

Nano tiểu phân bạc và triển vọng ứng dụng trong Dược học

Chữ Thị Thu Huyền, Nguyễn Thị Thanh Bình,
Trịnh Ngọc Dương, Nguyễn Thanh Hải*

Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 17 tháng 3 năm 2014

Chỉnh sửa ngày 31 tháng 3 năm 2014; Chấp nhận đăng ngày 26 tháng 6 năm 2014

Tóm tắt: Nano tiểu phân bạc đang là một mối quan tâm hấp dẫn của ngành dược hiện nay. Không chỉ có tác dụng kháng khuẩn hiệu quả mà còn sở hữu khả năng chống viêm tốt, nano tiểu phân bạc được ứng dụng để phát triển các miếng dán, kem trị vết thương, vết bỏng, chế tạo mỹ phẩm, chất khử mùi và cả các dung dịch hỗ trợ tăng cường miễn dịch. Cơ chế tác dụng đa dạng chính là chìa khóa cho phổ kháng khuẩn rộng và những tác dụng hiệu quả của nano tiểu phân bạc. Bài tổng quan dưới đây đề cập đến các nội dung trên đồng thời cũng phản ánh những tác dụng không mong muốn có thể gặp phải khi sử dụng nano tiểu phân bạc khi ứng dụng chúng rộng rãi trong ngành dược.

Từ khóa: Nano tiểu phân bạc, tổng hợp, kháng khuẩn, chống viêm, độc tính.

1. Giới thiệu

Bạc là nguyên tố có khả năng khử khuẩn mạnh nhất tồn tại trong tự nhiên và đã được sử dụng để phát triển thuốc chống nhiễm khuẩn từ cách đây khoảng 200 năm. Trong lịch sử, dung dịch keo bạc được sử dụng rộng rãi để chữa các bệnh nấm trên da, điều trị các vết thương, vết bỏng, các bệnh răng miệng và làm thuốc nhỏ mắt. Giữa thế kỷ 20, sự phát minh ra các thuốc kháng sinh với hiệu lực kháng khuẩn mạnh đã làm cho mức độ sử dụng các thuốc có nguồn gốc từ bạc giảm dần. Tuy nhiên chỉ 30 năm sau đó, người ta nhận thấy hiện tượng đề kháng kháng sinh ở nhiều loài vi sinh vật, vì vậy tính năng kháng khuẩn của bạc lại được chú ý. Các thuốc

có nguồn gốc từ bạc có phổ kháng khuẩn rộng và rất hiếm khi bị vi khuẩn kháng tác dụng [1].

Các thuốc từ bạc đều có chung một nguyên tắc là thuốc cần phải giải phóng bạc dưới dạng ion để cho tác dụng kháng khuẩn [2]. Nhiều dạng bạc được sử dụng để làm thuốc, điển hình là:

Dung dịch keo bạc

Đây là dạng được sử dụng phổ biến nhất trước năm 1960, các tiểu phân ion bạc tinh khiết, tích điện, được phân tán trong môi trường lỏng. Các ion tích điện đẩy nhau, vì thế chúng được phân tán đồng nhất trong môi trường ngay cả khi đã bôi thuốc lên vết thương.

Phức hợp bạc protein

Phức hợp bạc với các protein phân tử nhỏ làm tăng tính ổn định của ion bạc trong dung dịch. Tuy nhiên khả năng kháng khuẩn kém ion

* Tác giả liên hệ. ĐT: 84-913512599.
E-mail: haipharm1@gmail.com

bạc và do có một số nhược điểm nhất định nên vào những năm 1960 chúng nhanh chóng được thay thế bởi các muối bạc.

Muối bạc

Bạc nitrate 0,5% đã từng là một dung dịch điển hình và phổ biến nhất để trị các vết bỏng ngoài da. Dung dịch muối bạc thể hiện tính kháng khuẩn cao, ít bị vi sinh vật kháng lại và nó còn có khả năng giảm viêm bề mặt vết thương. Tuy nhiên, dung dịch muối bạc không ổn định, dễ chuyển sang màu xám khi tiếp xúc với ánh sáng. Ở nồng độ lớn hơn 1% dung dịch bạc nitrate có khả năng gây độc với tế bào và các mô; nitrate làm giảm khả năng liền vết thương và khi bị khử thành nitrite sẽ tạo ra các chất oxy hóa gây độc tế bào, giảm khả năng tái tạo tế bào biểu mô.

Bạc sulfadiazine

Bạc sulfadiazine (tên thương mại: Flammazine, Silvadene) được sử dụng nhiều trong những năm 1970. Bạc nitrate và natri sulfadiazine được phối hợp để tạo thành bạc sulfadiazine sử dụng làm thuốc. Phức hợp này tác dụng lên thành tế bào vi khuẩn. Tác dụng kháng khuẩn là tác dụng hiệp đồng của cả ion bạc và của sulfadiazine. Các dạng thuốc phối hợp các sulfamid khác nhau với bạc đã được nghiên cứu thử nghiệm *in vitro*, kết quả cho thấy bạc sulfadiazine cho tác dụng tốt nhất. Điều này có thể được giải thích là do sự liên kết mạnh của bạc sulfadiazine với DNA của vi sinh vật. Sự đề kháng của vi khuẩn trên dòng sản phẩm này cũng đã được ghi nhận. Sản phẩm có thể làm giảm khả năng tái tạo biểu mô. Độc tính đối với tủy xương của thuốc bạc sulfadiazine chủ yếu là do propylene glycol có trong dạng thuốc gây nên.

