

## KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ CHITOSAN ĐẾN SỰ HÌNH THÀNH PHỨC HỢP NANO VỚI CURCUMIN

Nguyễn Minh Hiệp<sup>1\*</sup>, Trần Thị Thủy<sup>1\*</sup>, Vũ Ngọc Bích Đào<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Huỳnh Nga<sup>2</sup>, Nguyễn Trọng Hoàn Phong<sup>1</sup>, Lê Hữu Tu<sup>1</sup>, Nguyễn Tấn Mân<sup>1</sup>, Lê Xuân Cường<sup>1</sup>, Phạm Thị Sâm<sup>1</sup>, Trần Thị Tâm<sup>1</sup>, Nguyễn Tường Li Lan<sup>1</sup>, Lê Văn Toàn<sup>1</sup>, Nguyễn Duy Hạng<sup>1</sup>, Nguyễn Ngọc Phương<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Trung tâm Công nghệ bức xạ - Viện Nghiên cứu Hạt nhân

<sup>2</sup> Khoa Sinh học – Trường Đại học Đà Lạt

<sup>3</sup> Khoa Sinh học – Trường Đại học Sư phạm TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài: 05-4-2018; ngày nhận bài sửa: 23-5-2018; ngày duyệt đăng: 19-6-2018

### TÓM TẮT

Ảnh hưởng của khối lượng phân tử (KLPT) chitosan (CH) đến sự hình thành phức hợp nano tuy đã được thực hiện trong nghiên cứu gần đây, nhưng CH được sử dụng lại có KLPT lớn (thấp nhất là 50 kDa). Việc sử dụng các CH có KPLT cực thấp (33,5 kDa và 18,5 kDa) và oligochitosan (2,7 kDa) để tạo thành phức hợp nano với curcumin vẫn chưa được tiến hành trên thế giới. Kết quả nghiên cứu cho thấy, KLPT của CH càng thấp thì phức hợp tạo thành có đặc điểm càng tốt. Trong đó, việc sử dụng oligochitosan (OCH) cho kết quả tốt nhất (kích thước 103 nm, chỉ số phân tán 0,342 và thế zeta đạt 20,90 mV) và giúp loại bỏ được giai đoạn sử dụng sóng siêu âm để giảm kích thước.

**Từ khóa:** phức hợp nano, chitosan, oligochitosan, curcumin, khối lượng phân tử.

### ABSTRACT

#### *Investigation of the effect of chitosan molecular weight on the curcumin-nanoplex formation*

The effect of chitosan molecular weight ( $M_w$ ) to the formation of nanoplex has been recently studied. However, the lowest  $M_w$  used in this research was about 50 kDa. The effect of CH with very low  $M_w$  (33.5 kDa and 18.5 kDa) and oligochitosan (2.7 kDa) on characteristics of the formed nanoplex with curcumin have not been researched so far. The results of this research indicated the lower  $M_w$  of CH was used, the better characteristics of nanoplex were obtained. Especially, the use of OCH not only gave the best characteristics (103 nm in size, zeta potential of 20.9 mV and PDI 0.342) of the formed nanoplex, but also omitted the sonication step which was used to reduce the particle size.

**Keywords:** nanoplex, chitosan, oligochitosan, curcumin, molecular weight.

### 1. Mở đầu

Curcumin (CUR) là một hợp chất polyphenol tự nhiên, chiếm tỉ lệ khoảng 2 – 6% trong củ nghệ tươi [1]. Ngày nay, CUR được nghiên cứu và ứng dụng rộng rãi nhờ khả năng hỗ trợ làm lành vết thương, điều trị sẹo, chống viêm, chống vi khuẩn, điều trị các bệnh mãn tính như ung thư, thần kinh, tim mạch [1], [2]. Tuy nhiên, hiệu quả sử dụng của

\* Email: jackminhhiiep@yahoo.com, tranthithuytri@gmail.com

CUR còn nhiều hạn chế bởi độ sinh khả dụng thấp do độ tan trong nước của CUR rất thấp (khoảng 0,6  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), không bền ở môi trường trung tính và kiềm của ruột, độ thấm qua ruột kém và dễ bị loại thải ra ngoài cơ thể bằng nhiều cơ chế (như sự chuyển hóa đầu tiên ở gan, sự opsonin hóa) [3], [4]. Vì vậy, CUR được xếp vào nhóm IV của hệ thống Phân loại Sinh dược học (Biopharmaceutics Classification System) [5].

