

ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ LASER TĂNG ĐỘ TAN CỦA CURCUMIN VÀ ĐỊNH HƯỚNG ỨNG DỤNG TRONG ĐIỀU TRỊ UNG THƯ

TS. Hà Thị Thanh Hương¹, Lê Hồng Quyên², Viên Ngọc Anh²,
Trần Mạnh Hùng³, Đỗ Hoàng Hải Nam⁴, TS. Đào Huyền Quyên⁵,
ThS. Đặng Thị Ngân⁶, PGS.TS Lê Quang Huân¹

¹Trường Đại học Hòa Bình

²Trường THPT Lê Hồng Phong, Hà Giang

³Đại học Bách khoa Hà Nội

⁴Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội

⁵Bệnh viện Bạch Mai

⁶Trường Đại học Y Dược - ĐHQGHN

Tác giả liên hệ: htthuong@daihochoabinh.edu.vn

Ngày nhận: 17/02/2025

Ngày nhận bản sửa: 19/02/2025

Ngày duyệt đăng: 24/02/2025

Tóm tắt

Độ hòa tan trong nước thấp là một thách thức lớn đối với nhiều hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học. Thực tế, có đến 40% các dược phẩm hiện hành và ước tính 90% các hợp chất tiềm năng đang trong giai đoạn phát triển gặp phải vấn đề về độ tan kém trong môi trường nước. Hạn chế này dẫn đến nhiều hệ quả bất lợi, bao gồm việc cần tăng liều lượng thuốc để đạt hiệu quả điều trị, kéo theo sự gia tăng chi phí sản xuất và nguy cơ tác dụng phụ cho bệnh nhân. Do đó, việc phát triển các quy trình công nghệ tiên tiến để tạo ra vật liệu có kích thước tối ưu, từ đó, nâng cao độ hòa tan và sinh khả dụng của các hợp chất kém tan là vô cùng cần thiết.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiếp cận vấn đề trên bằng cách ứng dụng công nghệ laser để tạo ra các hạt curcumin có kích thước nanomet. Mục tiêu chính của phương pháp này là tăng cường diện tích bề mặt tiếp xúc của curcumin với môi trường hòa tan, từ đó, cải thiện đáng kể độ hòa tan trong nước của hợp chất này. Để đánh giá hiệu quả của phương pháp, sản phẩm curcumin sau khi xử lý laser đã được kiểm định về độ hòa tan và khả năng ức chế sự phát triển của các dòng tế bào ung thư khác nhau.

Kết quả phân tích cho thấy, kích thước trung bình của các hạt curcumin sau khi xử lý bằng laser đạt 167 nm, nằm trong phạm vi kích thước nanomet. Đáng chú ý, độ hòa tan của curcumin đã tăng lên gấp 4,5 lần so với mẫu curcumin không qua xử lý laser. Về tác dụng sinh học, curcumin sau xử lý laser thể hiện khả năng ức chế mạnh mẽ dòng tế bào ung thư biểu mô gan HepG2 với giá trị IC₅₀ là 19,81 µg/mL và dòng tế bào ung thư biểu mô đại trực tràng HTC116 với IC₅₀ là 2,408 µg/mL. Tuy nhiên, curcumin cho thấy tác dụng ức chế rất hạn chế trên dòng tế bào không ung thư HDF, gợi ý về tính chọn lọc tiềm năng trong tác dụng chống ung thư của curcumin sau khi được xử lý bằng laser.

Từ khóa: Laser, curcumin, chống ung thư.

Application of Laser Technology to Enhance Curcumin Solubility and Its Potential in Cancer Treatment

Dr. Ha Thi Thanh Huong¹, Le Hong Quyen², Vien Ngoc Anh²,
Tran Manh Hung³, Do Hoang Hai Nam⁴, Dr. Dao Huyen Quyen⁵,
MA. Dang Thi Ngan⁶, Assoc. Prof., Dr. Le Quang Huan¹

¹Hoa Binh University

²Le Hong Phong High school, Ha Giang

³Ha Noi University of Science and Technology

⁴University of Science and Technology of Hanoi

⁵Bach Mai Hospital

⁶VNU - School of Medicine and Pharmacy

Corresponding Author: htthuong@daihochoabinh.edu.vn

Abstract

Poor water solubility is a major challenge for many natural bioactive compounds. In fact, up to 40% of currently available pharmaceuticals and an estimated 90% of potential compounds under development encounter issues with low solubility in aqueous environments. This limitation leads to several adverse consequences, including the need for increased drug dosages to achieve therapeutic efficacy, which in turn raises production costs and the risk of side effects for patients. Therefore, developing advanced technological processes to create materials with optimal particle size, thereby enhancing the solubility and bioavailability of poorly soluble compounds, is crucial.