Hệ giải phóng ion bạc kéo dài-nano tiểu phân bạc

Các hệ kiểm soát giải phóng ion bạc kéo dài được phát triển trong những năm gần đây và được coi là một cuộc cách mạng trong việc phát

triển các sản phẩm chống nhiễm khuẩn vết thương. Nhiều dạng của bạc được sử dụng để nghiên cứu phát triển các thuốc dạng này: nano tiểu phân bạc; nano tiểu phân các muối bạc; hệ các ion bạc và nano tiểu phân bạc phối hợp với các polymer khác nhau...

Bài tổng quan này giới thiệu các công trình nghiên cứu về bạc trong đó chú trọng vào dạng nano tiểu phân bạc trên các khía cạnh tổng hợp và đánh giá tác dụng cũng như những triển vọng ứng dụng vào lĩnh vực dược học.

Như đã biết, hiện nay, dưới quan điểm của khoa học và công nghệ nano, việc tạo ra các vật thể với kích thước nano (10^{-12} m) đã trở nên phổ biến. Ở kích thước này, các hạt vật chất thể hiện nhiều tính chất lý hóa khác thường so với khi vật chất đó ở kích thước thô. Các hạt nano tiểu phân bạc với năng lượng bề mặt lớn, tỷ lệ các nguyên tử trên bề mặt so với tổng số các nguyên tử của tiểu phân cao, vì vậy có khả năng giải phóng các ion bạc vào trong dung dịch cao, và cho hiệu lực khử khuẩn đáng kể. Thời gian giải phóng ion bạc từ các nano tiểu phân bạc còn kéo dài hơn nhiều so với dạng keo bạc.

2. Tổng quan về nano tiểu phân bạc

2.1. Phương pháp điều chế nano tiểu phân bạc

Hiện nay có nhiều phương pháp khác nhau để điều chế nano tiểu phân bạc, bao gồm tổng hợp hóa học (chemical synthesis), vật lý (physical synthesis) hay hóa lý kết hợp (physical chemical synthesis), sinh tổng hợp (biosynthesis) và tổng hợp hóa thực vật (phytosynthesis).

Thách thức lớn nhất trong điều chế nano tiểu phân bạc là việc kiểm soát các thông số như kích thước tiểu phân, phân bố kích thước, hình dạng, hình thái học, độ ổn định, thành

phần hóa học, cấu trúc tinh thể, hiệu suất phản ứng, tạp chất.

2.1.1. Phương pháp tổng hợp hóa học, vật lý hay hóa lý kết hợp

Phương pháp phổ biến nhất được sử dụng để điều chế nano tiểu phân bạc là khử bạc nitrat bằng các tác nhân khử hóa như sodium borohydrid, tia UV, tia γ co-60 (photoreduction), khí H_2 , hydrazine, ethanol, ethylene glycol, ascorbic acid và aliphatic amines... Các tác nhân khử có độ mạnh yếu khác nhau cho các nano tiểu phân bạc có kích thước khác nhau. Sodium borohydride được sử dụng rất phổ biến do khả năng phản ứng cao so với các chất khử khác; độc tính thấp hơn so với hydrazine và hydroxylamines; an toàn hơn so với dùng khí H_2 hay các tác nhân vật lý khác; kích thước nano tiểu phân thu được tương đối nhỏ 1-15 nm [1, 3, 4].

Hỗn hợp phản ứng được thêm chất ổn định (stabilizer) và chất định vị (capping agent) để hạn chế sự kết tụ của các nano tiểu phân. Các chất ổn định đã được sử dụng gồm: tinh bột hòa tan, dịch keo silica, polyvinyl alcohol, polyvinyl pyrrolidone (PVP), β -cyclodextrin, chitosan, ethylene glycol, sodium dodecyl sulfate (SDS), peptide, silica kích thước nano... Mặc dù có thể sử dụng nhiều loại dung môi hữu cơ khác nhau làm môi trường phân tán trong quá trình tổng hợp nano tiểu phân bạc nhưng nước vẫn là dung môi được sử dụng phổ biến nhất [1, 5].

2.1.2. Phương pháp sinh tổng hợp (biosynthesis)

Phương pháp sinh tổng hợp nano tiểu phân bạc bằng nhiều chủng vi khuẩn và vi nấm đã được công bố. Dung dịch bạc nitrate được thêm vào sinh khối vi sinh vật, tác nhân khử hóa (như hydroquinones) có mặt trong sinh khối sẽ khử Ag^+ thành nano tiểu phân bạc dưới các điều kiện xác định. Nhược điểm của phương pháp

này là khó khăn trong việc tinh chế mẫu và các sản phẩm chuyển hóa của vi sinh vật có thể để lại vết trong sản phẩm cuối cùng gây khó khăn khi ứng dụng trong ngành dược [1].

2.1.3. Phương pháp tổng hợp hóa thực vật (Phytosynthesis)

Gần đây, việc sử dụng các dịch chiết từ thực vật làm tác nhân khử hóa để tổng hợp nano tiểu phân bạc cũng được chú ý và phát triển do tính thân thiện môi trường, độ an toàn cao và giá thành rẻ. Hỗn hợp nhiều thành phần trong dịch chiết vừa là tác nhân khử hóa vừa là tác nhân bền hóa cho tiểu phân nano tổng hợp được. Nhiều tác giả đã tổng hợp thành công tiểu phân nano bạc bằng cách sử dụng các dịch chiết từ: củ nghệ *Curcuma longa*, lá chè xanh *Camellia* sp., lá húng chanh (tần lá dày) *Plectranthus amboinicus*, lá cốt khí tía *Tephrosia purpurea*, lá bạch tật lê *Tribulus terrestris*, vỏ quả cam ngọt *Citrus unshiu*, lá lô hội *Aloe vera*, rễ cây nhàu *Morinda citrifolia*, vỏ quả xoài *Mangifera* sp., lá cây ngọt nghèo *Gloriosa superba*, lá bạch đàn *Eucalyptus chapmaniana*, vỏ quả chuối *Musa* sp., lá mạn kinh tử *Vitex negundo*... [6, 7].

