

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**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC

TP. HCM – Năm 2022

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**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC**

**Chuyên ngành: Hóa hữu cơ**

Mã số: **9.44.01.14**

**Người hướng dẫn khoa học:**

1. PGS.TS. Đặng Chí Hiền

2. GS.TSKH. Nguyễn Công Hào

TP. HCM – Năm 2022

## LỜI CẢM ƠN

*Lời đầu tiên, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới cố GS. TSKH. Nguyễn Công Hòa, PGS.TS. Đặng Chí Hiền, và TS. Nguyễn Thanh Danh, những người Thầy đã dành cho tôi sự động viên giúp đỡ tận tình và những định hướng khoa học hiệu quả trong suốt quá trình thực hiện luận án này.*

*Tôi xin cảm ơn sự giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi của Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Công nghệ Hóa học, Viện Khoa học Vật liệu ứng dụng trong quá trình thực hiện luận án.*

*Xin cảm ơn sự giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi của trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP HCM và các đồng nghiệp trong quá trình thực hiện luận án.*

*Sau cùng, tôi xin cảm ơn sự giúp đỡ tận tình của các thầy cô, bạn bè, đồng nghiệp và sự động viên, tạo điều kiện của những người thân trong gia đình trong suốt quá trình tôi hoàn thành luận án này.*

*Tp. HCM, tháng năm 2023*

**Tác giả**

**Nguyễn Cao Hiền**

# MỤC LỤC

MỞ ĐẦU .....	1
1. TỔNG QUAN.....	4
1.1 Tổng quan về $\beta$ -cyclodextrin.....	4
1.1.1 Tính chất lý – hóa của $\beta$ -cyclodextrin .....	5
1.1.2 Tính tạo phức.....	5
1.1.3 Dẫn xuất của $\beta$ -cyclodextrin.....	6
1.2 Vật liệu truyền dẫn thuốc trên cơ sở cyclodextrin.....	7
1.2.1 Sự phù hợp của cyclodextrin trong ứng dụng mang thuốc trị ung thư.....	7
1.2.2 Nanogel trên cơ sở cyclodextrin.....	10
1.2.3 Các hệ nano vàng lai ghép.....	12
1.3 Thuốc trị ung thư .....	14
1.4 Các phương pháp giải phóng thuốc .....	15
1.4.1 Phương pháp phân lập mẫu .....	15
1.4.2 Phương pháp dòng chảy liên tục .....	16
1.4.3 Phương pháp thẩm tách .....	17
1.5 Tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước.....	17
2. NGHIÊN CỨU – THỰC NGHIỆM .....	28
2.1. Nguyên liệu -Hóa chất.....	28
2.2. Dụng cụ-Thiết bị.....	29
2.3. Thực nghiệm.....	30
2.3.1. Tổng hợp một số dẫn xuất amine của $\beta$ -CD.....	30
2.3.1.1 Quy trình tổng hợp 1-(p-toluensulfonyl) imidazole (TsIm).....	31
2.3.1.2 tổng hợp mono-6-(p-toluenesulfonyl)-6-deoxy- $\beta$ -cyclodextrin (Ts-CD) ....	31
2.3.1.3 Tổng hợp mono-6-azide-deoxy-6- $\beta$ -cyclodextrin (CD-N <sub>3</sub> ) .....	32
2.3.1.4 Tổng hợp mono-6-amino-deoxy-6- $\beta$ -cyclodextrin (CD-NH <sub>2</sub> ).....	32
2.3.1.1 Quy trình tổng hợp TMACD và HMACD .....	33
2.3.2. Điều chế các vật liệu nano trên cơ sở $\beta$ -CD và $\beta$ -CD biến tính.....	35
2.3.3. Tổng hợp các vật liệu nano tải thuốc .....	39
2.3.4. Phân tích cấu trúc, hình thái và các đặc trưng của nanocomposite.....	43
2.3.5. Giải phóng thuốc <i>in vitro</i> .....	43

2.3.6. Đánh giá khả năng gây độc tế bào của nanocomposite.....	45
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	55
3.1 Tổng hợp các dẫn xuất của $\beta$ -CD.....	55
3.1.1 Tổng hợp TsIm.....	55
3.1.2. Tổng hợp Ts-CD.....	56
3.1.3. Tổng hợp CD-N <sub>3</sub> .....	59
3.1.4. Tổng hợp các dẫn xuất amine của $\beta$ -cyclodextrin.....	61
3.2. Tổng hợp các nanocomposite .....	68
3.2.1 Tổng hợp vật liệu không mang thuốc .....	68
3.2.2 Khả năng mang thuốc của các vật liệu .....	68
3.3. Đặc điểm hóa lý của nanocomposie .....	75
3.3.1 Các hệ nanogel trên cơ sở $\beta$ -CD-x/alginate.....	75
3.3.2. Các vật liệu nano vàng lai ghép.....	80
3.4. Kết quả nghiên cứu giải phóng thuốc <i>in vitro</i> .....	93
3.3.1 Giải phóng 5-FU từ các vật liệu nanogel.....	93
3.3.2 Giải phóng 5-FU từ các vật liệu nano lai ghép AuNPs/CD-x .....	96
3.5. Kết quả thử nghiệm độc tính tế bào.....	98
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	102
TÀI LIỆU THAM KHẢO .....	104

## DANH MỤC VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Từ đầy đủ	Giải nghĩa
Alg	Sodium Alginate	Natri alginat
AuNPs	Gold nanoparticles	Các hạt nano Vàng
CA	Cellulose acetate	
CDs	Cyclodextrin	
CD-x	Dẫn xuất $\beta$ -cyclodextrin	
CD-NH <sub>2</sub>	Mono-6-amino-deoxy-6- $\beta$ -cyclodextrin	
DLS	Dynamic Lighting Scatter	Tán sắc ánh sáng động
DL	Drug Loading	Khả năng tải thuốc
EE	Encapsulation Efficiency	Hiệu suất nang hoá
FT-IR	Fourier Transform - Infrared Spectroscopy	Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier
HMACD	Mono-(6-(1,6-hexamethylenediamine)-6-deoxy)- $\beta$ -cyclodextrin	
HPCD	(2-Hydroxypropyl)- $\beta$ -cyclodextrin	
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
MS	Mass Spectrum	Phổ khối
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	Cộng hưởng từ hạt nhân
NPs Yield	Nanoparticles Yield	Hiệu suất tổng hợp nano
NSCLC	Non-small cell lung cancer	Ung thư phổi không tế bào nhỏ
QTOF-MS	(Quadrupole Time-of-Flight MS)	Khối phổ đầu dò tứ cực
TEM	Transmission Electron Microscopy	Kính hiển vi điện tử truyền qua
TGA	Thermal Gravimetric Analysis	Phân tích nhiệt trọng lượng
TAc- $\beta$ -CD	Triacetyl- $\beta$ -cyclodextrin	Dẫn xuất ester của $\beta$ -CD
TMACD	Mono-(6-(1,3-trimethylenediamine)-6-deoxy)- $\beta$ -cyclodextrin	
Ts-CD	Tosyl- $\beta$ -cyclodextrin	
SEM	Scanning Electron Microscope	Kính hiển vi điện tử quét

SEAD	Selected area electron diffraction	Nhiều xạ electron vùng chọn lọc
XRD	X-Ray Diffraction	Nhiều xạ tia X
$\beta$ -CD	$\beta$ -cyclodextrin	
5-FU	5-Fluorouracil	Thuốc trị ung thư 5-FU
UV-VIS	Ultraviolet–Visible Spectroscopy	Phổ hấp thụ tử ngoại – khả kiến

## DANH MỤC HÌNH

TT	Hình Số	Tên Hình	Trang
1	Hình 1.1	Cấu tạo phân tử $\beta$ -CD	4
2	Hình 1.2.	Các phương pháp tổng hợp nanogel dựa trên CD	11
3	Hình 1.3.	Công thức cấu tạo của 5-Fluorouracil	15
4	Hình 1.4.	Sơ đồ tổng hợp một số dẫn chất Heptakis của CD	20
5	Hình 1.5.	Sơ đồ tổng hợp Tosyl-CD bằng quy trình nhiệt	22
6	Hình 1.6.	Sơ đồ tổng hợp CD-NH <sub>3</sub> Cl từ Ts-CD	22
7	Hình 1.7.	Sơ đồ tổng hợp Ts-CD từ TsCl	22
8	Hình 1.8.	Mô phỏng quá trình chức năng hoá $\gamma$ -CD lên bề mặt các hạt nano vàng	27
9	Hình 2.1.	Sơ đồ quy trình tổng hợp nanogel trên cơ sở $\beta$ -CD và $\beta$ -CD biến tính.	36
10	Hình 2.2	Quy trình tổng hợp nano các hệ nano vàng lai ghép	38
11	Hình 2.3	Dung dịch AuNPs/CD ở các điều kiện nồng độ CD khác nhau	39
12	Hình 2.4	Dung dịch hệ AuNPs/CD ở các điều kiện pH khác nhau	40
13	Hình 2.5	Dung dịch Au/CD được tổng hợp trong các điều kiện nhiệt độ khác nhau	40
14	Hình 2.6.	Dung dịch AuNPs/CD sau các khoảng thời gian phản ứng	41
15	Hình 2.7	Quy trình tổng hợp hệ nano $\beta$ -CD-x/Alg mang 5-FU	43
16	Hình 2.8.	Quy trình tải thuốc 5-FU lên các hệ nano AuNPs/CD-x	45



18	Hình 3.1.	Sơ đồ phản ứng tổng hợp TsIm	55
19	Hình 3.2.	Cấu tạo phân tử TsIm	56
20	Hình 3.3.	Sơ đồ phản ứng tổng hợp TsCD	57
21	Hình 3.4.	Cấu tạo phân tử TsCD	59
22	Hình 3.5	Phản ứng tổng hợp CD-N <sub>3</sub> từ TsCD	59
23	Hình 3.6	Cấu tạo phân tử CD-N <sub>3</sub>	60
24	Hình 3.7	Sơ đồ quy trình tổng hợp các dẫn xuất amine của $\beta$ -CD	61
25	Hình 3.8	Ảnh hưởng của tỷ lệ mol tác chất (A) và công suất chiếu xạ (B) đến hiệu suất tổng hợp TMACD	62
27	Hình 3.9.	Cấu tạo phân tử CD-NH <sub>2</sub>	63
28	Hình 3.10.	Cấu tạo phân tử TMACD	65
29	Hình 3.11	Cấu tạo phân tử HMACD	67
30	Hình 3.12	Ảnh hưởng của tỷ lệ CD-x:Alg (A), tốc độ khuấy (B) và thời gian phản ứng (C) đến hiệu suất tổng hợp vật liệu	69
31	Hình 3.13	Mô phỏng sự hình thành AuNPs/ $\beta$ -CD-x	70
32	Hình 3.14.	Phổ UV-vis và cường độ hấp thụ của các nanocomposite AuNPs/CD-x	71
33	Hình 3.15	Mô phỏng sự hình thành hệ nanogel tải thuốc	72
34	Hình 3.16.	Mô phỏng cơ chế tải thuốc lên vật liệu AuNPs/CD-x	74
35	Hình 3.17.	Hiệu suất tạo phức và khả năng tải thuốc của vật liệu AuNPs/CD-x	75
36	Hình 3.18.	Phổ FT-IR của vật liệu CD-x/Alg và nanocomposite 5-FU@CD-x/Alg	77
37	Hình 3.19	Kích thước hạt DLS và thế zeta của nanocomposite $\beta$ -	78

		CD/Alg (A); HPCD/Alg (B) và TMACD/Alg (C).	
39	Hình 3.20	Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của các vật liệu nano $\beta$ -CD/Alg (A); HPCD/Alg (B) và TMACD/Alg (C).	79
40	Hình 3.21	Ảnh TEM và kích thước hạt và thế zeta của nanocomposite 5-FU@ $\beta$ -CD/Alg (A); 5-FU@HPCD/Alg (B) và 5-FU@TMACD/Alg (C).	80
41	Hình 3.22.	Phổ FT-IR của các hệ nano AuNPs/CD, AuNPs/HPCD và AuNPs/TMACD	81
42	Hình 3.23	Thế zeta của các vật liệu AuNPs/CD-x (A) và kích thước hạt (DLS) của vật liệu AuNPs/CD (B); AuNPs/HPCD (C); AuNPs/TAMCD (D).	82
43	Hình 3.24.	Giản đồ XRD của các vật liệu nano AuNPs/CD, AuNPs/HPCD và AuNPs/TMACD.	83
44	Hình 3.25.	Ảnh SEM (trái) và ảnh TEM (phải) của các hệ nano AuNPs/CD (A và B) AuNPs/HPCD (C và D) và AuNPs/TMACD (E và F).	84
45	Hình 3.26.	Ảnh HR-TEM (A) và phân tích nhiễu xạ vùng chọn lọc SAED (B) của AuNPs/CD.	85
47	Hình 3.27.	Tính chất phân hủy nhiệt của hệ nanocomposite không mang thuốc.	85
48	Hình 3.28.	Phổ UV-Vis của 5-FU, các hệ nano chưa mang thuốc và mang thuốc	87
49	Hình 3.29.	Phổ FT-IR của 5-FU và các hệ nano mang thuốc	87
50	Hình 3.30.	Thế zeta (trái) và kích thước hạt DLS (phải) của các hệ nano mang thuốc	88
51	Hình 3.31.	Giản đồ XRD của các hệ nano mang thuốc	89
52	Hình 3.32.	Ảnh SEM và ảnh TEM của các hệ nano mang thuốc	90

53	Hình 3.33.	Tính chất phân hủy nhiệt của 5-FU và các vật liệu nano mang thuốc	91
54	Hình 3.34.	Các liên kết hydro hình thành từ cấu trạng bền nhất của hợp chất 5-FU bao gồm: pose 244 và CD (A); pose 71 và HPCD (B); pose 60 và TMACD (C).	93
55	Hình 3.35.	Đồ thị giải phóng thuốc từ hệ nano 5-FU@ $\beta$ -CD/Alg ở pH 7,4	95
56	Hình 3.36.	Đồ thị giải phóng thuốc từ hệ nano 5-FU@ $\beta$ -CD/Alg ở pH 7,4 và pH 1,2 (A); ảnh TEM của nano 5-FU@ $\beta$ -CD/Alg thu hồi sau 48 giờ.	96
57	Hình 3.37.	Đồ thị giải phóng thuốc của các hệ nano 5-FU@AuNPs/CD-x ở pH 7,4 và pH 1,2.	97
58	Hình 3.38.	Ảnh TEM của 5-FU@AuNPs/CD (A), 5-FU@AuNPs/HPCD (B) và 5-FU@AuNPs/TMACD (C) thu hồi sau 24 giờ.	99

## MỞ ĐẦU

Cyclodextrin (CD) là các oligosaccharide mạch vòng, ít độc tính và có thể phân hủy sinh học. Với cấu trúc độc đáo bao gồm khoang trung tâm kỵ nước và mặt ngoài ưa nước cho phép hình thành các phức lồng nhau với các thụ thể có tính kỵ nước theo cơ chế host – guest (chủ - khách). Đặc tính này mang đến rất nhiều ứng dụng quan trọng trong nhiều lĩnh vực khoa học và thực tiễn bao gồm y sinh, mỹ phẩm, công nghiệp thực phẩm, xử lý nước thải và xúc tác. Sự phổ biến của CD chủ yếu là do năng lực tạo phức và khả năng cải thiện một số đặc tính hóa lý của các phân tử khách. Tuy nhiên, quá trình nghiên cứu và ứng dụng đã cho thấy những nhược điểm không thể phủ nhận của CD bao gồm độ hòa tan trong nước, khả năng tái sử dụng và đặc biệt chúng tỏ ra kém hiệu quả khi tạo phức với các thụ thể tích điện hoặc có kích thước phân tử không phù hợp. Các dẫn xuất của CD 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 CD đã biết vượt quá 11.000 với nhiều con đường phản ứng có thể dẫn đến các dẫn xuất mong muốn [1].

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. Đặc biệt các dẫn xuất của CD có thể được sử dụng làm chất ổn định trong việc chế tạo các hạt nano vàng (AuNPs) cho các ứng dụng vận chuyển thuốc [2]. AuNPs được chức năng hóa bằng cách sử dụng CD-SH và  $\alpha$ -methoxy- $\omega$ -mercapto-poly (ethylene glycol) để làm chất mang thuốc chống ung thư  $\beta$ -lapachone hiệu quả. Sự giải phóng có kiểm soát của thuốc trong môi trường chứa glutathione đã được chứng minh. Tuy nhiên, nhóm SH có thể làm tăng nguy cơ nhiễm độc của người mang mầm bệnh, cản trở việc sử dụng thuốc trong điều trị bệnh [3]. Việc sử dụng các amine và amino acid đã được chứng minh là hữu ích cho quá trình tổng hợp các hạt nano vàng. Các hợp chất chứa nhóm amine đã chức năng hoá

hiệu quả trên bề mặt nano kim loại làm tăng độ ổn định trong dung dịch nước. Đặc biệt các thử nghiệm cho thấy tính tương hợp sinh học cao của các amino acid phù hợp trong các ứng dụng vận chuyển thuốc [4].

Gần đây, nhiều nghiên cứu về các hệ nanogel hoặc nano lai ghép trên cơ sở CD và các dẫn xuất (CD-x) đã cho thấy hiệu quả tạo phức cũng như độ ổn định của phức chất chịu ảnh hưởng đáng kể bởi tính lập thể của phân tử và độ phân cực của các nhóm chức trên mặt ngoài phân tử CD-x. Mặc dù đã có rất nhiều nỗ lực được thực hiện trong nhiều năm nhằm tìm hiểu về cơ chế tương tác giữa các thành phần cũng như cơ chế bắt giữ các phân tử “khách” của các nanosponges cho đến nay vẫn chưa đạt được kết luận rõ ràng [1]. Nhiều quan điểm cho rằng: thuốc hoặc các phân tử “khách” không chỉ được bao bọc bên trong “khoang 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 điều trị ung thư, chúng tôi đã 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.

#### **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.

#### **Nội dung nghiên cứu luận án:**

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 thích hợp 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 khả năng gây độc tế bào của các hệ nano trước và sau khi mang thuốc.

### **Những đóng góp mới của đề tài:**

- Các dẫn xuất amine của  $\beta$ -CD bao gồm CD-NH<sub>2</sub>; TMACD và HMACD được tổng hợp bằng kỹ thuật chiếu xạ vi sóng, bước đầu cho thấy những cải thiện về hiệu suất và hạn chế tác động môi trường, đặc biệt thời gian phản ứng đã được rút ngắn đáng kể so với các quy trình trước đó.

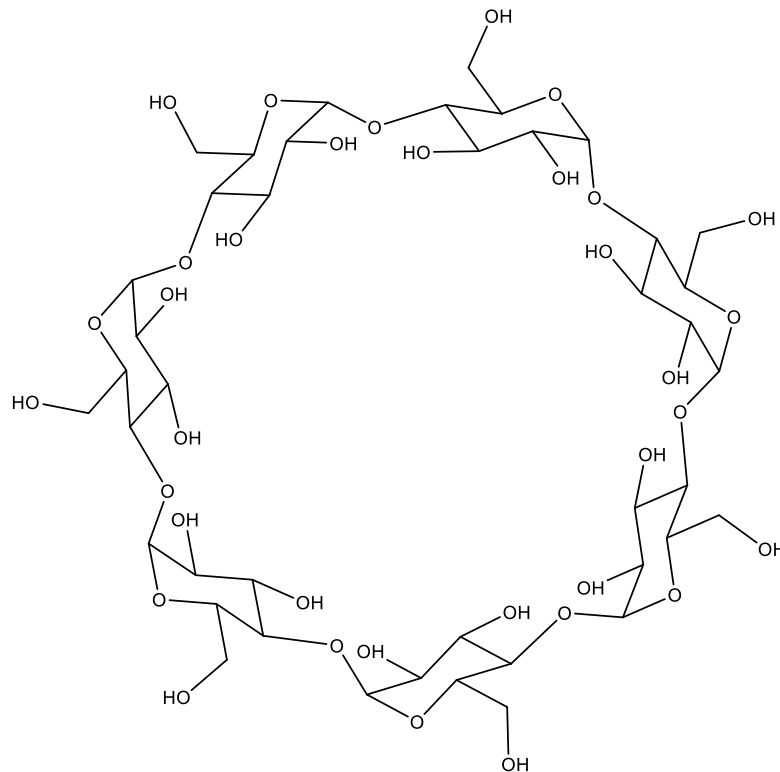
- Lần đầu tiên một nhóm vật liệu nano dựa trên cơ sở  $\beta$ -CD và  $\beta$ -CD biến tính được tổng hợp và áp dụng thành công cho mục đích phân phối thuốc trị ung thư 5-FU. Kết quả từ đề tài sẽ bổ sung thêm những kiến thức cho lĩnh vực vật liệu nano dẫn truyền thuốc. Trong đó, kết quả nghiên cứu về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

# Chương 1. TỔNG QUAN

## 1.1 Tổng quan về $\beta$ -cyclodextrin

CD được mô tả đầu tiên bởi Villiers vào năm 1891. Các tên khác thường sử dụng là cyclomylose, cyclomalto-oligosaccharide, cyclomaltose hoặc Schardinger dextrin [1].

Do sự hình thành “cấu dạng ghề” của các đơn vị glucopyranose, phân tử  $\beta$ -CD có hình dạng giống như hình nón cụt. Các nhóm chức hydroxyl định hướng ở mặt ngoài hình nón, trong đó những nhóm hydroxyl bậc một ở rìa hẹp của hình nón và những nhóm hydroxyl bậc hai ở rìa rộng hơn. Lỗ hổng trung tâm được tạo bởi khung carbon và nguyên tử oxygen thuộc ether của phân tử đường. Vị trí lỗ hổng hẹp của  $\beta$ -CD có các nhóm hydroxyl bậc một và được gọi là mặt thứ nhất. Ngược lại, vị trí lỗ hổng rộng của  $\beta$ -CD mang các nhóm hydroxyl bậc hai và được gọi là mặt thứ hai. Sự khác nhau giữa các nhóm hydroxyl bậc một và bậc hai cho phép hình thành chức năng chọn lọc trên rìa bậc một và bậc hai [4].



**Hình 1.1** Cấu tạo phân tử  $\beta$ -CD

### 1.1.1 Tính chất lý – hóa của $\beta$ -cyclodextrin

$\beta$ -CD ổn định về mặt hóa học trong các dung dịch kiềm, dễ bị thủy phân trong điều kiện acid mạnh. Tuy nhiên,  $\beta$ -CD có nhiều khả năng chịu được sự thủy phân được xúc tác với acid hơn so với dextrin mạch hở. Liên kết glycoside trong phân tử ổn định giống như liên kết glycoside trong oligosaccharide mạch hở [5].

$\beta$ -CD có độ hòa tan trong nước thấp hơn nhiều so với dextrin tuyến tính hay nhánh và thấp hơn so với saccharide không vòng. Điều này là do sự liên kết tương đối mạnh của các phân tử ở trạng thái tinh thể (năng lượng mạng tinh thể tương đối cao). Hơn nữa,  $\beta$ -CD hình thành liên kết hydro nội phân tử giữa các nhóm hydroxyl bậc hai, chính điều này làm giảm số lượng các nhóm hydroxyl có khả năng hình thành các liên kết hydro với các phân tử nước xung quanh. Các lực tương tác này làm ổn định vòng lớn của  $\beta$ -CD và là nguyên nhân ngăn ngừa sự hydrate hóa của phân tử nước. Tuy nhiên, khi nhiệt độ tăng thì độ tan tăng nhanh. Sự thay thế bất kỳ liên kết hydro hình thành nhóm hydroxyl, thậm chí bằng nhóm chức methoxy ưa chất béo, đưa đến kết quả là cải thiện độ tan trong nước của chúng [5].

### 1.1.2 Tính tạo phức

Đặc trưng quan trọng nhất của  $\beta$ -CD là có khả năng tạo thành phức chất. Trong các phức này, phân tử khách được giữ trong lỗ hổng của  $\beta$ -CD. Sự hình thành phức là sự phù hợp không gian giữa lỗ hổng của chủ thể CD và phân tử khách thể. Lỗ hổng ưa chất béo của phân tử  $\beta$ -CD cung cấp một môi trường rất nhỏ nơi mà một phần ưa chất béo có thể đi vào để tạo thành phức chất thành phần lồng nhau. Không có liên kết cộng hóa trị bị phá vỡ hoặc được hình thành trong quá trình tạo phức [6]. Bản chất của quá trình tạo phức là sự thay thế của các phân tử nước có năng lượng enthalpy cao chứa trong lỗ hổng bằng các phân tử khách kỵ nước trong dung dịch để đạt sự kết hợp liên hợp không cực – không cực và làm giảm sự căng vòng  $\beta$ -CD đưa đến kết quả trạng thái năng lượng ổn định thấp hơn (liên kết hydrogen, tương tác Van der Waals, tương tác tĩnh điện, ...). Liên kết của các phân tử khách với  $\beta$ -CD chủ không phải là vĩnh viễn và được đặc trưng bằng trạng thái cân bằng động, độ mạnh liên kết phụ thuộc vào phức chủ thể – khách thể phù hợp với nhau và trên các tương tác cục bộ đặc biệt giữa các nguyên tử trên bề mặt. Phức có thể được hình thành cả trong dung dịch hoặc trong trạng thái tinh thể và nước là dung môi được lựa chọn. Trong dung dịch nước, phức  $\beta$ -



CD/thuốc liên tục được hình thành và phá vỡ. Thuốc bị đánh bẫy trong  $\beta$ -CD dẫn đến sự thay đổi sâu sắc các tính chất hóa, lý và sinh học của thuốc vì nó tạm thời bị khóa hoặc bị giữ trong lỗ hổng của chủ thể, dẫn đến sự thay đổi có lợi cho các phân tử khách thể mà không thể đạt được bằng cách khác [5].

### 1.1.3 Dẫn xuất của $\beta$ -Cyclodextrin

$\beta$ -CD đã được sử dụng khá phổ biến bởi ứng dụng của chúng trong nhiều lĩnh vực khoa học như hóa học, vật liệu y sinh, dược phẩm, khoa học môi trường. Đặc biệt trong bào chế các vật liệu truyền dẫn thuốc  $\beta$ -CD được sử dụng với nhiều cấu trúc khác nhau: liposome, niosomes, hạt nano, micelle, millirods và siRNA để phân phối các chất chống ung thư. Các hệ thống này dựa trên sự tạo phức cyclodextrin đã góp phần hạn chế các đặc tính không mong muốn của thuốc hoặc hiệu ứng phụ. CD dường như mang lại hiệu quả điều trị tốt hơn và duy trì sự phục hồi ở tế bào khỏe mạnh. Bên cạnh đó, sự thanh thải chúng khỏi cơ thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ truyền dẫn thuốc được diễn ra thuận lợi bởi quá trình phân huỷ ở ruột già. Tuy nhiên một số nghiên cứu đã chỉ ra một số nhược điểm cần lưu ý ở  $\beta$ -CD chẳng hạn như độ hòa tan, tính chọn lọc hoặc độ bền của các phức chất với khách thể [1].

Gần đây, việc sử dụng các dẫn xuất của  $\beta$ -CD đã mở rộng đáng kể phạm vi ứng dụng của chúng. Một số dẫn xuất ether, amine hoặc thio của  $\beta$ -CD như sulfobutyl ether- $\beta$ -cyclodextrin (SBE- $\beta$ -CD) và 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HP- $\beta$ -CD) đã được xác định có độ hòa tan tốt và an toàn với người, được Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) phê duyệt và phát triển thương mại [7]. Do số lượng nhóm OH trong phân tử CD lớn nên điều chế dễ dàng nhất là phương pháp tạo dẫn xuất ngẫu nhiên, bởi chi phí thấp nên được sử dụng thường xuyên cho các ứng dụng công nghiệp. Đơn giản nhất trong số đó là dựa trên khả năng phản ứng của tất cả các nhóm OH trong phân tử CD với cùng một thuốc thử. Các dẫn xuất CD sulfobutyl, hoặc sulfate là các dẫn xuất được sử dụng nhiều nhất của loại này [8,9]. Các sản phẩm được sản xuất bằng các phương pháp này luôn là hỗn hợp của nhiều đồng phân và chất tương đồng thường được đặc trưng bởi mức độ thay thế trung bình (DS). Các phương pháp phức tạp hơn là cần thiết để tổng hợp các dẫn xuất CD được gọi là "đồng phân đơn" (tức là hợp chất hóa học tinh khiết). Các phương pháp phức tạp đã được sử dụng bao gồm các quy trình thay thế chọn lọc, phân tách hiệu suất cao hoặc cả hai [7]. Đôi

với dẫn xuất amine của CD, các nghiên cứu đầu tiên đã được biết đến từ những năm 90 của thế kỷ trước. Brown và cộng sự [10] đã thử phản ứng của Ts- $\alpha$ -CD với amoni đậm đặc. Sản phẩm chính là H<sub>2</sub>N- $\alpha$ -CD. Quá trình tinh chế được thực hiện bằng cách kết tủa trong acetone và rửa sản phẩm rắn trong dung môi thích hợp, hiệu suất đạt 70%. Phương pháp tương tự cũng được sử dụng để điều chế H<sub>2</sub>N- $\beta$ -CD. Trong trường hợp này, sản phẩm phải được làm sạch bằng chất trao đổi cation mạnh. Sản phẩm phụ được loại bỏ bằng nước và dung dịch amoniac, hiệu suất đạt 54%. Các nghiên cứu tiếp theo đối với amine bậc 2, bậc 3, bậc 4 lần lượt được thử nghiệm thành công bằng phản ứng thế nucleophin của Ts-CD [11]. Phản ứng được thực hiện trong N-methylpyrrolidon với dẫn xuất diaminostilbene khi có mặt KI để tăng tốc độ phản ứng. Hỗn hợp được đun nóng đến 80 °C và khuấy trong 40 giờ. Sản phẩm sau đó được tinh chế bởi HPLC và phân lập với hiệu suất 19%, và được sử dụng để điều chế chất "lưỡng tính" dimeric rotaxane.

Đặc biệt, các dẫn xuất amine của CD với sự hiện diện của nhóm NH<sub>2</sub> hoặc các gốc aminoalkyl trong phân tử đã làm thay đổi tính lập thể và hình thành những tính chất khác biệt so với CD (polycation, chelating hay khả năng tạo màng) [12]. Việc sử dụng các dẫn xuất amine của CD trong tổng hợp các hạt nano vàng còn cho thấy nhiều ưu điểm bởi đặc thù của các cặp electron tự do trong các nhóm amine không chỉ làm tăng hiệu quả chức năng hoá các phân tử CD trên bề mặt nano kim loại mà còn tạo ra lực đẩy tĩnh điện giữa các bề mặt AuNP liên kề, góp phần đáng kể đối với độ ổn định của hệ nano [13].

## **1.2 Vật liệu truyền dẫn thuốc trên cơ sở cyclodextrin**

### **1.2.1 Sự phù hợp của cyclodextrin trong ứng dụng mang thuốc trị ung thư**

Ung thư là một trong 10 nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên toàn thế giới, là mối đe dọa nghiêm trọng đến sức khỏe con người và cản trở sự gia tăng tuổi thọ ở mọi quốc gia trên thế giới [14,15]. Đặc biệt, chẩn đoán ung thư ở giai đoạn cuối khiến bệnh nhân rất khó khăn trong lựa chọn điều trị và khá kém hiệu quả [16,17]. Mặc dù sự đa dạng của bệnh ung thư đưa ra manh mối về nguyên nhân cơ bản của nó, đồng thời nhấn mạnh sự cần thiết phải tăng cường nghiên cứu. Nhiều loại thuốc khác nhau đã được tham gia vào việc điều trị ung thư với các mức độ khác nhau về hiệu quả. Mặc dù có tác dụng chống ung thư đầy hứa hẹn, nhưng các loại thuốc truyền thống thường

thiếu các tính chất hóa lý để trở thành thuốc hiệu quả chống lại căn bệnh này. Đặc biệt, chúng thể hiện khả năng hòa tan trong nước kém, không ổn định, thời gian bán hủy ngắn, tính thấm kém và khả năng tương thích sinh học thấp, khiến các chất khó đến được vị trí mong muốn ở mức tối ưu và đạt được độ an toàn cho các tế bào khỏe mạnh [18,19]. Vì vậy, vấn đề cấp thiết là tạo ra các phương tiện vận chuyển thuốc hiệu quả để mang các chất chống ung thư đến các tế bào khối u nhằm cải thiện kết quả điều trị và giảm thiểu độc tính đối với các tế bào bình thường. Về mặt này, nhiều loại vật liệu đã khơi dậy mối quan tâm khoa học gần đây trong việc tạo ra các chất mang nano tương thích sinh học cho thuốc chống ung thư [20,21]. Với cấu trúc phân tử đặc biệt và những tính chất thú vị như đã đề cập ở trên, CDs là một trong những lựa chọn hấp dẫn cho việc bào chế các vật liệu này.

Dai và cộng sự [22] đã phát triển các hạt nano siêu phân tử permethyl- $\beta$ -CD-camptothecin. Chất cảm quang porphyrin adamantane tan trong nước và acid hyaluronic được ghép bởi triphenylphosphine và  $\beta$ -CD thông qua phương pháp host-guest. Các hệ thống được thiết kế có thể dễ dàng tiếp nhận bởi các ty thể của tế bào ung thư A549, giải phóng chất chống ung thư tích cực tại chỗ và tạo ra các chủng phản ứng oxi hoá (ROS) dưới sự chiếu xạ ánh sáng thông qua thành phần porphyrin của nó. Do đó, các tổ hợp nano này đại diện cho một cách tiếp cận hiệu quả chống ung thư phổi thông qua các hiệu ứng cộng hưởng quang-hóa học. Guimares và cộng sự [23] đã sử dụng CD kết hợp với một phương pháp điều trị ung thư bằng đường uống mới đang được thử nghiệm lâm sàng, cụ thể là chất ức chế LGK974. Những phức hợp này cho phép sử dụng LGK974 theo đường uống hoặc đường tiêm lặp đi lặp lại an toàn hơn, tăng khả năng hòa tan và sinh khả dụng của nó trong khi giảm độc tính ở các mô khỏe mạnh. Một vật liệu nano phân phối thuốc khác được cung cấp bởi Vaidya và cộng sự [24], erlotinib được bao bọc bởi  $\beta$ -CD và poly (lactic-co-glycolic acid). Các hạt nano cải thiện đáng kể hiệu quả điều trị ung thư phổi NSCLC (non-small cell lung cancer), làm giảm giá trị  $IC_{50}$ , ức chế khả năng hình thành khuẩn lạc của các tế bào khối u, tăng cường diệt tế bào và ức chế autophagy. Với mục đích tương tự, tức là tìm ra các phương pháp trị liệu tốt hơn đối với tế bào ung thư phổi NSCLC, Wang và các đồng nghiệp [25] đã tạo phức hợp resveratrol với sulfobutylether- $\beta$ -CD, và gắn lên các hạt nano polymer. So với các chất chống ung thư tự do, phức hợp nano đã thể hiện

hiệu quả điều trị tốt hơn. Cụ thể, việc vận chuyển thuốc được thiết kế với các hệ thống tăng cường hấp thu, gây độc tế bào đồng thời giữ lại tính chất chống oxy hóa của resveratrol.

Một nghiên cứu gần đây được thực hiện bởi Lin và cộng sự [26] đã sử dụng metformin ở bệnh nhân ung thư phổi và bệnh tiểu đường loại 2. Các nhà nghiên cứu đã sử dụng một hệ chất mang hướng đích trên cơ sở copolymer bao gồm polycaprolactone  $\beta$ -CD kết hợp với folic acid. Hệ thống phân phối thuốc đã mang lại sự ổn định tuyệt vời, giải phóng có kiểm soát và khả năng nhắm mục tiêu hiệu quả. Chi tiết hơn, metformin giải phóng nhanh hơn đáng kể ở độ pH 6,4 so với ở pH sinh lý, trong khi sự phù hợp giữa các phối tử folic acid và thụ thể folate đảm bảo nội hóa tế bào thông qua endocytosis trong các tế bào ung thư phổi A549. Do khả năng giải phóng có thể kiểm soát và nhắm mục tiêu tích cực, hệ thống nano này đã cung cấp khả năng chống tăng sinh khối u đầy hứa hẹn với độc tính tối thiểu đối với các tế bào bình thường.

Việc sử dụng CDs cũng được khai thác để phát triển các công thức bào chế thuốc điều trị ung thư hệ tiêu hóa [27]. Ví dụ, Catchpole [28] đã tạo ra các phức tổ ong của New Zealand và CD có tác dụng ức chế sự tăng sinh của bốn dòng tế bào ung thư đường tiêu hóa ở người (bao gồm: DLD-1, HCT-116, NCI-N87, KYSE-30). Các phức hợp này cũng thể hiện khả năng chống viêm và ức chế peroxid hoá lipid mạnh mẽ. Hiệu quả tiềm năng của các phức hợp này không chỉ được quy cho khả năng tạo liên kết ổn định của phức tổ ong bảo vệ các thành phần (flavonoid, phenolic acid, ester caffeate), mà còn kể đến sự tương tác giữa các phân tử CDs với các hợp chất có hoạt tính sinh học này. Một nghiên cứu gần đây được thực hiện bởi Altoom và cộng sự [29] tập trung vào việc bao bọc oxaliplatin bằng phức hợp  $\beta$ -CD/phillipsite ( $\beta$ -CD/Ph). Hệ thống này đại diện cho một lựa chọn tiên tiến, chi phí thấp, hiệu quả để đưa thuốc đến các tế bào ung thư. Vật liệu nano đã chứng minh khả năng tăng cường hiệu quả tải thuốc đến tế bào ung thư đại trực tràng (HCT-116). Hơn nữa, phức hợp đã được báo cáo là an toàn và tương thích sinh học khi thử nghiệm trên tế bào đại trực tràng bình thường (CCD-18Co).

Các dẫn xuất của CD cũng lần lượt chứng minh tính hiệu quả trong vai trò truyền dẫn thuốc. Một dẫn xuất của CD (hydroxypropyl- $\beta$ -CD) đã được sử dụng làm

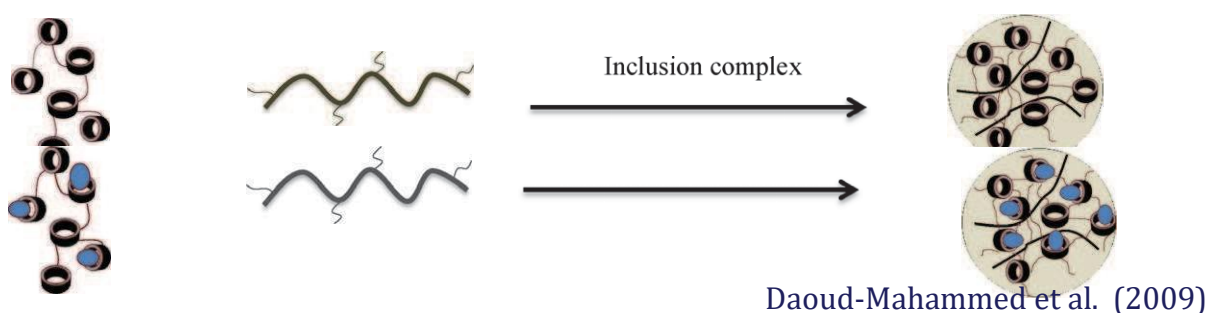
vật liệu phân phối thuốc chống ung thư Clausenidin [30]. Phức hợp cho phép thuốc giải phóng ổn định theo thời gian, tăng khả năng hòa tan của thuốc và thể hiện tác dụng gây độc tế bào lớn hơn trên tế bào ung thư ruột kết HT29 so với thuốc đơn độc. Cơ chế hoạt động của các phức hợp thông qua việc kích hoạt độc tính tế bào bởi các trung gian ROS, gây ra sự bất giữ và tiêu diệt tế bào liên quan đến kích hoạt caspase. Hơn nữa, việc giảm tác dụng phụ đã được chú ý bằng cách so sánh khả năng tồn tại giữa tế bào bình thường và tế bào ung thư. Elamine và cộng sự [31] cũng đã sử dụng một loại thuốc nano dựa trên dẫn xuất CD như một chiến lược chống ung thư. Các tác giả đã tạo ra phức hợp methyl- $\beta$ -CD (FA-M- $\beta$ -CyD) có gắn thêm folate với hyaluronic acid ghép adamantane. Phức hợp siêu phân tử thể hiện hoạt tính gây độc tế bào cao hơn trong các tế bào HCT116 so với FA-M- $\beta$ -CyD đơn thuần. Do đó, hệ thống nhắm mục tiêu kép này hứa hẹn tạo ra các tác nhân chọn lọc khối u để điều trị ung thư đại trực tràng. Một hệ thống nhạy cảm với tác nhân oxy hóa khử khác gần đây đã được công bố bởi Mousazadeh [32], trong đó các hạt nano siêu phân tử polyethylenimine- $\beta$ -CD được gắn thêm folate để đồng vận chuyển doxorubicin liên hợp adamantane và telomerase của phiên mã ngược RNA can thiệp nhỏ (hTERT-siRNA). Những phức hợp này cho phép giải phóng thuốc nội bào phụ thuộc vào pH một cách bền vững. Hơn nữa, hệ thống sở hữu khả năng tương thích sinh học và tương hợp máu tuyệt vời, đồng thời cung cấp quá trình tự hủy tế bào hiệu quả đối với các tế bào dương tính với thụ thể folate nhắm mục tiêu.

### **1.2.2 Nanogel trên cơ sở cyclodextrin**

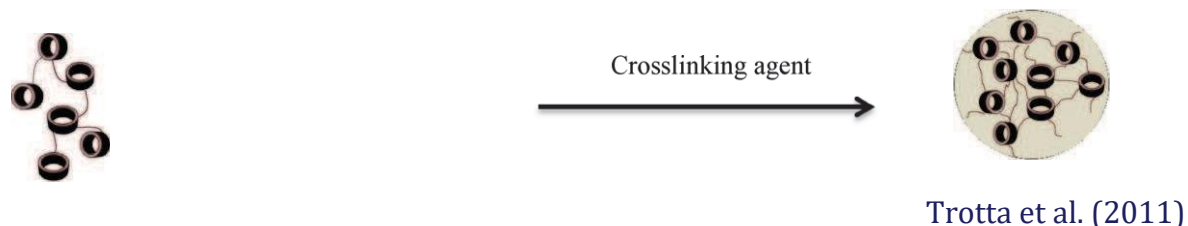
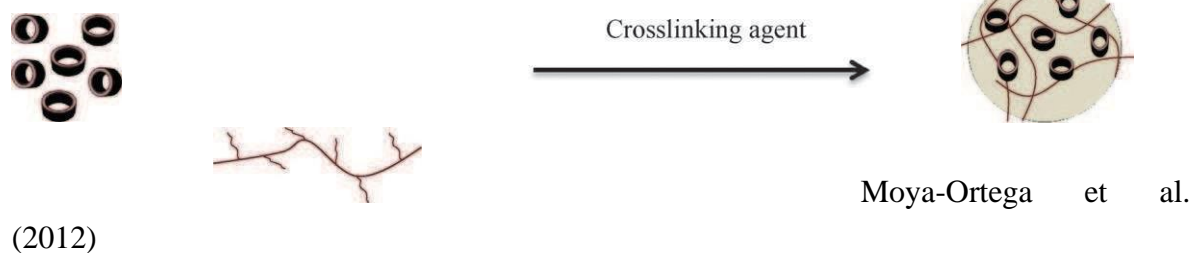
Vật liệu nanogel thiết kế dựa trên sự kết hợp những ưu điểm của hydrogel với những ưu điểm vốn có ở kích thước nano của chúng. Tương tự như macrogels, nanogel có thể chứa, bảo vệ thuốc và điều chỉnh sự giải phóng của chúng bằng cách kết hợp các nhóm chức năng có ái lực cao, các quy trình đáp ứng kích thích và liên kết phân hủy sinh học thành mạng lưới polymer. Tương tự như các hạt nano, nanogel có thể dễ dàng được sử dụng ở dạng lỏng để phân phối thuốc qua đường tiêm. Kích thước nano của nanogel mang lại cho chúng độ đặc hiệu cao, diện tích bề mặt lớn cũng là lợi thế để tiếp tục kết hợp sinh học với các tác nhân hướng đích hoạt động. Phân phối sinh học và phát hành thuốc có thể được điều chỉnh thông qua điều chỉnh kích thước nanogel. Sự kết hợp của cyclodextrin ưa nước vào mạng lưới cao phân tử của các

nanogel cung cấp cho chúng khả năng mang tải và cơ chế giải phóng thuốc dựa trên sự hình thành các phức hợp “bao bọc” mà không làm giảm tính ưa nước của vật liệu. Sự gắn kết cộng hóa trị của các phân tử CD vào các mạng liên kết ngang về mặt hóa học có thể cho phép CD hiển thị đầy đủ khả năng tạo phức của chúng, đồng thời hạn chế lượng thuốc giải phóng khi pha loãng trong môi trường.[33]. Nanogel phân tán trong nước dưới dạng các mạng keo giàu CD có khả năng tương tác với các phân tử khách và có khả năng kiểm soát tốc độ giải phóng thuốc bằng cách sử dụng ái lực của các phân tử thuốc đối với vật liệu.

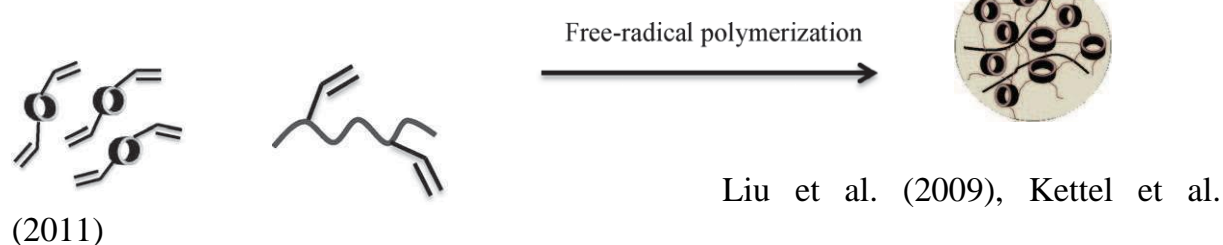
*Key-lock assembly*



*Crosslinked CDs*



*Polymerized CD monomers*



**Hình 1.2** Các phương pháp tổng hợp nanogel dựa trên CD [33].

Các nanogel kết hợp những ưu điểm của hydrogel và hạt nano thành một chất mang đồng nhất có thể được điều chỉnh cho các phân tử trị liệu cụ thể, chẳng hạn như thuốc trọng lượng phân tử lớn, peptide hoặc protein, và nhắm mục tiêu đến các mô hoặc tế bào cụ thể. Ngoài ra, CD có thể được ghép vào các chuỗi polymer tự do để thực hiện vai trò kép: như tác nhân liên kết chéo và là vật chủ cho thuốc. Để thực hiện cả hai chức năng này, các khoang CD nhất định có thể tham gia vào việc tạo phức với các nhóm kỵ nước của các chuỗi polymer liền kề, hoạt động như các điểm kết nối hoặc điểm liên kết chéo, trong khi các phân tử CD khác tương tác với các phân tử thuốc. Các phương pháp khác nhau cho quá trình điều chế các nanogel dựa trên CD được mô tả trong sơ đồ 1.2.

### 1.2.3. Các hệ nano vàng lai ghép

Các hạt nano vàng mang thuốc có một số lợi thế so với các tác nhân khác, chẳng hạn như cho hình ảnh tế bào. Chúng tán xạ ánh sáng mạnh mẽ và sáng hơn nhiều so với các nhóm mang màu (chromophores) hóa học. Chúng có thể dễ dàng được phát hiện ở nồng độ thấp. Sokolov và cộng sự đã mô tả sự tán xạ của các hạt nano chống EGFR/vàng, đối với ung thư cổ tử cung khi được kích thích bằng tia laser ở bước sóng đơn. Yelin D và cộng sự đã đề xuất một kỹ thuật hình ảnh mới gọi là kính hiển vi cộng hưởng đa điểm plasmon cho phép phát hiện quang học các hạt kim loại có kích thước nano bằng một quá trình quang phi tuyến, khi được chiếu sáng bằng ánh sáng laser cộng hưởng với các plasmon bề mặt (SPR) của chúng. Lippitz M và cộng sự đã báo cáo rằng các tín hiệu sóng đơn được tạo ra từ các hạt nano vàng riêng lẻ có kích thước nhỏ hơn 40 nm [34]. Những tín hiệu này có thể được sử dụng trong kính hiển vi để theo dõi phân tử đơn. El-Sayed I.H và cộng sự đã sử dụng hình ảnh tán xạ SPR hoặc quang phổ hấp thụ (SPR) làm kỹ thuật cảm biến sinh học phân tử để chẩn đoán và điều tra các tế bào ung thư biểu mô sống cả bằng *in vivo* và *in vitro*. Họ đã chứng minh rằng cả hai kỹ thuật này đều hữu ích để phân biệt giữa tế bào ung thư và tế bào không ung thư bằng cách sử dụng nano vàng kết hợp kháng thể EGFR.

Về sự lai ghép giữa nano vàng và cyclodextrin có các công trình đáng chú ý: Một trong các công trình sớm nhất về sự lai ghép nano vàng và CD là của Liu và cộng sự 2000, trong đó nano vàng dạng ống (đường kính 2-7 nm) kết hợp với các thụ thể thiol-cyclodextrin đã được tạo ra [35]. Các nano vàng dạng ống ghép CD đã được điều chế bằng cách khử  $\text{AuCl}_4^-$  với  $\text{NaBH}_4$  trong dung dịch DMSO. Các hạt vàng bổ sung

CD có thể được phân lập bằng cách thêm  $\text{CH}_3\text{CN}$ . Sau hai thập kỷ phát triển nhiều công bố về sự kết hợp các hạt nano vàng và CD đã mang lại những lợi ích bất ngờ đặc biệt trong các ứng dụng nâng cao như vật liệu y sinh, vật liệu siêu phân tử, cảm biến sinh học. Brugnerotto P, đã tổng hợp và khảo sát đặc tính của các hạt nano vàng được ổn định trong  $\beta$ -cyclodextrin (AuNP-CD), và áp dụng như một nền tảng trong việc cố định laccase (LAC). AuNP-CD-LAC đã được sử dụng trong việc xây dựng bộ cảm biến sinh học mới để xác định rutin bằng phương pháp vôn kế sóng vuông (SWV). Cảm biến sinh học đã được áp dụng thành công trong việc xác định rutin trong các mẫu dược phẩm khác nhau. Trong khi các dẫn xuất 2-amino-4-(4-chlorophenyl) thiazole (AT) và các dẫn xuất thiazole có một số ứng dụng sinh học, các hợp chất này cũng có nhược điểm, như độ hòa tan vào nước thấp và không ổn định. Asela I và cộng sự 2017, đã tổng hợp một phức hợp mới  $\beta$ -CD-AT để tăng độ hòa tan AT và đã được sử dụng làm chất nền để lắng đọng các AuNPs trạng thái rắn thông qua phương pháp phun xạ từ, do đó tạo thành hệ thống  $\beta$ -CD-AT-AuNPs, ổn định trong dung dịch. Hệ thống  $\beta$ -CD-AT-AuNPs mới này là một sự thay thế đầy hứa hẹn để cải thiện việc cung cấp thuốc AT trong trị liệu [36].

Một thử nghiệm điện hóa hiệu quả để phát hiện các ion nitrite có độ nhạy cao trong các mẫu thực phẩm đã được phát triển xung quanh quá trình tổng hợp và chế tạo với chỉ một bước đơn giản của các hạt nano vàng-cyclodextrin ( $-\text{CD} @ \text{AuNPs}$ ) đã được thực hiện bởi P.Balasubramanian [37]. Tính chất điện của hệ  $\beta$ -CD-AuNPs/GCE được chế tạo để phát hiện thành công các ion nitrite trong các mẫu thực phẩm, kiểm tra nước máy, nước uống đóng chai và mẫu thịt với tỷ lệ thu hồi chấp nhận được.

Phương pháp đơn giản và rất nhanh để tổng hợp các hạt nano vàng hình cầu đơn (AuNPs) sử dụng làm chất khử cho ba loại cyclodextrin tự nhiên ( $\alpha$ -,  $\beta$ - và  $\gamma$ -CD) đã được công bố bởi Stiuflu G. và cộng sự [38]. Các cyclodextrin hình cầu phủ các hạt nano vàng ( $\alpha$ -,  $\beta$ - hoặc  $\gamma$ -CD @ AuNPs) đã được điều chế trong một khoảng thời gian rất ngắn (dưới 10 phút) bằng cách trộn các dung dịch  $\text{Au}^{3+}$  với dung dịch nước của từng loại cyclodextrin tự nhiên, sau đó một xử lý nhiệt (2 phút) trong lò vi sóng.

Phức chất (IC) của cyclodextrin có chứa thuốc chống ung thư Methotrexate (MTX) là một phân tử khách đã thu được để tăng khả năng hòa tan của MTX và giảm tác dụng phụ của nó trong các tế bào không đặc hiệu. Silva N và cộng sự đã kết hợp IC với các hạt nano vàng bằng phương pháp hóa học, tạo ra một hệ thống phân phối thông minh ternary cho các phân tử MTX, dựa trên tính chất plasmonic của AuNPs [39]

Các phối tử không ion amphiphilic, được tổng hợp với một nửa kỵ nước cố định được hình thành bởi một chuỗi alkyl được kiểm tra và một vòng thơm, và với một đuôi ưa nước bao gồm một số lượng đơn vị oxyethylene khác nhau, được sử dụng để chức



năng hóa các hạt nano vàng (AuNPs). Các phép đo huỳnh quang trạng thái ổn định về thời gian của AuNPs đã được giải quyết bởi Coelho J.P và cộng sự, với sự hiện diện của ( $\alpha$ -CD) cho thấy hình thành các phức siêu phân tử giữa phối tử và macrocycle ở bề mặt của các tinh thể nano [40]

Một cấu trúc dựa trên hạt nano vàng mới đã được thiết kế để đưa thuốc kỵ nước vào tế bào ung thư. Cyclodextrin hấp phụ trên các hạt nano vàng phủ polyethylen (AuNP @PEI@CD) đã được Granet R và cộng sự, sử dụng để đóng gói các hợp chất tetrapyrrolic kỵ nước bao gồm các phức vàng của 5,10,15,20-tetraphenyl porphyrin (AuTPPCl)-10,15,20-triphenyl porphyrin (AuTPPOAcCl). Hai hạt nano này đã được thử nghiệm về hoạt động gây độc tế bào chống lại hai dòng tế bào ung thư đại trực tràng HT-29 và HCT-116 và đã cho thấy sự gia tăng đáng kể về độc tính khi so sánh với các loại macrocyclic không có vector [41]

### 1.3. Thuốc trị ung thư

Lịch sử phát triển các liệu pháp trị ung thư gắn liền với sự tiến bộ y học của nhân loại. Một loạt các phương thức được sử dụng để điều trị ung thư trong đó thuốc là liệu pháp được sử dụng sớm nhất,

Trước thế kỷ XIX kim loại nặng được sử dụng toàn thân để điều trị các bệnh ung thư; tuy nhiên, hiệu quả của chúng bị hạn chế bởi độc tính rất lớn. Những năm 1890: William Coley đã khám phá việc sử dụng độc tố Coley, chất kích thích miễn dịch không đặc hiệu đầu tiên được sử dụng để điều trị ung thư. Sau thế chiến thứ I, khí lưu huỳnh-mù tạt được sử dụng cho chiến tranh hóa học những người phục vụ tiếp xúc với mù tạt nitơ bị ức chế tủy xương và bạch huyết, thioguanine và mercaptopurine lần đầu tiên được phát triển như một thuốc trị ung thư bạch cầu cấp tính (1937). Interferon được phát hiện bởi nhóm Children's Cancer Group, nhóm hợp tác đầu tiên chuyên tìm kiếm các phương pháp điều trị hiệu quả cho bệnh ung thư ở trẻ em (1955). Năm 1957 bắt đầu phát triển các hợp chất Platinum. Liệu pháp đa thuốc cải thiện tỷ lệ thuyên giảm mà không có độc tính nghiêm trọng bằng việc kết hợp mechlorethamine, vincristine, procarbazine và prednisone (MOPP), hóa trị liệu kết hợp đầu tiên được sử dụng và phát hiện là có tác dụng chữa bệnh. Tamoxifen được tổng hợp vào năm 1962 và lần đầu tiên được sử dụng trong điều trị ung thư vú. Năm 1992 Rowinsky và cộng sự đã thử nghiệm lâm sàng với paclitaxel phát hiện có hiệu quả chống lại ung thư buồng trứng và ung thư vú.

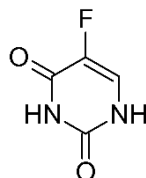
Cuối thế kỷ XX các thử nghiệm lâm sàng về liệu pháp gen và tác nhân kháng nguyên bắt đầu được FDA chấp thuận. Các nhà khoa học tập trung vào trình tự sắp xếp của các tác nhân (Bonadonna và cộng sự, 1995). Cơ sở di truyền của bệnh ung thư trở thành một yếu tố quan trọng trong nghiên cứu nguy cơ ung thư (ví dụ: BRCA1 cho ung thư vú, ung thư tế bào thận). Chất ức chế Aromatase được chấp thuận để điều trị ung thư vú. Điều này đánh dấu một bước tiến của liệu pháp nội tiết tố. Cũng trong giai đoạn này rất nhiều thuốc tổng hợp được thử nghiệm thành công và công bố thương mại như anastrozole; letrozole; 5-Fluorouracil...