In this study, we address this issue by applying laser technology to produce nanometer-sized curcumin particles. The primary goal of this method is to enhance the surface area of curcumin exposed to the dissolution medium, thereby significantly improving its water solubility. To evaluate the effectiveness of this approach, the laser-treated curcumin product was assessed for solubility and its ability to inhibit the growth of various cancer cell lines.

Analysis results showed that the average size of curcumin particles after laser treatment was 167 nm, falling within the nanometer-sized range. Notably, the solubility of curcumin increased 4.5 times compared to untreated curcumin. Regarding biological activity, laser-treated curcumin exhibited strong inhibitory effects on hepatocellular carcinoma (HepG2) cells with an IC₅₀ value of 19.81 µg/mL and colorectal carcinoma (HTC116) cells with an IC₅₀ value of 2.408 µg/mL. However, curcumin showed very limited inhibitory effects on non-cancerous human dermal fibroblast (HDF) cells, suggesting potential selectivity in its anticancer effects after laser treatment.

Keyword: Lazer; nanocurcumin, anticancer.

1. Đặt vấn đề

Theo Hệ thống phân loại dược phẩm sinh học (BCS), các dược chất được phân thành bốn loại dựa trên độ hòa tan và tính thấm của chúng: Loại I - tính thấm cao, độ hòa tan cao; Loại II - độ thấm thấu cao, độ hòa tan thấp; Loại III - độ thấm thấp, độ hòa tan cao và Loại IV - độ thấm thấp, độ hòa tan thấp. Curcumin được phân loại là phân tử loại IV dựa trên khả năng hòa tan trong nước kém (11 ng/ml trong dung dịch đệm pH 5) và tính thấm qua các tế bào biểu mô ruột thấp [Wahlang et al., 2011; Tonnesen HH, 2002].

Curcumin là một hợp chất tự nhiên đã được chứng minh có đặc tính chống oxy hóa mạnh mẽ và hoạt tính trị liệu đối với nhiều bệnh lý khác nhau. Các nghiên cứu khoa học [Cheng et al., 2012; Bar-Sela et al., 2010; Sandhuli et al., 2021] đã chỉ ra tiềm năng của curcumin trong việc phòng ngừa và điều trị các bệnh như tiểu đường, ung thư, viêm khớp dạng thấp, đa xơ cứng, Alzheimer và xơ vữa động mạch. Tuy nhiên, ứng dụng lâm sàng của curcumin còn gặp nhiều hạn chế do độ hòa tan trong nước kém và sinh khả dụng đường uống thấp, dẫn đến khó hấp thu và phát huy hiệu quả tối đa trong cơ thể.

Để khắc phục những nhược điểm này và nâng cao hiệu quả của curcumin, chúng tôi đã phát triển một phương pháp mới để tạo ra nanocurcumin. Việc tạo ra nanocurcumin giúp tăng cường đáng kể độ hòa tan của curcumin, từ đó, mở ra tiềm năng ứng dụng rộng rãi hơn trong các sản phẩm bảo vệ sức khỏe con người. Nghiên cứu này tập trung vào việc tạo nanocurcumin bằng phương pháp laser và đánh giá hiệu quả của nó trên các dòng tế bào ung thư khác nhau, bao gồm ung thư gan, ung thư đại trực tràng và nguyên bào sợi.

2. Nguyên liệu và phương pháp

2.1. Nguyên liệu

Curcumin 98% (Sigma), nước cất 2 lần, môi trường nuôi cấy tế bào động vật DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) (BimeTech); Dòng tế bào ung thư biểu mô tế bào gan người (HepG2), dòng tế bào ung thư đại trực tràng người (HTC116), dòng tế bào nguyên bào sợi người (HDF) đều từ ATCC (American Type Culture Collection).