2.2. Đặc điểm của nano tiểu phân bạc và các phương pháp xác định

Các đặc tính lý, hóa của nano tiểu phân bạc được xác định bởi một số phương pháp như: phổ hấp thụ nguyên tử (AAS); phổ hấp thụ tử ngoại - khả kiến (UV-VIS); hiển vi điện tử truyền qua (TEM); nhiễu xạ tia X (XRD); phổ hồng ngoại (FTIR); tán xạ ánh sáng (DLS).

Kích thước và hình dạng nano tiểu phân thường được xác định qua hình ảnh TEM. Nano tiểu phân bạc sinh tổng hợp từ vi tảo *Scenedesmus* có dạng hình cầu, kích thước 15-20nm [8]. Nano tiểu phân bạc được tổng hợp hóa học bằng chất khử là ascorbic acid trong

hỗn hợp CTAB/NH₃ cũng có dạng gần như hình cầu với đỉnh hấp phụ UV-VIS cực đại ở 422 nm [9]. Đặng Văn Phú và cộng sự đã nghiên cứu chế tạo keo nano tiểu phân bạc bằng phương pháp chiếu xạ γ Coban 60 sử dụng polyvinyl pyrrolidon (PVP)/chitosan (CTS) làm chất ổn định. Kích thước hạt trung bình và tần số phân bố kích thước hạt được xác định bằng phương pháp đếm hạt từ ảnh TEM với tổng số hạt từ 500-1000 hạt. Nhóm tác giả nhận thấy các hạt nano tiểu phân bạc do họ tạo ra chủ yếu có hình cầu, kích thước trung bình là 15,96 \pm 0,51 nm (PVP), 5,55 \pm 0,25 nm (CTS), 2,92 \pm 0,05 nm (1% PVP/5% CTS), 11,44 \pm 2,07 nm (1%PVP/ Ethanol 1M) [10].

Bằng kỹ thuật DLS, Jaiswal và cộng sự đo kích thước tiểu phân nano bạc chế tạo được từ AgNO₃ là 4-6,2 nm khi dùng β -cyclodextrin làm chất định vị và 16,3 nm với phản ứng điều chế không dùng β -cyclodextrin [5].

Tùy thuộc độ ổn định của hệ, kích thước, độ phân bố kích thước... mà nano tiểu phân bạc hấp thụ cực đại ở các bước sóng khác nhau. Guzman và cộng sự điều chế nano tiểu phân bạc từ muối bạc nitrate sử dụng hydrazine hoặc hỗn hợp hydrazine với natri citrate làm tác nhân khử và sodium dodecyl sulfate (SDS) làm tác nhân ổn định. Dùng hydrazine làm tác nhân khử cho các nano tiểu phân ở dạng đơn phân tán hình cầu hoặc tập hợp thành các hạt nhỏ kích thước từ 8 đến 50 nm, trung bình là 24 nm. Dùng hỗn hợp hydrazine và natri citrate làm tác nhân khử cho các nano tiểu phân phân tán tốt hơn, hình cầu hoặc có cạnh, kích thước phân bố thành 2 nhóm từ 15 đến 30 nm và từ 32 đến 48 nm. Nano tiểu phân bạc hấp thụ UV-VIS cực đại lần lượt ở 418 nm và 412 nm [11].

Bước sóng hấp thụ cực đại của nano tiểu phân bạc trong chất ổn định PVA và PVP lần lượt là 410 và 418 nm [4].

2.3. Tác dụng sinh học của nano tiểu phân bạc (nanosilver efficacy)

2.3.1. Tác dụng diệt khuẩn

Ion bạc có hoạt tính mạnh, dễ dàng liên kết với các protein tích điện âm, RNA, DNA, ion clorid. Đặc tính này đóng vai trò chính trong cơ chế kháng khuẩn của bạc nhưng cũng gây phức tạp khi chúng có thể liên kết với protein trong vết thương. Thách thức của các sản phẩm chống khuẩn tại chỗ của bạc hiện nay là khả năng giải phóng ion bạc quá thấp hoặc quá nhanh, tính thấm kém, sự có mặt của nitrate hay các base là các chất gây ảnh hưởng không tốt đến sự hàn gắn vết thương.

Băng dán vết thương muốn phát huy tác dụng phải giải phóng đủ lượng bạc dưới dạng ion hòa tan. Nếu giải phóng ion bạc ở nồng độ dưới mức ức chế tối thiểu (MIC – minimum inhibitory concentration, 2 - 4 mg Ag⁺/l) trong thời gian kéo dài có thể dẫn đến tình trạng kháng thuốc. Cơ chế đề kháng là làm giảm tính thấm với bạc và/hoặc tăng cường hoạt động của hệ thống bơm đẩy bạc ra khỏi tế bào. Vì vậy, việc sử dụng bạc thiếu kiểm soát có thể dẫn tới gia tăng khả năng đề kháng của vi khuẩn [12]. Bạc nitrate giải phóng ion bạc ở nồng độ cao nhưng nhanh, nên phải thay miếng băng dán thường xuyên (lên đến 12 lần/ngày). Bạc sulfadiazine cung cấp đủ lượng bạc cần thiết nhưng tác dụng duy trì yếu, tuy nhiên so với bạc nitrate, bạc sulfadiazine đã có sự cải thiện đáng kể (chỉ phải thay miếng băng dán 2 lần/ngày). Bạc calci phosphate và bạc chloride giải phóng ion bạc kéo dài nhưng khó đủ nồng độ. Dạng nano tiểu phân bạc có thể coi là dạng lý tưởng nhất để chế tạo băng dán vết thương, vết bỏng nhờ khắc phục được các hạn chế của các dạng bạc nói trên. Nano tiểu phân bạc giải phóng Ag⁰, dạng này khó bị bất hoạt bởi ion chloride hay chất hữu cơ so với dạng ion. Khi