Có nhiều nghiên cứu đã được thực hiện nhằm cải thiện độ sinh khả dụng của CUR như CUR dùng phối hợp với piperine (chiết xuất từ hạt tiêu) để làm giảm sự chuyển hóa đầu tiên ở gan; CUR được giảm kích thước xuống còn cấp độ nano (CUR dạng tinh thể nano) để làm tăng độ phân tán trong nước và tăng độ thấm qua màng tế bào; CUR được “đóng gói” vào các nang nano được hình thành từ các chất hoạt động bề mặt hoặc các polymer để vừa làm tăng độ phân tán, độ thấm qua màng tế bào, vừa có thể bảo vệ CUR khỏi các điều kiện bất lợi của môi trường xung quanh [6] – [8]. Tuy nhiên, độ sinh khả dụng đường uống của CUR khi phối hợp với piperine cũng không được cải thiện đáng kể; việc sử dụng hạt tinh thể nano CUR tuy giúp gia tăng độ phân tán và độ thấm qua màng tế bào nhưng hiệu quả cũng không như kì vọng do bề mặt của hạt tinh thể nano CUR vẫn là kỵ nước nên dễ bị loại thải ra khỏi cơ thể bởi cơ chế opsonin; việc sử dụng các hạt mang nano chứa CUR tuy đã cải thiện rõ rệt độ sinh khả dụng cho CUR, nhưng quy trình sản xuất phức tạp, giá thành cao và đặc biệt là sức tải của các hệ mang nano này tương đối thấp (sức tải của liposome, niosome, các loại hệ nhũ, hạt mang nano bản chất polymer, các hạt tiểu phân nano đều nhỏ hơn 25%) [6] – [8]. Điều này dẫn đến liều sử dụng phải đủ lớn và sự lãng phí về nguyên vật liệu dùng để tổng hợp hạt mang nano.

Để giải quyết các vấn đề trên, gần đây, một số nghiên cứu đã đề cập đến việc tổng hợp phức hợp nano giữa các polymer sinh học giá thành thấp (chitosan, sodium alginate) và các chất hoạt tính (CUR, ibuprofen, ciprofloxacin). Ưu điểm của phức hợp nano là quy trình sản xuất đơn giản, nguyên vật liệu rẻ tiền, đặc biệt là sức tải của hệ nano này có thể đạt 80 – 90%, cao gấp nhiều lần so với các hệ mang nano khác [9], [10]. Tuy nhiên, hiện nay trên thế giới có rất ít nghiên cứu đề cập đến ảnh hưởng của polymer KLPT thấp và oligomer vào việc tổng hợp các phức hợp nano [10], [11]. Đặc biệt là chưa có nghiên cứu nào đề cập đến sự ảnh hưởng của chitosan KLPT thấp và OCH đến sự hình thành phức hợp nano với CUR.

Với mục tiêu khảo sát ảnh hưởng của KLPT CH, đặc biệt là OCH đến sự hình thành phức hợp nano với CUR, trong nghiên cứu này, CH với các KLPT khác nhau đã được sử dụng. Sự hình thành của các phức hợp nano được chứng minh bằng phổ hồng ngoại chuyển đổi Fourier (FTIR) và ảnh chụp bởi kính hiển vi quét xạ trường (FE-SEM). Đặc điểm về kích thước hạt, chỉ số phân tán, thế zeta, hiệu suất tạo phức và sức tải của các phức hợp nano hình thành sẽ được đánh giá và so sánh để tìm ra KLPT tối ưu.

## 2. Nội dung

### 2.1. Vật liệu và phương pháp

#### 2.1.1. Vật liệu

CH1, CH2 và OCH được tạo thành từ CH0 cắt mạch bằng kỹ thuật chiếu xạ gamma Co-60 với sự có mặt của H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Trung tâm Công nghệ bức xạ, Viện Nghiên cứu Hạt nhân). Trong đó, KLPT của CH0, CH1, CH2 và OCH lần lượt là: 169,6 kDa; 33,5 kDa; 18,5 kDa và 2,7 kDa. Potassium hydroxide (KOH) và acid acetic được mua từ Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, U.S.). CUR (95%) được mua từ Alfar Aesar (St. Parkridge, MA, U.S.). Tất cả các hóa chất khác đều thuộc cấp độ phân tích.