Các hóa chất dùng trong xác định kích thước và độ tan của curcumin như Ethanol, nước cất 2 lần; DMSO (Dimethyl sulfoxide).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tạo nanocurcumin bằng công nghệ laser.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng 50 mg curcumin với độ tinh khiết 98% hòa tan trong 10 mL nước khử ion. Thí nghiệm được thực hiện bằng chùm tia laze trên thiết bị Brilliant- ω (Viện Vật lý, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam), cung cấp xung 120 fs có tâm ở bước sóng 800 nm với tốc độ lặp lại 1 kHz. Chùm sáng hội tụ qua vật kính có tiêu cự 7,5 cm. Các thông số khác nhau đã được thử nghiệm: công suất cắt (250-400 mW), thời gian xử lý từ 40 đến 60 phút.

Xác định kích thước hạt curcumin.

Kích thước của các tinh thể nano được xác định bằng tán xạ ánh sáng động, sử dụng thiết bị Malvern Zetasizer (Vương quốc Anh). Mỗi phép đo được thực hiện ba lần trên huyền phù không pha loãng trong cuvet dùng một lần ở 25°C.

Xác định độ tan của curcumin.

Theo định nghĩa, độ tan (S) của một chất trong nước là số gam chất đó hòa tan trong 100 gam nước để tạo thành dung dịch bão hòa ở nhiệt độ xác định. Trong thí nghiệm này, để xác định độ tan của curcumin, chúng tôi dựa vào phổ hấp thụ đặc trưng của curcumin ở bước sóng 425 nm khi hòa tan trong ethanol.

Xác định tác dụng của curcumin.

Để đánh giá độc tính của curcumin và curcumin sau xử lý laser trên cả tế bào ung thư và tế bào thường, chúng tôi đã sử dụng kỹ thuật MTT. Thí nghiệm này được thực hiện theo hai nhóm: một nhóm tế bào

được điều trị bằng curcumin không xử lý laser (curcumin không cắt đốt bằng laser) và một nhóm tế bào được điều trị bằng curcumin sau xử lý laser (curcumin cắt đốt bằng laser). Mục đích là so sánh tác dụng của curcumin trong hai trạng thái này.

Kỹ thuật MTT [MTT hay 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] là một phương pháp định lượng dựa trên hoạt động của enzyme dehydrogenase trong ty thể của tế bào sống. Enzyme này có khả năng khử muối tetrazolium vòng màu vàng nhạt (MTT) thành tinh thể formazan màu xanh tím.

Sau quá trình phản ứng, tinh thể formazan tạo thành được hòa tan bằng dung dịch Dimethyl sulfoxide (DMSO). Lượng formazan hòa tan, tương ứng với số lượng tế bào sống, được đo bằng máy đọc ELISA (đầu đọc bản vi bản BioTek Synergy® HT, Mỹ) ở bước sóng 570 nm. Kết quả đo quang phổ này cho phép đánh giá định lượng về độc tính của curcumin và curcumin sau xử lý laser trên các dòng tế bào.

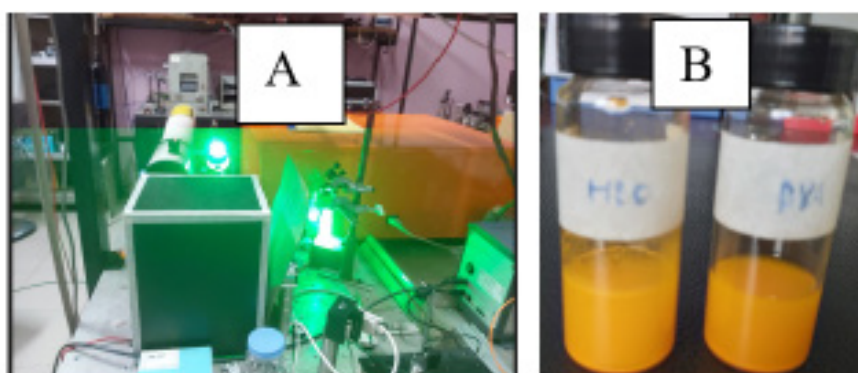
3. Kết quả và thảo luận

Tạo nanocurcumin bằng công nghệ laser.

