

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

NGUYỄN CAO HIỀN

TỔNG HỢP CÁC HẠT NANO TRÊN CƠ SỞ  
 $\beta$ -CYCLODEXTRIN VÀ  $\beta$ -CYCLODEXTRIN BIẾN  
TÍNH LÀM CHẤT MANG THUỐC ĐIỀU TRỊ UNG THƯ

Chuyên ngành: Hóa Hữu cơ

Mã số: 9.44.01.14

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC

TP. HỒ CHÍ MINH, 2023

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

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. ĐẶNG CHÍ HIỀN

2. GS.TSKH. NGUYỄN CÔNG HÀO

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án tiến sĩ, họp tại Viện Công nghệ Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi giờ , ngày tháng năm 2023.

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

Các dẫn xuất của cyclodextrin (CD-x) đã thực sự thu hút sự quan tâm của giới khoa học từ những năm đầu của thế kỷ XX bởi tính năng vượt trội góp phần cải thiện đáng kể những hạn chế của CD nguyên bản, thể hiện vai trò quan trọng trong các lĩnh vực ứng dụng nâng cao. Trải qua một chặng đường dài phát triển, ngày nay số lượng các dẫn xuất cyclodextrin đã biết vượt quá 11.000 với nhiều con đường phản ứng có thể dẫn đến các dẫn xuất mong muốn. Dấu mốc thực sự có ý nghĩa trong lịch sử nghiên cứu ứng dụng của CD được ghi nhận bởi công bố đầu tiên (1990) về vật liệu nano có tên khoa học “nanosponge” (do cấu trúc giống nano bọt biển) dựa trên sự kết hợp giữa CD và một polymer khác. Sự kết hợp giữa CD và công nghệ nano đã mở ra những triển vọng đầy tiềm năng với những tiến bộ vượt bậc được thực hiện trong các lĩnh vực khác nhau như nông nghiệp, dược phẩm, vật liệu y sinh và công nghệ sinh học. Các nghiên cứu sau đó về vật liệu nano cyclodextrin-based nanosponges (CD-NSs) đã được thử nghiệm thành công trên nhiều nền polymer khác nhau, kết quả cũng cho thấy trong số các CD phổ biến ( $\alpha$ ,  $\beta$  và  $\gamma$ ) thì  $\beta$ -CD và các dẫn xuất của chúng ( $\beta$ -CD-x) ngày càng được tin dùng bởi những lợi thế về độ an toàn, tính tương thích sinh học và giá thành phù hợp.

Gần đây, nhiều nghiên cứu về các hệ nanogel hoặc nano lai ghép trên cơ sở  $\beta$ -CD và dẫn xuất của chúng ( $\beta$ -CD-x) đã chỉ ra rằng, hiệu quả tạo phức cũng như độ ổn định của phức chất chịu ảnh hưởng đáng kể bởi tính lập thể của phân tử  $\beta$ -CD-x và độ phân cực của các nhóm chức trên mặt ngoài của hình nón cụt. Mặc dù đã có rất nhiều nỗ lực được thực hiện trong nhiều năm nhằm tìm hiểu về cơ chế tương tác trong CD-NSs cũng như cơ chế bắt giữ các phân tử “khách” của các nanosponges cho đến nay vẫn chưa đạt được kết luận rõ ràng. Nhiều quan điểm cho rằng: thuốc hoặc các phân tử “khách” không chỉ được bao bọc bên trong “khu vực trung tâm” của phân tử  $\beta$ -CD-x mà cả ở mặt ngoài ưa nước hay phân bố trong toàn

mạng lưới polymer nền. Một số nghiên cứu gần đây của chúng tôi về vật liệu nanogel trên nền  $\beta$ -CD và HPCD đã cho kết quả phù hợp với nhận định trên. Tiếp tục chuỗi nghiên cứu với mong muốn phát triển một nhóm vật liệu mới ứng dụng trong y học hiện đại đồng thời cung cấp thêm dữ liệu khoa học về vai trò của  $\beta$ -CD và một số dẫn xuất đối với hiệu quả mang tải thuốc, chúng tôi thực hiện đề tài “*Tổng hợp các hạt nano trên cơ sở  $\beta$ -cyclodextrin và  $\beta$ -cyclodextrin biến tính làm chất mang thuốc điều trị ung thư*” cho luận án này.

## **2. Mục tiêu của luận án**

Nghiên cứu tổng hợp các vật liệu nano trên cơ sở  $\beta$ -CD và  $\beta$ -CD biến tính. Ứng dụng thử nghiệm phân phối thuốc trị ung thư 5-Fluorouracil.

## **3. Các nội dung nghiên cứu chính**

1. Tổng hợp một số dẫn xuất amine của  $\beta$ -cyclodextrin
2. Điều chế các vật liệu nano trên cơ sở  $\beta$ -CD và  $\beta$ -CD biến tính
3. Khảo sát điều kiện tối ưu cho quá trình tổng hợp các hệ nano mang thuốc trị ung thư 5-Fluorouracil.
4. Xác định cấu trúc, hình thái và các đặc trưng của các hệ nano tổng hợp được.
5. Nghiên cứu ảnh hưởng của các dẫn xuất  $\beta$ -CD-x đến kích thước hạt, khả năng mang và giải phóng thuốc trị ung thư 5-Fluorouracil.
6. Nghiên cứu độc tế bào của các hệ nano chưa mang thuốc và đánh giá hoạt tính kháng tế bào ung thư của hệ nano mang thuốc.

## **CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN**

Phần này trình bày tổng quan về  $\beta$ -cyclodextrin và vật liệu truyền dẫn thuốc trên cơ sở cyclodextrin.

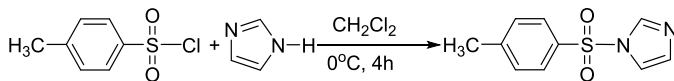
## CHƯƠNG 2: THỰC NGHIỆM

### 2.1. Hóa chất và nguyên liệu

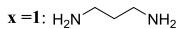
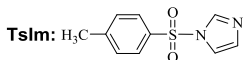
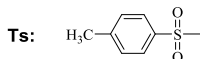
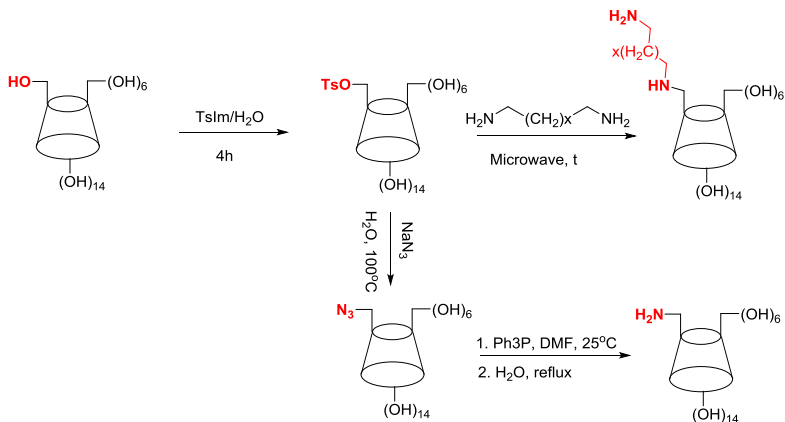
Các loại dung môi và hóa chất sử dụng trong thực nghiệm được trình bày trong mục này.

### 2.2. Tổng hợp các dẫn xuất amine của $\beta$ -cyclodextrin

Quy trình được bắt đầu bằng phản ứng điều chế Tosylimidazole trước khi trước khi các quá trình biến tính  $\beta$ -CD được thực hiện.