#### 2.1.2. Phương pháp tổng hợp các phức hợp nano giữa CUR với CH0, CH1, CH2, OCH

Phức hợp nano giữa CUR với CH0, CH1, CH2, OCH được tổng hợp theo phương pháp được đề cập trong nghiên cứu của Nguyen và cộng sự [10]. Cụ thể, CUR được hòa tan hoàn toàn trong dung dịch KOH 0,1 M (do CUR có pKa là 8,4; 9,9 và 10,5) để tạo ra dung dịch chứa các phân tử ion CUR<sup>3-</sup> (mật độ điện tích 8,14 x 10<sup>-6</sup> mol điện tích/mg) có nồng độ dung dịch là 5 mg/mL. CH0, CH1, CH2 và OCH có nồng độ lần lượt là 9,05 mg/mL; 8,85 mg/mL; 8,78 mg/mL và 9,00 mg/mL (tương ứng với mật độ điện tích 4,47 x 10<sup>-6</sup> mol điện tích/mg; 4,58 x 10<sup>-6</sup> mol điện tích/mg; 4,61 x 10<sup>-6</sup> mol điện tích/mg và 4,50 x 10<sup>-6</sup> mol điện tích/mg với độ deacetyl là 80,19%, 82,05%, 82,64% và 80,63%) được hòa tan vào dung dịch acid acetic 1,2% (v/v) để hình thành các dung dịch polymer điện tích dương sao cho tỉ lệ điện tích giữa CUR và polymer là 1. Dung dịch CUR (0,9 mL) và dung dịch CH0, CH1, CH2, OCH (0,9 mL) được trộn đều bằng thiết bị vortex trong thời gian 10 giây để hình thành phức hợp nano.

Ảnh hưởng của sóng siêu âm lên các thông số đặc trưng của phức hợp nano được nghiên cứu dựa vào thiết bị tạo sóng siêu âm Sonifier (CV24, Sonics and Materials Inc., CT, U.S.) thực hiện trong 25 giây.

Phức hợp nano hình thành được rửa 2 lần với chu trình li tâm (14000 vòng/phút trong 10 phút) và tái phân tán phần lắng trong nước cất. Sau đó, đông khô để thực hiện các thí nghiệm sau.

#### 2.1.3. Chứng minh sự hình thành các phức hợp nano giữa CUR với CH0, CH1, CH2, OCH

Đầu tiên, sự hình thành của các phức hợp nano CUR-CH0, CUR-CH1, CUR-CH2 và CUR-OCH được kiểm chứng trên phổ hồng ngoại chuyển đổi Fourier (FTIR) (FT/IR-4600, JASCO, JAPAN) với số sóng 400 – 4000 cm<sup>-1</sup>, độ phân giải 2 cm<sup>-1</sup>.

Bên cạnh đó, hình thái của các phức hợp nano này cũng được quan sát bằng kính hiển vi điện tử quét xạ trường (FE-SEM) (JSM-6700F, JEOL, U.S.). Cụ thể, CUR dạng thô và bột đông khô của các phức hợp nano CUR-CH0, CUR-CH1, CUR-CH2 và CUR-OCH được cho lên màng carbon và được bao phủ bởi platinum. Sau đó, đưa mẫu vào thiết bị FE-SEM để quan sát.

#### 2.1.4. Phân tích các thông số đặc trưng của các phức hợp nano giữa CUR với CH0, CH1, CH2, OCH

Kích thước hạt trung bình, chỉ số phân tán (PDI: polydispersity index) và thế zeta của các phức hợp nano được xác định bằng thiết bị Zetasizer Nano ZS. Cụ thể, dịch phân tán của các phức hợp nano CUR-CH0, CUR-CH1, CUR-CH2 và CUR-OCH được pha loãng 100 lần trong nước cất và đo ở nhiệt độ 25 °C, góc đo 173°.

Hiệu suất tạo phức được xác định theo phương trình (1) với phương pháp đã được đề cập trong các nghiên cứu trước đây [9] – [11]. Cụ thể, phức hợp nano sau khi tạo thành sẽ được lọc qua màng lọc cellulose có kích thước lỗ 3 μm để loại bỏ các hạt CUR (có kích thước trên 5 μm) [10], [11]. Dịch phân tán sau khi lọc sẽ được li tâm ở tốc độ 14000 vòng/phút trong 10 phút bằng thiết bị li tâm Mikro 120 (Hettich, Germany). Hút bỏ dịch nổi và tái phân tán phần lắng vào nước cất với cùng thể tích ban đầu. Dịch tái phân tán sẽ được hòa tan trong dung dịch ethanol với tỉ lệ thể tích thích hợp sao cho giá trị OD nằm trong khoảng 0,1 – 1,0. Lượng CUR trong dung dịch ethanol được xác định bằng phương pháp đo quang phổ sử dụng thiết bị UV-Vis spectrophotometer (UV mini-1240, Shimadzu, Kyoto, Japan) ở bước sóng 423 nm. Từ đó, xác định được lượng CUR đã tham gia tạo thành phức hợp.