bạc bị tiêu hao do phản ứng với các tế bào đích hoặc bị bất hoạt bởi các protein hay anion trong dịch vết thương, bạc lại được bổ sung liên tục giúp duy trì ổn định hàm lượng bạc có hoạt tính [2].

Bạc là một tác nhân kháng khuẩn phổ rộng, có khả năng chống nấm men, nấm mốc và vi khuẩn, gồm cả chủng *Staphylococcus aureus* kháng methicillin và *Enterococci* kháng vancomycin. Dạng kim loại bạc tương đối trơ và khó hấp thu bởi tế bào động vật có vú cũng như tế bào vi khuẩn. Tuy nhiên, trong dịch vết thương hoặc các chất bài tiết khác, bạc được ion hóa và trở nên có hoạt tính. Tương tự các kim loại nặng khác, bạc tác động trên các vi sinh vật bằng cách tấn công hệ enzyme hô hấp, các thành phần của hệ vận chuyển electron cũng như làm suy yếu chức năng của DNA. Ion bạc tương tác với nhóm thiol trong hệ enzyme hô hấp của tế bào, tương tác với các protein cấu trúc và các base của DNA dẫn đến ức chế sự sao chép, tương tác với nhóm sulphydryl trên bề mặt hoặc bên trong vi khuẩn làm bất hoạt enzyme phosphomannose isomerase, tương tác với peptidoglycan của vách tế bào và gây phân giải màng tế bào, gây biến tính ribosome dẫn đến ức chế tổng hợp protein. Do tác dụng theo nhiều cơ chế khác nhau như vậy mà tỉ lệ kháng bạc của vi khuẩn là rất thấp [1, 2].

Nano tiểu phân bạc thể hiện tác dụng diệt khuẩn trên một lượng lớn các loài vi khuẩn, những loài được nghiên cứu nhiều nhất là tụ cầu vàng *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, liên cầu tan máu *Streptococcus*, trực khuẩn mũ xanh *Pseudomonas aeruginosa* và phẩy khuẩn tả *Vibrio cholerae*. Ngoài ra tác dụng của nano tiểu phân bạc trên nấm *Candida albican* và một số chủng virut cũng đã được nghiên cứu. Mẫu với *S. aureus* nồng độ 3000 khuẩn/đĩa bị diệt hoàn toàn bởi dịch keo bạc-silica ở nồng độ 60 mg/l [13]. Shahverdi và

cộng sự (2007) đã chỉ ra rằng nano tiểu phân bạc đường kính 5-32 nm tăng tác dụng diệt khuẩn của nhiều loại kháng sinh như penicillin G, amoxicillin, erythromycin, clindamycin và vancomycin trên *Staphylococcus aureus* và *Escherichia coli* [14]. Nghiên cứu của Jaiswal và cộng sự (2010) cho thấy sự có mặt của tác nhân định vị β -cyclodextrin làm tăng rõ rệt tác dụng kháng khuẩn của các nano tiểu phân bạc trên các chủng *P. aeruginosa*, *E. coli* và *S. aureus*. Ở nồng độ 50 ppm và 100 ppm, nano tiểu phân bạc diệt trên 96 và 98%, theo thứ tự, cả 3 chủng vi khuẩn này [15]. Nano tiểu phân bạc điều chế từ phản ứng AgNO_3 với dịch chiết củ nghệ *Curcuma longa* ở nồng độ 50 mg/l ức chế đến 99,1 % chủng *E. coli* BL-21. Ruparelia và cộng sự (2008) công bố nồng độ diệt khuẩn tối thiểu của nano tiểu phân bạc trên nhiều chủng *E. coli* là 60 -220 mg/l [6]. Vải sợi 100% cotton được tẩm nano tiểu phân bạc đến bão hòa thể hiện khả năng diệt khuẩn tốt trên các loại trực khuẩn mũ xanh, liên cầu tan máu, tụ cầu vàng và nấm *Candida* tại thời điểm ban đầu và cả sau 2 tháng. Riêng với *E. coli*, tác dụng của nano tiểu phân bạc ở mức độ trung bình. Ngay sau khi phủ nano tiểu phân bạc thì tác dụng trên *E. coli* có biểu hiện rõ mặc dù yếu hơn so với trên các loại vi khuẩn khác. Sau 1 tháng và 2 tháng thì hiệu lực của vải tẩm nano tiểu phân bạc trên *E. coli* không rõ, điều này được lý giải là môi trường nuôi cấy *E. coli* có chứa nước muối sinh lý (dung dịch NaCl 0,9%), ion Cl^- liên kết với Ag^+ tạo AgCl làm giảm lượng Ag^+ tham gia vào quá trình khử khuẩn, hơn nữa bản thân vi khuẩn *E. coli* cũng có sức sống mạnh hơn các loại vi khuẩn khác [15].