Curcumin 98% hòa tan trong dung dịch nước khử ion với nồng độ 5 mg/mL. Sau đó, chiếu chùm tia laze có xung 120 fs (femto giây, 10^{-15}) có tâm ở 800 nm với tốc độ lặp lại là 1 kHz. Chùm sáng được hội tụ bởi vật kính có tiêu cự 7,5 cm, công suất cắt 350 mW, thời gian xử lý từ 40 phút. Kết quả mẫu thu được sau khi xử lý được thể hiện trong Hình 1.

Hình 1. Xử lý mẫu curcumin bằng laser.

(A) Bộ phát tia laze; (B) mẫu curcumin sau khi xử lý bằng laser

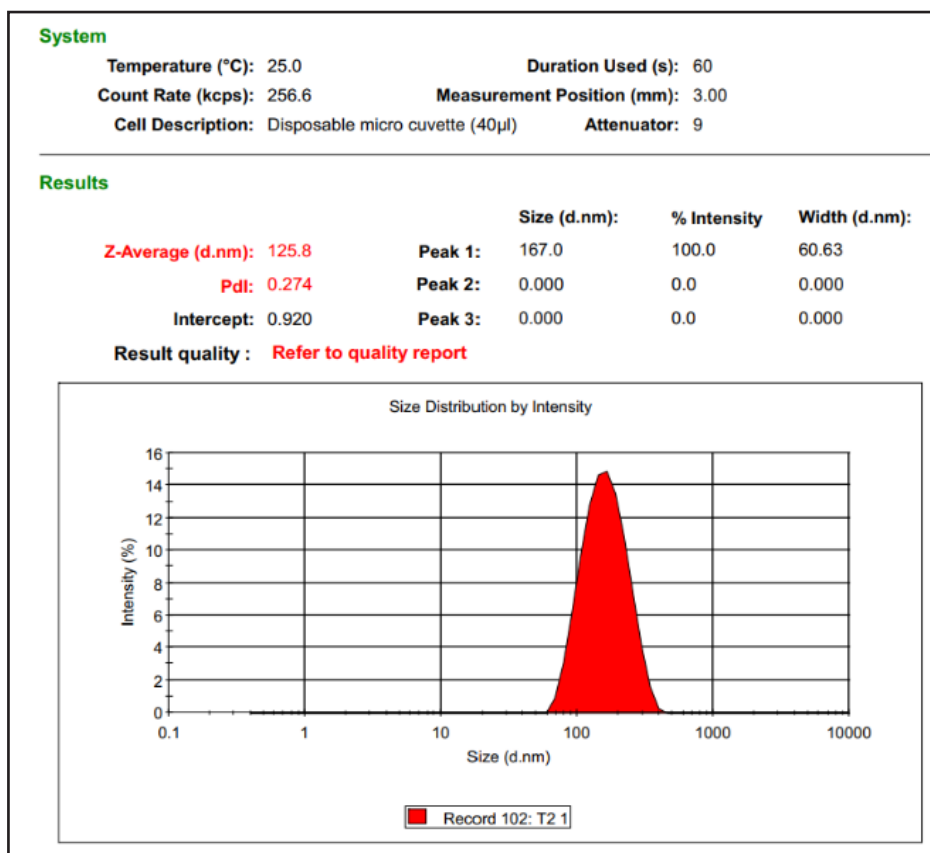


Xác định kích thước hạt curcumin.

Thiết bị Malvern sử dụng công nghệ phân tích theo dõi hạt để phân tích các hạt nano có kích thước từ 10 nm - 2000 nm trong dung dịch. Việc phân tích các hạt

riêng lẻ được thực hiện đồng thời bằng cách sử dụng công nghệ đo khuếch tán và quan sát trực tiếp. Kết quả xác định kích thước hạt curcumin sau khi cắt đốt bằng laser được thể hiện trong Hình 2.

Hình 2. Kết quả xác định kích thước hạt curcumin sau khi bắn laser



Kết quả cho thấy curcumin có kích thước trung bình là 167 nm sau khi xử lý bằng laser với xung 120 fs (femtosecond, 10^{-15}) tập trung ở 800 nm với tốc độ lặp lại là 1 kHz. Chùm sáng được hội tụ bởi vật kính có tiêu cự 7,5 cm, công suất cắt 350 mW, thời gian 40 phút.