Sức tải của phức hợp nano được xác định theo công thức (2) với phương pháp cũng đã được đề cập trong các nghiên cứu trước đây [9] – [11]. Cụ thể, 10 mg của phức hợp nano CUR-CH dạng bột đông khô được hòa tan vào ethanol. Lượng CUR chứa trong dung dịch ethanol cũng được xác định bằng phương pháp đo quang phổ UV-Vis ở bước sóng 423 nm. Từ đó, xác định được lượng CUR chứa trong 10 mg phức hợp nano CUR-CH.

$$\text{Hiệu suất tạo phức (\%)} = \frac{\text{Lượng CUR trong phức hợp nano (mg)}}{\text{Lượng CUR cho vào ban đầu (mg)}} \times 100 \quad (1)$$

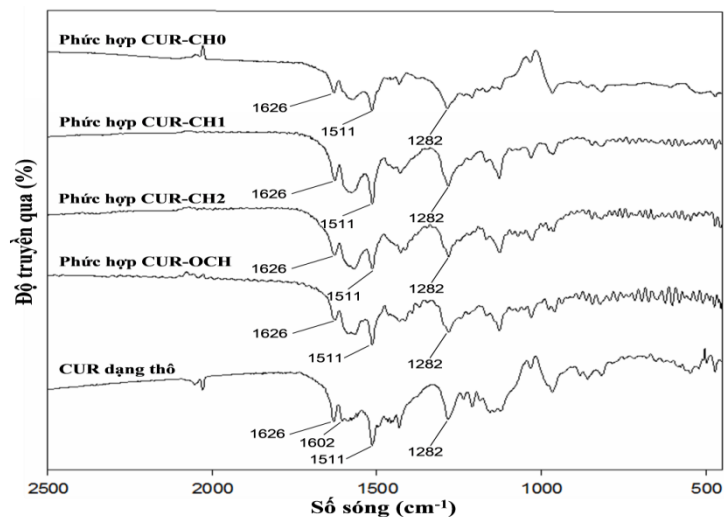
$$\text{Sức tải (\%)} = \frac{\text{Lượng CUR trong phức hợp nano (mg)}}{\text{Lượng phức hợp nano (mg)}} \times 100 \quad (2)$$

## 2.2. Kết quả và bàn luận

### 2.2.1. Chứng minh sự hình thành phức hợp nano giữa CUR với CH0, CH1, CH2, OCH

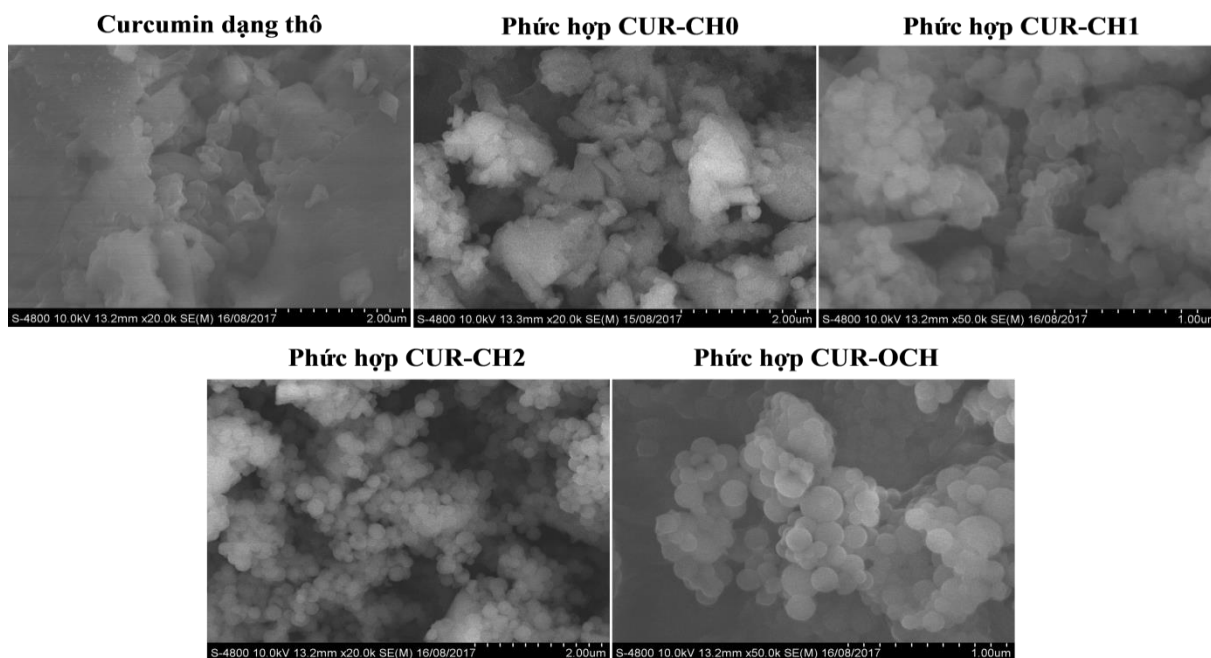
CUR có pKa là 8,4; 9,9 và 10,5 được hòa tan hoàn toàn trong KOH 0,1M qua quá trình khử proton nên dễ dàng tham gia phản ứng tạo phức [10]. Sự có mặt của CUR trong phức hợp nano CUR-CH0, CUR-CH1, CUR, CH2 và CUR-OCH được chứng minh bằng phương pháp phổ hồng ngoại chuyển đổi Fourier (FTIR). Kết quả từ Hình 1 cho ta thấy các peak: 1626, 1511, 1282 cm<sup>-1</sup> là các peak đặc trưng của CUR, thể hiện các dao động kéo căng của các liên kết C=O, C<sub>vòng</sub>-C=C và nhóm enol C-O. Sự có mặt của các peak này trong phổ FTIR của CUR-CH0, CUR-CH1, CUR-CH2 và CUR-OCH đã chứng minh được sự có mặt của CUR trong phức hợp nano này. Ngoài ra, sự biến mất của peak 1602 cm<sup>-1</sup>

