



DOI:10.22144/ctujos.2024.453

THIẾT KẾ HỆ VI HẠT TỪ FIBROIN TƠ TÀM ỨNG DỤNG DẪN TRUYỀN VITAMIN K1

Phạm Duy Toàn* và Nguyễn Ngọc Yến

¹Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): pdtoan@ctu.edu.vn

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 28/04/2024

Sửa bài (Revised): 22/05/2024

Duyệt đăng (Accepted): 28/07/2024

Title: Vitamin K1-loaded fibroin nanoparticles as a drug delivery system

Author(s): Pham Duy Toan* and Nguyen Ngoc Yen

Affiliation(s): College of Natural Sciences, Can Tho University

TÓM TẮT

Nghiên cứu bào chế hệ vi hạt (nanoparticles) từ fibroin tơ tằm, ứng dụng trong vận chuyển vitamin K1. Hệ vi hạt tổng được bào chế bằng phương pháp đổi dung môi có kích thước tối ưu là 361 nm ứng với tỉ lệ fibroin:EtOH (v/v) là 1:5. Hệ vi hạt tải vitamin K1 có thông số tối ưu khi được bào chế bằng phương pháp đồng ngưng tụ với kích thước 702 nm, hiệu suất tải 35%, ứng với hàm lượng tải ban đầu là 3 mg. Tương tác của các thành phần trong hệ vi hạt được đánh giá thông qua phổ FT-IR cho thấy các mũi đặc trưng của fibroin và vitamin K1. Quá trình giải phóng vitamin K1 tải bằng phương pháp hấp phụ và ngưng tụ có hiệu suất đạt lần lượt là 92,17% và 90,08%. Hơn nữa, nghiên cứu cho thấy khả năng bảo vệ hoạt chất của hệ vi hạt trong các môi trường kiềm, acid, oxi hóa mạnh cao gấp đôi so với hoạt chất tự do. Tóm lại, nghiên cứu đã bào chế thành công hệ vi hạt từ fibroin tơ tằm tải hoạt chất vitamin K1.

Từ khóa: Fibroin, tơ tằm, vi hạt, vitamin K1

ABSTRACT

The research developed silk fibroin nanoparticles for the delivery of vitamin K1. The blank nanoparticles, formulated by the solvent exchange method, possessed an optimal size of 361 nm at a fibroin:EtOH ratio of 1:5 v/v. The optimal vitamin K1-loaded nanoparticles were obtained by the co-condensation method, with a size of 702 nm and an entrapment efficiency of 35%, corresponding to an initial loading value of 3 mg. The interactions of the components in the system were analyzed using FT-IR spectra, which revealed typical peaks of fibroin and vitamin K1. The release efficiency of the particles formulated by the adsorption and co-condensation method was 92.17% and 90.08%, respectively. Furthermore, the nanoparticles could protect vitamin K1 in basic, acidic, and oxidizing conditions twice better than the free vitamin K1. In conclusion, the study successfully formulated vitamin K1-loaded fibroin nanoparticles that could be a potential pharmaceutical.

Keywords: Fibroin, silk, nanoparticles, vitamin K1

1. GIỚI THIỆU

Vitamin K1 là một loại vitamin hòa tan trong chất béo, ít tan trong nước, và có vai trò quan trọng trong quá trình điều chỉnh sự đông cầm máu (Weber, 2001). Vitamin K1 còn hỗ trợ sự trao đổi chất của xương và trao đổi calcium trong hệ thống mạch máu. Cùng với vitamin A và E, vitamin K1 cũng là đối tượng nghiên cứu đầy tiềm năng trong lĩnh vực đông cầm máu và xử lý, hồi phục vết thương (Gröber et al., 2014). Nguồn cung cấp vitamin K1 chủ yếu là từ rau xanh, trái cây, dầu hạt, các thực phẩm lên men, sản phẩm từ thịt, cá hoặc được tổng hợp nhờ một số loại vi sinh vật có lợi. Tuy nhiên, cơ thể chỉ có thể hấp thụ từ 5-10% lượng vitamin K1 từ thực phẩm qua đường tiêu hóa (Jones et al., 2008). Một trong những nguyên nhân chính của sự kém hấp thụ là do vitamin K1 là một chất thân dầu, có cấu trúc phân tử khá lớn, cồng kềnh, kém tan trong nước, dễ bị phân huỷ hay ảnh hưởng bởi pH của môi trường đường tiêu hóa. Do đó, vitamin K1 thường được bổ sung qua các chế phẩm đường tiêm. Tuy nhiên, các chế phẩm đường tiêm chứa vitamin K1 thường kém bền trong các điều kiện khác nhau như môi trường acid mạnh, base mạnh và oxi hóa mạnh. Vì vậy, việc nghiên cứu một hệ thống vận chuyển vitamin K1, có khả năng bảo vệ và tăng độ ổn định của thuốc, là rất cần thiết.