**Hình 2. 1.** Sơ đồ phản ứng tổng hợp *TsIm*



**Hình 2.2.** Sơ đồ quy trình tổng hợp các dẫn xuất amine của  $\beta$ -cyclodextrin

Các dẫn xuất amine của  $\beta$ -cyclodextrin bao gồm: Mono-6-amino-deoxy-6- $\beta$ -cyclodextrin; Mono-(6-(1,3-trimethylenediamine)-6-deoxy)- $\beta$ -cyclodextrin;

Mono-(6-(1,6-hexamethylenediamine)-6-deoxy)- $\beta$ -cyclodextrin được tổng hợp từ  $\beta$ -CD. Các phản ứng được mô tả trong sơ đồ 2.2

### 2.3. Điều chế các vật liệu nano trên cơ sở $\beta$ -CD và $\beta$ -CD biến tính

#### 2.3.1 Vật liệu nano gel $\beta$ -CD-x/alginate:

Nhỏ từ từ dung dịch  $\text{CaCl}_2$  (10 mg.  $\text{mL}^{-1}$ ) vào erlen chứa sẵn dung dịch alginate (10 mg.  $\text{mL}^{-1}$ ), khuấy đều với tốc độ 1200 rpm trong vòng 90 phút. Dung dịch sau khuấy được đem đánh siêu âm không gia nhiệt trong 60 phút trước khi thực hiện quá trình ổn định gel trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Tiếp đến, dung dịch được ly tâm với tốc độ 4000 rpm trong 15 phút, phần dịch tách ra khỏi lớp gel được loại bỏ, gel được rửa lại 3 lần bằng nước khử ion. Gel thu được sau ly tâm được cho vào erlen và khuấy đều với một lượng nhỏ nước cất, nhỏ từ từ dung dịch  $\beta$ -CD-x (2 mg.  $\text{mL}^{-1}$ ) vào erlen với các thể tích xác định (theo tỷ lệ khảo sát) và tiến hành khuấy với tốc độ 1200 rpm trong 90 phút. Dung dịch sau khuấy được đem đánh siêu âm không gia nhiệt trong 60 phút. Sau khi siêu âm, tiếp tục quá trình ổn định gel trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng.

Dung dịch sau đó được tiến hành ly tâm với tốc độ 4000 rpm trong 15 phút, phần dịch tách ra khỏi lớp gel được loại bỏ, phần gel được rửa lại với nước khử ion.

Quá trình rửa gel được lặp lại 2 lần, tách gel và sấy thăng hoa trong 20 giờ thu được nanocomposite.

Các mẫu nano composite sau khi sấy thăng hoa đem cân xác định khối lượng khô tuyệt đối và tính hiệu suất theo công thức:

$$H_{\text{NPs}}(\%) = \frac{m_k}{m_o} \cdot 100\% \quad (2-2)$$

Trong đó:

$m_k$  là khối lượng mẫu sau đông khô (mg)

$m_o$  là tổng khối lượng các tác chất ban đầu (mg)

#### 2.3.2. Vật liệu lai ghép với các hạt nano vàng

Các hạt nano AuNPs/CD-x được tổng hợp qua quá trình khử  $\text{HAuCl}_4$  bằng  $\beta$ -CD-x trong dung dịch kiềm dưới điều kiện siêu âm.  $\text{HAuCl}_4$  (11,85 mL, 0,16 mM)

và  $\beta$ -CD-x (3 mL) ở các nồng độ khác nhau được thêm vào một bình phản ứng màu nâu (50 mL) và khuấy trộn ở nhiệt độ phòng. Để tối ưu hóa quá trình tổng hợp hạt nano, các điều kiện phản ứng khác nhau bao gồm nồng độ  $\beta$ -CD-x, pH, nhiệt độ và thời gian đã được khảo sát dưới bức xạ siêu âm (200 W, 40 kHz, Skymen Ultrasonic Cleaner 6.5L Jp-031). Các giá trị pH của dung dịch trong khoảng 8 - 12 được điều chỉnh bằng cách sử dụng dung dịch NaOH (1M). Màu hồng của dung dịch xác nhận sự hình thành AuNPs. Điều kiện tối ưu hóa được điều tra bằng cách sử dụng phép đo UV-Vis (UV-Vis JASCO V-630 Spectrophotometer, U.S.A).

## 2.4 Tổng hợp các vật liệu nano tải thuốc

### *Quy trình tổng hợp các hệ nano $\beta$ -CD-x/alginate mang 5-FU*

Tổ hợp nanocomposite *5-FU@ $\beta$ -CD-x/Alg* được hình thành thông qua cơ chế gel hóa ionotropic. Các phân tử  $\beta$ -CD ( $\beta$ -CD-x) sở hữu các nhóm tích điện âm có thể tương tác để tạo liên kết chéo giữa ion  $\text{Ca}^{2+}$  và alginate trong gelispheres tạo thành nanocomposite phân tán tốt trong nước. Thuốc 5-FU có thể được bao bọc trong chất nền polysaccharid thông qua liên kết giữa ion  $\text{Ca}^{2+}$  với các nhóm chức trong phân tử alginate hoặc trong khoang trung tâm phân tử  $\beta$ -CD-x.

Nanocomposite *5-FU@ $\beta$ -CD-x/Alg* dễ dàng được thu hồi bằng cách sử dụng các quy trình ly tâm, sấy thăng hoa. Do hàm lượng thuốc có thể ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả tổng hợp nanocomposite nên quá trình nạp thuốc đã được khảo sát với các tỷ lệ khác nhau giữa khối lượng thuốc và khối lượng chất mang. Hiệu quả tải thuốc (%DL) và khả năng tạo phức của thuốc (%EE) được sử dụng để đánh giá hiệu suất tổng hợp. Tổ hợp nano có hình thái tốt nhất được sử dụng để khảo sát các đặc trưng hóa lý và động học. giải phóng thuốc *in vitro*.

Để xác định hiệu suất tạo phức của thuốc (%EE) và khả năng mang thuốc của vật liệu (%DL) chúng tôi sử dụng phương pháp gián tiếp thông qua hàm lượng 5-FU thất thoát trong nước ly tâm. Lượng thuốc 5-FU không tham gia tạo phức với vật liệu được tính toán dựa trên phương trình đường chuẩn được xây dựng với 10

nồng độ khác nhau của 5-FU và xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử UV-Vis tại bước sóng 266 nm.

Hiệu suất tạo phức của 5-FU và khả năng dung nạp lên các vật liệu được tính toán theo các công thức tương ứng 2.3 và 2.4.

$$EE (\%) = \frac{W_{total\ 5-FU} - W_{free\ 5-FU}}{W_{total\ 5-FU}} \times 100\% \quad (2.3)$$

$$DL (\%) = \frac{W_{total\ 5-FU} - W_{free\ 5-FU}}{W_{nanocomposite}} \times 100\% \quad (2.4)$$

### ***Quy trình tải thuốc 5-FU lên các hệ nano AuNPs/CD-x***

Thuốc chống ung thư 5-fluorouracil (5-FU) đã được phân bố thành công vào các tổ hợp nano AuNPs/CD-x. Mục đích của công việc này là điều tra ảnh hưởng của các nhóm chức khác nhau đến hiệu quả tải thuốc của vật liệu AuNPs/CD-x. Nanocomposite AuNPs/CD-x dễ dàng chế tạo dưới sự hỗ trợ của siêu âm như báo cáo gần đây của chúng tôi. Một quy trình tương tự được sử dụng để điều chế tất cả các nanocomposite thực hiện ở pH 10, 80°C và chiếu xạ liên tục trong 30 phút. Các nghiên cứu gần đây cho thấy  $\beta$ -CD có thể dễ dàng bao bọc 5-FU ở trạng thái rắn, tuy nhiên, quá trình tạo phức 5-FU khi thực hiện trong dung dịch nước cho hiệu quả thấp liên quan đến độ ổn định của phức. Do đó, trong quy trình này, dung dịch nanocomposite rỗng đã được làm sạch và đông khô trước khi nạp thuốc. Vật liệu nanocomposite rắn màu hồng thu được với độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 525 nm trong phổ UV-Vis. Sau đó, chất chống ung thư 5-FU được đưa vào nanocomposite bằng quy trình khuấy đơn giản trong 24 giờ. Hỗn hợp được ly tâm và sau đó được làm sấy thăng hoa để thu được chất rắn màu xanh lam hấp thụ ở bước sóng khoảng 550 nm.