(đặc trưng của CUR) trong các phổ của CUR-CH0, CUR-CH1, CUR-CH2, CUR-OCH đã cho thấy rằng nhóm C=O là một trong những nhóm đã tham gia tương tác với phân tử chitosan/oligochitosan để hình thành phức hợp nano.



**Hình 1.** Phổ hồng ngoại chuyển đổi Fourier (FTIR) của CUR dạng thô và các phức hợp nano CUR-CH0, CUR-CH1, CUR-CH2 và CUR-OCH

Sự hình thành phức hợp nano giữa CUR với CH0, CH1, CH2, OCH còn được chứng minh bằng hình ảnh được chụp bởi FE-SEM (Hình 2). Quan sát hình ảnh FE-SEM cho thấy CUR dạng thô có dạng vô định hình. Trong khi đó, phức hợp CUR-CH0 vừa có dạng hình cầu, vừa có dạng vô định hình. Tuy nhiên, tất cả các phức hợp CUR-CH1, CUR-CH2 và CUR-OCH đều có dạng hình cầu với kích thước nằm trong khoảng 100 – 300 nm.

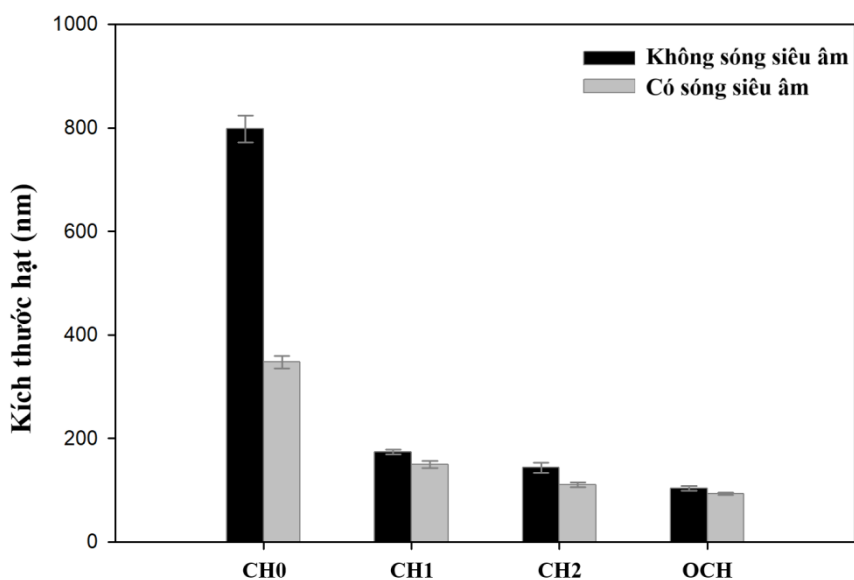


**Hình 2.** Hình ảnh FE-SEM của CUR dạng thô và các phức hợp nano CUR-CH0, CUR-CH1, CUR-CH2, CUR-OCH (không dùng sóng siêu âm để giảm kích thước)

Việc so sánh hình thái của các phức hợp nano CUR-CH0, CUR-CH1, CUR-CH2 và CUR-OCH với hình thái CUR dạng thô, kết hợp với kết quả phổ hồng ngoại chuyển đổi Fourier (FTIR) đã chứng minh được sự hình thành phức hợp nano giữa CUR và CH có KLPT khác nhau. Đồng thời, kết quả hình ảnh FE-SEM cho thấy KLPT polymer cũng ảnh hưởng đáng kể đến hình thái của phức hợp tạo thành.