### ***Giới thiệu về 5-Fluorouracil***

***Danh pháp:*** 5-Fluoro-1*H*,3*H*-pyrimidine-2,4-dione, tên thương mại là Adrucil.

***Phân tử khối:*** 130.077 (g/mol)

***Công thức cấu tạo:***



**Hình 1.3.** Công thức cấu tạo của 5-Fluorouracil

***Động lực học:***

- Hấp thu: Fluorouracil dùng đường tiêm tĩnh mạch hoặc bôi da.
- Phân bố: Thuốc được khuếch tán nhanh vào các mô, đặc biệt thấm tốt vào các mô u, mô tăng trưởng nhanh như tủy xương, niêm mạc ruột (nồng độ thuốc ở các nơi này gấp 6-8 lần ở các mô bình thường) vào được dịch não tủy.
- Chuyển hóa: thuốc chuyển hóa ở gan.
- Thải trừ: Fluorouracil thải trừ chủ yếu qua đường hô hấp, một phần thải qua thận.

5-Fluorouracil (5-FU) là một trong những dược chất được sử dụng rộng rãi nhất trong số tác nhân điều trị ung thư. Hình thức hoạt động của nó dựa trên sự ức chế tổng hợp DNA bằng cách chống lại quá trình sản xuất bình thường của thymidine. Khi đi vào cơ thể 5-FU chuyển thành 5-fluoro-2-deroxyuridin 5' monophosphat (5-FdUMP). Chất này cạnh tranh với deoxyuridinmonophosphat (dUMP) nên ức chế thymidylat synthase gây thiếu thymidin cho quá trình tổng hợp ADN làm cho tế bào ung thư bị

tiêu diệt. 5-FU chuyển hóa ở gan, thải trừ chủ yếu qua đường hô hấp (60%), một phần qua thận. Nó có hoạt tính mạnh với các tế bào ung thư ruột kết, trực tràng, vú, tuyến tụy đường tiêu hóa, buồng trứng [42,43].

Tuy nhiên, 5-FU có thời gian bán thải ngắn (8-20 phút) do chuyển hóa nhanh bởi dihydropyrimidine dehydrogenase. 5-FU cũng có tác dụng phụ độc hại, thể hiện rõ ở tủy xương và đường tiêu hóa, và nó thể hiện hoạt tính sinh học không chọn lọc (gây độc đối với cả tế bào khỏe mạnh). Để giải quyết những vấn đề này và đạt được hiệu quả lâm sàng cao, nhiều vật liệu nanocomposite dựa trên polymer bao bọc 5-FU đã được phát triển để kiểm soát sự giải phóng của nó. Những chất mang thuốc như vậy phải có khả năng tải thuốc cao, lưu thông dài và ổn định tốt trong máu, tích lũy có chọn lọc tại vị trí đích và giải phóng thuốc hiệu quả trong môi trường thích hợp. Wang và các đồng nghiệp đã phát triển các hạt nano liên hợp dựa trên folic acid - poly (lactic-co-glycolic acid) để phân phối 5-FU. Các hạt nano sinh học PLGA được hình thành bằng cách sử dụng 1,3-diaminopropane làm chất liên kết chéo và được thử nghiệm thành công chống lại các tế bào ung thư HT-29 [44].

#### **1.4 Các phương pháp giải phóng thuốc**

Giải phóng thuốc từ các vật liệu nano chủ yếu dựa trên 3 phương pháp: Phân lập mẫu SS (sample and separate); dòng liên tục CF (continuous flow), và màng thẩm tách DM (dialysis membrane). Gần đây, một kỹ thuật dựa trên sự tích hợp 3 phương pháp trên cũng được báo cáo. Tùy thuộc vào đặc trưng của vật liệu hay thuốc cũng như các yêu cầu khác nhau về điều kiện phân tích, người ta lựa chọn phương pháp đánh giá phù hợp nhất. Trong nghiên cứu kiểm nghiệm thuốc và những vấn đề liên quan đến sự đồng nhất giữa các lô sản phẩm thuốc, việc sử dụng đồng thời các phương pháp để tăng tính khách quan hoặc đối sánh luôn được khuyến nghị.

##### **1.4.1 Phương pháp phân lập mẫu:**

Đây là phương pháp phổ biến nhất cho thử nghiệm phóng thích *in vitro* của các sản phẩm nanopolymer chủ yếu là do tính đơn giản và tính thực tế của nó. Nói chung, các vi hạt chứa thuốc được treo lơ lửng trong một bình chứa một lượng nhất định môi trường giải phóng và sau đó là thuốc được giải phóng và đánh giá theo thời gian. Nhiều nhà nghiên cứu đã sử dụng phương pháp này để nghiên cứu giải phóng thuốc từ vi hạt bằng việc điều chỉnh các thông số khác nhau như kích thước của thùng chứa, các

tác động ngoại lực (khuấy, lắc, ly tâm) và khối lượng mẫu. Trong phương pháp SS, vật liệu nano được đưa vào môi trường giải phóng và thường được duy trì ở nhiệt độ không đổi, sau đó thuốc được giải phóng dưới dạng phân tử tan vào dịch lọc hoặc phân tán trong pha lỏng. Thiết bị sử dụng đã được báo cáo gồm USP I (basket), USP II (paddle), hoặc vials, phụ thuộc vào khối lượng của môi trường giải phóng (dung dịch đệm) được sử dụng trong nghiên cứu phóng thích *in vitro* [45-47]. Gần đây các thiết bị USP I và USP II đã được nâng cấp bằng việc kết hợp sử dụng máy khuấy từ, máy lắc vòng (orbital shakers) cho quá trình giải phóng paclitaxel hoặc DNA từ các nanoparticles [48-50]. Đối với một số thuốc có kích thước và phân tử khối lớn như Insulin hay BSA (huyết thanh bò) phương pháp SS đòi hỏi phải kết hợp các kỹ thuật tách năng lượng cao như ly tâm, siêu ly tâm, và siêu lọc [51], thuốc sau khi phóng thích thường thu được ở phần nổi phía trên của dung dịch ly tâm hoặc dịch lọc.

Nói chung, phương pháp SS cung cấp một cách tiếp cận trực tiếp để theo dõi sự giải phóng thuốc. Với phương pháp này, việc thiết lập mẫu, chế độ khảo sát và kỹ thuật thực nghiệm là đơn giản. Tuy nhiên, do kích thước nhỏ của các vật liệu nano, một số thách thức thực tế đã được ghi nhận. Ví dụ, sự có mặt đồng thời các hạt nano trong quá trình phóng thích *in vitro* dường như là một mối quan tâm chính.

#### **1.4.2 Phương pháp dòng chảy liên tục:**

Trong phương pháp này, thuốc được giải phóng từ các hạt nano bằng cách sử dụng thiết bị USP IV hoặc phiên bản nâng cấp của chúng. Quá trình phóng thích thuốc xảy ra do đệm hoặc dung môi lưu thông liên tục qua cột chứa vật liệu cố định và được giám sát bằng cách thu thập chất rửa giải theo các khoảng thời gian định kỳ. Tốc độ dòng chảy được sử dụng trong phương pháp CF phụ thuộc vào loại máy bơm cũng như các thiết bị lọc (màng siêu lọc). Tốc độ dòng chảy thấp có thể là một yếu tố chính gây ra giải phóng chậm hoặc không đầy đủ từ các dạng bào chế [52]. Nói chung, tính khả dụng thiết bị tự động đã đơn giản hóa việc lấy mẫu thường xuyên và thay thế bằng phương pháp CF đóng (phương tiện tuần hoàn) hoặc mở (phương tiện không tuần hoàn). Tuy nhiên, các phương pháp CF bị một số những nhược điểm bao gồm chi phí thiết bị khá cao, lắp đặt phức tạp, tắc nghẽn bộ lọc, thuốc bị hấp phụ vào vật liệu lọc hoặc các hạt thủy tinh. Ngoài ra, khó khăn trong việc duy trì tốc độ dòng chảy liên tục dẫn đến sự thay đổi kết quả trong phạm vi rộng.

### 1.4.3 Phương pháp thẩm tách:

Trong tất cả các phương pháp được sử dụng để đánh giá giải phóng thuốc từ các dạng bào chế kích thước nano, phương pháp thẩm tách là linh hoạt và phổ biến nhất. Trong phương pháp này, sự phân tách vật lý của các dạng bào chế đạt được bằng cách sử dụng màng thẩm tách cho phép cô lập các phân tử thuốc dễ dàng tại các khoảng thời gian định kỳ. Cũng như các phương pháp khác, một số chuyên thể đã được báo cáo trong tài liệu với những khác biệt chính về thiết kế, kích thước thùng chứa (túi) và thông số MWCO (molecular weight cut-off) của màng thẩm tách. Trong số đó, thẩm tách thuận (regular dialysis) là phương pháp được sử dụng phổ biến nhất, các hạt nano được đưa trong một túi thẩm tách có chứa môi trường giải phóng (dung môi và đệm), sau đó được niêm phong và đặt trong một bình lớn hơn chứa môi trường phóng thích. Dung dịch bên ngoài được khuấy động liên tục bằng các thiết bị hỗ trợ, thuốc giải phóng từ vật liệu nano khuếch tán qua màng thẩm tách đến ngăn bên ngoài. Ở các thời điểm khảo sát, mẫu dung dịch chứa thuốc được hút ra để phân tích hàm lượng. [53]

Trong một số trường hợp, tùy thuộc đặc tính của hệ chứa thuốc người ta sử dụng một phiên bản khác của DM được gọi là thẩm tách ngược (reverse dialysis). Với kỹ thuật này vật liệu nano chứa thuốc được đặt ở ngăn ngoài (khuấy động để giảm thiểu hiện tượng lắng hoặc bám dính trên màng lọc), thuốc được giải phóng sẽ khuếch tán qua màng thẩm tách đi vào ngăn trong [54-56]. Một phiên bản khác của DM được biết đến với tên gọi là kỹ thuật thẩm tách song song (side-by-side dialysis). Cả dung môi chứa vật liệu nano mang thuốc và môi trường giải phóng được đặt trong một thùng chứa ngăn cách bởi màng thẩm tách, chúng được khuấy động liên tục. Ở các khoảng thời gian nhất định, dung dịch chứa thuốc được lấy ra từ ngăn lọc trước khi đem phân tích hàm lượng [57,58]

Thực tế chỉ ra rằng, không có phương pháp nào là toàn năng cho việc đánh giá quá trình giải phóng thuốc từ vật liệu. Đã có những công bố về sự tích hợp nhiều phương pháp trên một bộ thiết bị, hay gần đây nhất một phương pháp dựa trên mô hình toán học về mối liên hệ giữa thử nghiệm *in vitro* và các phản ứng *in vivo* được chấp nhận bởi Cục quản lý thực phẩm và dược phẩm Hoa Kỳ (FDA), phương pháp được cho là một bước tiến quan trọng trong đánh giá và kiểm nghiệm thuốc với tên gọi IVIVC (*in vitro in vivo* correlation). Tuy nhiên, bản thân tác giả của nó vẫn cho rằng

đây không phải là sự thay thế những phương cách trước đó, tùy thuộc vào đặc trưng của vật liệu hay thuốc và cơ chế tương tác giữa chúng người ta sẽ có những lựa chọn tối ưu cho quá trình giải phóng thuốc [59]. Nhiều nghiên cứu gần đây cho thấy, trong số các phương pháp giải phóng thuốc từ các hệ nano dựa trên polysaccharide, phương pháp thẩm tách thuận đã chứng minh được hiệu quả và độ tin cậy hơn cả. Mặt khác, đây cũng là phương pháp tương đối dễ thực hiện với chi phí và thời gian phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Vì thế, trong luận án này chúng tôi đã áp dụng phương pháp thẩm tách để nghiên cứu quá trình giải phóng 5-FU từ các vật liệu nano trên cơ sở  $\beta$ -CD và  $\beta$ -CD biến tính.

## 1.5 Tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước

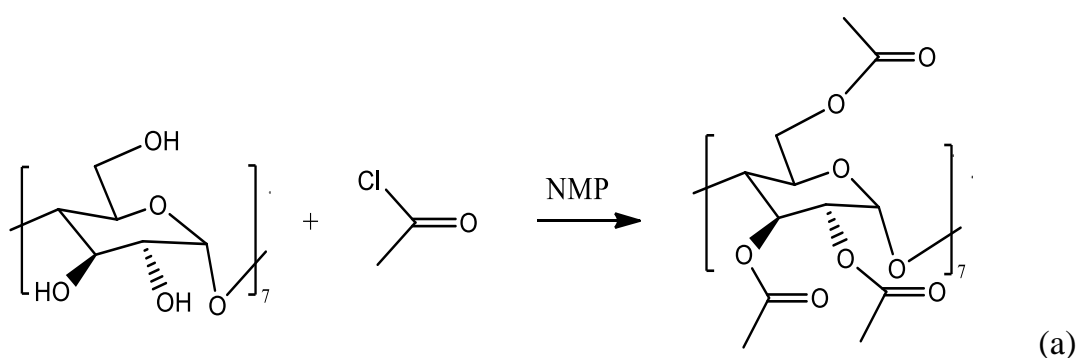
### 1.5.1 Nghiên cứu trong nước

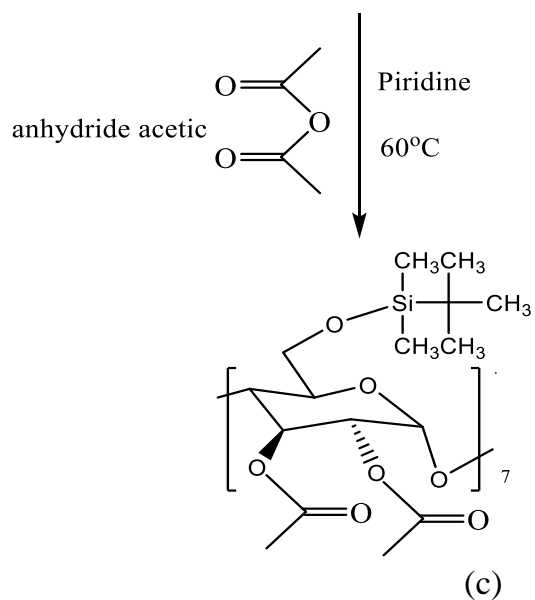
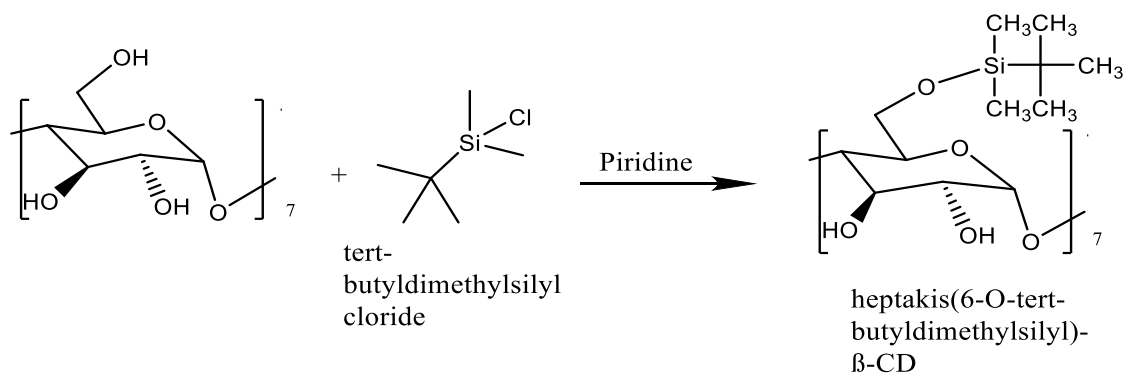
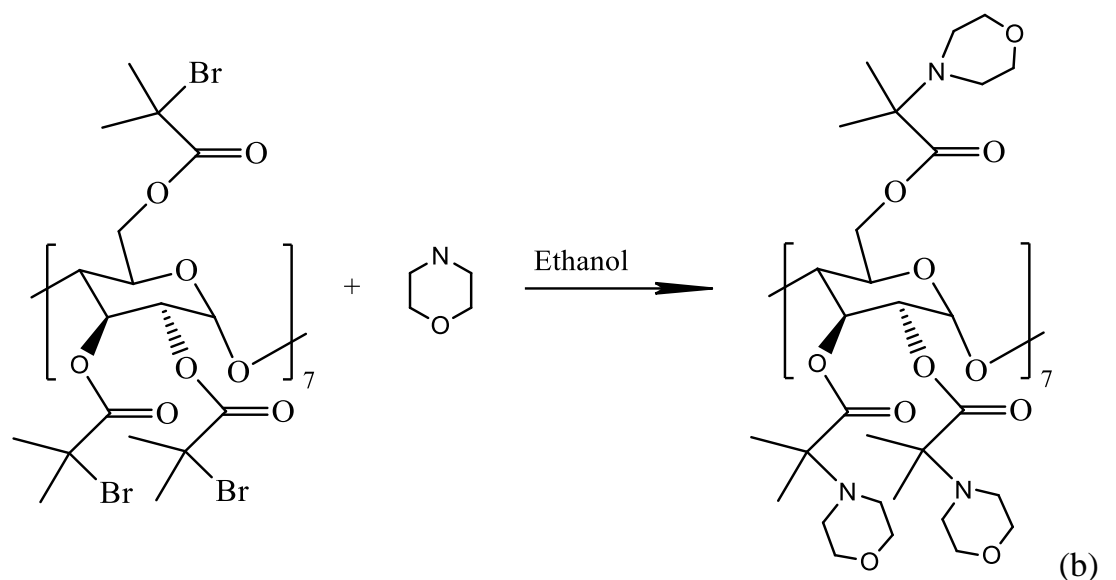
Nghiên cứu tổng hợp các dẫn xuất của  $\beta$ -CD đã được các nhóm khoa học trong nước quan tâm từ khá sớm. Năm 2011 nhóm nghiên cứu của tác giả Lê Thị Thu Cúc đã tổng hợp thành công một dãy các dẫn chất của  $\beta$ -CD ứng dụng tách đồng phân quang học bằng phương pháp điện di mao quản [60]. Các dẫn chất bao gồm:

Heptakis (2,3,6-tri-O-acetyl)- $\beta$ -CD. Hiệu suất đạt 59,8%

Heptakis [2,3,6-tri-O-(2-morpholinyl isobutyryl)]- $\beta$ -CD. Hiệu suất đạt 74,8%

Heptakis (2,3-di-O-acetyl-6-O-tert-butyl dimethylsilyl)- $\beta$ -CD. Hiệu suất đạt 81,5%





**Hình 1.4.** Sơ đồ tổng hợp (2,3,6-tri-O-acetyl)- $\beta$ -CD (a); [2,3,6-tri-O-(2-morpholinyl isobutyryl)]- $\beta$ -CD (b) và (2,3-di-O-acetyl-6-O-tert-butyl dimethylsilyl)- $\beta$ -CD (c)

Năm 2014, nhóm nghiên cứu của tác giả Phùng Đức Truyền tổng hợp thành công các dẫn xuất ether bao gồm: 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin và 2-hydroxybutyl-

$\beta$ -cyclodextrin với hiệu suất tương ứng 79,79% và 77,89%. Các dẫn xuất này được sử dụng làm tá dược cải thiện độ hòa tan một số dược chất như Itraconazol, rutin, meloxicam [61].

Đối với lĩnh vực nano vàng, nghiên cứu tổng hợp và ứng dụng AuNPs đã được quan tâm đặc biệt bởi các nhà khoa học Việt Nam, ngày càng nhiều các công bố trên các tạp chí quốc tế và quốc gia, các luận án Tiến sĩ, luận văn Cao học. Ở đây, chúng tôi tổng quan một số công bố quan trọng về AuNPs trên các chất mang được công bố trên các tạp chí trong nước trong thời gian gần đây.

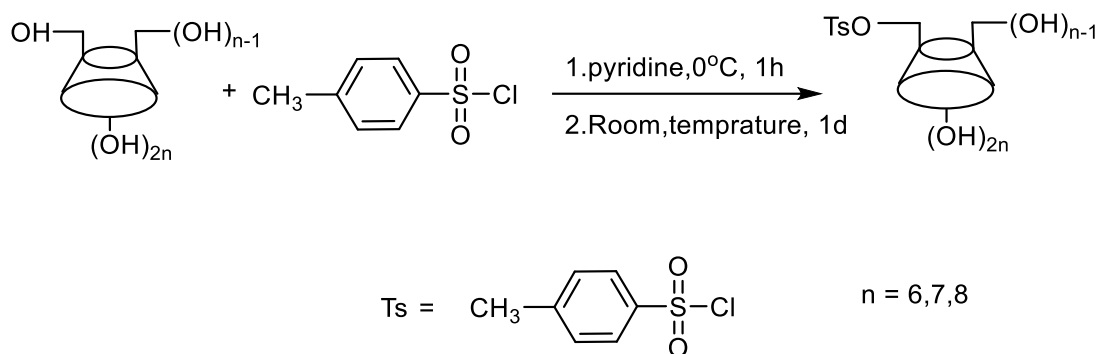
Năm 2019, Phan Hà Nữ Diễm và cộng sự đã tổng hợp các hạt nano vàng hình cầu, có kích thước khoảng 6-15 nm bằng phương pháp khử hóa học, với dextran vừa là chất khử, vừa là chất ổn định. Ảnh hưởng của thời gian khử, nồng độ  $\text{Au}^{3+}$  và nồng độ dextran đến kích thước của AuNPs đã được khảo sát. Kết quả cho thấy, AuNPs có kích thước nhỏ, độ đồng nhất cao được tổng hợp ở nhiệt độ phòng, nồng độ  $\text{Au}^{3+}$  là 0,50 mM, dextran là 1,00 % và pH = 12. Khi dung dịch  $\text{Au}^{3+}$  ở nồng độ thấp, sản phẩm là AuNPs có kích thước nhỏ nhưng ngược lại, khi dextran ở nồng độ thấp, sản phẩm thu được là AuNPs có kích thước lớn. AuNPs dạng dung dịch hoặc dạng bột được ổn định bởi dextran - chất tương thích sinh học, đã có nhiều ứng dụng tiềm năng trong y sinh học và dược phẩm [62]. Năm 2020, Đỗ Thị Huệ và cộng sự đã chế tạo thành công các hạt nano vàng kích thước nhỏ (5 nm) theo phương pháp khử hóa học bằng cách sử dụng  $\text{NaBH}_4$  làm chất khử cho tiền chất  $\text{HAuCl}_4$  trong sự có mặt của Cetrimonium bromide (CTAB). [63]. Tiếp theo, năm 2020 nhóm nghiên cứu Võ Quốc Khương và cộng sự đã tổng hợp vật liệu nano vàng dạng hình sao được thông qua phương pháp khử một giai đoạn không tạo mầm trung gian, với chất bảo vệ là chitosan, đóng vai trò vừa là chất bảo vệ vừa là tác nhân định hướng. Các hạt nano AuNPs@Chi thu được có kích thước khá đồng đều trong khoảng 55 nm, tương tác giữa các hạt nano vàng dạng sao và chitosan cũng được làm rõ bằng các phương pháp phân tích tin cậy [64].

Trong một nghiên cứu khác, Nguyễn Thị Lan Hương và cộng sự 2021, đã chế tạo các hạt nano vàng bằng việc sử dụng dịch chiết vỏ trái thơm trong vai trò chất khử và ổn định. Các hạt nano vàng có kích thước 5 – 15 nm thu được đã thể hiện hoạt tính xúc tác khá tốt trong việc khử hoàn toàn 4-nitrophenol thành 4-aminophenol trong 10 phút với hằng số tốc độ phản ứng là  $0,233 \text{ phút}^{-1}$ . [65].

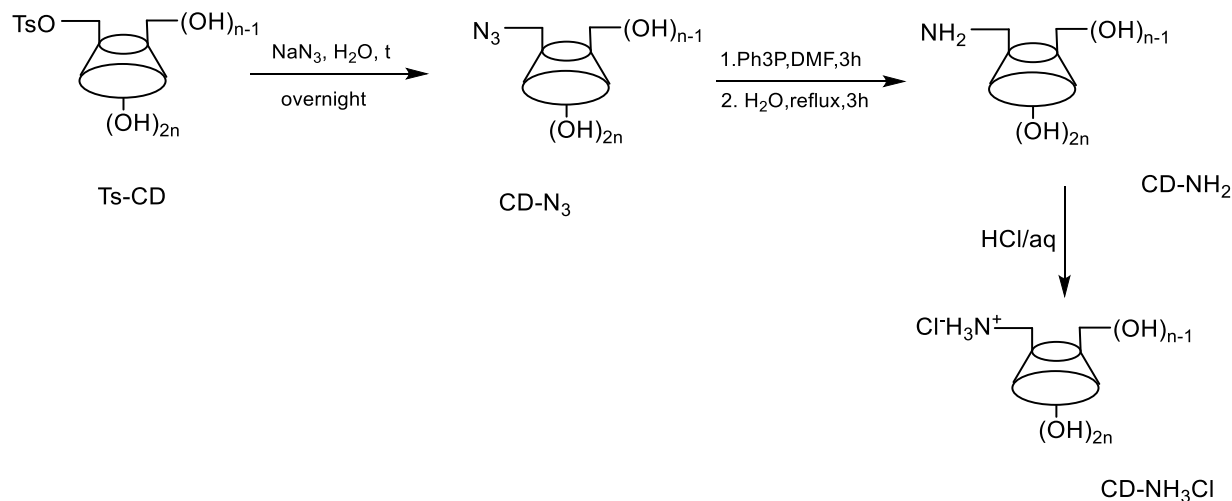


### 1.5.2 Nghiên cứu quốc tế

Các nghiên cứu quốc tế về tổng hợp dẫn xuất của CD được ghi nhận từ những năm 90 của thế kỷ trước. Một trong những nghiên cứu sớm nhất thuộc về nhóm Keita Hamasaki và cộng sự [66], công bố được thực hiện vào 1993 với việc tổng hợp thành công các dẫn xuất amine của CD ứng dụng tạo cảm biến huỳnh quang trong nhận dạng phân tử. Rất nhiều nghiên cứu tiếp tục được công bố với hơn 11000 dẫn xuất đã được tổng hợp thành công bằng nhiều con đường khác nhau. Năm 2008, Weihua Tang đã tổng hợp thành công mono-6-amino-6-deoxy- $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -cyclodextrin hydrochlorides ứng dụng trong nhận dạng phân tử, nghiên cứu phân tách chiral và phân phối thuốc [67].

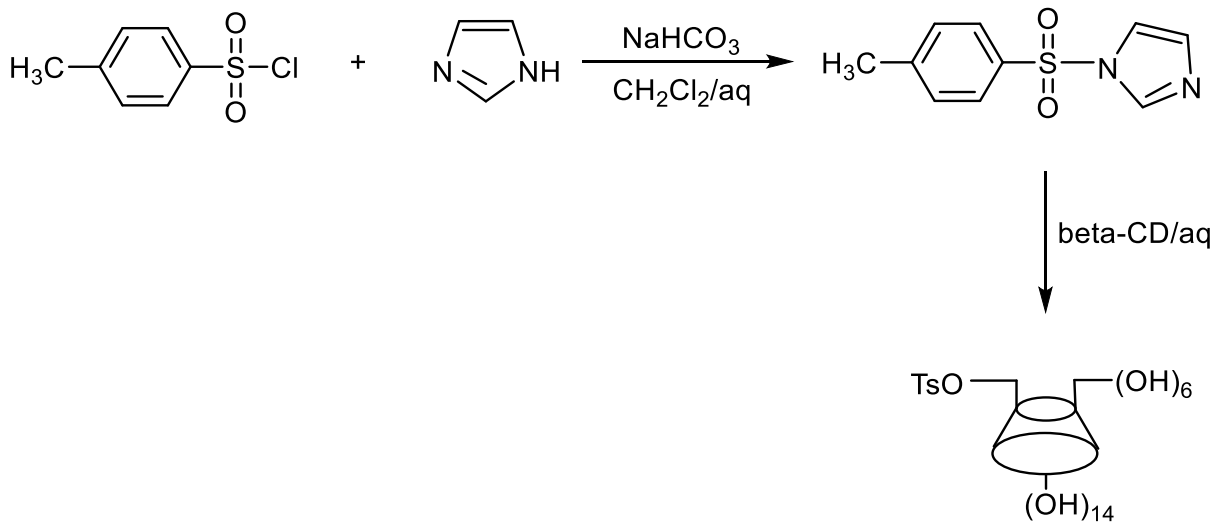


**Hình 1.5.** Sơ đồ tổng hợp Tosyl-CD bằng quy trình nhiệt



**Hình 1.6.** Sơ đồ tổng hợp CD-NH<sub>3</sub>Cl từ Ts-CD

Năm 2011, Timothy Tan và Siu-choon Ng đã thực hiện việc tổng hợp dẫn xuất trung gian mono-6-tosyl- $\beta$ -cyclodextrin trên một quy trình hoàn toàn mới cho phép nâng cao hiệu suất và rút ngắn đáng kể thời gian phản ứng so với các công trình trước đó.[68].



**Hình 1.7.** Sơ đồ tổng hợp Ts-CD từ TsCl

Về lĩnh vực tổng hợp vật liệu nano phân phối thuốc, các vật liệu có cấu trúc nano bao gồm các hạt nano dựa trên nền polymer, không polymer và nền lipid. Các hạt nano dựa trên polymer (polymericnanoparticle) bao gồm dendrimers, nanoparticles, micelles, nanogels, protein.... Non-polymericnanoparticles bao gồm ống nano carbon, kim cương nano, hạt nano kim loại, chấm lượng tử và hạt nano dựa trên nền silica. Các hạt nano trên nền lipid có thể được chia thành liposome và các hạt nano lipid rắn. Cho đến nay, phần lớn các hạt nano được phê duyệt lâm sàng để sử dụng trong điều trị là các thành phần dựa trên polymer hoặc lipid. Ngoài các hạt có cấu trúc nano dựa trên polymer, không polymer hoặc lipid, các tinh thể nano được hình thành do sự kết hợp của các chất điều trị ở dạng tinh thể cũng được sử dụng trong một số ứng dụng lâm sàng.

#### *Nanogel-nanocapsule*

Nhóm nghiên cứu gồm Bae và cộng sự đã phát triển các bao nang nano pluronic/chitosan chứa các hạt nano oxide sắt. Các bao nang nano được tổng hợp bằng việc phân tán các hạt nano oxide sắt đã được biến tính kỵ nước và các dẫn xuất pluronic phản ứng amine trong dung môi hữu cơ, và sau đó nhũ hóa trong dung dịch nước chitosan bằng siêu âm. Các bao nang nano có gắn rhodamine được đồng hóa một cách hiệu quả bởi các tế bào ung thư phổi khi tiếp xúc với vùng từ trường ngoài. Nghiên cứu hiện tại đề nghị rằng các vật liệu nano mới có thể được sử dụng làm tác nhân phát từ tính gắn các chất chống ung thư khác nhau cũng như dùng cho chẩn đoán ung thư bằng hình ảnh cộng hưởng từ [81].

Lee và cộng sự đã báo cáo về các nanogel thay đổi thể tích theo nhiệt độ gây phồng nội bào để làm chết tế bào do bị hoại tử. Các nanogel này sẽ thay đổi từ kích thước nano thành kích thước micro theo sự thay đổi của nhiệt độ, và được ứng dụng để giết chết các tế bào ung thư. Các nanogel được hình thành bằng cách tạo liên kết chéo giữa oligo(L-lactic acid)-poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide)-oligo(L-lactic acid) và poly(ethylene glycol) ghép với poly(L-lysine), các nanogel này có sự thay đổi thể tích nghịch từ ~150 nm ở 37 °C thành ~1.4 μm ở 15 °C. Khi bệnh nhân ung thư được điều trị bằng kỹ thuật sốc lạnh, các nanogel trong nội bào sẽ phồng to lên đột ngột làm phá vỡ cấu trúc mạng lưới tự tập hợp dưới mức tế bào gồm có khung tế bào và màng túi tiết, rồi làm phá vỡ cấu trúc màng tế bào bằng phương pháp vật lý, dẫn đến kết quả là các tế bào chết vì bị hoại tử. Các “bom nano (bombnano)” thông minh bị nổ do các tác nhân kích thích bên ngoài có thể được sử dụng một cách hiệu quả để làm phá vỡ tế bào [82].

Năm 2011, nhóm nghiên cứu Liangju Kuang, và cộng sự đã báo cáo về các chất mang nano có các nhánh thông minh trên nền chitosan để kiểm soát quá trình vận chuyển các loại thuốc kỵ nước. Họ đã dùng phương pháp hóa học xanh để liên hợp một cách hiệu quả cao các chất kỵ nước (dùng Lilial làm nguyên mẫu) với chitosan thông qua sự hình thành liên kết Schiff base trong dung dịch ion, làm cho các chitosan dễ tan trong dung môi hữu cơ thông thường và hiệu chỉnh để biến tính thêm các chức năng khác. Ví dụ poly(*N*-isopropylacrylamide) nhạy nhiệt được ghép với liên hợp chitosan-Lilial. Copolymer này tự tập hợp trong nước tại pH trung tính thành các chất mang nano có cấu trúc dạng vỏ - lõi với sự phân bố kích thước có lợi ( $d = 142 \pm 60$  nm) cho quá trình điều trị bằng tiêm tĩnh mạch. Dưới điều kiện nhiệt độ tăng và acid ( $T = 37$  °C,  $pH = 4.5$ ), như là sự hấp thu của tiêu thể và cơ quan nội bào, các chất mang nano đứt thành từng mảnh và hình thành các mixelle đảo với kích thước giảm đáng kể ( $d = 83$  nm) có lợi cho sự bài tiết thông qua chức năng lọc của thận, và 70% các phân tử Lilial được giải phóng trong 30 h qua quá trình cắt đứt liên kết Schiff base bằng thủy phân. Dữ liệu này đã chứng minh việc phát triển chất mang nano trên nền chitosan để mang các thuốc kỵ nước dùng trong quá trình điều trị bằng đường tiêm tĩnh mạch làm tăng hiệu quả điều trị đáng kể [83].

### *Polymer micelle – Liposome*

Phương pháp chế tạo micelle khối sử dụng các chất hoạt động bề mặt đã được nghiên cứu nhiều trong hai thập kỷ qua. Những nghiên cứu tập trung vào việc làm ổn định các cấu trúc dạng bong bóng trùng hợp chủ yếu được sử dụng làm chất mang thuốc.

Kaler và cộng sự đã sử dụng bao micelle cân bằng được tạo ra do kết hợp các chất hoạt tính bề mặt cation và anion như cetyltrimethylammonium toluene sulfonate (CTAT) và sodium dodecylbenzen sulfonate (SDBS) để gắn các monomer như styrene và divinyl benzene (DVB) vào. Bằng cách thay đổi tỷ lệ của SDBS, đã thu được polystyrene chiếm tới 10% bằng các khối kết tụ dạng micelle bọc mà không phá vỡ cấu trúc của chúng. Việc trùng hợp các monomer đã gắn vào sẽ làm cho tính ổn định của bao kết tăng lên đáng kể. Kích thước đường kính điển hình của các bao này là 60 nm và độ dày của lớp vỏ hai lớp là khoảng 10 nm [84].

### *Vật liệu lai ghép giữa nano vàng và cyclodextrin*

Các nghiên cứu sử dụng kết hợp ưu điểm của các hạt nano vàng và cyclodextrin đã được quan tâm từ những năm đầu của thế kỷ XXI. Đáng chú ý, năm 2009, Park C đã báo cáo về khả năng điều trị của một chất mang nano vàng (AuNPs) được phủ cyclodextrin để phân phối thuốc chống ung thư là  $\beta$ -lapachone.[69]. Các hạt nano thu được có đường kính trung bình 27 nm được bao phủ bởi cyclodextrin và phối tử hướng đích đã sở hữu được những đặc tính hữu ích cho phương thức điều trị và chẩn đoán y học thông qua sự phát triển của các hệ dạng hạt.

Tổng hợp có kiểm soát các hạt nano Au với kích thước có thể điều chỉnh (10-50 nm) và phân bố kích thước hẹp (<10% độ lệch chuẩn) được thực hiện rất đơn giản bằng cách khử acid hydrochloroauric bằng ( $\alpha$ -CD) trong dung dịch kiềm. Huang T và cộng sự còn cho rằng độ pH thích hợp là điều cần thiết cho sự hình thành các phân tán ổn định của các hạt nano Au không kết tụ và độ pH cao hơn sẽ dẫn đến việc hàn các hạt nano Au thành các dây một chiều (1D) hoặc các khối ba chiều (3D) [70].

Chuyển đổi các phân tử lồng vào nhau về mặt cơ học (ví dụ, rotaxane và catenane) thành vật liệu có kích thước nano là một bước quan trọng đối với các ứng dụng thực tế của chúng. Zhu L và cộng sự đã điều chế một dẫn xuất cyclodextrin ( $\beta$ -CD) được điều chỉnh bằng azobenzene có thể tạo thành phức chất trong dung dịch nước. Dẫn xuất  $\beta$ -CD này sau đó được chức năng hóa trên bề mặt hạt nano vàng

(AuNP) thông qua phản ứng trao đổi phối tử trong dung dịch nước, dẫn đến sự hình thành các lai ghép rotaxane dựa trên AuNPs [71].

Cyclodextrin ghép hạt nano vàng cũng làm phương tiện mang thuốc cho cisplatin, một loại thuốc chống ung thư hiệu quả. Shi Y và cộng sự đã khám phá việc sử dụng một cơ chế ghép nhanh cho phương tiện mang hạt nano vàng phủ cyclodextrin, với một liên hợp adamantane-oxoplatin là một sản phẩm của cisplatin, để sản xuất một loại cisplatin [72]. Hệ thống hai phần, sử dụng sự tương tác giữa chủ và khách giữa  $\beta$ -cyclodextrin và adamantane, hữu ích cho việc cấu thành nhanh chóng các sợi nano đa chức năng trước khi ứng dụng vào hóa trị liệu.

Sierpe R và cộng sự 2015, đã tổng hợp của phức hợp bao gồm  $\beta$ -cyclodextrin - phenylethylamine ( $\beta$ -CD-PhEA) 1:1 và sự kết dính của các hạt nano vàng lên các vi tinh thể của phức hợp này. Độ bám dính của AuNP thu được bằng kỹ thuật phún xạ từ (Magnetron Sputtering Technique), và sự hiện diện của AuNPs được xác nhận bằng phương pháp quang phổ UV (hiệu ứng cộng hưởng plasmon bề mặt), cho thấy độ hấp thụ ở 533 nm [73].

Hợp chất bao  $\alpha$ -cyclodextrin-octylamine ( $\alpha$ -CD-OA) được tạo ra thông qua sự gia nhiệt plasmonic của các hạt nano vàng đã được Silva N và cộng sự 2016, nghiên cứu. Các AuNP được chức năng hóa trên kính và được bao phủ bởi các IC được theo dõi bằng cách ghi lại hình ảnh bằng AFM trong 5 giờ chiếu xạ qua trung gian laser và hình ảnh cho thấy sau khi chiếu xạ, đã giảm đáng kể chiều cao của AuNPs [74].

Trong một công trình khác về điện cực carbon thủy tinh (GCE) của Chen W và cộng sự, các hạt nano vàng trước tiên được trùng hợp trên bề mặt của điện cực carbon thủy tinh (GCE) bằng cách sử dụng chức năng đo thời gian, sau đó các hạt nano vàng/thiol- $\beta$ -cyclodextrin được tổng hợp trực tiếp với phức chất thiol- $\beta$ -CD (SH-CD) và graphene oxide (GO) bằng phương pháp von kế tuần hoàn (CV) [75].

Phương pháp đơn giản và rất nhanh để tổng hợp các hạt nano vàng hình cầu đơn (AuNPs) sử dụng làm chất khử cho ba loại cyclodextrin tự nhiên ( $\alpha$ -,  $\beta$ - và  $\gamma$ -CD) đã được Stiufig G và cộng sự công bố [76]. Các cyclodextrin hình cầu phủ các hạt nano vàng ( $\alpha$ -,  $\beta$ - hoặc  $\gamma$ -CD@AuNPs) đã được điều chế trong một khoảng thời gian rất ngắn (dưới 10 phút) bằng cách trộn các dung dịch  $Au^{3+}$  với dung dịch nước của

từng loại cyclodextrin tự nhiên, sau đó một xử lý nhiệt rất ngắn (2 phút) bên trong lò vi sóng.

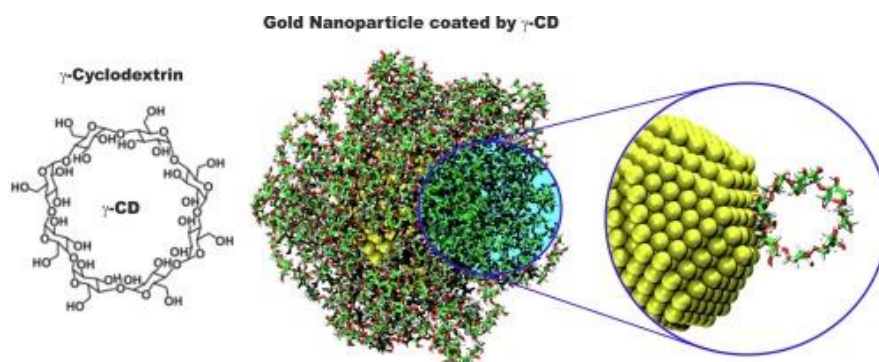
Hợp chất bao IC (inclusion compound) của cyclodextrin có chứa thuốc chống ung thư Methotrexate (MTX) là một phân tử khách đã thu được để tăng khả năng hòa tan của MTX và giảm tác dụng độc hại vốn có của nó trong các tế bào không đặc hiệu. Silva N và cộng sự 2018, đã kết hợp IC với các hạt nano vàng bằng phương pháp hóa học, tạo ra một hệ thống phân phối thông minh ternary cho các phân tử MTX, dựa trên tính chất plasmonic của AuNPs [77].

Các phối tử không ion amphiphilic, được tổng hợp với một nửa kỵ nước cố định được hình thành bởi một chuỗi alkyl được kiểm tra và một vòng thơm, và với một đuôi ưa nước bao gồm một số lượng đơn vị oxyethylene khác nhau, được sử dụng để chức năng hóa các hạt nano vàng hình cầu. Các phép đo huỳnh quang trạng thái ổn định về thời gian của AuNPs đã được giải quyết bởi Coelho J.P và cộng sự, với sự hiện diện của  $\alpha$ -cyclodextrin ( $\alpha$ -CD) cho thấy sự hình thành các phức siêu phân tử giữa phối tử và macrocycle ở bề mặt của các tinh thể nano [78].

Một cấu trúc dựa trên hạt nano vàng mới đã được thiết kế để đưa thuốc kỵ nước vào tế bào ung thư. Cyclodextrin hấp phụ trên các hạt nano vàng phủ polyethylen (AuNP@PEI@CD) đã được Granet R và cộng sự sử dụng để đóng gói các hợp chất tetrapyrrolic kỵ nước bao gồm các phức vàng của 5,10,15,20-tetraphenyl porphyrin (AuTPPCl)-10,15,20-triphenyl porphyrin (AuTPPOAcCl). Kích thước trung bình của các hạt nano AuNP@PEI ở khoảng 30 nm và tăng lên 45 nm khi được bổ sung CD. Hai hạt nano này đã được thử nghiệm về hoạt động gây độc tế bào của chúng chống lại hai dòng tế bào ung thư đại trực tràng HT-29 và HCT-116 và đã cho thấy sự gia tăng đáng kể về độc tính khi so sánh với các loại macrocyclic không có vector [79].

Gần đây (2021), nhóm nghiên cứu Maria V. Slavgorodska [80] đã sử dụng  $\alpha$ -CD như một chất làm bền hiệu quả trong tổng hợp các hạt nano vàng. Quá trình chức năng hoá  $\alpha$ -CD trên bề mặt AuNPs được nghiên cứu bằng phương pháp mô phỏng động lực học toàn phần nguyên, phân tử - MD (all-atom molecular dynamics). Kết quả chỉ ra rằng, liên kết của các phân tử  $\alpha$ -CD và bề mặt AuNPs thông qua nhiều tương tác khác nhau, trong đó vai trò chức năng hoá chủ yếu của các nhóm hydroxyl sơ cấp và thứ cấp. Việc phân tích các hàm phân bố xuyên tâm được tính toán giữa các nguyên tử

vàng và  $\gamma$ -CD cho thấy rằng việc neo và hướng liên kết của chất hấp phụ lên bề mặt AuNPs phụ thuộc vào nồng độ  $\gamma$ -CD.



**Hình 1.8.** Mô phỏng quá trình chức năng hoá  $\gamma$ -CD lên bề mặt các hạt nano vàng [80]

## Chương 2. NGHIÊN CỨU - THỰC NGHIỆM

### 2.1. NGUYÊN LIỆU – HÓA CHẤT

Nguyên liệu và hóa chất sử dụng trong thực nghiệm được cung cấp từ các hãng Acros (Hoa Kỳ), Sigma Aldrich (Hoa Kỳ), Merck (Đức), Chemsol (Việt nam), HiMedia (Ấn Độ), Xilong (Trung Quốc) với chất lượng cao và phù hợp mục đích sử dụng cho tổng hợp hóa học và phân tích.

**Bảng 2.1** Các hóa chất sử dụng

STT	Tên hóa chất	Công thức hóa học (P)	Nguồn gốc
1	Sodium alginate	$C_6H_7NaO_6$ (99,5%)	Acros
2	$\beta$ -cyclodextrin	$C_{42}H_{70}O_{35}$ (99,8%)	Acros
3	2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin	$C_{63}H_{112}O_{42}$ (99,5%)	Acros
4	Triacetyl- $\beta$ -cyclodextrin	$C_{84}H_{112}O_{56}$ (99,5%)	Acros
5	p-Toluenesulfonylchloride	$CH_3C_6H_4SO_2Cl$ (99,8%)	Acros (Bỉ)
6	Dichloromethane	$CH_2Cl_2$ (99,8%)	Macron (Mỹ)
7	Silica gel 230-400 mesh	$SiO_2$ (99%)	HiMedia (Ấn Độ)
8	Sodium hydroxide	$NaOH$ (99,8%)	Merck (Đức)
9	5-Fluorouracil (5-FU)	$C_4H_3FN_2O_2$	Acros
10	Calcium chloride	$CaCl_2$ (99,8%)	Merk
11	Tetrachloroauric acid	$HAuCl_4$ (99,8%)	Merk
12	Trisodium citrate dihydrate	$C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ (99,5%)	Acros
13	Phosphate buffered salinetablet	(99,5%)	Merk
14	Màng thấm tách	MWCO (3-5 kda)	Spectra/Por
15	Ammonium chloride	$NH_4Cl$ (99%)	Xilong (TQ)
16	Acetone	$C_3H_6O$ (99%)	Chemsol (VN)
17	Ethyl acetate	$C_4H_8O_2$ (99%)	Chemsol (VN)
18	n-Hexane	$C_6H_{14}$ (99%)	Chemsol (VN)
19	1,3- Diaminopropane	$C_3H_{10}N_2$ (99,5%)	Acros (Bỉ)
20	Ethanol	$C_2H_5OH$ (99%)	Chemsol (VN)
21	1,6- Hexanediamine	$C_6H_{16}N_2$ (99,5%)	Acros (Bỉ)
22	Tetrachloroauric acid	$HAuCl_4$ (99,8%)	Acros (Bỉ)



## 2.2. DỤNG CỤ-THIẾT BỊ

### Dụng cụ:

- Bình cầu có 3 cổ (250 mL; 500 mL).
- Bình thủy tinh đáy nhọn (100 mL; 250 mL).
- Bình cô quay (250 mL).
- Bộ lọc phễu chân không (Germany).
- Bình định mức (5 mL; 10 mL; 20 mL; 100 mL).
- Becher (250 mL; 500 mL).
- Erlen (250 mL; 500 mL).
- Pipet (1 mL; 5 mL; 10 mL; 25 mL).

### Thiết bị:

**Bảng 2.2** Các thiết bị sử dụng

<b>Tên thiết bị</b>	<b>Model</b>	<b>Nơi thực hiện</b>
Phổ cộng hưởng từ hạt nhân	AVANCE (500 MHz)	Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
Phổ hồng ngoại	Tensor 27 FT-IR spectrophotometer (Bruker, Germany)	Viện Công nghệ Hóa học
Phổ khối	Aligent 6120	Viện Công nghệ Hóa học
Phổ khối đầu dò tứ cực QTOF-MS	X500R QTOF	Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
TEM	S-4800 JEOL JEM1400	Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
HR-TEM	JEOL JEM 2100	Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
FESEM	S-4800 HI-9057-0006	Viện Công nghệ Hóa học
XRD	Bruker D8 Advance	Viện Công nghệ Hóa học
Phân tích kích thước hạt	SZ – 100 HORIBA	Viện Công nghệ Hóa học

và thế zeta		
Phổ UV – Vis	UV-Vis JASCO V-630 Spectrophotometer,U.S.A	Trường ĐH Công nghiệp thực phẩm tp HCM.
Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao	Agilent 1100 series	Trường ĐH Công nghiệp thực phẩm tp HCM.
Máy sấy thăng hoa	Micromodulyo Freeze Dryer-Thermo Electron Corporation	Viện Công nghệ Hóa học
Phân tích nhiệt vi sai, nhiệt trọng lượng	LabSys Evo 1600 thermal analyser	Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
Cân vi lượng	Sartorius	Viện Công nghệ Hóa học
Máy khuấy từ gia nhiệt	MR Hei-tec	Viện Công nghệ Hóa học
Máy ly tâm	Centrifuge Machine Model EBA 20-Hettich	Viện Công nghệ Hóa học
Bồn siêu âm	Ultrasonic Cleaner-jp310	Viện Công nghệ Hóa học
Lò vi sóng	R-218L(S)	Viện Công nghệ Hóa học
Máy cô quay chân không	RE 300	Viện Công nghệ Hóa học

## 2.3. THỰC NGHIỆM

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

Các dẫn xuất amine của  $\beta$ -CD thông thường đều được tổng hợp qua một dẫn xuất trung gian là mono-6-(*p*-toluenesulfonyl)-6-deoxy- $\beta$ -cyclodextrin (TsCD). Đây là con đường tổng hợp cho hiệu suất khá cao, tuy nhiên việc sử dụng quy trình nhiệt thường kéo dài thời gian phản ứng. Bên cạnh đó các dung môi hữu cơ sử dụng bao gồm pyridine, 1,1,2,2-tetrachloroethane, 1,2-dichloroethane...thường gây ra những ảnh hưởng không mong muốn cho môi trường. Trong nghiên cứu này, các dẫn xuất amine của  $\beta$ -CD được tổng hợp dựa theo tài liệu [93,94] với một số cải tiến nhằm nâng cao

hiệu suất, rút ngắn thời gian phản ứng và hạn chế tác động môi trường, trong đó quy trình đun hồi lưu đã được thay thế bằng kỹ thuật chiếu xạ vi sóng. Bên cạnh đó, tác chất tosylchloride (trong dung môi pyridine) đã được thay thế bằng tosylimidazole (dung môi nước). Do đó quy trình thực nghiệm được bắt đầu bằng điều chế tosylimidazole trước khi các quá trình biến tính  $\beta$ -CD được thực hiện.

### 2.3.1.1 Quy trình tổng hợp 1-(*p*-toluensulfonyl) imidazole (TsIm)

Hợp chất TsIm được điều chế bằng phản ứng giữa TsCl và imidazole.

Cho 500 mL DCM (đã được ngâm với  $\text{CaCl}_2$  qua một đêm và sau đó chưng cất trong  $\text{CaSO}_4$ ), 10g (52,5 mmol) TsCl và 8g (118 mmol) imidazole vào bình phản ứng đã sấy khô. Phản ứng được thực hiện ở 0 °C trong 4 giờ dưới khí  $\text{N}_2$ . Hỗn hợp sau phản ứng được lọc qua phễu Buchner chứa một lớp silica gel để loại phần tác chất chưa phản ứng. Rửa chất trên phễu bằng hỗn hợp dung môi ethyl acetate/hexane (1:1). Dịch lọc được loại dung môi bằng cô quay áp suất kém, thu chất rắn rồi tái kết tinh trong ethyl acetate:hexane (1:10) cho sản phẩm TsIm.

$R_f$  (ethyl acetate: hexane/1:1) = 0,6.

ESI-MS ( $m/z$ ) 223,55  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta_H$  8,01 (s, NCHN); 7,83 (d,  $J = 8,5$  Hz, Ar-H); 7,36 (d,  $J = 8$  Hz, Ar-H); 7,29 (s, -NCHCHNSO<sub>2</sub>); 7,08 (s, -NCHCHNSO<sub>2</sub>); 2,43 (s, -CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta_C$  146,3; 136,7; 135,0; 131,4; 130,4; 127,3; 117,5; 21,7.

### 2.3.1.2 Tổng hợp mono-6-(*p*-toluenesulfonyl)-6-deoxy- $\beta$ -cyclodextrin (Ts-CD)

Hợp chất Ts-CD được tổng hợp từ  $\beta$ -CD và TsIm.

Hỗn hợp phản ứng gồm 17,51 g  $\beta$ -CD (15,42 mmol) đã được sấy chân không 80 °C trong 24 giờ; 4,45 g (20 mmol) TsIm được cho vào bình cầu 3 cổ dung tích 1000 mL. Loại bỏ hơi ẩm và không khí trong bình bằng khí  $\text{N}_2$ , thêm 175 mL nước cất 2 lần vào hỗn hợp và khuấy trong 4 giờ ở 0 °C. Cho từ từ 25 mL dung dịch NaOH 20% vào bình phản ứng và khuấy thêm 10 phút. Lọc dung dịch sau phản ứng, loại bỏ phần rắn và trung hòa bằng  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Kết tủa TsCD tạo thành khi môi trường đạt pH 7. Tủa được rửa nhiều lần bằng nước cất và sấy chân không ở 60 °C (10 mmHg) thu được chất rắn màu trắng (Ts-CD).

TLC: butanol:ethanol:nước (5:4:3),  $R_f = 0,6$ .

QTOF-MS ( $m/z$ ):  $[M+Na]^+ = 1311,3664$ .

FT-IR ( $\nu$ ,  $cm^{-1}$ ): O-H (3386); C-H (2927); C=C (1645 và 1365); O=S=O (1157); C-O (1029).

Phổ  $^1H$ -NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm):  $\delta$  7,75 (d, 2H,  $J = 8$ Hz, H8, H12), 7,44 (d, 2H,  $J = 8$ Hz, H9, H11), 5,62-5,8 (m, 14H, 1(OH)2, 1(OH)3, 6(OH)2', 6(OH)3'), 4,76-4,84 (m, 7H, 1H1, 6H1'), 4,18-4,48 (m, 8H, 6(OH)6', 2H6) 3,21-3,65 (m, 34H, H2, H3, H4, H5, 6H2', 6H3', 6H4', 6H5', 6H6'), 2,42 (s, 3H, H13).

Phổ  $^{13}C$ -NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm):  $\delta$  144,7 (C-7); 132,7 (C-10); 129,8 (C-9, C-11); 127,5 (C-8, C-12); 101,9 (C-1); 81,5 (C-4); 73,0 (C-2); 72,4 (C-3); 72,0 (C-5); 59,8 (C-6); 21,1 (C-13).

### 2.3.1.3 Tổng hợp mono-6-azide-deoxy-6- $\beta$ -cyclodextrin (CD-N<sub>3</sub>)

Hợp chất CD-N<sub>3</sub> được tổng hợp từ Ts-CD và sodium azide.

Hoà tan 0,5 g Ts-CD (0,39 mmol), 0,5 g sodium azide (7,69 mmol) bằng 50 mL nước cất 2 lần trong bình phản ứng. Hỗn hợp được khuấy từ và đun hồi lưu ở 100 °C trong 12 giờ. Lọc bỏ chất rắn của hỗn hợp sau phản ứng, cô đặc phần dung dịch để loại bỏ ít nhất 95% lượng nước, thêm từ từ 1,1,2,2-tetrachloroethane và khuấy hỗn hợp trong 30 phút. Hỗn hợp được bốc hơi dung môi, sản phẩm được tái kết tinh trong nước nóng, sấy chân không qua đêm ở 60 °C thu được  $\beta$ -CD-N<sub>3</sub> màu trắng.

FT-IR ( $cm^{-1}$ , KBr): 3391 (O-H), 2924 (C-H), 2109 (N<sub>3</sub>), 1030 (C-O).

$^1H$ -NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm)  $\delta$  5,72-5,64 (m, 14H, 6OH2', 6OH3'); 4,85-4,81 (m, 7H, H1, 6H1'); 4,42 (t, 6H, 6OH6'); 3,70-3,58 (m, 28H, 6H3', 6H5', 2H6, 12H6', H3, H5), 3,37-3,28 (m, 14H, 6H2', 6H4', H2, H4).

$^{13}C$ -NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm):  $\delta$  102,2 (C-1); 81,4 (C-4); 74,9 (C-2); 72,9 (C-3); 72,4 (C-5); 59,9 (C-6); 49,5 (C-6').

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

Hợp chất CD-NH<sub>2</sub> được tổng hợp bằng quá trình khử mono-6-azide-deoxy-6- $\beta$ -cyclodextrin với tác chất triphenylphosphine.

Cho 3,5 g  $\beta$ -CD-N<sub>3</sub> (3 mmol) và 0,9 g triphenylphosphine (3,4 mmol) vào bình cầu 3 cổ, thêm từ từ 8 mL dimethylformamide, hỗn hợp được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Thêm 6 mL nước, gia nhiệt đến 90 °C và tiếp tục khuấy kết hợp chiếu

xạ vi sóng trong 30 phút. Hỗn hợp sau phản ứng được làm nguội và kết tủa trong acetone. Lọc tủa và rửa lại bằng acetone, sấy chân không qua đêm ở 60 °C (10 mmHg) thu được chất rắn màu trắng (CD-NH<sub>2</sub>).

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): δ 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): δ 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).

