

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Nguyễn Thị Ngọc Hợi

**NGHIÊN CỨU ĐIỀU CHỈNH CẤU TRÚC VÀ BIẾN TÍNH
BỀ MẶT VẬT LIỆU NANO SILICA CẤU TRÚC XÓP
RỖNG CHO ỨNG DỤNG PHÂN PHỐI THUỐC ĐIỀU
TRỊ UNG THƯ**

Chuyên ngành: Vật liệu cao phân tử và tổ hợp
Mã số: 9440125

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT LIỆU

Hà Nội - 2022

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Nguyễn Đại Hải

Phản biện 1: PGS.TS. Phạm Nguyễn Kim Tuyền

Phản biện 2: PGS.TS. Bạch Long Giang

Phản biện 3: PGS.TS. Nguyễn Thị Phương Phong

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện, họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi 14 giờ 00' ngày 30 tháng 12 năm 2022.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
- Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của luận án

Hạt nano silica cấu trúc xốp (mesoporous silica nanoparticles – MSN) là vật liệu được nghiên cứu rộng rãi cho các ứng dụng y sinh, đặc biệt là phân phối thuốc nhờ các đặc tính thích hợp như có diện tích bề mặt cao, thể tích lỗ xốp lớn, có thể điều chỉnh kích thước lỗ xốp, tính tương hợp sinh học cao và dễ biến tính bề mặt. Là một thành viên thuộc họ MSN, HMSN có cấu trúc gồm 2 phần chính là lớp vỏ xốp bên ngoài và phần khoang rỗng bên trong. Vì vậy, HMSN còn có thêm một lợi thế nổi bật nữa là khả năng mang thuốc cao vượt trội so với MSN nhờ khoang rỗng. HMSN có thể được tổng hợp bằng nhiều phương pháp, trong đó phương pháp lõi cứng là phương pháp phổ biến hiện nay. Với phương pháp lõi cứng, ba đặc tính phổ biến nhất của HMSN có thể được chế tác là thể tích khoang rỗng, độ dày vỏ xốp và đường kính lỗ xốp. Đồng thời các nhóm silanol trên bề mặt có thể giúp dễ dàng biến tính HMSN với các phối tử khác nhau nhằm cải thiện tính chất của hệ phân phối thuốc dựa trên HMSN.

Với mục tiêu tạo ra hệ chất mang trên nền silica ứng dụng trong dẫn truyền thuốc, đề tài tập trung tổng hợp hạt HMSN hình cầu với kích thước mong muốn trong khoảng 100 nm. Độ dày lớp vỏ xốp và đường kính lỗ xốp của hạt HMSN được kiểm soát thông qua sử dụng các polymer khác nhau trong bước phủ vỏ nhằm phù hợp với việc mang và giải phóng các tác nhân điều trị khác nhau. Bên cạnh đó, các Pluronic khác nhau sẽ được sử dụng để biến tính trên bề mặt các hạt HMSN cho ứng dụng mang thuốc kép nhằm tăng hiệu quả phân phối thuốc và điều trị bệnh. Từ những phân tích trên cho thấy, đề tài “*Nghiên cứu điều chỉnh cấu trúc và biến tính bề mặt vật liệu nano silica cấu trúc xốp rỗng cho ứng dụng phân phối thuốc điều trị ung thư*” sẽ góp phần hoàn thiện hệ chất mang thuốc trên nền tảng vật liệu nano silica cấu trúc xốp rỗng HMSN.

2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

Nghiên cứu tổng hợp vật liệu nano cấu trúc xốp rỗng trên nền silica HMSN với kích thước dưới 100 nm, kiểm soát độ dày lớp vỏ xốp và đường kính lỗ xốp của hạt tạo thành, biến tính bề mặt hạt HMSN với các Pluronic khác nhau cho ứng dụng mang thuốc kép nhằm cải thiện hiệu quả phân phối thuốc và tiêu diệt tế bào ung thư của hệ mang thuốc.

3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án

1. Tổng hợp hạt nano silica cấu trúc xốp rỗng (HMSN) có đường kính nhỏ hơn 100 nm.
2. Khảo sát sự ảnh hưởng của khối lượng phân tử và nồng độ polyethylene glycol đến độ dày lớp vỏ xốp của hạt HMSN.

3. Khảo sát sự ảnh hưởng của các chất hoạt động bề mặt không ion đến đường kính lỗ xốp của hạt HMSN.
4. Nghiên cứu biến tính bề mặt hạt HMSN với các Pluronic khác nhau và đánh giá đặc tính hóa lý và sinh học của hệ HMSN-Plu.
5. Nghiên cứu hiệu quả nang hóa thuốc kếp có tính tan khác nhau và khảo sát tốc độ phóng thích thuốc của các hệ chất mang HMSN, HMSN-Plu.
6. Đánh giá độ độc tế bào và hiệu quả tiêu diệt tế bào ung thư của các hệ HMSN, HMSN-Plu mang thuốc.

-----oOo-----

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1. Cấu tạo của nano silica cấu trúc rỗng (HMSN)

Là một thành viên của gia đình MSN, cấu trúc của HMSN bao gồm hai phần chính, lớp vỏ xốp bên ngoài và khoang rỗng bên trong. Vì vậy, bên cạnh những tính chất đặc trưng của MSN, HMSN còn sở hữu một ưu điểm nổi bật khác là khả năng tải thuốc rất tốt so với MSN nhờ có khoang rỗng bên trong.

1.2. Phương pháp tổng hợp hạt HMSN

Theo loại khuôn (template) để tạo ra lỗ rỗng bên trong có thể chia các phương pháp tổng hợp HMSN thành ba phương pháp gồm phương pháp lõi cứng, phương pháp lõi mềm và phương pháp lõi tự thân. Đối với phương pháp lõi cứng bao gồm các bước chính là hình thành lõi cứng tương thích với vật liệu vỏ, sau đó tạo lớp vỏ xốp trên lõi và cuối cùng loại bỏ có chọn lọc lõi bên trong để thu được hạt nano silica cấu trúc xốp rỗng.

1.3. Các yếu tố có thể điều chỉnh của hạt HMSN

Một trong những ưu điểm nổi bật của HMSN, khiến chúng trở nên linh hoạt và có tiềm năng trong các ứng dụng y sinh là tính khả thi và dễ điều chỉnh. Ba đặc tính phổ biến nhất của HMSN được điều chỉnh là thể tích khoang rỗng, độ dày vỏ xốp và đường kính lỗ xốp.

Đối với HMSN, có thể nói khoang rỗng là nơi chứa dược chất và các lỗ xốp là con đường giúp giải phóng dược chất từ khoang rỗng ra môi trường bên ngoài. Như vậy, việc điều chỉnh thể tích khoang sẽ ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng tải thuốc của HMSN. Dựa trên phương pháp lõi cứng, thể tích khoang của HMSN có thể được điều chỉnh thông qua việc điều chỉnh kích thước của lõi cứng. Nội dung này đã được báo cáo trong luận án tiến sĩ của Nguyễn Thị Ngọc Trâm.

Độ dày lớp vỏ xốp đã được báo cáo là một trong những yếu tố chính ảnh hưởng đến đặc điểm giải phóng thuốc của các hạt HMSN. Do đó, điều chỉnh độ dày vỏ xốp là một cách tiếp cận tiềm năng để có thể chế tạo vật liệu HMSN với cấu hình giải phóng dược chất mong muốn. Việc điều

chỉnh độ dày lớp vỏ xốp có thể thực hiện tương tự như việc kiểm soát đường kính của các hạt $dSiO_2$ và MSN thông qua các thông số phản ứng trong quá trình sol-gel. Ngoài ra, PEG đã nổi lên với vai trò là chất phân tán, ảnh hưởng đến kích thước và hình dạng của các hạt nano trong quá trình tổng hợp.

Một đặc tính có thể điều chỉnh là kích thước lỗ xốp. Thông thường, vỏ MSN có kích thước lỗ xốp từ 2–3 nm, đủ để vận chuyển và mang các phân tử nhỏ. Tuy nhiên, đường kính lỗ này không thể áp dụng cho các phân tử lớn, do đó hạn chế ứng dụng phân phối thuốc của MSN. Vì vậy, các nhà nghiên cứu đã nỗ lực để mở rộng đường kính lỗ xốp. Đã có các nghiên cứu kiểm soát kích thước lỗ xốp bằng cách thay đổi tỉ lệ các chất tham gia phản ứng trong quá trình tổng hợp. Ngoài ra, điều chỉnh kích thước mixen dùng làm lõi mềm cho lỗ xốp cũng là một cách tiếp cận tiềm năng để có thể kiểm soát đường kính lỗ xốp.

1.4. HMSN biến tính bề mặt và HMSN mang thuốc kép

Các hạt HMSN đã bộc lộ những hạn chế nhất định cần được cải thiện và khắc phục gồm: (1) Lỗ xốp mở khiến thuốc bị rò rỉ, (2) Các nhóm silanol trên bề mặt tương tác với các phospholipid trên màng tế bào hồng cầu dẫn đến hiện tượng tan máu. Những hạn chế này có thể được khắc phục bằng cách biến tính bề mặt HMSN.

Các hạt nano thường được biến tính với polymer vì nó giúp cải thiện hiệu suất mang thuốc và hiệu quả điều trị của thuốc. Một số polymer phổ biến được dùng để biến tính với MSN như PEG, pluronic, dendrimer, chitosan, ... Trong số đó, Pluronic đã được tập trung nghiên cứu và ứng dụng trong hệ thống phân phối thuốc, đặc biệt là thuốc kém tan.

Trong khi đó, xu hướng cải thiện hiệu quả của phương pháp hóa trị là sử dụng kết hợp nhiều loại thuốc. Điều này đưa đến ý tưởng biến tính HMSN với Pluronic cho ứng dụng phân phối thuốc kép, giúp cải thiện hiệu quả tiêu diệt tế bào ung thư của hệ mang thuốc.

-----oOo-----

CHƯƠNG 2. THỰC NGHIỆM

2.1. Tổng hợp hạt nano silica cấu trúc rỗng

Các hạt nano silica xốp rỗng được tổng hợp thông qua phương pháp lõi cứng. Để thu được hạt HMSN có đường kính dưới 100 nm, kích thước hạt của lõi cứng $dSiO_2$ được giảm thông qua các thành phần tổng hợp như nồng độ của tiền chất silica TEOS, nồng độ của chất xúc tác NH_3 và lượng EtOH. Hơn nữa, thời gian của bước phủ vỏ xốp và bước ăn mòn lõi cứng sẽ được rút ngắn thông qua các thông số phản ứng như nhiệt độ và tác nhân xúc tác.

2.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của PEG đối với độ dày lớp vỏ xốp

Đề khảo sát ảnh hưởng của PEG đến độ dày vỏ xốp của HMSN, PEG với trọng lượng phân tử khác nhau (1000, 2000, 4000 và 6000 g/mol) và phần trăm khối lượng khác nhau (1% - 5%) đã được thêm vào hỗn hợp phản ứng trong bước phủ vỏ xốp.