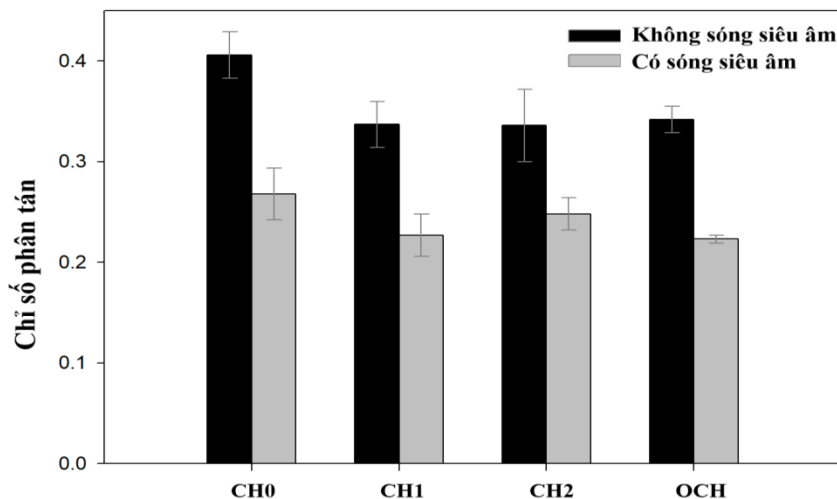
### 2.2.1. Ảnh hưởng của KLPT CH và sóng siêu âm đến các thông số đặc trưng của phức hợp nano

Kết quả ở Hình 3 cho ta thấy kích thước phức hợp nano CUR-CH0 bị ảnh hưởng rất nhiều bởi tác động của sóng siêu âm. Cụ thể, kích thước phức hợp CUR-CH0 sau khi xử lý bởi sóng siêu âm đã giảm từ 797 nm xuống còn 347 nm. Tuy nhiên, ở các trường hợp sử dụng CH có KLPT thấp (CH1, CH2) hoặc OCH thì sóng siêu âm ảnh hưởng không nhiều đến kích thước phức hợp nano hình thành. Cụ thể, kích thước phức hợp nano CUR-CH1, CUR-CH2, CUR-OCH trước và sau xử lý bởi sóng siêu âm lần lượt là 173,5 nm và 149,6 nm; 143,6 nm và 110,6 nm; 103,4 nm và 93,3 nm. Mặt khác, kết quả Hình 3 cũng chỉ ra rằng KLPT polymer cũng ảnh hưởng rất nhiều đến kích thước phức hợp nano hình thành. Việc sử dụng polymer CH với KLPT thấp hơn sẽ cho phức hợp nano với kích thước nhỏ hơn. Cụ thể, phức hợp nano CUR-CH0 có kích thước to hơn gấp 7 lần so với kích thước của phức hợp CUR-OCH (797 nm so với 103 nm). Điều này là do CH0 có KLPT rất lớn (169,6 kDa), trong khi OCH có KLPT thấp hơn rất nhiều (2,7 kDa). Ngoài ra, việc giảm KLPT từ 33,5 kDa (CH1) xuống còn 2,7 kDa (OCH) giúp phức hợp nano tạo thành có kích thước nhỏ hơn 2 lần.



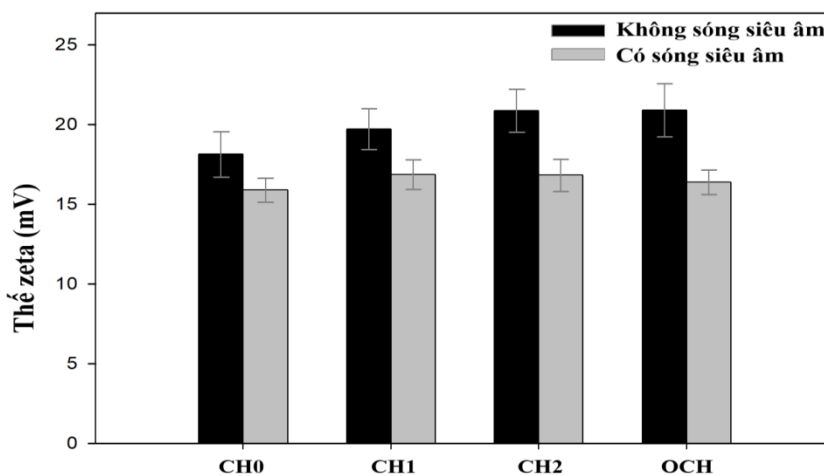
**Hình 3.** Ảnh hưởng của KLPT CH và sóng siêu âm đến kích thước phức hợp nano hình thành