Xác định độ tan của curcumin.

Để chuẩn bị mẫu phân tích, 30 mg bột curcumin không xử lý laser (ký hiệu C1) và 30 mg bột curcumin xử lý laser (ký hiệu C2) được cân chính xác và hòa tan riêng rẽ trong 1 mL nước cất (H_2O). Hỗn hợp được lắc mạnh bằng máy lắc Vortex trong 10 phút. Sau đó, dung dịch được ly tâm ở 2000 vòng/phút trong 5 phút để loại bỏ phần không tan. Phần dịch nổi phía trên

được tách riêng và tiến hành đông khô để thu được mẫu curcumin dạng bột. Mẫu curcumin đông khô thu được, sau đó, được hòa tan trong ethanol để tạo thành các dung dịch có nồng độ khác nhau. Phổ hấp thụ của các dung dịch curcumin-ethanol này được xác định bằng máy đo quang phổ NanoDrop-1000 (Mỹ) trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 750 nm. Bước sóng hấp thụ cực đại của curcumin trong ethanol được xác định là 425 nm, phù hợp với đặc tính hấp thụ đã được công bố.

Nồng độ curcumin trong các mẫu phân tích, sau đó, được xác định bằng phương pháp đường chuẩn. Đường chuẩn nồng độ curcumin được xây dựng dựa trên phổ hấp thụ đo được. Hàm lượng curcumin

trong mẫu đo cuối cùng (Final Dilution Sample), tức là, mẫu đã pha loãng để đo trên máy, được xác định trực tiếp từ đường chuẩn. Để tính toán hàm lượng curcumin trong mẫu sơ cấp ban đầu (mẫu đông khô chưa pha loãng), giá trị nồng độ đo được từ

mẫu pha loãng sẽ được nhân với hệ số pha loãng tương ứng, hệ số này được ghi nhận trong Bảng 1.

Kết quả xác định độ tan của curcumin cho thấy độ tan của mẫu sau xử lý laser tăng 4,5 lần so với mẫu không xử lý laser.

Bảng 1. Xác định độ hòa tan của curcumin xử lý laser và không xử lý laser

Mẫu	Độ hòa tan	Giá trị OD ở 425 nm	Giá trị trung bình	Nồng độ curcumin sau khi pha loãng (µg/mL)	Nồng độ curcumin ban đầu (µg/mL)
Curumin không xử lý laser (C1)	50x	0,801	0,812	137,52976	4851,0714
		0,823			
		0,811			
Curcumin sau khi xử lý laser (C2)	100x	0,353	0,351	59,43452	21830,3571
		0,376			
		0,394			

Tác dụng trên các dòng tế bào của curcumin sau khi xử lý laser.

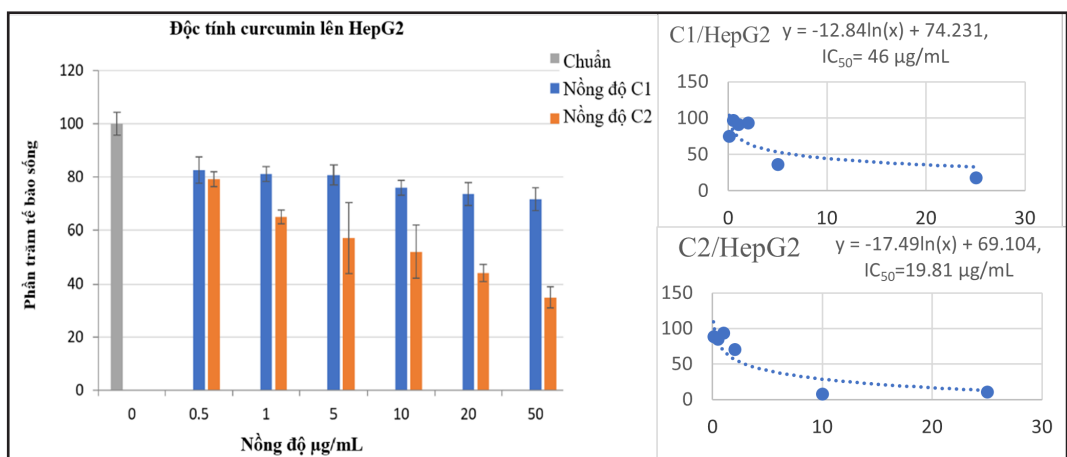
Hòa tan curcumin không xử lý laser (ký hiệu C1) và curcumin sau khi xử lý laser (ký hiệu C2) trong dung dịch 0,3% DMSO (Dimethyl sulfoxide). Sau đó, các dòng tế bào được thêm vào môi trường nuôi cấy. Kết quả gây độc tế bào của các mẫu curcumin đối với bệnh bạch cầu, ung thư đại trực tràng và các dòng tế bào nguyên bào sợi được trình bày trong

Hình 3, Hình 4, Hình 5.