Một phần của dung dịch đạt được sau bước thứ hai được thẩm tách bằng màng 12 x 14 kDa với ethanol và nước cất trong 3 ngày trước khi đông khô để thu được $dSiO_2@MSN$. Các mẫu $dSiO_2@MSN$ sau đông khô được nung ở 600 °C trong 2 giờ để loại bỏ các thành phần hữu cơ và sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo. Các mẫu $dSiO_2@MSN$ được đo DLS và SEM để xác định hình thái và đường kính của các hạt. Dựa trên đường kính hạt của $dSiO_2$ và $dSiO_2@MSN$, độ dày của lớp vỏ xốp sẽ được tính theo công thức:

$$T_S = \frac{d_{dSiO_2@MSN} - d_{dSiO_2}}{2} \quad (1)$$

Trong đó: T_S : độ dày của lớp vỏ xốp (nm)

$d_{dSiO_2@MSN}$: đường kính của hạt $dSiO_2@MSN$ (nm)

d_{dSiO_2} : đường kính của hạt $dSiO_2$ (nm)

Phần dung dịch $dSiO_2@MSN$ còn lại được tiếp tục ăn mòn lõi để thu được HMSN. Các mẫu HMSN sau đông khô được nung ở 600 °C trong 2 giờ để loại bỏ hoàn toàn các thành phần hữu cơ còn sót lại và sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của chất hoạt động bề mặt không ion đến đường kính lỗ xốp của HMSN

Đề khảo sát ảnh hưởng của các chất hoạt động bề mặt không ion (S), bao gồm Brij S10 (BS10), Tween 20 (T20) và Tween 80 (T80) đối với đường kính lỗ xốp của HMSN, S với các tỷ lệ mol khác nhau so với CTAB (0: 1, 1: 4, 1: 3 và 1: 2) được sử dụng để tạo ra các mixen hỗn hợp, sau đó sử dụng chúng trong bước phủ lớp vỏ xốp.

Thu một phần mẫu $dSiO_2@MSN$, xử lý tương tự mục 2.2, sau đó các mẫu này được đo kích thước DLS, diện tích bề mặt BET, thể tích và kích thước lỗ BJH. Độ dày của lớp vỏ xốp được tính toán dựa trên đường kính hạt $dSiO_2$, $dSiO_2@MSN$ và phương trình (1). Dựa trên phân tích BET và BJH, đường kính lỗ xốp của các mẫu $dSiO_2@MSN$ đã được xác định và so sánh. Phần còn lại của dung dịch $dSiO_2@MSN$ được tiếp tục ăn mòn để thu được HMSN và các sản phẩm được đặc trưng thông qua phân tích SEM, TEM, Zeta, XRD và FT-IR.

2.4. Nghiên cứu biến tính bề mặt HMSN với Pluronic

Bề mặt HMSN trước tiên được biến tính với nhóm amine thông qua tiền chất silic chứa nhóm amine là 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES)

tạo sản phẩm HMSN-NH₂. Các Pluronic được hoạt hóa bởi 4-Nitrophenyl chloroformate (NPC) tạo thành NPC-Plu-OH. Do NPC dễ dàng phản ứng với nhóm amine trong nước nên HMSN-NH₂ được cho phản ứng với NPC-Plu-OH trong môi trường nước tạo sản phẩm HMSN-Plu.

2.5. Nghiên cứu khả năng nang hóa thuốc của vật liệu nano

Để đánh giá khả năng bao bọc thuốc của các hạt nano silica rỗng và các mẫu đã được chức năng hóa bề mặt, phương pháp khuếch tán đã được sử dụng. Hiệu quả tải thuốc DLE và khả năng tải thuốc DLC được tính toán theo công thức:

$$DLE (\%) = \frac{20 - W_{\text{non-D}}}{20} \times 100\% \quad (2)$$

$$DLC (\%) = \frac{20 - W_{\text{non-D}}}{(W_{\text{particles}} + 20 - W_{\text{non-D}})} \times 100\% \quad (3)$$

Trong đó: 20 (mg) là khối lượng thuốc ban đầu

$W_{\text{non-D}}$ là khối lượng thuốc không nang hóa

$W_{\text{particles}}$ là khối lượng vật liệu

2.6. Nghiên cứu tỉ lệ giải phóng thuốc của vật liệu nano

Phương pháp thẩm tách màng được sử dụng để khảo sát đặc điểm giải phóng thuốc chậm khỏi hệ thống chất mang. Lượng thuốc giải phóng vào dịch thẩm tách được xác định theo các mốc thời gian định sẵn.

2.7. Đánh giá độc tính tế bào của vật liệu nano

Phương pháp MTT được sử dụng để đánh giá độc tính tế bào của hệ thống chất mang và tác dụng tiêu diệt tế bào ung thư của hệ thống chất mang khi mang thuốc chống ung thư. Dòng tế bào MCF-7 và Hela đã được sử dụng trong quá trình đánh giá.

2.8. Các phương pháp đánh giá tính chất hóa lý của vật liệu nano

Hình thái và bề mặt vật liệu được kiểm tra bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) và kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM). Kích thước hạt, phân bố kích thước hạt, thế zeta được đánh giá thông qua tán xạ ánh sáng động. Quang phổ nhiễu xạ tia X (XRD) sau đó được áp dụng để phân tích cấu trúc và đặc điểm không gian của vật liệu. Sau đó, phương pháp quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR) được sử dụng để phân tích các nhóm chức, xác định các hợp chất hữu cơ và nghiên cứu cấu trúc của vật liệu. Để đánh giá diện tích bề mặt và thể tích lỗ xốp, phương pháp giải hấp - hấp phụ khí N₂ được sử dụng.

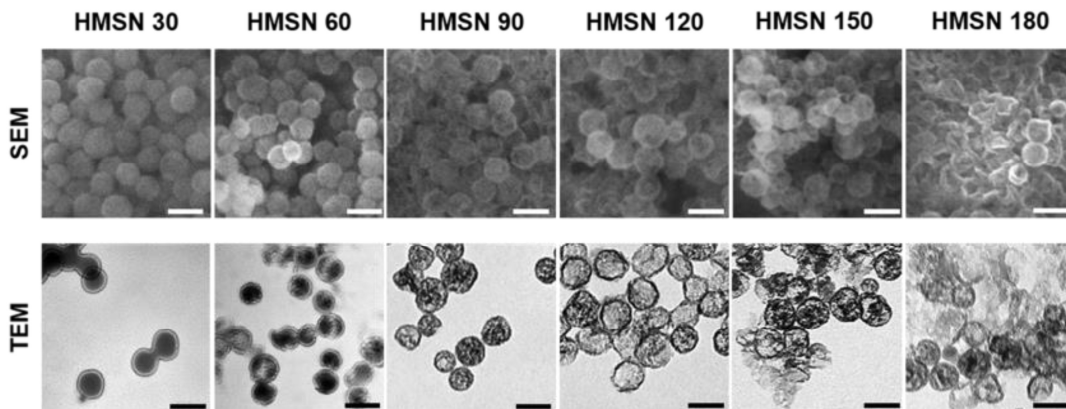
-----oOo-----

CHƯƠNG 3. ĐIỀU CHỈNH PHƯƠNG PHÁP LỖI CỨNG NHẪM TỔNG HỢP HẠT NANO SILICA XÓP RỘNG VỚI KÍCH THƯỚC PHÙ HỢP VÀ RÚT NGẮN THỜI GIAN TỔNG HỢP

3.1. Sự ăn mòn lõi cứng theo thời gian trong quá trình tổng hợp HMSN

Lõi rắn $d\text{SiO}_2$ được tổng hợp với các thông số được xác định: hình cầu, đơn phân tán, thế zeta $-45,8$ mV, kích thước DLS $96,8$ nm, kích thước TEM $65,3$ nm được sử dụng để tổng hợp hạt HMSN, sau đó khảo sát thời gian ăn mòn lõi rắn từ 30 đến 180 phút.

Các hạt HMSN trong thời gian ăn mòn khác nhau từ 30 đến 180 phút được chụp ảnh SEM và TEM (Hình 3.2). Quan sát hình thái và cấu trúc hạt cho thấy: hạt chưa hình thành lõi rỗng sau 30 và 60 phút ăn mòn. Cấu trúc lõi rỗng có thể nhìn thấy sau 90 phút và rõ ràng nhất sau 120 phút. Tuy nhiên, sau 150 phút, lớp vỏ xuất hiện một số vết rạn, vỡ, rách, cho thấy nó đã bắt đầu bị ăn mòn nhưng các hạt vẫn có hình cầu. Cuối cùng, sau 180 phút ăn mòn, các hạt bị mất hình cầu và vỏ bị sụp đổ. Các kết quả này cho thấy thời gian ăn mòn phù hợp là 120 phút, do đó HMSN 120 sẽ được sử dụng cho các thử nghiệm tiếp theo.



Hình 3.2. Hình ảnh SEM và TEM của HMSN theo thời gian ăn mòn.

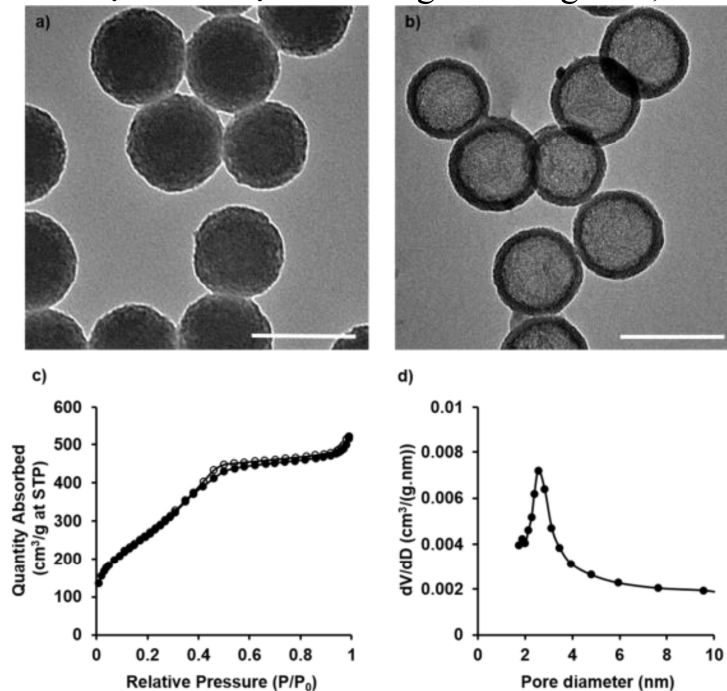
Thang tỉ lệ = 100 nm.

Như vậy, với quy trình điều chỉnh, thời gian tổng hợp HMSN đã giảm từ 21 giờ xuống còn 9 giờ. Cụ thể, thời gian tổng hợp lõi cứng được duy trì trong 6 giờ, thời gian phủ lớp vỏ xộp rút ngắn xuống còn 1 giờ và thời gian ăn mòn lõi cứng rút ngắn xuống còn 2 giờ. Phương pháp lõi cứng sửa đổi này với thời gian tổng hợp ngắn hơn sẽ có ý nghĩa đối với các nhà khoa học nghiên cứu cũng như các nhà sản xuất quy mô công nghiệp về hạt nano silica.

3.2. Đặc tả hạt HMSN tổng hợp

Các hạt $d\text{SiO}_2@MSN$ và HMSN 120 được đặc tả thông qua các thí nghiệm TEM, BET và BJH (Hình 3.3). Ảnh TEM của HMSN cho thấy cấu trúc lõi@vỏ rõ ràng của các hạt HMSN 120 với đường kính hạt $80,2 \pm 1,29$ nm, đường kính khoang rỗng $65,3 \pm 0,95$ nm và độ dày vỏ xộp khoảng $7,5$ nm. So với các nghiên cứu trước đây, kích thước hạt của HMSN tổng hợp đã giảm từ hơn 134 nm xuống còn khoảng 80 nm. Các đường đẳng nhiệt giải-hấp N_2 của HMSN được phân loại là đường đẳng

nhật Langmuir loại IV và vòng trễ loại H₂ theo IUPAC, chứng minh bản chất xốp của HMSN. Ngoài ra, diện tích bề mặt và đường kính lỗ của HMSN được xác định lần lượt là khoảng 767 m²/g và 2,5 nm.



Hình 3.3. a) Ảnh TEM của dSiO₂@MSN; b) Ảnh TEM của HMSN; c) Đường đẳng nhiệt giải-hấp N₂ của HMSN; d) Phân bố đường kính lỗ xốp của HMSN. Thang tỉ lệ = 100 nm.

Ngoài ra, các phân tích FT-IR, EDX, Zeta, DLS, TGA, XRD và MTT đã được thực hiện để đặc tả và đánh giá tương thích sinh học của hạt HMSN.