Sản phẩm nanocomposite thu được bằng quá trình đông khô (-80 °C, 10h). Để xác định hiệu suất tạo phức của thuốc (EE%) và khả năng mang thuốc của vật liệu (DL%) chúng tôi sử dụng phương pháp gián tiếp thông qua hàm lượng 5-FU trong nước ly tâm. Lượng thuốc 5-FU thất thoát trong nước ly tâm (không tham gia



tạo phức với vật liệu) được tính toán dựa trên phương trình đường chuẩn được xây dựng với 5 nồng độ khác nhau của 5-FU và xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử UV-Vis ở bước sóng 266 nm. Hiệu suất tạo phức và khả năng tải thuốc được tính toán theo các công thức (2.3) và (2.4).

## **2.5 Phân tích cấu trúc, hình thái và các đặc trưng của nanocomposite**

Sự hiện diện của các nhóm chức trong thành phần các hệ nano được phân tích qua phổ FT-IR thực hiện trên máy quang phổ spectrophotometer (Bruker, Germany) với dải bước sóng từ 4000 -500  $\text{cm}^{-1}$  và độ phân giải 0,5  $\text{cm}^{-1}$ .

Phân bố kích thước hạt và hình thái của nanocomposite được đánh giá qua ảnh TEM (S-4800 JEOL JEM1400) đặt ở điện áp tăng tốc 120 kV và FESEM (S-4800 HI-9057-0006). Điện thế Zeta được sử dụng để xác định điện tích tại các giao diện pha và dao động phân tử, trong khi DLS được sử dụng để xác định sự phân bố kích thước hạt trong dung dịch keo. Phép đo được thực hiện trên thiết bị nanoPartica Horiba SZ-100 (Nhật Bản) với nồng độ dung dịch 0,5 mg/mL. Điện thế Zeta được đo với điện áp đặt là 3,3 V ở 25 °C và DLS được thực hiện ở góc 173°.

Thành phần, đặc điểm cấu trúc mạng tinh thể của các mẫu thuốc, vật liệu và tổ hợp nanocomposite được xác định bằng phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD) thực hiện trên thiết bị X-ray diffractometer (Bruker, Model-D8 Advance).

Tính chất nhiệt của các mẫu tác chất, thuốc và tổ hợp nanocomposite được phân tích nhiệt trọng lượng (TGA) và nhiệt quét vi sai (DSC) thực hiện trên thiết bị LabSys Evo 1600 thermal analyser (SETARAM, France) ở dải nhiệt độ 30–800 °C, tốc độ gia nhiệt 10<sup>0</sup>C/phút trong không khí.

## **2.6 Giải phóng thuốc**

Nghiên cứu giải phóng thuốc được thực hiện trong môi trường sinh lý mô phỏng (nước muối đệm phosphat ở pH 7.4 và 1.2). Hiệu quả giải phóng thuốc được đánh giá bằng cách sử dụng túi thẩm tách 5 mL (trọng lượng phân tử giới hạn từ 3.000 đến 5.000 Da). Trước khi thử nghiệm, các túi thẩm tách được ngâm 12 giờ

trong môi trường giải phóng. Hỗn hợp dung dịch gồm nanocompozit mang thuốc (3 mg) và môi trường giải phóng (3 mL) được thêm vào túi thẩm tách với hai đầu được buộc chặt. Túi thẩm tách được nhúng vào 12 mL môi trường giải phóng được duy trì ở 37°C và khuấy nhẹ. Để phát hiện lượng thuốc đã giải phóng, một lượng nhỏ (0,5 mL) được lấy vào các thời điểm khác nhau 1h, 2h, 4h, 8h, 12h, 24h, 48h và 72h và sau đó ngay lập tức thay dung dịch bên ngoài bằng cùng một thể tích môi trường mới. Các mẫu thu hồi được phân tích bằng phương pháp quang phổ UV – Vis. Các thử nghiệm được thực hiện trong ba lần. Mô hình giải phóng thuốc được vẽ dưới dạng tỷ lệ phần trăm phát hành tương đối của thuốc theo thời gian. Quy trình tương tự đã được thực hiện đối với các mẫu nano blank làm tiêu chuẩn đối chiếu. Kết quả giải phóng thuốc được tính theo công thức (2.5) từ các môi trường khác nhau.

$$\text{Thuốc giải phóng (\%)} = \frac{5-f_u \text{ tại thời điểm } t}{5-f_u \text{ tại } t=0} \times 100\% \quad (2.5)$$

Sự phù hợp về mặt động học các quá trình giải phóng thuốc được so sánh với các mô hình lý thuyết bao gồm: bậc 0 (Phương trình 2.6), bậc nhất (Phương trình 2.7), Hixson-Crowell (Phương trình 2.8), Higuchi (Phương trình 2.9) và Korsmeyer-Peppas (Phương trình 2.10).

Trong đó  $f_t$  là lượng thuốc 5-FU được giải phóng tại một thời điểm xác định  $t$ ,  $f_0$  là lượng thuốc ban đầu trong tổ hợp nano,  $n$  là số mũ khuếch tán và  $k_0$ ,  $k_1$ ,  $k_H$ ,  $k_{HC}$  và  $k_{KP}$  là các hằng số giải phóng tương ứng các phương trình.

### 2.3.6 Đánh giá khả năng gây độc tế bào

Nguyên bào sợi và tế bào MCF-7 (HTB-22) do Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh cung cấp và nuôi cấy. Tế bào được nuôi cấy ở 37°C và 5% CO<sub>2</sub> trong môi trường thiết yếu tối thiểu của Eagle (EMEM) được bổ sung 20 mM HEPES (Sigma), 0,025 µg/mL amphotericin B (Sigma), 2mM L-glutamine (Sigma), 100 IU/mL penicillin G (Sigma), 100 µg/mL streptomycin (Sigma) và 10% (v/v) FBS (Sigma). Các mẫu nano bao gồm: Vật liệu

rõng, vật liệu tải thuốc và dung dịch sau khi phóng thích thuốc được sử dụng để kiểm tra độc tính tế bào.

### CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

#### 3.1 Tổng hợp các dẫn xuất của $\beta$ -CD

##### 3.1.1 Tổng hợp mono-6-amino-deoxy-6- $\beta$ -cyclodextrin (CD-NH<sub>2</sub>)

Hiệu suất trung bình: 93,96 %.

Điểm chảy 215-216 °C.

IR ( $cm^{-1}$ , KBr): 3428 (O-H), 3389 (N-H), 2925 (C-H), 1029 (C-O).

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, ppm):  $\delta$  5,75-5,66 (*m*, 14H, 1OH<sub>2</sub>, 1OH<sub>3</sub>, 6OH<sub>2</sub>' , 6OH<sub>3</sub>' ), 4,83 (*d*, 7H, *J* = 5 Hz, H<sub>1</sub>, 6H<sub>1</sub>' ), 4,47 (*s*, 6H, 6OH<sub>6</sub>), 3,69-3,53 (*m*, 28H, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>, 6H<sub>2</sub>' , 6H<sub>3</sub>' , 6H<sub>4</sub>' , 6H<sub>5</sub>' ), 3,35-3,27 (*m*, 16H, 12H<sub>6</sub>, 2H<sub>6</sub>' , NH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, ppm):  $\delta$  101,97 (C-1); 81,5 (C-2, C-3); 73,0; 72,3; 72,0 (C-4); 68,7 (C-6' ); 59,9 (C-5, C-6).

##### 3.1.2 Tổng hợp mono-6-(1,3-trimethylenediamine)-6-deoxy- $\beta$ -cyclodextrin

Hiệu suất trung bình: 76,5 %.