Một trong số những vật liệu mang thuốc đang được quan tâm hiện nay là fibroin tơ tằm. Fibroin là một vật liệu y sinh đã được Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (US FDA) công nhận, và đang được nghiên cứu rộng rãi, nhất là cho các ứng dụng trong ngành mỹ phẩm và dược phẩm. Fibroin là một protein tự nhiên có đặc tính nổi trội như khả năng tự phân hủy sinh học có kiểm soát (Pham & Tiyaboonthai, 2020), không gây độc tế bào (Pham et al., 2022), dễ bào chế thành các dạng chế phẩm, dễ dàng chuyển đổi cấu trúc (anti-parallel- β sheet ở dạng tơ II và α helix ở dạng tơ I) (Konishi & Kurokawa, 1968), và có khả năng tự cấu trúc thành các hạt nano bằng phương pháp đổi dung môi (Pham et al., 2023a).

Trong những nghiên cứu trước, fibroin đã được bào chế thành hệ vi hạt (fibroin nanoparticles, FNP) tải thuốc bằng phương pháp ngưng tụ và hấp phụ nhằm giải phóng thuốc có kiểm soát (Pham et al., 2023b). Đồng thời, hệ thống này có khả năng bảo vệ được hoạt chất trong các môi trường acid, base, và oxi hóa mạnh (Pham et al., 2023a). Tuy nhiên, vẫn chưa có nghiên cứu nào đề cập đến vấn đề ứng dụng FNP trong việc vận chuyển và bảo vệ vitamin K1.

Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm bào chế FNP ứng dụng trong vận chuyển vitamin K1. Kết quả nghiên cứu không những nâng cao giá trị của các nguồn nguyên liệu tự nhiên, dồi dào như tơ tằm mà nó còn có ý nghĩa khoa học (phát hiện thêm ứng dụng tiềm năng của hệ vi hạt từ fibroin, rút ra những dữ kiện về tương tác lý hóa của hoạt chất với hệ thống) cùng với ý nghĩa thực tiễn (góp phần cải thiện kinh tế ở các khu vực nuôi tằm lấy tơ). Ngoài ra, chế phẩm có thể được phát triển thành một dược phẩm trong tương lai.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Fibroin được chiết xuất từ tơ tằm Việt Nam. Vitamin K1 (dạng dung dịch thuốc tiêm, mỗi ống 1 mL chứa 10 mg vitamin K1, Tween 80, nước cất pha tiêm) được mua từ nhà thuốc Trung Sơn Pharma, Cần Thơ, Việt Nam. Sodium carbonate (Na_2CO_3), calcium chloride (CaCl_2), calcium nitrate ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) và ethanol được mua từ hóa chất Xilong (Trung Quốc).

2.2. Chiết fibroin từ kén tằm thô

Đầu tiên, kén tằm thô được loại sericin bằng dung dịch Na_2CO_3 0,5% ở 80°C trong 1 giờ. Sau đó, sợi tơ được rửa sạch với nước cất và để khô ở nhiệt độ phòng. Fibroin tơ tằm được chiết từ sợi tơ đã loại sericin bằng cách hòa tan trong hỗn hợp $\text{CaCl}_2:\text{Ca}(\text{NO}_3)_2:\text{EtOH}:\text{H}_2\text{O}$, gia nhiệt bằng lò vi sóng (900 W) trong 2 phút. Hỗn hợp nhớt sau đó được lọc thẫm tách bằng màng lọc cellulose trong 3-5 ngày. Dung dịch sau lọc được ly tâm loại cặn, dịch nổi chính là dung dịch fibroin được xác định nồng độ bằng cách đo quang phổ UV-vis ở bước sóng 276 nm với đường chuẩn $y = 1,1517x + 0,0099$ (Pham et al., 2023a).

2.3. Bào chế hệ vi hạt fibroin (FNP)

Hệ FNP trống (không chứa vitamin K1) được bào chế bằng phương pháp đổi dung môi. Đầu tiên, chuẩn bị dung dịch fibroin 1% (w/w) (SF 1%) bằng cách pha loãng dung dịch fibroin gốc với nước. Tiếp theo, EtOH được nhỏ từ từ vào dung dịch SF đã chuẩn bị theo tỉ lệ 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, và 1:5 (v/v). Hỗn hợp được lắc với tốc độ 150 vòng/phút trong 1 giờ. Cuối cùng, hỗn hợp được ly tâm, phần lắng sau ly tâm chính là hạt FNP, được rửa lại với nước. Sản phẩm được bảo quản lạnh để sử dụng cho các thí nghiệm sau.