Kết quả ở Hình 4 cũng chỉ ra rằng việc sử dụng sóng siêu âm đã giảm chỉ số phân tán của các dịch phân tán phức hợp nano và giúp các phức hợp nano trong dịch phân tán đồng đều hơn. Tuy nhiên, khi sử dụng CH có KLPT thấp (CH1, CH2) hoặc OCH làm cho dịch phân tán tạo thành có chỉ số phân tán thấp hơn. Cụ thể, chỉ số phân tán của dịch phân tán CUR-CH1, CUR-CH2 và CUR-OCH lần lượt là: 0,337; 0,336 và 0,342, thấp hơn nhiều so với chỉ số phân tán của dịch phân tán CUR-CH0 (0,406).



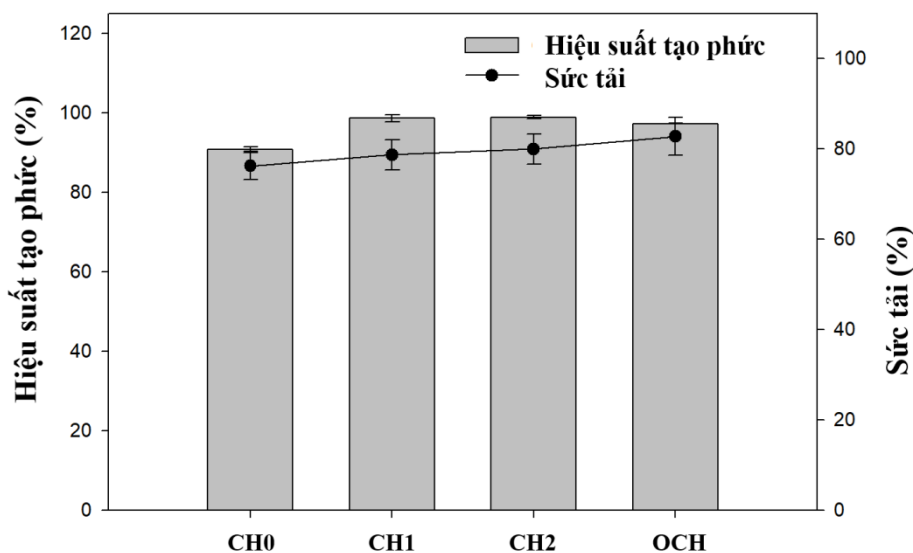
**Hình 4.** Ảnh hưởng của KLPT CH đến chỉ số phân tán phức hợp nano hình thành

Ngoài ra, KLPT CH và sóng siêu âm cũng ảnh hưởng đáng kể đến thế zeta của phức hợp nano tạo thành. Như được trình bày ở Hình 5, thế zeta của phức hợp nano tăng lên khi CH có KLPT thấp hơn được sử dụng. Điều này là do phức hợp nano sử dụng CH có KLPT thấp hơn sẽ có kích thước nhỏ hơn (Hình 3), mà kích thước nhỏ hơn sẽ làm tăng mật độ diện tích bề mặt của phức hợp nano, từ đó làm tăng giá trị thế zeta [12]. Mặt khác, kết quả ở Hình 5 cũng cho thấy sóng siêu âm làm giảm giá trị thế zeta của các phức hợp nano do sự oxy hóa gốc  $-NH_2$  của CH dưới tác động của sóng siêu âm [13].



**Hình 5.** Ảnh hưởng của KLPT CH đến thế zeta của phức hợp nano tạo thành

Kết quả của Hình 6 cũng cho thấy việc sử dụng CH có KLPT thấp (CH1, CH2) hoặc CH0 chẳng những không ảnh hưởng mà còn làm tăng hiệu suất tạo phức và sức tải của phức hợp nano hình thành. Cụ thể, hiệu suất tạo phức và sức tải của tất cả các phức hợp nano hình thành đều lần lượt đạt trên 90% và 76%. Trong đó, việc sử dụng OCH cho hiệu suất tạo phức và sức tải lần lượt là 97,2% và 82,7%, cao hơn nhiều so với việc sử dụng CH0 (90,7% và 76,2%).