-----oOo-----

CHƯƠNG 4. KIỂM SOÁT ĐỘ DÀY VỎ HẠT NANO SILICA XÓP RỖNG BẰNG POLYETHYLENE GLYCOL CHO CÁC ỨNG DỤNG PHÂN PHỐI THUỐC

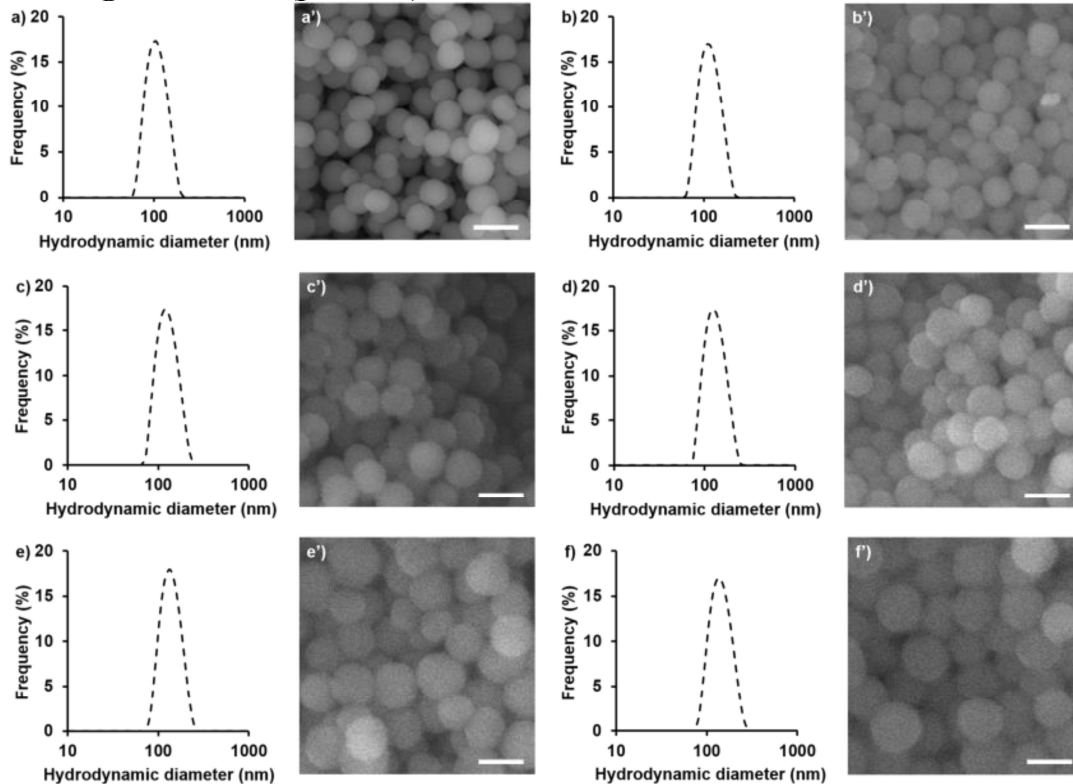
4.1. Ảnh hưởng của khối lượng phân tử PEG đến độ dày lớp vỏ xốp của dSiO₂@MSN

PEG với trọng lượng phân tử 1000, 2000, 4000 và 6000 g/mol đã được thêm 3% (w/v) vào hỗn hợp phủ vỏ xốp. Các mẫu thu được có tên dSiO₂@MSN-P1k, dSiO₂@MSN-P2k, dSiO₂@MSN-P4k và dSiO₂@MSN-P6k được xác định kích thước DLS và hình ảnh FE-SEM (Hình 4.1).

Các mẫu bao gồm dSiO₂, dSiO₂@MSN và dSiO₂@MSN-P_xk (x là 1, 2, 4 và 6) thu được đều có hình cầu, đơn phân tán và phân bố kích thước hẹp. Ngoài ra, hình ảnh FE-SEM cho thấy các hạt dSiO₂ có ranh giới rõ ràng và bề mặt mịn. Trong khi đó, các hạt dSiO₂@MSN và dSiO₂@MSN-

Pxk có ranh giới kém rõ ràng và bề mặt hơi gồ ghề. Điều này cho thấy rằng lớp vỏ xốp đã được phủ thành công trên lõi cứng $dSiO_2$.

Tại cùng nồng độ 3% (w/v) của PEG trong hỗn hợp phản ứng, khi khối lượng phân tử PEG tăng từ 1000 lên 6000 g/mol thì độ dày vỏ xốp tăng dần từ 6,90 nm đến 16,20 nm. Tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các cặp $dSiO_2@MSN$ so với $dSiO_2@MSN-P1k$, $dSiO_2@MSN-P1k$ so với $dSiO_2@MSN-P2k$ và $dSiO_2@MSN-P4k$ so với $dSiO_2@MSN-P6k$ ($p < 0,05$).



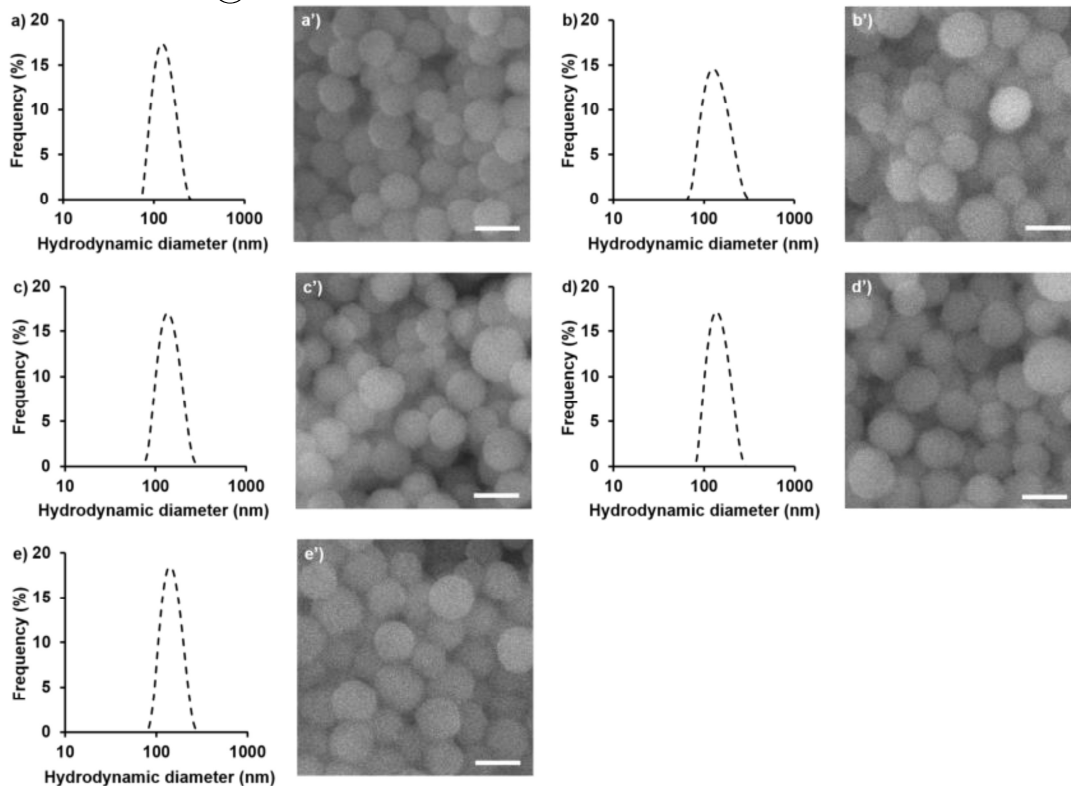
Hình 4.1. Phân bố kích thước bằng phép đo tán xạ ánh sáng động (DLS) và hình ảnh hiển vi điện tử quét phát xạ trường (FE-SEM) của $dSiO_2$ (a, a'), $dSiO_2@MSN$ (b, b'), $dSiO_2@MSN-P1k$ (c, c'), $dSiO_2@MSN-P2k$ (d, d'), $dSiO_2@MSN-P4k$ (e, e') và $dSiO_2@MSN-P6k$ (f, f'). Thang tỉ lệ = 100 nm.

Đối với các hạt HMSN có cùng thể tích khoang, hạt nào có vỏ xốp dày hơn được kỳ vọng sẽ có nhiều không gian hơn để chứa thuốc và hồ sơ giải phóng thuốc bền vững hơn. Hơn nữa, để đảm bảo độ ổn định cơ học nhất định cho HMSN, chúng phải có lớp vỏ xốp đủ dày để đảm bảo độ bền cơ lý. Theo Lasio et al., các HMSN có độ dày vỏ từ 14 đến 18 nm với lớp vỏ hoàn chỉnh bền với áp suất dưới 103,0 MPa. Do đó, các hạt HMSN trong nghiên cứu hiện tại với độ dày vỏ xốp trong khoảng 14,40 đến 16,20 nm, thu được khi có mặt 3% (w/v) PEG 4000 và PEG 6000, được kỳ vọng sẽ

đáp ứng các đặc điểm nêu trên. PEG 6000 được chọn để chuẩn bị HMSN cho các nghiên cứu sâu hơn.

4.2. Ảnh hưởng của phần trăm khối lượng PEG đến độ dày lớp vỏ xốp của $d\text{SiO}_2@\text{MSN}$

PEG 6000 được thêm vào hỗn hợp phản ứng với lượng chênh lệch từ 1% đến 5% (w/v). Các mẫu thu được có tên $d\text{SiO}_2@\text{MSN-Py}\%$ (y từ 1 đến 5) được xác định kích thước DLS và hình ảnh FESEM (Hình 4.2). Khi nồng độ PEG 6000 tăng từ 1% đến 5% (w/v), độ dày vỏ xốp tương ứng tăng từ 10,45 đến 18,25 nm. Những kết quả này một lần nữa khẳng định rằng sự hiện diện của PEG trong hệ phản ứng sẽ làm tăng độ dày lớp vỏ xốp của hạt HMSN. Tuy nhiên, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu $d\text{SiO}_2@\text{MSN-P2}\%$, $d\text{SiO}_2@\text{MSN-P3}\%$, $d\text{SiO}_2@\text{MSN-P4}\%$ và $d\text{SiO}_2@\text{MSN-P5}\%$.



Hình 4.2. Phân bố kích thước bằng phép đo tán xạ ánh sáng động (DLS) và hình ảnh hiển vi điện tử quét phát xạ trường (FE-SEM) của $d\text{SiO}_2@\text{MSN-P1}\%$ (a, a'), $d\text{SiO}_2@\text{MSN-P2}\%$ (b, b'), $d\text{SiO}_2@\text{MSN-P3}\%$ (c, c'), $d\text{SiO}_2@\text{MSN-P4}\%$ (d, d') và $d\text{SiO}_2@\text{MSN-P5}\%$ (e, e'). Thang tỉ lệ = 100 nm.