2.4. Bào chế hệ vi hạt tải vitamin K1 (FNP-K)

Hệ FNP tải vitamin K1 (FNP-K) được bào chế bằng hai phương pháp là đồng ngưng tụ (FNP-K-NT) và hấp phụ (FNP-K-HP).

Đối với phương pháp đồng ngưng tụ, 1 mg hoặc 3 mg vitamin K1 (dạng lỏng) được trộn với 1 mL dung dịch SF 1%. Sau đó, 5 mL EtOH được thêm vào dung dịch SF. Hỗn hợp được lắc đều và để ngưng tụ trong 24 giờ. Cuối cùng, hỗn hợp được ly tâm lạnh để thu hạt FNP-K-NT, phần dịch nổi được đo UV-vis với bước sóng cực đại là 330 nm, đường chuẩn $y = 0,0067x - 0,0036$ ($R^2 = 0,9993$). Hiệu suất tải vitamin K1 được xác định bằng công thức (1).

$$EE\% = \frac{\text{Hàm lượng ban đầu} - \text{Hàm lượng sau khi nạp}}{\text{Hàm lượng ban đầu}} \times 100\% \quad (1)$$

Đối với phương pháp hấp phụ, hạt FNP trống được phân tán vào 30 mL dung dịch vitamin K1 với hàm lượng 3 mg, tiến hành lắc trong 2,5 giờ. Tại các thời điểm cách nhau 15 hoặc 30 phút, 1 mL dung dịch được hút ra, bổ sung lại 1 mL nước cất. Phần dịch hút được ly tâm lạnh (12000 rpm, 30 phút), thu lấy phần dịch và tiến hành phân tích UV-vis để xác định nồng độ vitamin K1 còn lại trong dung dịch, từ đó xác định hàm lượng vitamin K1 tải được vào hạt. Phần hạt tải thuốc được bảo quản lạnh cho các thí nghiệm tiếp theo xác định các tính chất lý hóa liên quan.

2.5. Đánh giá tính chất lý hóa của hệ vi hạt

Kích thước hệ vi hạt được đánh giá bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động (DLS). Mẫu hạt được phân tán vào nước, hệ phân tán được cho vào cuvet nhựa và tiến hành đo bằng máy SZ-100 Horiba theo các thông số cơ bản được thiết lập sẵn trong máy.

Tương tác giữa fibroin và vitamin K1 trong hệ vi hạt được đánh giá qua phân tích phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR). Mẫu thử được trộn đều với KBr, ép viên mỏng bằng máy nén, và tiến hành đo FT-IR bằng máy FT-IR 4600 Jasco với dãy số sóng 4000-400 cm^{-1} và các thông số được thiết lập sẵn trong máy.

Độ kết tinh của fibroin được đánh giá bằng chỉ số kết tinh (Crystallinity index-CI), được tính theo công bố trước đó (Pham et al., 2023b). Trong nghiên cứu này, cường độ tín hiệu của phổ FT-IR đã được sử dụng để tính toán CI. Đối với phương pháp này,

các dải tín hiệu amide I và amide II của fibroin được tính toán theo công thức (2) và (3).

$$CI_{IRI} = I_{1622} / (I_{1622} + I_{1646}) \quad (2)$$

$$CI_{IRII} = I_{1517} / (I_{1517} + I_{1560}) \quad (3)$$

Trong đó: CI_{IRI} , I_{1622} , I_{1646} là giá trị CI, mật độ phần tinh thể và mật độ phần vô định hình của dải amide I. Tương tự, CI_{IRII} , I_{1517} , I_{1560} là giá trị CI, mật độ phần tinh thể và mật độ phần vô định hình của dải amide II.

2.6. Giải phóng *in vitro* vitamin K1

Quá trình giải phóng vitamin K1 từ FNP-K được tiến hành *in vitro* trong môi trường mô phỏng dịch sinh học, ở pH 7,4. Các mẫu hạt FNP-K-NT và FNP-K-HP được phân tán lần lượt vào 40 mL dung dịch đệm phosphate pH 7,4, khuấy từ với tốc độ 200 vòng/phút, ở 37°C trong 6 giờ. Sau mỗi khoảng thời gian 30 phút, 1 mL dung dịch được rút ra và bù lại 1 mL đệm. Tất cả các phần dung dịch được hút ra mỗi 30 phút được đem đi ly tâm lạnh (12000 rpm, 10 phút), loại hạt bên dưới và lấy phần dịch phía trên tiến hành đo UV-vis với bước sóng cực đại là 320 nm để xác định hàm lượng vitamin K1 giải phóng vào dung dịch ở thời điểm rút mẫu thông qua phương trình đường chuẩn $y = 0,0076x - 0,0243$ ($R^2 = 1$).