Ngoại quan: Sản phẩm là tinh thể rắn màu trắng, có dạng bột mịn.

Điểm chảy: 259°C-260°C

TLC: Dung môi hòa tan là pyridine, hệ dung môi chạy sắc kí là butanol:ethanol:nước:amoniac (5:4:3:5), hiện màu và bản mỏng TLC bằng thuốc thử anisaldehyde cho thấy  $R_f = 0,49$ .

QTOF-MS (*m/z*): thực nghiệm  $[M+H]^+ = 1191,4457$ , lý thuyết  $[M+H]^+ = 1191,4470$ , tương ứng với  $M = 1190,4436$  (CTPT: C<sub>45</sub>H<sub>79</sub>N<sub>2</sub>O<sub>34</sub>)

IR ( $cm^{-1}$ , KBr): 3417 (O-H), 1642 và 1525 (N-H), 2927 (C-H), 1031 (C-O).

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $D_2O$ , ppm):  $\delta$  5,05 (s, 7H, 6H1', 1H1), 3,94-3,82 (m, 32H, 6(OH)6', 1(OH)2, 6(OH)2', 1(OH)3, 6(OH)3', 6H5', 6H3'), 3,64-3,53 (m, 14H, 1H2, 6H2', 1H5, 6H4'), 3,42-3,39 (m, 1H, NH), 3,09-3,03 (m, 1H, H4), 2,79-2,75 (m, 4H, H6, H7), 2,63-2,61 (m, 2H, H9), 1,71-1,68 (m, 2H, H8), 1,17 (t,  $J = 7\text{Hz}$ , 2H,  $\text{NH}_2$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $D_2O$ , ppm):  $\delta$  101,9 (7C, 6C-1', 1C-1), 81,2 (7C, 6C-4', 1C-4), 72,1 (14C, 6C-2', 6C-3', 1C-2, 1C-3), 60,4 (6C, C-6'), 54,0 (C-6), 45,3 (C-7), 36,6 (C-9), 30,3 (C-8).

### 3.1.3 Tổng hợp mono-6-(1,6-hexamethylenediamine)-6-deoxy- $\beta$ -cyclodextrin

Hiệu suất trung bình: 71%.

Ngoại quan: Sản phẩm là tinh thể rắn màu trắng, có dạng sợi.

Điểm chảy: 261-262°C

$R_f$  (butanol:ethanol:nước = 5:4:3) = 0,49.

QTOF-MS ( $m/z$ ): thực nghiệm  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 1233,4870$ , lý thuyết  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 1233,4939$ , tương ứng với  $\text{M} = 1232,4905$  (CTPT:  $\text{C}_{48}\text{H}_{84}\text{N}_2\text{O}_{34}$ ).

IR ( $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ , KBr): 3331 (N-H), 2927(C-H), 1155 (C-O-C), 1239 (C-N), 1033 (C-O), 857 (C-C).

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $D_2O$ , ppm):  $\delta$  5,46 (s, 7H, H1), 4,26-3,97 (m, 28H, 1(OH)2, 6(OH)2', 1(OH)3, 6(OH)3', 1H2, 6H2', 1H3, 6H3'), 3,78-3,77 (m, 7H, 1H5, 6H5'), 3,43 (d,  $J = 13,5\text{Hz}$ , 7H, 1H4, 6H4'), 3,13 (m, 2H, H6), 2,97 (br, s, 4H, H7, H12), 1,9-1,72 (br, s, 8H, H8, H9, H10, H11).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $D_2O$ , ppm):  $\delta$  102,4 (7C, 6C-1', 1C-1); 81,7 (7C, 6C-4', 1C-4); 72,1 (14C, 6C-2', 6C-3', 1C-2, 1C-3); 60,8 (6C, C-6'); 48,5 (C-6); 47,3 (C-7); 41,1 (C-12); 31,2 (C-11); 26,6 (3C, C-8, C-9, C-10).

### 3.2 Tổng hợp các nanocomposite nạp thuốc

Kết quả thử nghiệm về độ tương thích của thuốc 5-FU đối với các hệ nano

được thực hiện thông qua khảo sát hàm lượng thuốc tăng dần từ 5% đến 50% so với khối lượng vật liệu. Kết quả cho thấy hiệu suất tạo phức (%EE) của thuốc và khả năng dung nạp thuốc của vật liệu (%DL) chịu ảnh hưởng rõ rệt bởi tỷ lệ 5-FU ban đầu.

Đối với khả năng dung nạp thuốc của các vật liệu, kết quả chỉ ra rằng các vật liệu đều đạt tỷ lệ nạp thuốc khá cao, và có sự tương đồng về quy luật ảnh hưởng của các dẫn xuất  $\beta$ -CD đến giá trị %DL<sub>max</sub> ở hai nhóm vật liệu. Cụ thể, khả năng nạp thuốc của dẫn xuất TAMCD đạt cao nhất ở mức 68% trong vật liệu lai ghép và 40,08% trong vật liệu nanogel, thấp nhất ở dẫn xuất HPCD với các giá trị %DL tương ứng lần lượt là 23,46% và 32,12%. Điều này cho thấy sự có mặt các nhóm amine bậc 1 và bậc 2 trên phân tử  $\beta$ -CD đã góp phần gia tăng hiệu quả liên kết giữa các phân tử thuốc và vật liệu, ngược lại nhóm ether có thể cản trở tương tác giữa chúng. Thực nghiệm cũng cho thấy quá trình ly tâm thu hồi sản phẩm thuận lợi hơn ở dẫn xuất TAMCD và  $\beta$ -CD, trong khi HPCD với độ hòa tan cao hơn nên có mặt nhiều hơn ở phần dung dịch có thể đã kéo theo sự thất thoát 5-FU.

### 3.3 Đặc điểm hóa lý của nanocomposite

#### 3.3.1 Các hệ nanogel trên cơ sở $\beta$ -CD-x/alginate

Sự có mặt các thành phần trong nano composite được xác định thông qua phổ FT-IR của mẫu các  $\beta$ -CD-x, Alg, vật liệu rỗng và các mẫu nano composite nạp thuốc.

Kết quả phân tích phổ FT-IR của mẫu nanocomposite 5-FU@ $\beta$ -CD/Alg cho thấy các tín hiệu đã dịch chuyển sang các vị trí mới so với hệ mang  $\beta$ -CD/Alg. Tín hiệu rộng tại 3413 cm<sup>-1</sup> đặc trưng cho dao động giãn của các nhóm O-H và N-H. Tín hiệu 2934 cm<sup>-1</sup> đặc trưng cho dao động giãn của nhóm C-H. Dao động tại vùng 1613 cm<sup>-1</sup> và 1424 cm<sup>-1</sup> lần lượt đặc trưng cho nhóm C=O và -OH của alginate và tín hiệu dao động tại 1034 cm<sup>-1</sup> tương ứng dao động của nhóm -C-O-C trong vòng glucose. Đặc biệt, phổ của các composite nạp thuốc đều cho thấy các dải ở 1350 -

1250  $\text{cm}^{-1}$  tương ứng với các dao động đặc trưng của nhóm C-N và C-F trong phân tử 5-FU. Kết quả cho phép khẳng định thuốc 5-FU đã được bao bọc thành công vào chất mang  $\beta$ -CD-x/Alg.

Thế zeta và kích thước hạt là các tiêu chí quan trọng để đánh giá khả năng phân phối thuốc chống ung thư và hiệu quả nhắm mục tiêu vào mô khối u. Do thế zeta âm của các thành phần  $\beta$ -CD-x và Alg [76], tổ hợp nano rỗng  $\beta$ -CD-x/Alg sở hữu điện tích bề mặt lớn (-48,7 mV đến -70,2 mV) trong khi sự hiện diện của 5-FU gây ra sự giảm nhẹ tích điện bề mặt (-42,1 mV đến -62,2 mV). Điện thế zeta âm cao gây ra tương tác đẩy giữa các hạt nano có thể làm giảm mạnh bản chất của xu hướng kết hợp, phù hợp với tính ổn định cao của nanocomposite trong dung dịch nước. Nó chỉ ra rằng nanocomposite dựa trên  $\beta$ -CD-x và Alg có thể bảo vệ thuốc như một chất mang lý tưởng cho hệ thống phân phối thuốc.