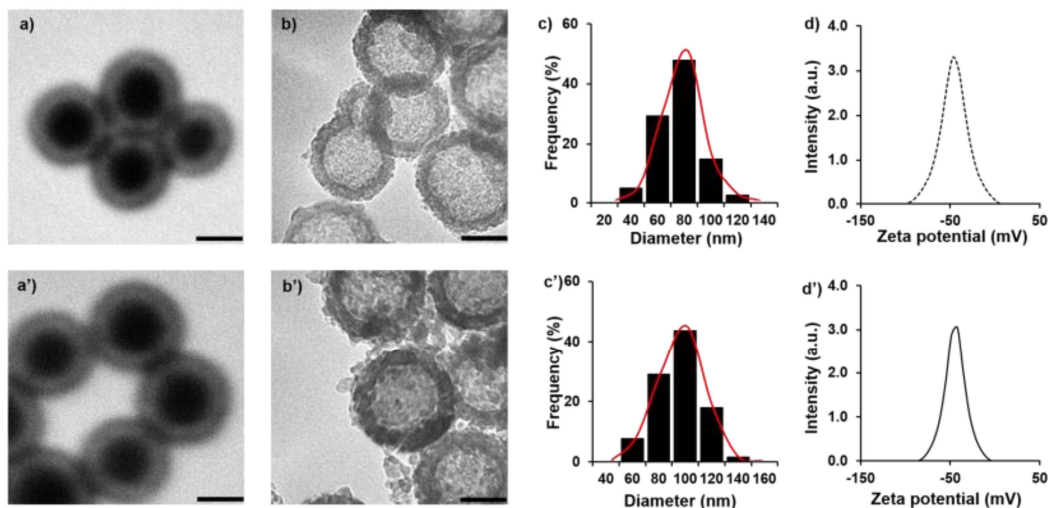
Trong dung dịch nước, các nguyên tử oxy ete của PEG (—O—) hình thành liên kết hydro với các phân tử nước. Do đó, các chuỗi zích zắc của PEG thông qua các liên kết hydro với các phân tử nước sẽ tạo thành một cấu trúc mạng có trật tự. Ở cùng một nồng độ trong hệ phản ứng, khối

lượng phân tử PEG càng cao thì cấu trúc mạng PEG càng mở rộng theo chiều ngang. Trong khi đó, khi khối lượng phân tử PEG cố định, nồng độ trong hệ phản ứng của PEG tăng lên, cấu trúc mạng PEG sẽ mở rộng theo chiều dọc. Khi lượng PEG được thêm vào lớn hơn sự hấp phụ bão hòa của các hạt nano trong dung dịch, cấu trúc lưới có trật tự này có thể thay đổi động học phát triển của hạt, thúc đẩy sự tạo mầm và tạo điều kiện cho sự kết tụ của hạt. Do đó, việc phát triển mạng PEG trong dung dịch theo chiều dọc (tăng nồng độ PEG) hoặc theo chiều ngang (tăng trọng lượng phân tử PEG) có thể thúc đẩy sự tạo mầm và kết tụ của các hạt nano silica. Điều này giải thích kết quả rằng độ dày lớp vỏ xốp tăng lên khi trọng lượng phân tử PEG hoặc nồng độ PEG trong hệ phản ứng tăng lên. Tuy nhiên, với một lượng tiền chất TEOS cụ thể và trong một điều kiện phản ứng xác định, đến một giới hạn nhất định, việc tiếp tục tăng trọng lượng phân tử PEG hoặc nồng độ PEG không thể tăng cường thêm sự tạo mầm và kết tụ của các hạt nano. Kết quả này phù hợp với các công bố trước đây về vai trò của PEG đối với sự kết tinh của hạt nano.

Dựa trên độ dày vỏ xốp được tính toán và phân tích thống kê, PEG 6000 ở nồng độ 2% (w/v) được chọn để tổng hợp HMSN cho các thí nghiệm tiếp theo. Để đánh giá tốt hơn vai trò của PEG đối với các đặc tính của vật liệu HMSN tổng hợp, các hạt thu được có sự hiện diện của PEG trong quá trình tổng hợp - HMSN-P2% sẽ được đặc trưng khi so sánh với HMSN-0.

4.3. Đặc tả HMSN tổng hợp

Các hạt HMSN tổng hợp có và không có PEG được đặc trưng thông qua phân tích TEM, Zeta. Kết quả mô tả đặc điểm được thể hiện trong Hình 4.4.



Hình 4.4. Đặc điểm của các hạt nano silica được tổng hợp: Hình ảnh TEM của $dSiO_2@MSN-0$ (a) và $dSiO_2@MSN-P$ (a'); Ảnh TEM (b và b')

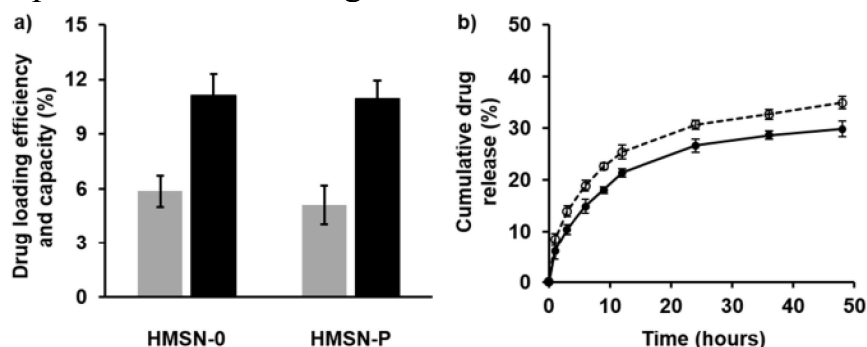
b '); Phân bố kích thước (c và c'); Thế Zeta (d và d') của HMSN-0 và HMSN-P, tương ứng. Thang tỉ lệ = 50 nm.

Cả hai mẫu $dSiO_2@MSN$ và HMSN có và không có PEG đều là các hạt hình cầu đơn phân tán về mặt hình thái. Kết quả thống kê dựa trên ảnh TEM cho thấy HMSN-0 có đường kính 80,2 nm và lớp vỏ xốp dày 7,5 nm, trong khi HMSN-P có đường kính 94,3 nm và lớp vỏ xốp dày 14,5 nm. Kết quả này khá phù hợp với kết quả được tính toán dựa trên kích thước DLS và Công thức (1). Ngoài ra, điện thế zeta của cả HMSN-0 và HMSN-P đều có giá trị âm gần -50 mV, cho thấy rằng PEG đã được loại bỏ tốt khỏi các mẫu HMSN-P tổng hợp.

4.4. Đặc điểm mang và nhả thuốc của HMSN tổng hợp

Hình 4.7a cho thấy giá trị DLE và DLC của HMSN-P thấp hơn một chút so với HMSN-0. Tuy nhiên, không có sự khác biệt thống kê về DLC và DLE giữa hai mẫu ($p < 0,05$). Kết quả này cho thấy mặc dù độ dày vỏ xốp tăng lên khi tổng hợp với sự có mặt của PEG, khả năng tải thuốc của nguyên liệu HMSN vẫn được duy trì.

Hình 4.7b cho thấy cả HMSN-0 và HMSN-P đều có hồ sơ phát hành bền vững với không quá 35% DOX ban đầu được giải phóng trong vòng 48 giờ. Mặc dù vậy, từ mốc 12 giờ trở đi, lượng thuốc giải phóng từ HMSN-P thấp hơn khoảng 4-5% so với HMSN-0. Điều này cho thấy HMSN-P với lượng thuốc nạp tương đương nhưng lỗ xốp dài hơn đã cho thấy mô hình phóng thích được kiểm soát tốt hơn so với HMSN-0. Lý do cho điều này có thể là do thuốc mất nhiều thời gian hơn để di chuyển qua các lỗ xốp dài hơn để ra bên ngoài.



Hình 4.7. Khả năng tải DOX (DLC - xám) và hiệu suất tải DOX (DLE - đen) của HMSN-0 và HMSN-P (a); Hồ sơ phát hành in vitro của Dox@HMSN-0 (tròn rỗng) và Dox@HMSN-P (tròn đặc) (b). Các điểm đánh dấu tương ứng với 0, 1, 3, 6, 9, 12, 24, 36 và 48 h.

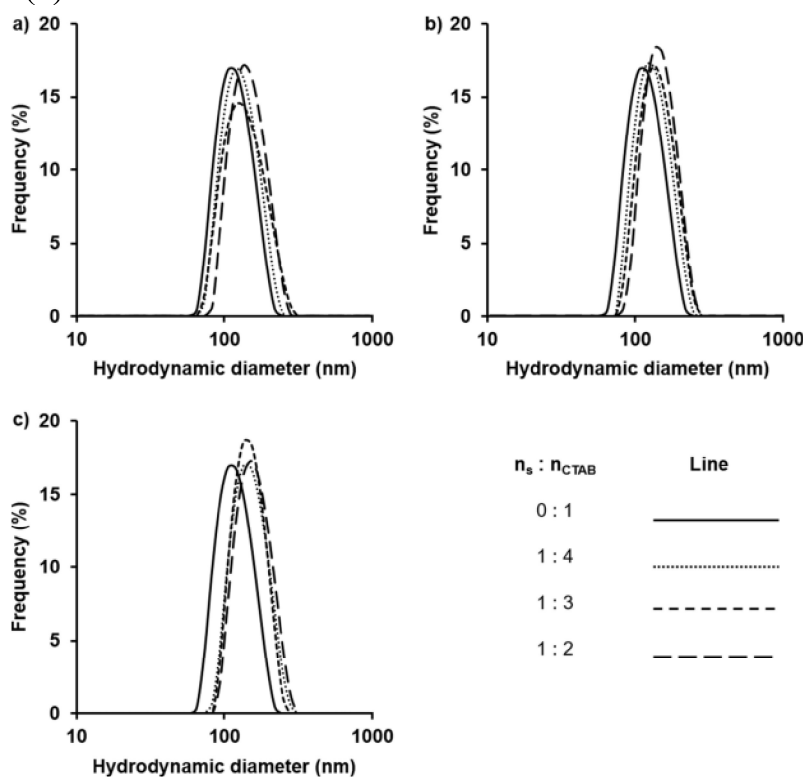
Bên cạnh đó, các phân tích BET, BJH, FT-IR, EDX và MTT đã được thực hiện để đặc tả và đánh giá tương thích sinh học của hạt HMSN và HMSN-P.

-----o0o-----

CHƯƠNG 5. CHẤT HOẠT ĐỘNG BỀ MẶT KHÔNG ION LÀM ĐỒNG LÕI MỀM ĐỂ ĐIỀU CHỈNH ĐƯỜNG KÍNH LỖ XÓP CỦA HẠT NANO SILICA XÓP RỖNG CHO ỨNG DỤNG PHÂN PHỐI THUỐC

5.1. Ảnh hưởng của chất hoạt động bề mặt không ion đối với độ dày vỏ xốp hạt $dSiO_2@MSN$

Để khảo sát ảnh hưởng của Tween 20, Tween 80 và Brij S10 trong các mixen hỗn hợp lên độ dày vỏ xốp của $dSiO_2@MSN$, các mixen hỗn hợp của ba chất hoạt động bề mặt không ion với CTAB ở các tỷ lệ mol khác nhau được sử dụng làm đồng lõi cho lỗ xốp ở bước phủ vỏ. Các mẫu thu được $dSiO_2@MSN-S$ được xác định kích thước DLS (Hình 5.2). Dựa trên đường kính của $dSiO_2$ (được báo cáo là $96,8 \pm 1,99$ nm trong Chương 3), $dSiO_2@MSN$ và $dSiO_2@MSN-S$, độ dày lớp vỏ xốp được tính toán theo Công thức (1).