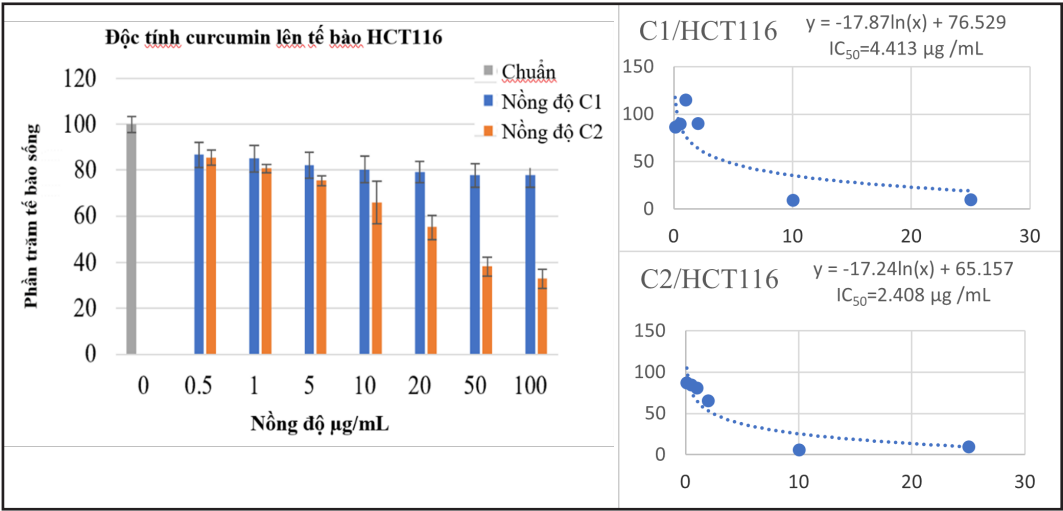
Hòa tan curcumin không xử lý laser (ký hiệu C1) và curcumin sau khi xử lý laser (ký hiệu C2) trong dung dịch 0,3% DMSO (Dimethyl sulfoxide). Sau đó, các dòng tế bào được thêm vào môi trường nuôi cấy. Kết quả gây độc tế bào của các mẫu curcumin đối với bệnh bạch cầu, ung thư đại trực tràng và các dòng tế bào nguyên bào sợi được trình bày trong Hình 3, Hình 4, Hình 5.

Hình 3. Kết quả xác định hoạt tính gây độc tế bào của Curcumin trên HepG2 bằng phương pháp MTT.