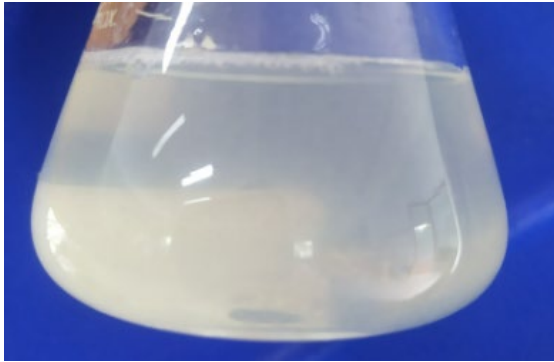
2.7. Hiệu quả bảo vệ vitamin K1 của FNP

Hiệu quả bảo vệ vitamin K1 của hệ FNP được đánh giá trong các môi trường khắc nghiệt như base mạnh (NaOH pH 12), acid mạnh (HCl pH 1,2), oxi hóa (H_2O_2 0,5%). Hạt FNP-K-NT được phân tán trong 10 mL các môi trường nói trên và khuấy từ trong 24 giờ ở 37°C. Kết thúc quá trình, các hỗn hợp được ly tâm và dịch sau ly tâm được đo UV-vis ở bước sóng cực đại 320 nm nhằm xác định hàm lượng vitamin K1 còn lại thông qua các phương trình đường chuẩn là $y = 0,0076x + 0,0123$ ($R^2 = 0,9991$) (HCl pH 1,2), $y = 0,0081x + 0,0029$ ($R^2 = 0,9994$) (NaOH pH 12), $y = 0,0073x - 0,0003$ ($R^2 = 0,9997$) (H_2O_2 0,5%).

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Chiết fibroin từ kén tằm thô

Từ 10 g kén tằm sau khi được loại sericin bằng cách đun nóng với dung dịch Na_2CO_3 0,5% rồi rửa sạch và làm khô, thu được 7,45 g tơ sợi. Sợi tơ thô được dùng để chiết fibroin, hiệu suất thu đạt $32,9 \pm 1,72\%$ (Hình 1).



Hình 1. Dung dịch fibroin sau khi chiết

3.2. Kích thước hệ vi hạt

Bảng 1 cho thấy kích thước hệ vi hạt FNP trồng giảm dần từ 847 nm (FNP-1) xuống còn 361 nm (FNP-5) khi tăng thể tích ethanol từ tỉ lệ fibroin:ethanol (SF:EtOH) từ 1:1 lên 1:5, chứng tỏ ethanol là yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến kích thước hạt. Khi tăng thể tích ethanol thì kích thước hạt giảm, vì fibroin có khả năng tự cấu trúc thành hạt khi thay đổi dung môi từ nước sang ethanol. Khi ở dạng hòa tan trong nước, fibroin chủ yếu có cấu trúc xoắn α (Valluzzi et al., 1999), khi thêm ethanol vào cấu trúc fibroin hình thành liên kết hydro chuyển về cấu trúc gấp nếp β đối song song tạo thành vi hạt (Pham et al., 2022). Quá trình này sẽ diễn ra nhanh chóng khi tăng ethanol nên cấu trúc hạt tạo thành nhanh chóng, hạn chế sự tương tác giữa các chuỗi fibroin làm keo tụ tạo chùm hạt, dẫn đến kích thước hạt giảm dần.

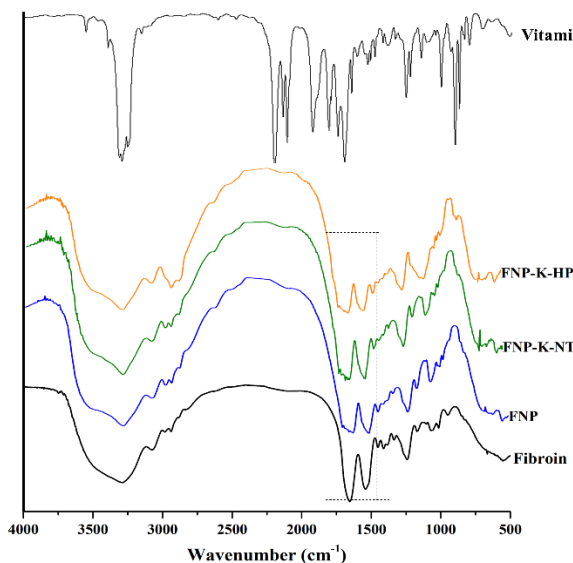
Hệ FNP-5 (SF:EtOH 1:5 v/v) có kích thước nhỏ nhất, đáp ứng các yêu cầu về vật liệu dẫn truyền thuốc (Pham & Tiyaaboonchai, 2020), nên được dùng để tiến hành nạp vitamin K1. Kết quả cho thấy hệ FNP-K-NT có kích thước 702 ± 32 nm và FNP-K-HP có kích thước 565 ± 28 nm. Sự gia tăng kích thước là do vitamin K1 có cấu trúc công kênh, nên khi tải vào hệ vi hạt sẽ làm hạt to hơn.