Kích thước hạt của nanocomposite trong dung dịch nước được xác định thông qua phép đo DLS, kết quả cho thấy có sự khác biệt giữa các vật liệu. Cụ thể, kích thước hạt của  $\beta$ -CD/Alg trong phạm vi 50 - 150nm với kích thước trung bình là 70nm, vật liệu HPCD/Alg sở hữu kích thước ở phạm vi thấp hơn (40 - 200nm) với kích thước trung bình 80 nm, trong khi các hạt TMACD/Alg phân bố ở vùng kích thước lớn hơn (80 - 250nm) với giá trị trung bình 120nm. Điều này cho thấy các nhóm thế trên phân tử CD đã ảnh hưởng đến quá trình tạo phức với các chuỗi alginate và giá trị cân bằng tới hạn trên bề mặt nanoparticles. Mặt khác, kết quả còn chỉ ra sự giảm nhẹ kích thước hạt ở các nanocomposite nạp thuốc, kích thước hạt của 5-FU@ $\beta$ -CD/Alg và 5-FU@TMACD/Alg được tìm thấy trong khoảng 20 - 140 nm với kích thước trung bình là 57 nm trong khi kích thước hạt của HPCD/Alg sở hữu phạm vi hẹp hơn 40 - 120 nm với kích thước trung bình là 70 nm. Kích thước nhỏ hơn của nanocomposite 5-FU@ $\beta$ -CD-x/Alg chỉ ra rằng sự hiện diện của thuốc 5-FU có thể làm giảm đáng kể kích thước hạt nano, điều này đã xác nhận sự bao

bọc của 5-FU thành ma trận liên kết chéo hình thành các ion canxi và chuỗi alginat trong nanocomposite  $\beta$ -CD-x/Alg.

Ảnh TEM của các mẫu nanocomposite chứa thuốc cho thấy, phần lớn các hạt nano nạp thuốc có hình cầu với kích thước khá đồng đều phân bố trong khoảng 40 – 120nm mật độ tập trung cao ở vùng 60 - 80nm. Đặc biệt có thể quan sát thấy sự ngưng kết giữa các hạt nano xảy ra nhiều hơn ở các nanocomposite 5-FU@HPCD/Alg và 5-FU@TMACD/Alg. Điều này cho thấy các nhóm ether và amine trên phân tử  $\beta$ -CD không chỉ ảnh hưởng đến hiệu suất tạo phức mà còn liên quan đến độ ổn định của nanogel trong dung dịch nước.

### 3.3.2 Các vật liệu nano vàng lai ghép

Đặc trưng cấu trúc của vật liệu nano rỗng và vật liệu mang thuốc được phân tích qua phổ FT-IR, sự hiện diện của thuốc trong nanocomposite được chứng minh thông qua các đỉnh hấp thụ đặc trưng trên phổ hồng ngoại và kết quả đo UV-Vis.

Kết quả thực nghiệm cho thấy: vật liệu nano rỗng màu hồng trắng thu được với dải hấp thụ cực đại ở khoảng 525 nm trong phổ UV-Vis. Trong khi các nanocomposite chứa 5-FU là chất rắn màu xanh lam hấp thụ ở bước sóng rộng hơn (khoảng 550 nm). Sự dịch chuyển các đỉnh hấp thụ của vật liệu nạp thuốc cho thấy sự thay đổi đáng kể của bề mặt AuNPs khi có mặt của 5-FU. Nó có thể liên quan đến sự hình thành một lớp màng hữu cơ ổn định mới được tạo ra bởi sự cạnh tranh giữa phức hợp 5-FU/CD-x và các phân tử CD-x trong tương tác với bề mặt hạt nano vàng. Đặc biệt, phổ UV-Vis của nanocomposite nạp thuốc cho thấy rõ đỉnh hấp thụ của 5-FU ở khoảng 266 nm, khẳng định thuốc đã nạp thành công vào nanocomposite.

Phổ FT-IR của các vật liệu nano rỗng cho thấy các đỉnh hấp thụ đặc trưng của các phân tử glucose trong cyclodextrin xuất hiện ở các đỉnh khoảng 3420, 2940, 1640, 1414 và 1031  $\text{cm}^{-1}$ . Các đỉnh ở 3420  $\text{cm}^{-1}$  và 1414  $\text{cm}^{-1}$  lần lượt được gán cho các dao động kéo dẫn và uốn cong của các nhóm OH. Đỉnh ở 2940  $\text{cm}^{-1}$  ứng với

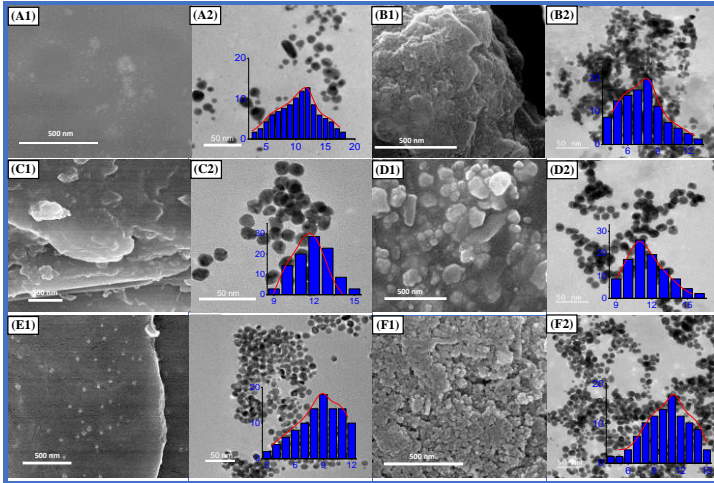
dao động kéo dẫn của alkyl C-H trong các phân tử glucose. Đỉnh ở  $1640\text{ cm}^{-1}$  liên quan đến dao động kéo dẫn của nhóm C = O và đỉnh ở  $1030\text{ cm}^{-1}$  tương ứng với dao động dẫn của nhóm C-O. Kết quả này xác nhận rằng tất cả các dẫn xuất CD đã lai ghép hiệu quả với các hạt AuNPs. Phổ của thuốc 5-FU chỉ ra các đỉnh ở  $3151\text{ cm}^{-1}$  và  $2934\text{-}2832\text{ cm}^{-1}$  do dao động kéo dài N-H và C-H tương ứng. Các đỉnh ở  $1769\text{ -}1662\text{ cm}^{-1}$  liên quan đến giao động dẫn của nhóm C = O và các đỉnh ở  $1350$  và  $1248\text{ cm}^{-1}$  là đặc trưng cho dao động của nhóm C-N và C-F, tương ứng [77]. Phổ FTIR của các nanocomposite được nạp thuốc cho thấy tất cả các đỉnh đặc trưng của cả vật liệu nano rỗng ( $1414$  và  $1034\text{ cm}^{-1}$ ) và 5-FU ( $1722$ ,  $1350$  và  $1248\text{ cm}^{-1}$ ), kết quả này xác nhận sự hiện diện của thuốc trong nanocomposite.