### **2.3.1.5. Tổng hợp mono-6-(1,3-trimethylenediamine)-6-deoxy-β-CD (TMACD); mono-6-(1,6-hexamethylenediamine)-6-deoxy-β-CD (HMACD)**

Hoà tan TsCD (0,5 g, 0,42 mmol) bằng 1,3-diaminopropane (3,3mL, 38,67 mmol) hoặc 1,6-diaminohexane (1,5g, 38,67 mmol) trong bình phản ứng. Thực hiện chiếu xạ vi sóng hệ phản ứng trong 12 phút có hồi lưu ở công suất 300W. Kết tủa hỗn hợp với trong 600 mL ethanol tuyệt đối. Lọc và rửa lại trên phễu Buchner 3 lần bằng ethanol tuyệt đối để loại bỏ amine còn dư và sấy chân không ở 60 °C (10 mmHg), thu được sản phẩm TMACD hoặc HMACD.

*Sản phẩm TMACD:*

TLC: R<sub>f</sub> (butanol:ethanol:nước:ammoniac = 5:4:3:5) = 0,49.

QTOF-MS (*m/z*): [M+H]<sup>+</sup> = 1191,4457.

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

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O, ppm): δ 5,05 (*s*, 7H, 6H<sub>1</sub>', 1H<sub>1</sub>), 3,94-3,82 (*m*, 32H, 6(OH)<sub>6</sub>', 1(OH)<sub>2</sub>, 6(OH)<sub>2</sub>', 1(OH)<sub>3</sub>, 6(OH)<sub>3</sub>', 6H<sub>5</sub>', 6H<sub>3</sub>'), 3,64-3,53 (*m*, 14H, 1H<sub>2</sub>, 6H<sub>2</sub>', 1H<sub>5</sub>, 6H<sub>4</sub>'), 3,42-3,39 (*m*, 1H, NH), 3,09-3,03 (*m*, 1H, H<sub>4</sub>), 2,79-2,75 (*m*, 4H, H<sub>6</sub>, H<sub>7</sub>), 2,63-2,61 (*m*, 2H, H<sub>9</sub>), 1,71-1,68 (*m*, 2H, H<sub>8</sub>), 1,17 (*t*, *J* = 7Hz, 2H, NH<sub>2</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O, ppm): δ 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).

*Sản phẩm HMACD:*

R<sub>f</sub> (butanol:ethanol:nước = 5:4:3) = 0,49.

QTOF-MS ( $m/z$ ):  $[M+H]^+ = 1233,4870$ .

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

$^1H$ -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,  $J = 13,5Hz$ , 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).

$^{13}C$ -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).

### **Phân tích sản phẩm:**

Độ tinh khiết của sản phẩm được đánh giá thông qua nhiệt độ nóng chảy và sắc ký lớp mỏng. Cấu trúc sản phẩm được phân tích bằng các phương pháp phổ: ESI-MS; FT-IR;  $^1H$ -NMR và  $^{13}C$ -NMR.

Hiệu suất tổng hợp được tính theo các công thức:

$$m_{lt} = w.a$$

$$H(\%) = \frac{m_{lt}}{m_{tt}} \cdot 100\% \quad (2-1)$$

Trong đó:

w: LKPT; a: Số mol ban đầu của  $\beta$ -CD

$m_{lt}$  là khối lượng sản phẩm theo lý thuyết (g)

$m_{tt}$  là khối lượng sản phẩm thực tế (g)

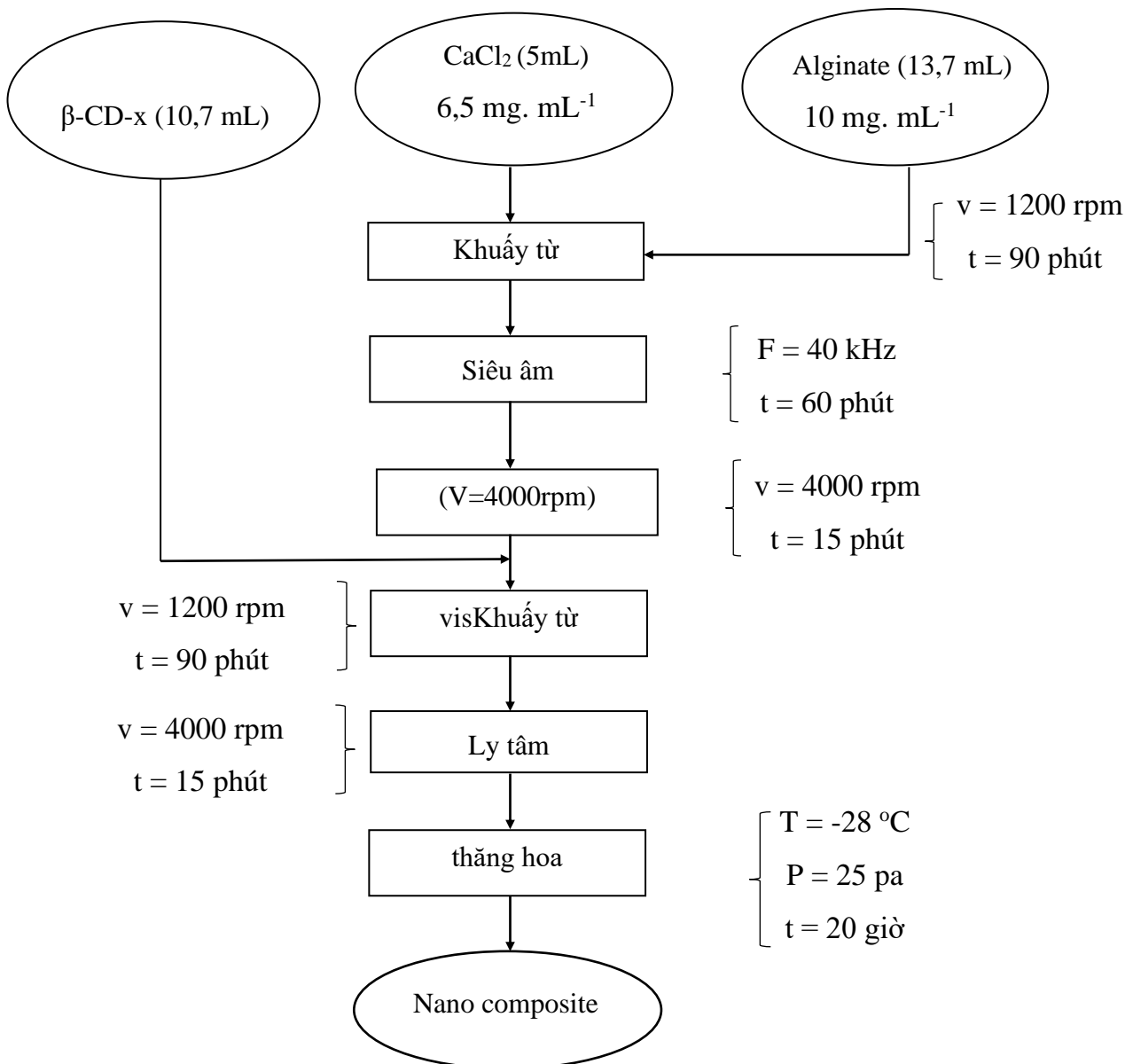
- Theo dõi các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất phản ứng:

- ❖ Khảo sát các điều kiện phản ứng tạo ra dẫn xuất trên thiết bị lò vi sóng (tỉ lệ mol các tác chất, thời gian phản ứng, nhiệt độ, công suất chiếu xạ vi sóng).
- ❖ Theo dõi thời gian phản ứng bằng sắc ký bản mỏng (TLC monitoring). Thời điểm kết thúc phản ứng được xác nhận thông qua sự thay đổi tín hiệu (vết trên bản mỏng) của tác chất và sản phẩm.
- ❖ Hiệu suất phản ứng của phương pháp sử dụng vi sóng được so sánh với phương pháp hồi lưu truyền thống.

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

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

Vật liệu nano gel  $\beta$ -CD-x/alginate được tạo thành bởi tương tác tĩnh điện theo cơ chế tạo phức đa ion (polyelectrolyte complexes). Trong đó, alginate là một polymer phân hủy sinh học đóng vai trò tạo gel và ổn định độ keo. Trong phương pháp này, các hạt hydrogel, còn gọi là gelspheres, được hình thành từ quá trình liên kết chéo giữa các phân tử  $\beta$ -CD-x và alginate thông qua các ion  $\text{Ca}^{2+}$ . Quá trình tổng hợp được thực hiện theo sơ đồ Hình 2.1.



**Hình 2.1.** Sơ đồ quy trình tổng hợp vật liệu nanogel trên cơ sở  $\beta$ -CD và  $\beta$ -CD biến tính.

### *Thực hiện phản ứng*

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  $\beta\text{-CD-x}$  (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)

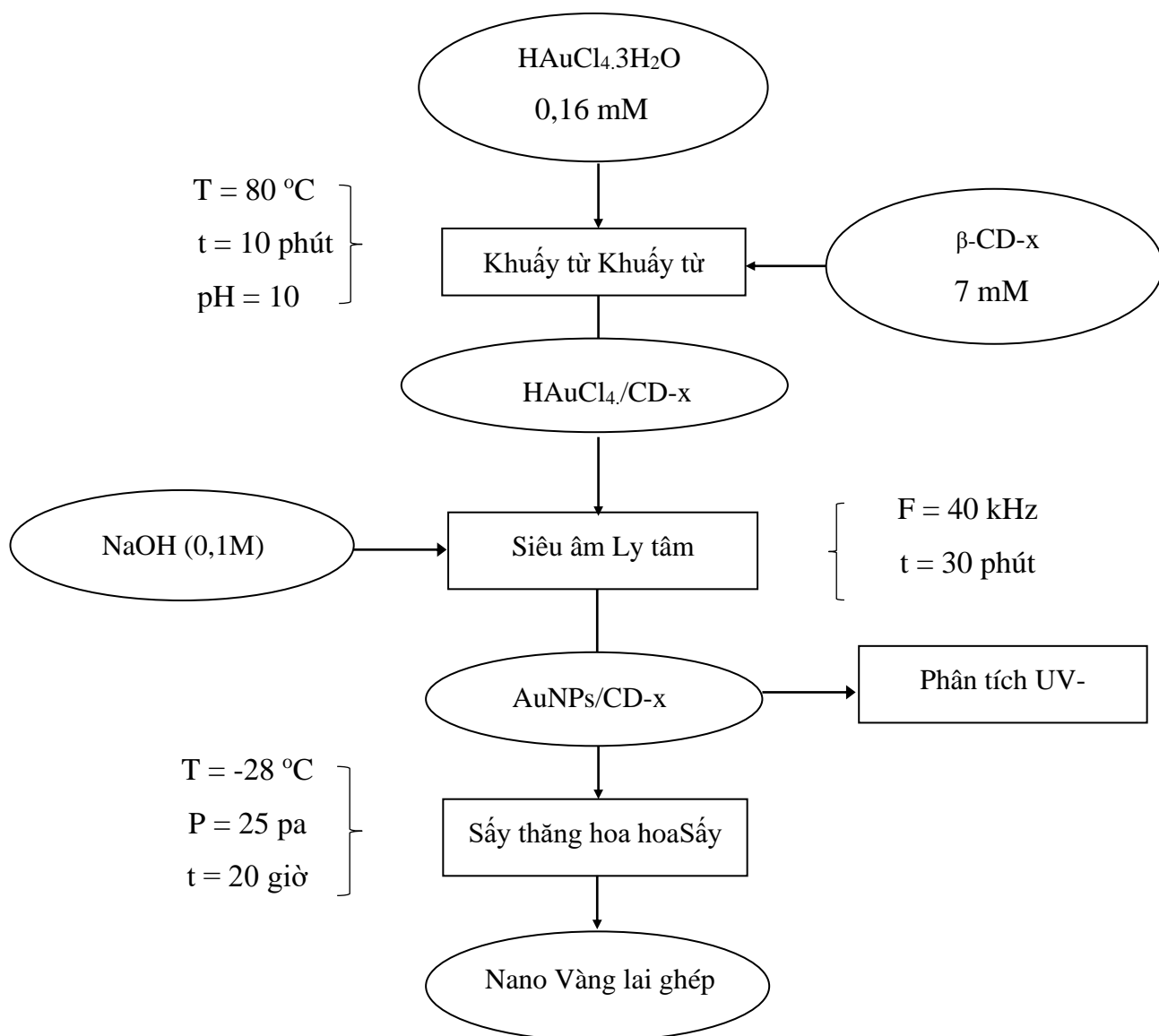
### **2.3.2.2 Vật liệu lai ghép với các hạt nano vàng**

Các hạt nano vàng có thể được tổng hợp bằng cách khử muối kim loại bằng các chất khử với sự có mặt của chất ổn định. Nhiều chất ổn định như chitosan, alginate, cellulose thường được sử dụng trong quá trình tổng hợp AuNPs do đặc tính tương thích sinh học của chúng. Nhiều kết quả nghiên cứu [70-72] cho thấy việc điều chế các hạt nano vàng trong dung dịch nước diễn ra thuận lợi ở môi trường base. Công bố gần đây của chúng tôi với việc sử dụng  $\beta\text{-CD}$  như một tác nhân kép trong điều chế các hạt nano vàng [98] chỉ ra rằng quá trình hình thành AuNPs và độ ổn định của chúng phụ thuộc đáng kể vào các điều kiện phản ứng bao gồm nồng độ  $\beta\text{-CD}$ ; nhiệt độ; thời gian



phản ứng và pH môi trường.

Trong nghiên cứu này, các hạt nano vàng được tổng hợp từ quá trình khử dung dịch  $\text{HAuCl}_4$  bằng các dẫn xuất  $\beta\text{-CD-x}$  với sự hỗ trợ của sóng siêu âm. Quá trình lai ghép được mô tả như trên Hình 2.2. Việc tối ưu hóa tổng hợp được thực hiện bằng cách thay đổi các điều kiện phản ứng bao gồm nồng độ  $\beta\text{-CD-x}$  (5-20 mM), pH (8-12), nhiệt độ (40-90 °C) và thời gian (0-50 phút).



**Hình 2.2** Quy trình tổng hợp nano các hệ nano vàng lai ghép ( $\text{AuNPs}/\text{CD-x}$ )

#### Thực hiện phản ứng

Các hạt nano  $\text{AuNPs}/\text{CD-x}$  được tổng hợp qua quá trình khử  $\text{HAuCl}_4$  bằng  $\beta\text{-CD-x}$  trong dung dịch base 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. Các điều kiện phản ứng khác nhau bao gồm nồng độ  $\beta$ -CD-x, pH, nhiệt độ và thời gian phản ứng 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 được điều chỉnh bằng cách sử dụng dung dịch NaOH (1M). Phổ UV-Vis được sử dụng để khảo sát sự hình thành nano vàng trong vùng 400-800 nm.

### ***Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ CD-x đến sự hình thành các hệ nano vàng lai ghép***

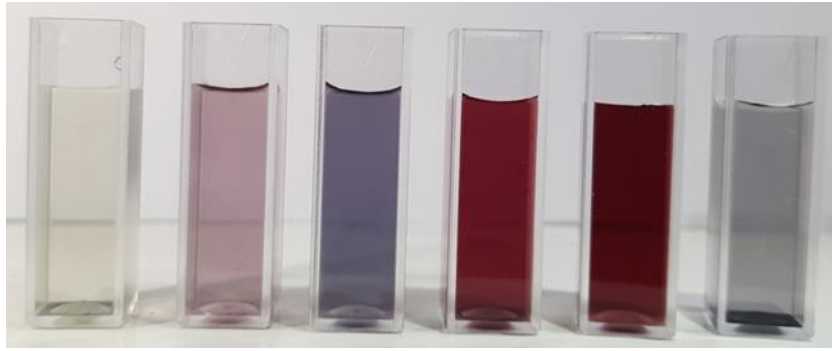
Thực hiện quá trình lai ghép các hệ nano AuNPs/CD-x dưới bức xạ siêu âm 200 W, 40 kHz (không gia nhiệt) trong 30 phút với sự thay đổi nồng độ các dẫn xuất CD-x từ 5 mM đến 20 mM. Hiệu suất tổng hợp được xác nhận qua màu sắc của dung dịch keo AuNPs/CD-x và tính toán dựa trên khối lượng nanocomposite thu hồi bằng kỹ thuật sấy thăng hoa.



**Hình 2.3** Dung dịch AuNPs/CD ở các điều kiện nồng độ CD khác nhau (từ 0 mM đến 20 mM).

### ***Khảo sát ảnh hưởng của pH đến sự hình thành các hệ nano vàng lai ghép***

Ảnh hưởng của pH môi trường đến quá trình lai ghép các hệ nano AuNPs/CD-x được khảo sát bằng việc cố định nồng độ CD-x tại điểm tối ưu và tăng dần giá trị pH từ 8 đến 12. Sự hình thành các hệ nano vàng lai ghép được xác nhận qua màu sắc của dung dịch AuNPs/CD-x và hiệu suất tổng hợp tính toán dựa trên khối lượng nanocomposite thu hồi bằng kỹ thuật sấy thăng hoa.



**Hình 2.4.** Dung dịch hệ AuNPs/CD ở các điều kiện pH khác nhau (từ pH 8 đến pH 12).

***Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng đến sự hình thành các hệ nano vàng lai ghép***

Ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng đến quá trình lai ghép các hệ nano AuNPs/CD-x được khảo sát bằng việc cố định nồng độ CD-x và pH môi trường tại điểm tối ưu và tăng nhiệt từ 40 °C đến 90 °C. Sự hình thành các hệ nano vàng lai ghép được xác nhận qua màu sắc của dung dịch keo AuNPs/CD-x và hiệu suất tổng hợp tính toán dựa trên khối lượng nanocomposite thu hồi bằng kỹ thuật sấy thăng hoa.

***Khảo sát ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến sự hình thành các hệ nano vàng lai ghép***

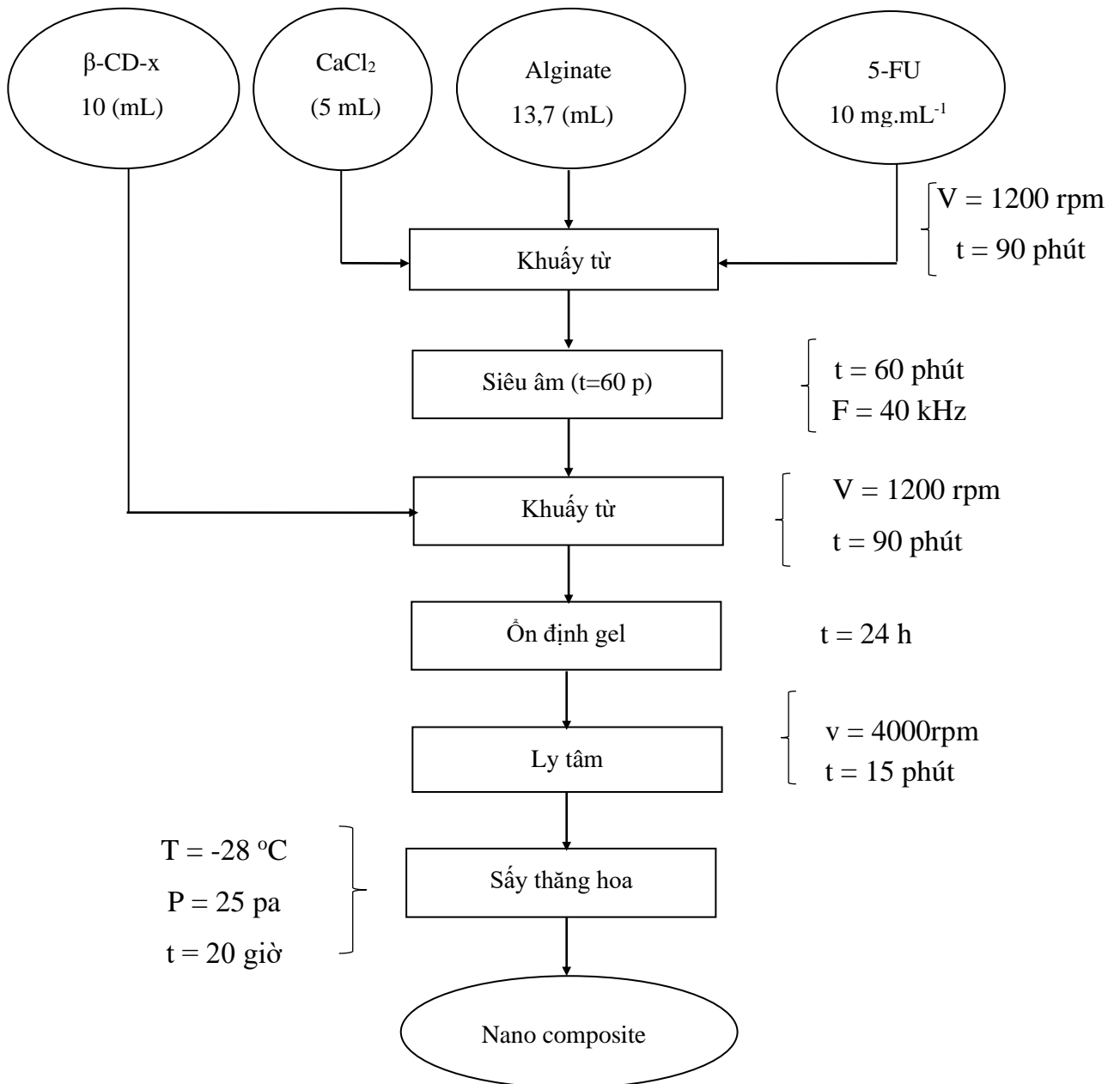
Ảnh hưởng của thời gian phản ứng đến quá trình lai ghép các hệ nano AuNPs/CD-x được khảo sát bằng việc cố định nồng độ CD-x; pH môi trường và nhiệt độ tại điểm tối ưu và tăng thời gian phản ứng từ 0 đến 50 phút. Hiệu suất tổng hợp được xác nhận qua màu sắc của dung dịch keo AuNPs/CD-x và tính toán dựa trên khối lượng nanocomposite thu hồi bằng kỹ thuật sấy thăng hoa.



**Hình 2.5.** Dung dịch AuNPs/CD sau các khoảng thời gian phản ứng (từ 0 phút đến 50 phút).

### 2.3.3 Tổng hợp các vật liệu nano tải thuốc

#### Quy trình tải thuốc 5-FU lên các hệ nano $\beta$ -CD-x/alginate



**Hình 2.6.** Quy trình tổng hợp hệ nano  $\beta$ -CD-x/Alg mang 5-FU

#### Thực hiện phản ứng

Nhỏ từ từ dung dịch 5-FU (10 mg. mL<sup>-1</sup>) theo tỉ lệ khảo sát vào 5 mL dung dịch CaCl<sub>2</sub> (6.5 mg.mL<sup>-1</sup>), khuấy từ với tốc độ 1200 rpm trong vòng 90 phút thu được dung dịch hỗn hợp (dd1). Dung dịch này đem đánh siêu âm không gia nhiệt trong 60 phút. Nhỏ từng giọt (dd1) vào 13,65 mL dung dịch alginate (10 mg. mL<sup>-1</sup>), tiếp tục khuấy với tốc độ 1200 rpm trong vòng 90 phút. Dung dịch sau khuấy được đánh siêu âm

không gia nhiệt trong 60 phút thu được (dd2). Nhỏ từng giọt 10,66 mL dung dịch  $\beta$ -CD-x ( $1,6 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) vào (dd2) và tiến hành khuấy với tốc độ 1200 rpm trong 90 phút.

Dung dịch sau khuấy được đánh siêu âm không gia nhiệt trong 60 phút. Sau khi siêu âm, dung dịch được rót vào ống ly tâm để ổn định gel trong 24 giờ. Tách gel bằng kỹ thuật ly tâm với tốc độ 4000 rpm trong 15 phút, gel được rửa lại với nước khử ion. Quá trình rửa gel được lặp lại 3 lần, sau đó sấy thăng hoa trong 20 giờ thu được nanocomposite.

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 (Bảng 2.3) và xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử UV-Vis tại bước sóng 266 nm.

**Bảng 2.3. Chuẩn bị dãy dung dịch chuẩn từ dung dịch chuẩn 5-FU (stock 10mg/mL)**

S TT	Nồng độ 5-FU ( $\text{mg. mL}^{-1}$ )	V5-FU stock ( $\mu\text{L}$ )	VNước cất ( $\mu\text{L}$ )	Tổng thể tích ( $\mu\text{L}$ )
1	0	0	4000	4000
2	1	400	3600	4000
3	2	800	3200	4000
4	3	1200	2800	4000
5	4	1600	2400	4000
6	5	2000	2000	4000
7	6	2400	1600	4000
8	7	2800	1200	4000
9	8	3200	800	4000
10	9	3600	400	4000
11	10	4000	0	4000

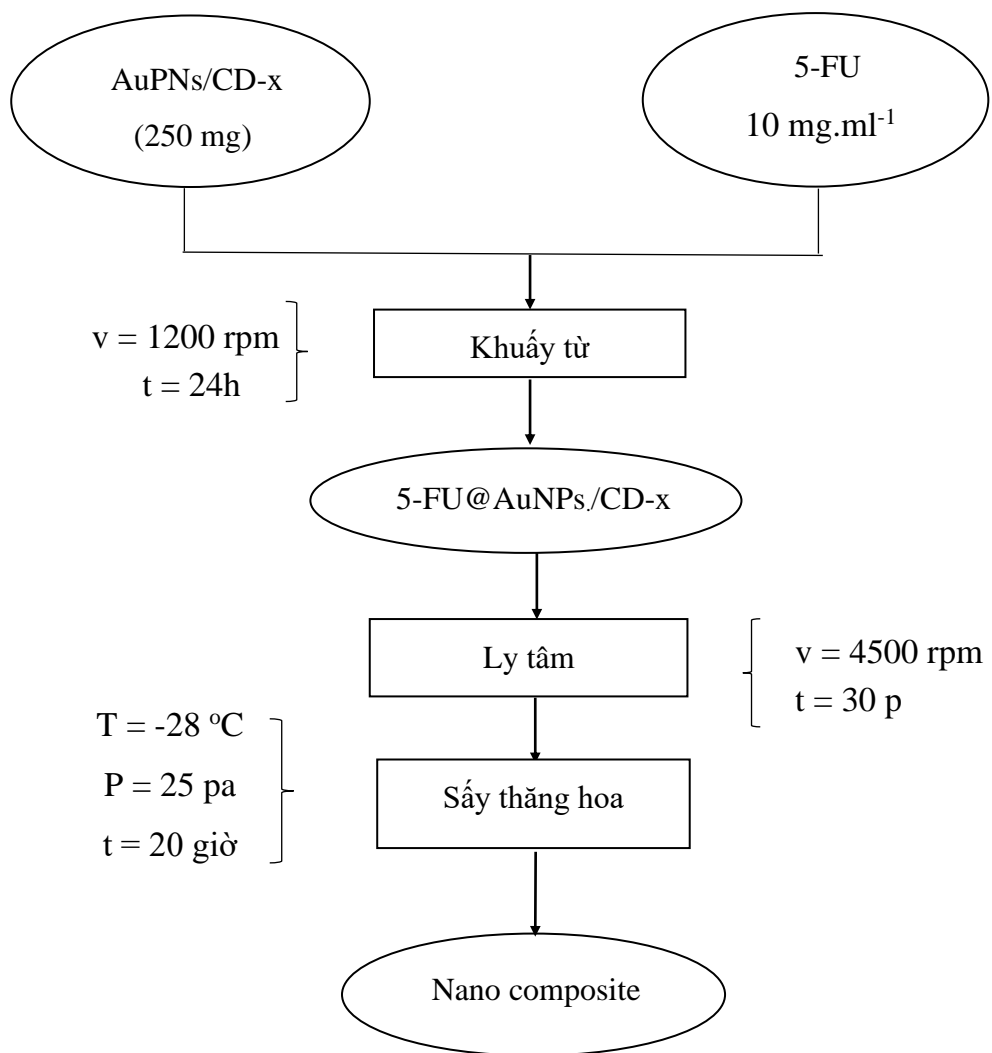
Hiệu suất tạo phức của 5-FU và khả năng dung nạp lên các vật liệu được tính toán theo các công thức tương ứng 2.3 và 2.4.

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

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

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

Cho vào bình phản ứng những lượng AuNPs/CD-x xác định (theo tỷ lệ khảo sát) đã chứa sẵn 5 mL dung dịch 5-FU 10 mg.ml<sup>-1</sup>, khuấy hỗn hợp trong 24 giờ. Hỗn hợp sau khuấy được ly tâm (4500 rpm, 30 phút). Dịch ly tâm được thu lại để đo UV-Vis nhằm xác định dư lượng 5-FU trong dung dịch (không tải được lên hệ nano), qua đó tính hiệu suất mang tải thuốc. Đối với chất rắn, tiến hành rửa bằng 10 mL nước cất sau đó đem sấy thăng hoa trong 20 giờ thu được nanocomposite 5-FU@AuNPs/CD-x.



**Hình 2.7.** Quy trình tải thuốc 5-FU lên các hệ nano AuNPs/CD-x

- Hiệu suất tạo phức và khả năng tải thuốc

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).

#### **2.3.4 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 Tensor 27 FT-IR spectrophotometer (Brucker, 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°.

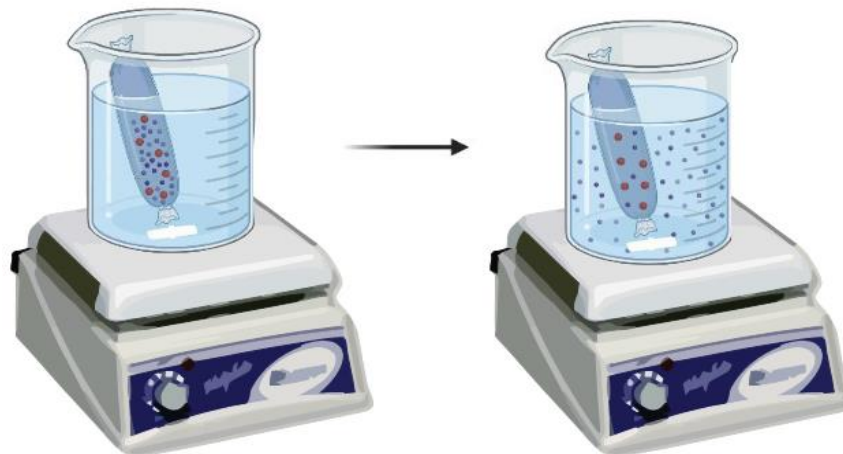
Thành phần, đặc điểm cấu trúc mạng tinh thể của các mẫu thuốc, vật liệu và tổ hợp nanocomposite được xác định bằng phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD) thực hiện trên thiết bị X-ray diffractometer (Bruker, Model-D8 Advance).

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 °C/phút trong không khí.

#### **2.3.5 Giải phóng thuốc**

Thuốc được giải phóng từ các hệ nano bằng phương pháp thẩm tách thuận tương tự các báo cáo trước đây của *Fu and Kao* [99] và *Yusefi et al* [100] với một vài cải tiến nhỏ. Các hạt nano được đưa vào trong một túi thẩm tách có chứa môi trường giải phóng (dung môi và đệm), sau đó được đặt trong một cốc thủy tinh 500 mL chứa môi trường tương ứng (Hình 2.8). Dung dịch bên ngoài được khuấy liên tục, thuốc giải phóng từ vật liệu nano khuếch tán qua màng thẩm tách đến ngăn bên ngoài. Ở các thời điểm khảo sát, mẫu dung dịch chứa thuốc được hút ra để phân tích hàm lượng.

Nghiên cứu giải phóng thuốc được thực hiện trong môi trường sinh lý mô phỏng (nước muối đệm phosphat ở pH 7,4 và pH 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).



**Hình 2.8** Mô hình thẩm tách thuận

Trước khi thử nghiệm, các túi thẩm tách được ngâm 12 giờ trong môi trường giải phóng. Hỗn hợp dung dịch gồm nanocomposite 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 ngay sau đó 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 xây dựng dưới dạng tỷ lệ phần trăm tương đối của thuốc đã giải phóng theo thời gian. Quy trình tương tự được thực hiện đối với các vật liệu nano không mang thuốc làm tiêu chuẩn đối chiếu. Kết quả giải phóng thuốc được tính theo công thức (2.5) từ các môi trường khác nhau.

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

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). Các phương trình toán học đại diện cho các mô hình này được liệt kê như sau:



$$f_t = K_0 t \quad (2.6)$$

$$f_t = 1 - e^{-k_1 t} \quad (2.7)$$

$$\sqrt[3]{f_0} - \sqrt[3]{f_t} = K_{HC} t \quad (2.8)$$

$$f_t = K_H \sqrt{t} \quad (2.9)$$

$$f_t = K_{KP} t^n \quad (2.10)$$

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

Hệ nanocomposite và các thành phần được khảo sát thông qua phương pháp MTT ức chế trên 2 dòng tế bào gồm nguyên bào sợi (tế bào thường) và tế bào ung thư vú MCF-7 (HTB-22), được thực hiện tại Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh. Tế bào 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 chưa tải thuốc, vật liệu tải thuốc và dung dịch sau khi phóng thích thuốc được sử dụng để kiểm tra độc tính tế bào.

Tế bào được gieo trong đĩa 96 giếng với 10.000 tế bào/giếng được nuôi cấy trong 24 giờ trước khi ủ với các mẫu ở các nồng độ khác nhau trong 48 giờ. Các tế bào được đặt vào dung dịch trichloroacetic acid lạnh (50%, w/v) trong 1-3 giờ, rửa sạch và nhuộm bằng SRB (0,2%, w/v) trong 20 phút. Nước và Camptothecin (Calbiochem) lần lượt được sử dụng làm đối chứng âm tính và dương tính. Cường độ hấp thụ được xác định bằng máy đọc bản ELISA (Synergy HT, Biotek Instruments) ở bước sóng 492 nm và 620 nm. Phần trăm ức chế sinh trưởng (%) được xác định ở nồng độ 100 µg/mL thông qua phương trình (2.11).

$$\text{Tỷ lệ ức chế (\%)} = \frac{OD_c - OD_t}{OD_c} \times 100 \quad (2.11)$$

Trong đó OD<sub>c</sub> và OD<sub>t</sub> lần lượt là mật độ quang của mẫu đối chứng âm và mẫu thử. Các vật liệu có khả năng ức chế trên 50% được lựa chọn để nghiên cứu giá trị

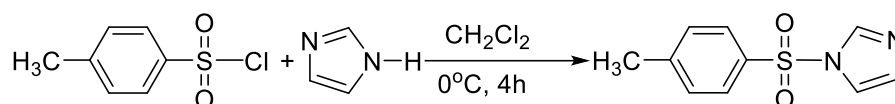
nồng độ ức chế tối đa một nửa ( $IC_{50}$ ). Các giá trị  $IC_{50}$  được xác định qua đồ thị bằng cách sử dụng thuật toán điều chỉnh đường cong. Tất cả các giá trị được biểu thị bằng giá trị trung bình  $\pm$  SD với ít nhất 3 thí nghiệm độc lập.

## Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

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

#### 3.1.1 Tổng hợp 1-(p-toluensulfonyl) imidazole (TsIm)

Hợp chất TsIm đã được điều chế bằng phản ứng giữa TsCl và imidazole trong dung môi DCM, ở 0 °C trong 4 giờ. Phản ứng được mô tả như Hình 3.1. Điểm mấu chốt trong phản ứng này là tránh ẩm cho hệ khi phản ứng, bao gồm cả dụng cụ, tác chất và dung môi, đồng thời đảm bảo môi trường trơ và giữ lạnh tốt cho hệ trong suốt thời gian diễn ra phản ứng. Hiệu suất phản ứng được mô tả trên bảng 3.1.



Hình 3.1. Sơ đồ phản ứng tổng hợp TsIm

Bảng 3.1. Hiệu suất tổng hợp TsIm

	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 4	TB
Imidazole(g)	8,01	8,00	8,01	8,01	
TsCl (g)	10,00	10,01	10,00	10,01	
TsIm (g)	10,6	10,5	10,8	10,4	
Hiệu suất (%)	90,1	90,1	92,7	89,2	90,5 ± 1,08

#### Cấu trúc sản phẩm:

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

Điểm chảy: 79 – 80 °C.

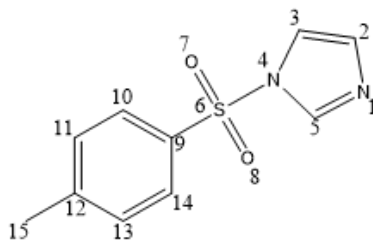
R<sub>f</sub> (ethyl acetate: hexane = 1:1) = 0,6.

Phổ khối MS (phụ lục 1): Từ phổ API-ESI-MS (*m/z*) cho thấy [M+H]<sup>+</sup> = 223,55 tương ứng với M = 222,26 (CTPT của TsIm: C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S).

Phổ <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, ppm): δ 8,01 (*s*, NCHN); 7,83 (*d*, *J* = 8,5Hz, Ar-H); 7,36 (*d*, *J* = 8Hz, Ar-H); 7,29 (*s*, NCHCHNSO<sub>2</sub>); 7,08 (*s*, NCHCHNSO<sub>2</sub>); 2,43 (*s*, -CH<sub>3</sub>). (phụ lục 2). Trên phổ <sup>1</sup>H NMR xuất hiện tín hiệu proton ở độ chuyển dịch hóa học δ<sub>H</sub> 8,01 ppm (*s*, 1H) được gán cho proton của H-5, ở δ<sub>H</sub> 7,83 ppm (*d*, *J* = 8.5 Hz, 2H)

được gán cho proton của H-10 và H-14, ở  $\delta_H 7,36 \text{ ppm}$  ( $d, J = 8.0 \text{ Hz}, 2H$ ) được gán cho proton của H-11 và H-13, ở  $\delta_H 7,29 \text{ ppm}$  ( $s, 1H$ ) được gán cho proton của H-3 và  $\delta_H 7,08 \text{ ppm}$  ( $s, 1H$ ) được gán cho proton của H-2, ở  $\delta_H 2,43 \text{ ppm}$  ( $s, 3H$ ) được gán cho proton của H-15.

Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $125 \text{ MHz}, \text{CDCl}_3, \text{ppm}$ ):  $\delta_C 146,3, 136,7, 135,0, 131,4, 130,4, 127,3, 117,5, 21,7$ . (phụ lục 3). Trên phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  xuất hiện tín hiệu của carbon ở  $\delta_C 146,3 \text{ ppm}$  được gán tương ứng với (C-5), tín hiệu của carbon ở  $\delta_C 136,7 \text{ ppm}$  được gán tương ứng với (C-9), tín hiệu của carbon ở  $\delta_C 135,0 \text{ ppm}$  được gán tương ứng với C-12, tín hiệu của  $-\text{CH}$  ở  $\delta_C 131,4 \text{ ppm}$  được gán tương ứng với (C-10, C-14), tín hiệu của  $-\text{CH}$  ở  $\delta_C 130,4 \text{ ppm}$  được gán tương ứng với (C-11, C-13), tín hiệu của  $-\text{CH}$  ở  $\delta_C 127,3 \text{ ppm}$  được gán tương ứng với (C-3), tín hiệu của  $-\text{CH}$  ở  $\delta_C 117,5 \text{ ppm}$  được gán tương ứng với C-2, tín hiệu của  $-\text{CH}_3$  ở  $\delta_C 21,7 \text{ ppm}$  được gán tương ứng với C-15.



**Hình 3.2.** Cấu tạo phân tử TsIm

### 3.1.2. Tổng hợp mono-6-(p-toluenesulfonyl)-6-deoxy- $\beta$ -cyclodextrin (Ts-CD)

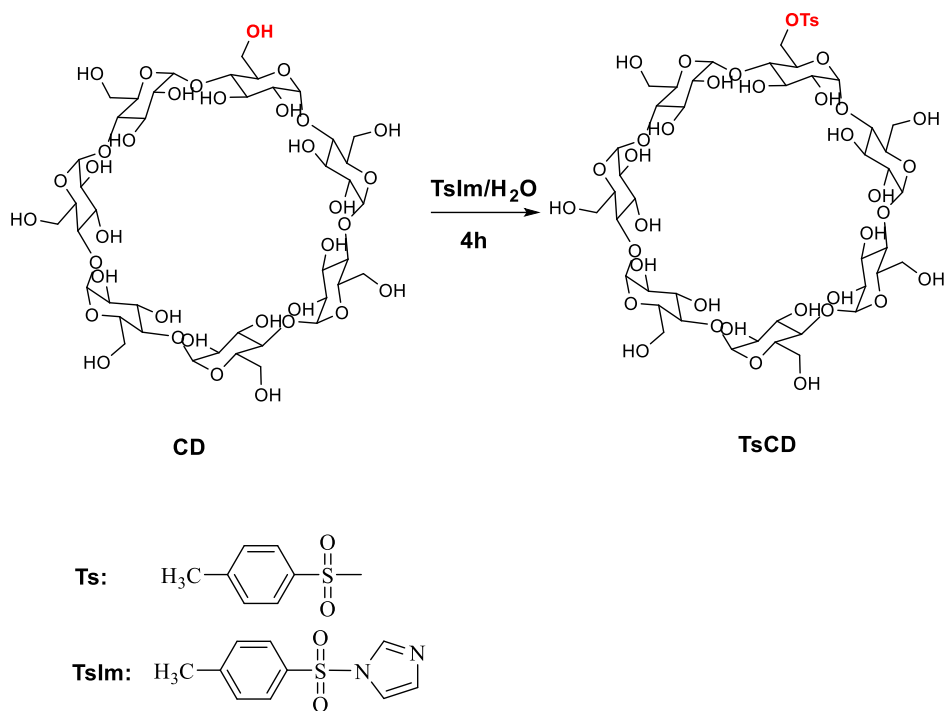
Ts-CD đã được tổng hợp thành công từ  $\beta$ -CD và TsIm với thời gian phản ứng 4 giờ. Phản ứng được mô tả như ở Hình 3.3 và hiệu suất các lần thực nghiệm được thống kê trong bảng 3.2.

*Cấu trúc sản phẩm:*

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

Điểm chảy:  $175-178^\circ\text{C}$

TLC: Dung môi hòa tan là pyridine, dung môi chạy sắc kí là butanol:ethanol:nước (5:4:3), Theo dõi vết của TsIm bằng đèn UV, hiện màu và theo dõi 2 vết của  $\beta$ -CD và TsCD bằng thuốc thử anisaldehyde cho thấy  $R_f = 0,6$ .



**Hình 3.3.** Sơ đồ phản ứng tổng hợp TsCD

**Bảng 3.2.** Hiệu suất tổng hợp TsCD

	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 4	Lần 5
<b><math>\beta</math>-CD (g)</b>	17,51	17,50	17,51	17,5	35,0
<b>TsIm (g)</b>	4,45	4,44	4,45	4,45	8,9
<b>Nước cất (mL)</b>	175	175	175	175	350
<b>TsCD (g)</b>	9,15	9,12	9,12	9,1	19,95
<b>Hiệu suất (%)</b>	46,0	45,9	45,9	45,8	50,2
<b>Hiệu suất trung bình (%)</b>	$45,9 \pm 0,05^{(*)}$				

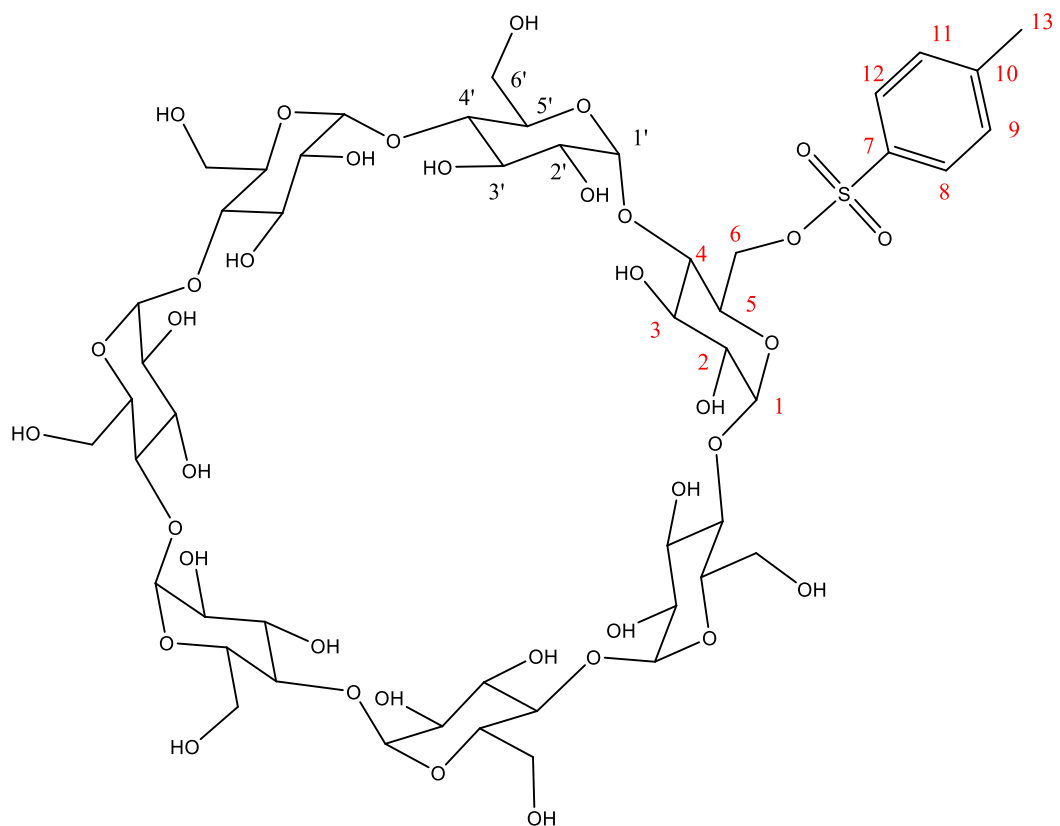
<sup>(\*)</sup> Không tính hiệu suất TB cho lần 5

QTOF-MS ( $m/z$ ) (phụ lục 4): thực nghiệm  $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 1311,3664$ , lý thuyết  $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 1311,3820$ , tương ứng với  $\text{M} = 1288,3786$  ( $\text{C}_{49}\text{H}_{76}\text{O}_{37}\text{S}$ ).

IR ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) (phụ lục 5): Kết quả phân tích phổ FT-IR cho các tín hiệu đặc trưng của những nhóm chức có trong dẫn xuất Ts- $\beta$ -CD gồm: O-H (3386), C-H (2927), C=C (1645; 1365), O=S=O (1157), C-O (1029).

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm):  $\delta$  7,75 (*d*, 2H,  $J = 8\text{Hz}$ , H8, H12), 7,44 (*d*, 2H,  $J = 8\text{Hz}$ , H9, H11), 5,62-5,8 (*m*, 14H, 1(OH)2, 1(OH)3, 6(OH)2', 6(OH)3'), 4,76-4,84 (*m*, 7H, 1H1, 6H1'), 4,18-4,48 (*m*, 8H, 6(OH)6', 2H6) 3,21-3,65 (*m*, 34H, H2, H3, H4, H5, 6H2', 6H3', 6H4', 6H5', 6H6'), 2,42 (*s*, 3H, H13). Trên phổ  $^1\text{H NMR}$  xuất hiện tín hiệu proton ở độ chuyển dịch hóa học  $\delta_{\text{H}}$  7,75 ppm (*d*,  $J = 8\text{ Hz}$ , 2H) được gán cho proton của H-8 và H-12, ở  $\delta_{\text{H}}$  7,44 ppm (*d*,  $J = 8\text{ Hz}$ , 2H) được gán cho proton của H-9 và H-11, ở  $\delta_{\text{H}}$  5,62-5,8 ppm (*br, s*, 14H) được gán cho proton của -OH-2, -OH-2' và -OH-3', ở  $\delta_{\text{H}}$  4,76-4,84 ppm (*m*, 7H) được gán cho proton của H-1 và H-1',  $\delta_{\text{H}}$  4,18-4,48 ppm (*m*, 8H) được gán cho proton của H-6 và H-6', ở  $\delta_{\text{H}}$  3,21-3,65 ppm (*m*, 34H) được gán cho proton của H-2, H-3, H-4, H-5, 6H-2', 6H-3', 6H-4', 6H-5', 6H-6', ở  $\delta_{\text{H}}$  2,42 ppm (*s*, 3H) được gán cho proton của H-13.

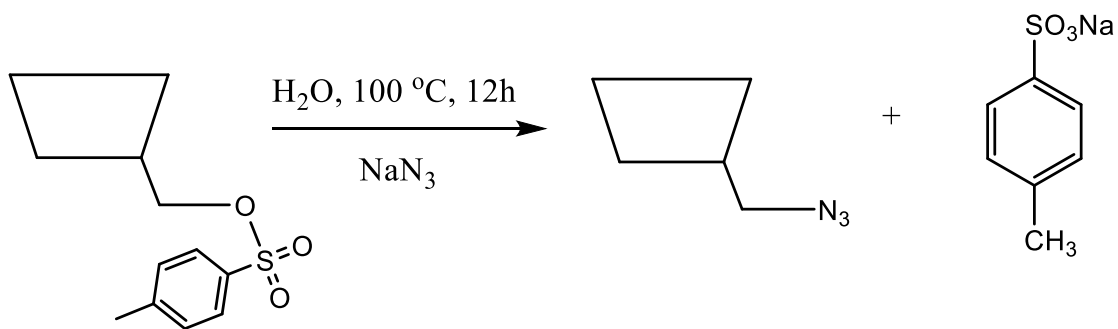
Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  (500 MHz, DMSO,  $\delta$  ppm) (phụ lục 9,10)  $\delta$  144,74 C7; 132,65 C12; 129,84 C10-C11; 127,51 C8-C9; 101,91 C1; 81,53 C4; 73,01 C2; 72,37 C3; 72 C5; 59,82 C6; 21,06 C13. Trên phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  xuất hiện tín hiệu của carbon ở  $\delta_{\text{C}}$  144,8 ppm được gán tương ứng với (C-7), tín hiệu của carbon ở  $\delta_{\text{C}}$  132,7 ppm được gán tương ứng với (C-10), tín hiệu của -CH ở  $\delta_{\text{C}}$  129,9 ppm được gán tương ứng với (C-8, C-12), tín hiệu của -CH ở  $\delta_{\text{C}}$  127,6 ppm được gán tương ứng với (C-9, C-11), tín hiệu của -CH ở  $\delta_{\text{C}}$  102,3 ppm, 102,0 ppm, 101,9 ppm, 101,3 ppm được gán tương ứng với (7C-1), tín hiệu của carbon ở  $\delta_{\text{C}}$  81,7 ppm, 81,6 ppm, 81,5 ppm, 81,2 ppm, 80.8 ppm được gán tương ứng với (7C-4), tín hiệu của carbon ở  $\delta_{\text{C}}$  73,1 ppm, 72,2 ppm, 72,1 ppm, 71,9 ppm được gán tương ứng với (7C-3, 7C-2, 6C-5), tín hiệu của carbon ở  $\delta_{\text{C}}$  69,7 ppm được gán tương ứng với (C-6'), tín hiệu của carbon ở  $\delta_{\text{C}}$  68,9 ppm được gán tương ứng với (C-5'), tín hiệu của -CH<sub>2</sub> ở  $\delta_{\text{C}}$  59,9 ppm, 59,8 ppm, 59,6 ppm, 59,3 ppm được gán tương ứng với (C-6), tín hiệu của -CH<sub>3</sub> ở  $\delta_{\text{C}}$  21,2 ppm được gán tương ứng với (C-13).



**Hình 3.4** Cấu tạo phân tử TsCD

### 3.1.3 Tổng hợp mono-6-azide-deoxy-6- $\beta$ -cyclodextrin (CD-N<sub>3</sub>)

$\beta$ -CD-N<sub>3</sub> đã được tổng hợp từ Ts-CD với thời gian phản ứng 12 giờ, hiệu suất đạt 72,8%. Phản ứng được mô tả như ở Hình 3.5



**Hình 3.5** Phản ứng tổng hợp CD-N<sub>3</sub> từ TsCD

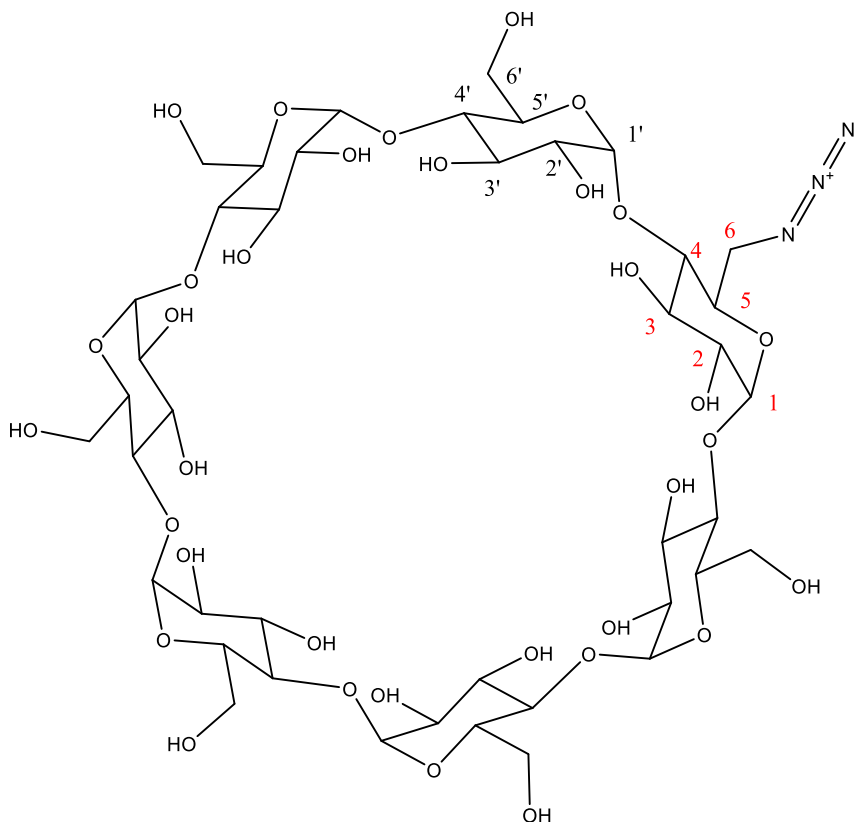
*Cấu trúc sản phẩm:*

Ngoại quan: Sản phẩm có dạng bột mịn, màu trắng.

Điểm chảy: 205 - 206 °C.

IR ( $cm^{-1}$ , KBr) (phụ lục 11): 3391 (O-H), 2924 (C-H), 2109 ( $N_3$ ), 1030 (C-O).

$^1H$ -NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm): (phụ lục 12,13):  $\delta$  5,72-5,64 (m, 14H, 6OH2', 6OH3', 1OH2, 6OH3); 4,85-4,81 (m, 7H, H1, 6H1'); 4,42 (t, 6H, 6OH6'); 3,70-3,58 (m, 28H, 6H3', 6H5', 12H6', H3, H5, 2H6), 3,37-3,28 (m, 14H, 6H2', 6H4', H2, H4). So với phổ  $^1H$ -NMR của TsCD (phụ lục 4), ta nhận thấy rằng tín hiệu H đặc trưng của TsCD tại vị trí 7,76-7,74 và 7,44-7,42 không còn trên phổ  $^1H$ -NMR của CD- $N_3$ . Xuất hiện tín hiệu proton ở độ dịch chuyển  $\delta$  5,72-5,64 (m, 14H) được gán cho proton của OH2', OH3', OH2 và OH3;  $\delta$  4,85-4,81 (m, 7H) được gán cho proton của H1 và 6H1';  $\delta$  4,42 (t, 6H) được gán cho proton của OH6';  $\delta$  3,70-3,58 (m, 28H) được gán cho proton của H3', H5', H6', H3, H5, H6,  $\delta$  3,37-3,28 (m, 14H) được gán cho proton của H2', H4', H2, H4.