Bảng 1. Kích thước hệ vi hạt FNP trồng

Mẫu	Tỉ lệ fibroin:EtOH	Kích thước (nm)
FNP-1	1:1	847 \pm 44
FNP-2	1:2	763 \pm 20
FNP-3	1:3	725 \pm 31
FNP-4	1:4	551 \pm 17
FNP-5	1:5	361 \pm 12

3.3. Cấu trúc hệ vi hạt

Đặc trưng về các nhóm chức của vật liệu cũng như tương tác giữa vitamin K1 và fibroin được xác định thông qua phổ FT-IR (Hình 2). Phổ IR của fibroin thể hiện đầy đủ các mũi đặc trưng bao gồm amide I ($1625-1650\text{ cm}^{-1}$), amide II ($1525-1515\text{ cm}^{-1}$), amide III ($1235-1240\text{ cm}^{-1}$). Các đặc trưng này tương đồng với nghiên cứu đã công bố về tính chất của fibroin được chiết từ kén tằm thu hoạch ở Việt Nam (Nguyen et al., 2023). Điều đó chứng tỏ đã chiết thành công fibroin từ kén tằm Việt Nam. Bên cạnh đó, hệ FNP trồng còn giữ được toàn bộ mũi đặc trưng của fibroin, chứng tỏ tính chất fibroin không bị thay đổi trong quá trình bào chế.



Kết quả độ kết tinh theo phổ FT-IR, CI : Crystallinity index (độ kết tinh), IRI: đỉnh amide I của fibroin, IRII: đỉnh amide II của fibroin

Mẫu	Độ kết tinh	
	CI _{IRI}	CI _{IRII}
Fibroin	0,55	0,49
FNP	0,50	0,48
FNP-K-NT	0,50	0,48
FNP-K-HP	0,49	0,44

Hình 2. Phổ FT-IR của fibroin, FNP, FNP-K-NT (hệ vi hạt FNP tải vitamin K1 bằng phương pháp ngưng tụ, FNP-K-HP (hệ vi hạt FNP tải vitamin K bằng phương pháp hấp phụ), và vitamin K1; và độ kết tinh của các hệ tương ứng

Phổ FT-IR của vitamin K1 có mũi đặc trưng như mũi C=O ở vị trí khoảng 1600 cm⁻¹, mũi C=C ở khoảng 1400 cm⁻¹ và dao động dẫn của liên kết C-H vòng thơm ở khoảng 3100 cm⁻¹ (Zhao et al., 2013). Phổ FT-IR của hệ vi hạt FNP-K-NT và FNP-K-HP cho thấy rõ các mũi đặc trưng của hệ FNP trông như mũi amide I, II của fibroin (1500-1600 cm⁻¹). Tuy nhiên, các tín hiệu đặc trưng của vitamin K1 không hiện rõ trên phổ của hệ vi hạt. Điều này có thể được giải thích bởi hai nguyên nhân. Một là, lượng vitamin K1 được tải vào hệ tương đối thấp (~20-30%), dẫn đến tín hiệu vitamin K1 tương đối yếu và bị che lấp bởi tín hiệu của fibroin. Hai là, vitamin K1 được tải vào hệ vi hạt dưới dạng hệ phân tán phân tử, nên các tín hiệu bị giảm đi đáng kể (Pham et al., 2022). Hiện tượng này phù hợp với sự giảm độ kết tinh của hệ vi hạt sau khi tải vitamin K1 (Pham et al., 2023b).

Do đó, có thể kết luận rằng đã tải thành công vitamin K1 vào hệ vi hạt bằng phương pháp ngưng tụ và hấp phụ, và quá trình bào chế không ảnh hưởng tính chất của fibroin và vitamin K1.