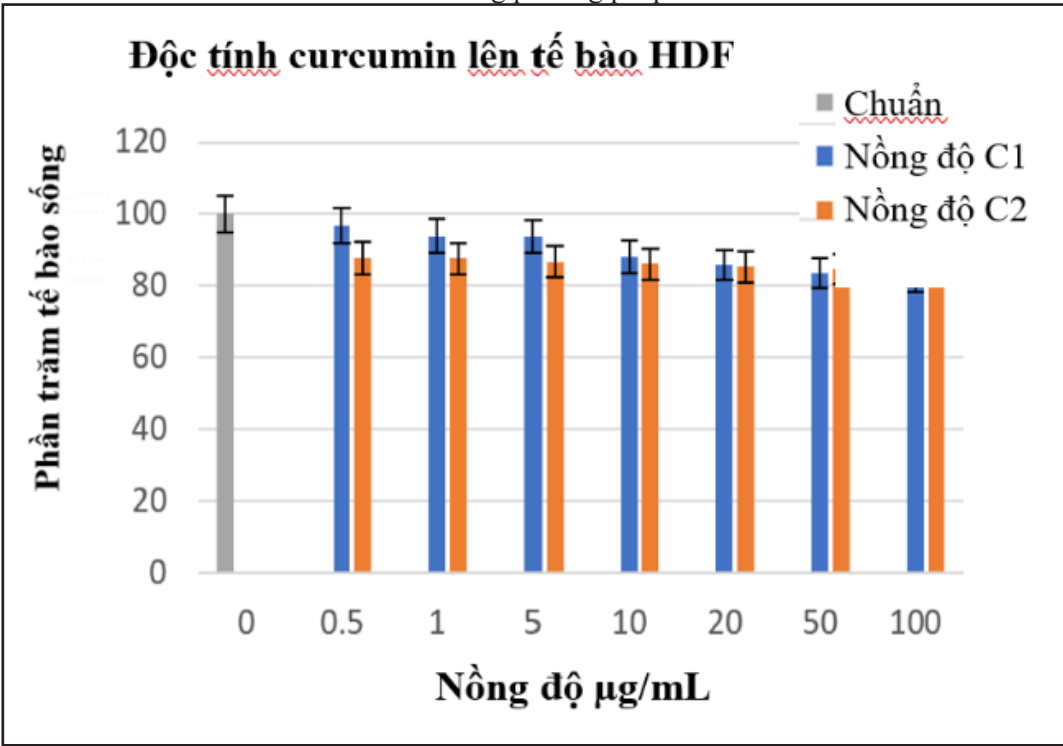
[C1] có $IC_{50}=46 \mu\text{g/mL}$, [C2] có $IC_{50}=19,81 \mu\text{g/mL}$.



Hình 4. Kết quả xác định hoạt tính gây độc tế bào của Curcumin trên HCT116 bằng phương pháp MTT.
[C1] có IC₅₀ = 4,413 µg/mL, [C2] có IC₅₀ = 2,408 µg/mL.



Hình 5. Kết quả xác định hoạt tính gây độc tế bào của Curcumin trên HDF bằng phương pháp MTT



Bàn luận

Công nghệ laser đã trở thành một công cụ đa năng, thâm nhập sâu rộng vào nhiều lĩnh vực khoa học, y học và kỹ thuật hiện đại. Trong đó, sự kết hợp giữa

công nghệ nano và laser đã tạo ra những tiến bộ đáng kể trong điều trị ung thư, đặc biệt trong những năm gần đây. Ứng dụng của laser trong y tế rất đa dạng, bao gồm các quy trình lâm sàng như phẫu thuật

da liễu và thẩm mỹ, hỗ trợ chữa lành vết thương, kích thích thần kinh, nha khoa, điều trị ung thư và phẫu thuật nhãn khoa.

Tuy curcumin đã được biết đến với nhiều đặc tính trị liệu tiềm năng, nhưng việc ứng dụng hiệu quả trong điều trị ung thư gặp phải thách thức do độ hòa tan kém trong nước, sinh khả dụng thấp và khả năng duy trì nồng độ thuốc trong cơ thể hạn chế. Nhằm khắc phục những nhược điểm này, Al-Kinany và cộng sự (2021) đã nghiên cứu sử dụng kỹ thuật laser xung để tạo phức hợp “FA-CU-CS-Fe@Au” (Folate-Curcumin-Chitosan-Iron-Gold) và thử nghiệm trên tế bào ung thư tuyến tiền liệt. Nghiên cứu của họ đã chứng minh rằng phức hợp được tạo ra bằng laser xung có hiệu quả ức chế tăng sinh tế bào ung thư cao hơn so với curcumin thông thường. Tuy nhiên, quy trình tạo phức hợp này đòi hỏi nhiều bước phức tạp để kết hợp curcumin với các thành phần như ion kim loại (sắt, vàng), chitosan và axit folic.