Cấu trúc tinh thể của 5-FU, vật liệu rỗng và nanocomposite nạp thuốc được đánh giá qua phổ XRD của các mẫu dạng bột. Các mẫu XRD của các vật liệu rỗng cho thấy các đỉnh đặc trưng của tinh thể AuNPs ở các góc  $2\theta$  là  $38,4^\circ$ ,  $44,8^\circ$ ,  $64,4^\circ$  và  $77,5^\circ$ , gán cho khối tâm mặt (fcc) của (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0) và (3 1 1). Mẫu XRD của thuốc 5-FU cho thấy cấu trúc tinh thể với đỉnh cường độ mạnh ở góc  $2\theta$  tương ứng  $28,4^\circ$ . Dữ liệu XRD của nanocomposite nạp thuốc chỉ ra các đỉnh đặc trưng của cả thuốc 5-FU và nanocomposite AuNPs/CD-x. Hơn nữa, cường độ đỉnh ở góc  $2\theta$   $28,4^\circ$  theo thứ tự 5-FU@ AuNPs/TMACD > 5-FU@AuNPs/CD > 5-FU@AuNPs/HPCD, liên quan đến hàm lượng của thuốc 5-FU trong mẫu, phù hợp với giá trị hiệu quả tải thuốc của vật liệu như đã đề cập ở mục 3.2.

Ảnh SEM và TEM của vật liệu và nanocomposite nạp thuốc đã được nghiên cứu để đánh giá ảnh hưởng của việc nạp thuốc cũng như các dẫn xuất cyclodextrin khác nhau lên hình thái và kích thước hạt của chúng (Hình 3.12). Hình ảnh SEM chỉ ra rằng không có thay đổi đáng kể về hình thái giữa các dẫn xuất cyclodextrin, tuy nhiên, sự khác biệt được quan sát rõ ràng giữa vật liệu rỗng và nanocomposite nạp thuốc. Thật vậy, vật liệu rỗng có bề mặt rất mịn (Hình 3.12 A1, C1 và E1) trong



khi bề mặt của vật liệu tổng hợp tải thuốc thô ráp (Hình 3.12 B1, D1 và F1). Có thể sự hiện diện của 5-FU trong mẫu đã tạo ra cấu trúc xốp hơn của nanocomposite.



**Hình 3.12** Ảnh SEM, TEM và phân bố kích thước của nanocomposite:

*AuNPs/CD (A1 và A2), 5-FU@AuNPs/CD (B1 và B2), AuNPs/HPCD (C1 và C2), 5-FU@AuNPs/HPCD (D1 và D2), 5-FU@AuNPs/DAPCD (E1 và E2) và 5-FU@AuNPs/TMACD (F1 và F2).*

Hình ảnh TEM cho thấy các hạt nano vàng trong tất cả các mẫu đều tồn tại hình cầu với sự phân bố kích thước hơi khác nhau. Các mẫu AuNPs/CD và AuNPs/TMACD thể hiện sự phân bố kích thước rộng trong phạm vi 3 - 18 nm trong khi phân bố kích thước của AuNPs/HPCD nằm trong phạm vi hẹp 9 -15 nm với tần số phân bố cao nhất là 12 nm. Ngoài ra, các nanocomposite nạp thuốc cũng được quan sát theo một xu hướng tương tự với sự phân bố kích thước khác nhau. 5-FU@AuNPs/CD và 5-FU@AuNPs/TMACD lần lượt cho thấy dải rộng 4 -13 nm

với tần số phân bố cao nhất là 8 nm và 4 - 15 nm với tần số phân bố cao nhất tương ứng là 11 nm. Kích thước của 5-FU@AuNPs/HPCD phân bố trong khoảng 9 - 16 nm với tần số phân bố cao nhất là 11 nm. Đáng chú ý, các hình ảnh TEM của các vật liệu rỗng cho thấy sự phân bố tách rời giữa các hạt nano trong khi các nanocomposite nạp thuốc cho thấy sự tập hợp đáng kể giữa các hạt nano. Rõ ràng là thuốc 5-FU đã gây ra sự thay đổi đáng kể trong cộng hưởng plasmonic bề mặt (SPR) của AuNPs, phù hợp với dữ liệu thay đổi màu sắc trong phổ UV-Vis.

### **3.4 Kết quả nghiên cứu giải phóng thuốc *in vitro***

#### **3.4.1 Giải phóng 5-FU từ các vật liệu nanogel**

Nghiên cứu giải phóng thuốc từ các vật liệu nanogel dựa trên polysaccharide thường được thử nghiệm với môi trường sinh lý mô phỏng dung dịch máu, dạ dày hoặc môi trường acid thấp hơn bởi ảnh hưởng mạnh mẽ của pH môi trường đến cấu trúc và đặc tính các phức hợp liên quan đến chuỗi polysaccharide. Trong nghiên cứu này, các quá trình giải phóng *in vitro* của thuốc 5-FU từ các vật liệu nanogel được thực hiện trong dung dịch đệm phosphate pH 7.4 và 1.2.

Dữ liệu cho thấy sự tương đồng cao giữa các vật liệu về tốc độ cũng như động học giải phóng thuốc. Kết quả phân tích bằng UV-Vis cho thấy hàm lượng 5-FU phóng thích từ các hệ nano tăng dần theo thời gian và khá nhanh trong 12 giờ đầu sau đó giảm dần.

So sánh tốc độ giải phóng thuốc ở các môi trường khác nhau, kết quả cho thấy sự khác biệt rõ rệt về hàm lượng thuốc cũng như mô hình động học ở các giá trị pH tương ứng. Đối với môi trường (pH 7.4), tỷ lệ thuốc giải phóng lần lượt là 37,7% và 52,1% sau 1 giờ và 4 giờ, đạt được 69,8% sau 24 giờ và 80,7% sau 96 giờ. Trong khi đó, tốc độ giải phóng chậm hơn nhiều được quan sát thấy ở pH 1.2 và tỷ lệ giải phóng chỉ đạt 20,0% trong 4 giờ đầu tiên và 34,1% trong 96 giờ tiếp theo. Do đó, kết quả chỉ ra rằng thuốc 5-FU trong nanocomposite CD-x/Alg được bảo vệ tốt ở môi trường sinh lý, tỷ lệ thuốc giải phóng từ nanocomposite có thể được

điều chỉnh bởi sự thay đổi pH môi trường hướng đến áp dụng hiệu quả để điều trị tế bào ung thư đúng mục tiêu.

### 3.4.2 Giải phóng 5-FU từ các vật liệu nano lai ghép AuNPs/CD-x

Nghiên cứu giải phóng thuốc 5-FU *in vitro* được thực hiện trong môi trường đệm PBS ở giá trị pH 7,4 và pH 1,2. Kết quả cho thấy quá trình phóng thích ổn định theo mô hình phi tuyến tính, trong đó tỷ lệ phần trăm thuốc được giải phóng sau 24 giờ của các tổ hợp chịu ảnh hưởng đáng kể bởi các dẫn xuất CD và pH môi trường.

Ở điều kiện pH 7,4 hàm lượng thuốc được giải phóng sau 24 giờ từ các tổ hợp nano 5-FU@AuNPs/CD, 5-FU@AuNPs/HPCD và 5-FU@AuNPs/TMACD lần lượt là:  $31,26 \pm 0,62\%$ ,  $19,54 \pm 0,95\%$  và  $22,11 \pm 1,05\%$ . Trong khi ở điều kiện pH 1,2 hàm lượng thuốc giải phóng từ các tổ hợp tương ứng đều cao hơn (lần lượt là:  $36,54 \pm 0,24\%$ ,  $34,0 \pm 0,65\%$  và  $43,45 \pm 0,85\%$ ). Đối với 5-FU tự do quá trình giải phóng tương đối nhanh, đạt  $95,01 \pm 4,51\%$  chỉ sau 5 giờ và gần như không chịu ảnh hưởng của điều kiện môi trường. Bên cạnh đó, kết quả cho thấy mức độ ảnh hưởng của pH môi trường lên các tổ hợp nano mang thuốc có sự khác biệt rõ rệt. Cụ thể, sự gia tăng mạnh nhất đối với TMACD và ít nhất ở vật liệu CD. Ảnh hưởng của pH môi trường đến tỷ lệ giải phóng 5-FU trong nghiên cứu này khá tương đồng với báo cáo trước đây [32,134] (lượng 5-FU thu được ở môi trường acid cao hơn khi giải phóng ở pH 7,4). Điều này được giải thích bởi quá trình ion hoá các nhóm chức của phân tử thuốc trong điều kiện pH thấp đã làm giảm tương tác giữa thuốc và vật liệu (bao gồm cả kim loại và các dẫn xuất CD) dẫn tới sự khuếch tán thuốc vào môi trường trở nên thuận lợi hơn. Đối với tổ hợp 5-FU@AuNPs/TMACD trong điều kiện trên còn xảy ra các quá trình proton hoá các nhóm amine bậc 1 và bậc 2 của phân tử TMACD nên độ ổn định của vật liệu bị suy giảm dẫn đến lượng thuốc giải phóng cao hơn.

