế khuếch tán theo định luật Fick. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với nghiên cứu khác (Thanki, K., et al, 2013).

**Bảng 3. Giá trị về hệ số tương quan (R<sup>2</sup>) và hệ số giải phóng (n) của LIP-DOX và NanoBCF-LIP-DOX trong môi trường dịch dạ dày mô phỏng ở 37°C**

Công thức	Hệ số tương quan (R <sup>2</sup> )					(n)	Cơ chế giải phóng
	Bậc không	Bậc nhất	Higuchi	Hixson-Crowell	Korsmeyer-Peppas		
LIP-DOX	0,7840	0,7549	0,8187	0,8438	0,9643	0,494	Khuếch tán không theo định luật Fick
NanoBCF-LIP-DOX	0,8080	0,8855	0,9482	0,8623	0,9346	0,364	Khuếch tán theo định luật Fick



#### 4. Kết luận

Nghiên cứu bào chế thành công hệ LIP-DOX hoặc NanoBCF-LIP-DOX với kích thước cỡ nano (< 200 nm), có sự phân bố cỡ hạt khá đồng đều (chỉ số PDI < 0,25) và với hiệu suất LIP hoá thu được khá cao (> 80%). DOX được giải phóng nhanh từ LIP-DOX hoặc NanoBCF-LIP-DOX, sau đó chậm dần trong 120 phút đầu. Sự giải phóng của DOX từ LIP-DOX, hoặc từ NanoBCF-LIP-DOX kéo dài đến 12 giờ. DOX giải phóng từ NanoBCF-LIP-DOX chậm hơn từ LIP-DOX. Quá trình giải phóng DOX từ LIP-DOX hoặc từ NanoBCF-LIP-DOX theo cơ chế khuếch tán và tuân theo mô hình Higuchi (ở NanoBCF-LIP-DOX) và mô hình Korsmeyer-Peppas (ở LIP-DOX). Kết quả đã chứng minh bào chế thành công hệ NanoBCF-LIP-DOX nhằm tạo ra một hệ thống phân phối DOX giải phóng kéo dài tiềm năng dùng cho đường uống.

#### Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được hỗ trợ tài chính của Bộ Giáo dục và Đào tạo (đề tài KH&CN cấp Bộ, mã số B.2022-SP2-06).

#### REFERENCES

Ahmad, N., Ahmad, R., Alam, M.A., Ahmad, F.J (2018). Enhancement of oral bioavailability of doxorubicin through surface modified biodegradable polymeric nanoparticles. *Chemistry Central Journal*, 12(1): 65. DOI: 10.1186/s13065-018-0434-1.

Aloss, K., Hamar, P (2023). Recent preclinical and clinical progress in liposomal doxorubicin. *Pharmaceutics*, 15(3): 893. DOI: 10.3390/pharmaceutics15030893.

Badshah, M., Ullah, H., Khan, S. A., Park, J. K., Khan, T (2017). Preparation, characterization and in-vitro evaluation of bacterial cellulose matrices for oral drug delivery. *Cellulose*, 24 (11): 5041-5052. DOI: 10.1007/s10570-017-1474-8.

Cao, C. B., Ong, P. X., Nguyen, T. X (2024). Study on formulation of bacterial cellulose nanofibers-coated nanoliposomes containing paclitaxel for oral administration. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 16(2): 202-208. DOI: 10.22159/ijap.2024v16i2.50056.

Daeihamed, M., Haeri, A., Ostad, S.N., Akhlaghi, M.F., Dadashzadeh, S (2017). Doxorubicin-loaded liposomes: enhancing the oral bioavailability by modulation of physicochemical characteristics. *Nanomedicine*, 12(10): 1187-1202. DOI: 10.2217/nnm-2017-0007.

DaeihamedM.,HaeriA.,OstadS.N.,AkhlaghiM.F., Dadashzadeh S. (2017). Doxorubicin-loaded liposomes: Enhancing the oral bioavailability by modulation of physicochemical characteristics. *Nanomedicine (Lond)*, 12(10): 1187-1202. DOI: 10.2217/nnm-2017-0007.

Golla, K., Reddy, P.S., Bhaskar, C., Kondapi A.K. (2013). Biocompatibility, absorption and safety of protein nanoparticle-based delivery of doxorubicin through oral administration in rats, *Drug Delivery*, 20(3-4): 156-167, DOI: 10.3109/10717544.2013.801051.

He, H., Lu, Y., Qi, J., Zhu, Q., Chen, Z., Wu, W (2019). Adapting liposomes for oral drug delivery. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 9(1): 36-48. DOI: 10.1016/j.apsb.2018.06.005.