Một nghiên cứu khác của Nguyễn Như Lâm và cộng sự (2009), nồng độ diệt khuẩn tối thiểu của nano tiểu phân bạc với *P. Aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* lần lượt là 100 mg/l, 12,5 mg/l, 3,125 mg/l sau 2 giờ tiếp xúc [16]. Nano tiểu

phân bạc do viên Công nghệ môi trường điều chế đã được sử dụng để nghiên cứu đánh giá khả năng diệt khuẩn đối với một số chủng vi khuẩn phân lập từ các bệnh phẩm của bệnh nhân mắc bệnh tả. Số liệu thực nghiệm chỉ ra rằng sau 15 phút tiếp xúc với môi trường chứa nano tiểu phân bạc nồng độ 1,0 mg/l, tất cả 3 chủng *Vibrio cholerae* 3184, 3214, 3252 đã bị tiêu diệt. Nồng độ nano tiểu phân bạc tối thiểu cho phép tiêu diệt 99,99% vi khuẩn được xác định là 0,25 mg/l với thời gian tiếp xúc là 60 phút [17].

2.3.2. Tác dụng chống nấm

Nano tiểu phân bạc có tác dụng chống nấm nhanh và hiệu quả trên nhiều loài phổ biến như *Aspergillus*, *Candida* và *Saccharomyces* [18]. Nano tiểu phân bạc kích thước $13,5 \pm 2,6$ nm còn hiệu quả trong diệt nấm men phân lập từ vú bò bị viêm [19].

2.3.3. Tác dụng chống virut

Nano tiểu phân bạc đường kính trung bình 10 nm ức chế đến 98% sự tái tạo của virut HIV-1 trong khi nano vàng cùng đường kính chỉ cho hiệu quả ở mức độ thấp (6-20 %) [20]. Humberto H Lara và cộng sự (2010) cho rằng nano tiểu phân bạc phát huy tác dụng kháng virut HIV ở giai đoạn đầu của quá trình nhân bản và giai đoạn sau xâm nhập của virut [21]. Mặt khác, Elechiguerra và cộng sự (2005) cũng chỉ ra rằng tác dụng diệt virut của nano tiểu phân bạc phụ thuộc vào kích thước tiểu phân, khoảng có tác dụng là 1-10 nm [22].

2.3.4. Tác dụng chống viêm

Nhiều nghiên cứu khoa học đã làm sáng tỏ cơ chế chống viêm của nano tiểu phân bạc. Trong một nghiên cứu sử dụng 1,2-dinitrochlorobenzen làm tác nhân gây viêm da ở lợn, mô bệnh học cho thấy biểu mô lợn được

dán băng dán tẩm nano tiểu phân bạc và bạc nitrat gần như bình thường sau 72 giờ điều trị. Tác dụng chống viêm của nano tiểu phân bạc có thể có liên quan tới khả năng giảm giải phóng cytokin, giảm sự thâm nhập của tế bào lympho và tế bào mast, gây tự hủy các tế bào viêm. Hệ men matrix metalloproteinase (MMPs) góp phần gây ra quá trình viêm và sự dư thừa của chúng có liên quan đến biểu hiện loét mãn tính hơn là các vết thương cấp, cho thấy MMPs góp phần cản trở sự tự lành của vết loét. Miếng dán nano tiểu phân bạc giảm rõ rệt mức MMP9 ở lợn và cải thiện sự lành vết thương, mặc dù chưa xác định được cơ chế. Trong 1 nghiên cứu lâm sàng trên 15 bệnh nhân, miếng dán nano tiểu phân bạc đẩy mạnh sự lành của các vết loét ở chân. Điều này cho thấy nano tiểu phân bạc không chỉ giảm số lượng tế bào viêm ở vết thương mà còn có đáp ứng chống viêm do làm giảm sự thâm nhập của bạch cầu trung tính [1].

2.3.5. Tác dụng chữa bỏng và làm lành vết thương

Những thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên đã đánh giá khả năng làm lành vết bỏng nhanh của miếng băng dán chứa nano tiểu phân bạc so với miếng dán chứa bạc sulfadiazine. Nano tiểu phân bạc giúp giảm đáng kể thời gian làm lành vết thương (trung bình còn 3,35 ngày), đẩy lùi nhiễm khuẩn ở các vết bỏng bị nhiễm trùng và không quan sát thấy tác dụng không mong muốn nào. Một thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên khác trên khả năng chữa bỏng độ 2, 191 bệnh nhân được chia làm ba nhóm điều trị với: băng nano tiểu phân bạc, 1% kem bạc sulfadiazine hay với gạc chỉ chứa vaseline. Kết quả cho thấy sự vượt trội của băng nano tiểu phân bạc trong việc giảm thời gian lành vết bỏng. Tuy nhiên, không có sự khác nhau trong khả năng làm lành các vết thương sâu của băng nano tiểu phân bạc so với việc sử dụng kem 1% bạc sulfadiazine. Điều này cho thấy nano tiểu

phân bạc tăng tốc sự tái tạo biểu mô nhưng không ảnh hưởng đến các pha khác của quá trình làm lành vết thương của mô như sự hình thành mạch và tăng sinh tế bào.

Băng dán chứa nano tiểu phân bạc cũng đã được nghiên cứu cải tiến với mục đích tăng cường hiệu quả diệt khuẩn và hàn gắn vết thương. Băng dán chứa nano tiểu phân bạc trong chitosan thể hiện tỉ lệ làm lành vết thương vượt trội (89%) so với miếng dán chứa bạc sulfadiazine (68%) và phim chứa chitosan (74%). Hơn nữa, băng dán nano tiểu phân bạc trong chitosan giải phóng ít bạc hơn so với bạc sulfadiazine truyền thống. Điều này chứng tỏ việc sử dụng nano tiểu phân bạc có thể an toàn hơn, giúp hạn chế triệu chứng xám da (argyria) và tăng nồng độ bạc trong máu (argyremia).