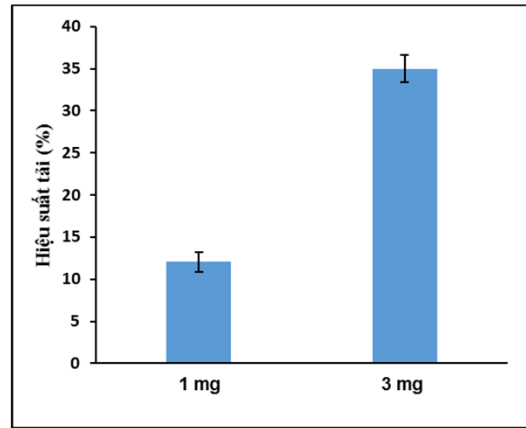
3.4. Hiệu suất tải Vitamin K1

Đối với phương pháp ngưng tụ (FNP-K-NT), hiệu suất tải của mẫu có hàm lượng vitamin K1 đầu là 3 mg cao hơn so với hàm lượng đầu là 1 mg (Hình 3). Điều này được giải thích là do vitamin K1 được kết tinh cùng lúc với các hạt FNP tạo thành các phức hợp FNP-K-NT ổn định. Quá trình này bị ảnh hưởng bởi các yếu tố liên quan đến độ tan của thuốc cũng như nồng độ và hàm lượng thuốc trong dung dịch. Do đó, khi tăng lượng thuốc trong dung dịch lên 3 mg, một lượng lớn phân tử thuốc sẽ kết tủa theo hạt và bám trên hạt nhiều hơn. Vì vậy, hàm lượng 3 mg ban đầu có hiệu suất tải cao hơn 1 mg.

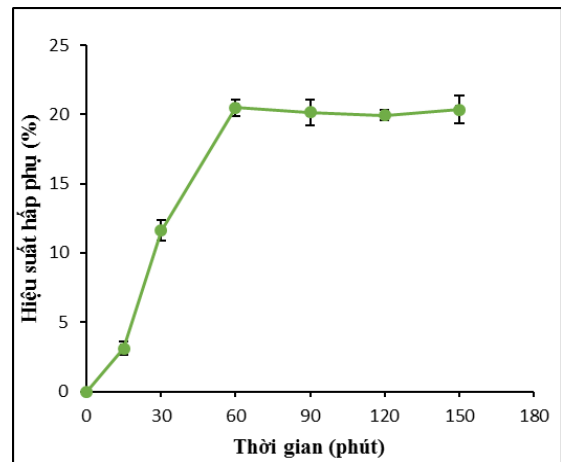
Đối với phương pháp hấp phụ, tiến hành đánh giá quá trình hấp phụ theo thời gian, thu được đồ thị biểu diễn quá trình như Hình 4. Hiệu suất hấp phụ vitamin K1 của hạt FNP tăng nhanh chóng trong 60 phút đầu, đạt 20,47%, sau đó hiệu suất gần như giữ ổn định không có sự chênh lệch đáng kể ở các mốc thời gian tiếp theo.

Khả năng tải thuốc được thực hiện bằng phương pháp ngưng tụ mang lại hiệu suất tải cao hơn so với phương pháp hấp phụ. Điều này được giải thích là do quá trình hấp phụ chủ yếu là hấp phụ vật lý thông qua các tương tác yếu như liên kết hydro, lực van der Waals giữa vitamin K1 và bề mặt của hệ vi hạt fibroin. Việc chỉ tương tác lỏng lẻo bên ngoài bề mặt làm cho vitamin K1 dễ bị khuếch tán trở lại dung môi, dẫn đến giảm hiệu suất tải thuốc. Bên cạnh đó, theo phương pháp đồng ngưng tụ, việc vitamin K1

được thêm vào dịch fibroin trước khi đổi dung môi tạo điều kiện cho vitamin K1 tương tác với fibroin trước, sau đó lại được ngưng tụ đồng thời với fibroin dẫn tới vitamin K1 vừa được bao bọc bên trong hệ FNP vừa được hấp phụ bên ngoài bề mặt FNP.



Hình 3. Hiệu suất tải vitamin K1 có nồng độ đầu là 1 mg và 3 mg của hệ vi hạt FNP-K-NT



Hình 4. Đồ thị quá trình hấp phụ vitamin K1 theo thời gian của hạt FNP-K-HP

3.5. Giải phóng *in vitro* vitamin K1

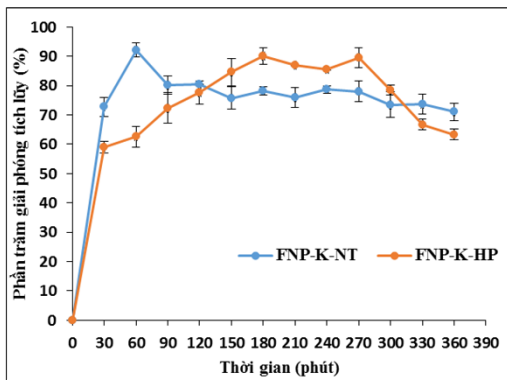
Quá trình giải phóng vitamin K1 từ FNP-K-NT và FNP-K-HP trong môi trường mô phỏng dịch sinh học (pH 7,4) có thể chia thành 2 giai đoạn (Hình 5).