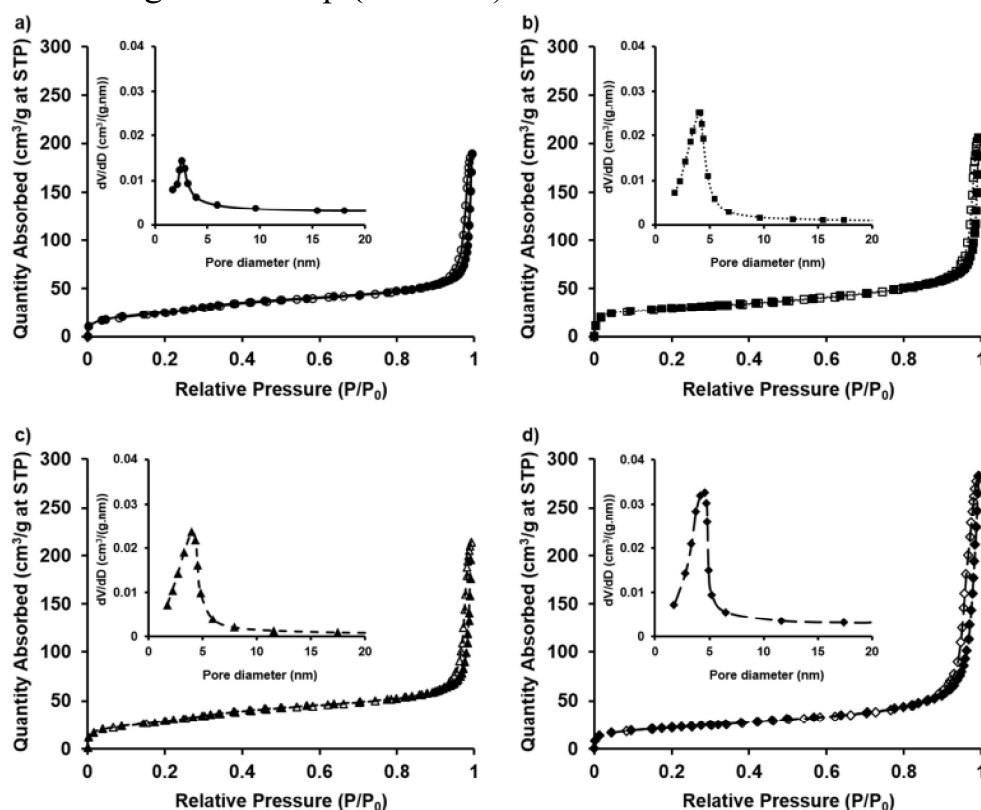
Hình 5.2. Phân bố kích thước bằng phép đo tán xạ ánh sáng động (DLS) của a) $dSiO_2@MSN-T20$, b) $dSiO_2@MSN-T80$ và c) $dSiO_2@MSN-BS10$.

Đối với mỗi chất hoạt động bề mặt không ion, độ dày lớp vỏ xốp tăng dần khi tỷ lệ mol của nó với CTAB tăng lên. Điều này cho thấy rằng sự hiện diện của các chất hoạt động bề mặt không ion trong mixen hỗn hợp càng cao thì đường kính mixen hỗn hợp càng lớn và vỏ xốp càng dày.

Hiện tượng này có thể được giải thích thông qua mô hình như sau: khi đường kính của các mixen làm đồng lõi cho lỗ xốp tăng lên, diện tích còn lại trên bề mặt cũng như không gian xung quanh các lõi cứng $dSiO_2$ để các cầu siloxan ngưng tụ bị thu hẹp, dẫn đến tăng độ dày của vỏ xốp.

5.2. Ảnh hưởng của chất hoạt động bề mặt không ion đối với đường kính lỗ xốp của $dSiO_2@MSN$

Để khảo sát thêm ảnh hưởng của các chất hoạt động bề mặt không ion đến đường kính lỗ xốp của HMSN, ba mẫu $dSiO_2@MSN$ được tổng hợp bằng cách sử dụng hỗn hợp mixen của T20, T80 hoặc BS10 với CTAB theo tỷ lệ mol nS : $nCTAB$ là 1: 2 đã được xác định diện tích bề mặt và đường kính lỗ xốp (Hình 5.4).



Hình 5.4. Các đường đẳng nhiệt hấp phụ-giải hấp phụ N_2 và phân bố kích thước lỗ xốp của a) $dSiO_2@MSN$, b) $dSiO_2@MSN-T20$, c) $dSiO_2@MSN-T80$ và d) $dSiO_2@MSN-BS10$.

Theo phân loại của IUPAC, đường đẳng nhiệt hấp phụ của bốn mẫu là đường đẳng nhiệt Langmuir loại IV và vòng trễ loại H_2 , đặc trưng bởi các vật liệu xốp, cho thấy sự có mặt của các chất hoạt động bề mặt không ion trong mixen hỗn hợp ở bước phủ lớp vỏ xốp không làm thay đổi bản chất của các đường đẳng nhiệt hấp phụ-giải hấp phụ nitơ của hạt ban đầu.

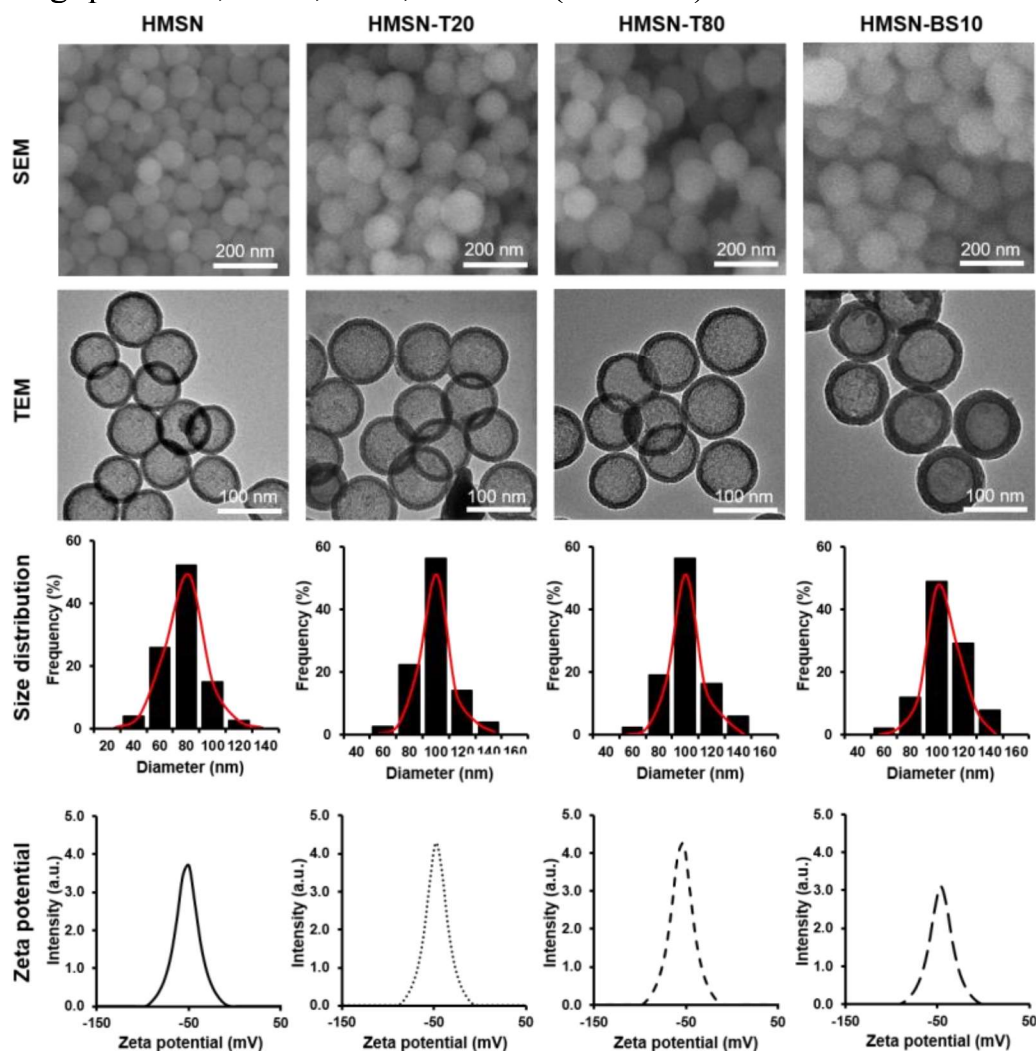
Khi sử dụng các mixen CTAB, T80-CTAB, T20-CTAB và BS10-CTAB làm lõi mềm cho lỗ xốp, đường kính lỗ xốp tăng lên đáng kể từ

2,5 nm lên hơn 4,0 nm, trong đó, không có sự khác biệt đáng kể giữa hai mẫu $dSiO_2@MSN-T20$ và $dSiO_2@MSN-T80$. Đồng thời $dSiO_2@MSN-BS10$ sở hữu các lỗ xốp với đường kính lớn nhất (4,5 nm).

Tương ứng với sự gia tăng đường kính lỗ xốp, diện tích bề mặt của các mẫu $dSiO_2@MSN$, $dSiO_2@MSN-T20$, $dSiO_2@MSN-T80$ và $dSiO_2@MSN-BS10$ lần lượt là 67,2, 91,8, 92,2 và 106,7 m^2/g . Như vậy, ảnh hưởng của các chất hoạt động bề mặt không ion đến đường kính lỗ xốp và độ dày vỏ xốp đã được làm rõ.

5.3. Đặc tả HMSN tổng hợp

Các hạt HMSN tổng hợp có và không có sự hiện diện của chất hoạt động bề mặt không ion (ở tỷ lệ mol nS: nCTAB là 1: 2) được đặc trưng thông qua SEM, TEM, DLS, thế Zeta (Hình 5.5).



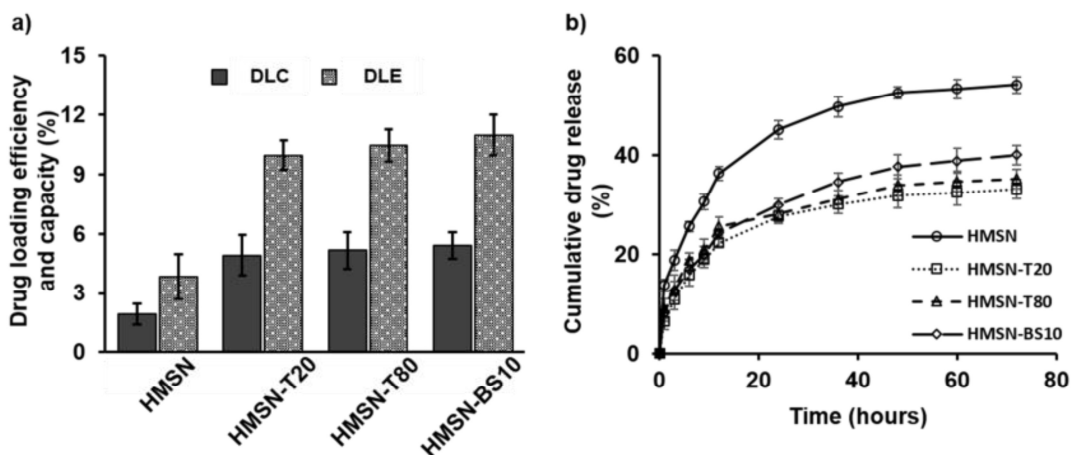
Hình 5.5. Hình ảnh SEM, hình ảnh TEM, phân bố kích thước và thế Zeta của HMSN, HMSN-T20, HMSN-T80 và HMSN-BS10.

Có thể thấy, tất cả các mẫu HMSN, HMSN-T20, HMSN-T80 và HMSN-BS10 đều là các hạt hình cầu đơn phân tán về mặt hình thái. Hình ảnh SEM xác nhận hạt hình cầu, đơn phân tán và phân bố kích thước hẹp của các hạt với đường kính lần lượt là 80,2; 99,3; 100,8 và 110,4 nm.

Hình ảnh TEM gợi ý rằng HMSN tổng hợp với sự hiện diện của chất hoạt động bề mặt không ion vẫn giữ nguyên cấu trúc lõi@vỏ. Ngoài ra, thế zeta của bốn mẫu có giá trị âm khoảng -50 mV, cho thấy rằng CTAB và các chất hoạt động bề mặt không ion khác đã được loại bỏ tốt khỏi HMSN được tổng hợp.

5.4. Đặc điểm mang và nhả thuốc của hệ HMSN tổng hợp

Rose Bengal (RB) với khối lượng phân tử 1017.64 g/mol (cao hơn 2 lần so với DOX) được sử dụng làm mô hình thuốc. Hiệu suất tải RB (DLE) và khả năng tải RB (DLC) của HMSN, HMSN-T20, HMSN-T80 và HMSN-BS10 được đo và trình bày trong Hình 5.7a. Kết quả cho thấy cả giá trị DLE và DLC của HMSN đều thấp hơn đáng kể so với HMSN-S. Điều này có thể là do sự khác biệt giữa đường kính lỗ xốp và kích thước của thuốc được tải.