Băng nano tiểu phân bạc cho thấy diễn biến tại chỗ vết bỏng trên thử nghiệm và cẳng tay bệnh nhân đạt kết quả tốt, các vết bỏng đều ít phù viêm, ít xung huyết và tiết dịch rất ít. Trên tất cả các cá thể thử nghiệm đều ghi nhận không có hiện tượng dị ứng với băng nano tiểu phân bạc, sau 3 tuần điều trị, diện tích vết thương đã co lại còn 1/3. Điều trị bỏng bằng nano tiểu phân bạc đạt hiệu quả cao do ức chế vi khuẩn phát triển và phục hồi tổn thương nhanh hơn so với sulfadiazine. Cơ chế có thể là do các hạt nano tiểu phân bạc có khả năng điều tiết giải phóng từ từ các ion bạc vào dịch vết thương để kích thích các cytokin hỗ trợ điều trị hoặc ức chế các cytokin hỗ trợ viêm và gia tăng giáng hóa các tế bào tổn thương, cho phép rút ngắn thời gian phục hồi tổn thương và không để lại sẹo [1].

2.4. Một số sản phẩm ứng dụng nano tiểu phân bạc trong y dược và mỹ phẩm

2.4.1. Trang thiết bị y tế

Nhờ đặc tính kháng khuẩn trong thời gian dài, nano tiểu phân bạc thường được phủ trên

bề mặt các thiết bị để ghép vào cơ thể như ống thông trong tim mạch, tiết niệu. Ngoài ra, nano tiểu phân bạc cũng được dùng trong chế tạo ống rút dịch não tủy thừa trong phẫu thuật thần kinh hay được thêm vào các chất hàn xương. Miếng băng dán vết thương chứa nano tiểu phân bạc đã được thương mại hóa trong khoảng 2 thập kỷ qua và được sử dụng trong lâm sàng để chữa các vết thương trong đó có bỏng, chết tế bào biểu bì, hội chứng Steven-Johnson, ung thư da mãn tính và bệnh pemphigut. Tên thương mại nổi tiếng cho dòng sản phẩm này là Acticoat, Aquacel Ag, Contreet Foam, PolyMem Silver, Urgotul SSD [15].

2.4.2. Thuốc và mỹ phẩm

Trong thuốc và mỹ phẩm, nano tiểu phân bạc đã được sử dụng rộng rãi trong các chế phẩm làm đẹp, sát khuẩn, khử mùi như sản phẩm của hãng Nano Cyclic (Mỹ), Nanopoly (Hàn Quốc), Nanogist Co. Ltd. (Hàn Quốc)... Nano tiểu phân bạc còn được sản xuất dạng dung dịch bổ sung vi lượng như dung dịch ASAP 10 ppm của American Biotech Labs (Mỹ).

2.5. Độc tính của nano tiểu phân bạc

2.5.1. Độc tính cấp

Nguyễn Như Lâm và cộng sự (2009) đã chỉ ra rằng ở nồng độ 5000 ppm, dung dịch nano tiểu phân bạc không gây ra nhiễm độc đáng kể nào trên chuột nhắt trắng thực nghiệm [16]. Tương tự, Trần Thị Ngọc Dung và cộng sự (2012) đã khảo sát độc tính cấp của dung dịch nano tiểu phân bạc 5000 mg/l. Kết quả cho thấy tất cả số chuột nhắt trắng ở các lô thí nghiệm sau 72 giờ cho uống nano tiểu phân bạc với các liều tăng dần từ 0,3 đến 1,5 ml/10g thể trọng (liều tối đa mà dạ dày chuột có thể chứa) đều khỏe mạnh bình thường [23]. Như vậy có thể

khẳng định rằng nano tiểu phân bạc có độc tính thấp.

2.5.2. Độc tính trường diễn

Dù đã được sử dụng rộng rãi trong lĩnh vực y tế từ hàng trăm năm trước, nhưng có rất ít thông tin về tác dụng không mong muốn của bạc được báo cáo. Độc tính phổ biến của bạc được quan sát thấy là hiện tượng da bị nhuộm màu xám hay xanh xám (argyria) xảy ra khi thuốc được sử dụng với lượng lớn hoặc trên diện rộng. Tiếp xúc với lượng lớn bạc trong không khí có thể gây các vấn đề về đường hô hấp như: khó thở, rát họng, phổi và đau dạ dày. Da tiếp xúc với bạc có thể gây các phản ứng dị ứng nhẹ bao gồm phát ban, sưng và viêm ở một số người. Do bạc thô được cho là không độc với hệ miễn dịch, hệ tuần hoàn, hệ thần kinh và cơ quan sinh dục, bạc thô cũng không gây ung thư nên nhiều nhà nghiên cứu và các cơ quan quản lý coi bạc là tương đối không độc hại, ngoại trừ hiện tượng argyria và một số biểu hiện nêu trên.

Trong hầu hết các nghiên cứu, nano tiểu phân bạc được cho là không độc hại với cơ thể con người. Tuy nhiên, do có kích thước nhỏ (tương đương với kích thước của virus) nano tiểu phân bạc có thể thâm nhập, di chuyển vào bên trong tế bào và ảnh hưởng đến các sinh vật sống. Hussain và cộng sự (2005) đã nghiên cứu độc tính của nano tiểu phân bạc ở các kích thước khác nhau lên tế bào gan chuột cống. Các tác giả nhận thấy sau 24 giờ tiếp xúc, tỉ lệ của các tế bào có kích thước và hình dạng bất thường. Các nghiên cứu *in vitro* chứng minh rằng nano tiểu phân bạc có ảnh hưởng đến khả năng sinh sản, phát triển và DNA. Nghiên cứu trên cá ngựa vằn cho thấy nano tiểu phân bạc tinh khiết, kích thước 12 nm có khả năng gây sai lệch nhiễm sắc thể và tổn thương DNA, ức chế sự tăng sinh của tế bào và ảnh hưởng đến sự phát triển sớm của phôi [24].