**Hình 3.6** Cấu tạo phân tử CD- $N_3$

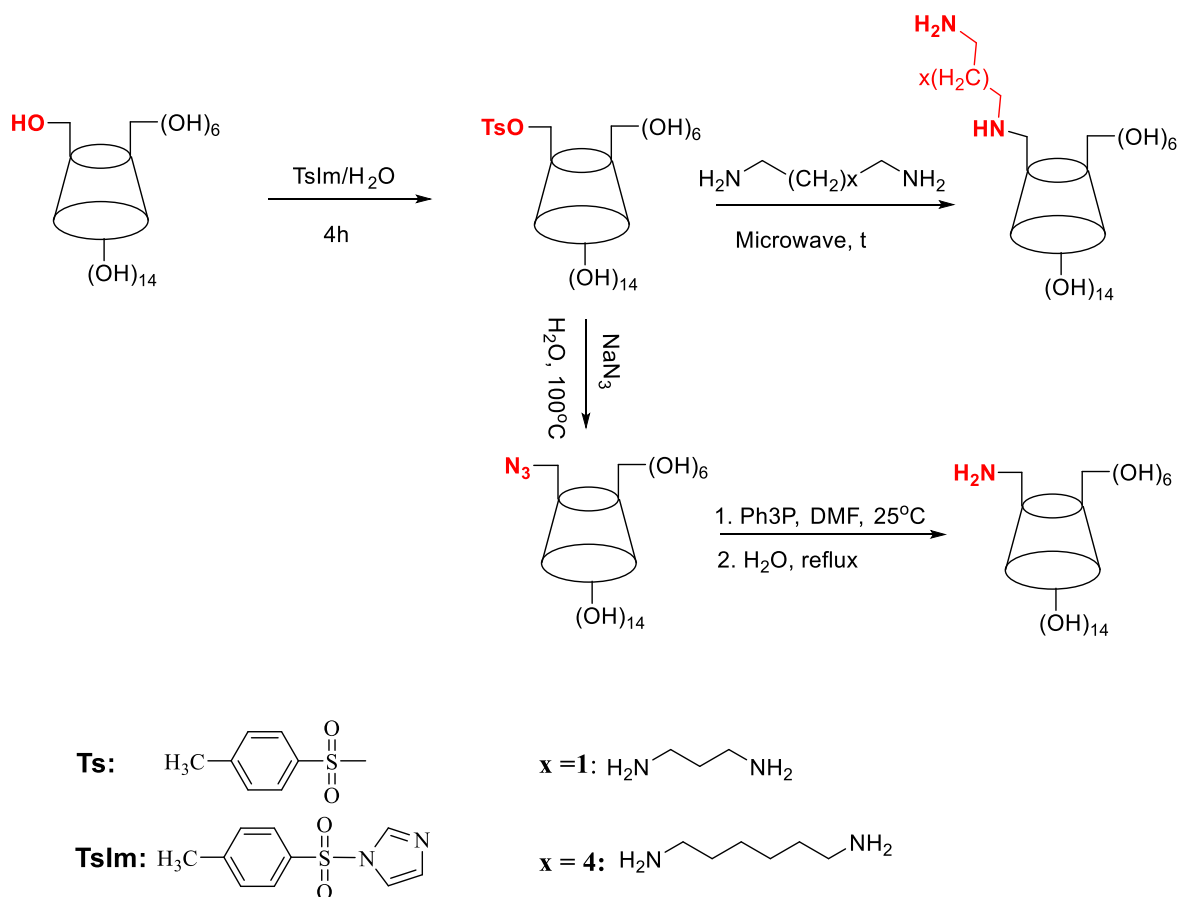
$^{13}C$ -NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  102,15 C1; 81,40 C4; 74,85, 72,98, 72,36 C2-C3-C5; 59,92 C6; 49,53 C6' (phụ lục 14). Trong phổ xuất hiện tín hiệu của carbon ở  $\delta$  102,1ppm tương ứng với C1, tín hiệu của carbon ở  $\delta$  81,40ppm được gán tương ứng với C-4, tín hiệu của carbon ở  $\delta$  74,85 ppm được gán tương ứng với C-2, tín hiệu ở  $\delta$  72,98 ppm được gán tương ứng với C-3, tín hiệu carbon ở  $\delta$  72,36 ppm được gán tương ứng



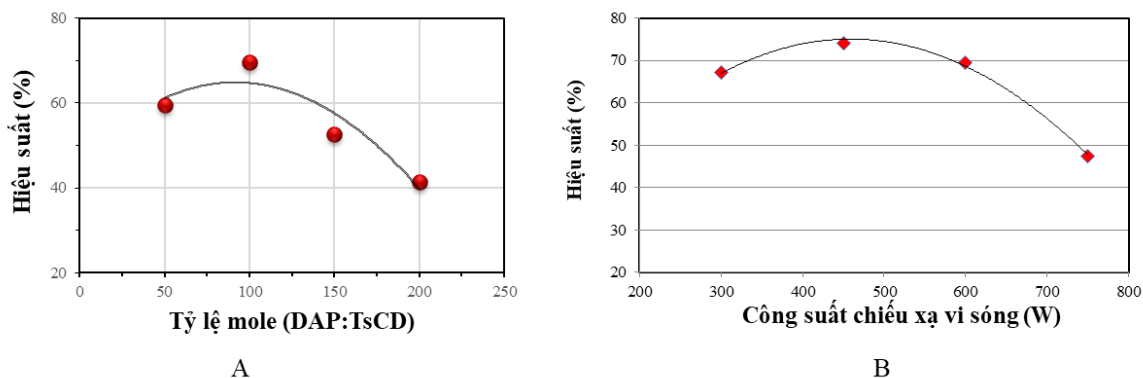
với C-5, tín hiệu của carbon tại  $\delta_C$  59,92 ppm được gán tương ứng với C-6, tín hiệu của carbon ở  $\delta_C$  49,53 ppm được gán tương ứng với C-6'

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

Các dẫn xuất amine của CD bao gồm: mono-6-amino-deoxy-6- $\beta$ -cyclodextrin (CD-NH<sub>2</sub>); mono-(6-(1,3-trimethylenediamine)-6-deoxy)- $\beta$ -cyclodextrin (TMACD); Mono-(6-(1,6-hexamethylenediamine)-6-deoxy)- $\beta$ -cyclodextrin (HMACD) được tổng hợp từ  $\beta$ -CD dựa theo tài liệu [63,64] với một số cải tiến nhằm hạn chế tối thiểu mức độ sử dụng hóa chất độc hại (thay thế dung môi hữu cơ bằng nước hoặc phản ứng không dung môi). Các phản ứng được mô tả trong Hình 3.7.



**Hình 3.7.** Sơ đồ quy trình tổng hợp các dẫn xuất amine của  $\beta$ -cyclodextrin



**Hình 3.8** Ảnh hưởng của tỷ lệ mol tác chất (A) và công suất chiếu xạ (B) đến hiệu suất tổng hợp TMACD

Kết quả khảo sát (Hình 3.8) cho thấy ảnh hưởng đáng kể của các yếu tố đến hiệu suất tổng hợp các amine-CD, trong đó tỷ lệ mol các tác chất và công suất chiếu xạ ảnh hưởng rõ rệt hơn. Chẳng hạn với TMACD, trong giới hạn khảo sát tỷ lệ mol TsCD:DAP thay đổi từ 1:50 đến 1:200, công suất chiếu xạ từ 300W đến 750W, kết quả mô tả trên hình 3.8A và B cho thấy sự phụ thuộc mạnh mẽ của hiệu suất phản ứng vào các điều kiện trên. Hiệu suất cực đại đạt được với tỷ lệ TsCD:DAP tương ứng là 1:100 trong điều kiện chiếu xạ ở công suất 400W.

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

CD-NH<sub>2</sub> đã được tổng hợp từ  $\beta$ -CD-N<sub>3</sub> bằng kỹ thuật chiếu xạ vi sóng ở công suất 300W với thời gian chiếu xạ 30 phút hiệu suất trung bình 63,96 %.

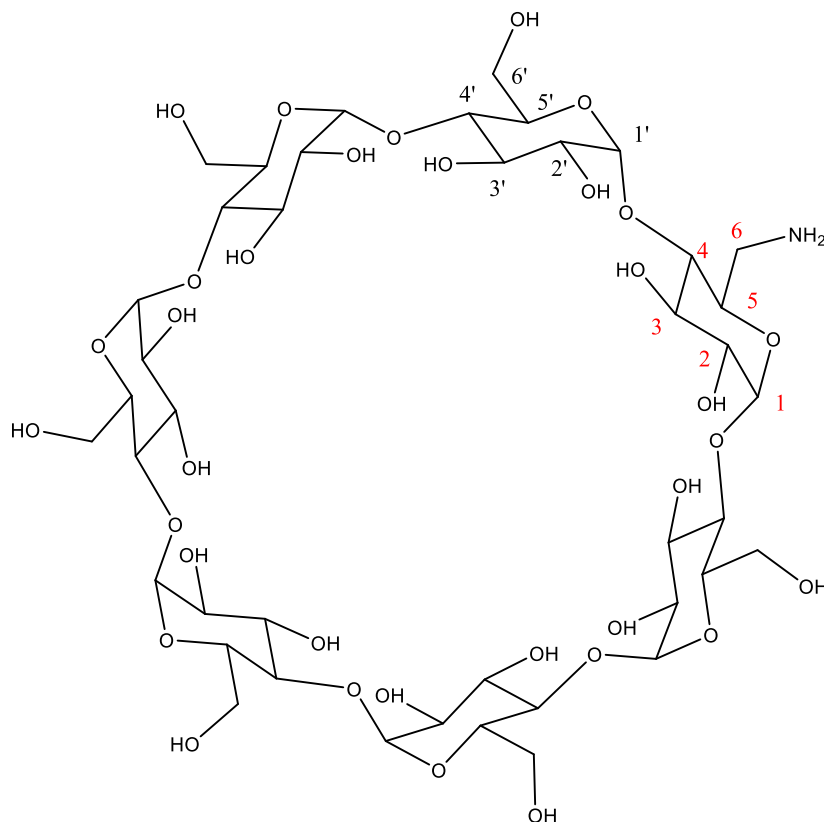
*Cấu trúc sản phẩm:*

Điểm chảy 214 - 215 °C.

IR ( $cm^{-1}$ , KBr): 3428 (O-H), 3389 (N-H), 2925 (C-H), 1029 (C-O). (phụ lục 15)

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, ppm):  $\delta$  5,75-5,66 (*m*, 14H, 1OH2, 1OH3, 6OH2', 6OH3'), 4,83 (*d*, 7H, *J* = 5 Hz, H1, 6H1'), 4,47 (*s*, 6H, 6OH6), 3,69-3,53 (*m*, 28H, H2, H3, H4, H5, 6H2', 6H3', 6H4', 6H5'), 3,35-3,27 (*m*, 16H, 12H6, 2H6', NH<sub>2</sub>). (phụ lục 16). Xuất hiện tín hiệu proton ở độ dịch chuyển  $\delta$  5,75-5,66 (*m*, 14H) được gán cho proton của OH2-OH3-OH2'-OH3';  $\delta$  4,83 ppm (*d*, 7H) được gán cho proton của H1, H1';

$\delta$  4,47 (*s*, 6H) được gán cho proton của OH6;  $\delta$  3,69-3,53 (*m*, 28H) được gán bởi H2-H3-H4-H5-H2'-H3'-H4'-H5';  $\delta$  3,35-3,27 (*m*, 16H) được gán cho proton của H6-H6'-NH<sub>2</sub>.



**Hình 3.9** Cấu tạo phân tử CD-NH<sub>2</sub>

<sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, DMSO):  $\delta$  101,97 C1;  $\delta$  81,48 C2-C3;  $\delta$  73,01; 72,34; 72,00 C4;  $\delta$  68,68 C6';  $\delta$  59,92 C5-C6. (phụ lục 17) Trong phổ xuất hiện tín hiệu của carbon ở  $\delta$  101,97 ppm tương ứng với C1, tín hiệu của carbon ở  $\delta$  81,48 ppm được gán tương ứng với C-2, C-3, tín hiệu của carbon ở  $\delta$  73,01; 72,34; 72,00ppm được gán tương ứng với C-4, tín hiệu ở  $\delta$  72,98 ppm được gán tương ứng với C-3, tín hiệu của carbon tại  $\delta$  68,68 ppm được gán tương ứng với C-6', tín hiệu của carbon ở  $\delta$  59,92 ppm được gán tương ứng với C-5, C-6.

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

TMACD đã được tổng hợp từ Ts-CD bằng kỹ thuật chiếu xạ vi sóng ở công suất 400W với thời gian chiếu xạ 12 phút. Hiệu suất phản ứng được liệt kê trong bảng 3.3.

**Bảng 3.3** Hiệu suất tổng hợp TMACD

	Lần 1	Lần 2	Lần 3
TsCD (g)	0,51	0,50	0,50
DAP (mL)	3,4	3,3	3,3
TMACD (g)	0,36	0,37	0,35
Hiệu suất (%)	76,6	78,5	74,3
Hiệu suất trung bình (%)	76,5 ± 1,43		

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

Điểm chảy: 259 - 260°C

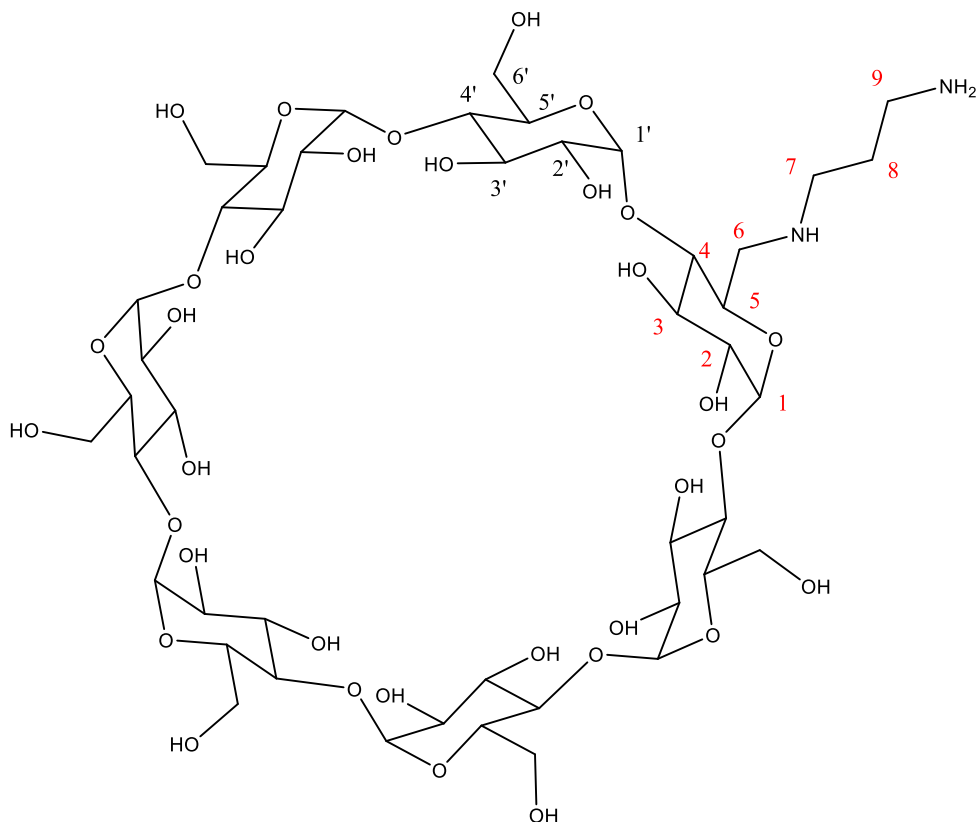
TLC: butanol:ethanol:nước:amoniac (5:4:3:5), hiện màu và bản mỏng TLC bằng thuốc thử anisaldehyde cho thấy  $R_f = 0,49$ .

QTOF-MS ( $m/z$ ) (phụ lục 18): thực nghiệm  $[M+H]^+ = 1191,4457$ , lý thuyết  $[M+H]^+ = 1191,4470$ , tương ứng với  $M = 1190,4436$  (CTPT:  $C_{45}H_{78}N_2O_{34}$ ).

IR ( $cm^{-1}$ , KBr) (phụ lục 19): 3417 (O-H), 2927 (C-H), 1642 và 1525 (N-H), 1031 (C-O).

$^1H$ -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,  $J = 7Hz$ , 2H,  $NH_2$ ). So với phổ  $^1H$ -NMR của TsCD, ta nhận thấy rằng tín hiệu H đặc trưng của TsCD tại vị trí 7,76-7,74 và 7,44-7,42 không còn trên phổ  $^1H$ -NMR của TMACD. Bên cạnh đó, xuất hiện tín hiệu proton ở độ chuyển dịch hóa học  $\delta_H$  5,05 ppm (s, 7H) được gán cho proton của H-1, H-1', ở  $\delta_H$  3,94-3,82 ppm (m, 32H) được gán cho proton của (OH)6', (OH)2, (OH)2', (OH)3, (OH)3', H5', H3', ở  $\delta_H$  3,64-3,53 ppm (m, 14H) được gán cho proton của H2, H2', H5, H4', ở  $\delta_H$  3,42-3,39 ppm (m, 1H) được gán cho proton của NH, ở  $\delta_H$  3,09-3,03 ppm (m, 1H) được gán cho proton của H-4, ở  $\delta_H$  2,79-2,75 ppm (m, 4H) được gán cho

proton của H-6, H-7, ở  $\delta_H$  2,63-2,61 ppm (*m*, 2H) được gán cho proton của H-9, ở  $\delta_H$  1,71-1,68 ppm (*m*, 2H) được gán cho proton của H-8, ở  $\delta_H$  1,17 (*t*,  $J = 7\text{Hz}$ , 2H) được gán cho proton của NH<sub>2</sub>.



**Hình 3.10** Cấu tạo phân tử TMACD

Phổ <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, D<sub>2</sub>O, 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). Trong phổ xuất hiện tín hiệu của carbon ở  $\delta_C$  101,9 ppm tương ứng với (7C, C-1' và C-1), tín hiệu của carbon ở  $\delta_C$  81,2 ppm được gán tương ứng với (7C, C-4' và C-4), tín hiệu của carbon ở  $\delta_C$  72,1 ppm được gán tương ứng với (14C, C-2', C-3', C-2 và C-3), tín hiệu của -CH ở  $\delta_C$  60,4 ppm được gán tương ứng với (6C, C-6'), tín hiệu carbon ở  $\delta_C$  54,0 ppm được gán tương ứng với C-6, tín hiệu của carbon tại  $\delta_C$  45,3 ppm được gán tương ứng với C-7, tín hiệu của carbon ở  $\delta_C$  36,6 ppm được gán tương ứng với C-9, tín hiệu của -CH<sub>3</sub> ở  $\delta_C$  30,3 ppm được gán tương ứng với C-8.

Sự có mặt của proton trong khoảng 3,09 – 1,68 ppm trong phổ  $^1\text{H}$  NMR được gán cho nhóm 1,3-trimethylenediamine trong sản phẩm TMACD. Ngoài ra, giá trị khối lượng phân tử trong phổ QTOF-MS ( $M = 1190,4436$ ) cho thấy TMACD chỉ chứa một nhóm 1,3-trimethylenediamine, các dữ liệu đã khẳng định sản phẩm tổng hợp đúng cấu trúc và đạt độ sạch.

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

HMACD đã được tổng hợp từ Ts-CD bằng kỹ thuật chiếu xạ vi sóng ở công suất 450W với thời gian chiếu xạ 22 phút (Hiệu suất trung bình: 68%).

*Cấu trúc sản phẩm:*

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.

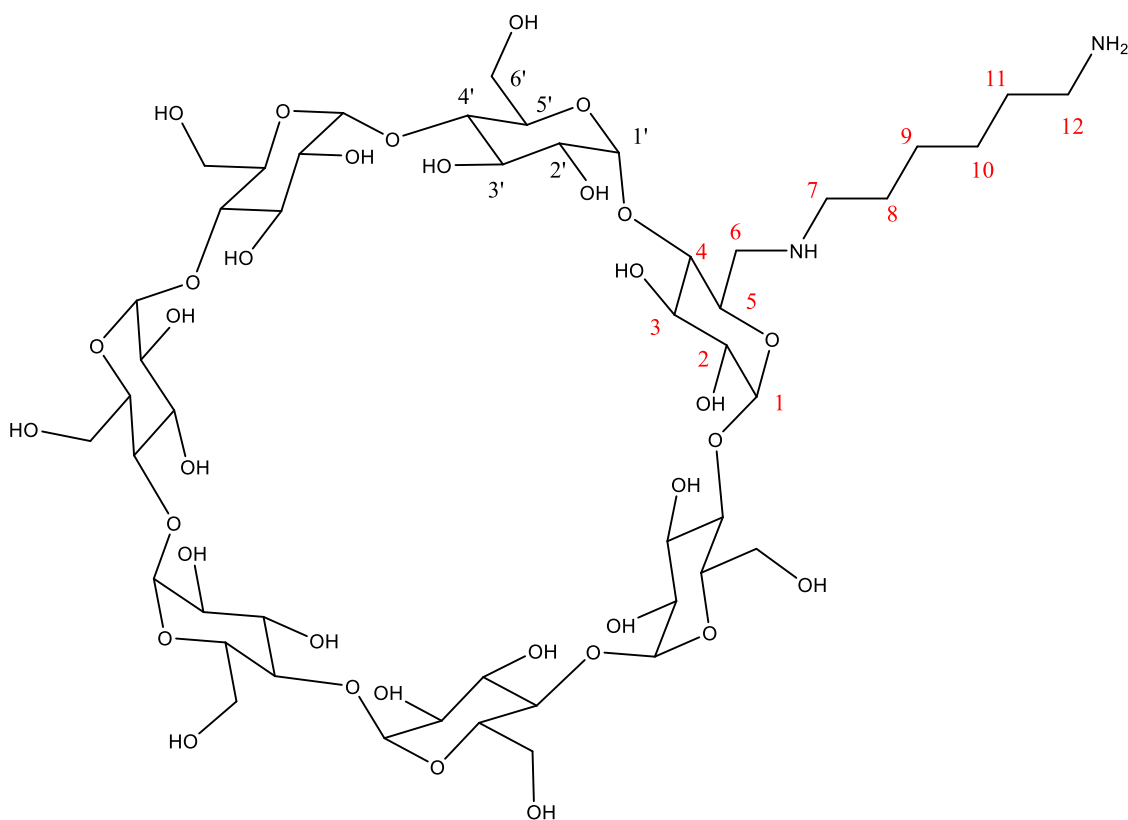
QTOF-MS ( $m/z$ ) (*phụ lục 25*) thực nghiệm  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 1233,4870$ , lý thuyết  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 1233,4939$ , tương ứng với  $M = 1232,4905$  (CTPT:  $\text{C}_{48}\text{H}_{84}\text{N}_2\text{O}_{34}$ ).

IR ( $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\text{KBr}$ ): 3331 (N-H), 2927(C-H), 1155 (C-O-C), 1239 (C-N), 1033 (C-O), 857 (C-C). (*phụ lục 26*)

$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , ppm):  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 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). (*phụ lục 27,28*). Từ phổ  $^1\text{H}$ -NMR xuất hiện tín hiệu proton ở độ chuyển dịch hóa học ở  $\delta_H$  5,46 ppm (s, 7H) tương ứng với vị trí H-1, ở  $\delta_H$  4,26-3,97 ppm (m, 28H) được gán cho proton của (OH)2, (OH)2', (OH)3, (OH)3', H2, H2', H3, H3', ở  $\delta_H$  3,78-3,77 ppm (m, 7H) được gán cho proton của H5, H5', ở  $\delta_H$  3,43 ppm (d,  $J = 13,5\text{Hz}$ , 7H) được gán cho proton của H4, H4', ở  $\delta_H$  3,13 ppm (m 2H) được gán cho proton của H-6, ở  $\delta_H$  2,97 ppm (br,s 4H) được gán cho proton của H7, H12 ở  $\delta_H$  1,9-1,72 ppm (br, s, 8H) được gán cho proton của H8, H9, H10, H11.

Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 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). (phụ lục 29). Từ phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR thấy xuất hiện tín hiệu của carbon ở  $\delta_c$  102,4 ppm được gán tương ứng với (7C, C-1' và C-1), tín hiệu của carbon ở  $\delta_c$  81,7 ppm được gán tương ứng với (7C, C-4' và C-4), tín hiệu của carbon ở  $\delta_c$  72,1 ppm được gán tương ứng với (6C, C-6', C-3', C-2 và C-3), tín hiệu của  $-\text{CH}$  ở  $\delta_c$  60,8 ppm được gán tương ứng với (6C, C-6'), tín hiệu carbon ở  $\delta_c$  48,5 ppm được gán tương ứng với C-6, tín hiệu của carbon tại  $\delta_c$  47,3 ppm được gán tương ứng với C-7, tín hiệu của carbon ở  $\delta_c$  41,1 ppm được gán tương ứng với C-12, tín hiệu của carbon ở  $\delta_c$  31,2 ppm được gán tương ứng với C-11, tín hiệu của carbon ở  $\delta_c$  26,6 ppm được gán tương ứng với (3C, C-8, C-9, C-10).



**Hình 3.11** Cấu tạo phân tử HMACD

Sự có mặt của proton trong khoảng 3,13 – 1,72 ppm trong phổ  $^1\text{H}$  NMR được gán cho nhóm 1,6-hexamethylenediamine trong sản phẩm HMACD. Ngoài ra, giá trị khối lượng phân tử trong phổ QTOF-MS ( $M = 1232,4905$ ) cho thấy HMACD chỉ chứa một

nhóm 1,6-hexamethylenediamine, các dữ liệu đã khẳng định sản phẩm tổng hợp đúng cấu trúc và đạt độ sạch.

Điều kiện tối ưu và hiệu suất trung bình của các phản ứng tổng hợp các dẫn xuất amine-CD được thống kê trong bảng 3.4

**Bảng 3.4.** Điều kiện tối ưu và hiệu suất trung bình của các phản ứng tổng hợp các dẫn xuất amine-CD

Amine-CD	Tỷ lệ mol	Thời gian (phút)	Công suất chiếu xạ (w)	Hiệu suất TB (%)
CD-NH <sub>2</sub>	CD-N <sub>3</sub> :Ph <sub>3</sub> P = 1:1	30	300	63,96 ± 1,28
TMACD	TsCD:DAP = 1:100	12	400	76,5 ± 1,43
HMACD	TsCD:DAH = 1:100	22	450	68 ± 0,80

Kết quả phân tích sản phẩm bằng các phương pháp phổ đáng tin cậy cho thấy việc tổng hợp thành công các dẫn xuất: CD-NH<sub>2</sub>; TMACD và HMACD đồng thời số liệu thực nghiệm đã chứng tỏ việc kết hợp kỹ thuật chiếu xạ vi sóng cho quá trình tổng hợp đã rút ngắn thời gian phản ứng và cải thiện đáng kể hiệu suất so với các nghiên cứu trước đó [93,94]. Trong đó TMACD cho hiệu suất cao nhất, khả năng thu hồi và tinh chế sản phẩm khả quan hơn nên được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo ở phần điều chế các vật liệu nano mang thuốc.

## 3.2 Tổng hợp các nanocomposite

### 3.2.1 Tổng hợp vật liệu không mang thuốc

#### 3.2.1.1 Tổng hợp vật liệu nanogel

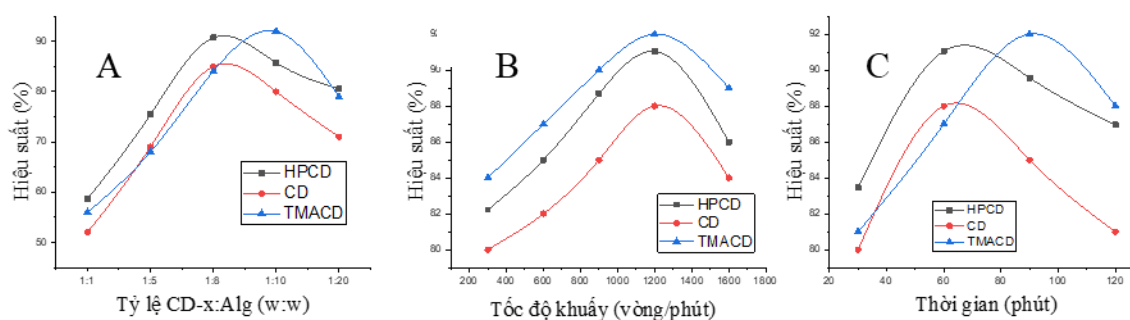
Hiệu suất tổng hợp vật liệu được tối ưu hóa thông qua việc khảo sát các yếu tố ảnh hưởng. Cụ thể, với nhóm nanogel tỷ lệ khối lượng tác chất ( $\beta$ -CD-x:Alg) được khảo sát trong khoảng từ 1:1 đến 1:20, tốc độ khuấy thay đổi từ 300 (vòng/phút) đến 1600 (vòng/phút), thời gian phản ứng từ 30 (phút) đến 120 (phút).

Kết quả khảo sát cho thấy mức độ ảnh hưởng khác nhau của từng yếu tố đến hiệu suất tổng hợp vật liệu. Đáng chú ý, ảnh hưởng của từng yếu tố trong nhóm vật liệu



nanogel có sự tương đồng cao (đồ thị phụ thuộc giữa hàm mục tiêu và các yếu tố đầu vào là những đường cong đồng dạng - Hình 3.12). Điều này có nghĩa là các vật liệu được tạo thành bởi cùng một cơ chế, sự khác biệt về hiệu suất chủ yếu được quyết định bởi các nhóm định chức trên phân tử CD.

Hiệu suất tổng hợp các vật liệu nanogel CD-x/Alg được mô tả ở Hình 3.12, trong giới hạn khảo sát tỷ lệ CD-x:Alg (w/w) thay đổi từ 1:1 đến 1:20, hiệu suất nano hóa tăng theo tỷ lệ alginate và đạt cực đại tại tỷ lệ 1:8 với hiệu suất trong khoảng 86,5 – 92,5 %. Hiệu suất tổng hợp giảm nhanh khi tăng lượng alginate. Điều này được giải thích là do với lượng CD-x cao các gel Ca - Alg bị cắt nhỏ nên khả năng thu hồi hệ gel sau quá trình ly tâm thấp. Trong khi đó, với lượng dư Ca - Alginate sẽ làm hạn chế sự kết hợp giữa các phân tử CD-x và chuỗi alginate làm tăng kích thước hạt và sự phân tán của hệ nano trong nước. Hiệu suất tổng hợp nano CD-x/Alginate tăng theo thời gian và tốc độ khuấy, đạt cực đại ở tốc độ 1200 (vòng/phút) sau thời gian 60 phút. Tuy nhiên, hiệu suất giảm khi dung dịch được khuấy lâu hơn hoặc ở tốc độ cao hơn. Có thể hệ nano bắt đầu bị phân hủy trong điều kiện này.



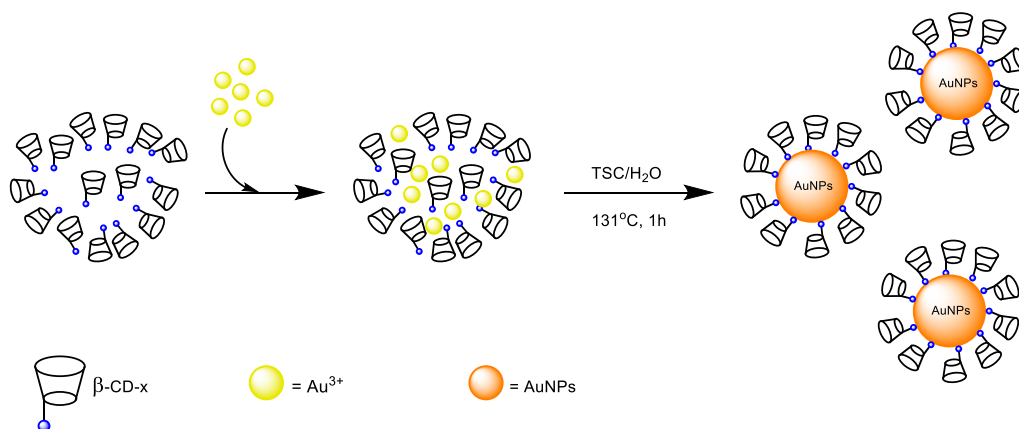
**Hình 3.12** Ảnh hưởng của tỷ lệ CD-x:Alg (A), tốc độ khuấy (B) và thời gian phản ứng (C) đến hiệu suất tổng hợp vật liệu nano

Kết quả khảo sát cho thấy quá trình tổng hợp nanogel TMACD/Alg đạt hiệu suất cao nhất (92,48%), kể đến là HPCD/Alg (90,7%) và CD/Alg (86,5%) ở điều kiện tương ứng tỷ lệ CD-x:Alg = 1:8, tốc độ khuấy 1200 vòng /phút và thời gian phản ứng 90 phút.

### 3.2.1.2 Tổng hợp vật liệu nano lai ghép AuNPs

Ba dẫn xuất bao gồm  $\beta$ -CD, HPCD và TMACD đã được ứng dụng để chế tạo các hạt nano vàng (AuNPs) thông qua tổng hợp có hỗ trợ siêu âm. Quá trình lai ghép được mô phỏng như Hình 3.13.

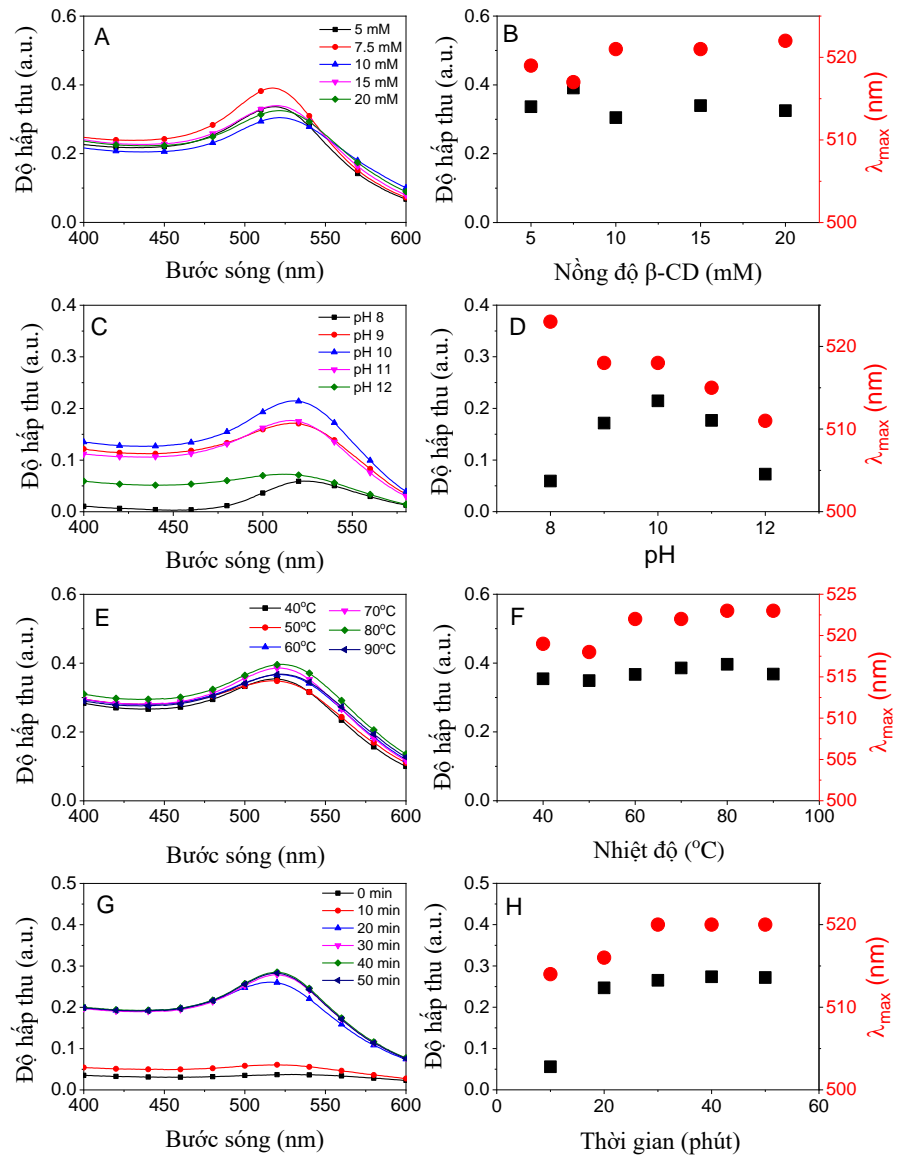
Phổ UV-Vis, đồ thị cường độ hấp thụ và bước sóng so với các tham số được thể hiện trong Hình 3.14. Ảnh hưởng của nồng độ  $\beta$ -CD cho thấy rằng việc tăng lượng  $\beta$ -CD (5 - 20 mM) đã làm tăng nhẹ nồng độ của các hạt nano và đạt được giá trị lớn nhất ở 7 mM trong khi không có sự thay đổi trong các giá trị bước sóng đối với tác động của nồng độ  $\beta$ -CD (Hình 3.14A và B), điều này cho thấy những thay đổi không đáng kể về kích thước và hình thái của AuNPs.



**Hình 3.13.** Mô phỏng sự hình thành AuNPs/ $\beta$ -CD-*x*

Trong khi đó Hình 3.14 C và D cho thấy các giá trị độ hấp thụ ở dải SPR phụ thuộc mạnh vào độ pH. Khi giá trị pH tăng từ 8 đến 10, độ hấp thụ tăng lên và giá trị cực đại được tìm thấy ở pH 10. Hiệu suất hình thành hạt nano bị giảm nhanh chóng ở môi trường pH cao, nơi cường độ hấp thụ giảm đáng kể. Ngoài ra, các dải SPR dịch chuyển mạnh từ 523 nm đến 511 nm khi độ pH tăng dần, cho thấy rằng hình thái của AuNPs phụ thuộc đáng kể vào pH môi trường. Do đó, giá trị tối ưu cho quá trình tổng hợp AuNPs được xác định ở pH 10.

Nhiệt độ phản ứng được khảo sát trong khoảng 40 - 90 °C với khoảng khảo sát là 10 °C như trong Hình 3.14 E và F. Kết quả cho thấy các giá trị độ hấp thụ tăng nhẹ giữa 40 và 80 °C và sau đó giảm đáng kể ở nhiệt độ phản ứng 90 °C.



**Hình 3.14** Phổ UV-vis (trái) và cường độ hấp thụ (phải) của AuNPs/ $\beta$ -CD. Ảnh hưởng của nồng độ  $\beta$ -CD (5-20 mM, A và B), giá trị pH (8-12, C và D), nhiệt độ (40-90°C, E và F) và thời gian phản ứng (0-50 phút, G và H).

Hầu như không có sự thay đổi nào về giá trị  $\lambda_{\max}$  ở dải SPR (520-523 nm) được quan sát thấy trong dải nhiệt độ này. Điều này cho thấy rằng nhiệt độ phản ứng ảnh hưởng không đáng kể đến hình thái của các hạt nano. Thời gian phản ứng được khảo sát trong khoảng 0-50 phút với khoảng cách là 10 phút (Hình 3.14 G và H). Dữ liệu UV-Vis cho thấy rằng sự hình thành AuNPs không được quan sát thấy trong 10 phút ban đầu và đạt

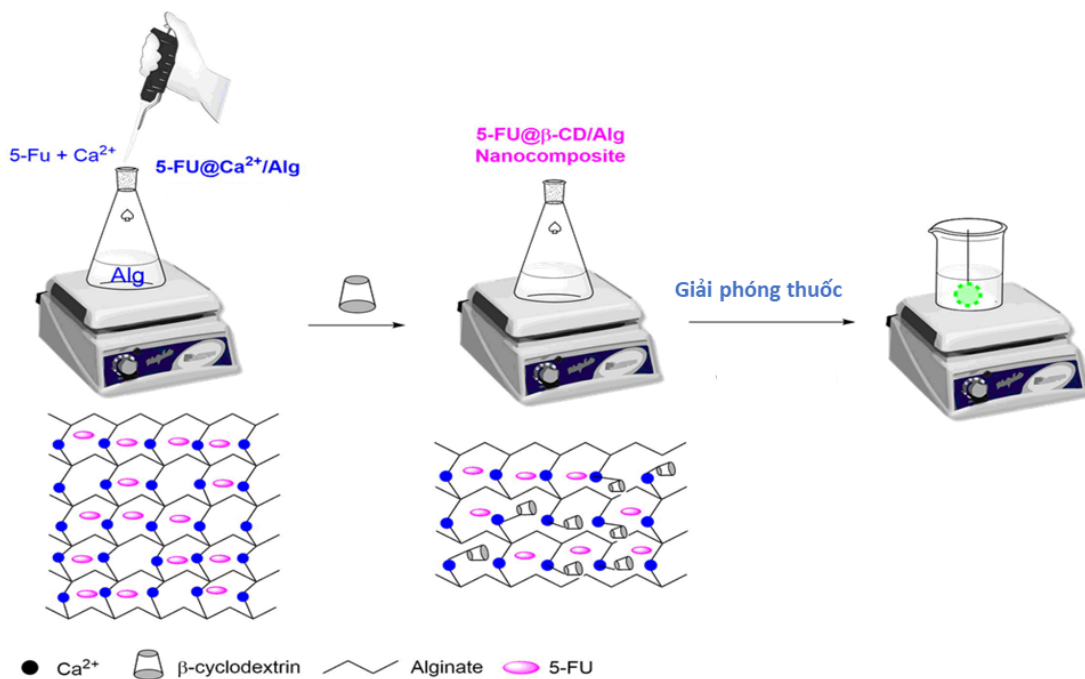
được giá trị tối đa trong 30 phút sau. Hơn nữa, các bước sóng ổn định cũng được quan sát sau 30 phút phản ứng đã xác nhận sự ổn định kích thước hạt nano theo thời gian phản ứng.

Tóm lại, điều kiện thích hợp để tổng hợp hệ AuNPs/ $\beta$ -CD-x được xác định tại nồng độ  $\beta$ -CD = 7 mM, pH 10, nhiệt độ 80 °C trong 30 phút siêu âm.

### 3.2.2 Khả năng mang thuốc của các vật liệu

#### 3.2.2.1 Nhóm nanogel $\beta$ -CD-x/alginate

Tổ hợp nanocomposite  $5\text{-FU}@ \beta\text{-CD-x/Alg}$  được hình thành thông qua cơ chế gel ion hóa. Trong phương pháp này, các gelispheres được nạp thuốc trước khi thực hiện quá trình tổng hợp các hạt nano như minh họa trong Hình 3.15. 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 polysaccharide 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  $5\text{-FU}@ \beta\text{-CD-x/Alg}$  tinh khiết dễ dàng được thu hồi bằng phương pháp ly tâm và sấy thăng hoa.



**Hình 3.15** Mô phỏng sự hình thành hệ nanogel tải 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. Các giá trị cực đại của (%EE) (%DL) và tỷ lệ các thành phần tương ứng được mô tả trên bảng 3.5.

**Bảng 3.5** Khả năng dung nạp 5-FU của các hệ nano

Hệ nano	Tỷ lệ (w/w)	Hàm lượng 5-Fu (%)	%DL	%EE
$\beta$ -CD/Alg	1:10	30	36,4 $\pm$ 0,22	89,56 $\pm$ 0,2
HPCD/Alg	1:8	30	32,12 $\pm$ 0,16	80,5 $\pm$ 0,27
TMACD/Alg	1:10	30	40,08 $\pm$ 0,08	91,80 $\pm$ 0,22

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 các giá trị %DL và %EE. Cụ thể, khả năng nạp thuốc của dẫn xuất TMACD đạt cao nhất ở mức 40,08%, thấp nhất ở dẫn xuất HPCD với các giá trị %DL tương ứng là 32,12%. Dường như tính lập thể cao và sự có mặt các nhóm amine trên phân tử TMACD đã góp phần gia tăng hiệu quả liên kết giữa chúng với các phân tử alginate dẫn đến sự gia tăng độ ổn định của nanogel, ngược lại nhóm ether trong phân tử HPCD có thể đã làm hạn chế tương tác giữa chúng với chất nền alginate. Thử nghiệm cũng cho thấy quá trình ly tâm thu hồi sản phẩm thuận lợi hơn ở dẫn xuất TMACD và  $\beta$ -CD, trong khi HPCD với độ hòa tan cao hơn nên có mặt nhiều hơn ở phần dung dịch và có thể đã kéo theo sự thất thoát 5-FU.

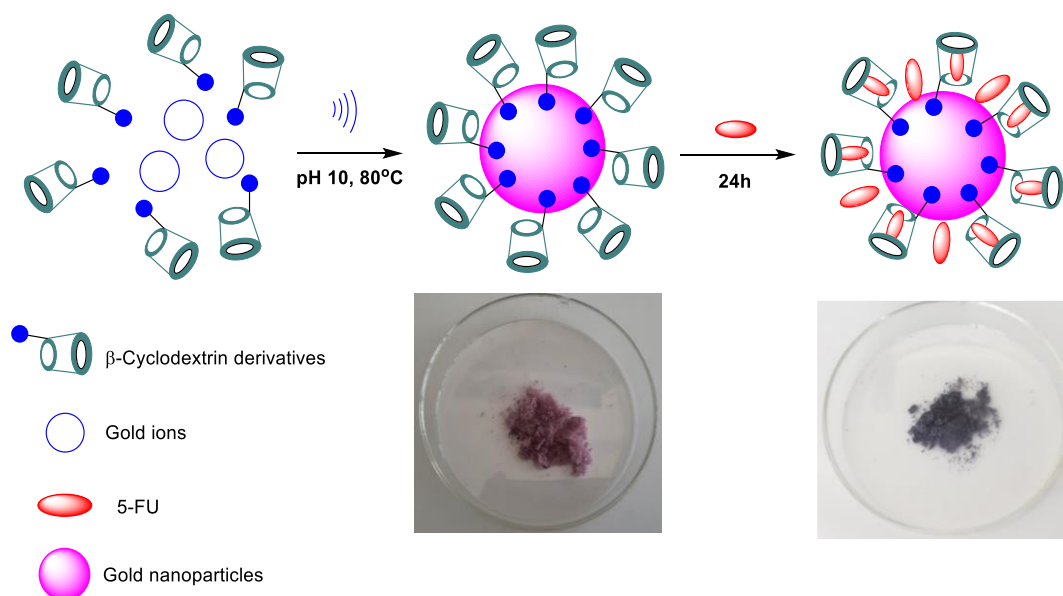
Sự phù hợp của thuốc 5-FU đối với các vật liệu nano  $\beta$ -CD/Alg tỏ ra vượt trội so với ketoprofen và anastrozole trong các nghiên cứu trước đây của chúng tôi. Cụ thể đối với ketoprofen tỷ lệ nạp thuốc là 5,7% [102], đối với anastrozole tương ứng là 6,7% [103]. Có thể sự tương thích liên quan đến kích thước phân tử và độ phân cực của 5-FU.

### 3.2.2.2 Nhóm nano lai ghép 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. Sự tạo thành các nanocomposite chứa thuốc được mô tả như

Hình 3.16. Đề nghiên cứu ảnh hưởng của các nhóm chức khác nhau trong dẫn xuất CD đến hiệu quả nạp thuốc của vật liệu AuNPs/CD, các dẫn xuất khác nhau (bao gồm  $\beta$ -CD, HPCD và TMACD) đã được sử dụng để tổng hợp các hệ nano chứa thuốc.

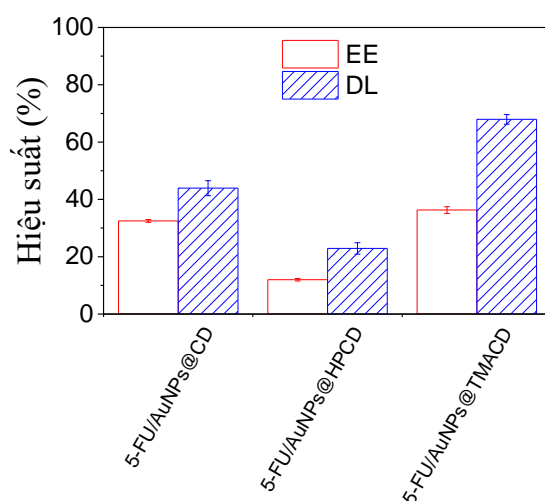
Một quy trình tương tự được sử dụng để điều chế tất cả các nanocomposite thực hiện ở pH 10, 80 °C và chiếu xạ liên tục trong 30 phút cho thấy  $\beta$ -CD có thể dễ dàng bao bọc 5-FU ở trạng thái rắn [96], tuy nhiên, quá trình tạo phức 5-FU khi thực hiện trong dung dịch nước cho hiệu quả thấp liên quan đến độ ổn định của phức [107]. 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, thuốc 5-FU được đưa vào nanocomposite bằng quy trình khuấy đơn giản trong 24 giờ. Hỗn hợp được ly tâm và sau đó sấy thăng hoa thu được chất rắn màu xanh lam hấp thụ ở bước sóng khoảng 550 nm.



**Hình 3.16.** Mô phỏng cơ chế tải thuốc lên vật liệu AuNPs/CD-x

Ảnh hưởng của các phân tử CD-x đối với hiệu suất tạo phức (EE) và hiệu quả tải thuốc (DL) được mô tả trong Hình 3.17. Kết quả cho thấy các giá trị EE và DL chịu ảnh hưởng rất nhiều vào các dẫn xuất cyclodextrin. Giá trị EE và DL của AuNPs/CD được xác định lần lượt là  $32,5 \pm 0,5\%$  và  $44,0 \pm 2,6\%$ , thấp hơn so với AuNPs/TMACD ( $36,3 \pm$

1,2% và  $67,9 \pm 1,7$  % tương ứng) và cao hơn đáng kể so với AuNPs/HPCD (lần lượt là  $12,0 \pm 0,5$ % và  $22,9 \pm 2$ %). Thí nghiệm cũng cho thấy nanocomposite 5-FU@AuNPs/HPCD rất khó ly tâm. Phần nổi phía trên vẫn có màu đỏ sẫm, cho thấy nồng độ cao của nanocomposite trong dung dịch sau quá trình ly tâm (có khả năng là do HPCD có độ hòa tan cao trong dung dịch nước). Ngược lại việc thu hồi 5-FU@AuNPs/TMACD diễn ra khá dễ dàng. Hiệu quả mang thuốc cao của AuNPs/TMACD có thể là do cấu trúc lập thể của phân tử TMACD cùng với sự tương tác tốt giữa các nhóm amin của TMACD và AuNPs dẫn đến tính ổn định cao của nanocomposite này.



**Hình 3.17.** Hiệu suất tạo phức và khả năng tải thuốc của vật liệu AuNPs/CD-x

So sánh hiệu suất tạo phức của 5-FU ở các vật liệu  $\beta$ -Cyclodextrin/alginate chitosan ( $\beta$ -CD/Alg/Chi) trong nghiên cứu của *Jaya R. Lakkakula và cộng sự* [104]; Các hạt nano vàng được chức năng hóa bằng chitosan và folic acid (FCG5-NPs) trong nghiên cứu của *Jude Akinyelu và Moganavelli Singh* [105] có thể thấy các vật liệu nanogel cho hiệu suất tạo phức nhỉnh hơn (80,5% - 91,80%) so với vật liệu  $\beta$ -CD/Alg/Chi (80,3%) hay FCG5-NPs (79%).

### 3.3 Đặc điểm hóa lý của nanocomposite

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

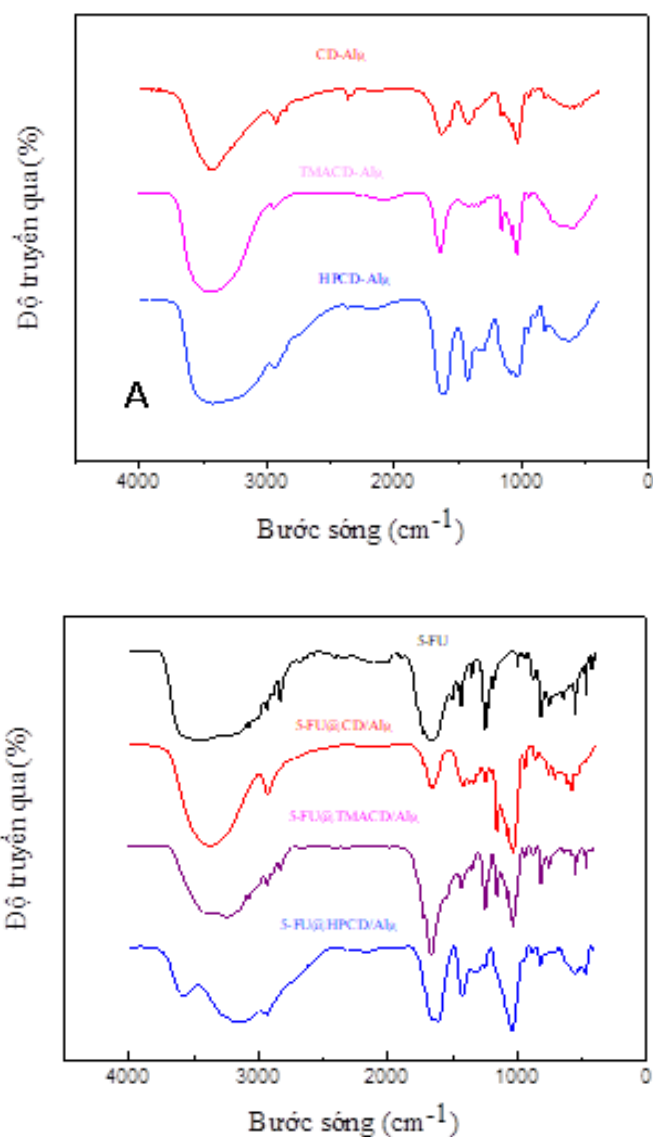
Sự có mặt các thành phần trong nano composite được xác định thông qua phổ FT-IR của mẫu các  $\beta$ -CD-x, Alg, vật liệu rỗng và các mẫu nano composite nạp thuốc. Kết quả FT-IR của các mẫu được mô tả trong Hình 3.18 và các *phụ lục 30-38*.

Phổ FT-IR của các vật liệu rỗng cho thấy tín hiệu rộng tại  $3425\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng cho dao động giãn của nhóm  $\text{-OH}$  của các chuỗi polysaccharide. Tín hiệu mạnh tại  $1627\text{ cm}^{-1}$  và  $1418\text{ cm}^{-1}$  lần lượt đặc trưng cho dao động giãn nhóm carbonyl ( $\text{-C=O}$ ) và dao động uốn của nhóm  $\text{-OH}$  trong phân tử alginate. Ngoài ra, tín hiệu tại  $1030\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng dao động giãn của nhóm  $\text{-C-O-C}$  trong chuỗi glucose.

Phổ FT-IR của 5-FU cho thấy tín hiệu tại  $3142\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng cho dao động của nhóm N-H, tại  $2936\text{ cm}^{-1}$  cho thấy dao động giãn của các nhóm C-H của alken. Dao động tại vùng  $1776\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng cho dao động giãn của của nhóm carbonyl ( $\text{-C=O}$ ) của ketone. Các tín hiệu tại  $1349\text{ cm}^{-1}$  và  $1249\text{ cm}^{-1}$  lần lượt là đặc trưng cho dao động giãn của nhóm C-N và C-F.

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  $3413\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng cho dao động giãn của các nhóm O-H và N-H. Tín hiệu  $2934\text{ cm}^{-1}$  đặc trưng cho dao động giãn của nhóm C-H. Dao động tại vùng  $1613\text{ cm}^{-1}$  và  $1424\text{ cm}^{-1}$  lần lượt đặc trưng cho nhóm C=O và  $\text{-OH}$  của alginate và tín hiệu dao động tại  $1034\text{ cm}^{-1}$  tương ứng dao động của nhóm  $\text{-C-O-C}$  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.

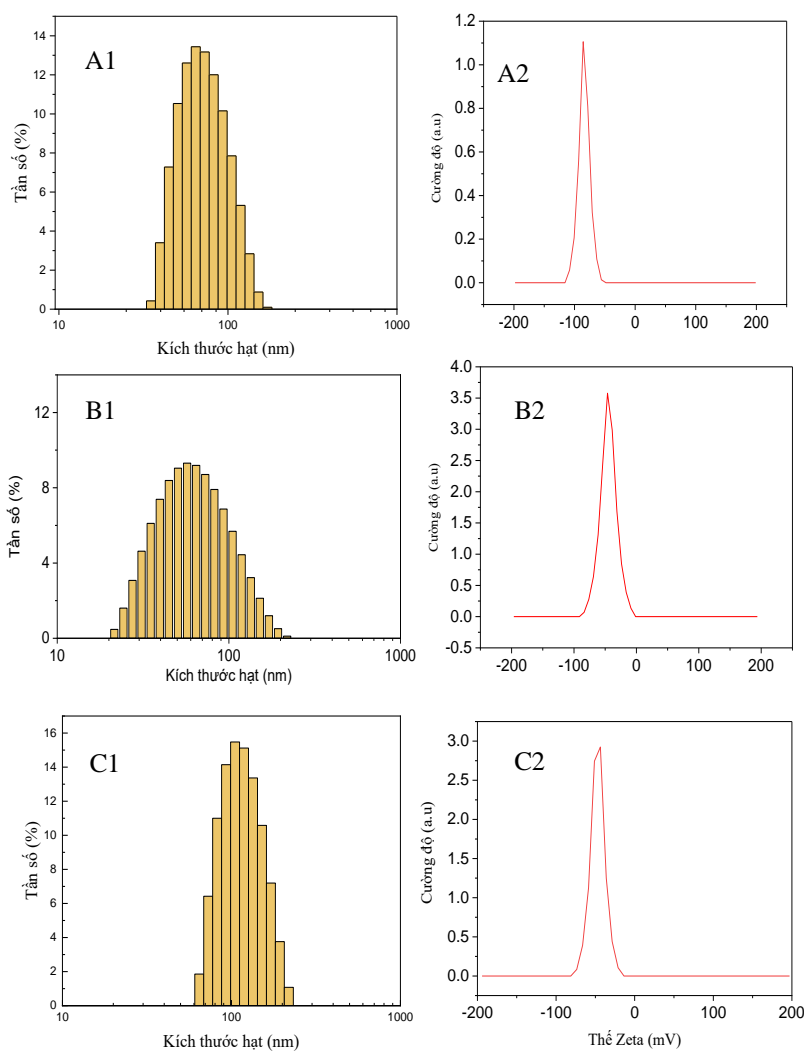




**Hình 3.18.** Phổ FT-IR của vật liệu CD-x/Alg (A) và nanocomposite 5-FU@CD-x/Alg (B)

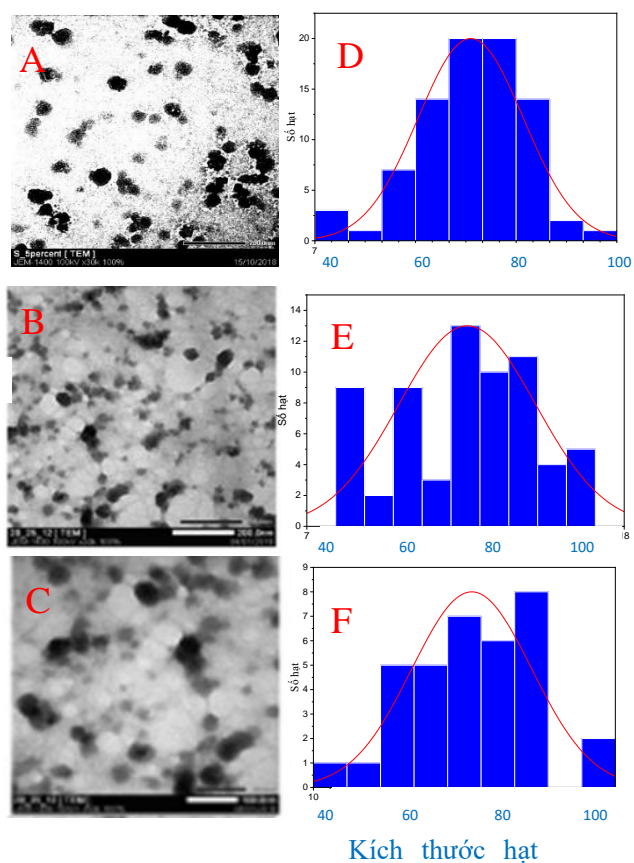
Thế zeta và kích thước hạt (Hình 3.19) là các tiêu chí quan trọng để đánh giá khả năng phân phối thuốc chống ung thư và hiệu quả nhắm mục tiêu vào mô khối u. Do thế zeta âm của các thành phần  $\beta$ -CD-x và Alg, tổ hợp nano rỗng  $\beta$ -CD-x/Alg sở hữu điện tích bề mặt khá lớn (-48,7 mV đến -70,2 mV). Điện thế zeta âm cao gây ra tương tác đẩy giữa các hạt nano có thể làm giảm mạnh sự 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 phân bố ở phạm vi rộng 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 hạt nano.