Hình 5.7. (a) Khả năng mang thuốc RB (DLC - màu xám) và hiệu suất tải (DLE - màu đen) của HMSN, HMSN-T20, HMSN-T80 và HMSN-BS10; (b) Hồ sơ phát hành in vitro của RB từ HMSN, HMSN-T20, HMSN-T80 và HMSN-BS10. Các điểm được đánh dấu lần lượt tương ứng với 0, 1, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 60 và 72 h.

Trong báo cáo trước, với DOX (MW là 543,52 g/mol và kích thước phân tử 1,5 nm), HMSN (đường kính lỗ xốp 2,5nm) biểu hiện các giá trị DLE và DLC tương đối tốt là 5,87% và 11,09%. Ngược lại, RB được sử dụng trong nghiên cứu hiện tại có MW là 1017,64 g/mol, cao hơn gấp đôi so với DOX, do đó sẽ sở hữu kích thước phân tử lớn hơn so với DOX và khó có thể đi qua các lỗ xốp của HMSN ban đầu. Các giá trị DLC và DLE

của HMSN lần lượt được xác định là 1,95% và 3,82%, chủ yếu là lượng RB hấp phụ trên bề mặt của các hạt. Trong khi đó, nhờ sự hiện diện của các chất hoạt động bề mặt không ion, đường kính lỗ xốp của HMSN-T20, HMSN-T80 và HMSN-BS10 được mở rộng lên đến hơn 4,0 nm, dẫn đến việc RB dễ dàng đi qua các kênh này và được nang hóa nhiều hơn bên trong khoang rỗng. Sự tương đồng về giá trị DLC và DLE giữa HMSN-T20 và HMSN-T80 được cho là do chúng có các lỗ xốp với đường kính tương đương trong khi HMSN-BS10 sở hữu DLE và DLC cao nhất vì nó có lỗ xốp với đường kính lớn nhất (như được trình bày trong kết quả BET và BJH).

Đối với các cấu hình giải phóng thuốc (Hình 5.7b), RB@HMSN-S cho thấy sự tương đồng của chúng về lượng thuốc được giải phóng theo thời gian, cho thấy cấu hình giải phóng kiểm soát tốt hơn so với RB@HMSN. Sự phóng thích bùng nổ của RB@HMSN đến từ lượng RB hấp thụ trên bề mặt hạt. Trong khi đó, cần thời gian nhất định để RB trong RB@HMSN-S được giải phóng từ lõi rỗng thông qua lỗ xốp dài hơn ra bên ngoài. Trong số ba hệ thống RB@HMSN-S, RB@HMSN-BS10 cho thấy cấu hình phát hành nhanh hơn một chút so với các hệ thống khác. Hiện tượng này phù hợp với đường kính xốp lớn nhất của HMSN-BS10.

Ngoài ra, các phân tích FT-IR, XRD và MTT được thực hiện để đặc tả và đánh giá tương thích sinh học của hạt HMSN và HMSN-S.

-----o0o-----

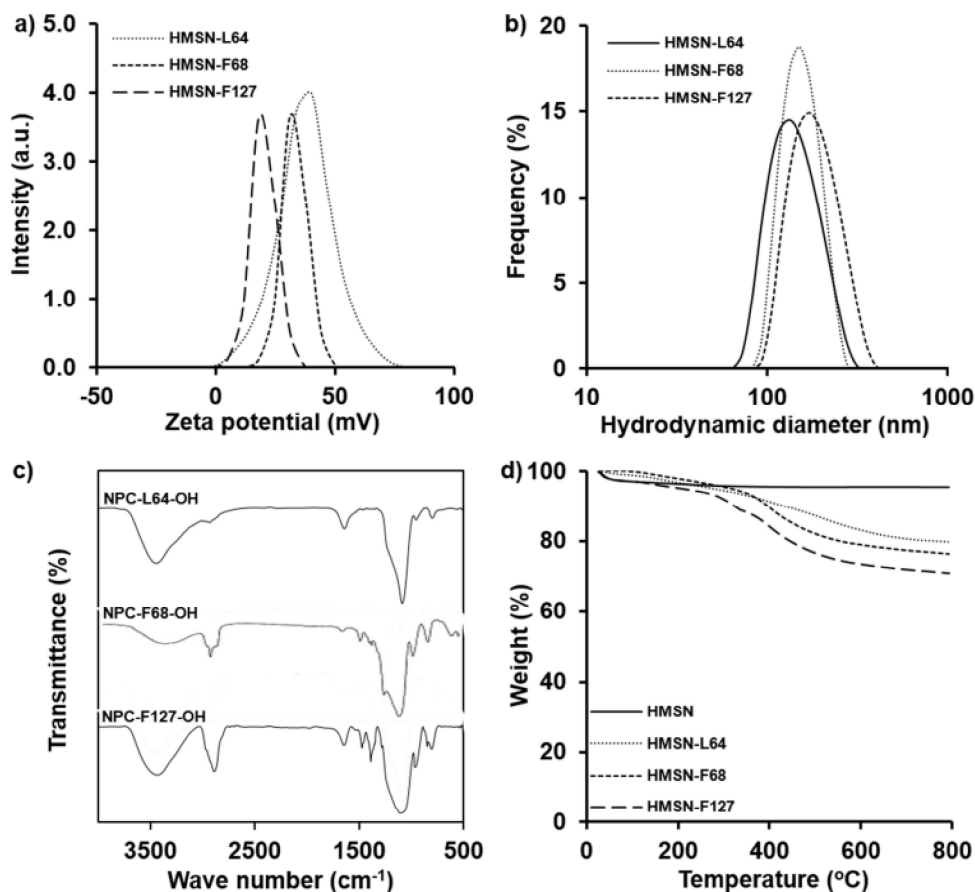
CHƯƠNG 6. BIẾN TÍNH BỀ MẶT HẠT NANO SILICA XÓP RỖNG VỚI PLURONIC CHO ỨNG DỤNG PHÂN PHỐI ĐA THUỐC

6.1. Biến tính bề mặt HMSN với Pluronic

Pluronic với số lượng khối ưa nước PEO và khối kỵ nước PPO khác nhau gồm L64, F68 và F127 được sử dụng để biến tính bề mặt HMSN cho ứng dụng mang thuốc kép Doxorubicin (DOX) và Quercetin (QUE).

Hệ HMSN-Plu được chứng minh tổng hợp thành công thông qua thế zeta, DLS, FT-IR và TGA. Kết quả được trình bày trong Hình 6.4. Thế Zeta của ba mẫu HMSN-L64, HMSN-F68 và HMSN-F127 được xác định lần lượt là 37,8 mV, 30,2 mV và 20,2mV. Tất cả đều dương nhưng thấp hơn HMSN-NH₂. Điều này có thể là do phản ứng giữa Pluronic với các nhóm amine trên bề mặt HMSN-NH₂, dẫn đến giảm số lượng nhóm amine trên bề mặt hạt HMSN-Plu so với HMSN-NH₂. Kích thước DLS của các mẫu HMSN-Plu tăng dần từ 127,9 nm lên 142,1 nm và 172,7 nm khi các hạt HMSN được biến tính với Pluronic có trọng lượng phân tử tăng dần (từ 2900 đến 8400 và 12600 kDa). Điều này được cho là do sự gia tăng tương ứng của chiều dài chuỗi phân tử Pluronic.

Hình 6.4c, phổ FT-IR của HMSN-Plu xuất hiện các tín hiệu hấp thụ của cả HMSN-NH₂ và NPC-Plu-OH. Các đỉnh hấp thụ ở 3300-3500 cm⁻¹ và 1089 cm⁻¹ tương ứng với các nhóm -OH và Si-O-Si của HMSN. Trong khi đó, ba phổ FT-IR của HMSN-Plu cũng có các cực đại hấp thụ ở 2888 cm⁻¹ và 1111 cm⁻¹ cùng quy cho nhóm -OCH₂-CH₂- của Pluronic



Hình 6.4. Đặc tả HMSN-L64, HMSN-F68 và HMSN-F127: a) Thế Zeta, b) Đường kính thủy động học, c) Phổ FT-IR, d) Đồ thị TGA.

Hình 6.4d cho thấy đồ thị TGA của HMSN và HMSN-Plu. Sự mất khối lượng ban đầu ở nhiệt độ dưới 200 °C có thể là do sự loại bỏ độ ẩm và sự ngưng tụ của các silanol bề mặt. Trong khi đó, sự mất trọng lượng ở nhiệt độ trên 200 °C có thể liên quan trực tiếp đến mức độ chức năng hóa các nhóm hữu cơ trên bề mặt. Từ dữ liệu TGA, giá trị giảm khối lượng ở phạm vi nhiệt độ 200-800 °C của HMSN-L64, HMSN-F68 và HMSN-F127 được xác định tương ứng là 14,56, 17,61 và 19,05%, do đó, có thể được quy cho lượng Pluronic tương ứng biến tính trên bề mặt của HMSN. Kết quả TGA, cùng với FT-IR, điện thế zeta và kết quả DLS, chứng minh rằng ba Pluronic đã được biến tính thành công trên bề mặt của HMSN.

6.2. Khả năng mang thuốc kép của HMSN-Plu

DOX và QUE lần lượt được nang hóa vào HMSN và HMSN-Plu. Khả năng tải và hiệu suất tải của chúng được trình bày trong Bảng 6.2.

Bảng 6.2. Khả năng tải (DLC) và hiệu quả tải (DLE) cho Doxorubicin (DOX) và Quecetin (QUE) của HMSN và HMSN-Plu

Particles	DLC (%)		DLE (%)	
	DOX	QUE	DOX	QUE
HMSN	5,87 ± 0,64	2,34 ± 1,03	15,15 ± 0,94	9,60 ± 0,78
HMSN-L64	7,04 ± 0,81	9,80 ± 1,16	19,88 ± 1,02	43,44 ± 1,18
HMSN-F68	6,79 ± 0,59	9,83 ± 0,79	19,28 ± 0,87	43,82 ± 1,05
HMSN-F127	6,97 ± 0,97	17,80 ± 0,85	19,50 ± 1,13	86,83 ± 0,98

Giá trị DLC cho DOX của ba mẫu HMSN-Plu tăng nhẹ so với HMSN. Sự khác biệt có thể là do DOX liên kết với các nhóm amin còn lại trên bề mặt HMSN-Plu thông qua phản ứng tạo imine. Trong khi đó, có sự khác biệt rõ ràng giữa các giá trị DLC cho QUE: HMSN sở hữu giá trị DLC thấp nhất (2,34%), HMSN-L64 và HMSN-F68 cho thấy khả năng tải tốt hơn (lần lượt là 9,80% và 9,83%), trong khi đó HMSN-F127 có giá trị DLC cao nhất là 17,80%.