Nghiên cứu hiện tại tập trung vào việc ứng dụng công nghệ laser để cải thiện độ hòa tan của curcumin một cách trực tiếp và đơn giản hơn. Kết quả cho thấy, xử lý laser giúp tạo ra các hạt curcumin kích thước nano với kích thước trung bình khoảng 167 nm và độ hòa tan tăng lên 4,5 lần so với curcumin không xử lý laser. Đáng chú ý, khi thử nghiệm độc tính tế bào trên dòng tế bào ung thư biểu mô gan người (HepG2) và tế bào ung thư đại trực tràng (HCT116), curcumin sau xử lý laser thể hiện độc tính tế bào cao hơn đáng kể so với curcumin không

xử lý laser, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Giá trị IC_{50} của curcumin sau xử lý laser trên tế bào HepG2 là 19,81 $\mu\text{g/mL}$ và trên tế bào HCT116 là 2,408 $\mu\text{g/mL}$, cho thấy khả năng gây chết tế bào ung thư được cải thiện rõ rệt. Điều quan trọng là, trên tế bào thường HDF (tế bào không ung thư), curcumin không gây độc ngay cả sau khi xử lý laser để tăng độ hòa tan. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Hanna và Saad (2020), nanocurcumin có tác dụng chọn lọc trong việc ức chế sự phát triển của tế bào Hep-2 theo cách phụ thuộc vào liều lượng và thời gian, với giá trị IC_{50} hiệu quả nhất ($17 \pm 0,31 \mu\text{g/mL}$) đạt được sau 48 giờ ủ mà không gây độc tế bào đối với tế bào bình thường không ung thư.

Tóm lại, nghiên cứu này đã chứng minh rằng công nghệ laser là một phương pháp hiệu quả để cải thiện độ hòa tan và khả năng gây độc tế bào ung thư của curcumin, mở ra tiềm năng ứng dụng rộng rãi hơn của curcumin trong điều trị ung thư một cách an toàn và hiệu quả.

Kết luận

Curcumin sau khi xử lý bằng laser trong thí nghiệm này có kích thước trung bình 165 nm và độ tan tăng 4,5 lần so với trước khi xử lý. Curcumin sau khi xử lý bằng laser có tác dụng làm chết tế bào ung thư với giá trị IC_{50} là 19,81 $\mu\text{g/mL}$ đối với tế bào ung thư biểu mô tế bào gan (HepG2) và tế bào ung thư đại trực tràng ở người (HCT116) là 2.408 $\mu\text{g/mL}$ và không gây độc đáng kể đối với tế bào không ung thư HDF.

Tài liệu tham khảo

- Al-Kinani, M. A., Haider, A. J., & Al-Musawi, S. (2021). Design and synthesis of nanoencapsulation with a new formulation of Fe@Au-CS-CU-FA NPs by pulsed laser ablation in liquid (PLAL) method in breast cancer therapy: In vitro and in vivo. *Plasmonics*, 16, 1107-1117. <https://doi.org/10.1007/s11468-021-01371-3>.
- Bar-Sela, G., Epelbaum, R., & Schaffer, M. (2010). Curcumin as an anti-cancer agent: Review of the gap between basic and clinical applications. *Current Medicinal Chemistry*, 17(3), 190-197. <https://doi.org/10.2174/092986710790149738>.
- Cheng, K. K., Yeung, C. F., Ho, S. W., Chow, S. F., Chow, A. H., & Baum, L. (2013). Highly stabilized curcumin nanoparticles tested in an in vitro blood-brain barrier model and in Alzheimer's disease Tg2576 mice. *AAPS Journal*, 15(2), 324-336. <https://doi.org/10.1208/s12248-012-9444-4>.

Hanna, D. H., & Saad, G. R. (2020). Nanocurcumin: Preparation, characterization and cytotoxic effects towards human laryngeal cancer cells. *RSC Advances*, 10(35), 20724-20737. <https://doi.org/10.1039/d0ra03719b>.

Hettiarachchi, S. S., Shashiprabha, P., et al. (2021). Synthesis of curcumin nanoparticles from raw turmeric rhizome. *ACS Omega*, 6(12), 8246-8252. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c06314>.

Tonnesen, H. H., Másson, M., & Loftsson, T. (2002). Studies of curcumin and curcuminoids. XXVII. Cyclodextrin complexation: Solubility, chemical and photochemical stability. *International Journal of Pharmaceutics*, 244(1-2), 127-135. [https://doi.org/10.1016/s0378-5173\(02\)00323-x](https://doi.org/10.1016/s0378-5173(02)00323-x).

Wahlang, B., Pawar, Y. B., & Bansal, A. K. (2011). Identification of permeability-related hurdles in oral delivery of curcumin using the Caco-2 cell model. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 77(2), 275-282. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2010.12.006>.