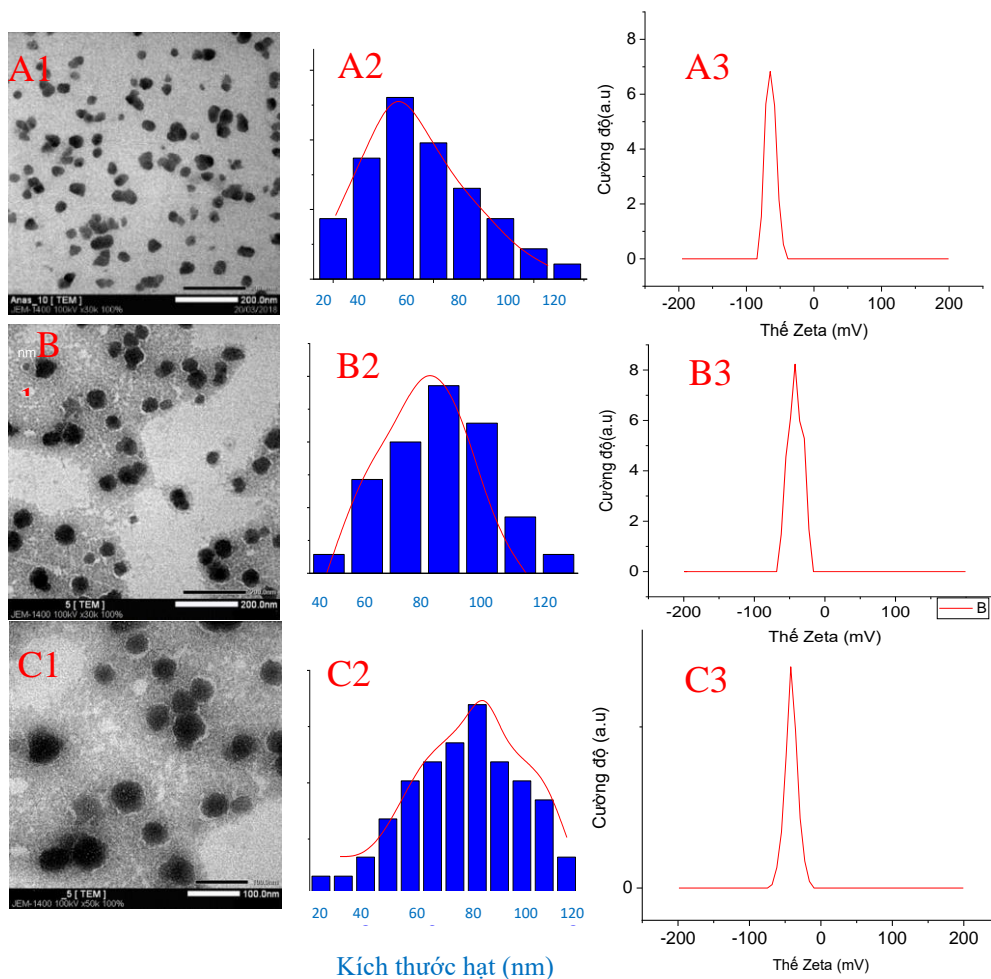
**Hình 3.19** Kích thước hạt DLS và thế zeta của nanocomposite  $\beta$ -CD/Alg (A); HPCD/Alg (B) và TMACD/Alg (C).

Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của các mẫu vật liệu được mô tả trên Hình 3.20. Các hạt nano  $\beta$ -CD/Alg (A) có dạng hình cầu phân bố khá rời rạc trong khi các hạt nano HPCD/Alg (B) và TMACD/Alg (C) với hình thái không rõ ràng do có sự ngưng kết giữa các hạt. Mức độ đa phân tán của vật liệu cũng được thể hiện trong biểu đồ thống kê kích thước hạt. Kích thước hạt nano  $\beta$ -CD/Alg (D) tương đối đồng đều phân bố trong khoảng hẹp (60 – 100 nm) với giá trị trung bình 80 nm trong khi các hệ HPCD/Alg (E) và TMACD/Alg (F) có khoảng phân bố rộng hơn (40 – 120 nm) với giá trị trung bình 90 nm. Điều này cho thấy các nhóm thế khác nhau trên phân tử CD-x đã ảnh hưởng đến kích thước và hình thái của vật liệu, có thể các nhóm chức đã ảnh hưởng đến cân bằng tới hạn trên bề mặt nanogel.



**Hình 3.20** Ảnh TEM và phân bố kích thước hạt của các vật liệu nano  $\beta$ -CD-x/Alg

Ảnh TEM của các mẫu nanocomposite chứa thuốc trên Hình 3.21 cho thấy, phần lớn các hạt nano nạp thuốc có hình cầu với kích thước khá đồng đều phân bố trong khoảng 20 – 140 nm mật độ tập trung cao ở vùng 60 – 100 nm. Đặc biệt có thể quan sát thấy sự ngưng kết giữa các hạt nano 5-FU@CD-x/Alg giảm đáng kể so với vật liệu chưa nạp thuốc. Điều này cho thấy sự hiện diện của 5-FU không chỉ ảnh hưởng đến kích thước và hình thái hạt mà còn liên quan đến độ ổn định của nanogel trong dung dịch nước.



**Hình 3.21** Ảnh TEM và kích thước hạt và thế zeta của nanocomposite 5-FU@β-CD/Alg (A); 5-FU@HPCD/Alg (B) và 5-FU@TMACD/Alg (C).

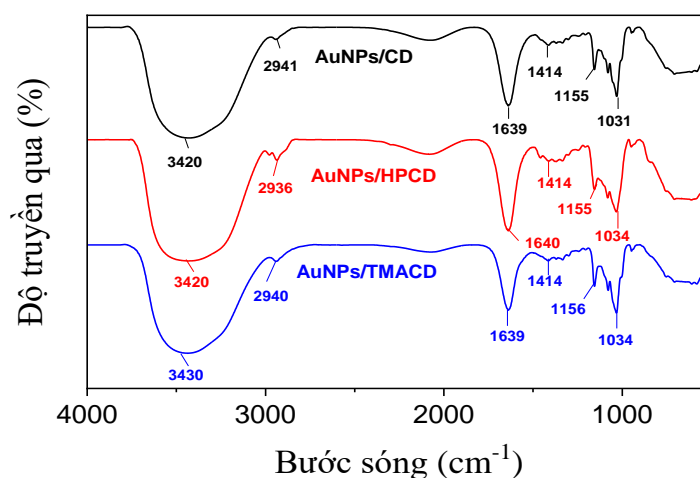
Sự hiện diện của 5-FU gây ra sự giảm nhẹ điện thế bề mặt (- 42,1 mV đến -62,2 mV). Mặt khác, kết quả còn chỉ ra sự giảm kích thước hạt ở các nanocomposite nạp thuốc, kích thước hạt của 5-FU@β-CD/Alg và 5-FU@TMACD/Alg được xác định trong khoảng 20 - 140 nm với kích thước trung bình là 57 nm trong khi kích thước hạt của

HPCD/Alg 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 ảnh hưởng đáng kể đến giá trị cân bằng tới hạn trong quá trình hình thành hạt nano (yếu tố quan trọng quyết định kích thước hạt), điều này đã xác nhận sự bao bọc của 5-FU bên trong mạng lưới liên kết ngang được hình thành giữa các ion canxi và chuỗi alginate trong nanocomposite  $\beta$ -CD-x/Alg.

### 3.3.2 Các vật liệu nano vàng lai ghép

#### 3.3.2.1 Vật liệu nano chưa tải thuốc

Phổ FT-IR của vật liệu nanocomposite chưa mang thuốc được thể hiện trong Hình 3.22.

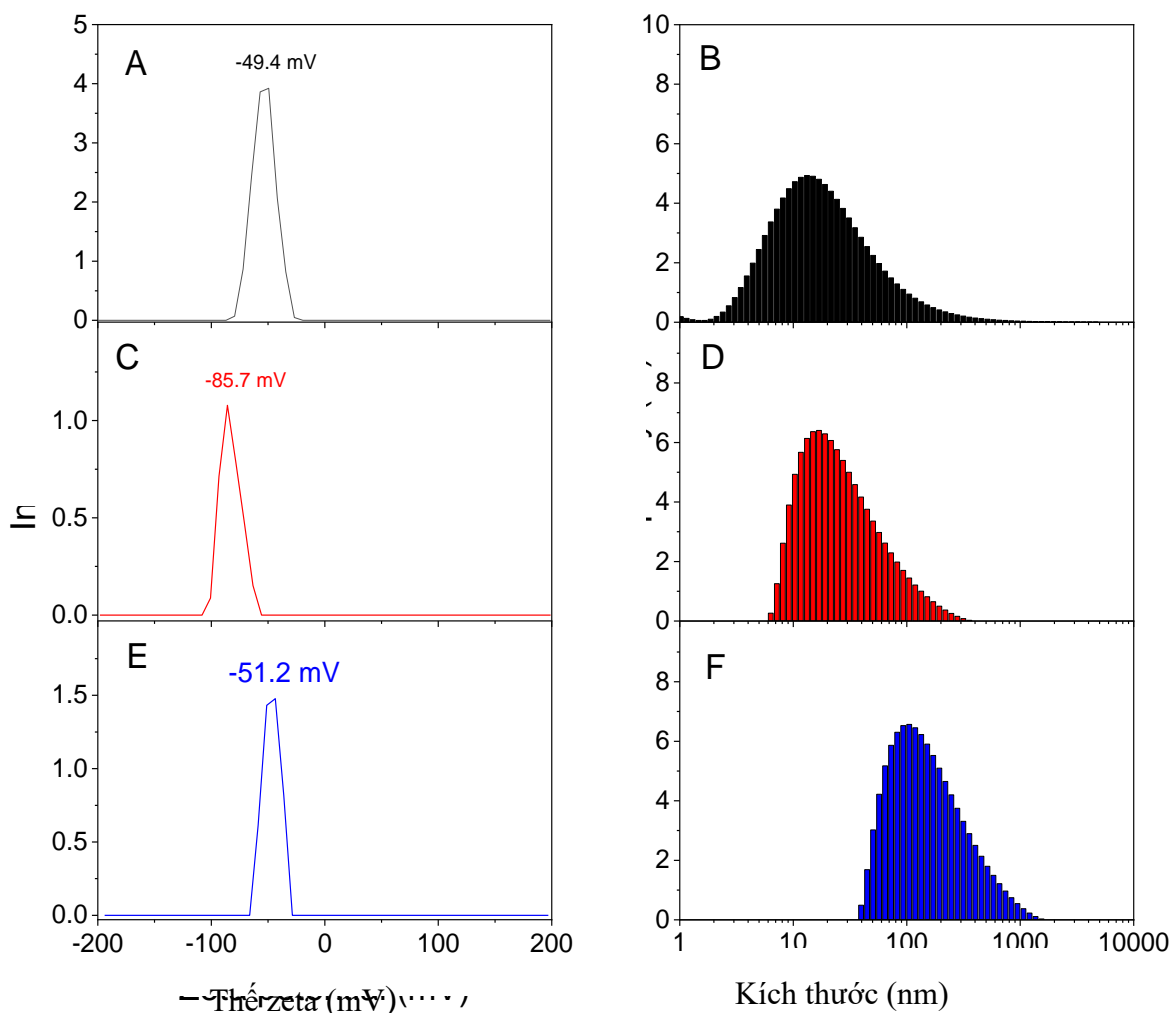


**Hình 3.22.** Phổ FT-IR của các hệ nano lai ghép AuNPs/CD, AuNPs/HPCD và AuNPs/TMACD

Kết quả cho thấy các đỉnh hấp thụ đặc trưng của glucose trong phân tử  $\beta$ -cyclodextrin xuất hiện ở 3420, 2940, 1640, 1414 và 1031  $\text{cm}^{-1}$ . Các đỉnh ở 3420 và 1414  $\text{cm}^{-1}$  lần lượt được gán cho các dao động kéo dãn và uốn cong của các nhóm OH, ở 2940  $\text{cm}^{-1}$  ứng với dao động kéo dãn của alkyl C-H trong các phân tử glucose; ở 1640  $\text{cm}^{-1}$  liên quan đến dao động kéo dãn của nhóm C=O và ở 1030  $\text{cm}^{-1}$  tương ứng với dao động dãn của nhóm C-O. Kết quả thu được cho thấy tất cả các hệ nanocomposite đều chứa thành phần hữu cơ là các phân tử CD.

Giá trị thế zeta và sự phân bố kích thước hạt DLS của vật liệu nano AuNPs/CD-x không mang thuốc được mô tả trong Hình 3.23. Tất cả các vật liệu nano rỗng đều cho thấy điện thế bề mặt có giá trị âm cao trong khoảng -49,4 mV đến -85,7 mV tạo ra lực đẩy

giữa các hạt nano, làm giảm đáng kể xu hướng tập hợp và tạo ra độ ổn định cao của các chúng trong dung dịch nước. Do đó, tổ hợp nano dựa trên các phân tử AuNPs và CD-x là một hệ thống nano bền thích hợp cho mục đích phân phối thuốc.

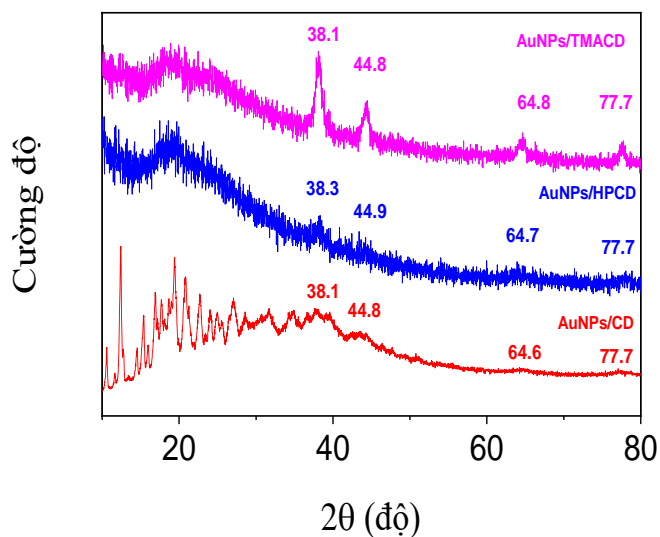


**Hình 3.23** Thế zeta của các vật liệu AuNPs/CD-x (A) và kích thước hạt (DLS) của vật liệu AuNPs/CD (B); AuNPs/HPCD (C); AuNPs/TAMCD (D)

Kết quả phân tích kích thước hạt của các vật liệu nano chưa mang tải thuốc bằng kỹ thuật DLS cho thấy ảnh hưởng của các nhóm thế trên phân tử CD-x đến sự phân bố kích thước hạt và giá trị trung bình tương ứng của chúng. Các mẫu AuNPs/CD và AuNPs/HPCD có kích thước hạt phân bố trong khoảng 1-300 nm, trong khi mẫu AuNPs/TMACD phân bố ở phạm vi 40-1000 nm. Mặt khác, kích thước hạt trung bình của

các mẫu nano AuNPs/CD và AuNPs/HPCD (tương ứng là 13 nm và 16 nm) thấp hơn nhiều so với AuNPs/TMACD (105 nm). Điều này có thể do hiệu ứng lập thể cao của nhóm propylamine trong phân tử TMACD đã làm gia tăng kích thước hạt trong dung dịch nước.

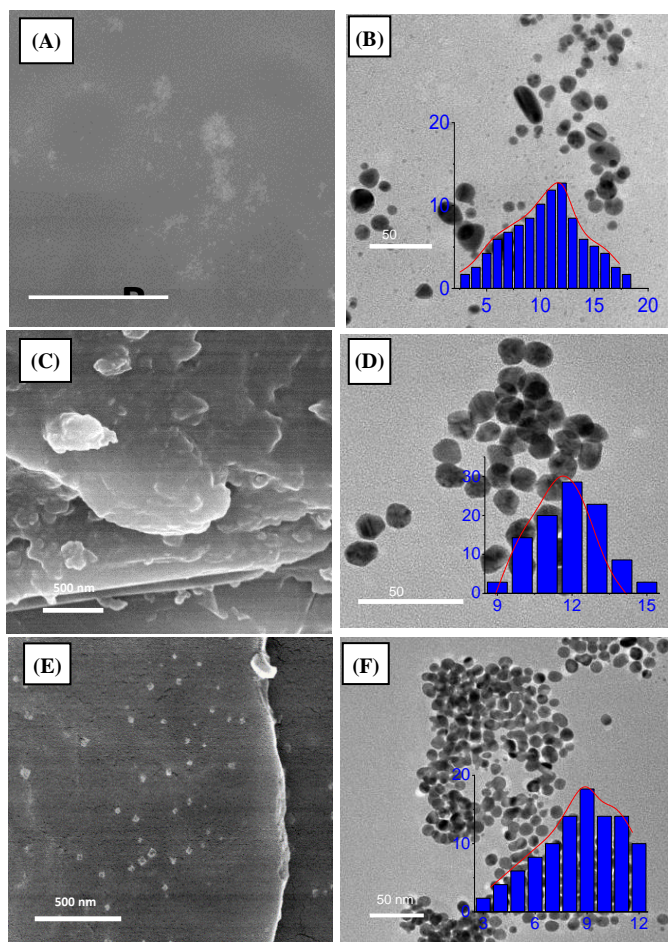
Cấu trúc tinh thể của vật liệu nano không mang thuốc được đánh giá qua giản đồ XRD của các mẫu dạng bột và kết quả được mô tả như trong Hình 3.24. Giản đồ XRD của vật liệu nanocomposite AuNPs/CD-x cho thấy các đỉnh đặc trưng của tinh thể AuNPs ở các góc  $2\theta$  tương ứng  $38,4^\circ$ ,  $44,8^\circ$ ,  $64,4^\circ$  và  $77,5^\circ$ . Các góc này lần lượt được gán cho khối tâm mặt (fcc) của (111), (200), (220) và (311) (so với số thẻ của mẫu chuẩn 00-004-0783). Như vậy, vật liệu nanocomposite có chứa các tinh thể nano vàng. Ngoài ra ở mẫu AuNPs/CD xuất hiện các tín hiệu mạnh ở các góc  $2\theta \sim 12^\circ$ ,  $18^\circ$  và  $19^\circ$  đặc trưng cho cấu trúc tinh thể  $\beta$ -cyclodextrin.



**Hình 3.24.** Giản đồ XRD của các vật liệu nano AuNPs/CD, AuNPs/HPCD và AuNPs/TMACD

Hình thái và kích thước của vật liệu AuNPs/CD-x không mang thuốc được xác định bằng cách sử dụng phân tích ảnh SEM và TEM. Ảnh SEM (Hình 3.25A, C và E) cho thấy bề mặt thô ráp với các hình dạng vảy liên quan đến hình thái của các dẫn xuất  $\beta$ -CD. Ảnh SEM của tất cả các hệ nanocomposite cho thấy sự hiện diện các hạt có kích thước

nhỏ hơn 25 nm có thể liên quan với các hạt AuNPs được hình thành trên các phân tử cyclodextrin.



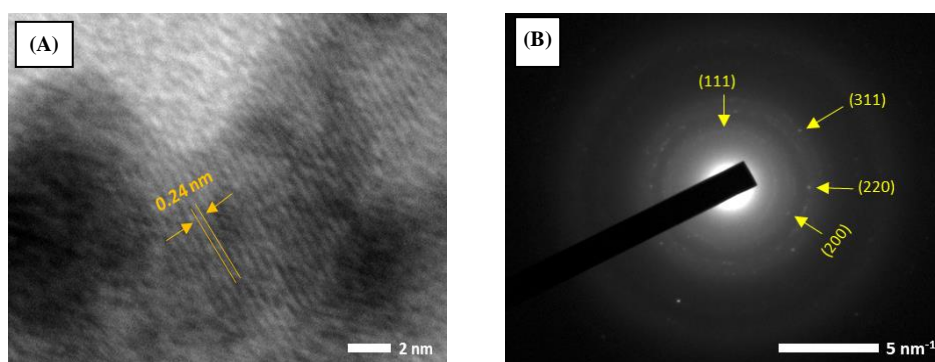
**Hình 3.25.** Ảnh SEM (trái) và ảnh TEM (phải) của các hệ nano AuNPs/CD (A và B) AuNPs/HPCD (C và D) và AuNPs/TMACD (E và F).

Ảnh TEM đã xác nhận rằng tất cả các dẫn xuất  $\beta$ -CD-x đều được sử dụng thành công cho tổng hợp AuNPs. Tất cả các hệ nano vàng hình thành đều có dạng hình cầu phân bố đồng đều. Tuy nhiên, kích thước và sự phân bố hạt lại có sự khác nhau đáng kể. Hệ AuNPs/ $\beta$ -CD phân bố trong phạm vi 3-18 nm với kích thước trung bình là 12 nm và hệ AuNPs/HPCD có sự phân bố kích thước hẹp hơn là ở khoảng 9-15 nm với kích thước trung bình 12 nm. Trong khi đó, hạt nano AuNPs/TMACD có kích thước trong dãy 3-12 nm với kích thước trung bình 9 nm. Từ kết quả trên chỉ ra rằng sự hiện diện của các nhóm



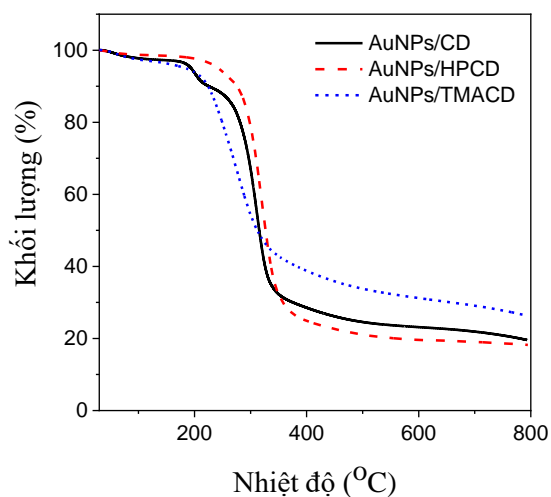
chức khác nhau trong phân tử CD có thể ảnh hưởng đến khả năng hình thành của hạt nano vàng.

Để kiểm tra cấu trúc hạt nano vàng của ảnh TEM, mẫu AuNPs/CD được lựa chọn để đo HR-TEM và phân tích nhiễu xạ electron vùng chọn lọc (SAED), kết quả thấy được trong Hình 3.26. Cấu trúc của các tinh thể AuNPs có thể quan sát rõ ràng qua mẫu HR-TEM và SAED. Ảnh HR-TEM cho thấy khoảng cách giữa các tinh thể là 0,24 nm tương quan với fcc (111) của AuNPs. Mẫu SAED cho biết các vòng tròn sáng tương ứng với các mặt phẳng phản xạ Bragg của các tinh thể AuNP (111), (200), (220) và (311), trùng khớp với dữ liệu của mẫu XRD đã trình bày ở phần trên (Hình 3.24).



**Hình 3.26.** Ảnh HR-TEM (A) và phân tích nhiễu xạ vùng chọn lọc SAED (B) của AuNPs/CD.

Phân tích nhiệt trọng lượng (TGA) của vật liệu nanocomposite chưa mang thuốc được khảo sát trong môi trường không khí với tốc độ gia nhiệt 10 °C/phút (Hình 3.27 và Bảng 3.6).



**Hình 3.27.** Tính chất phân hủy nhiệt của hệ nanocomposite không mang thuốc AuNPs/CD-x

Các vật liệu nano mang thuốc thể hiện các đặc tính nhiệt khác nhau. Sự phân hủy nhiệt của AuNPs/HPCD xảy ra trong 1 giai đoạn ở 258-540 °C (78,6%) trong khi các mẫu AuNPs/CD và AuNPs/TMACD cho thấy quá trình phân hủy diễn ra trong 3 giai đoạn. Giai đoạn mất nhiệt đầu tiên liên quan đến độ ẩm của mẫu vật liệu xảy ra ở 30-100 °C với sự mất khối lượng lần lượt là 2,3% và 2,7%. Bước thứ hai chủ yếu xảy ra ở 100-530 °C với sự mất khối lượng lần lượt là 73,8% và 65,5%, tương ứng với quá trình oxy hóa các phân tử glucose trong chuỗi oligosaccharide. Bước cuối cùng được xác định trong khoảng từ 530-790 °C với độ hao hụt khối lượng lần lượt là 4,3% và 5,1%.

Tính chất nhiệt của tất cả các vật liệu cho thấy quá trình phân hủy nhiệt tập trung chủ yếu ở vùng nhiệt lớn hơn 260 °C. Kết quả này chỉ ra rằng vật liệu AuNPs điều chế từ các dẫn xuất CD-x có độ bền nhiệt cao và có khả năng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau.

**Bảng 3.6.** Các giai đoạn phân hủy nhiệt của vật liệu nanocomposite không mang thuốc

Mẫu	Các đại lượng*	Các giai đoạn phân hủy nhiệt		
		Giai đoạn 1	Giai đoạn 2	Giai đoạn 3
AuNPs/CD	$T_d$ (°C)/ $m_{loss}$ (%)	30-100/2.6	100-530/73.8	530-790/4.3
AuNPs/HPCD	$T_d$ (°C)/ $m_{loss}$ (%)	258-540/78.6	-	-
AuNPs/TMACD	$T_d$ (°C)/ $m_{loss}$ (%)	30-100/2.7	100-530/65.5	398-790/5.1

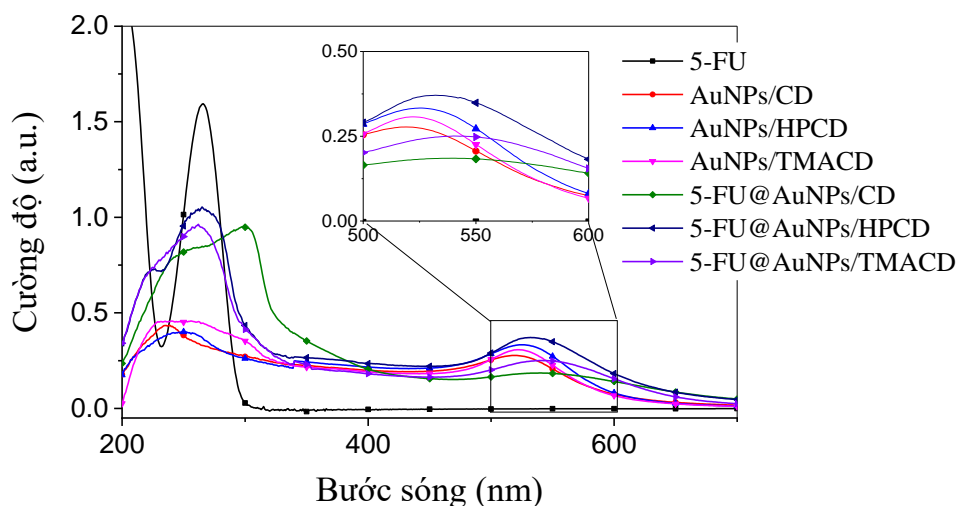
\* $T_d$  là nhiệt độ phân hủy và  $m_{loss}$  là khối lượng mất nhiệt

### 3.3.2.2 Vật liệu nano tải thuốc 5-FU

Vật liệu nanocomposite rắn chưa mang thuốc (màu hồng) với độ hấp thụ cực đại trong phổ UV-Vis tại bước sóng 525 nm. Sau khi thuốc 5-FU được mang lên hệ nanocomposite (màu xanh đậm) bước sóng hấp thụ đã dịch chuyển đến 550 nm (Hình 3.28).

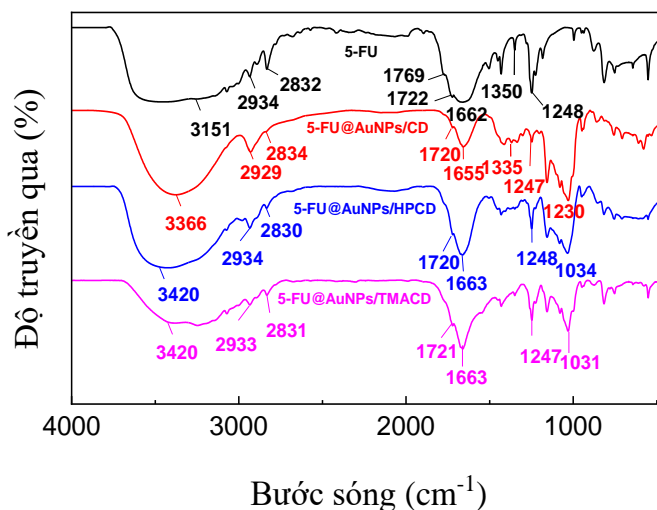
Sự dịch chuyển bước sóng có thể liên quan đến sự hấp thụ của 5-FU lên bề mặt của AuNPs hoặc/và có sự cạnh tranh của giữa phức 5-FU/CD-x và các phân tử CD-x bao quanh AuNPs dẫn đến sự thay đổi tương tác giữa chất bảo vệ và AuNPs. Thêm nữa, phổ

UV-Vis của các hệ nano mang thuốc cho thấy peak hấp thụ của 5-FU tại bước sóng 266 nm, đã xác nhận quá trình mang thuốc thành công lên hệ nanocomposite AuNPs/CD-x.



**Hình 3.28.** Phổ UV-Vis của 5-FU, các hệ nano chưa mang thuốc và mang thuốc AuNPs/CD-x.

Kết quả phân tích FT-IR xác nhận sự hiện diện của thuốc 5-FU trong các hệ nanocomposite mang thuốc (Hình 3.29).

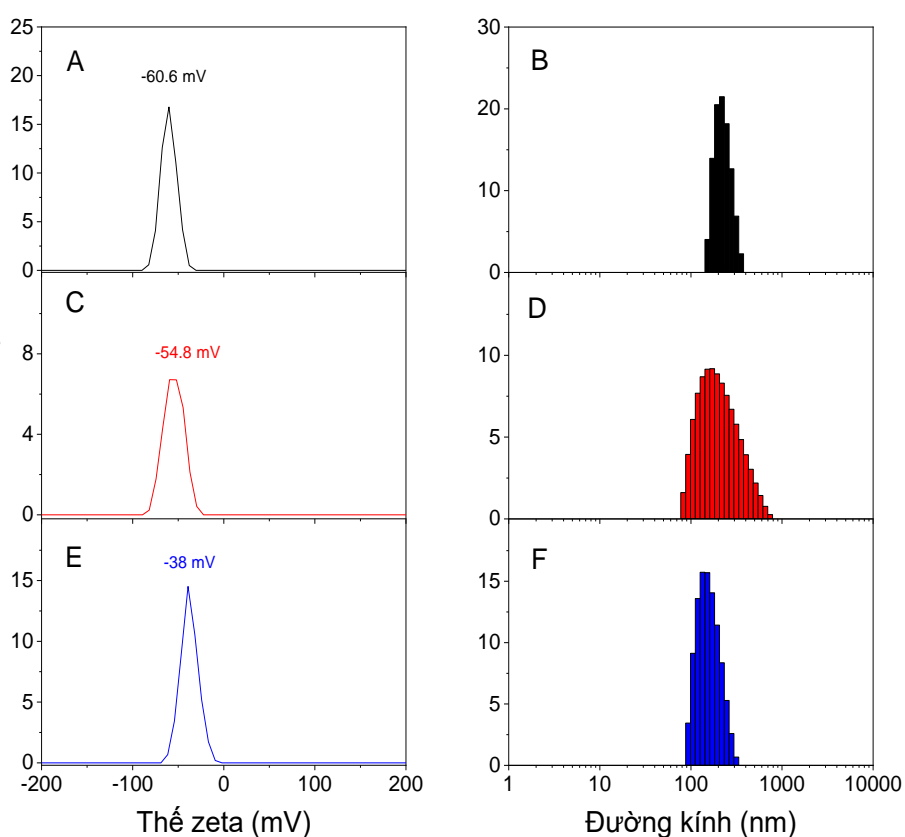


**Hình 3.29.** Phổ FT-IR của 5-FU và các hệ nano mang thuốc 5-FU@AuNPs/CD-x

Phổ FT-IR của 5-FU với các đỉnh hấp thụ ở 3151 và 2934-2832  $\text{cm}^{-1}$  là do dao động của liên kết N-H và C-H tương ứng. Các đỉnh ở 1769-1662  $\text{cm}^{-1}$  liên quan đến dao động dẫn của nhóm C=O và các đỉnh ở 1350 và 1248  $\text{cm}^{-1}$  lần lượt là đặc trưng cho dao

động của liên kết C-N và C-F. Phổ FT-IR của các nanocomposite mang thuốc đều cho tất cả các peak đặc trưng của vật liệu nano chưa mang thuốc ( $1414$  và  $1034\text{ cm}^{-1}$ ) và peak của 5-FU ( $1722$ ,  $1350$  và  $1248\text{ cm}^{-1}$ ).

Hệ nanocomposite mang thuốc có những thay đổi nhỏ về điện thế zeta ( $-38$  đến  $-60,6\text{ mV}$ ) được cho là do sự hiện diện của 5-FU trong nanocomposite (Hình 3.30A, C và E). Thế zeta có giá trị âm lớn đã xác nhận tính ổn định của vật liệu nanocomposite mang thuốc trong dung dịch, do đó có thể bảo vệ tốt các phân tử thuốc 5-FU của các hệ nano dựa trên các phân tử AuNPs và CD-x.

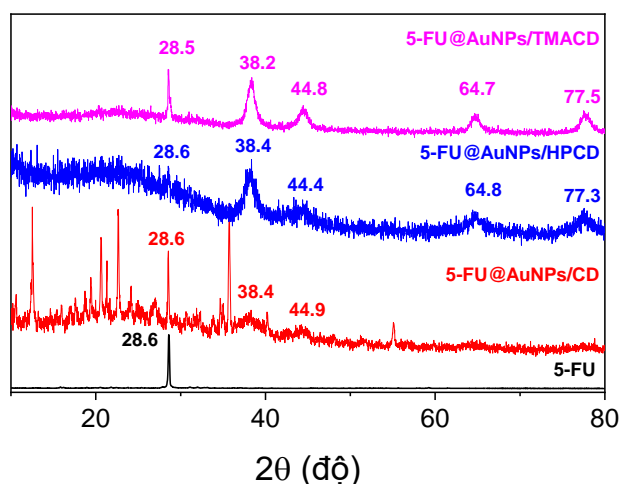


**Hình 3.30.** Thế zeta (trái) và kích thước hạt DLS (phải) hệ nano mang thuốc 5-FU@AuNPs/CD (A,B), 5-FU@AuNPs/HPCD (C,D) và 5-FU@AuNPs/TMACD (E,F).

Sự có mặt của các phân tử thuốc 5-FU trong nanocomposite tác động đáng kể đến kích thước và sự phân bố hạt trong dung dịch nước. Dữ liệu kích thước hạt DLS được mô tả trong Hình 3.30B, D và F cho thấy 2 mẫu nanocomposite, 5-FU@AuNPs/CD và 5-FU@AuNPs/TMACD có dải phân bố hẹp trong phạm vi lần lượt  $150-355\text{ nm}$  với kích

thước trung bình là 218 nm và 93-313 nm với kích thước trung bình là 134 nm, trong khi 5-FU@ AuNPs/HPCD có dải phân bố kích thước rộng 82-740 nm với kích thước trung bình là 171 nm. Sự gia tăng kích thước của nanocomposite mang thuốc so với vật liệu không mang tải thuốc có thể liên quan đến các phân tử 5-FU hấp phụ trên bề mặt AuNPs hoặc sự cạnh tranh với các phân tử cyclodextrin đã làm giảm độ ổn định của các hạt nano, dẫn đến hiện tượng kết tụ các hạt trong dung dịch nước.

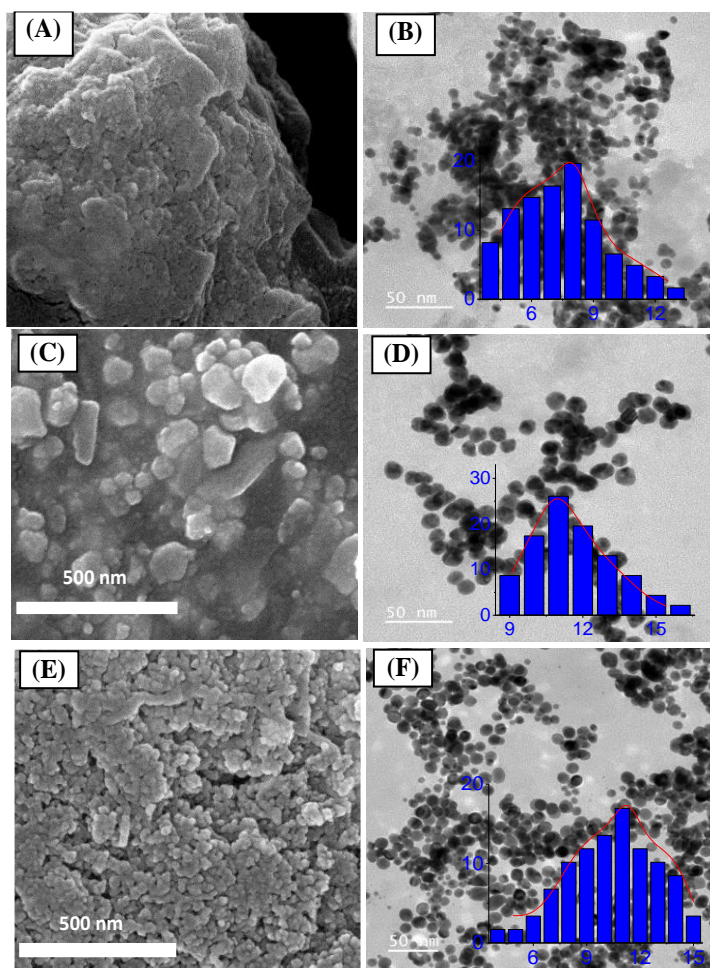
Giải đồ XRD của thuốc 5-FU cho thấy cấu trúc tinh thể với đỉnh cường độ mạnh ở góc  $2\theta$  tương ứng  $28,4^\circ$  (Hình 3.31). Dữ liệu XRD của nanocomposite mang thuốc chỉ ra các đỉnh đặc trưng của cả thuốc 5-FU và của AuNPs/CD-x. Hệ nanocomposite cho thấy các peak trong vùng  $38,2; 44,8; 64,7$  và  $77,5$  được gán cho các mặt fcc của AuNPs tương tự như trong hệ nanocomposite chưa mang thuốc. Đặc biệt, tất cả các hệ nano mang thuốc đều xuất hiện tín hiệu đặc trưng ở góc  $2\theta$   $28,5^\circ$  với cường độ peak theo thứ tự 5-FU@AuNPs/TMACD > 5-FU@AuNPs/CD > 5-FU@AuNPs/HPCD, cho thấy hàm lượng của thuốc 5-FU trong mẫu khác nhau tương ứng với các giá trị hiệu quả liên kết thuốc (EE) và hiệu quả tải thuốc (DL) trong các mẫu này.



**Hình 31.** Giải đồ XRD của các hệ nano mang thuốc 5-FU@AuNPs/CD-x

Ảnh SEM và TEM vật liệu nanocomposite mang thuốc của các dẫn xuất cyclodextrin khác nhau được trình bày trong Hình 3.32. Ảnh SEM chỉ ra 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 không mang thuốc và nanocomposite mang thuốc. Thật vậy,

vật liệu chưa mang thuốc có bề mặt rất mịn trong khi bề mặt của vật liệu mang thuốc thô ráp. Hiện tượng này có thể là do có sự hiện diện của 5-FU trong mẫu nên đã tạo ra cấu trúc xốp hơn của nanocomposite.

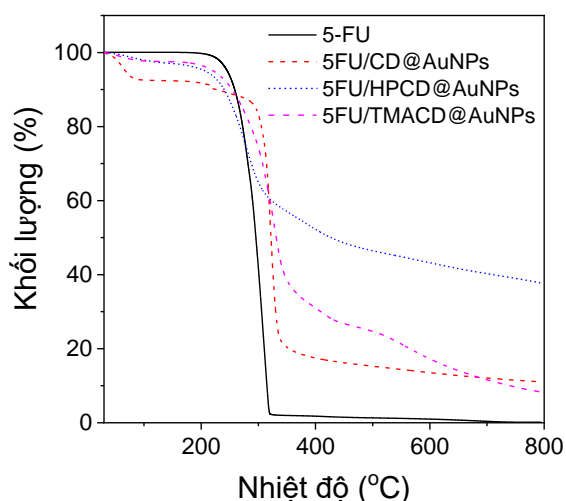


**Hình 3.32.** Ảnh SEM (trái) và ảnh TEM (phải) của các hệ nano mang thuốc 5-FU@AuNPs/CD (A, B), 5-FU@AuNPs/HPCD (C, D) và 5-FU@AuNPs/TMACD (E, F).

Ảnh TEM các nanocomposite mang thuốc cho thấy xu hướng về sự phân bố kích thước khác nhau phụ thuộc vào nhóm chức của các phân tử CD-x và tương tự với hệ nano không mang tải thuốc. Trong đó, 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. Trong khi, 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 ảnh TEM của các vật liệu nanocomposite không mang thuốc cho thấy sự phân bố tách rời giữa các hạt nano trong khi các nanocomposite mang thuốc lại cho thấy sự tập hợp đáng kể giữa các hạt nano. Rõ ràng kết quả đã chỉ ra thuốc 5-FU đã gây ra sự thay đổi trong cộng hưởng plasmonic bề mặt (SPR) của AuNPs, phù hợp với dữ liệu thay đổi về màu sắc và bước sóng hấp thụ trong phổ UV-Vis.

Phân tích nhiệt trọng lượng (TGA) của vật liệu nanocomposite chưa mang thuốc được khảo sát trong môi trường không khí với tốc độ gia nhiệt 10 °C/phút (Hình 3.33 và Bảng 3.7). Các đường cong TGA của thuốc 5-FU cho thấy có sự phân hủy hoàn toàn bởi nhiệt chỉ qua 1giai đoạn từ 273 đến 318 °C (98,5%) và chỉ ra rằng thuốc có độ tinh khiết cao. Trong khi các vật liệu nanocomposite mang tải thuốc thể hiện sự khác biệt nhiều so với các mẫu không mang thuốc.



**Hình 3.33.** Tính chất phân hủy nhiệt của 5-FU và các vật liệu nano mang thuốc

Tất cả đều cho thấy sự phân hủy nhiệt qua 3 giai đoạn với sự mất khối lượng khác nhau bao gồm bốc hơi ẩm (30-100 °C) với khối lượng mất 2,3-7,4%, oxy hóa các phân tử saccharide (100-530 °C) với khối lượng mất 52,7-77,4% và carbon hóa (530-790 °C) với độ hao hụt khối lượng 4,1-14,1%. Sự khác biệt đáng kể về sự mất khối lượng giữa các nanocomposite mang tải thuốc có thể là do các tỷ lệ khác nhau của các hợp chất hữu cơ bao gồm các phân tử thuốc và saccharide trong các mẫu tương quan với các giá trị hiệu suất tải thuốc của các vật liệu.

**Bảng 3.7** Các giai đoạn phân hủy nhiệt của vật liệu nanocomposite không mang thuốc

Mẫu	Các đại lượng*	Các giai đoạn phân hủy nhiệt		
		Giai đoạn 1	Giai đoạn 2	Giai đoạn 3
5-FU	$T_d$ (°C)/ $m_{loss}$ (%)	273-318/98,5	-	-
5-FU@AuNPs/CD	$T_d$ (°C)/ $m_{loss}$ (%)	30-100/7,4	100-530 /77,4	530-790/4,1
5-FU@AuNPs/HPCD	$T_d$ (°C)/ $m_{loss}$ (%)	30-100/2,3	100-530 /75,1	530-790 /14,1
5-FU@AuNPs/TMACD	$T_d$ (°C)/ $m_{loss}$ (%)	30-100/2,7	100-530 /52,7	500-790/6,7

\* $T_d$  là nhiệt độ phân hủy và  $m_{loss}$  là khối lượng mất nhiệt

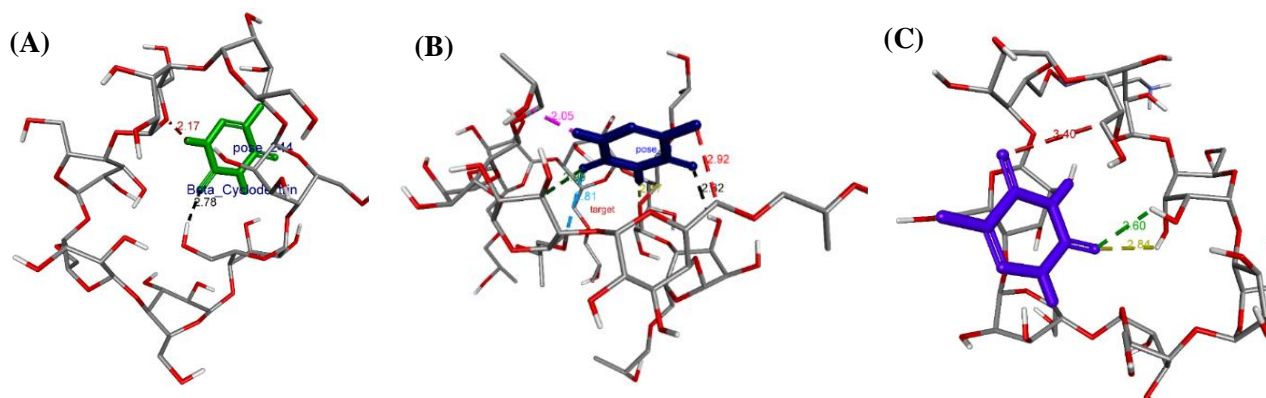
### ***Phân tích tương tác phân tử giữa 5-FU và các dẫn xuất $\beta$ -cyclodextrin***

Để làm rõ sự tương tác phân tử giữa thuốc 5-FU và CD, phương pháp phân tích tính toán in silico docking đã được sử dụng để khảo sát. Phối tử 5-FU được gắn vào các cấu trúc CD để xác định các thông số vật lý bao gồm: năng lượng ái lực (affinity energy), hằng số ức chế (inhibition constant) và độ dài liên kết (bond length). Kết quả được minh họa trong Hình 3.34 và các tương tác phối tử quan trọng được liệt kê trong Bảng 3.8. Kết quả tính toán trong tệp dock.dlg dựa trên gói Autodock và mô hình được xây dựng bởi DSC chỉ ra rằng các tương tác của 5-FU với các phân tử CD phụ thuộc vào cấu trúc hóa học của phân tử CD. Ba cấu dạng (pose) tối ưu trong mỗi mô hình (500 lần chạy) bao gồm cấu dạng pose 244, pose 71 và pose 60 được xác định là cấu trúc phối tử ổn định nhất của 5 FU lần lượt tương tác với CD, HPCD và TMACD.

Hình 3.34 cho thấy rằng năng lượng ái lực và hằng số ức chế của pose 244 của 5-FU được gắn vào CD lần lượt là  $-2,89 \text{ Kcal.mol}^{-1}$  và  $7,63 \text{ mM}$ . Riêng pose 244 đã hình thành 2 liên kết hydro từ nguyên tử oxy của nhóm ketone với nguyên tử hydro của nhóm hydroxyl của CD,  $-\text{CH}_2-\text{OH}$  và một liên kết khác, từ nguyên tử hydro của nhóm  $\text{N}-\text{H}$  với nguyên tử oxy của phân tử CD. Trong khi đó, dữ liệu cho thấy các thông số của pose 60 của 5-FU liên kết với phân tử TMACD cao hơn nhiều so với pose 244 của 5-FU tương tác với phân tử CD. Các giá trị của năng lượng ái lực và hằng số ức chế đối với tương tác của pose 60 với TMACD được xác định tương ứng là  $-2,99 \text{ Kcal.mol}^{-1}$  và  $6,42 \text{ mM}$ , trong khi



3 liên kết hydro từ 2 nguyên tử oxy của 2 nhóm ketone của 5-FU tạo thành 2 hydro nguyên tử của nhóm OH và 1 nguyên tử carbon của nhóm benzyl trên TMACD. Tuy nhiên, pose 60 tương tác với TMACD yếu hơn pose 71 của 5-FU tương tác với HPCD về cả tương tác nhiệt động lực học và phối tử.



**Hình 3.34.** Các liên kết hydro hình thành từ cấu trạng bền nhất của hợp chất 5-FU bao gồm: pose 244 và CD (A); pose 71 và HPCD (B); pose 60 và TMACD (C).

Tương tác của pose 71 với HPCD cho thấy năng lượng ái lực là  $-3,24 \text{ kcal.mol}^{-1}$  và hằng số ức chế là  $4,25 \text{ mM}$ , trong khi pose 71 này hình thành 6 liên kết hydro với phân tử HPCD. Trong số đó, liên kết hydro được hình thành từ nguyên tử hydro ở pose 71 với nguyên tử oxy của vòng HPCD là mạnh nhất do độ dài liên kết ngắn nhất ( $2,05 \text{ \AA}$ ) ở pose 71: H - HPCD: O. Vì vậy, kết quả xác nhận rằng pose 71 là tốt nhất trong cả tương tác nhiệt động lực học và phối tử khi 5-FU liên kết với các dẫn xuất cyclodextrin khác nhau. Các nguyên tử của pose 71 liên quan đến liên kết hydro bao gồm nguyên tử hydro của nhóm N-H, nguyên tử oxy của nhóm cacbonyl và nguyên tử fluorin của liên kết C-F. Do đó, khả năng tương tác của cấu trúc ổn định nhất hoặc pose của thuốc 5-FU được xác định theo thứ tự (pose 71 và HPCD) > (pose 60 và TMACD) > (pose 244 và CD). Tuy nhiên kết quả này có sự khác biệt đáng kể với các giá trị thực nghiệm của hiệu suất liên kết thuốc (AE) và hiệu suất tải thuốc (LE) trong các vật liệu nano tương ứng. Sự khác biệt này đã xác nhận rằng ngoài việc liên kết với các phân tử CD, phân tử 5-FU còn được hấp phụ vào bề mặt AuNPs với một lượng đáng kể. Do đó, có sự thay đổi của peak SPR trong các mẫu mang thuốc.

**Bảng 3.8** Các đại lượng được tính toán giữa pose docking tốt nhất của thuốc 5-FU và các dẫn xuất cyclodextrin khác nhau.

Dẫn xuất CD	Pose hoạt động	Năng lượng ái lực <sup>a</sup>	K <sub>i</sub> <sup>b</sup>	Liên kết hydro <sup>c</sup>	Tính chất và độ dài liên kết <sup>d</sup>
CD	Pose 244	-2.89	7.63	2	CD: H - Pose 244: O (2.78 Å) Pose 244: H - CD: O (2.17 Å)
HPCD	Pose 71	-3.24	4.25	6	HPCD: H - Pose 71: O (2.32 Å) Pose 71: H - HPCD: O (2.17 Å) Pose 71: H - HPCD: O (2.05 Å) HPCD: C - Pose 71: F (2.92 Å) HPCD: C - Pose 71: O (2.99 Å) HPCD: C - Pose 71: O (2.81 Å)
TMACD	Pose 60	-2.99	6.42	3	TMACD: H - Pose 60: O (2.60 Å) TMACD: H - Pose 60: O (2.84 Å) TMACD: C - Pose 60: O (3.40 Å)

<sup>a</sup> Gói Autodock, kcal.mol<sup>-1</sup> trong tệp dock.dlg; <sup>b</sup> Gói Autodock trong tệp dock.dlg, mM; <sup>c</sup> Discovery Studio 2021 Client software (DSC); <sup>d</sup> Discovery Studio 2021 Client software (DSC).

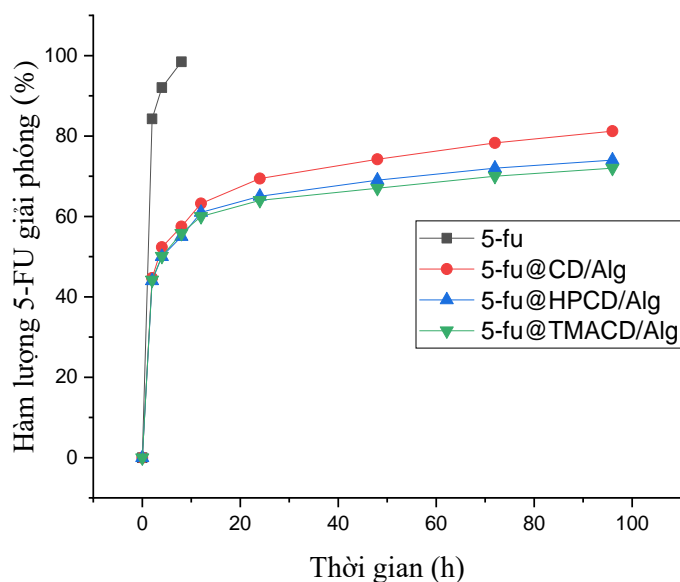
### 3.4 Kết quả nghiên cứu giải phóng thuốc *in vitro*

#### 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 [110-112]. 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 pH 1,2.

Dữ liệu (Hình 3.35) 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. Quá trình giải phóng thuốc từ các hạt nano đường như đã xảy ra trong hai giai đoạn, ban đầu giai đoạn phóng thích nhanh có thể là do thuốc hấp thụ trên bề mặt của hạt nano, trong khi sự giải phóng ở giai đoạn chậm của thuốc là do sự suy thoái của vật liệu nền và sự khuếch tán thuốc khỏi chất nền polymer. Sự phóng thích thuốc nhanh trong

cơ thể đảm bảo đạt đến nồng độ điều trị hiệu quả và sự phóng thích kéo dài có thể làm cho thuốc trong cơ thể duy trì ở phạm vi nồng độ điều trị sau đó. Sự khác biệt về tốc độ giải phóng thuốc giữa các vật liệu và mẫu đối sánh đã cho thấy ưu điểm về khả năng kiểm soát thuốc trong thời gian dài của mỗi vật liệu.

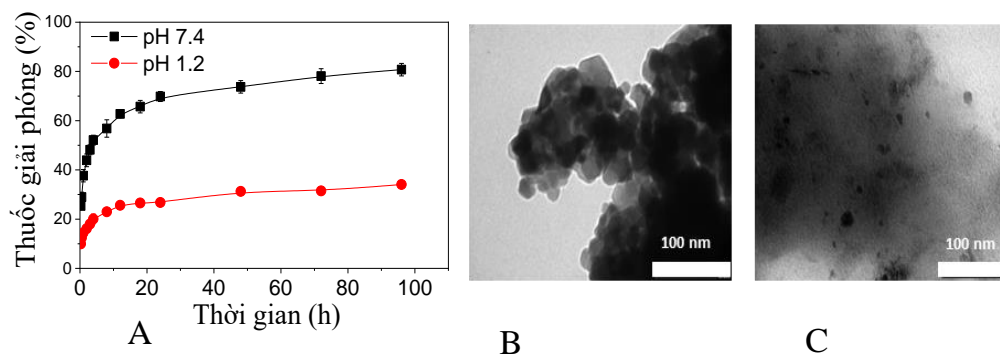


**Hình 3.35.** Đồ thị giải phóng thuốc từ hệ nano 5-FU@ $\beta$ -CD-x/Alg ở pH 7,4

So sánh tốc độ giải phóng thuốc ở các môi trường khác nhau (Hình 3.36) 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.

Để hiểu rõ hơn về cơ chế giải phóng 5-FU@ $\beta$ -CD/Alg, các mẫu vật liệu nano đã được thu hồi sau khi giải phóng trong cả hai môi trường tiếp tục nghiên cứu thêm bằng kỹ thuật TEM. Hình ảnh TEM thể hiện trong Hình 3.29B và C cho thấy các hạt nano có xu hướng kết tụ ở pH 1,2 trong khi bị phá hủy mạnh hơn và trương nở thích hợp ở pH 7,4

dẫn đến sự khuếch tán thuốc dễ dàng vào dung dịch. Sự hình thành các cụm ở pH 1,2 được giải thích bởi sự proton hóa các nhóm COO<sup>-</sup> trong alginate dẫn đến sự tái kết hợp của các hạt để tạo thành các cụm với kích thước lớn hơn và cấu trúc mạng lưới bị thu nhỏ, hạn chế sự khuếch tán 5-FU từ bên trong nanocomposite.



**Hình 3.36.** Đồ thị giải phóng thuốc từ hệ nano 5-FU@ $\beta$ -CD/Alg ở pH 7,4 và pH 1,2 (A); ảnh TEM của nano 5-FU@ $\beta$ -CD/Alg thu hồi sau 48 giờ từ pH 1,2 (B) và pH 7,4 (C).

Cơ chế giải phóng của thuốc từ các hệ nano được bộc lộ rõ ràng hơn thông qua những thay đổi về hình thái của nanocomposite. Đáng chú ý, tốc độ giải phóng thuốc từ các hệ nano 5-FU@CD-x/Alg tương tự như các báo cáo trước đây về nanocomposite dựa trên alginate (Azhar và Olad 2014, Anirudhan và Nair 2019, Wu và cộng sự, 2019), [110-112] đã chỉ ra rằng ở môi trường pH 7,4, 5-FU được giải phóng nhanh hơn so với môi trường pH 1,2.