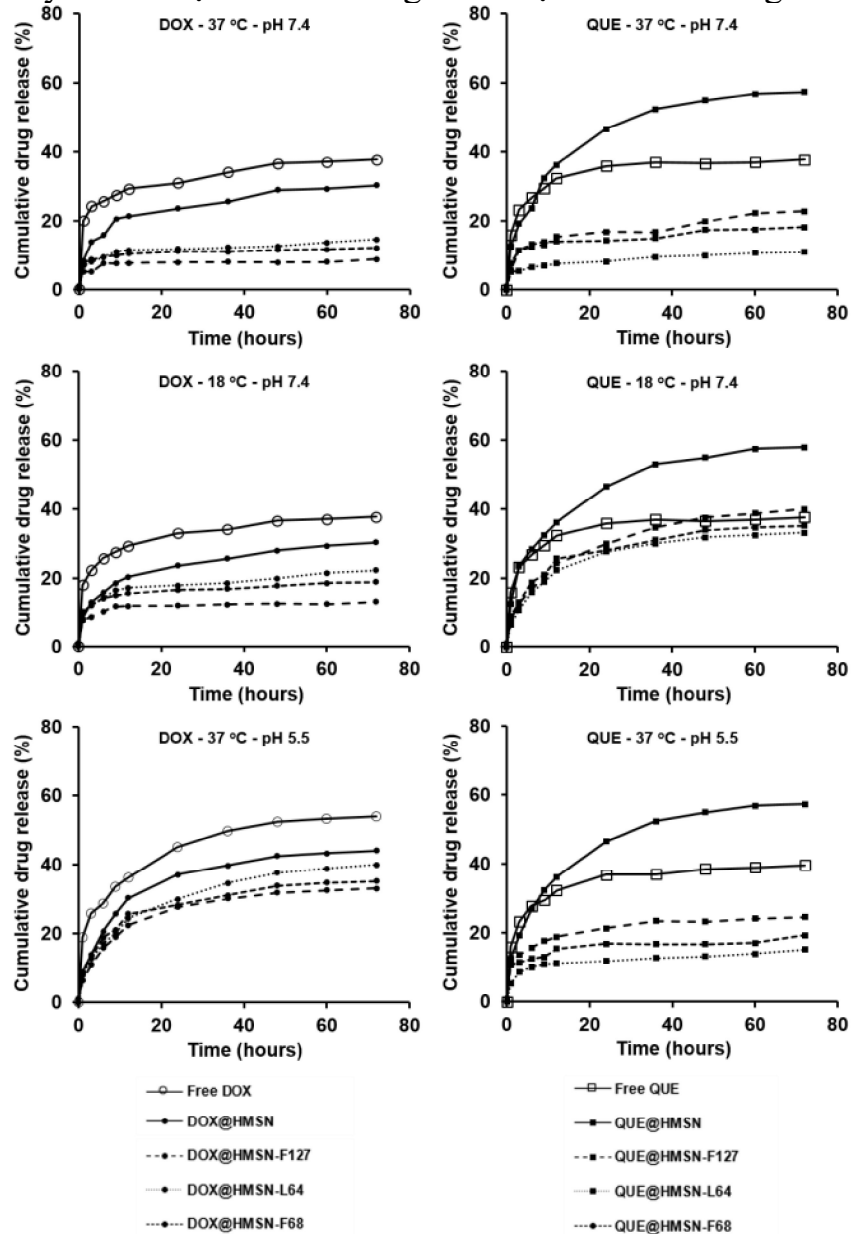
Sự tương đồng về giá trị DLC cho DOX của các mẫu là do DOX được nang hóa trước, khi các khoang rỗng và lỗ xốp của vật liệu còn trống. QUE sau đó được tải vào vật liệu nang hóa DOX với không gian trống không còn nhiều. Đó là lý do giá trị DLC cho QUE của HMSN là thấp nhất. May mắn thay, các khối kỵ nước PPO của các phân tử Pluronic trên bề mặt HMSN-Plu là các vị trí mà QUE, một loại thuốc kém tan có thể được nang hóa một cách hiệu quả thông qua tương tác vật lý, dẫn đến tăng cường rõ rệt khả năng tải QUE của HMSN-Plu. Khi xem xét cấu trúc của L64, F68 và F127, có thể thấy mối tương quan giữa khả năng tải QUE và số lượng khối PPO. Pluronic càng có nhiều đơn vị PPO thì khả năng tải QUE của HMSN-Plu càng cao.

6.3. Hồ sơ giải phóng thuốc kép của HMSN-Plu

Hành vi giải phóng thuốc *in vitro* của thuốc tự do và thuốc nang hóa được đánh giá trong các điều kiện khác nhau bao gồm [37 °C, pH 7,4], [18 °C, pH 7,4] và [37 °C, pH 5,5]. Kết quả được thể hiện trong Hình 6.5.

Đối với DOX, ở ba điều kiện, DOX tự do được phát hành nhanh nhất, tiếp theo là DOX từ HMSN, trong khi HMSN-Plu cho thấy các hồ sơ phát hành DOX được kiểm soát tốt hơn. Điều này chứng tỏ rằng các Pluronic biến tính trên bề mặt HMSN đã phát huy tác dụng như những nắp đậy làm giảm độ mở của các lỗ xốp, làm chậm sự di chuyển của DOX từ khoang rỗng ra ngoài môi trường. Sau 72 giờ, mặc dù lượng DOX giải phóng từ các mẫu HMSN-Plu tăng lên khi nhiệt độ giảm từ 37 xuống 18 °C (ở pH

7,4), nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa. Trong khi đó, có sự gia tăng đáng chú ý về lượng DOX giải phóng sau 72 giờ ở pH 5,5. Hiện tượng này được cho là do sự đồng phân hóa DOX trong PBS pH 7,4 nơi DOX tương tác với chất đệm và tạo thành các dimer DOX liên kết cộng hóa trị. Kết quả cho thấy ba hệ thống HMSN-Plu giải phóng DOX đáp ứng pH, trong đó hệ thống HMSN-Plu giải phóng DOX với tốc độ chậm trong điều kiện sinh lý và tốc độ cao hơn trong điều kiện vi môi trường khối u.



Hình 6.5. Hành vi phóng thích *in vitro* của thuốc tự do và thuốc nang hóa trong các điều kiện nhiệt độ và pH khác nhau

Đối với QUE, HMSN biểu thị các hồ sơ phát hành liên tục ở tất cả các điều kiện được thử nghiệm. Điều này là do lượng QUE nang hóa chủ

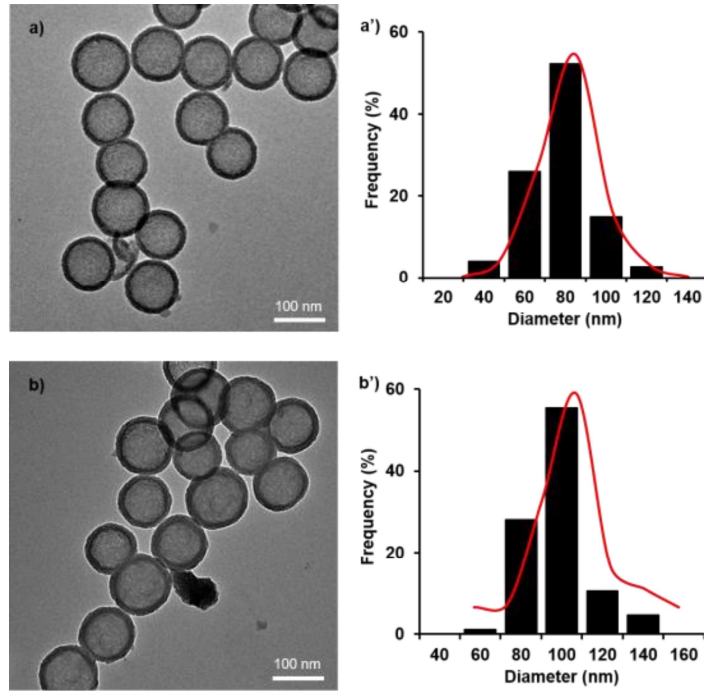
yếu được hấp thụ trên bề mặt HMSN. QUE tự do và QUE nang hóa trong HMSN-Plu được phát hành chậm hơn so với QUE trong HMSN. Điều này có thể là do lượng QUE ban đầu cao (tự do hoặc nang hóa) và khả năng hòa tan kém của nó. Đây là một ưu điểm của hệ thống HMSN-Plu khi phân phối QUE vì chúng có thể hạn chế sự rò rỉ QUE khi lưu thông trong cơ thể ở điều kiện sinh lý. Bên cạnh đó, HMSN-Plu cũng cho thấy sự cải thiện về tốc độ giải phóng thuốc ở nhiệt độ thấp (18 °C). Hiện tượng này có thể được giải thích là do sự duỗi thẳng của chuỗi Pluronic ở nhiệt độ thấp, làm cho các phân tử QUE được bao bọc trong các khối PPO kỵ nước dễ dàng được giải phóng ra ngoài môi trường nhờ chênh lệch nồng độ. Kết quả cho thấy ba hệ thống HMSN-Plu giải phóng QUE đáp ứng với điều kiện nhiệt độ, trong đó hệ thống HMSN-Plu giải phóng QUE với tốc độ chậm ở nhiệt độ sinh lý và tốc độ cao hơn ở nhiệt độ thấp.

Xét về thế zeta, kích thước DLS và khả năng tương thích sinh học, HMSN-L64, HMSN-F68 và HMSN-F127 đáp ứng các đặc tính cần thiết của một hệ thống phân phối thuốc. Xét về khả năng nang hóa thuốc kếp có độ hòa tan khác nhau, HMSN-F127 cho thấy là ứng cử viên tiềm năng nhất trong ba mẫu HMSN-Plu. Hơn nữa, HMSN-F127 cho thấy khả năng kiểm soát tốt việc giải phóng thuốc hiệu quả, đáp ứng nhiệt độ và pH. Do đó, mẫu HMSN-F127 đã được lựa chọn để nghiên cứu tiếp theo.

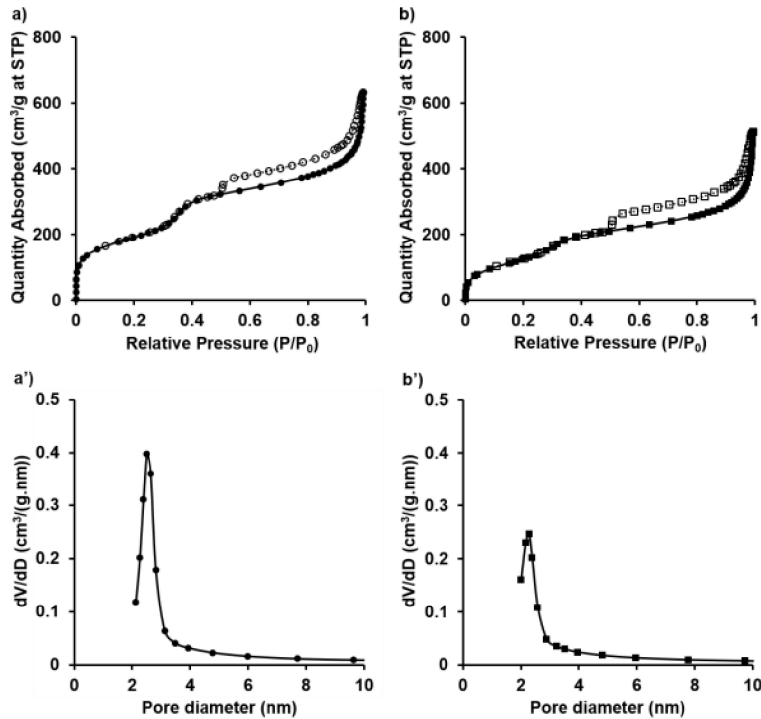
6.4. Đặc tả hệ HMSN-F127

Hệ HMSN-F127 được đặc tả có so sánh với HMSN thông qua các thí nghiệm TEM, BET và XRD. Hình ảnh TEM cho thấy cả HMSN và HMSN-F127 đều là các hạt đơn phân tán hình cầu (Hình 6.8) với đường kính lần lượt là 80,2 nm và 119,7 nm. Các hạt HMSN-F127 với kích thước phù hợp như vậy không chỉ nạp đủ lượng thuốc mà còn kéo dài thời gian lưu hành trong quá trình sử dụng.

Các đường đẳng nhiệt hấp thụ N_2 của HMSN và HMSN-F127 đều là đường đẳng nhiệt Langmuir loại IV đặc trưng cho các vật liệu xốp (Hình 6.9). Ngoài ra, độ trễ lớn lặp lại trong phạm vi áp suất tương đối (P/P₀) 0,5–1,0 gợi ý cấu trúc rỗng của hai hệ hạt. HMSN sở hữu diện tích bề mặt BET cao hơn (767 m²/g) so với HMSN-F127 (446 m²/g). Hơn nữa, mặc dù đường kính lỗ của HMSN và HMSN-F127 tương đương nhau (tương ứng là 2,5 và 2,2 nm), giá trị dV/dD của HMSN cao hơn đáng kể so với HMSN-F127. Sự giảm diện tích bề mặt BET và thể tích lỗ xốp BJH của HMSN-F127 là do các phân tử xuất hiện trên bề mặt HMSN và hoạt động như tác nhân che phủ các lỗ xốp.