Ở giai đoạn 1, vitamin K1 được giải phóng nhanh chóng ra khỏi hệ vi hạt. Do vitamin K1 được tải vào hệ vi hạt dưới dạng hệ phân tán phân tử, nên độ tan và tốc độ giải phóng hoạt chất trong môi trường đệm tăng đáng kể (Pham et al., 2022). Đối với hệ FNP-K-NT, quá trình phóng thích đạt cực đại với lượng vitamin K1 giải phóng đạt trên 92,2% trong 60 phút đầu. Điều này cho thấy hệ FNP không gây ảnh hưởng (làm chậm) quá trình phóng thích

vitamin K1, đảm bảo được tốc độ và hàm lượng vitamin K1 được phóng thích một cách nhanh chóng. Đối với hệ FNP-K-HP, quá trình giải phóng đạt cực đại diễn ra chậm hơn và tốc độ giải phóng tăng tuyến tính theo thời gian, đạt cực đại ở 180 phút. Nguyên nhân có thể là do sự tương tác thuận nghịch giữa cả ba yếu tố là vitamin K1, fibroin và các thành phần trong môi trường giải phóng làm cho sự hấp phụ và giải hấp phụ diễn ra luân phiên, đồng thời sự chênh lệch gradient nồng độ của vitamin K1 cũng góp phần tạo nên sự giải phóng tăng tuyến tính ở giai đoạn này.

Ở giai đoạn 2, các mốc thời gian tiếp theo, phần trăm phóng thích hoạt chất có xu hướng giảm dần nhưng vẫn giữ được sự ổn định. Điều này chứng tỏ lượng vitamin K1 phóng thích được giữ ổn định trong môi trường giải phóng trong thời gian dài.

Sự phóng thích nhanh chóng và ổn định của vitamin K1 trong hệ FNP-K là do tương tác giữa vitamin K1 và fibroin chủ yếu là các tương tác yếu như lực van der Waals và liên kết hydro, tạo điều kiện cho vitamin K1 dễ dàng khuếch tán vào môi trường giải phóng. Bên cạnh đó, sự chênh lệch gradient nồng độ của vitamin K1 giữa bên trong và bên ngoài hệ hạt (dung dịch đệm) góp phần dẫn tới sự phóng thích ổn định ở giai đoạn sau (Pham et al., 2023b).



Hình 5. Quá trình giải phóng vitamin K1 từ hạt FNP tải vitamin K1 bằng phương pháp ngưng tụ (FNP-K-NT) và hấp phụ (FNP-K-HP)

Tóm lại, hệ FNP-K vừa có khả năng phóng thích nhanh chóng vitamin K1 trong giai đoạn đầu, giúp đạt nồng độ điều trị trong dịch sinh học, vừa có khả năng duy trì nồng độ đó trong thời gian dài.

3.6. Hiệu quả bảo vệ hoạt chất vitamin K1 của hệ vi hạt FNP

Vitamin K1 là một chất dễ bị phân hủy trong các môi trường khắc nghiệt, đặc biệt là môi trường có

tính oxi hóa (do các liên kết đôi trong phân tử vitamin K1) (Samide et al., 2022). Do đó, khả năng bảo vệ vitamin K1 của hệ vi hạt FNP trong các môi trường kiềm mạnh (pH 12), acid tương đương dịch vị dạ dày (pH 1,2), và oxi hóa (H₂O₂) được thể hiện qua lượng hoạt chất còn lại (%) sau 24 giờ thử nghiệm so với vitamin K1 nguyên chất (Bảng 2).

Kết quả cho thấy hiệu suất bảo vệ vitamin K1 của hệ vi hạt cao hơn so với vitamin K1 tự do, trong cả ba môi trường thử nghiệm. Cụ thể, trong môi trường kiềm, vitamin K1 từ hệ vi hạt sau 24 giờ còn lại 50,51% không bị phân hủy, cao gần gấp đôi so với vitamin K tự do. Tương tự ở môi trường acid và oxi hóa mạnh, hiệu suất bảo vệ có giảm nhưng lượng vitamin K1 còn lại từ hệ vi hạt vẫn cao gấp nhiều lần so với từ vitamin K1 tự do.

Khả năng bảo vệ của hệ vi hạt có thể đến từ khả năng giải phóng hoạt chất có kiểm soát của hệ vi hạt. Vitamin K1 chủ yếu bị phân hủy ở dạng tự do, và ít bị phân hủy khi còn đang được gắn kết vào hệ vi hạt FNP, do ít tiếp xúc với tác nhân phân hủy (Pham et al., 2023a). Vì thế, hệ FNP-K có khả năng bảo vệ vitamin K1, thích hợp để bào chế các chế phẩm nhằm bảo quản hoạt chất được tốt hơn.