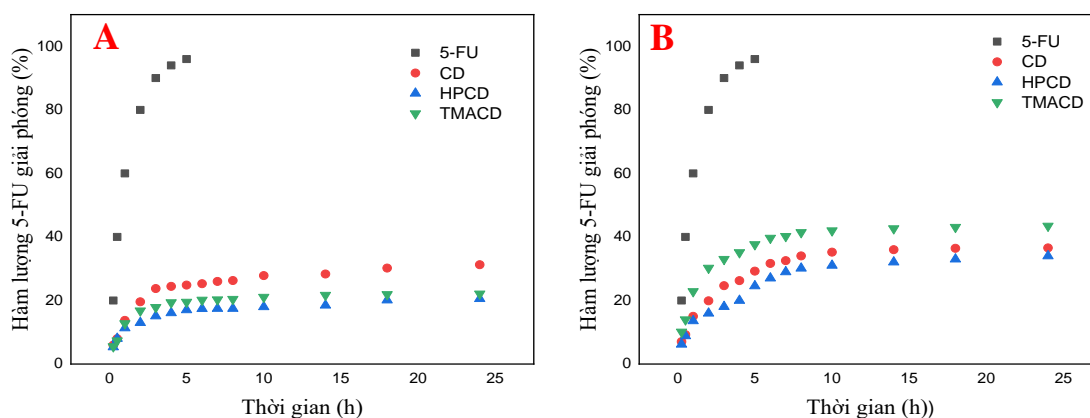
Động học các quá trình giải phóng 5-FU trong bảng 3.9 cho thấy phù hợp với cả hai mô hình Higuchi và Korsmeyer-Peppas nhưng kiểu phát hành sau là phù hợp nhất. Kết quả cho thấy việc giải phóng 5-FU từ nanocomposite ở pH 1,2 có hệ số cao hơn một chút so với hành vi giải phóng ở pH 7,4. Tuy nhiên, sự khác biệt là không đáng kể, do đó có thể kết luận rằng động học giải phóng phù hợp tốt với cả hai mô hình lý thuyết. Ngoài ra, đối với mô hình Korsmeyer-Peppas tại tất cả các giá trị pH môi trường, số mũ khuếch tán được tìm thấy thấp hơn 0,45, cho thấy rằng sự giải phóng từ tổ hợp nano 5-FU@  $\beta$ -CD/Alg tuân theo cơ chế khuếch tán Fickian.

**Bảng 3.9** Dữ liệu động học quá trình giải phóng thuốc từ tổ hợp nano 5-FU@ $\beta$ -CD/Alg tại các môi trường môi trường khác nhau

Môi trường	pH 7,4			pH 1,2		
	Hằng số	n	R <sup>2</sup>	Hằng số	n	R <sup>2</sup>
Bậc 0	0.607	-	0.533	0.218	-	0.617
Bậc 1	$3.0 \times 10^{-3}$	-	0.400	$2.8 \times 10^{-3}$	-	0.516
Hixson-Crowwell	0.010	-	0.496	$8.1 \times 10^{-3}$	-	0.531
Hugichi	6.764	-	0.817	3.640	-	0.946
Korsmeyer-Peppas	37.1	0.188	0.956	14.7	0.192	0.980

### 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. Dữ liệu giải phóng của nanocomposites mang thuốc so với mẫu thuốc tự do đối chứng được mô tả trong Hình 3.37A và 3.37B.



**Hình 3.37.** Đồ thị giải phóng thuốc từ các hệ nano 5-FU@@AuNPs/CD-x ở pH 7,4 (A) và pH 1,2 (B)

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 ± 0,62%, 19,54 ± 0,95% và 22,11 ± 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 ± 0,24%, 34,0 ± 0,65% và 43,45 ± 0,85%). Đối với 5-FU tự do quá trình giải phóng tương đối nhanh, đạt 95,01 ± 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.

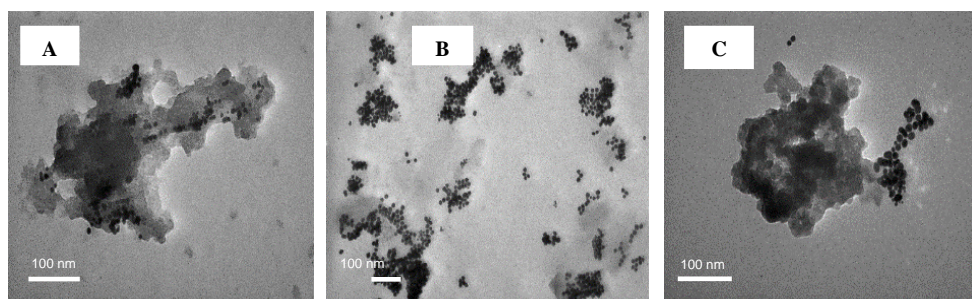
Sự khác biệt về tỷ lệ thuốc giải phóng giữa các dẫn xuất cyclodextrin cho thấy ảnh hưởng của các nhóm chức đối với việc bảo vệ dược chất trong nanocomposite. So với kết quả giải phóng thuốc dựa trên các phức hợp cyclodextrin đã được báo cáo trước đây [113,114], đáng chú ý là các nanocomposite trong nghiên cứu này ổn định hơn trong môi trường thử nghiệm. Tính ổn định cao là do sự tương tác giữa thuốc và bề mặt plasmonic của AuNPs có thể cản trở sự khuếch tán của thuốc vào dung dịch. Do đó, thuốc được bảo vệ kép trong môi trường sinh lý.

Sự tương quan về mặt động học so với các mô hình lý thuyết được thể hiện trong Bảng 3.10. Theo hệ số tương quan, dữ liệu giải phóng phù hợp với Higuchi và Korsmeyer-Peppas, đặc biệt là 5-FU@AuNPs/TMACD ( $R^2 = 0,95$  và  $0,96$ , tương ứng). Đối với mô hình giải phóng Korsmeyer-Peppas, giá trị số mũ ( $n$ ) là 0,355, xác nhận rằng cơ chế khuếch tán Fickian là yếu tố kiểm soát sự giải phóng thuốc của 5-FU@AuNPs/TMACD.

**Bảng 3.10** Dữ liệu động học giải phóng thuốc của nanocomposite 5-FU@AuNPs/CD-x

Mô hình	5-FU@AuNPs/CD			5-FU@AuNPs/HPCD			5-FU@AuNPs/TMACD		
	Hằng số	n	R <sup>2</sup>	Hằng số	n	R <sup>2</sup>	Hằng số	n	R <sup>2</sup>
Bậc 0	1.03	-	0.612	0.39	-	0.33	1.49	-	0.82
Bậc 1	0.014	-	0.67	0.005	-	0.38	0.017	-	0.83
Hixson Crosswell	0.027	-	0.409	0.012	-	0.21	0.08	-	0.67
Hugichi	5.76	-	0.80	2.96	-	0.69	5.97	-	0.95
Korsmeyer - Peppas	0.165	0.22	0.72	0.117	0.198	0.79	0.096	0.355	0.96

Để hiểu rõ hơn về cơ chế giải phóng thuốc, các mẫu nanocomposite sau khi giải phóng 5-FU đã được thu hồi và phân tích qua ảnh TEM như được trình bày trong Hình 3.38. Kết quả cho thấy các hạt nano vàng tách rời khỏi lớp màng hữu cơ và có xu hướng kết tụ thành cụm (cluster). Lớp màng hữu cơ lơ lửng trong dung dịch được cho là do sự trương nở của các phân tử saccharide trong môi trường giải phóng gây ra sự kết tụ của các hạt trong môi trường này.



**Hình 3.38.** Ảnh TEM của 5-FU@AuNPs/CD (A), 5-FU@AuNPs/HPCD (B) và 5-FU@AuNPs/TMACD (C) thu hồi sau 24 giờ

### 3.5. Kết quả 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 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% (phụ lục 39).

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 3.11. Có thể thấy, 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  $\mu\text{g/mL}$ . Tuy nhiên, giá trị  $\text{IC}_{50}$  của  $\beta$ -CD/Alg là hơn 100  $\mu\text{g/mL}$  cho cả hai dòng tế bào, chứng tỏ tính tương thích sinh học cao của vật liệu mang.

**Bảng 3.11** Khả năng gây độc tế bào của thuốc, vật liệu nanogel và nano mang thuốc

TT	Mẫu	Tỷ lệ ức chế %*		$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	
		MCF-7	Fibroblast	MCF-7	Fibroblast
1	$\beta$ -CD	$8,74 \pm 1,33$	$7,46 \pm 4,53$	>100	>100
2	HPCD	$8,16 \pm 0,44$	$2,81 \pm 8,38$	>100	>100
3	TMACD	$6,72 \pm 2,46$	$-3,31 \pm 6,26$	>100	>100
4	$\beta$ -CD/Alg	$26,83 \pm 3,58$	$-0,48 \pm 3,99$	>100	>100
5	5-FU	$83,02 \pm 2,61$	$45,31 \pm 5,52$	$1,28 \pm 0,18$	>100
6	5-FU@ $\beta$ -CD/Alg	$71,75 \pm 3,73$	$20,59 \pm 3,07$	$21,68 \pm 2,22$	>100
7	Dd giải phóng thuốc tại pH 7.4	$78,48 \pm 0,97$	$37,42 \pm 2,53$	$2,02 \pm 0,38$	>100
8	Dd giải phóng thuốc tại pH 1.2	$70,32 \pm 0,98$	$39,68 \pm 5,7$	$10,96 \pm 0,69$	>100
9	Camptothecine	$61,45 \pm 0,57^{**}$	$50,71 \pm 1,78^{**}$	$0,007 \pm 0,002$	$1,57 \pm 0,84$

\* Các mẫu được thử nghiệm ở nồng độ 100  $\mu\text{g/mL}$ .

\*\* Thuốc tham chiếu thử nghiệm ở nồng độ 0.05  $\mu\text{g/mL}$ .

\*\*\* Thuốc tham chiếu thử nghiệm ở nồng độ 2.5  $\mu\text{g/mL}$

Sự ức chế của 5-FU đối với tế bào thường khoảng  $45,31 \pm 5,52\%$  (nồng độ 100  $\mu\text{g/mL}$ ) 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. Cụ thể, 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  $21,68 \pm 2,22$



$\mu\text{g/mL}$  và  $\geq 100 \mu\text{g/mL}$ . 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  $2,02 \pm 0,38 \mu\text{g/mL}$  và  $10,96 \pm 0,69 \mu\text{g/mL}$ , 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 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 bình thường.

Ở nhóm nano vàng lai ghép, hoạt tính gây độc tế bào của vật liệu nano rỗng và nanocomposite nạp thuốc được mô tả trên Bảng 3.12 và phụ lục 40.

**Bảng 3.12** Khả năng gây độc tế bào của vật liệu AuNPs/ $\beta$ -CD-x và nanocomposite mang thuốc 5-FU@AuNPs/CD-x

TT	Mẫu	Tỷ lệ ức chế %*		$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	
		MCF-7	Fibroblast	MCF-7	Fibroblast
1	AuNPs@CD	$7.35 \pm 1.13$	$4.04 \pm 1.41$	>100	>100
2	5-FU/AuNPs@CD	$53.96 \pm 5.21$	$10.79 \pm 5.03$	$23.66 \pm 4.76$	>100
3	AuNPs@HPCD	$9.27 \pm 5.26$	$-13 \pm 5.65$	>100	>100
4	5FU/AuNPs@HPCD	$33.42 \pm 4.73$	$2.93 \pm 0.59$	>100	>100
5	AuNPs@TMACD	$16.27 \pm 4.03$	$-0.77 \pm 2.92$	>100	>100
6	5FU/AuNPs@TMACD	$90.27 \pm 1.64$	$40.92 \pm 2.89$	$16.04 \pm 1.76$	>100
7	Camptothecine	$54. \pm 2.62^{**}$	$47.86 \pm 2.15^{**}$	>100	

\* Các mẫu được thử nghiệm ở nồng độ  $100 \mu\text{g/mL}$ .

\*\* Thuốc tham chiếu thử nghiệm ở nồng độ  $0.05 \mu\text{g/mL}$ .

\*\*\* Thuốc tham chiếu thử nghiệm ở nồng độ  $2.5 \mu\text{g/mL}$

Bảng 3.12 thể hiện phần trăm ức chế của nanocomposite đối với cả hai dòng tế bào ở nồng độ 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Đối với các mẫu có tỷ lệ phần trăm ức chế hơn 50% được chọn để xác định các giá trị  $\text{IC}_{50}$ . 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.

Các hợp chất nano được nạp thuốc cho thấy hoạt tính sinh học khác nhau đối với các dòng tế bào và mức độ gây độc 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  $\text{IC}_{50} = 16,04 \pm 1,76 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) thấp hơn một chút so với hoạt tính sinh học của 5-FU@AuNPs/TMACD (giá trị  $\text{IC}_{50} = 23,66 \pm 4,76 \mu\text{g}/\text{mL}$ ), nhưng nó an toàn hơn đối với các tế bào 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 các vật liệu nanocomposite đã thử nghiệm 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 VÀ KIẾN NGHỊ

### 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 khảo sát 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 tối đa trong khoảng 23% đến 68% (cao hơn hẳn so với ketoprofen và anastrozole trong các công bố gần đây của chúng tôi).

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. Trong khi đó, tốc độ giải phóng chậm hơn nhiều ở pH 1,2 với tỷ lệ giải phóng chỉ đạt 34,1% trong 96 giờ. Các vật liệu nano lai ghép lượng 5-FU giải phóng sau 24 giờ đạt 19,6% đến 31% ở pH 7,4 và

từ 34% đến 43,45% ở pH 1,2.

6. Độc tế bào của các vật liệu nano, các phức hợp nano mang thuốc và dung dịch thuốc giải phóng đã được thử nghiệm trên dòng tế bào bình thường (nguyên bào sợi) và dòng tế bào ung thư vú (MCF-7). 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 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 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.

## 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].



## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Ilona Krabicová et al, History of Cyclodextrin Nanosponges. *Polymers* **2020**, 12 (5), 1122.
- [2] Arockia Jency, D.; Umadevi, M.; Sathe, G. SERS detection of polychlorinated biphenyls using  $\beta$ -cyclodextrin functionalized gold nanoparticles on agriculture land soil. *Journal of Raman Spectroscopy* **2015**, 46 (4), 377-383.
- [3] Park, C.; Youn, H.; Kim, H.; Noh, T.; Kook, Y. H.; Oh, E. T.; Park, H. J.; Kim, C. Cyclodextrin-covered gold nanoparticles for targeted delivery of an anti-cancer drug. *Journal of Materials Chemistry* **2009**, 19 (16), 2310-2315.
- [4] F. Ramezani, M. Habibi, H. Rafii-Tabar, M. Amanlou. Effect of peptide length on the conjugation to the gold nanoparticle surface: *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2015**; 23 (9), 2-5.
- [5] T. Loftsson, M. E. Brewster, M. Masson, Role of Cyclodextrins in Improving, Oral Drug Delivery, *Am J Drug Deliv*, **2004**, 2 (4), 261-275.
- [6] E. Schneiderman, A. M. Stalcup, Cyclodextrins: A versatile tool in separation science, *J Chromatogr B*, **2000**, 745 (8), 83-102.
- [7] Petr Kasal and Jindřich Jindřich, Mono-6-Substituted Cyclodextrins - Synthesis and Applications. *Molecules* **2021**, 26 (2), 5065.
- [8] Luke, D.R.; Tomaszewski, K.; Damle, B.; Schlamm, H.T. Review of the Basic and Clinical Pharmacology of Sulfobutylether- $\beta$ -Cyclodextrin (SBECD). *J. Pharm. Sci.* **2010**, 99 (8), 3291–3301.
- [9] Evans, C.E.; Stalcup, A.M. Comprehensive Strategy for Chiral Separations Using Sulfated Cyclodextrins in Capillary Electrophoresis. *Chirality* **2003**, 15 (8), 709–723.
- [10] Brown, S.; Coates, J.; Coghlan, D.; Easton, C.; Vaneyk, S.; Janowski, W.; Lepore, A.; Lincoln, S.; Luo, Y.; May, B.; et al. Synthesis and Properties of 6A-Amino-6A-

Deoxy- $\alpha$  and  $\beta$ -Cyclodextrin. *Aust. J. Chem.* **1993**, 46 (4), 953–958.

- [11] Onagi, H.; Easton, C.J.; Lincoln, S.F. An Hermaphrodite [2]Rotaxane: Preparation and Analysis of Structure. *Org. Lett.* **2001**, 3 (7), 1041–1044.
- [12] 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. *Tạp chí hoá học* **2019**, 6E1,2 (57), 282-286
- [13] F. ajesh, , S. B. revin, R. ravi. Fabrication and characterization of 4-amino-6-hydroxy-2-mercaptopyrimidine stabilized gold nanoparticles for electrocatalytic application of epinephrine and uric acid. *Journal of Optoelectronic and Biomedical Materials*, **2019**, 11 (3), 57-60.
- [14] Sung, H.; Ferlay, J.; Siegel, R.L.; Laversanne, M.; Soerjomataram, I.; Jemal, A.; Bray, F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA A Cancer J. Clin.* **2021**, 71(3), 209–249.
- [15] Murtaza, M.; Baig, M.M.A.; Ahmed, J.; Serbanoiu, L.I.; Busnatu, S.S. Higher Mortality Associated With New-Onset Atrial Fibrillation in Cancer Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front. Cardiovasc. Med.* **2022**, 9 (1), 867002.
- [16] Upadhyay, A. Cancer: An unknown territory; rethinking before going ahead. *Genes Dis.* **2021**, 8 (5), 655–661.
- [17] Busnatu, S. ,; Niculescu, A.-G.; Bolocan, A.; Petrescu, G.E.D.; Păduraru, D.N.; Năstasă, I.; Lupus, oru, M.; Geantă, M.; Andronic, O.; Grumezescu, A.M.; et al. Clinical Applications of Artificial Intelligence—An Updated Overview. *J. Clin. Med.* **2022**, 11 (8), 2265.
- [18] Du, Y.; Chen, B. Combination of drugs and carriers in drug delivery technology and its development. *Drug Des. Dev. Ther.* **2019**, 13(3), 1401–1408.



- [19] Chinnamanyakar, R.; Ramanathan, E.M. Anti-cancer and Antimicrobial Activity, In-Silico ADME and Docking Studies of Biphenyl Pyrazoline Derivatives. *Biointerface Res. Appl. Chem.* **2021**, 11(1), 8266–8282.
- [20] Das, M.; Solanki, A.; Joshi, A.; Devkar, R.; Seshadri, S.; Thakore, S.  $\beta$ -cyclodextrin based dual-responsive multifunctional nanotheranostics for cancer cell targeting and dual drug delivery. *Carbohydr. Polym.* **2019**, 206 (15), 694–705.
- [21] Niculescu, A.-G.; Grumezescu, A.M. Novel Tumor-Targeting Nanoparticles for Cancer Treatment—A Review. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, 23 (9), 5253.
- [22] Dai, X.; Zhang, B.; Zhou, W.; Liu, Y. High-Efficiency Synergistic Effect of Supramolecular Nanoparticles Based on Cyclodextrin Prodrug on Cancer Therapy. *Biomacromolecules* **2020**, 21 (12), 4998–5007.
- [23] Guimaraes, P.P.G.; Tan, M.; Tammela, T.; Wu, K.; Chung, A.; Oberli, M.; Wang, K.; Spektor, R.; Riley, R.S.; Viana, C.T.R.; et al. Potent in vivo lung cancer Wnt signaling inhibition via cyclodextrin-LGK974 inclusion complexes. *J. Control. Release* **2018**, 290 (3), 75–87.
- [24] Vaidya, B.; Parvathaneni, V.; Kulkarni, N.S.; Shukla, S.K.; Damon, J.K.; Sarode, A.; Kanabar, D.; Garcia, J.V.; Mitragotri, S.; Muth, A.; et al. Cyclodextrin modified erlotinib loaded PLGA nanoparticles for improved therapeutic efficacy against non-small cell lung cancer. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, 122 (10), 338–347.
- [25] Wang, X.; Parvathaneni, V.; Shukla, S.K.; Kulkarni, N.S.; Muth, A.; Kunda, N.K.; Gupta, V. Inhalable resveratrol-cyclodextrin complex loaded biodegradable nanoparticles for enhanced efficacy against non-small cell lung cancer. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, 164, 638–650.
- [26] Lin, X.; Bai, Y.; Jiang, Q. Precise fabrication of folic acid-targeted therapy on metformin encapsulated  $\beta$ -cyclodextrin nanomaterials for treatment and care of lung cancer. *Process Biochem.* **2022**, 118 (2), 74–83.

- [27] Shahiwala, A. Cyclodextrin conjugates for colon drug delivery. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2020**, 55, 10144.
- [28] Catchpole, O.; Mitchell, K.; Bloor, S.; Davis, P.; Suddes, A. Anti-gastrointestinal cancer activity of cyclodextrin-encapsulated propolis. *J. Funct. Foods* **2018**, 41, 1-8.
- [29] Altoom, N.; Ibrahim, S.M.; Othman, S.I.; Allam, A.A.; Alqhtani, H.A.; Al-Otaibi, F.S.; Abukhadra, M.R. Characterization of  $\beta$ -cyclodextrin/phillipsite ( $\beta$ -CD/Ph) composite as a potential carrier for oxaliplatin as therapy for colorectal cancer; loading, release, and cytotoxicity. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* **2022**, 648, 129144.
- [30] Al-Abboodi, A.S.; Al-Sheikh, W.a.M.; Eid, E.E.M.; Azam, F.; Al-Qubaisi, M.S. Inclusion complex of clausenidin with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin: Improved physicochemical properties and anti-colon cancer activity. *Saudi Pharm. J.* **2021**, 29(3), 223–235.
- [31] Elamin, K.M.; Motoyama, K.; Higashi, T.; Yamashita, Y.; Tokuda, A.; Arima, H. Dual targeting system by supramolecular complex of folate-conjugated methyl- $\beta$ -cyclodextrin with adamantane-grafted hyaluronic acid for the treatment of colorectal cancer. *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, 113, 386–394.
- [32] Mohamed A. Safwat, Ghareb M. Soliman, Douaa Sayed & Mohamed A. Attia. Gold nanoparticles capped with benzalkonium chloride and poly (ethylene imine) for enhanced loading and skin permeability of 5-fluorouracil. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **2017**, 43 (11), 1780-1791.
- [33] Maria D. Moya-Ortega. Cyclodextrin-based nanogels for pharmaceutical and biomedical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, **2012**, 428 (12), 152–163.
- [34] Lippitz M., van Dijk MA, Orrit M., Third-harmonic generation from single gold nanoparticles, *Nano. Lett.*, **2005**, 5(4), 799-802.

- [35] Liu J., Ong W., Roman E., Lynn M.J., Kaifer A.E., Cyclodextrin-Modified Gold Nanospheres, *Langmuir*, **2000**, 16 (7), 3000-3002.
- [36] Asela I., Noyong M., Simon U., Andrades-Lagos J., Campanini-Salinas J., Velasquez D.V., Kogan M., Yutronic N., Sierpe R., Gold nanoparticles stabilized with  $\beta$ -cyclodextrin-2-amino-4-(4-chlorophenyl)thiazole complex: A novel system for drug transport, PLOS ONE, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185652>, October 11, **2017**.
- [37] Balasubramanian P., Balamurugan T. S. T., Chen S.M., Highly Sensitive Electrochemical Detection of Nitrite Ions in Food Samples via  $\beta$ -Cyclodextrin Capped Gold Nanoparticles Film Modified Glassy Carbon Electrode. *Journal of The Electrochemical Society*, **2017**, 164 (13) B715-B722.
- [38] Stiufiuc G., Toma V., Moldovan A.I., Lucaciu M., One pot microwave assisted synthesis of cyclodextrins capped spherical gold nanoparticles, *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, **2017**, 12(4), 1089-1095.
- [39] Silva N., Riveros A., Yutronic N., Lang E., Chornik B., Guerrero S., Samitier J., Jara P., Kogan M.J., Photothermally Controlled Methotrexate Release System Using  $\beta$ -Cyclodextrin and Gold Nanoparticles, *Nanomaterials*, **2018**, 8 (12), 985-989.
- [40] Coelho J.P., Barcina J.O., Junquera E., Aicart E., Tardajos G., Gómez-Graña S., Cruz-Gil P., Salgado C., Díaz-Núñez P., Peña-Rodríguez O., Guerrero-Martínez A., Supramolecular Control over the Interparticle Distance in Gold Nanoparticle Arrays by Cyclodextrin Polyrotaxanes, *Nanomaterials*, **2018**, 8, 168.
- [41] Granet R., Faure R., Mark-Arthur G., Ntoutoume N., Mbakidi J.P., Leger D.Y., Liagre B., Sol V., Enhanced cytotoxicity of gold porphyrin complexes after inclusion in cyclodextrin scaffolds adsorbed on polyethyleneimine-coated gold nanoparticles, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2019**, 29 (9), 1065-1068.
- [42] Ukai, S., R. Honma, N. Sakamoto, et al. Molecular biological analysis of 5-FU-

resistant gastric cancer organoids; KHDRBS3 contributes to the attainment of features of cancer stem cell. *Oncogene*, **2020**, 39, 7265-7278.

- [43] Wainberg, Z. A., K. Feeney, M. A. Lee, et al., Meta-analysis examining overall survival in patients with pancreatic cancer treated with second-line 5-fluorouracil and oxaliplatin-based therapy after failing first-line gemcitabine-containing therapy: effect of performance status and comparison with other regimens. *BMC cancer*. **2020**, 20, 1-9.
- [44] Wang, Y., P. Li, L. Chen, et al., Targeted delivery of 5-fluorouracil to HT-29 cells using high efficient folic acid-conjugated nanoparticles. *Drug delivery*. **2015**, 22 (2), 191-198.
- [45] D. Heng, D. J. Cutler, H. K. Chan, J. Yun, and J. A. Raper, “What is a suitable dissolution method for drug nanoparticles?” *Pharmaceutical Research*, **2008**, 25 (7), 1696–1701.
- [46] A. C. Kilic, Y. Capan, I. Vural et al., “Preparation and characterization of PLGA nanospheres for the targeted delivery of NR2Bspecific antisense oligonucleotides to the NMDA receptors in the brain,” *Journal of Microencapsulation*, **2005**, 22 (6), 633–641.
- [47] Y. Zhang, H. Wang, C. Li et al., “A novel three-dimensional large-pore mesoporous carbon matrix as a potential nanovehicle for the fast release of the poorly water-soluble drug, celecoxib,” *Pharmaceutical Research*, **2014**, 31, 1059–1070.
- [48] F. Danhier, N. Lecouturier, B. Vroman et al., “Paclitaxel-loaded PEGylated PLGA-based nanoparticles: In vitro and in vivo evaluation,” *Journal of Controlled Release*, **2009**, 133 (1) pp. 11–17.
- [49] Y. Li, Y. Pei, X. Zhang et al., “PEGylated PLGA nanoparticles as protein carriers: synthesis, preparation and biodistribution in rats,” *Journal of Controlled Release*, **2009**, 71 (2), 203–211.
- [50] S. Prabha, W.-Z. Zhou, J. Panyam, and V. Labhasetwar, “Sizedependency of

- nanoparticle-mediated gene transfection: studies with fractionated nanoparticles,” *International Journal of Pharmaceutics*, **2002**, 244 (1-2), 105–115.
- [51] S. J. Wallace, J. Li, R. L. Nation, and B. J. Boyd, “Drug release from nanomedicines: selection of appropriate encapsulation and release methodology,” *Drug Delivery and Translational Research*, **2012**, 2, (4),. 284–292.
- [52] D. Juenemann, E. Jantratid, C. Wagner, C. Reppas, M. Vertzoni, and J. B. Dressman, “Biorelevant in vitro dissolution testing of products containing micronized or nanosized fenofibrate with a view to predicting plasma profiles,” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **2011**, 77 (2), 257–264.
- [53] M. S. Muthu and S. Singh, “Poly (D, L-lactide) nanosuspensions of risperidone for parenteral delivery: formulation and in-vitro evaluation,” *Current Drug Delivery*, **2009**, 6 (1), 62–68.
- [54] P. Calvo, J. L. Vila-Jato, and M. J. Alonso, “Comparative in vitro evaluation of several colloidal systems, nanoparticles, nanocapsules, and nanoemulsions, as ocular drug carriers,” *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1996**, 85 (5), 530–536.
- [55] M. Y. Levy and S. Benita, “Drug release from submicronized o/w emulsion: a new in vitro kinetic evaluation model,” *International Journal of Pharmaceutics*, **1990** 66 (1–3), 29–37.
- [56] X. Xu, M. A. Khan, and D. J. Burgess, “A two-stage reverse dialysis in vitro dissolution testing method for passive targeted liposomes,” *International Journal of Pharmaceutics*, **2012**, 426 (1-2). 211–218.
- [57] B. E. Kilfoyle, L. Sheihet, Z. Zhang, M. Laohoo, J. Kohn, and B. B. Michniak-Kohn, “Development of paclitaxel-TyroSpheres for topical skin treatment,” *Journal of Controlled Release*, **2012**, 163 (1). 18–24.
- [58] S. Uprit, R. K. Sahu, A. Roy, and A. Pare, “Preparation and characterization of minoxidil loaded nanostructured lipid carrier gel for effective treatment of

alopecia," *Saudi Pharmaceutical Journal*, **2013**, 21. 379–385.

- [59] FDA Guidance for Industry, Extended Release Oral Dosage Forms: Development, Evaluation and Application of In Vitro/In Vivo Correlations, **1997**.
- [60] L. T. T. Cúc, N. T. P. Thanh, N. Đ. Tuấn and Đ. V. Tịnh, "TỔNG HỢP CÁC DẪN CHẤT ESTER CỦA BETA-CYCLODEXTRIN," *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh*, 2011, 15, 365-371.
- [61] Phùng Đức Truyền. Tổng hợp hydroxyalkyl- $\beta$ -cyclodextrin ứng dụng làm tá dược tăng độ tan trong bào chế thuốc. *Luận án tiến sĩ, ĐH Y dược tp HCM* **2014**.
- [62] Phan Hà Nữ Diễm\*, Trần Thái Hòa, Trần Thúc Bình, Tổng hợp các hạt nano vàng dùng dextran làm chất khử và chất ổn định, *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên*. Tập 128, Số 1A, **2019**, Tr. 101-110.
- [63] Đỗ Thị Huế\*, TT Thu Hương, Chế tạo các hạt nano vàng 1- 5 nm sử dụng chất hoạt động bề mặt CTAB theo phương pháp Micell, *TNU Journal of Science and Technology*, **2020**, 225(14): 96 – 100.
- [64] Võ Quốc Khương\*, Tống Thị Hồng, Nguyễn Thị Phương Phong, Hoàng Thanh Phúc, Tổng hợp nano vàng dạng hình sao với chất bảo vệ chitosan bằng phương pháp khử một giai đoạn, *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ – Khoa học Tự nhiên*, **2020**, 4(4):760-766.
- [65] Nguyễn Thị Lan Hương, Tổng hợp xanh nano vàng bằng dịch chiết trái thơm và ứng dụng làm xúc tác cho phản ứng xử lý 4-Nitrophenol , *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, **2021** Số 49: 5-14.
- [66] K. Hamasaki, H. Ikeda, A. Nakamura, A. Ueno, F. Toda, I. S. Osa and Tetsuo, "Fluorescent Sensors of Molecular Recognition. Modified Cyclodextrins Capable of Exhibiting Guest-Responsive Twisted Intramolecular Charge Transfer Fluorescence," *American Chemical Society*, **1993**, 115 (12), pp. 5035-5040.
- [67] Tang, W., & Ng, S.-C. Facile synthesis of mono-6-amino-6-deoxy- $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -

cyclodextrin hydrochlorides for molecular recognition, chiral separation and drug delivery. *Nature Protocols*, **2008**, 3(4), 691–697.

- [68] T. Tan, S.-c. Ng, Y. W. Xiao, Yin, "Synthesis of mono-6-tosyl- $\beta$ -cyclodextrin, a key intermediate for the functional cyclodextrin derivatives," *Protocol Exchange*, **2011**, 214, 212-216.
- [69] Park C., Youn H., Kim H., Noh T., Kook Y.H., Oh E.T., Park H.J., Kim C., Cyclodextrin-covered gold nanoparticles for targeted delivery of an anti-cancer drug, *J. Mater. Chem.*, **2009**, 19 (16), 2310-2315.
- [70] Huang T., Meng F., Qi L., Facile Synthesis and One-Dimensional Assembly of Cyclodextrin-Capped Gold Nanoparticles and Their Applications in Catalysis and Surface-Enhanced Raman Scattering, *J. Phys. Chem. C*, **2009**, 113 (31), 13636-13642.
- [71] Zhu L., Yan H., Zhao Y., Cyclodextrin-Based [1]Rotaxanes on Gold Nanoparticles, *Int. J. Mol. Sci.*, **2012**, 13, 10132-10142.
- [72] Shi Y., Goodisman J., Dabrowiak J.C., Cyclodextrin Capped Gold Nanoparticles as a Delivery Vehicle for a Prodrug of Cisplatin, *Inorg. Chem.*, **2013**, 52, 9418-9426.
- [73] Sierpe R., Lang E., Jara P., Guerrero A.R., Chornik B., Kogan M.J., Yutronic N., Gold Nanoparticles Interacting with  $\beta$ -Cyclodextrin-Phenylethylamine Inclusion Complex: A Ternary System for Photothermal Drug Release, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2015**, 7, 15177-15188.
- [74] Silva N., Muñoz C., Diaz-Marcos J., Samitier J., Yutronic N., Kogan M.J., Jara P., In Situ Visualization of the Local Photothermal Effect Produced on  $\alpha$ -Cyclodextrin Inclusion Compound Associated with Gold Nanoparticles, *Nanoscale Research Letters*, **2016**, 11, 180.
- [75] Chen W., Jiang Y., Xue F., Zhang T., Glassy Carbon Electrode Modified with Gold nanoparticles/thiol- $\beta$ -cyclodextrin-graphene for the Determination of Nonylphenol, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2017**, 12, 12019-12036.

- [76] Stiufiuc G., Toma V., Moldovan A.I., Lucaciu M., One pot microwave assisted synthesis of cyclodextrins capped spherical gold nanoparticles, *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, **2017**, 12 (4), 1089-1095.
- [77] Silva N., Riveros A., Yutronic N., Lang E., Chornik B., Guerrero S., Samitier J., Jara P., Kogan M.J., Photothermally Controlled Methotrexate Release System Using  $\beta$ -Cyclodextrin and Gold Nanoparticles, *Nanomaterials*, **2018**, 8, 985.
- [78] Coelho J.P., Barcina J.O., Junquera E., Aicart E., Tardajos G., Gómez-Graña S., Cruz-Gil P., Salgado C., Díaz-Núñez P., Peña-Rodríguez O., Guerrero-Martínez A., Supramolecular Control over the Interparticle Distance in Gold Nanoparticle Arrays by Cyclodextrin Polyrotaxanes, *Nanomaterials*, **2018**, 8, 168.
- [79] Granet R., Faure R., Mark-Arthur G., Ntoutoume N., Mbakidi J.P., Leger D.Y., Liagre B., Sol V., Enhanced cytotoxicity of gold porphyrin complexes after inclusion in cyclodextrin scaffolds adsorbed on polyethyleneimine-coated gold nanoparticles, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2019**, 29 (9), 1065-1068.
- [80] Maria V. Slavgorodska, Yuliia O. Gurova, Alexander Kyrychenko,  $\gamma$ -Cyclodextrin as a capping agent for gold nanoparticles, *Computational and Theoretical Chemistry xxx* **2021**, 1194(15), 113060.
- [81] Ki Hyun Bae, *et al*, Pluronic/chitosan shell cross-linked nanocapsules encapsulating magnetic nanoparticles. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. **2012**, 19, 1571-1583.
- [82] Yuhan Lee, Sung Young Park, Chunsoo Kim, Tae Gwan Park, Thermally triggered intracellular explosion of volume transition nanogels for necrotic cell death. *Journal of Controlled Release*, **2009**, 135, 89-95.
- [83] Liangju Kuang *et al*, Smart Chitosan-Based Stimuli-Responsive Nanocarriers for the Controlled Delivery of Hydrophobic Pharmaceuticals. *Macromolecules* **2011**, 44, 6, 1298–1302.



- [84] Shiyong Liu, Yamaira I. González, and Eric W. Kaler., Structural Fixation of Spontaneous Vesicles in Aqueous Mixtures of Polymerizable Anionic and Cationic Surfactants. *Langmuir* **2003**, 19, 26, 10732–10738.
- [85] Vo Ke Thanh Ngo, Hoang Phuong Uyen Nguyen, Trong Phat Huynh, Nguyen Nguyen Pham Tran, Quang Vinh Lam, Thanh Dat Huynh, Preparation of gold nanoparticles by microwave heating and application of spectroscopy to study conjugate of gold nanoparticles with antibody E. coli O157:H7, *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.*, **2015**, 6, 035015 (6pp).
- [86] Nghiêm Thị Hà Liên, Nguyễn Thanh Hải, Vũ Xuân Hoà, Đỗ Quang Hoà, Trần Hồng Nhung, Tổng hợp và khảo sát tính chất quang của các hạt nano vàng dạng cầu định hướng ứng dụng trong y sinh, *Vietnam Journal of Chemistry*, **2010**, 48(6), 187-191.
- [87] Nguyễn Công Tráng, Trần Thị Minh Nguyệt, Nguyễn Quang Huân, Nghiên cứu công nghệ chế tạo và hoạt tính xúc tác của nano vàng trên chất mang Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, *Tạp chí Hóa Học*, **2007**, 45(6), 671-675.
- [88] Nguyễn Quốc Hiến, Đặng Văn Phú, Nguyễn Thị Kim Lan, Nguyễn Tuệ Anh, Nguyễn Xuân Dung, Chế tạo vàng nano bằng phương pháp chiếu xạ, *Tạp chí Hóa Học*, **2009**, 47(2), 174-179.
- [89] Đoàn Văn Hồng Thiện, Hứa Hoàng Thái, Lý Cẩm Nhung, Huỳnh Thu Hạnh, Nguyễn Việt Bách và Nguyễn Quang Long, Sử dụng nước ép chanh tổng hợp nano vàng, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học*: **2014**, 30, 22-28.
- [90] Brugnerotto P., Silva T.R., Brondani D., Zapp E., Vieira I.C., Gold Nanoparticles Stabilized in Cyclodextrin and Decorated with Laccase Applied in the Construction of a Biosensor for Rutin, *Electroanalysis*, **2017**, 29, 1-8.
- [91] Asela I., Noyong M., Simon U., Andrades-Lagos J., Campanini-Salinas J., Velasquez D.V., Kogan M., Yutronic N., Sierpe R., Gold nanoparticles stabilized

with  $\beta$ -cyclodextrin-2-amino-4-(4-chlorophenyl)thiazole complex: A novel system for drug transport, PLOS ONE, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185652>, October 11, **2017**.

- [92] Balasubramanian P., Balamurugan T. S. T., Chen S.M., Highly Sensitive Electrochemical Detection of Nitrite Ions in Food Samples via  $\beta$ -Cyclodextrin Capped Gold Nanoparticles Film Modified Glassy Carbon Electrode. *Journal of The Electrochemical Society*, **2017**, 164 (13) B715-B722.
- [93] Muderawan, I. W., Ong, T. T., et al. A reliable synthesis of 2- and 6-amino- $\beta$ -cyclodextrin and permethylated- $\beta$ -cyclodextrin. *Tetrahedron Letters*, **2005**, 46(46), 7905–7907.
- [94] Tang, W., & Ng, S.-C. Facile synthesis of mono-6-amino-6-deoxy- $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -cyclodextrin hydrochlorides for molecular recognition, chiral separation and drug delivery. *Nature Protocols*, **2008**, 3(4), 691–697.
- [95] Jin L, Liu Q, Sun Z, Ni X, Wei M Preparation of 5-fluorouracil/ $\beta$ -cyclodextrin complex intercalated in layered double hydroxide and the controlled drug release properties. *Industrial & engineering chemistry research* **2010**, 49: 11176-11181.
- [96] Di Donato C, Lavorgna M, Fattorusso R, Isernia C, Isidori M, et al. Alpha-and beta-cyclodextrin inclusion complexes with 5-fluorouracil: Characterization and cytotoxic activity evaluation. *Molecules* **2016**, 21: 1644
- [98] Nguyen C-H, Banh K-S, Le V-D, Nguyen M-T, Dang C-H, et al. Ultrasound-assisted synthesis of gold nanoparticles supported on  $\beta$ -cyclodextrin for catalytic reduction of nitrophenols., *Inorganic Chemistry Communications*: **2022**, 145, 109979.
- [99] Fu, Y., Kao, W.J., Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems. *Expert Opinion Drug Deliv.* **2010**, 7, 429–444.
- [100] Yusefi, M., Shameli, K., Jahangirian, H., et al, The potential anticancer activity of

5-fluorouracil loaded in cellulose fibers isolated from rice straw. *Int. J. Nanomed.* **2020**,15, 5417.

- [101] Nguyen, M.-N.-T., Ho-Huynh, T.-D., Selective cytotoxicity of a Vietnamese traditional formula, Nam Dia long, against MCF-7 cells by synergistic effects. *BMC Complement. Alternat. Med.* **2016**, 16, 1–10.
- [102] T.-D. Nguyen, T. Hong-Ngan Tran, C.-H. Nguyen, C. Im, C.-H. Dang, Synthesis and Characterization of  $\beta$ -Cyclodextrin/alginate Nanoparticle as a Novel Drug Delivery System. *Chem. Biochem. Eng. Q.*, **2015** 29 (3) 429–435.
- [103] Nguyễn Cao Hiền, Đinh Phước Lộc, Đặng Thị Kim Thoa, Nguyễn Thị Hồng Minh, Nguyễn Công Hào, Đặng Chí Hiền, Nguyễn Thành Danh, Tổng hợp hệ nano 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin/alginate làm chất mang thuốc trị ung thư vú anastrozole. *Tạp chí Hoá học* **2017**, 55(5E34) 127-131.
- [104] Jaya R. Lakkakula, Thabo Matshaya, Rui Werner Maçedo Krause, Cationic cyclodextrin/alginate chitosan nanoflowers as 5-fluorouracil drug delivery system. *Materials Science and Engineering* **2017**, 70, 169–177.
- [105] Jude Akinyelu, Moganavelli Singh, Folate-tagged chitosan-functionalized gold nanoparticles for enhanced delivery of 5-fluorouracil to cancer cells. *Applied Nanoscience* **2019**, 9, 7–17.
- [106] J.R. Lakkakula, T. Matshaya, R.W.M. Krause, Cationic cyclodextrin/alginate chitosan nanoflowers as 5-fluorouracil drug delivery system, *Materials Science and Engineering*, **2017**, C 70, 169-177.
- [107] Melnikova DL, Badrieva ZF, Kostin MA, Maller C, Stas M, et al. On complex formation between 5-fluorouracil and  $\beta$ -cyclodextrin in solution and in the solid state: IR markers and detection of short-lived complexes by diffusion NMR. *Molecules*, **2020**, 25: 5706.
- [108] Nguyen TM-T, Nguyen TA-T, Tuong-Van Pham N, Ly Q-V, Tran TT-Q, et al. Biosynthesis of metallic nanoparticles from waste *Passiflora edulis* peels for their

- antibacterial effect and catalytic activity. *Arabian Journal of Chemistry* **2021**, 14: 103096.
- [109] Arafat M, Fouladian P, Wignall A, Song Y, Parikh A, et al. Development and in vitro evaluation of 5-fluorouracil-eluting stents for the treatment of colorectal cancer and cancer-related obstruction. *Pharmaceutics* **2020**, 13: 17
- [110] Anirudhan, T., Nair, S.S., Polyelectrolyte complexes of carboxymethyl chitosan/alginate based drug carrier for targeted and controlled release of dual drug. *J. Drug Delivery Sci. Technol.* **2019**. 51, 569–582.
- [111] Azhar, F.F., Olad, A., A study on sustained release formulations for oral delivery of 5-fluorouracil based on alginate–chitosan/mont-morillonite nanocomposite systems. *Appl. Clay Sci.* **2014**, 101, 288–296.
- [112] Wu, C., Li, C., Zhang, X., et al, An alginate-based hydrogel composite obtained by UV radiation and its release of 5-fluorouracil. *Polym. Bull.* **2019**.76, 1167–1182.
- [113] Jin L, Liu Q, Sun Z, Ni X, Wei M, Preparation of 5-fluorouracil/ $\beta$ -cyclodextrin complex intercalated in layered double hydroxide and the controlled drug release properties. *Industrial & engineering chemistry research*, **2010**, 49: 11176-11181.
- [114] Mashaqbeh H, Obaidat R, Al-Shar'i NA, El-Elimat T, Alnabulsi S, Weak complexation of 5-fluorouracil with  $\beta$ -cyclodextrin, carbonate, and dianhydride crosslinked  $\beta$ -cyclodextrin: in vitro and in silico studies. *Research in Pharmaceutical Sciences* **2022**, 17: 334.
- [115] Y. Li, Y. Pei, X. Zhang et al., “PEGylated PLGA nanoparticles as protein carriers: synthesis, preparation and biodistribution in rats,” *Journal of Controlled Release*, **2001** 71 (2) 203–211.
- [116] S. Prabha, W.-Z. Zhou, J. Panyam,V. Labhasetwar, “Sizedependency of nanoparticle-mediated gene transfection: studies with fractionated nanoparticles,” *International Journal of Pharmaceutics*, **2002** 244 (1-2) 105–115.

- [117] S. J. Wallace, J. Li, R. L. Nation, B. J. Boyd, “Drug release from nanomedicines: selection of appropriate encapsulation and release methodology,” *Drug Delivery and Translational Research*, **2012** 2 (4) 284–292.
- [118] D. Juenemann, E. Jantratid, C. Wagner, C. Reppas, M. Vertzoni, J. B. Dressman, “Biorelevant in vitro dissolution testing of products containing micronized or nanosized fenofibrate with a view to predicting plasma profiles,” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **2011** 77 (2) 257–264.
- [119] M. S. Muthu and S. Singh, “Poly (D, L-lactide) nanosuspensions of risperidone for parenteral delivery: formulation and in-vitro evaluation,” *Current Drug Delivery*, , **2009** 6 (1) 62–68.
- [120] P. Calvo, J. L. Vila-Jato, M. J. Alonso, “Comparative in vitro evaluation of several colloidal systems, nanoparticles, nanocapsules, and nanoemulsions, as ocular drug carriers,” *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1996**, 85 (5) 530–536.
- [121] M. Y. Levy, S. Benita, “Drug release from submicronized o/w emulsion: a new in vitro kinetic evaluation model,” *International Journal of Pharmaceutics*, **1990**. 66, (1–3) 29–37.
- [122] X. Xu, M. A. Khan, D. J. Burgess, “A two-stage reverse dialysis in vitro dissolution testing method for passive targeted liposomes,” *International Journal of Pharmaceutics*, **2012**, 426 (1-2) 211–218.
- [123] B. E. Kilfoyle, L. Sheihet, Z. Zhang, M. Laohoo, J. Kohn, B. B. Michniak-Kohn, “Development of paclitaxel-TyroSpheres for topical skin treatment,” *Journal of Controlled Release*, **2012**, 163 (1) 18–24.
- [124] S. Uprit, R. K. Sahu, A. Roy, A. Pare, “Preparation and characterization of minoxidil loaded nanostructured lipid carrier gel for effective treatment of alopecia,” *Saudi Pharmaceutical Journal*, **2013**, 21, 379–385.
- [125] FDA Guidance for Industry, Extended Release Oral Dosage Forms: Development,

- Evaluation and Application of In Vitro/In Vivo Correlations, **1997**, 8 (2) 124-128.
- [126] Liu J., Ong W., Roman E., Lynn M.J., Kaifer A.E., Cyclodextrin-Modified Gold Nanospheres, *Langmuir*, **2000**, 16, 3000-3002.
- [127] Kabashin A.V., Meunier M., Kingston C., Luong J.H.T., Fabrication and Characterization of Gold Nanoparticles by Femtosecond Laser Ablation in an Aqueous Solution of Cyclodextrins, *J. Phys. Chem. B*, **2003**, 107, 4527-4531.
- [128] Crespo-Biel O., Jukovic A., Karlsson M., Reinhoudt D.N., Huskens J., Multivalent Aggregation of Cyclodextrin Gold Nanoparticles and Adamantyl-Terminated Guest Molecules, *Israel Journal of Chemistry*, **2005**, 45, 353-362
- [129] Villalonga R., Tachibana S., Cao R., Ortiz P. D., Gomez L., Asano Y., Supramolecular-mediated immobilisation of Lphenylalanine dehydrogenase on  $\beta$ -cyclodextrinmodified gold nanospheres, *Journal of Experimental Nanoscience*, **2006**, 1(2), 249-260.
- [130] Park C., Youn H., Kim H., Noh T., Kook Y.H., Oh E.T., Park H.J., Kim C., Cyclodextrin-covered gold nanoparticles for targeted delivery of an anti-cancer drug, *J. Mater. Chem.*, **2009**, 19, 2310-2315.
- [131] Huang T., Meng F., Qi L., Facile Synthesis and One-Dimensional Assembly of Cyclodextrin-Capped Gold Nanoparticles and Their Applications in Catalysis and Surface-Enhanced Raman Scattering, *J. Phys. Chem. C*, **2009**, 113, 13636-13642.
- [132] Zhu L., Yan H., Zhao Y., Cyclodextrin-Based [1]Rotaxanes on Gold Nanoparticles, *Int. J. Mol. Sci.*, **2012**, 13, 10132-10142.
- [133] Shi Y., Goodisman J., Dabrowiak J.C., Cyclodextrin Capped Gold Nanoparticles as a Delivery Vehicle for a Prodrug of Cisplatin, *Inorg. Chem.*, **2013**, 52, 9418-9426.
- [134] Senthil Kumar Chinnaiyan, Agnes Mary Soloman, Ramesh Kannan Perumal, Arun Gopinath, Madhan Balaraman. 5 Fluorouracil-loaded biosynthesised gold nanoparticles for the in vitro treatment of human pancreatic cancer cell. *IET*

*nanobio technology*. **2019**,13, 824-828.

- [135] de Mattos, A. C., C. Altmeyer, T. T. Tominaga, et al., Polymeric nanoparticles for oral delivery of 5-fluorouracil: Formulation optimization, cytotoxicity assay and pre-clinical pharmacokinetics study. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2016**, 84, 83-91.