Một số nano tiểu phân bạc có thể khuếch tán vào phổi, da hay thâm nhập vào trong hệ tuần hoàn và bạch huyết của người, làm rối loạn hoạt động của tế bào và gây bệnh. Độc tính tế bào của nano tiểu phân bạc có trong 5 loại miếng băng dán được lưu hành trên thị trường đã được nghiên cứu bởi Burd và cộng sự (2007). Kết quả là 3 trong số đó có gây chết tế bào keratinocyte và nguyên bào sợi fibroblast. Từ nghiên cứu về độc tính của nano tiểu phân bạc trên dòng tế bào C18-4, Braydich-Stolle và cộng sự (2005) đã kết luận rằng độc tính của nano tiểu phân bạc lên hoạt động của ty thể tăng lên cùng với sự gia tăng nồng độ nano tiểu phân bạc [25]. Nano tiểu phân bạc đã được tìm thấy trong máu của các bệnh nhân có bệnh về máu và trong ruột kết của bệnh nhân ung thư ruột kết. Một thử nghiệm lâm sàng sử dụng miếng băng dán vết thương Acticoat (Smith & Nephew, Inc.) trong một tuần để điều trị tại chỗ cho một bệnh nhân nam 17 tuổi, khỏe mạnh, bị bỏng sâu 30% cho thấy những dấu hiệu độc với gan và triệu chứng argyria xuất hiện gây xám da mặt bệnh nhân. Nồng độ bạc trong huyết tương là 107 $\mu\text{g}/\text{kg}$ và trong nước tiểu là 28 $\mu\text{g}/\text{kg}$, cao hơn mức thông thường, nồng độ enzym gan cũng tăng hơn mức bình thường. Ngay sau khi miếng dán được tháo ra, các triệu chứng lâm sàng và enzym gan trở về giá trị bình thường [26].

Mặt khác, do có kích thước nhỏ và tính chất thay đổi nên nano tiểu phân bạc có thể ảnh hưởng đến môi trường. Drake và Hazelwood (2005) chỉ ra rằng bạc kim loại ít ảnh hưởng đến sức khỏe nhất, trong khi đó các hợp chất hòa tan của bạc dễ hấp thu, vì thế, có khả năng gây ra các tác dụng không mong muốn hơn. Nhiều nghiên cứu cho thấy 1-5 g bạc Ag^+/l có thể giết chết nhiều loài sinh vật dưới nước. Tuy nhiên, nhiều điều tra chỉ ra rằng nồng độ ion Ag^+ trong môi trường là quá thấp để có thể gây nên độc tính (WHO, 2002).

2.6. Kết luận

Nano tiểu phân bạc hiện đang là đề tài được chú ý nhiều không chỉ trên thế giới mà cả ở Việt Nam. Với phổ kháng khuẩn rộng và ít bị đề kháng, nano tiểu phân bạc đã mở ra triển vọng lớn trong việc phát triển các sản phẩm trong ngành dược, mỹ phẩm, trang thiết bị y tế và sản phẩm dân dụng. Các tác động tiêu cực của chúng đã và đang được nghiên cứu ngày càng đầy đủ cho phép gia tăng tính an toàn cho các sản phẩm chứa nano tiểu phân bạc đối với người sử dụng.