He, H., Yuan, D., Wu, Y., Cao, Y (2019). Pharmacokinetics and pharmacodynamics modeling and simulation systems to support the development and regulation of liposomal drugs. *Pharmaceutics*, 11(3): 110. DOI: 10.3390/pharmaceutics11030110.

Huang, L., Chen, X., Nguyen, T. X., Tang, H., Zhang, L., Yang, G (2013). Nano-cellulose 3D-networks as controlled-release drug carriers. *Journal of Materials Chemistry B*, 1: 2976-2984. DOI: 10.1039/C3TB20149J.

Islam, M. U., Ullah, M. W., Khan, S., Shah, N., Park, J. K (2017). *Strategies for cost-effective*

- and enhanced production of bacterial cellulose. *Int. J. Biol. Macromol.*, 102, 1166-1173. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.04.110.
- Jain S., Patil S.R., Swarnakar N.K., Agrawal A.K (2012). Oral delivery of doxorubicin using novel polyelectrolyte-stabilized liposomes (layersomes). *Molecular Pharmaceutics*, 9(9): 2626-2635. DOI: 10.1021/mp300202c.
- Ke, W., Zhao, Y., Huang, R., Jiang, C., Pei, Y (2008). Enhanced oral bioavailability of doxorubicin in a dendrimer drug delivery system. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(6): 2208-2216. DOI: 10.1002/jps.21155.
- Kalaria, D.R., Sharma, G., Beniwal, V., Ravi Kumar, M.N.V (2009). Design of biodegradable nanoparticles for oral delivery of doxorubicin: *In vivo* pharmacokinetics and toxicity studies in rats. *Pharmaceutical Research*, 26: 492-501. DOI: 10.1007/s11095-008-9763-4.
- Makwana V., Karanjia J., Haselhorst T., Anoopkumar-Dukie S., Rudrawar S (2021). Liposomal doxorubicin as targeted delivery platform: Current trends in surface functionalization. *International Journal of Pharmaceutics*, 593: 120117. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.120117.
- Nguyen, H.T., Trinh, T.N., Vong, L.B (2021). Studying the anticancer activity *in vitro* of doxorubicin-encapsulated pH-sensitive redox nanoparticles. *Version B of Vietnam Journal of Science and Technology (Medical and Pharmacological Sciences)*, 63(5): 22-28. DOI: 10.31276/VJST.63(5).22-28.
- Nguyen, T. X., Huang, L., Gauthier, M., Yang, G., Wang, Q (2016). Recent advances in liposome surface modification for oral drug delivery. *Nanomedicine (Lond)*, 11(9): 1169-1185. DOI: 10.2217/nmm.16.9.
- Nguyen, T. X., Huang, L., Liu, L., Abdalla, A. M. E., Gauthier, M., Yang, G (2014). Chitosan-coated nano-liposomes for the oral delivery of berberine hydrochloride. *Journal of Materials Chemistry B*, 2(41): 7149-7159. DOI: 10.1039/c4tb00876f.
- Nguyen, T. X., Pham, M. V., Cao, C. B (2020). Development and evaluation of oral sustained-release ranitidine delivery system based on bacterial nanocellulose material produced by *Komagataeibacter xylinus*. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 12(3): 48-55. DOI: 10.22159/ijap.2020v12i3.37218.
- Pham, H.M.T., Nguyen, L.V., Nguyen, Q.T (2014). Study on preparation of liposome doxorubicin and amphotericin B by thin film hydration method. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 23: 61-64.
- Qin, S., Wen, Z., Huang, H., Wu, W (2024). Use of novel taurine-chitosan mediated liposomes for enhancing the oral absorption of doxorubicin via the TAUT transporter. *Carbohydrate Polymers*, 329: 121780. DOI: 10.1016/j.carbpol.2024.121780.
- Singhsa, P., Narain, R., Manuspiya, H (2018). Bacterial cellulose nanocrystals (BCNC) preparation and characterization from three bacterial cellulose sources and development of functionalized BCNCs as nucleic acid delivery systems. *ACS Applied Nano Materials*, 1: 209-221. DOI: 10.1021/acsanm.7b00105.
- Thanki, K., Gangwal, R. P., Sangamwar, A. T., Jain, S (2013). *Oral delivery of anticancer drugs: challenges and opportunities*. *J Control Release*; 170(1):15-40. DOI: 10.1016/j.jconrel.2013.04.020.
- Zhang, Y., Huo, M., Zhou, J., Zou, A., Li, W., Yao, C., Xie, S (2010). DDSolver: An add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles. *AAPS Journal*, 12(3): 263-71. DOI: 10.1208/s12248-010-9185-1.