## PHỤ LỤC

**Bảng danh mục phụ lục:**

<b>TT</b>	<b>Phụ lục số</b>	<b>Tên phụ lục</b>
<b>1</b>	<b>Phụ lục 1</b>	Phổ API-ESI-MS (m/z) của dẫn xuất TsIm
<b>2</b>	<b>Phụ lục 2</b>	Phổ <sup>1</sup> H-NMR của dẫn xuất TsIm
<b>3</b>	<b>Phụ lục 3</b>	Phổ <sup>13</sup> C-NMR của TsIm
<b>4</b>	<b>Phụ lục 4</b>	Phổ QTOF-MS (m/z) của dẫn xuất TsCD
<b>5</b>	<b>Phụ lục 5</b>	Phổ FT-IR của dẫn xuất TsCD
<b>6</b>	<b>Phụ lục 6</b>	Phổ <sup>1</sup> H-NMR của dẫn xuất TsCD
<b>7</b>	<b>Phụ lục 7</b>	Phổ <sup>1</sup> H-NMR mở rộng của dẫn xuất TsCD
<b>8</b>	<b>Phụ lục 8</b>	Phổ <sup>1</sup> H-NMR (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> , ppm) mở rộng của dẫn xuất TsCD
<b>9</b>	<b>Phụ lục 9</b>	Phổ <sup>13</sup> C-NMR (125 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) của dẫn xuất TsCD
<b>10</b>	<b>Phụ lục 10</b>	Phổ <sup>13</sup> C-NMR (125 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) mở rộng của dẫn xuất TsCD
<b>11</b>	<b>Phụ lục 11</b>	Phổ FT-IR của dẫn xuất CD-N <sub>3</sub>
<b>12</b>	<b>Phụ lục 12</b>	Phổ <sup>1</sup> H-NMR (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> , ppm) của dẫn xuất CD-N <sub>3</sub>
<b>13</b>	<b>Phụ lục 13</b>	Phổ <sup>1</sup> H-NMR (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> , ppm) mở rộng của dẫn xuất CD-N <sub>3</sub>
<b>14</b>	<b>Phụ lục 14</b>	Phổ <sup>13</sup> C-NMR (125 MHz, D <sub>2</sub> O, ppm) của dẫn xuất CD-N <sub>3</sub>
<b>15</b>	<b>Phụ lục 15</b>	Phổ FT-IR của dẫn xuất CD-NH <sub>2</sub>
<b>16</b>	<b>Phụ lục 16</b>	Phổ <sup>1</sup> H-NMR (500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) của dẫn

		xuất CD-NH <sub>2</sub>
<b>17</b>	<b>Phụ lục 17</b>	Phổ <sup>13</sup> C-NMR (125 MHz, D <sub>2</sub> O) của dẫn xuất CD-NH <sub>2</sub>
<b>18</b>	<b>Phụ lục 18</b>	Phổ QTOF-MS (m/z) của dẫn xuất TMACD
<b>19</b>	<b>Phụ lục 19</b>	Phổ FT-IR của dẫn xuất TMACD
<b>20</b>	<b>Phụ lục 20</b>	Phổ <sup>1</sup> H-NMR (500 MHz, D <sub>2</sub> O, ppm) của dẫn xuất TMACD
<b>21</b>	<b>Phụ lục 21</b>	Phổ <sup>1</sup> H-NMR (500 MHz, D <sub>2</sub> O, ppm) mở rộng của dẫn xuất TMACD
<b>22</b>	<b>Phụ lục 22</b>	Phổ <sup>1</sup> H-NMR (500 MHz, D <sub>2</sub> O, ppm) mở rộng của dẫn xuất TMACD
<b>23</b>	<b>Phụ lục 23</b>	Phổ <sup>1</sup> H-NMR (500 MHz, D <sub>2</sub> O, ppm) mở rộng của dẫn xuất TMDAC
<b>24</b>	<b>Phụ lục 24</b>	Phổ <sup>13</sup> C-NMR (125 MHz, D <sub>2</sub> O, ppm) của dẫn xuất TMACD
<b>25</b>	<b>Phụ lục 25</b>	Phổ QTOF-MS (m/z) của dẫn xuất HMACD
<b>26</b>	<b>Phụ lục 26</b>	Phổ FT-IR của dẫn xuất HMACD
<b>27</b>	<b>Phụ lục 27</b>	Phổ <sup>1</sup> H-NMR (500 MHz, D <sub>2</sub> O, ppm) của dẫn xuất HMACD
<b>28</b>	<b>Phụ lục 28</b>	Phổ <sup>1</sup> H-NMR (500 MHz, D <sub>2</sub> O, ppm) mở rộng của dẫn xuất HMACD
<b>29</b>	<b>Phụ lục 29</b>	Phổ <sup>13</sup> C-NMR (125MHz, D <sub>2</sub> O, ppm) của dẫn xuất HMACD
<b>30</b>	<b>Phụ lục 30</b>	Phổ FT-IR của β - cyclodextrin
<b>31</b>	<b>Phụ lục 31</b>	Phổ FT-IR của Alginate
<b>32</b>	<b>Phụ lục 32</b>	Phổ FT-IR của mẫu nano CD/Alg

<b>33</b>	<b>Phụ lục 33</b>	Phổ FT-IR của HPCD
<b>34</b>	<b>Phụ lục 34</b>	Phổ FT-IR của HPCD/Alg
<b>35</b>	<b>Phụ lục 35</b>	Phổ FT-IR của TMACD/Alg
<b>36</b>	<b>Phụ lục 36</b>	Phổ FT-IR của 5-FU
<b>37</b>	<b>Phụ lục 37</b>	Phổ FT-IR của 5-FU@CD/Alg
<b>38</b>	<b>Phụ lục 38</b>	Phổ FT-IR của 5-FU@HPCD/Alg
<b>39</b>	<b>Phụ lục 39</b>	Phổ FT-IR của 5-FU@TMACD/Alg
<b>40</b>	<b>Phụ lục 40</b>	Kết quả gây độc tế bào của các mẫu trên các dòng tế bào MCF-7 và Fibroblast

## PHARMACEUTICAL CHEMISTRY LABORATORY

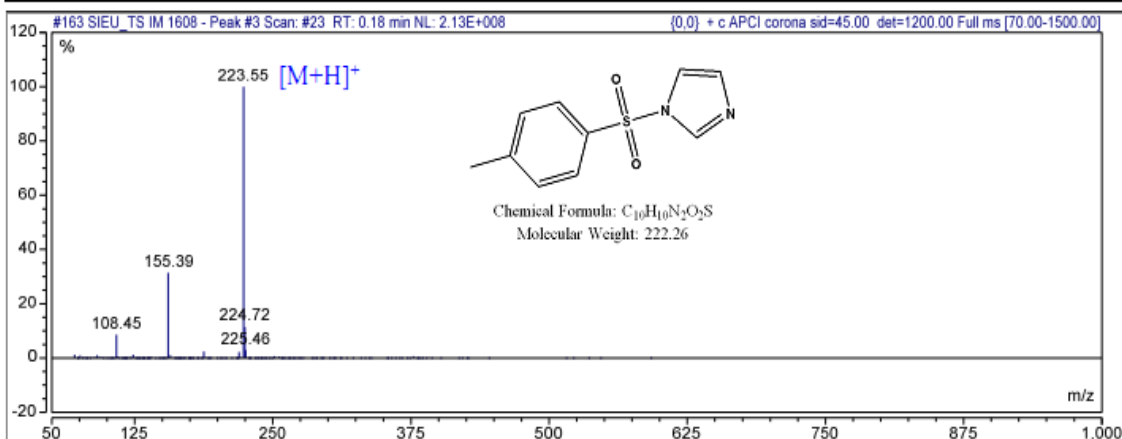
Add: 01, Mac Dinh Chi Str., Dist. 1, Ho Chi Minh City Phone: (84) 907070939 Website: www.natpro.com.vn Email: contact@natpro.com.vn

### Peak Analysis

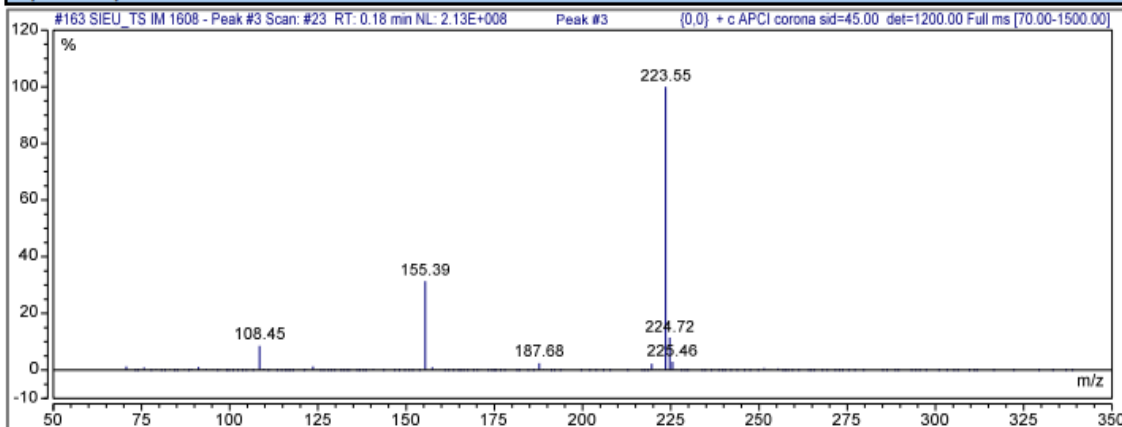
#### Injection Details

Injection Name:	SIEU_TS IM 1608	Run Time (min):	1.00
Vial Number:	BD2	Injection Volume:	2.00
Injection Type:	Unknown		
Calibration Level:			
Instrument Method:	APCI_Scan_70_1500Da		
Processing Method:	Scan_MW_70_1500Da	Dilution Factor:	1.0000
Injection Date/Time:	24/Aug/19 02:29	Sample Weight:	1.0000

#### Full Mass Spectrum



#### Expanded Spectrum



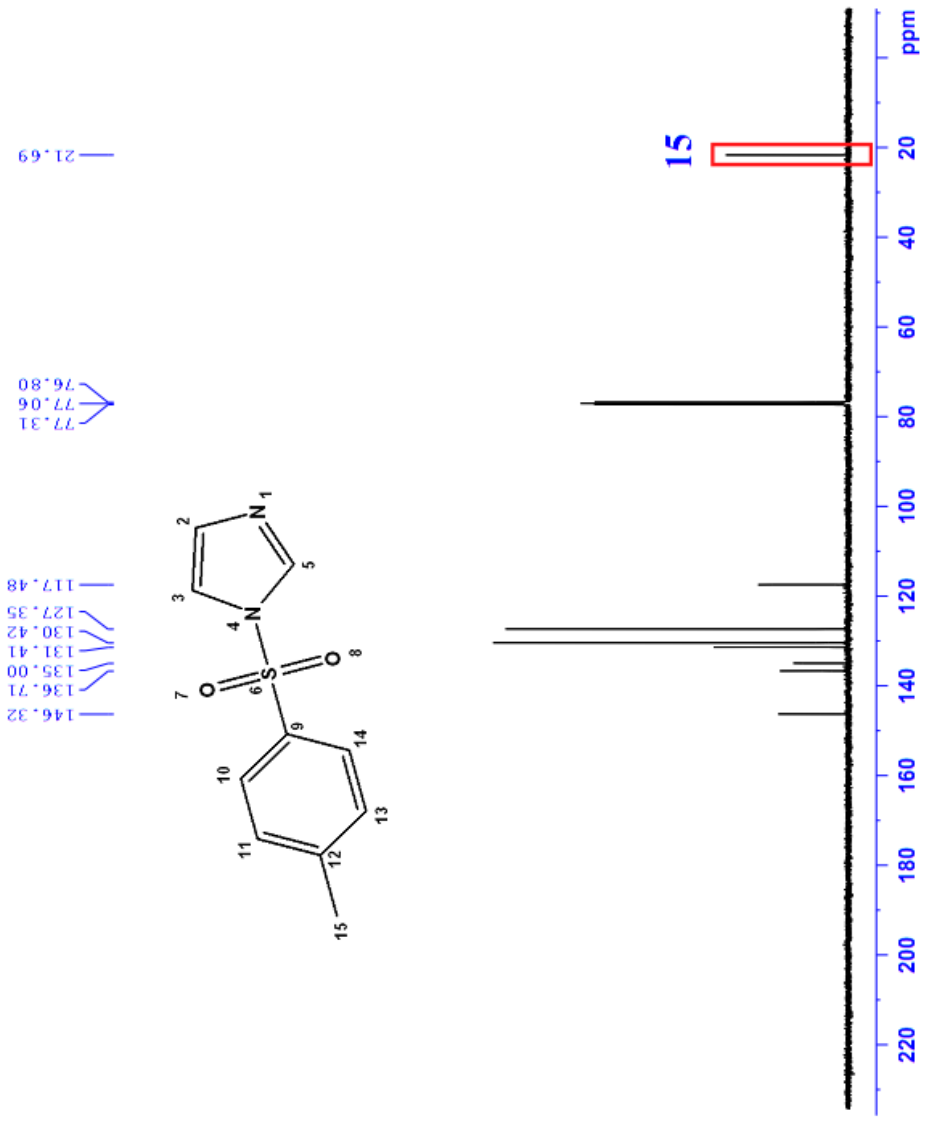
Phụ lục 1. Phổ API-ESI-MS (m/z) của dẫn xuất TsIm





TSIM16.08-CDC13-C13CPD

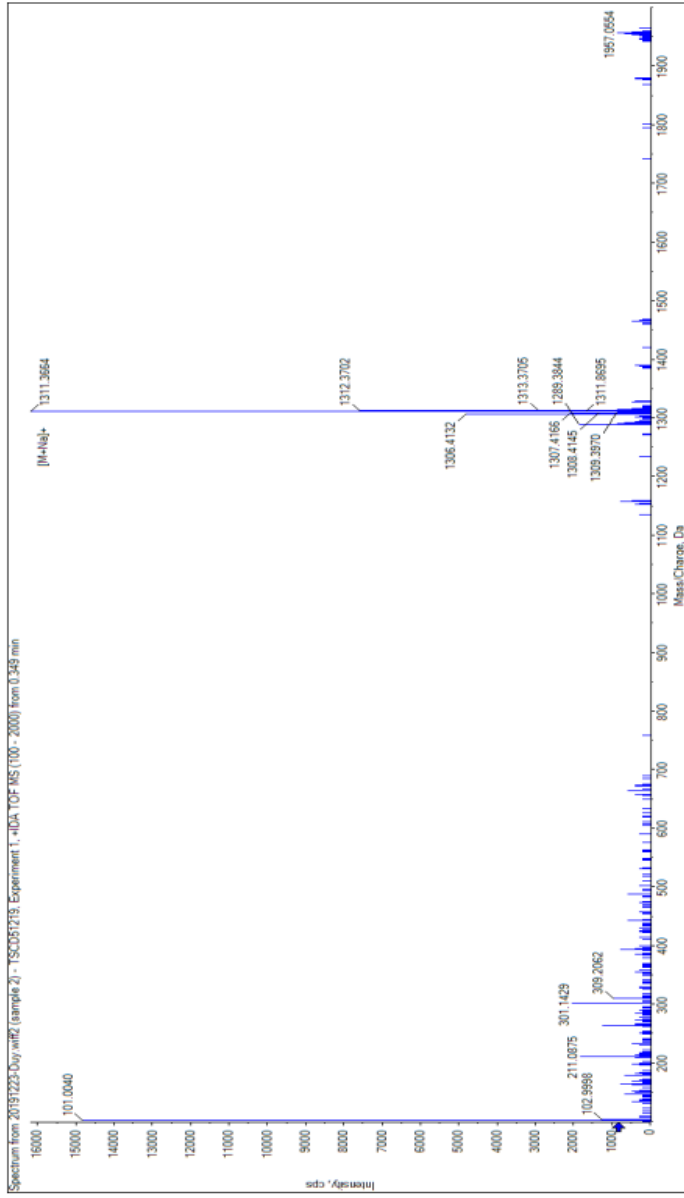
Current Data Parameters  
NAME TSI16.08  
EXPNO 1  
PROCNO 1  
PROCNO 2  
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 201108  
Time 12.11  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm BBO BB/  
PULPROG zgpg30  
TD 65536  
SOLVENT CDCl3  
NS 128  
DS 4  
SWH 3140.000 Hz  
FIDRES 0.46837 Hz  
AQ 1.048160 sec  
RG 128.000  
SN 1.8837  
SFO 100.000000 MHz  
TE 300.2 K  
DE 2.00000000 sec  
TE 300.2 K  
DE 2.00000000 sec  
TE 300.2 K  
DE 2.00000000 sec  
TE 300.2 K  
DE 2.00000000 sec  
TE 300.2 K  
DE 2.00000000 sec  
TE 300.2 K  
DE 2.00000000 sec  
F2 - Processing Parameters  
SI 32768  
SF 125.76841 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0  
GB 0  
PC 1.40



Phụ lục 3. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của TsIm

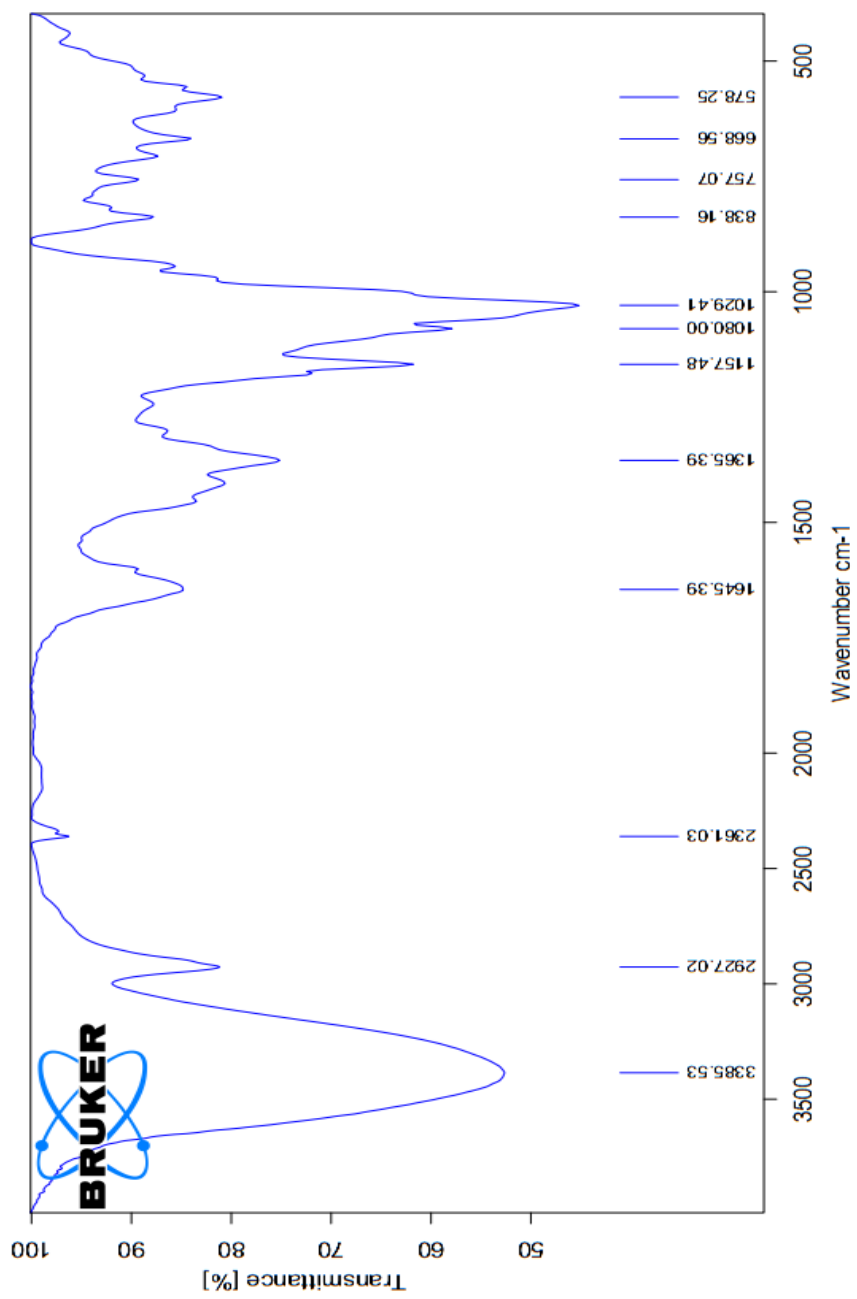


**Sample name:** TSCD51219  
**Operator:** Le Anh VHH  
**Method:** IDA TOF MS  
**Date:** 2021.12.27



Hit	Formula	m/z	RDB	ppm	MS Rank	MSMS	ppm	MSMS Rank	Found
1	C49H76O37S	1311.36784	12.0	-1.1	1				N/A/N/A

#### Phụ lục 4. Phổ QTOF-MS (m/z) của dẫn xuất TsCD



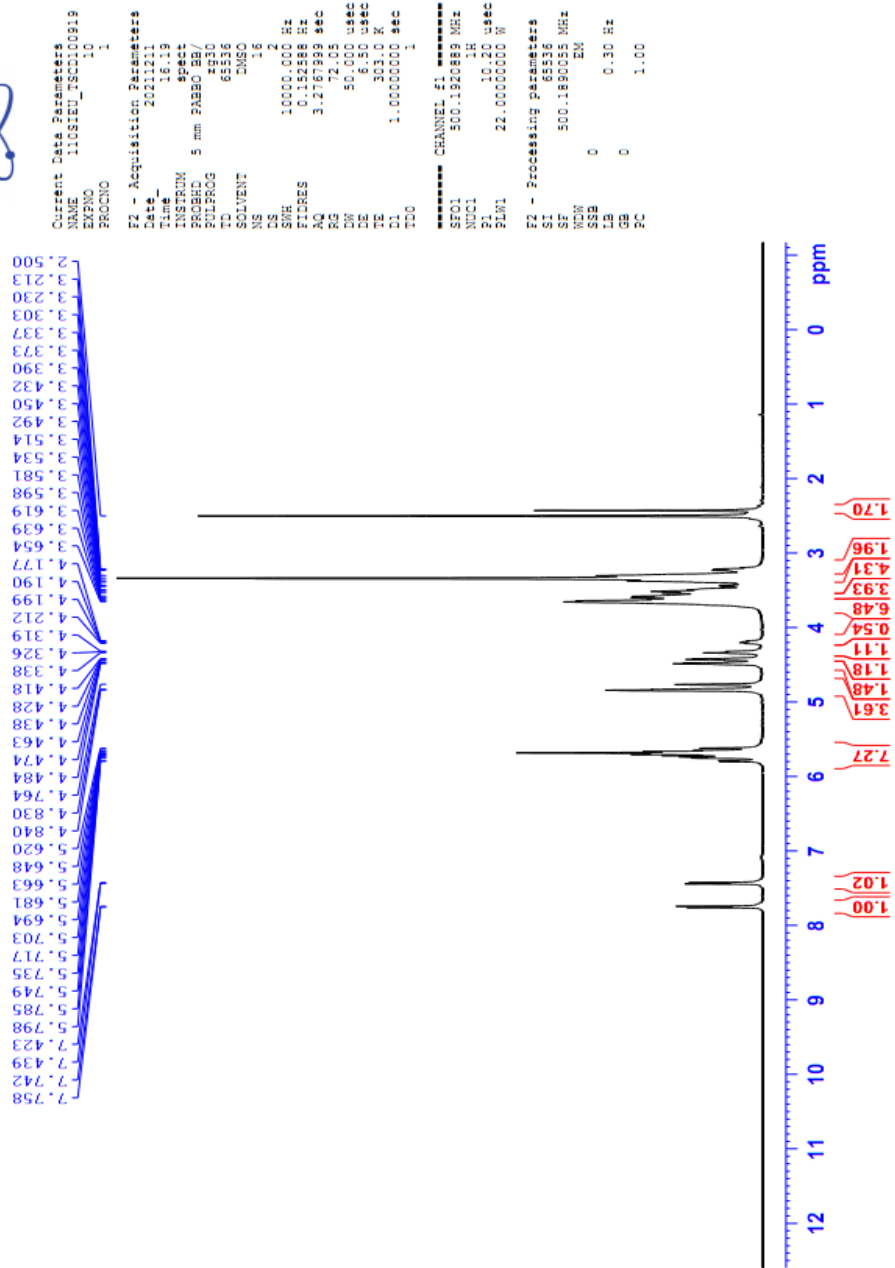
E:\OPUS 7\2019\THANG 10\2019\1018\TSCD-31019.0 TSCD-31019 TENSOR 27 - BRUKER - GERMANY 10/18/2019

Phụ lục 5. Phổ FT-IR của dẫn xuất TsCD





**TSCD100919-DMSO-1H**



Phụ lục 6. Phổ <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm) của dẫn xuất TsCD



TSCD100919-DMSO-1H

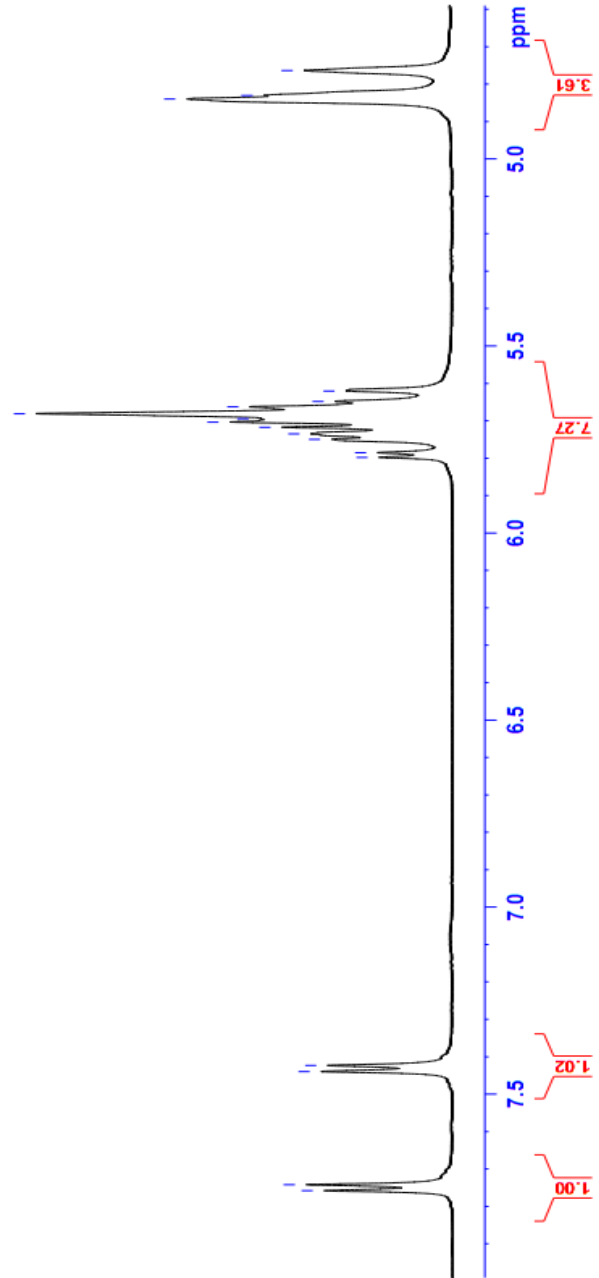
4.764  
4.830  
4.840

5.798  
5.785  
5.749  
5.735  
5.717  
5.703  
5.694  
5.681  
5.663  
5.648  
5.620

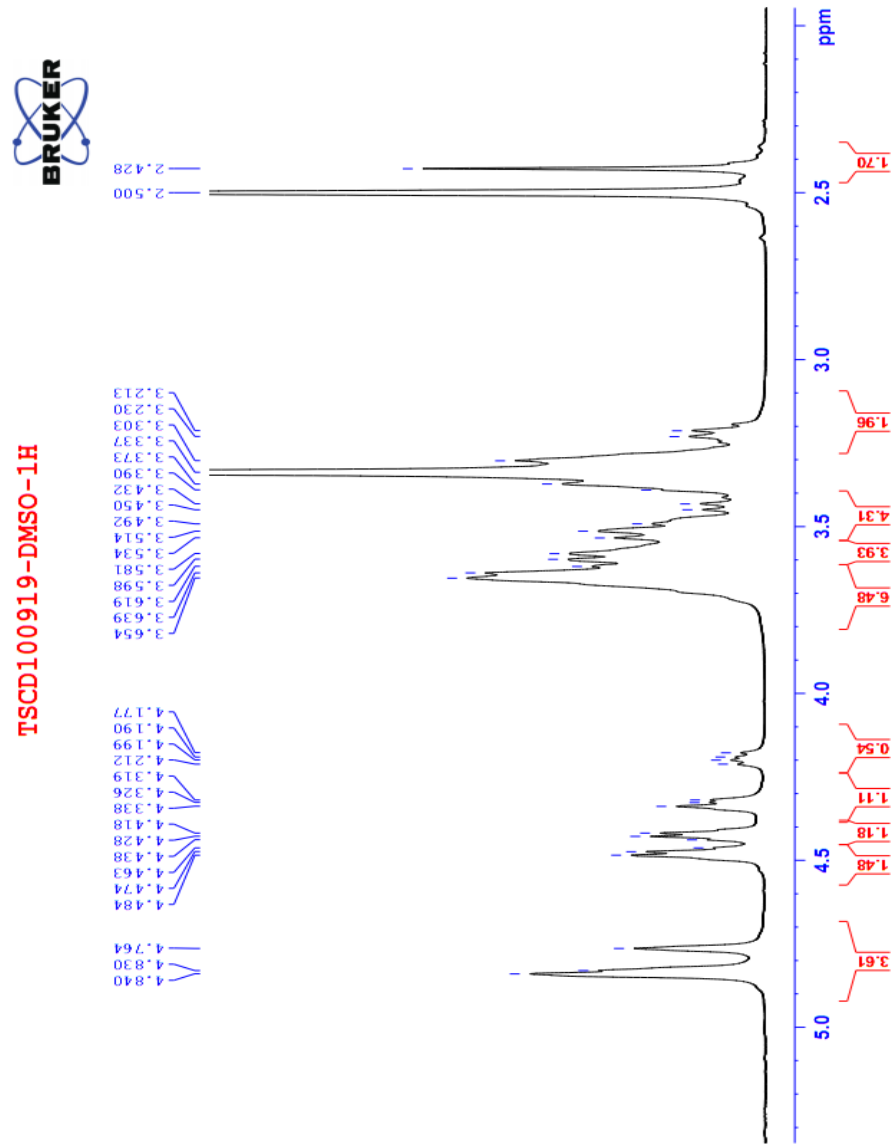
7.423  
7.439  
7.458

7.742  
7.758

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7.75 (d, 2H, J=8 Hz, 2ArCH), 7.43 (d, 2H, J=8 Hz, 2ArCH), 5.80-5.50 (bs, 14H, 7(OH-2), 7(OH-3)), 4.87-4.80 (m, 5H, H1), 4.79-4.73 (m, 2H, H1'), 4.65-4.35 (bs, 6H, 6(OH-6)), 4.33 (d, 1H, J<sub>H6i-H6j</sub>=11.0 Hz, H6-OTs), 4.19 (dd, 1H, J<sub>H6i-H6j</sub>=11.0 Hz, J<sub>H5i-H6i</sub>=6.5 Hz, H6-OTs), 3.80-3.10 (m, 40H, 6H6i-VII, 6H6j-VII, 7H4i-VII, 7H4j-VII, 7H5i-VII, 7H5j-VII), 2.43 (s, 3H, CH<sub>3</sub>)



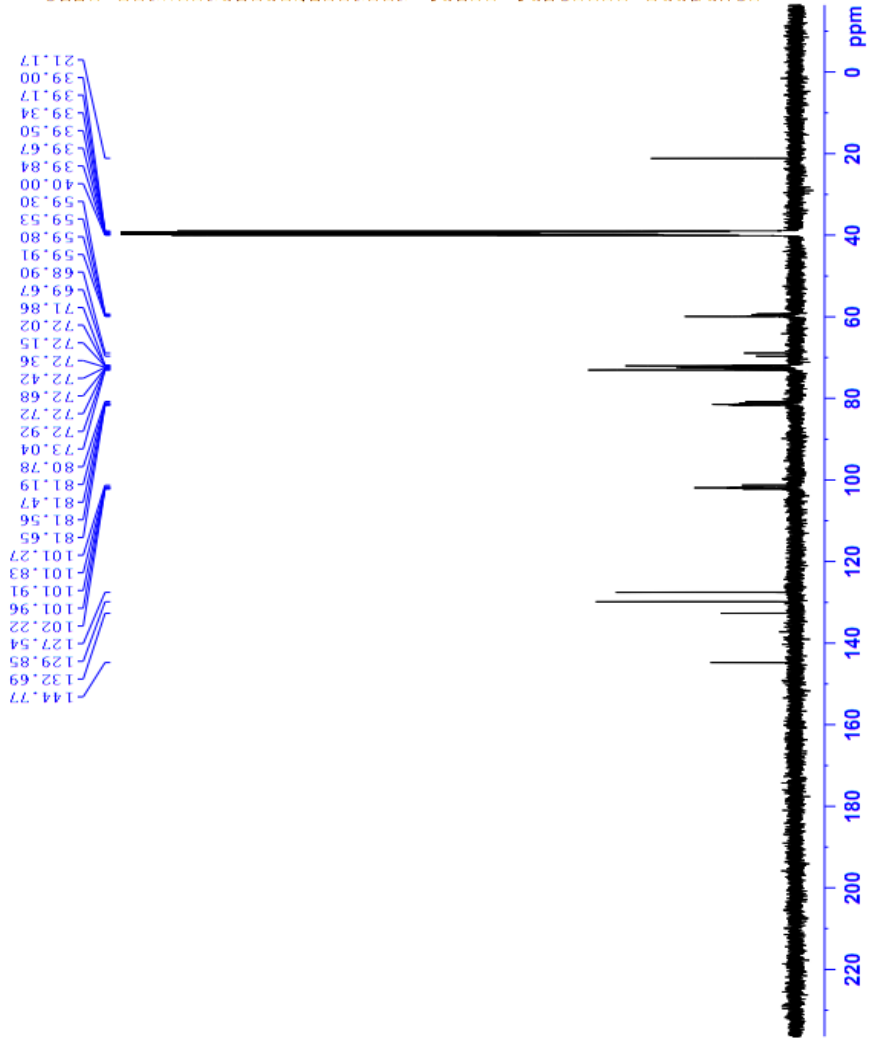
Phụ lục 7. Phổ  $^1\text{H}$ NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm) mở rộng của TsCD



Phụ lục 8. Phổ  $^1\text{H}$ NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm) mở rộng của TsCD



**TSCD100919-DMSO-C13CPD**



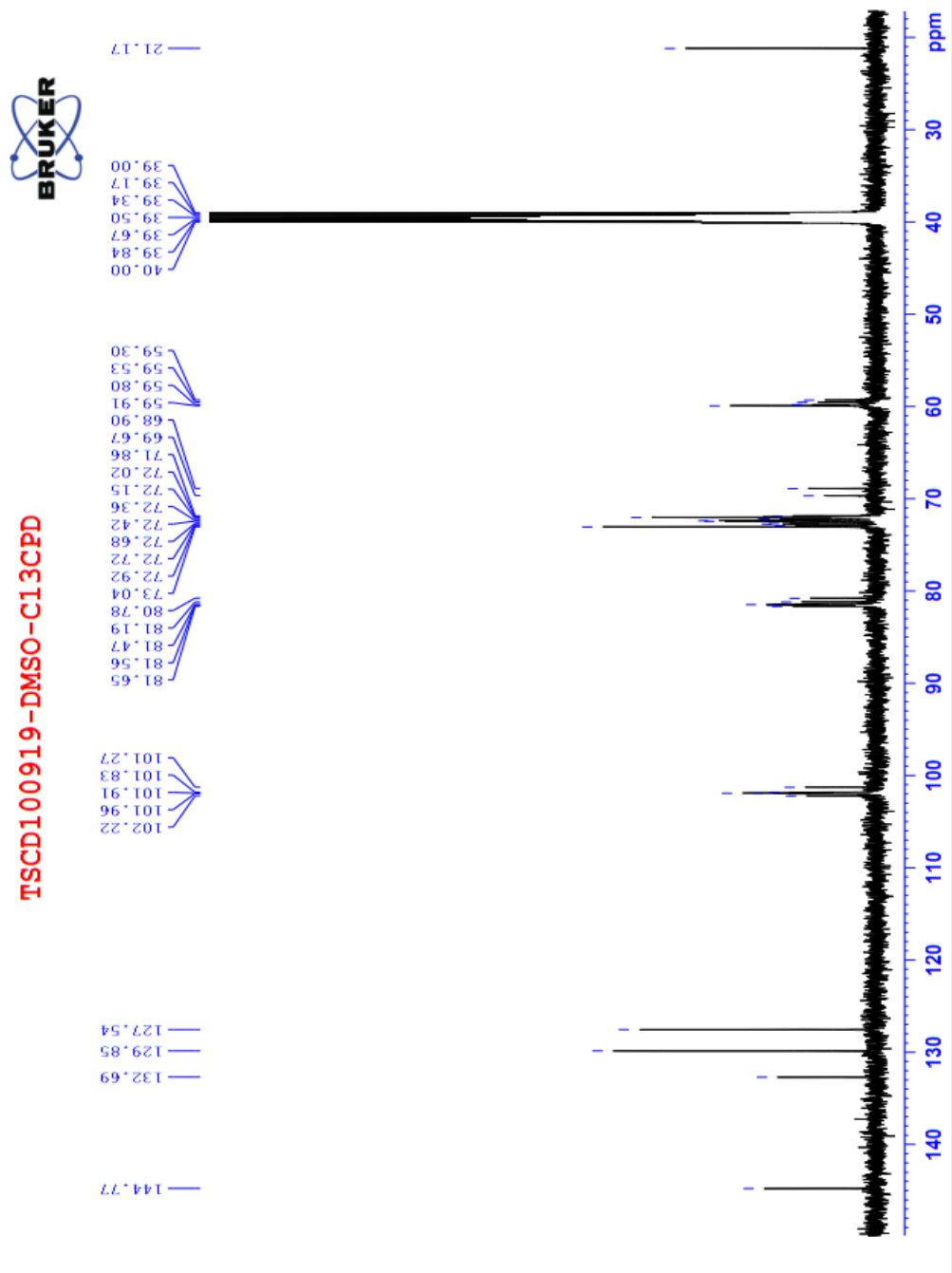
Current Data Parameters  
NAME TSCD100919  
PROCNO 1  
PROBHD 5 mm PABBO BB/  
PULPROG zgpg30  
TD 65536  
SOLVENT DMSO  
NS 2048  
DS 4  
SWH 30051.284 Hz  
FIDRES 1.074062 Hz  
AQ 1.0723716 sec  
RG 188.57  
SFO2 500.130000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 1.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 2021123  
Time 10.57  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm PABBO BB/  
PULPROG zgpg30  
TD 65536  
SOLVENT DMSO  
NS 2048  
DS 4  
SWH 30051.284 Hz  
FIDRES 1.074062 Hz  
AQ 1.0723716 sec  
RG 188.57  
SFO2 500.130000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 1.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40

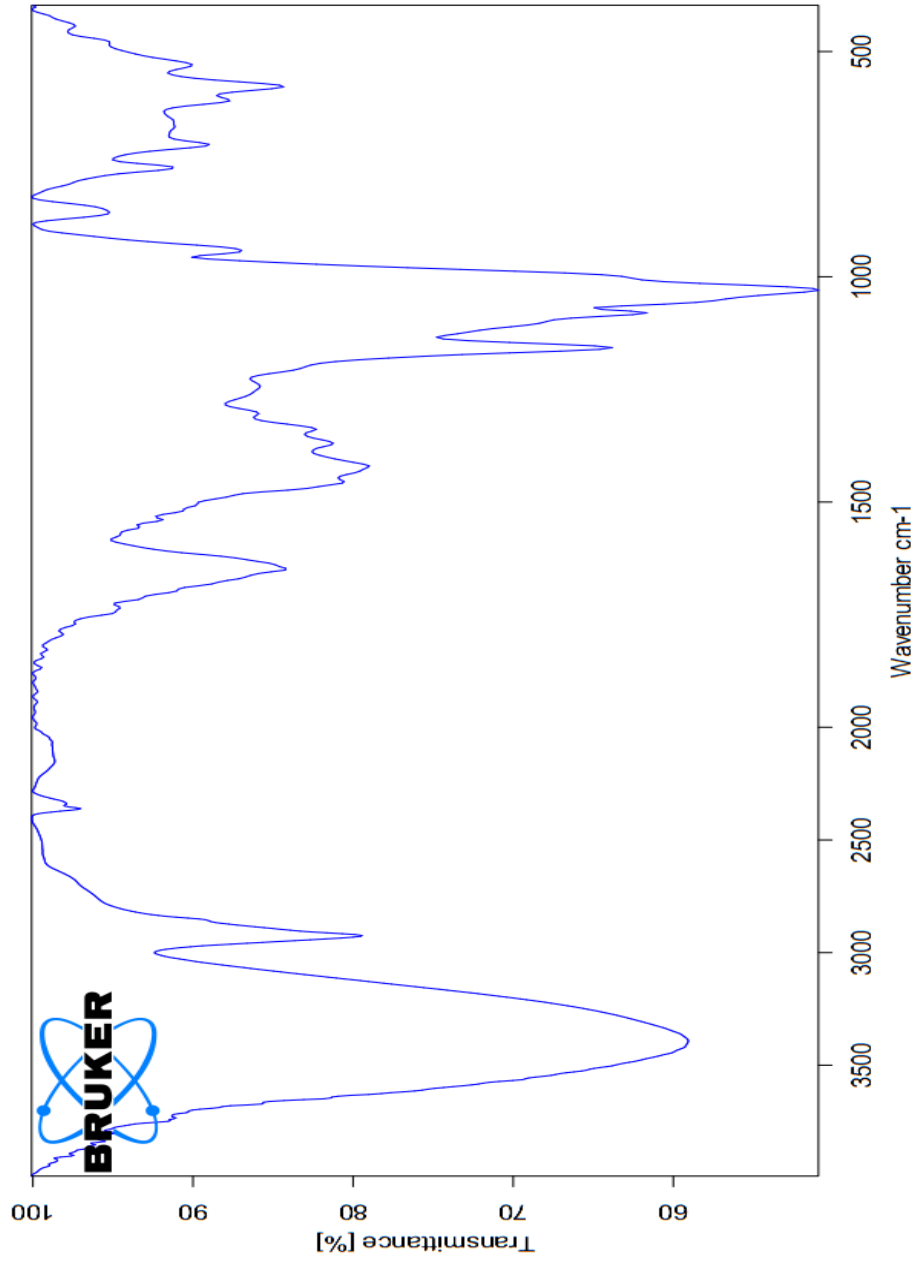
==== CHANNEL F1 =====  
SFO1 125.761492 MHz  
NUC1 13C  
P1 10.00 usec  
PL1 88.0000000 Hz

==== CHANNEL F2 =====  
SFO2 500.130000 MHz  
NUC2 1H  
P2 12.00 usec  
PL2 0.0000000 Hz  
PL12 0.0000000 Hz  
PL13 0.0000000 Hz  
PL14 0.0000000 Hz

F2 - Processing Parameters  
SI 32768  
SF 125.761492 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 1.00 Hz  
GB 0  
PC 1.40



Phụ lục10. Phổ  $^{13}\text{C}$ NMR (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) mở rộng của dẫn xuất TsCD



**Phụ lục 11. Phổ FT-IR của dẫn xuất CD-N<sub>3</sub>**



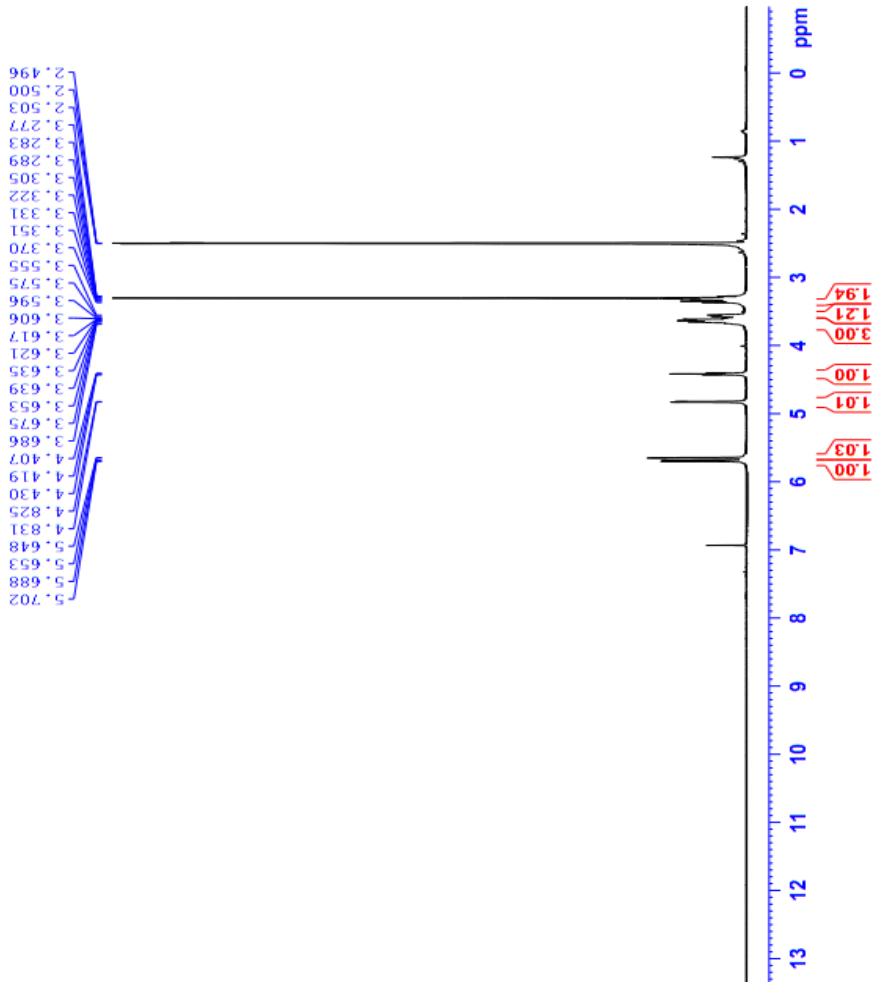
CDN3 - DMSO-1H

Current Data Parameters  
NAME 110FRONG\_CD3  
EXPNO 1.0  
PROCNO 1

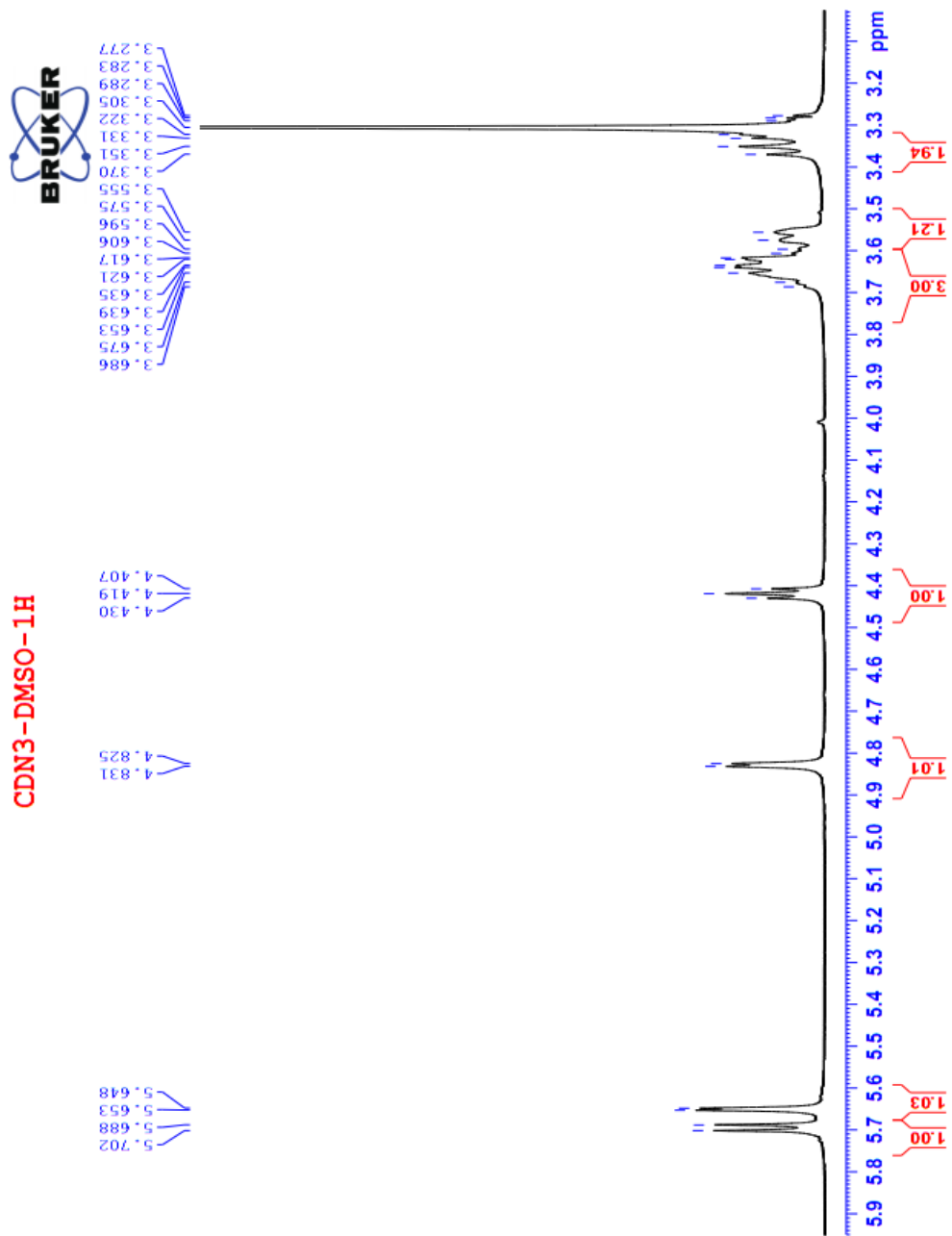
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20100111  
Time 16:42  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm PABBO  
PULPROG zgpg30  
TD 65536  
SOLVENT DMSO  
NS 16  
DS 2  
SHR 1000.000 Hz  
FIDRES 0.152588 Hz  
AQ 3.276198 sec  
RG 127.68  
DN 50.000000 usec  
DE 8.00 usec  
TE 300.2 K  
D1 1.0000000 sec  
D11 0.0000000 sec  
D12 0.0000000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 500.237889 MHz  
NUC1 1H  
P1 10.00 usec  
PL1 0.00 dB  
RG1 22.0000000 M

F2 - Processing Parameters  
SI 65536  
SF 500.200000 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.50 Hz  
GB 0  
SC 1.00

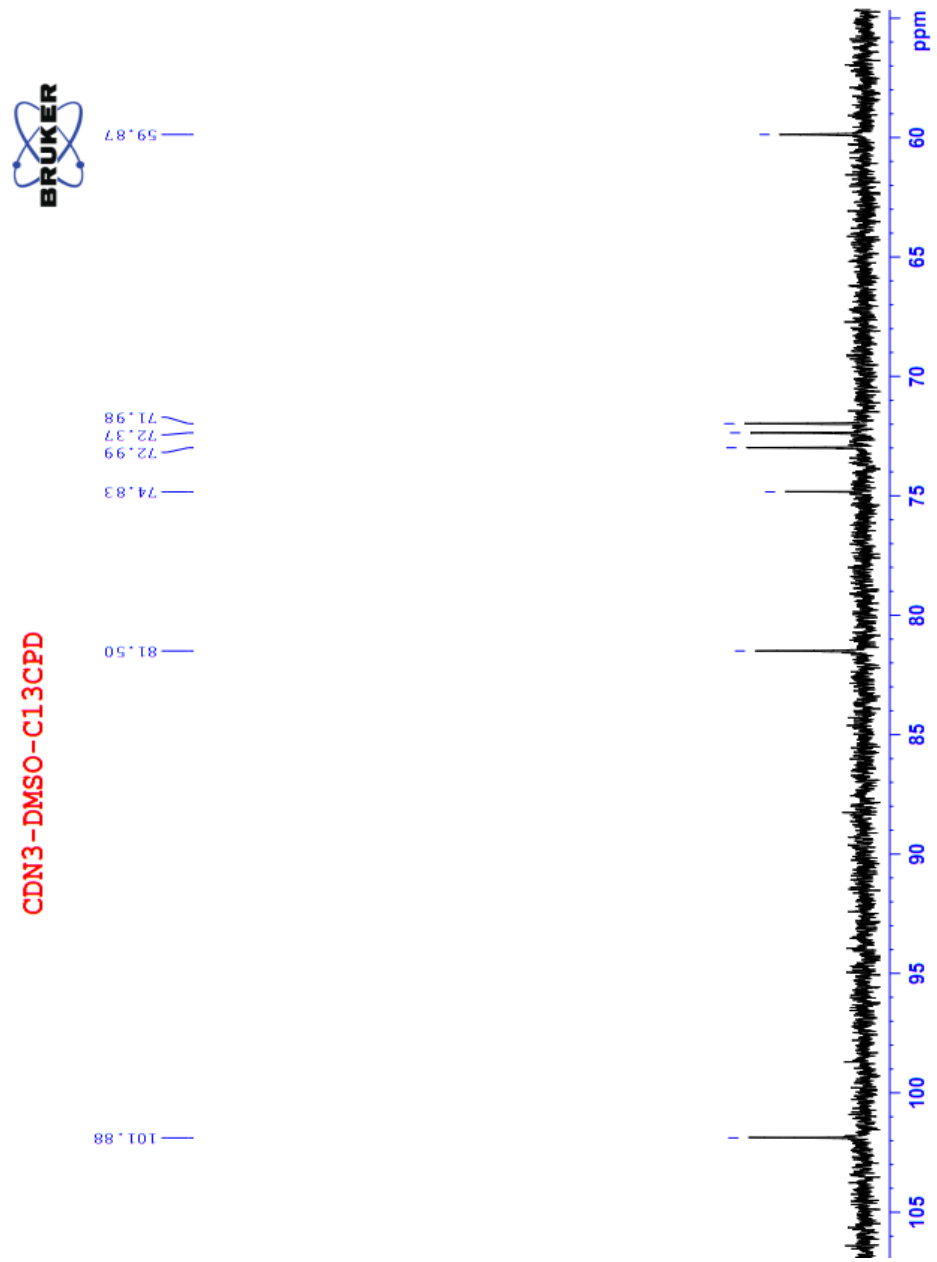


Phụ lục 12. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ , ppm) của dẫn xuất CD- $\text{N}_3$

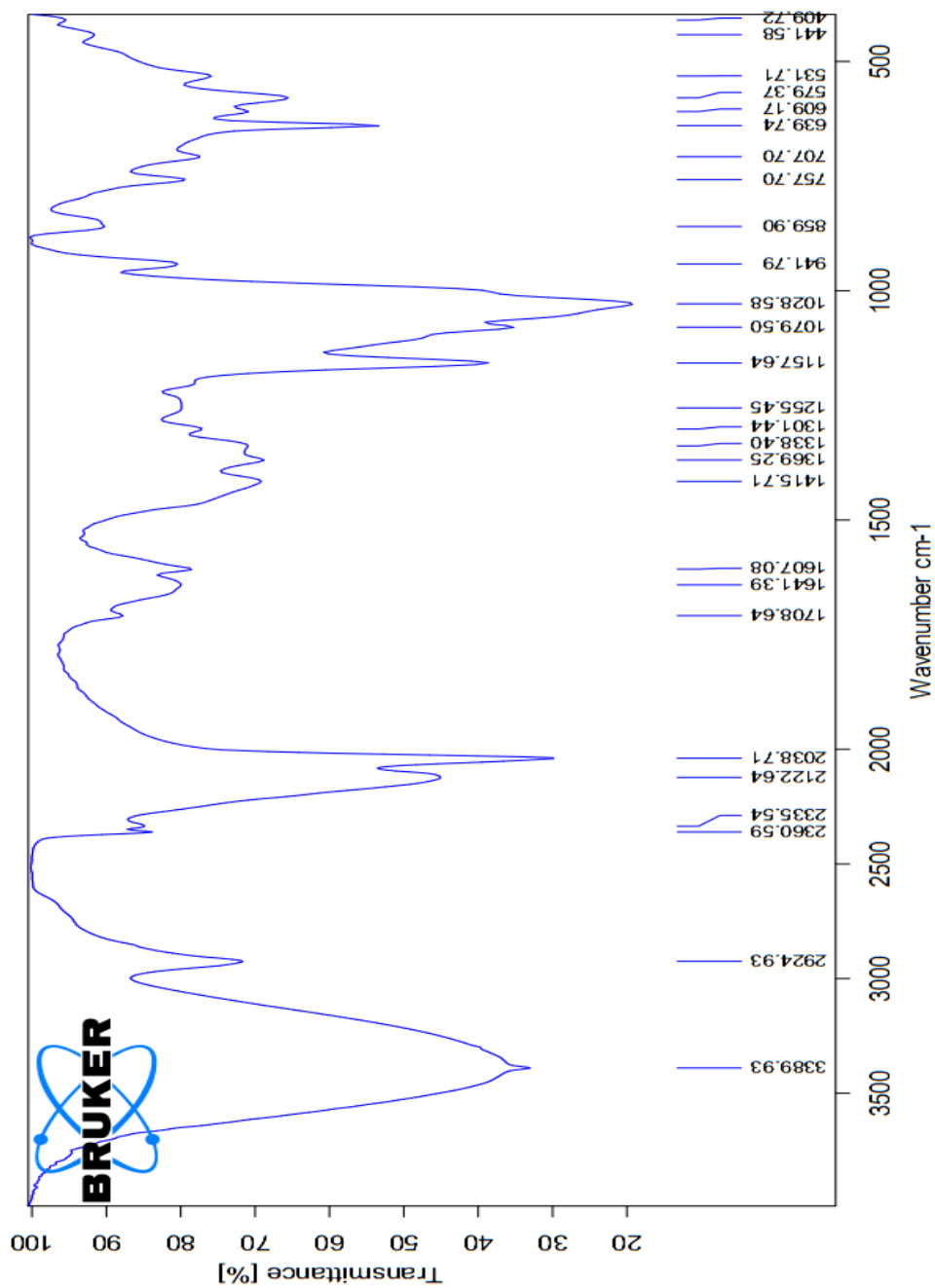


Phụ lục 13. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, ppm)mở rộng của CD-N<sub>3</sub>





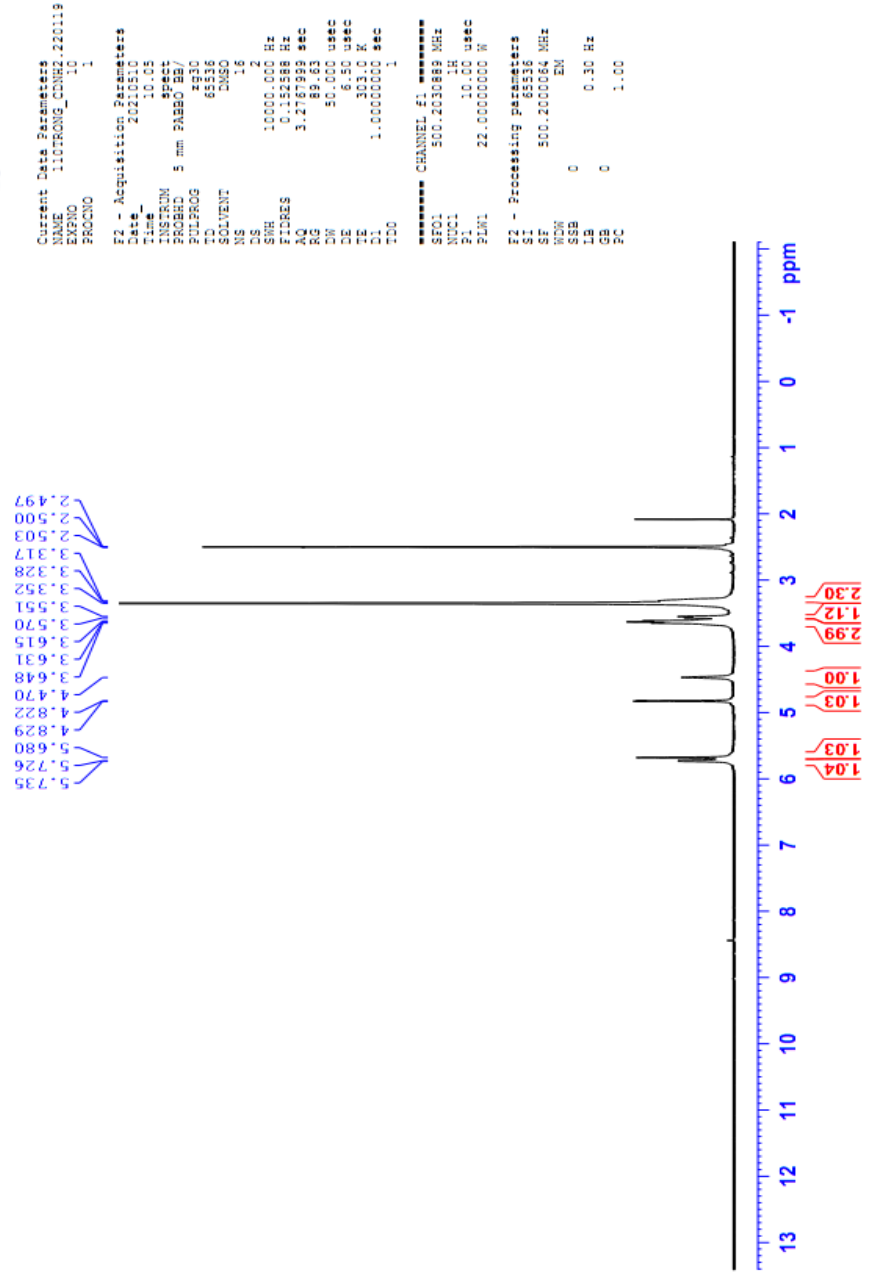
Phụ lục 14. Phổ  $^{13}\text{C}$ NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , ppm) của dẫn xuất CD- $\text{N}_3$



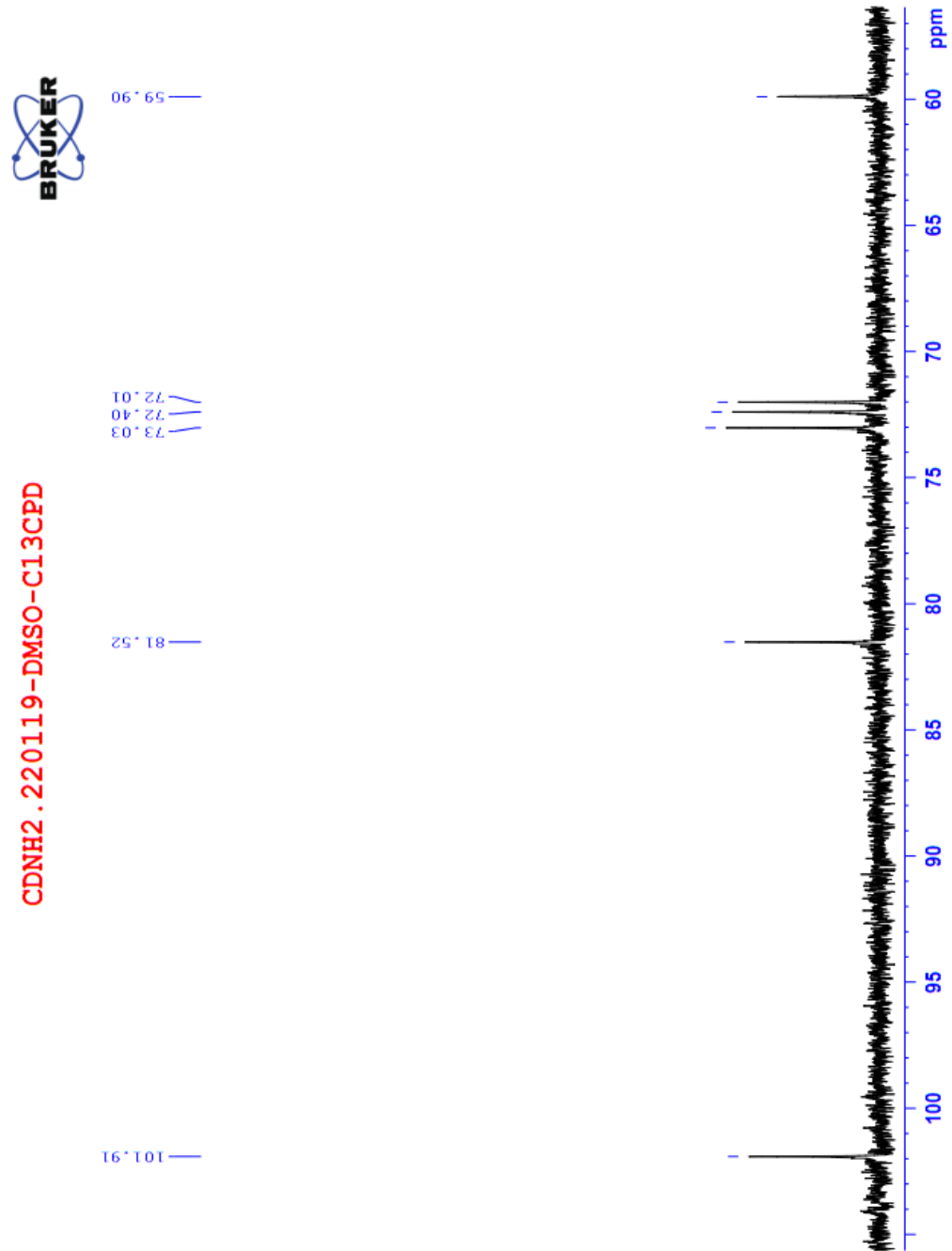
Phụ lục 15. Phổ FT-IR của dẫn xuất CD-NH<sub>2</sub>