Tài liệu tham khảo

- [1] Chaloupka K, Malam Y, Seifalian AM. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends Biotechnol.* 2010 Nov; 28(11):580–8.
- [2] Atiyeh BS, Costagliola M, Hayek SN, Dibo SA. Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature. *Burns J Int Soc Burn Inj.* 2007 Mar;33(2):139–48.
- [3] Trần Thị Ngọc Dung Nguyễn Hoài Châu Đào Trọng Hiền Nguyễn Thuý Phượng Ngô Quốc Bửu Nguyễn Gia Tiến. Nghiên cứu tác dụng của băng nano bạc lên quá trình điều trị vết thương bỏng. Hội Nghị Khoa Học Kỷ Niệm 35 Năm Viện Khoa Học Và Công Nghệ Việt Nam 1975-2010 Tiểu Ban Môi Trường Và Năng Lượng. 2011;
- [4] Bùi Duy Du Đặng Văn Phú Nguyễn Triệu Nguyễn Quốc Hiến. Nghiên cứu chế tạo bạc nano bằng phương pháp chiếu xạ. *Hóa Học Và Ứng Dụng.* 2007;
- [5] Jaiswal S, Duffy B, Jaiswal AK, Stobie N, McHale P. Enhancement of the antibacterial properties of silver nanoparticles using β -cyclodextrin as a capping agent. *Int J Antimicrob Agents.* 2010 Sep;36(3):280–3.
- [6] Sathishkumar M, Sneha K, Yun Y-S. Immobilization of silver nanoparticles synthesized using Curcuma longa tuber powder and extract on cotton cloth for bactericidal activity. *Bioresour Technol.* 2010 Oct;101(20):7958–65.
- [7] Sun Q, Cai X, Li J, Zheng M, Chen Z, Yu C-P. Green synthesis of silver nanoparticles using tea leaf extract and evaluation of their stability and antibacterial activity. *Colloids Surf Physicochem Eng Asp.* 2014 Mar 5;444:226–31.
- [8] Jena J, Pradhan N, Nayak RR, Das BP, Sukla LB, Panda PK, et al. Microalga *Scenedesmus* sp.: A Potential Low Cost Green Machinery for Silver Nanoparticle Synthesis. *J Microbiol Biotechnol.* 2014 Jan 7;
- [9] Jose M, Sakthivel M. Synthesis and characterization of silver nanospheres in mixed surfactant solution. *Mater Lett.* 2014 Feb 15;117:78–81.
- [10] Đặng Văn Phú Bùi Duy Du Nguyễn Triệu Võ Thị Kim Lăng Nguyễn Quốc Hiến Bùi Duy Cam. Chế tạo keo bạc nano bằng phương pháp chiếu xạ sử dụng polyvinyl pyrrolidone chitosan làm chất ổn định. *TC Khoa Học Và Công Nghệ.* 2008;
- [11] Guzman M, Dille J, Godet S. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine Nanotechnol Biol Med.* 2012 Jan;8(1):37–45.
- [12] Dunn K, Edwards-Jones V. The role of Acticoat with nanocrystalline silver in the management of burns. *Burns J Int Soc Burn Inj.* 2004 Jul;30 Suppl 1:S1–9.
- [13] Guangyin Lei. Synthesis of Nano-Silver Colloids and Their Anti-Microbial Effects. Master thesis of Science In Materials Science & Engineering; 2007.
- [14] Shahverdi AR, Minaeian S, Shahverdi HR, Jamalifar H, Nohi A-A. Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of Enterobacteria: A novel biological approach. *Process Biochem.* 2007 May;42(5):919–23.
- [15] Huỳnh Thị Hà Hoàng Anh Sơn. Một số nghiên cứu về khả năng diệt khuẩn của nano bạc trên vật liệu vải sợi. *TC Phân Tích Hoá Lý Và Sinh Học.* 2007;
- [16] Nguyễn Như Lâm Nguyễn Gia Tiến Trương Thu Hiền Nguyễn Hoài Châu Trần Thị Ngọc Dung. Nghiên cứu nồng độ diệt khuẩn tối thiểu và độc tính cấp của dung dịch nano bạc. *Tạp Chí Học Thâm Học Và Bông.* 2009;
- [17] Trần Thị Ngọc Dung Ngô Quốc Bửu Nguyễn Hoài Châu Nguyễn Vũ Trung. Nghiên cứu hiệu lực khử khuẩn của dung dịch nano bạc đối với phẩy khuẩn *Vibrio cholerae* gây bệnh tả. *TC Khoa Học Và Công Nghệ.* 2009;
- [18] Wright JB. Efficacy of topical silver against fungal burn wound pathogens.
- [19] Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim J-H, Park SJ, Lee HJ, et al. Antimicrobial effects of silver

- nanoparticles. *Nanomedicine Nanotechnol Biol Med.* 2007 Mar;3(1):95–101.
- [20] Sun RW-Y, Chen R, Chung NP-Y, Ho C-M, Lin C-LS, Che C-M. Silver nanoparticles fabricated in Hepes buffer exhibit cytoprotective activities toward HIV-1 infected cells. *Chem Commun Camb Engl.* 2005 Oct 28;(40):5059–61.
- [21] Lara HH, Ayala-Nuñez NV, Ixtepan-Turrent L, Rodriguez-Padilla C. Mode of antiviral action of silver nanoparticles against HIV-1. *J Nanobiotechnology.* 2010;8:1.
- [22] Elechiguerra JL, Burt JL, Morones JR, Camacho-Bragado A, Gao X, Lara HH, et al. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *J Nanobiotechnology.* 2005 Jun 29;3(1):6.
- [23] Trần Thị Ngọc Dung Nguyễn Hoài Châu Đào Trọng Hiền Nguyễn Thuý Phương Ngô Quốc Bru Nguyễn Gia Tiến. Băng Nano bạc điều trị vết thương bỏng. *Hoạt Động Khoa Học.* 2012;
- [24] Asharani PV, Lian Wu Y, Gong Z, Valiyaveetil S. Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models. *Nanotechnology.* 2008 Jun 25;19(25):255102.
- [25] Amro El-Badawy, David Feldhake, Raghuraman Venkatapathy. *State of the Science Literature Review: Everything Nanosilver and More.* U.S. Environmental Protection Agency; 2010.
- [26] Trop M, Novak M, Rodl S, Hellbom B, Kroell W, Goessler W. Silver-coated dressing acticoat caused raised liver enzymes and argyria-like symptoms in burn patient. *J Trauma.* 2006 Mar; 60(3):648–52.

Nanosilver and the Prospects of Medicinal Applications

Chữ Thị Thu Huyền, Nguyễn Thị Thanh Bình,
Trịnh Ngọc Dương, Nguyễn Thanh Hải

VNU Hanoi School of Medicine and Pharmacy, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hanoi, Vietnam

Abstract: Nanosilver (silver nanoparticle) is of great interest in medicine today. Nanosilver not only has a potential antibacterial effect but also possesses useful anti-inflammatory effects, which could be exploited in developing better dressings, creams for wounds and burns, cosmetics, deodorants and even immune system support solutions. The key to its broad-acting and potential activity is the multifaceted mechanism by which silver nanoparticles act on microbes. Many synthesis methods have emerged and are being evaluated for nanosilver efficacy. Their possible adverse effects are also critically discussed in this review to reflect on potential concerns before widespread application in medicine.

Keywords: Nanosilver (silver nanoparticle), synthesis, antibacterial, anti-inflammatory, toxicity.