Hình 6.8. Hình ảnh TEM và phân bố kích thước của a), a') HMSN và b), b') HMSN-F127

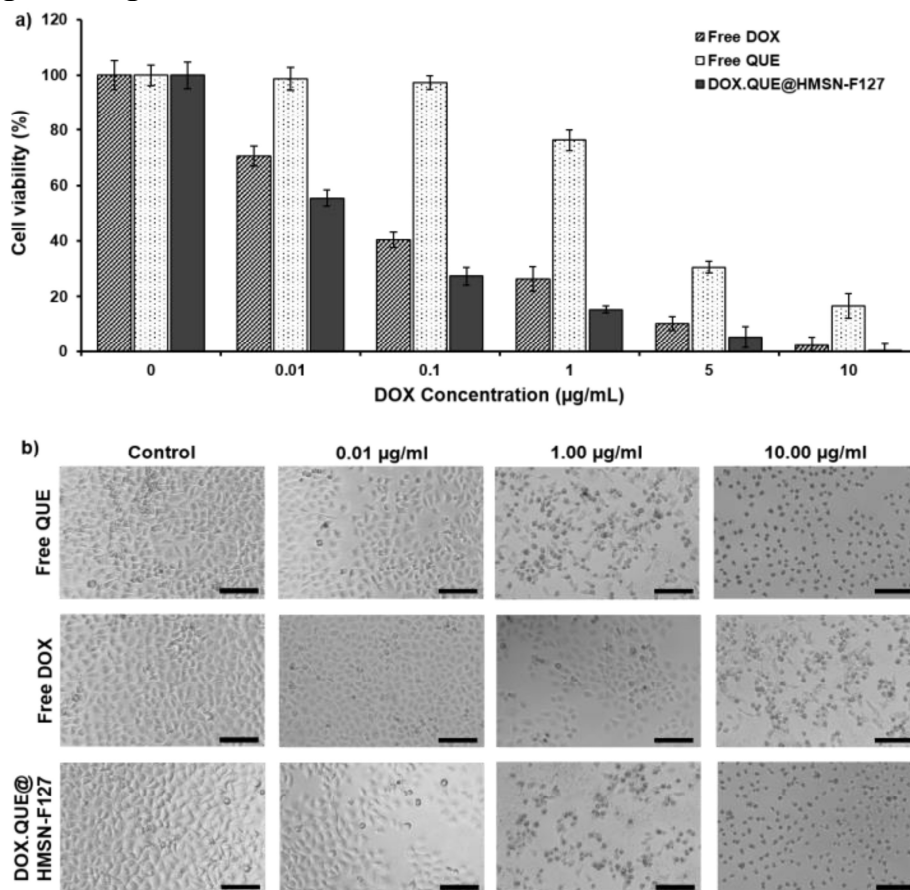


Hình 6.9. Các đường đẳng nhiệt giải hấp phụ N₂ và sự phân bố kích thước lỗ của HMSN (a, a') và HMSN-F127 (b, b')

6.6. Khả năng tiêu diệt tế bào ung thư của hệ DOX.QUE@HMSN-F127

Khả năng tiêu diệt tế bào ung thư *in vitro* của DOX tự do, QUE tự do và DOX.QUE@HMSN-F127 đối với tế bào Hela được đánh giá và trình bày trong Hình 6.11. Nhìn chung, các mẫu DOX tự do, QUE tự do và DOX.QUE@HMSN-F127 gây chết tế bào Hela phụ thuộc vào nồng độ. QUE tự do cho thấy độc tính tế bào thấp nhất trên tế bào Hela với giá trị IC₅₀ là 3,29 $\mu\text{g}/\text{mL}$, trong khi DOX tự do giết chết 50% tế bào Hela ở nồng độ 0,07 $\mu\text{g}/\text{mL}$. DOX.QUE@HMSN-F127 cho thấy hiệu quả tiêu diệt mạnh nhất với IC₅₀ của DOX trong DOX.QUE@HMSN-F127 được xác định là 0,03 $\mu\text{g}/\text{mL}$, bằng một nửa so với DOX tự do. Mặc dù DOX được giải phóng với tốc độ chậm hơn từ HMSN-F127, hệ thống đã đồng thời giải phóng QUE, được chứng minh là làm giảm liều lượng cần thiết cũng như tác dụng phụ của DOX. Đó là lý do tại sao hệ thống DOX.QUE@HMSN-F127 cho thấy hiệu quả tiêu diệt ung thư tốt nhất.

Ngoài ra, các phân tích XRD và MTT được thực hiện để đặc tả và đánh giá tương thích sinh học của hạt HMSN và HMSN-Plu.



Hình 6.11. a) Tỷ lệ sống sót của tế bào và b) Hình thái tế bào Hela được xử lý bằng DOX tự do, QUE tự do và DOX.QUE@HMSN-F127. Thang tỉ lệ = 100 μm .

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Như vậy, đề tài đã hoàn thành các mục tiêu đề ra. Các hạt HMSN được tổng hợp bằng phương pháp lõi cứng, điều chỉnh các thông số kỹ thuật của hạt và biến tính bề mặt hạt với các kết quả đạt được như sau:

1. Thời gian tổng hợp HMSN qua 3 bước chính được rút ngắn từ 21h xuống còn 9h. Cụ thể, thời gian tổng hợp lõi rắn giữ nguyên 6h, thời gian phủ vỏ xốp giảm từ 6h xuống còn 1h, thời gian ăn mòn lõi cứng giảm từ 9h xuống còn 2h. Hạt HMSN thu được có dạng hình cầu, đơn phân tán, cấu trúc lõi@vỏ với đường kính hạt ~80 nm, đường kính lõi ~65 nm và độ dày vỏ xốp ~7,5 nm, đạt được kích thước phù hợp (~100nm) cho ứng dụng phân phối thuốc.

2. PEG với khối lượng phân tử (1000–6000 g/mol) và nồng độ (1–5%) khác nhau được sử dụng để điều chỉnh độ dày lớp vỏ xốp. Hạt HMSN-P được tổng hợp với sự có mặt của 2% PEG 6000 có đường kính hạt ~94,3 nm, độ dày vỏ xốp ~14,5 nm, đường kính lỗ xốp ~2,5 nm, tương tích sinh học tốt, biểu hiện khả năng tải DOX giảm không đáng kể nhưng phát hành DOX bền vững hơn so với HMSN.

3. à Brij S10 với tỉ lệ mol (so với CTAB) khác nhau (0:1, 1:2, 1:3 và 1:4) được tạo mixen hỗn hợp với CTAB dùng làm đồng lõi mềm nhằm điều chỉnh đường kính lỗ xốp của HMSN. Hạt HMSN-S được tổng hợp với sự có mặt của BS10 (tỉ lệ mol 1:2) có đường kính hạt ~110 nm, độ dày vỏ xốp ~22 nm, đường kính lỗ xốp ~4,5 nm, tương tích sinh học tốt, biểu hiện khả năng tải RB hiệu quả và phát hành RB bền vững hơn so với HMSN.

4. Pluronic với số lượng khối ưa nước PEO và khối kỵ nước PPO khác nhau, gồm L64, F68 và F127 được biến tính trên bề mặt HMSN cho ứng dụng mang thuốc kép có tính tan khác nhau là DOX và QUE. Khả năng tải thuốc kép DOX và QUE của HMSN-Plu được cải thiện rõ rệt so với HMSN. HMSN-F127 cho thấy khả năng mang thuốc kép tốt nhất với 6,97% cho DOX và 17,8% cho QUE. HMSN-Plu biểu hiện cấu hình giải phóng thuốc bền vững ở điều kiện sinh lý, trong đó phóng thích DOX đáp ứng pH và phóng thích QUE đáp ứng nhiệt độ. HMSN-F127 có đường kính hạt ~120 nm, độ xốp BET ~446 m²/g, đường kính lỗ xốp ~2,2 nm, tương tích sinh học tốt. Hệ mang thuốc kép DOX.QUE@HMSN-F127 biểu hiện khả năng tiêu diệt tế bào ung thư mạnh mẽ đối với Hela. Giá trị IC₅₀ cho DOX của hệ được xác định là 0,03 µg/mL, giảm hơn một nửa so với DOX tự do trên cùng dòng tế bào.

Nghiên cứu phương pháp tốt nhất để chống lại ung thư là một quá trình liên tục và HMSN là một trong những chất mang có thể khắc phục được các vấn đề đặt ra bởi các phương pháp điều trị hiện nay. Một mục

tiêu nghiên cứu sâu hơn sẽ bao gồm việc biến tính hệ thống HMSN-Plu với các phối tử hướng đích chủ động và đáp ứng kích thích nhằm cải thiện hiệu quả điều trị của hệ mang thuốc. Hơn nữa, các hoạt động *in vitro* cũng như hành vi *in vivo* của các hệ thống HMSN lai cần được xác minh và mở rộng hiểu biết.

-----oOo-----

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Quy trình tổng hợp hạt nano silica cấu trúc xốp rỗng (HMSN) theo phương pháp lõi cứng đã được điều chỉnh thành công với thời gian tổng hợp rút ngắn còn 9 giờ và đường kính hạt HMSN nhỏ hơn 100 nm.

Độ dày vỏ xốp của hạt HMSN đã được kiểm soát thành công bằng cách sử dụng Polyethylene Glycol (PEG) với các khối lượng phân tử và nồng độ khác nhau trong bước phủ vỏ xốp.

Đường kính lỗ xốp của hạt HMSN đã được mở rộng và kiểm soát thành công bằng cách sử dụng các mixen hỗn hợp của các chất hoạt động bề mặt không ion với CTAB làm lõi mềm trong bước phủ vỏ xốp.

Pluronic với số lượng khối kỵ nước PPO và khối ưa nước PEO khác nhau gồm L64, F68 và F127 đã được biến tính thành công lên bề mặt hạt HMSN. Khả năng tải của thuốc với độ hòa tan khác nhau (Doxorubicin và Quercetin) cũng như cấu hình giải phóng thuốc đáp ứng nhiệt độ và pH của 3 hệ thống HMSN-Plu đã được đánh giá. HMSN-F127 được xác định là hệ nang hóa và phân phối thuốc kép hiệu quả nhất.

-----oOo-----

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

- 1. Ngoc Hoi Nguyen**, Cuu Khoa Nguyen, Dai Hai Nguyen, “*A Modified Hard-Templating for Hollow Mesoporous Silica Nanoparticles Synthesis with Suitable Particle Size and Shortened Synthesis Time*”, Vietnam Journal of Science and Technology, ISSN 2525-2518, 0866-708X, Accepted 20 August 2022.
- 2. Ngoc Hoi Nguyen**, Dieu Linh Tran, Ngoc-Hang Truong-Thi, Cuu Khoa Nguyen, Dai Hai Nguyen, “*Simply and Effectively Control the Shell Thickness of Hollow Mesoporous Silica Nanoparticles by Polyethylene Glycol for Drug Delivery Applications*”, Journal of Applied Polymer Science, SCIE/SSCI, Q2, H index 175, IF 3.125, ISSN 0021-8995 (print); 1097-4628 (web). DOI: <http://doi.org/10.1002/app.53126>.
- 3. Ngoc Hoi Nguyen**, Ngoc-Hang Truong-Thi, Dinh Tien Dung Nguyen, Yern Chee Ching, Ngoc Trinh Huynh, Dai Hai Nguyen, “*Non-ionic Surfactants as Co-Templates to Control the Mesopore Diameter of Hollow Mesoporous Silica Nanoparticles for Drug Delivery Applications*”, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, SCIE/SSCI, Q2, H index 179, IF 5.518, ISSN 0927-7757, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.130218>.
- 4. Ngoc Hoi Nguyen**, Dai Hai Nguyen, “*A Research on Drug Delivery System based on Mesoporous Silica Nanoparticles for Anti-Cancer*”, The International Chemistry and Its Applications Conference 2022.