**Hình 6.** Ảnh hưởng của KLPT CH đến hiệu suất tạo phức và sức tải của phức hợp nano tạo thành

### 3. Kết luận

Các kết quả trên đã chứng minh KLPT của CH ảnh hưởng rất nhiều đến các đặc điểm (kích thước, chỉ số phân tán, thế zeta, hiệu suất tạo phức và sức tải) của phức hợp nano hình thành. Sự hình thành phức hợp nano giữa CUR với CH0, CH1, CH2 và OCH đã được chứng minh bằng phổ hồng ngoại chuyển đổi Fourier (FTIR) và hình ảnh FE-SEM. Kết quả của nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng việc sử dụng OCH để tạo phức hợp nano với CUR đã giúp phức hợp tạo thành có các thông số đặc điểm tốt nhất với kích thước 103 nm, chỉ số phân tán 0,342 và thế zeta đạt 20,90 mV, hiệu suất tạo phức và sức tải lần lượt là 97,2% và 82,7%. Đây cũng là nghiên cứu đầu tiên trên thế giới về việc sử dụng oligochitosan trong tổng hợp phức hợp nano với chất hoạt tính CUR. Ngoài ra, kết quả còn chứng minh được việc sử dụng oligomer (OCH) để tổng hợp phức hợp nano còn giúp đơn giản hóa quy trình tổng hợp phức hợp nano (giảm đi công đoạn sử dụng sóng siêu âm) và điều này có ý nghĩa quan trọng trong sản xuất phức hợp nano ở quy mô công nghiệp.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.



## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] B.B. Aggarwal, C. Sundaram, N. Malani, H. Ichikawa, "Curcumin: the Indian solid gold," *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 595, pp.1-75, 2007.
- [2] S. K. Borra, P. Gurumurthy, J. Mahendra, K. M. Jayamathi, C. N. Cherian and R. Chand, "Antioxidant and free radical scavenging activity of curcumin determined by using different in vitro and ex vivo models," *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 7, pp.2680-2690, 2013.
- [3] P. Anand, A. B. Kunnumakkara, R. A. Newman, B. B. Aggarwal, "Bioavailability of curcumin: problems and promises," *Molecular Pharmaceutics*, vol. 4, pp.807-818, 2007.
- [4] K. Berginc, J. Trontelj, N. S. Basnet, A. Kristl, "Physiological barriers to the oral delivery of curcumin," *Pharmazie*, vol. 67, pp.518-524, 2012.
- [5] B. Wahlang, Y. B. Pawar, A. K. Bansal, "Identification of permeability-related hurdles in oral delivery of curcumin using the Caco-2 cell model," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 77, pp.275-282, 2011.
- [6] G. Shoba, D. Joy, T. Joseph, M. Majeed, R. Rajendran, P. Srivivas, "Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers," *Planta Medica*, vol. 64, pp.353-356, 1998.
- [7] M. Sun, X. Su, B. Y. Ding, X. L. He, X. J. Liu, A. H. Yu, H. X. Lou, G. X. Zhai, "Advances in nanotechnology-based delivery systems for curcumin," *Nanomedicine*, vol. 7, pp.1085-1100, 2012.
- [8] O. Naksuriya, S. Okonogi, R. M. Schiffelers, W. E. Hennink, "Curcumin nanoformulation: a review of pharmaceutical properties and preclinical studies and clinical data related to cancer treatment," *Biomaterials*, vol. 35, pp.3365-3383, 2014.
- [9] W. S. Cheow and K. Hadinoto, "Green amorphous nanoplex as new supersaturating drug delivery system," *Langmuir*, vol. 28, pp.6265-6275, 2012.
- [10] H. M. Nguyen, H. Yu, T. Y. Kiew, K. Hadinoto, "Cost effective alternative to nanoencapsulation: amorphous curcumin-chitosan nanoparticle complex exhibiting high payload and supersaturation generation," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 96, pp.1-10, 2015.
- [11] H. Yu, M. H. Nguyen, K. Hadinoto "Effects of chitosan molecular weight on the physical and dissolution characteristics of amorphous curcumin-chitosan nanoparticle complex", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, vol. 44, pp.82-88, 2018.
- [12] D. Duracher, F. Sauzedde, A. Elaissari, C. Pichot, L. Nabzar, "Cationic amino- containing N-isopropyl-acrylamide-styrene copolymer particles: 2-surface and colloidal characteristics," *Colloid and Polymer Science*, vol. 276, pp.920-929, 1998.
- [13] S. H. Lee, H. M. Nguyen, Y. M. Koo, S. H. Ha, "Ultrasound-enhanced lipase activity in the synthesis of sugar ester using ionic liquids," *Process Biochemistry*, vol. 43, pp.1009-1012, 2008.