### 3.5. Thử nghiệm độc tính tế bào

Đối với nhóm nanogel, kết quả đánh giá khả năng gây độc trên hai dòng tế

bào (nguyên bào sợi tế bào thường và dòng tế bào ung thư vú MCF-7) chỉ ra các hệ nano trên cơ sở  $\beta$ -CD-x đều không gây ức chế cho cả hai dòng tế bào. Trong khi dung dịch thuốc được giải phóng từ các hệ nano gây độc tương đối mạnh trên dòng tế bào MCF-7 với tỷ lệ ức chế từ 70 đến 80%.

Tác dụng gây độc tế bào của các vật liệu nano  $\beta$ -CD/Alg; 5-FU@ $\beta$ -CD/Alg và các dung dịch giải phóng ở các giá trị pH khác nhau sau 48 giờ được thể hiện trong bảng 3.7. Có thể thấy, các tổ hợp nano rỗng không có sự ức chế đối với dòng tế bào bình thường nhưng có sự ức chế nhẹ  $26,83 \pm 3,58$  đối với dòng tế bào ung thư ở nồng độ 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Tuy nhiên, giá trị  $\text{IC}_{50}$  của  $\beta$ -CD/Alg là hơn 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  cho cả hai dòng tế bào, chứng tỏ tính tương thích sinh học cao của vật liệu mang. Thêm nữa, sự ức chế của 5-FU đối với tế bào thường khoảng  $45,31 \pm 5,52\%$  (nồng độ 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) cao hơn nhiều so với hệ nano 5-FU@ $\beta$ -CD/Alg. Kết quả này cho thấy những hạn chế của việc sử dụng thuốc 5-FU độc lập trong điều trị hóa trị mà không có hệ thống phân phối thuốc. Mặt khác, tổ hợp nano 5-FU@ $\beta$ -CD/Alg cho thấy độc tính cao đối với các dòng tế bào ung thư nhưng hầu như không có độc tính đối với các tế bào bình thường. Thật vậy, hệ nano 5-FU@ $\beta$ -CD/Alg lần lượt ức chế  $71,75 \pm 3,73\%$  đối với tế bào MCF-7 và  $20,59 \pm 3,07\%$  đối với nguyên bào sợi, trong khi giá trị  $\text{IC}_{50}$  lần lượt là  $21,68 \pm 2,22$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  và  $\geq 100$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Những kết quả này chỉ ra rằng nanocomposite an toàn cho tế bào bình thường nhưng có khả năng chống lại tế bào ung thư rất tốt.

Để đánh giá hiệu quả giải phóng thuốc từ nanocomposite, độc tính của dung dịch sau khi giải phóng ở pH = 7,4 và pH = 1,2 sau 48h đã được thử nghiệm cho cả hai dòng tế bào. Độc tính tốt của các dung dịch phóng thích này được phát hiện đối với MCF-7, với sự ức chế lần lượt là  $78,48 \pm 0,97\%$  tại pH = 7,4 và  $70,32 \pm 0,98\%$  pH = 1,2 và giá trị  $\text{IC}_{50}$  tương ứng là  $2,02 \pm 0,38$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  và  $10,96 \pm 0,69$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ , trong khi dung dịch này cho thấy độc tính rất thấp đối với tế bào bình thường. Ngoài ra, phân tích thống kê dữ liệu cho thấy giá trị  $\text{IC}_{50}$  của phức hợp nano 5-FU @ $\beta$ -

CD/Alg được giải phóng ở pH = 7,4 ức chế MCF-7 tương tự như thuốc 5-FU đơn lẻ nhưng khác biệt đáng kể so với dung dịch được giải phóng ở pH = 1.2. Do đó, các kết quả cho thấy sự an toàn và tiềm năng cao của việc sử dụng các vật liệu nano trên cơ sở  $\beta$ -CD và  $\beta$ -CD biến tính với alginate như một hệ thống phân phối thuốc chống ung thư với hoạt tính chống tăng sinh cao đối với tế bào MCF-7 thông qua đường tĩnh mạch và an toàn đối với các tế bào khỏe mạnh bình thường.

Ở nhóm nano vàng lai ghép, hoạt tính gây độc tế bào của vật liệu nano rỗng và nanocomposite nạp thuốc đã được nghiên cứu. Có thể thấy, tất cả các vật liệu nano rỗng không ức chế tế bào bình thường và tế bào ung thư, điều này thể hiện tính tương thích sinh học cao của vật liệu dựa trên AuNPs và cyclodextrin.

Trong khi đó, các hợp chất nano được nạp thuốc cho thấy hoạt tính sinh học khác nhau đối với các dòng tế bào và phụ thuộc vào cấu trúc các dẫn xuất cyclodextrin. Mẫu 5-FU@AuNPs/HPCD thể hiện hoạt tính sinh học chống ung thư thấp ( $33,42 \pm 4,73\%$ ) và không ức chế tế bào bình thường trong khi 5-FU@AuNPs/TMACD có hoạt tính cao đối với cả hai dòng tế bào ( $90,27 \pm 1,64\%$  đối với MCF-7 và  $40,92 \pm 2,89\%$  đối với nguyên bào sợi). Nanocomposite, 5-FU@AuNPs/CD cho thấy khả năng ức chế tế bào ung thư ( $54,00 \pm 5,21\%$ ) nhưng không ức chế tế bào bình thường. Mặc dù hoạt tính sinh học của 5-FU@AuNPs/CD chống lại các tế bào MCF-7 (giá trị  $IC_{50} = 16,04 \pm 1,76 \mu\text{g/mL}$ ) thấp hơn một chút so với hoạt tính sinh học của 5-FU@AuNPs/TMACD (giá trị  $IC_{50} = 23,66 \pm 4,76 \mu\text{g/mL}$ ), nhưng nó an toàn hơn đối với các tế bào khỏe mạnh bình thường. Sự khác biệt trong hoạt tính chống ung thư của các nanocomposite là do các giá trị hiệu suất tải khác nhau của 5-FU trong các mẫu. Kết quả này cho thấy một lợi thế đối với thuốc 5-FU khi được nạp vào các vật liệu AuNPs/CD và gợi ý rằng trong số đó các nanocomposite AuNPs/ $\beta$ -CD và AuNPs/TMACD nên được ưu tiên sử dụng như một hệ thống phân phối thuốc 5-FU tiềm năng để điều trị ung thư vú.

## KẾT LUẬN

Từ những kết quả nghiên cứu đã trình bày, chúng tôi rút ra những kết luận chính của luận án bao gồm:

1. Đã tổng hợp được các dẫn xuất amine của  $\beta$ -CD bao gồm CD-NH<sub>2</sub>, TMACD, HMACD bằng kỹ thuật chiếu xạ vi sóng với hiệu suất tương ứng lần lượt là 63,96%; 76,5% và 68%.

2. Tổng hợp thành công các hạt nano trên cơ sở  $\beta$ -CD và  $\beta$ -CD biến tính với hai cấu trúc đặc thù: Nanogel ( $\beta$ -CD-x/alginate) và nano lai ghép (AuNPs/ $\beta$ -CD-x). Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp vật liệu đã được tối ưu hóa với hiệu suất đạt từ 86,5% đến 92,5%.