Bảng 2. Lượng hoạt chất vitamin K1 (%) còn nguyên vẹn của hệ vi hạt FNP-K-NT và của vitamin K1 tự do trong các môi trường khác nhau

Mẫu	Base (pH 12)	Acid (pH 1,2)	Oxi hóa (H ₂ O ₂ 0,5%)
FNP-K-NT	50,51 ± 0,95	17,23 ± 0,40	8,22 ± 0,83
Vitamin K1	22,46 ± 0,07	6,54 ± 0,21	2,15 ± 0,13

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã bào chế thành công hệ vi hạt từ fibroin tải vitamin K1 bằng phương pháp ngưng tụ và hấp phụ. Phương pháp ngưng tụ cho kết quả tối ưu, với kích cỡ hạt nano, hiệu suất tải 35%, và cấu trúc fibroin, vitamin K được bảo tồn. Trong điều kiện mô phỏng pH dịch sinh học, hệ vi hạt FNP-K có khả năng giải phóng qua hai giai đoạn, giai đoạn nhanh và giai đoạn kéo dài, với hiệu suất giải phóng trên 90%. Hơn nữa, hệ vi hạt FNP có khả năng bảo vệ hoạt chất vitamin K1 khá tốt trong các điều kiện khắc nghiệt như môi trường kiềm, môi trường acid và môi trường oxi hóa mạnh. Tóm lại, hệ FNP-K có thể được tiếp tục nghiên cứu để phát triển thành các dạng dược phẩm trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Gröber, U., Reichrath, J., Holick, M. F., & Kisters, K. (2014). Vitamin K: An old vitamin in a new perspective. *Dermato-Endocrinology*, 6(1), 37–41.
<https://doi.org/10.4161/19381972.2014.968490>
- Jones, K. S., Bluck, L. J. C., Wang, L. Y., & Coward, W. A. (2008). A stable isotope method for the simultaneous measurement of vitamin K1 (phyloquinone) kinetics and absorption. *European Journal of Clinical Nutrition*, 62(11), 1273–1281.
<https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602859>
- Konishi, T., & Kurokawa, M. (1968). The structure of silk fibroin-*a*. In *Sen'i Gakkaishi*, 24(12), 550–554. <https://doi.org/10.2115/fiber.24.550>
- Nguyen, N. Y., Nguyen, T. N. P., Huyen, N. N., Tran, V. D., Quyen, T. T. B., Luong, H. V. T., & Pham, D. T. (2023). Onto the differences in formulating micro-/nanoparticulate drug delivery system from Thai silk and Vietnamese silk: A critical comparison. *Heliyon*, 9(6), e16966.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16966>
- Pham, D. T., Nguyen, D. X. T., Lieu, R., Huynh, Q. C., Nguyen, N. Y., Quyen, T. T. B., & Tran, V. D. (2023a). Silk nanoparticles for the protection and delivery of guava leaf (*Psidium guajava* L.) extract for cosmetic industry, a new approach for an old herb. *Drug Delivery*, 30(1).
<https://doi.org/10.1080/10717544.2023.2168793>
- Pham, D. T., Nguyen, T. L., Nguyen, T. T. L., Nguyen, T. T. P., Ho, T. K., & Nguyen, N. Y. (2023b). Polyethylenimine-functionalized fibroin nanoparticles as a potential oral delivery system for BCS class-IV drugs, a case study of furosemide. *Journal of Materials Science*, 58(23), 9660-9674.
<https://doi.org/10.1007/s10853-023-08640-y>
- Pham, D. T., Ha, T. K. Q., Nguyen, M. Q., Tran, V. D., Nguyen, V. B., & Quyen, T. T. B. (2022). Silk fibroin nanoparticles as a versatile oral delivery system for drugs of different biopharmaceutics classification system (BCS) classes: A comprehensive comparison. *Journal of Materials Research*, 4169–4181.
<https://doi.org/10.1557/s43578-022-00782-0>
- Pham, D. T., & Tiyaboonchai, W. (2020). Fibroin nanoparticles: A promising drug delivery system. *Drug Delivery*, 27(1), 431–448.
<https://doi.org/10.1080/10717544.2020.1736208>
- Samide, A., Tutunaru, B., & Oprea, B. (2022). Processes and interactions impacting the stability and compatibility of vitamin K and gold nanoparticles. *Processes*, 10, 1805.
<https://doi.org/10.3390/pr10091805>
- Valluzzi, R., Gido, S., Muller, W., & Kaplan, D. L. (1999). Orientation of silk III at the air–Water interface. *International Journal of Biological Macromolecules*, 24, 237–242.
[https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(99\)00002-1](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(99)00002-1)
- Weber, P. (2001). Vitamin K and bone health. *Nutrition*, 17(10), 880–887.
[https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(01\)00709-2](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(01)00709-2)
- Zhao, N., Lamichhane, H. P., & Hastings, G. (2013). Comparison of calculated and experimental isotope edited FTIR difference spectra for purple bacterial photosynthetic reaction centers with different quinones incorporated into the QA binding site. *Frontiers in Plant Science*, 4(AUG), 1–11.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00328>