3. Thử nghiệm mang thuốc trị ung thư 5-Fluorouracil lên các vật liệu đã được thực hiện. Hiệu suất tạo phức và khả năng dung nạp thuốc của 5-Fluorouracil lên các vật liệu đạt tương đối cao, trong đó các vật liệu trên cơ sở TMACD thể hiện khả năng nạp thuốc tốt nhất, kế đến là vật liệu trên cơ sở  $\beta$ -CD và thấp nhất ở các vật liệu HPCD. Giá trị DL<sub>max</sub> trong khoảng 23,5% đến 68%.

4. Cấu trúc các hạt nano và phức hợp nano mang thuốc được chứng minh bằng các phương pháp phổ. Hình thái, kích thước hạt, cấu trúc tinh thể, đặc trưng hóa lý của vật liệu nano và phức hợp nano mang thuốc cũng như độ ổn định của các hệ nano được phân tích bằng các kỹ thuật hiện đại, kích thước các vật liệu nanogel trong khoảng 40 đến 250 nm và 15-120 nm ở các vật liệu lai ghép, thế zeta trong dung dịch nước từ -42mV đến -70mV.

5. Động học các quá trình giải phóng thuốc từ các hệ nano trong những điều kiện khác nhau đã được khảo sát. Quy luật phóng thích thuốc ở các môi trường sinh lý mô phỏng đã được nghiên cứu. Trong điều kiện pH 7.4 thuốc được giải phóng từ các vật liệu nanogel đạt 68% sau 24 giờ đầu và đạt tối đa 80% ở 96 giờ tiếp theo. Ở các vật liệu nano lai ghép lượng 5-FU giải phóng sau 24 giờ đạt 19,6% đến 31%.

6. Kết quả thử nghiệm độc tế bào cho thấy sự an toàn và tiềm năng cao của việc sử dụng các vật liệu nano trên cơ sở  $\beta$ -CD và  $\beta$ -CD biến tính như một hệ thống phân phối thuốc chống ung thư với hoạt tính chống tăng sinh cao đối với tế bào MCF-7 và ảnh hưởng không đáng kể đến các tế bào bình thường.

### **KIẾN NGHỊ**

Nghiên cứu phát triển một dãy vật liệu nano phân phối thuốc trên cơ sở  $\beta$ -CD và  $\beta$ -CD biến tính bước đầu cho thấy nhiều ưu điểm và những hạn chế cần được cải thiện. Do đó cần thiết mở rộng chuỗi nghiên cứu trên các dẫn xuất khác của  $\beta$ -CD (amide; thiol...) và có thể thử nghiệm phối hợp trên các nền polymer khác như CMC; Chitosan, PEG... sẽ cung cấp bộ dữ liệu đầy đủ hơn về hướng nghiên cứu này.

Hiệu quả truyền dẫn thuốc có thể áp dụng thử nghiệm trên nhóm dược chất hoặc tiền chất chống ung thư có kích thước trung bình hoặc lớn hơn: Letrozole; Paclitaxel...

Bào chế vật liệu phân phối thuốc có chức năng hướng đích đang là mối quan tâm của giới khoa học gần đây. Bước tiếp theo của quá trình lai ghép cần được nghiên cứu gắn tâm hướng đích lên vật liệu nhằm tối ưu hiệu quả điều trị và giảm tác dụng phụ lên tế bào bình thường.

Nghiên cứu giải phóng thuốc trên dải rộng các giá trị pH mô phỏng môi trường sinh lý sẽ cung cấp đầy đủ hơn dữ liệu động học các quá trình nhả thuốc, hướng đến khả năng chủ động điều chỉnh pH môi trường để can thiệp đến tế bào ung thư đúng mục tiêu.

## NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

Các dẫn xuất amine của  $\beta$ -CD bao gồm CD-NH<sub>2</sub>, TMACD, HMACD được tổng hợp bằng kỹ thuật chiếu xạ vi sóng đã cho phép rút ngắn thời gian phản ứng và nâng cao hiệu suất so với các quy trình nhiệt.

Lần đầu tiên một nhóm vật liệu nano trên cơ sở  $\beta$ -CD và  $\beta$ -CD biến tính được tổng hợp và áp dụng thành công cho mục đích phân phối thuốc trị ung thư 5-FU. Kết quả từ đề tài sẽ bổ sung thêm những kiến thức cho lĩnh vực vật liệu nano dẫn truyền thuốc.

Kết quả nghiên cứu về các điều kiện tạo ra hệ nano vàng lai ghép với dẫn xuất của  $\beta$ -CD và tính chất đặc trưng của chúng sẽ góp phần phát triển các vật liệu nano kim loại lai ghép ứng dụng trong lĩnh vực y dược.

Động học các quá trình giải phóng 5-FU từ các hệ nano cung cấp dữ liệu cho các nghiên cứu tiếp theo về vật liệu nano phân phối thuốc dựa trên CD và dẫn xuất của CD.

Kết quả nghiên cứu khả năng gây độc tế bào cho thấy sự an toàn và tiềm năng cao của việc sử dụng các vật liệu nano trên cơ sở  $\beta$ -CD và  $\beta$ -CD biến tính như một hệ thống phân phối thuốc chống ung thư với hoạt tính chống tăng sinh cao đối với tế bào MCF-7 và ảnh hưởng không đáng kể đến các tế bào khỏe mạnh bình thường.



## DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

### TẠP CHÍ TRONG NƯỚC

Nguyễn Cao Hiền, Đinh Phước Lộc, Nguyễn Công Hào, Đặng Chí Hiền, Nguyễn Thành Danh\*, Tổng hợp hệ nano hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin/alginate làm chất mang thuốc trị ung thư anastrozole. *Vietnam journal of chemistry* 5e34 (55) 2017.

Nguyễn Cao Hiền, Trần Minh Trọng, Lục Văn Siêu, Nguyễn Thành Danh, Đặng Chí Hiền\*, Tổng hợp dẫn xuất mono-6-amino-deoxy-6- $\beta$ -cyclodextrin ứng dụng trong điều chế nano vàng. *Vietnam journal of chemistry* 6E1,2 (57) 2019.

### TẠP CHÍ QUỐC TẾ

Thanh-Danh Nguyen\*, Thanh-TrucVo, Cao-Hien Nguyen, Van-Dat Doan, Chi-Hien Dang, Biogenic palladium nanoclusters supported on hybrid nanocomposite 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin/alginate as a recyclable catalyst in aqueous medium. *Journal of Molecular Liquids* (2019) **276**, 927–935 [Q1]

Thanh-Danh Nguyen\*, Thanh-Truc Vo, T. Thanh-Tam Huynh, Cao-Hien Nguyen, Van-Dat Doan, Dinh-Truong Nguyen, Trinh-Duy Nguyen and Chi-Hien Dang, Effect of capping methods on the morphology of silver nanoparticles: study on the media-induced release of silver from the nanocomposite  $\beta$ -cyclodextrin/alginate, *New J. Chem.*, (2019) **43**, 16841-16852 [Q1]

Cao-Hien Nguyen, Kien-Sam Banh, Chi-Hien Dang\*, Cong-Hao Nguyen, Thanh-Danh Nguyen\*,  $\beta$ -cyclodextrin/alginate nanoparticles encapsulated 5-fluorouracil as an effective and safe anticancer drug delivery system. *Arabian Journal of Chemistry* (2022) **15**, 103814 [Q1].

Cao-Hien Nguyen, Kien-Sam Banh, Van-Dung Le, Minh-Ty Nguyen, Chi-Hien Dang\*, Tran Vinh Thien\*, Van-Dat Doan, DongQuy Hoang, Tran Thi Kim Chi, Thanh-Danh Nguyen\*, Ultrasound-assisted synthesis of gold nanoparticles supported on  $\beta$ -cyclodextrin for catalytic reduction of nitrophenols. *Inorganic Chemistry Communications* 145 (2022) 109979 [Q2].