CDNH2 . 220119-DMSO-1H



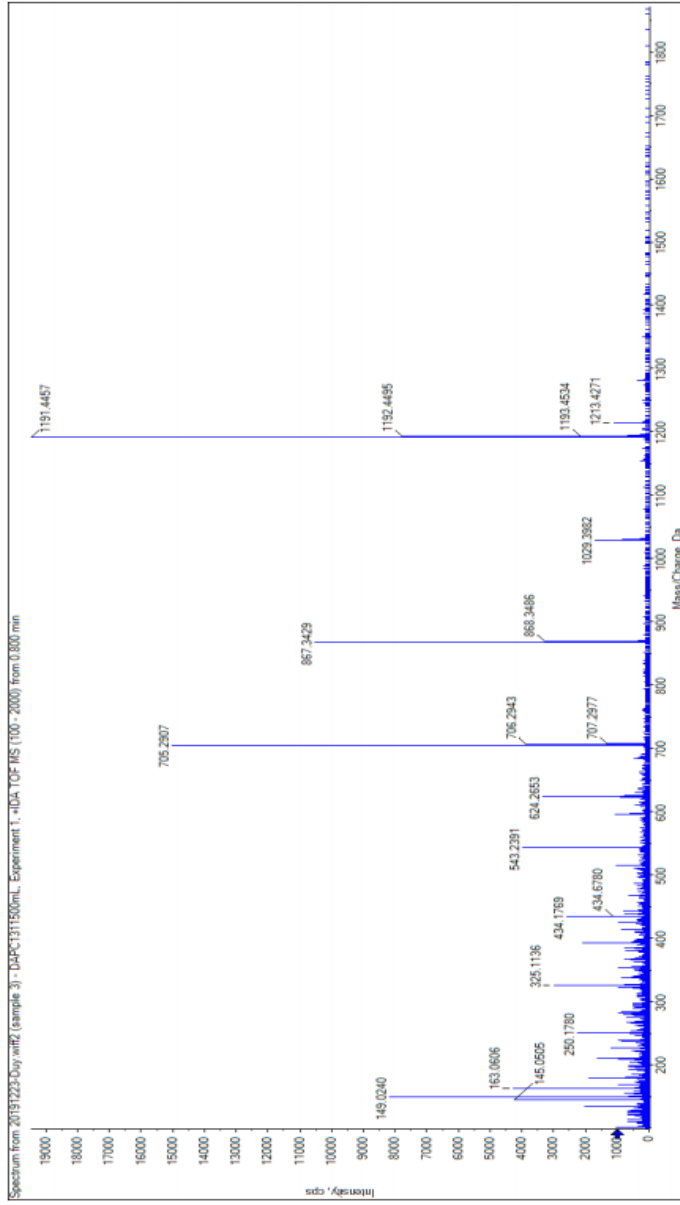
Phụ lục 16. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ ) của dẫn xuất CD-NH $_2$



Phụ lục 17. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ) của dẫn xuất CD-NH<sub>2</sub>

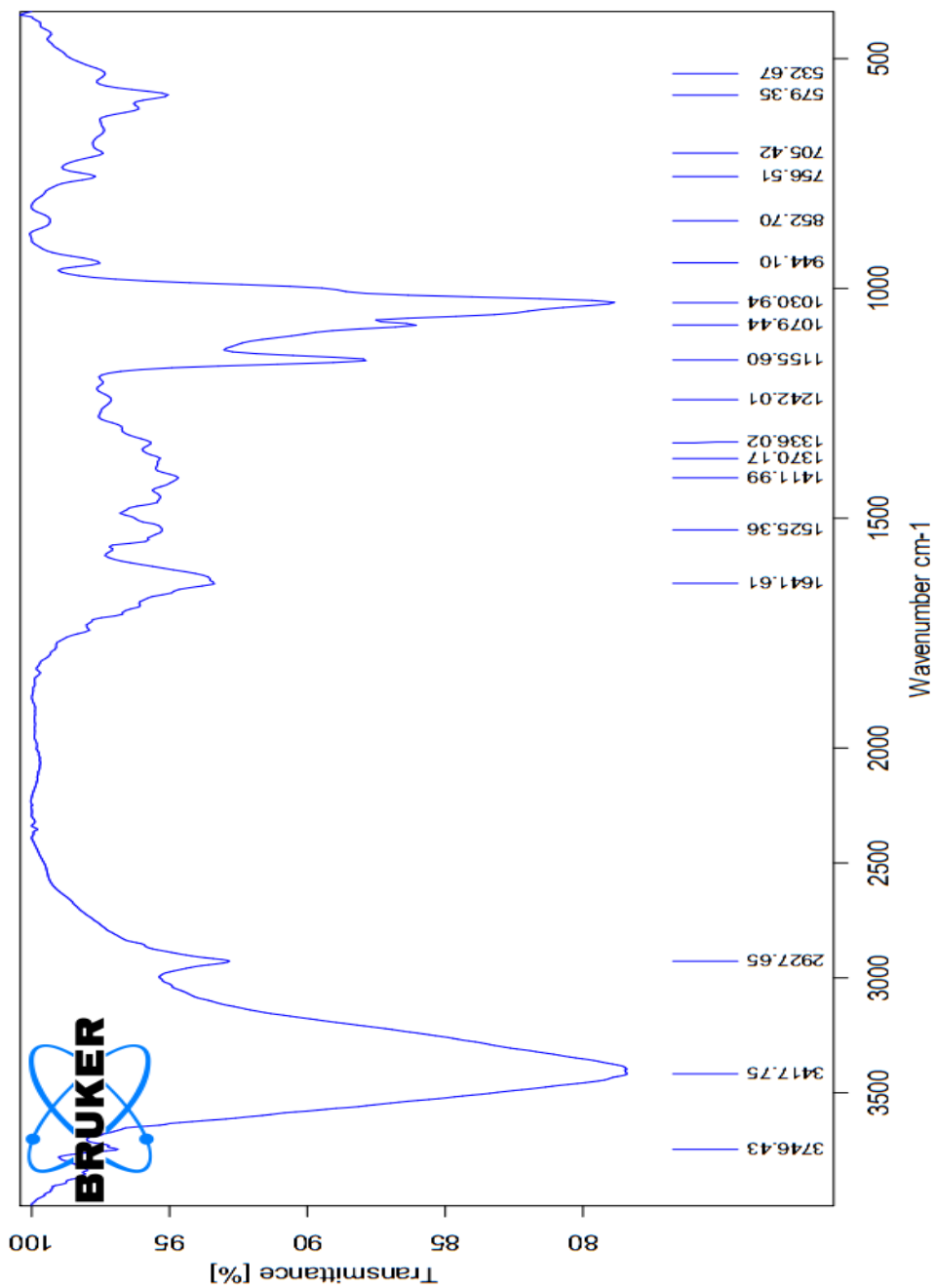


**Sample name:** DAPC1311500mL  
**Operator:** Le Anh VHH  
**Method:** IDA TOF MS  
**Date:** 2021.12.27



Hit	Formula	m/z	RDB ppm	MS Rank	MSMS ppm	MSMS Rank	Found
1	C45H78N2O34	1191.45087	8.0	-4.3	I		NA/NA

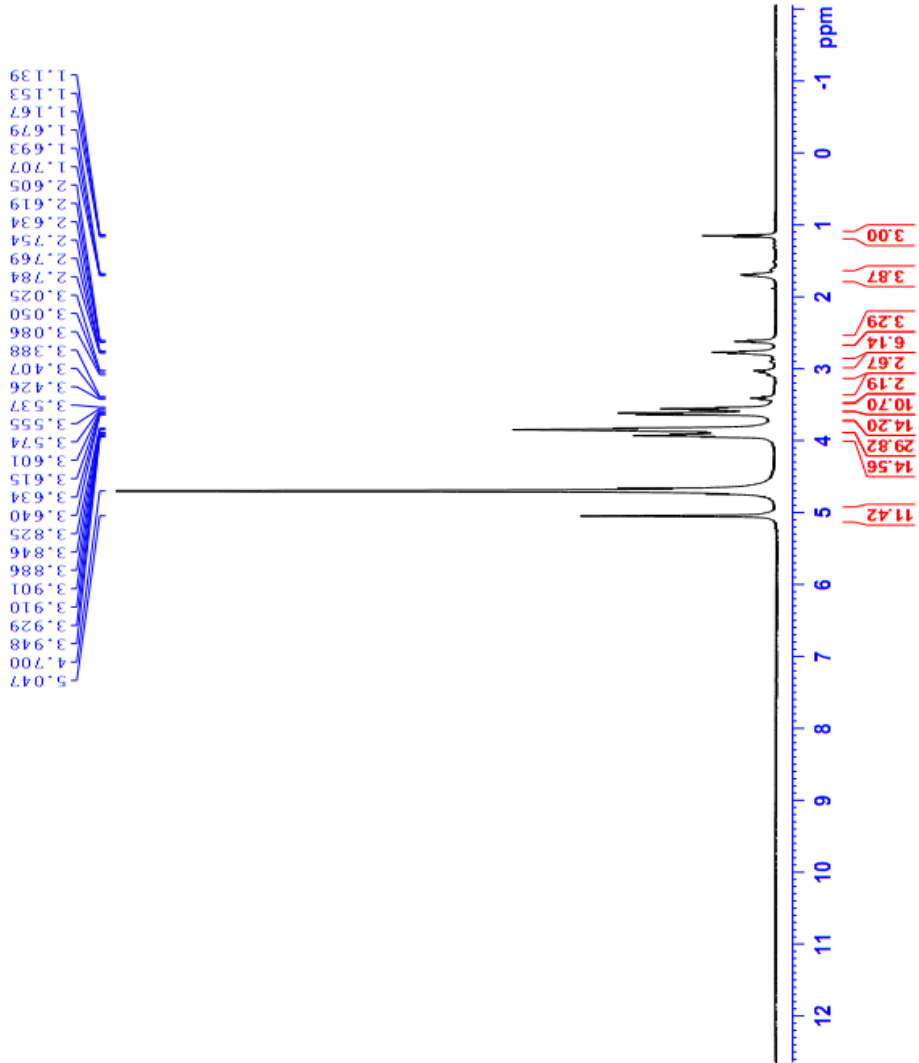
### Phụ lục 18. Phổ QTOF-MS (m/z) của dẫn xuất TMACD



**Phụ lục 19. Phổ FT-IR của dẫn xuất TMACD**



DAPC24101100-D2O-1H



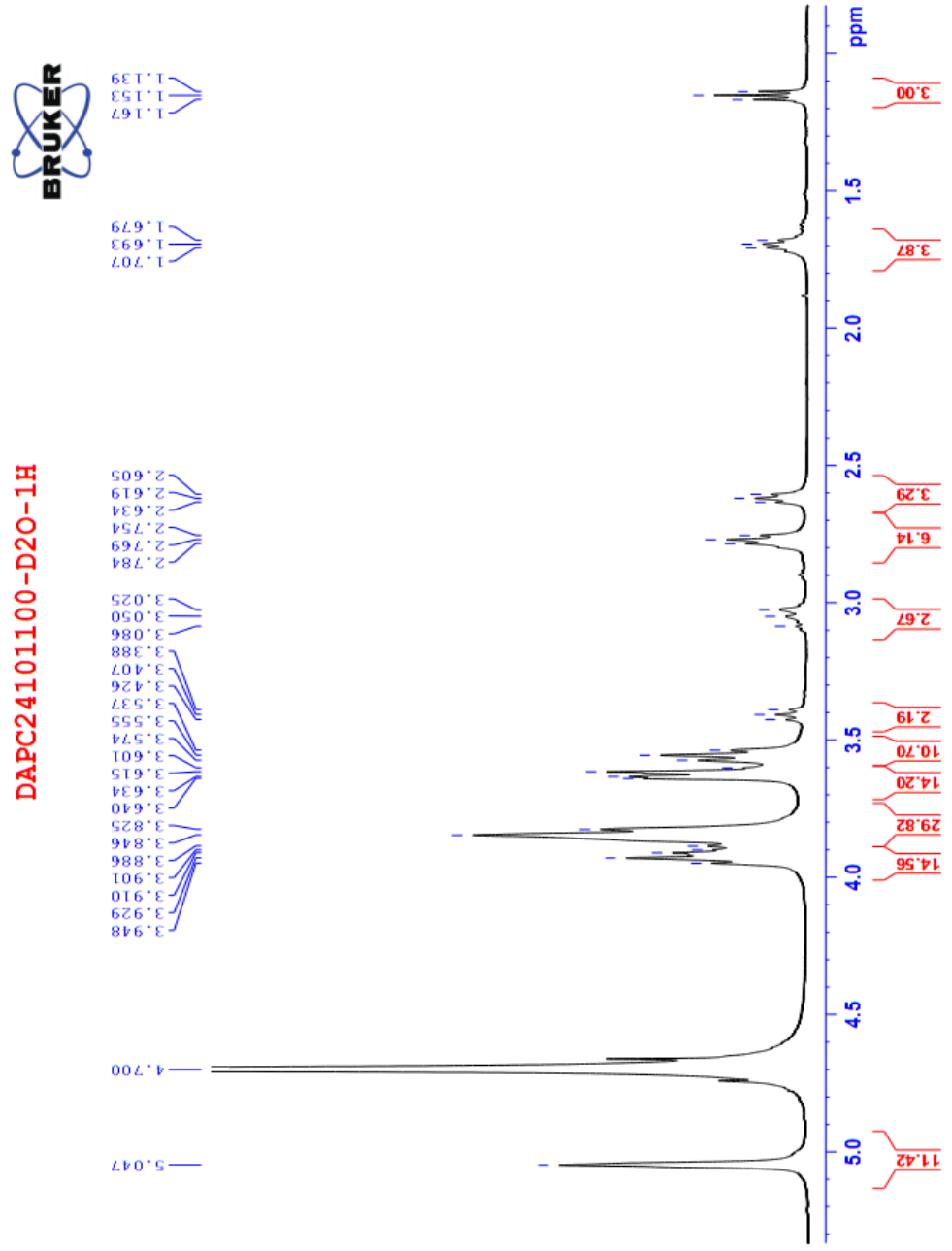
Current Data Parameters  
NAME: 1105EU\_DAPC24101100  
EXPNO: 10  
PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ : 2020-11-19  
Time : 17.21  
INSTRUM : spect  
PROBHD : 5 mm PABBO BB/  
PULPROG : zgpg30  
TD : 65536  
SOLVENT : D2O  
NS : 16  
DS : 2  
SWH : 1000.000 MHz  
FIDRES : 0.121000 Hz  
AQ : 3.214708 Hz  
RG : 61.99 Hz  
AQ : 50.001 Hz  
RG : 6.50 Hz  
TE : 303.2 K  
D1 : 1.0000000 sec  
D11 : 1.0000000 sec  
D12 : 1.0000000 sec

===== CHANNEL f1 =====  
SFO1 : 500.1360889 MHz  
NUC1 : 1H  
P1 : 10.20 Useq  
PLW1 : 22.0000000 W

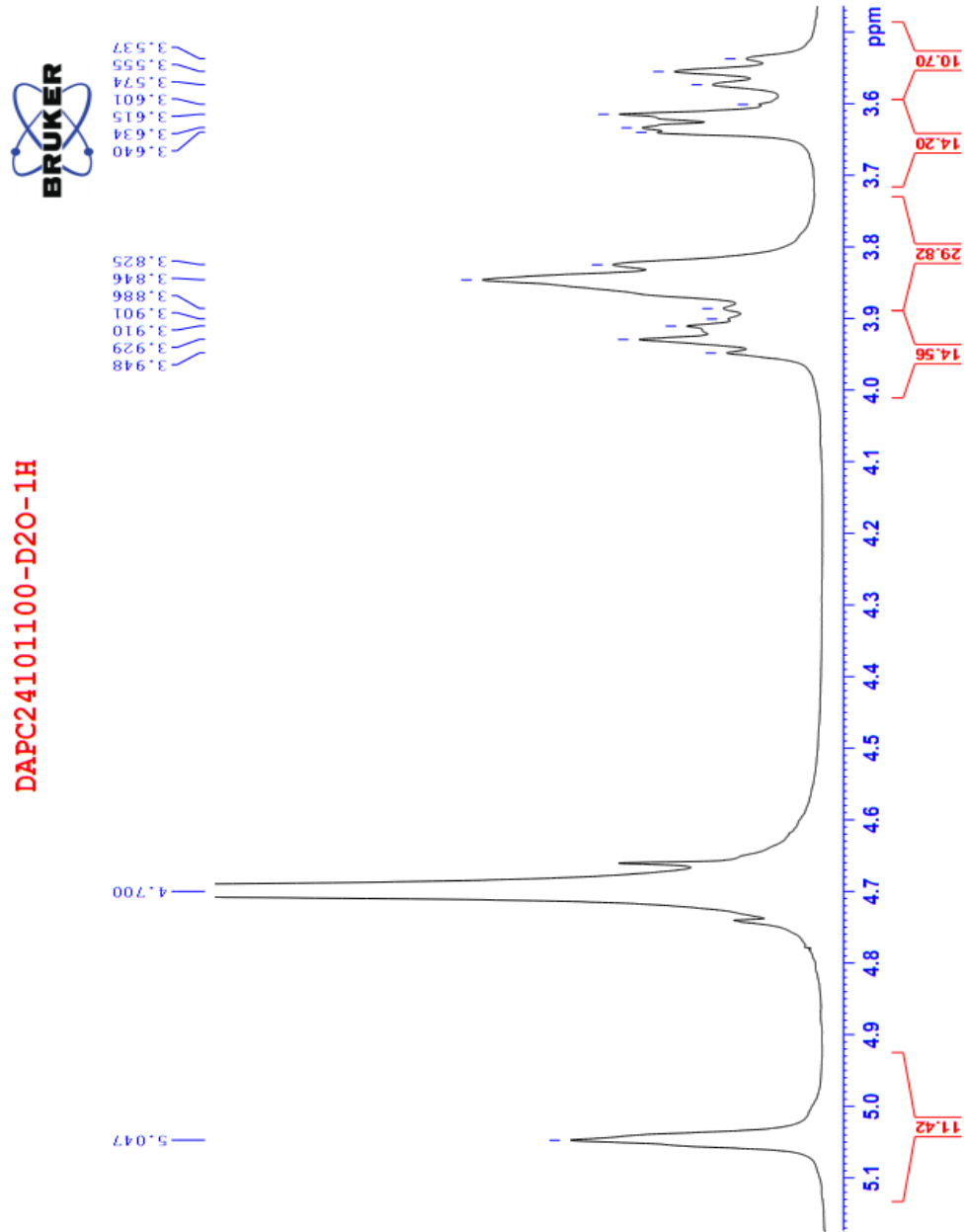
F2 - Processing Parameters  
SI : 65536  
SF : 500.1360889 MHz  
WDW : EM  
SSB : 0  
LB : 0.30 Hz  
GB : 0  
PC : 1.00

Phụ lục 20. Phổ <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O, ppm) của dẫn xuất TMACD

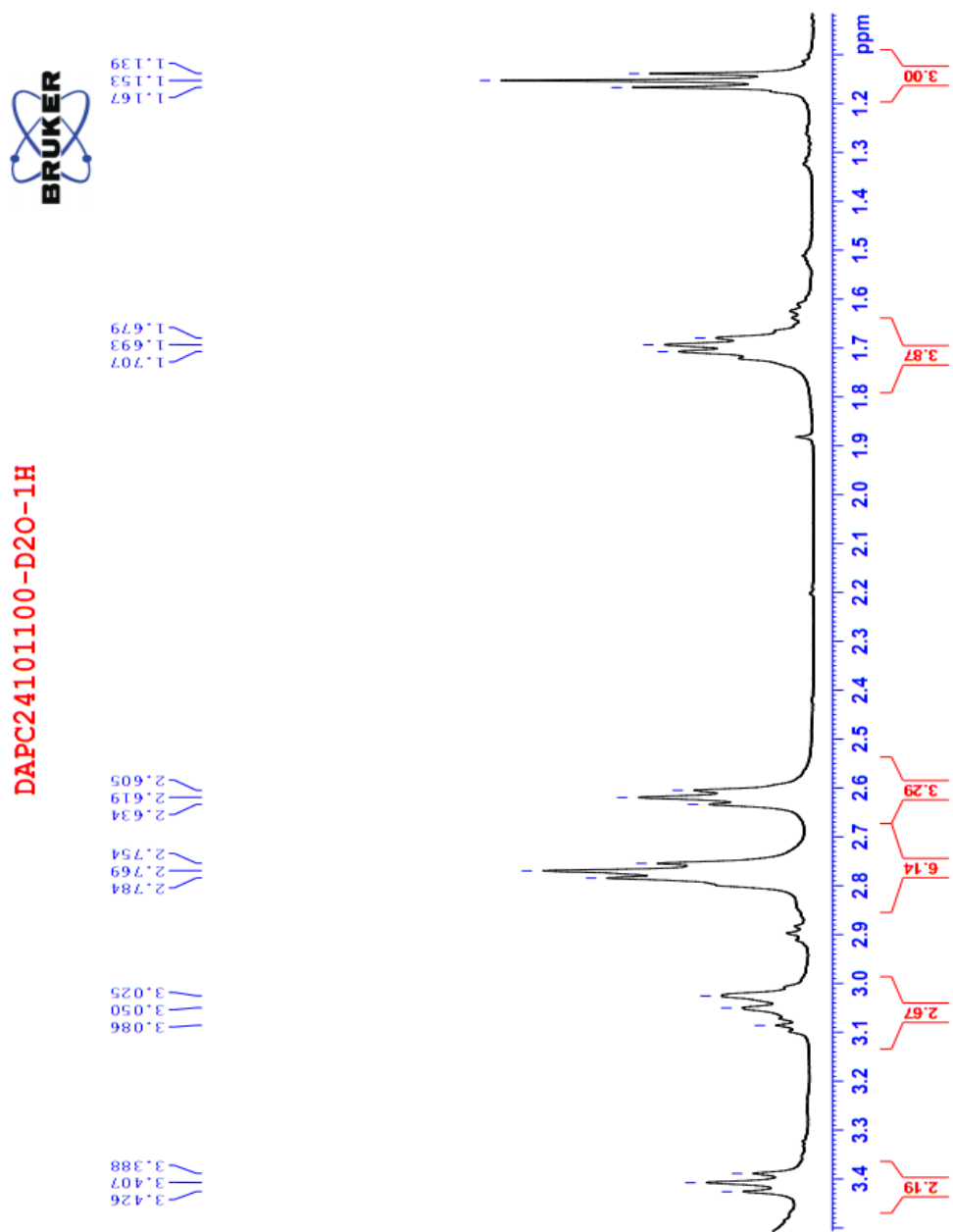


Phụ lục 21. Phổ  $^1\text{H}$ NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , ppm) mở rộng của dẫn xuất TMACD

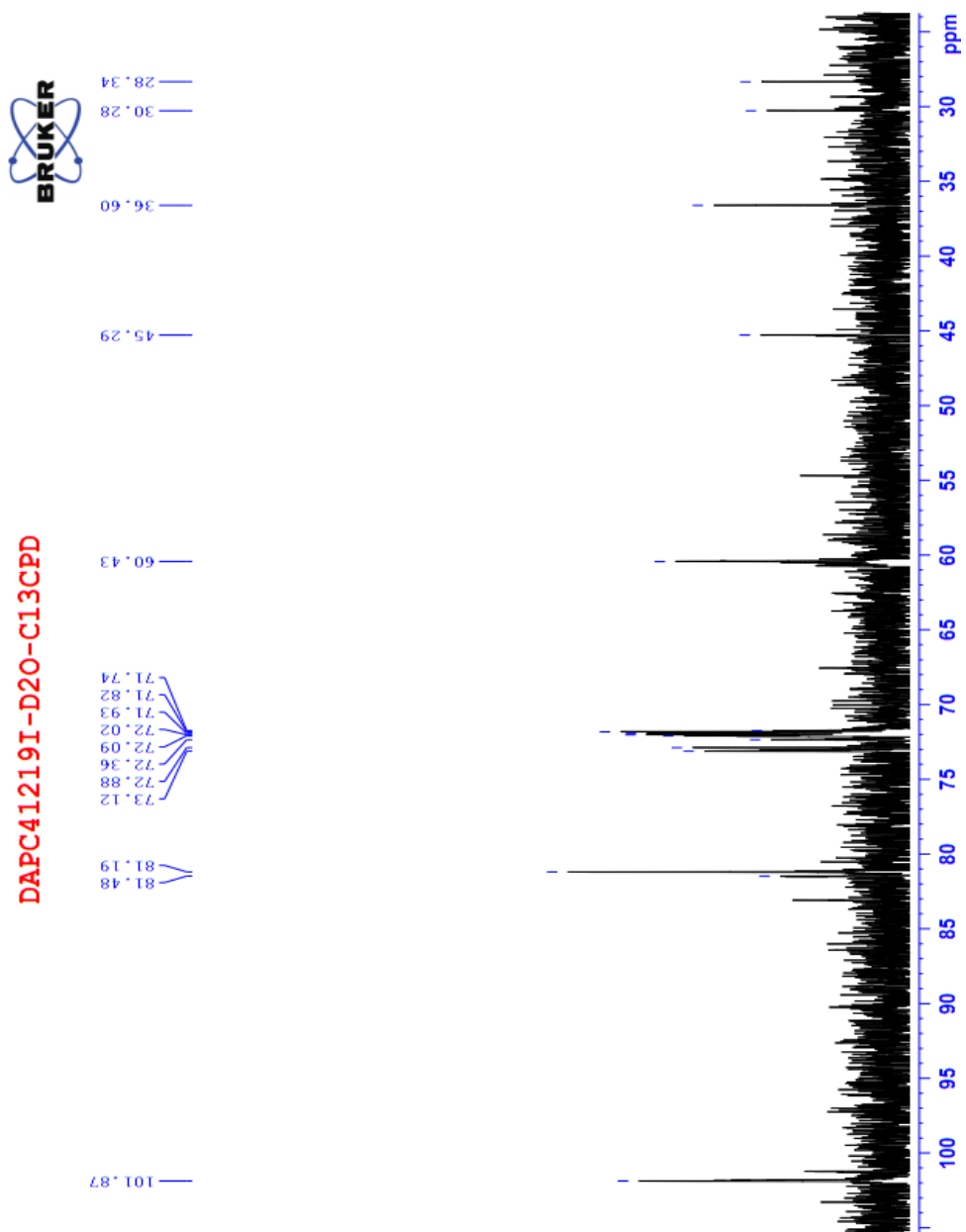




**Phụ lục 22. Phổ  $^1\text{H}$ NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , ppm) mở rộng của dẫn xuất TMACD**

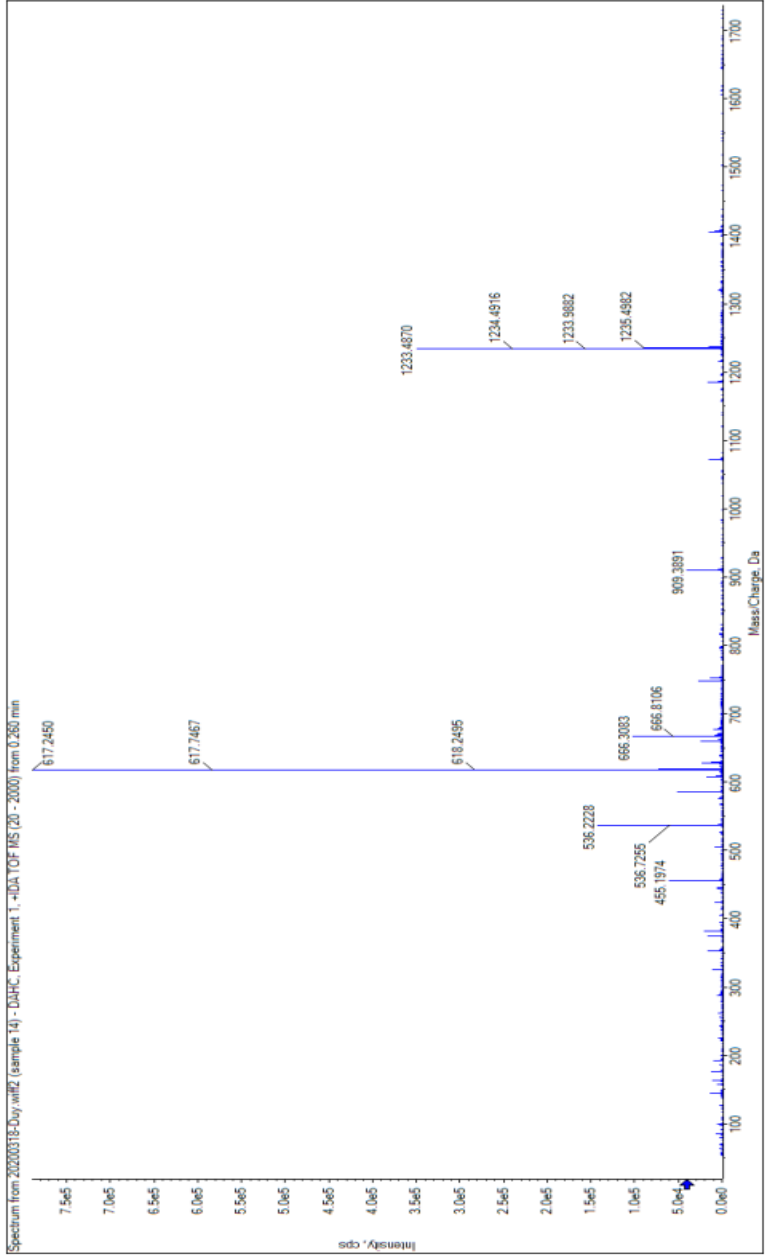


Phụ lục 23. Phổ  $^1\text{H}$ NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , ppm) mở rộng của TMDAC

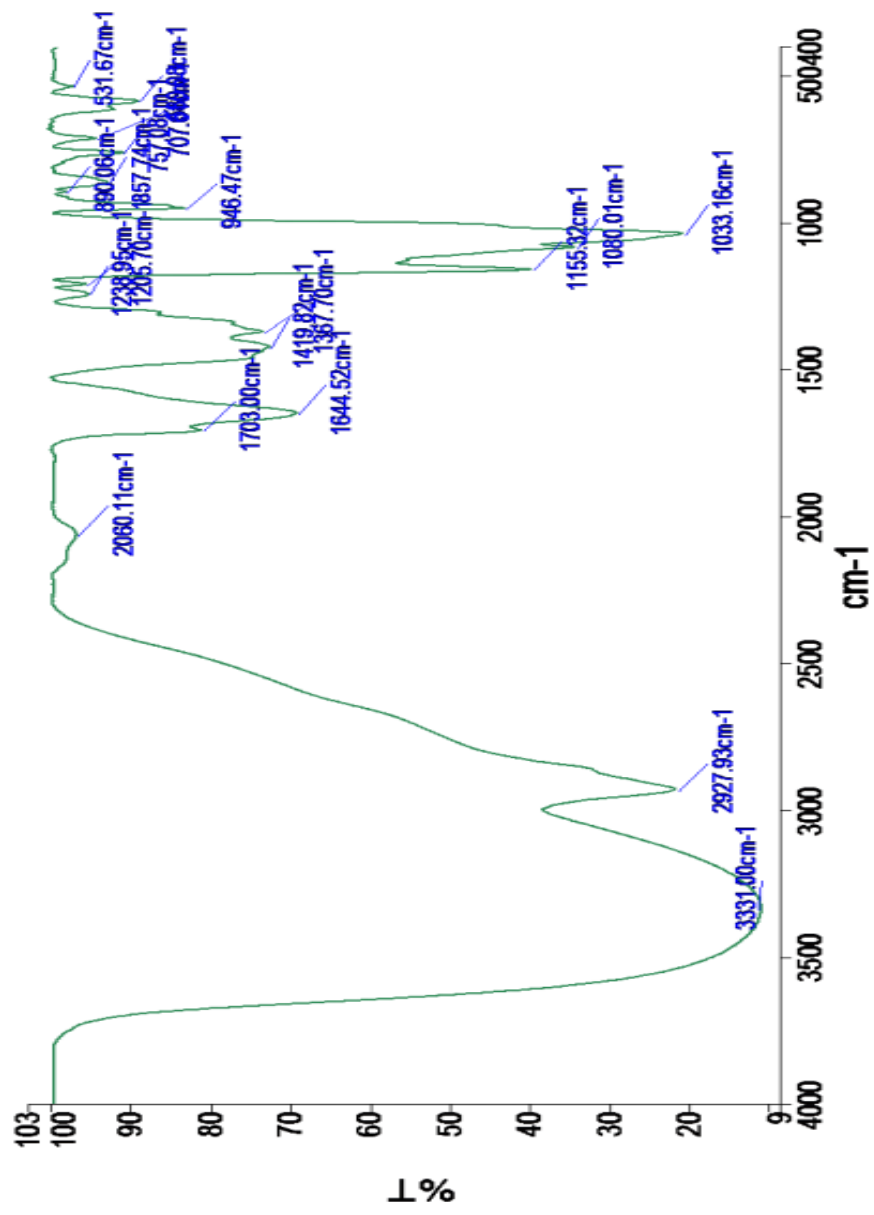


Phụ lục 24. Phổ  $^{13}\text{C}$ NMR (125 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , ppm) của dẫn xuất TMACD

**Sample name:** DAHC  
**Operator:** Le Anh VHH  
**Method:** +IDA TOF MS  
**Date:** 2021.12.27



## Phụ lục 25. Phổ QTOF-MS (m/z) của dẫn xuất HMACD



Phụ lục 26. Phổ FT-IR của dẫn xuất HMA CD



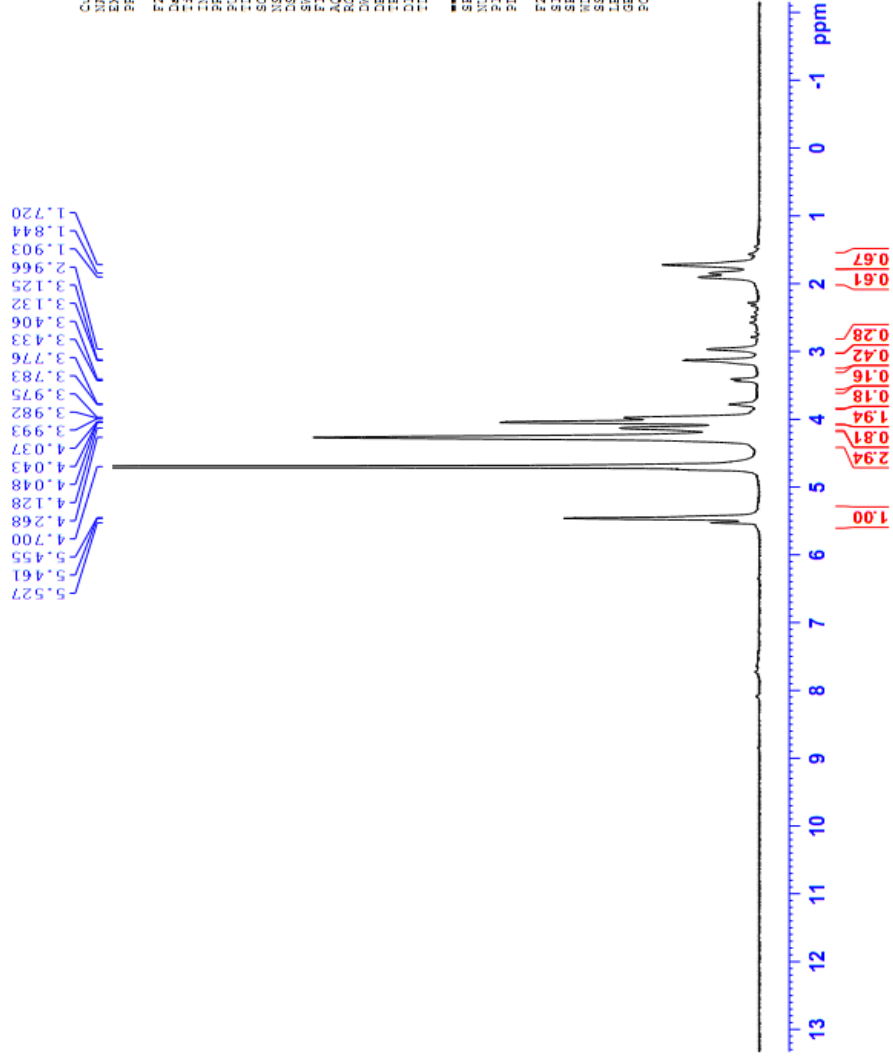
DAHCl501812-D2O-1H

Current Data Parameters  
NAME 110515U\_DAHCl501812  
EXPNO 1.0  
PROCNO 1

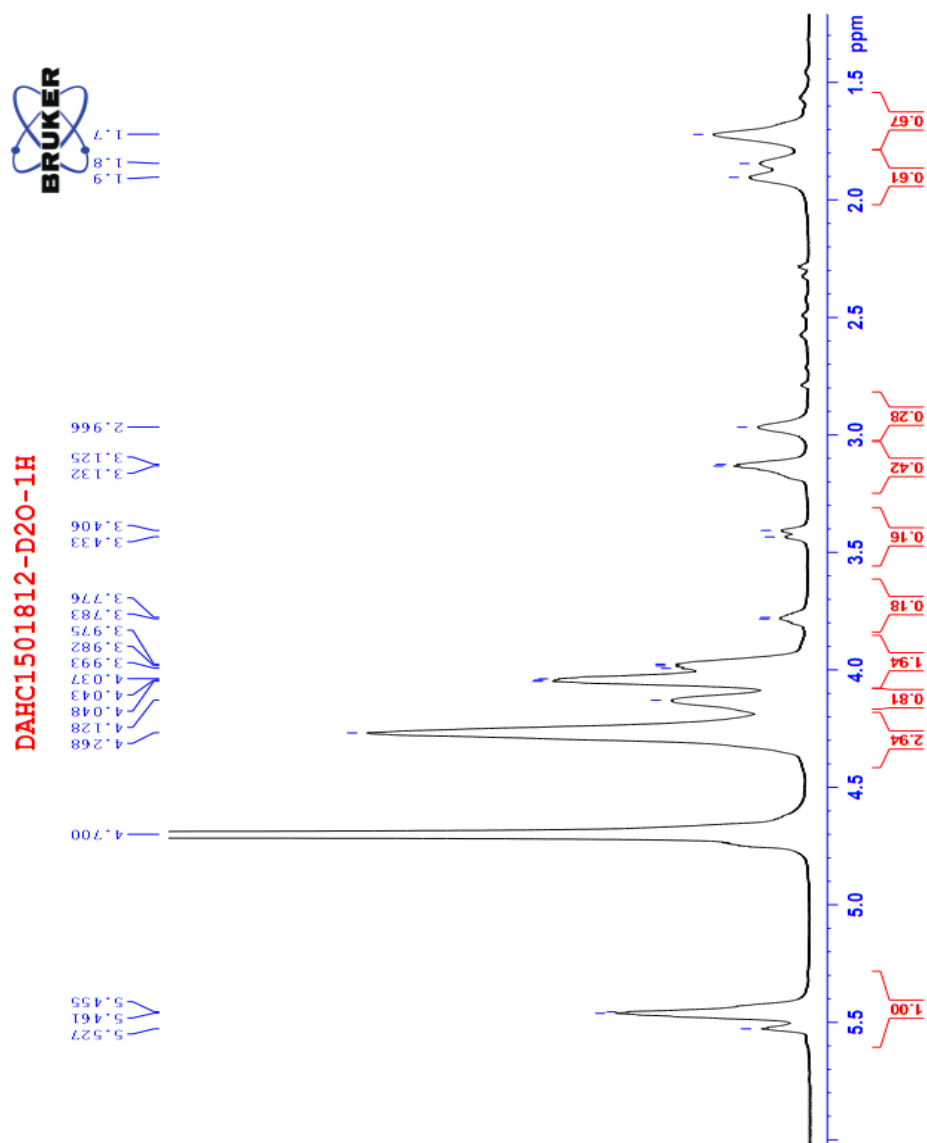
F2 - Acquisition Parameters  
Date\_ 20120112  
Time 11:02  
INSTRUM spect  
PROBHD 5 mm PABBO-51  
PULPROG zgpg30  
TD 65536  
SOLVENT D2O  
NS 16  
DS 2  
SWH 10000.000 Hz  
F2 500.136088 MHz  
AQ 3.1276799 sec  
RG 512.000  
CW 50.000 usec  
DE 32.000 usec  
TE 300.2 K  
D1 1.0000000 sec  
T20

\*\*\*\*\* CHANNEL f1 \*\*\*\*\*  
SFO1 500.136088 MHz  
NUC1 1H  
P1 10.00 usec  
PL1 22.0000000 W

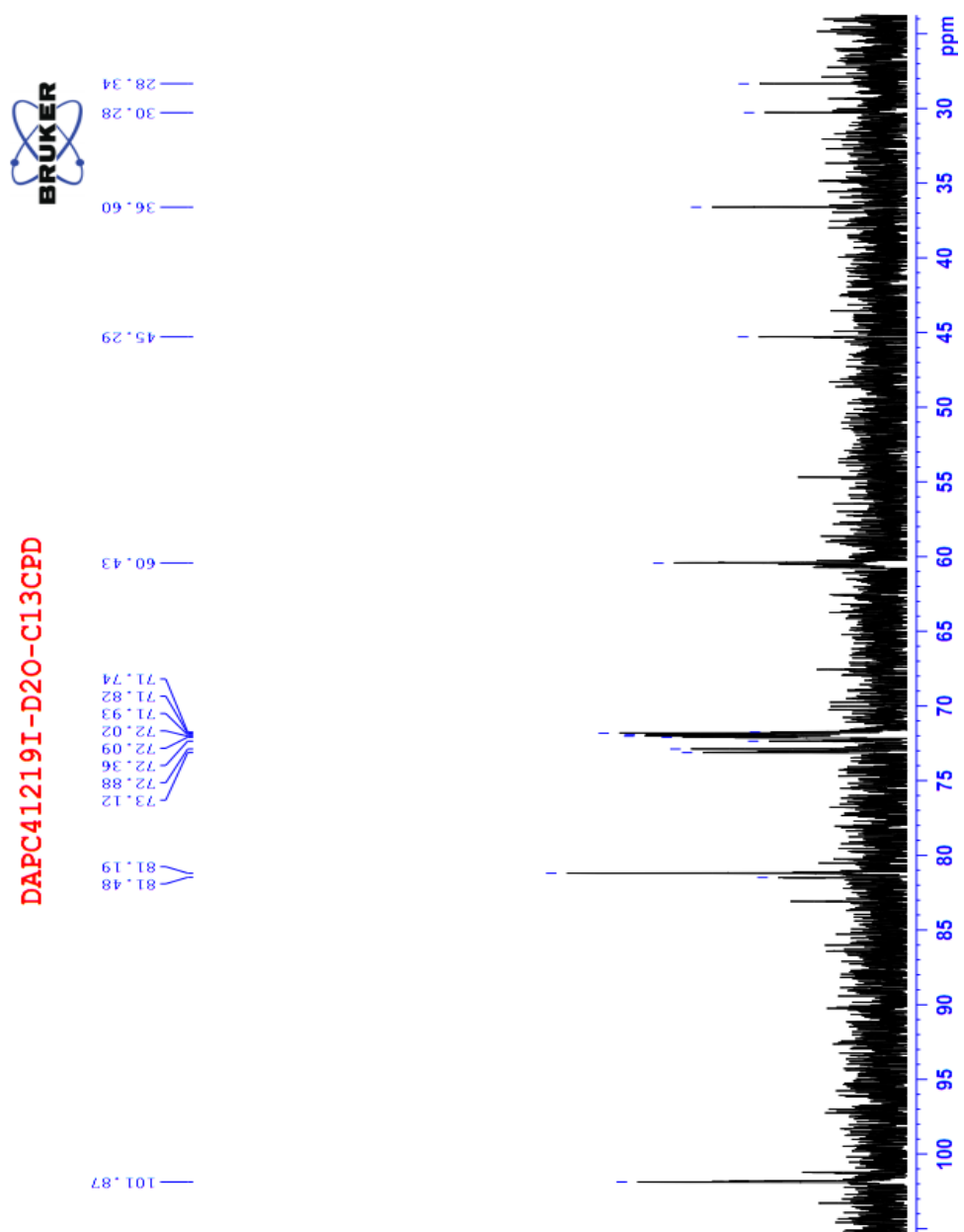
F2 - Processing Parameters  
SI 32768  
SF 500.136088 MHz  
WDW EM  
SSB 0  
LB 0.30 Hz  
GB 0  
PC 1.00



Phụ lục 27. Phổ 1H-NMR (500 MHz, D<sub>2</sub>O, ppm) của dẫn xuất HMA CD

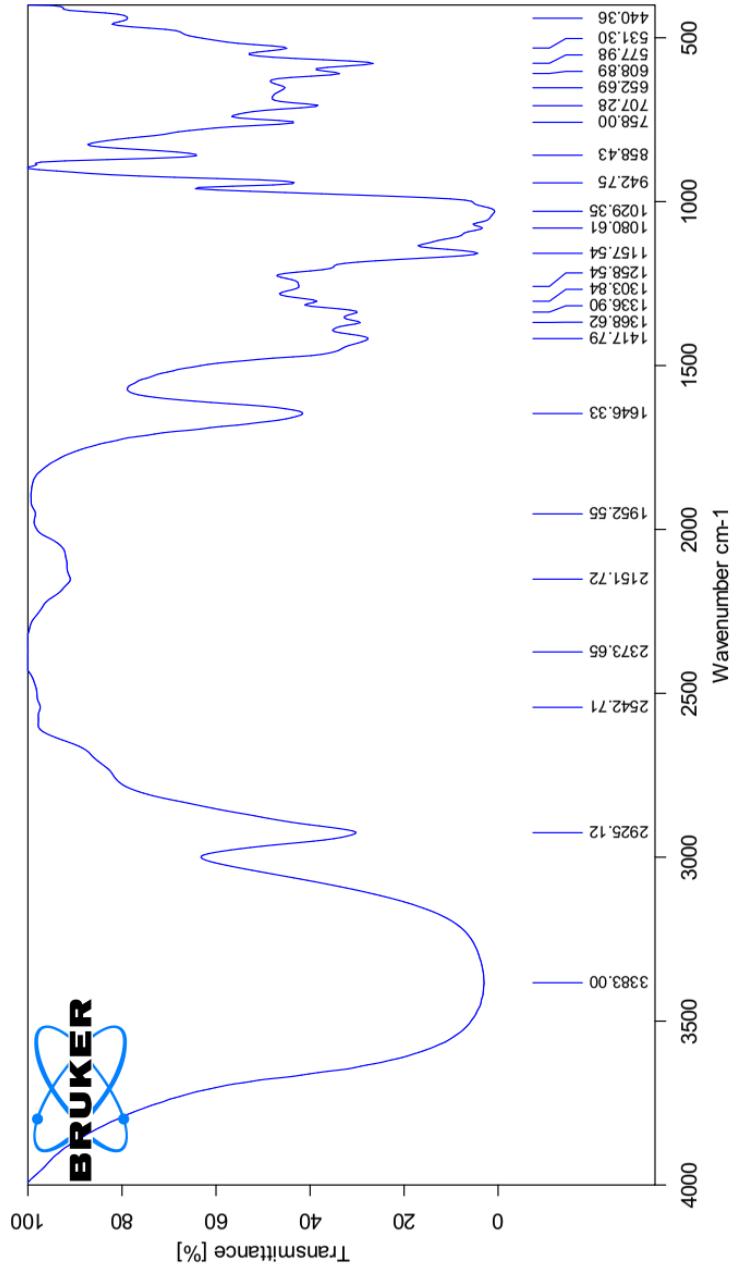


Phụ lục 28. Phổ  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , ppm) mở rộng của dẫn xuất HMAcD

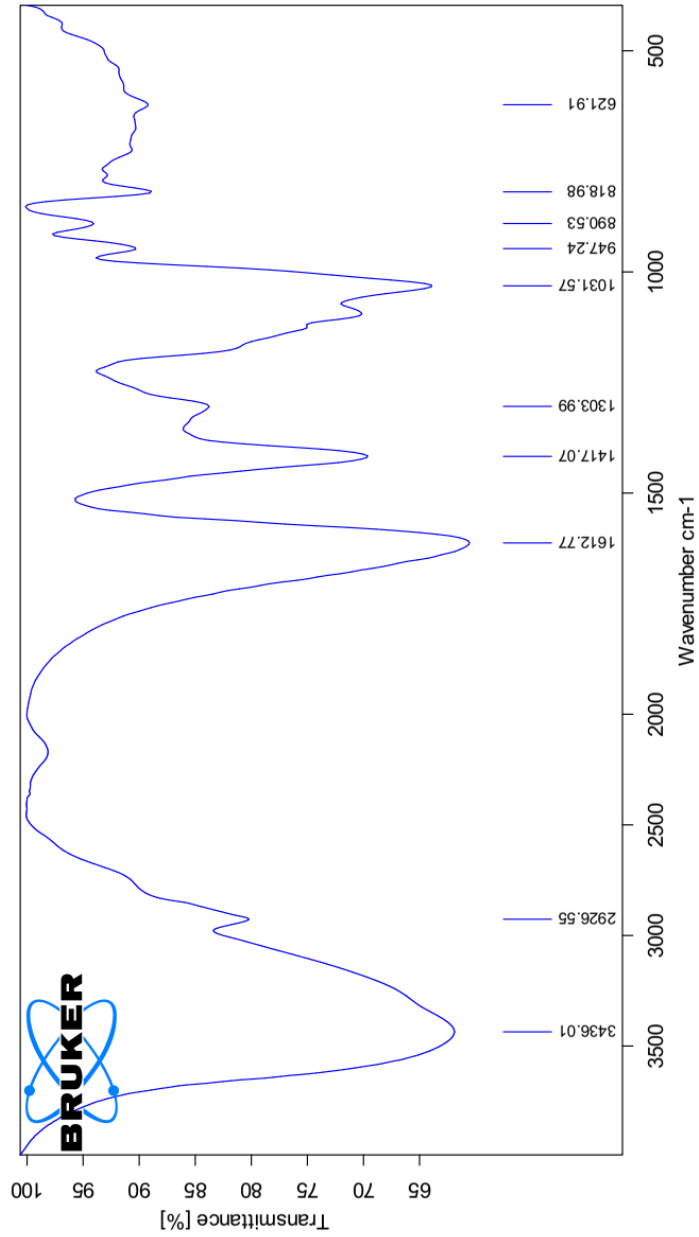


Phụ lục 29. Phổ  $^{13}\text{C}$ NMR (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ,ppm) của dẫn xuất HMA CD





Phụ lục 30. Phổ FT-IR của  $\beta$  - cyclodextrin



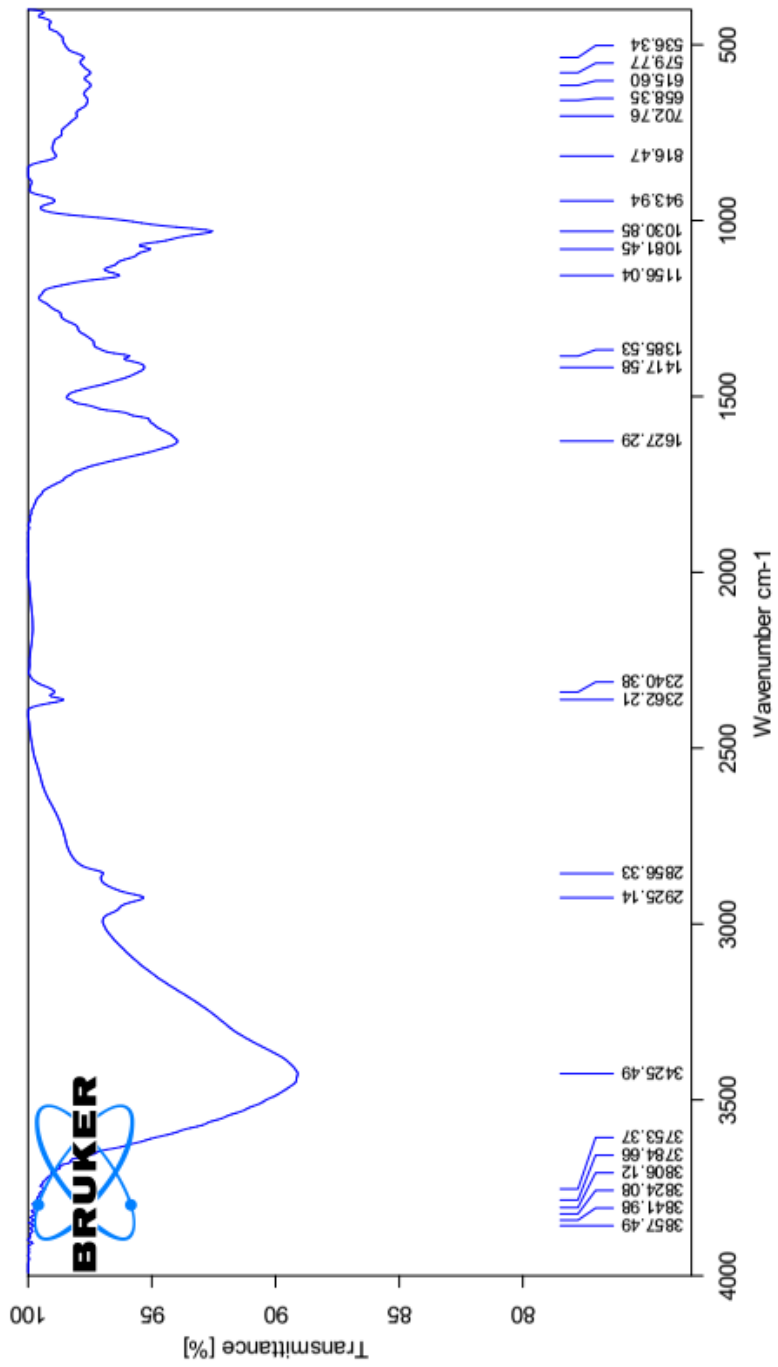
11/7/2018

TENSOR 27 - BRUKER - GERMANY

SODIUM ALGINATE

E:\OPUS 7\2018\THANG 11\20181107\SODIUM ALGINATE.0

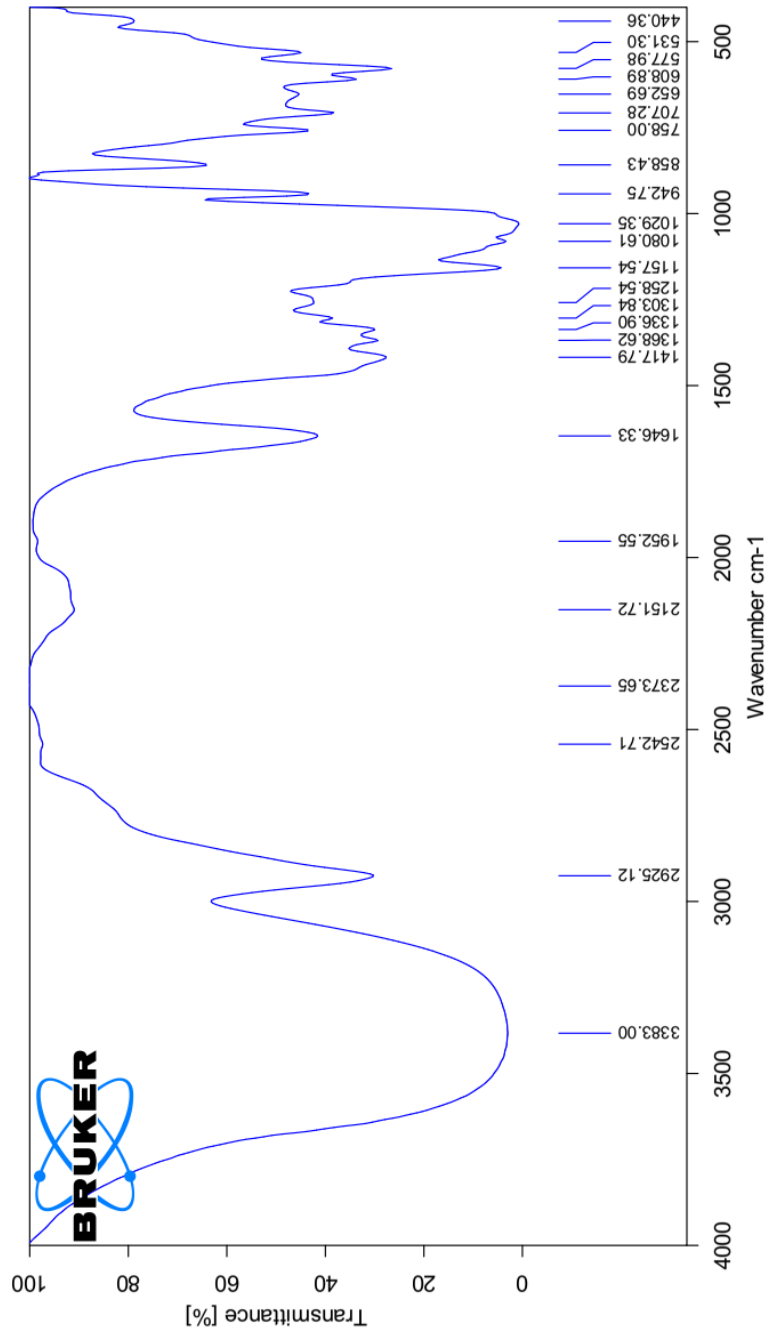
### Phụ lục 31. Phổ FT-IR của Alginate



Phụ lục 32. Phổ FT-IR của mẫu nano CD/Alg

VIỆN CÔNG NGHỆ HOA HOC  
1 Mac Dinh Chi - Q. 1 - Tp HCM

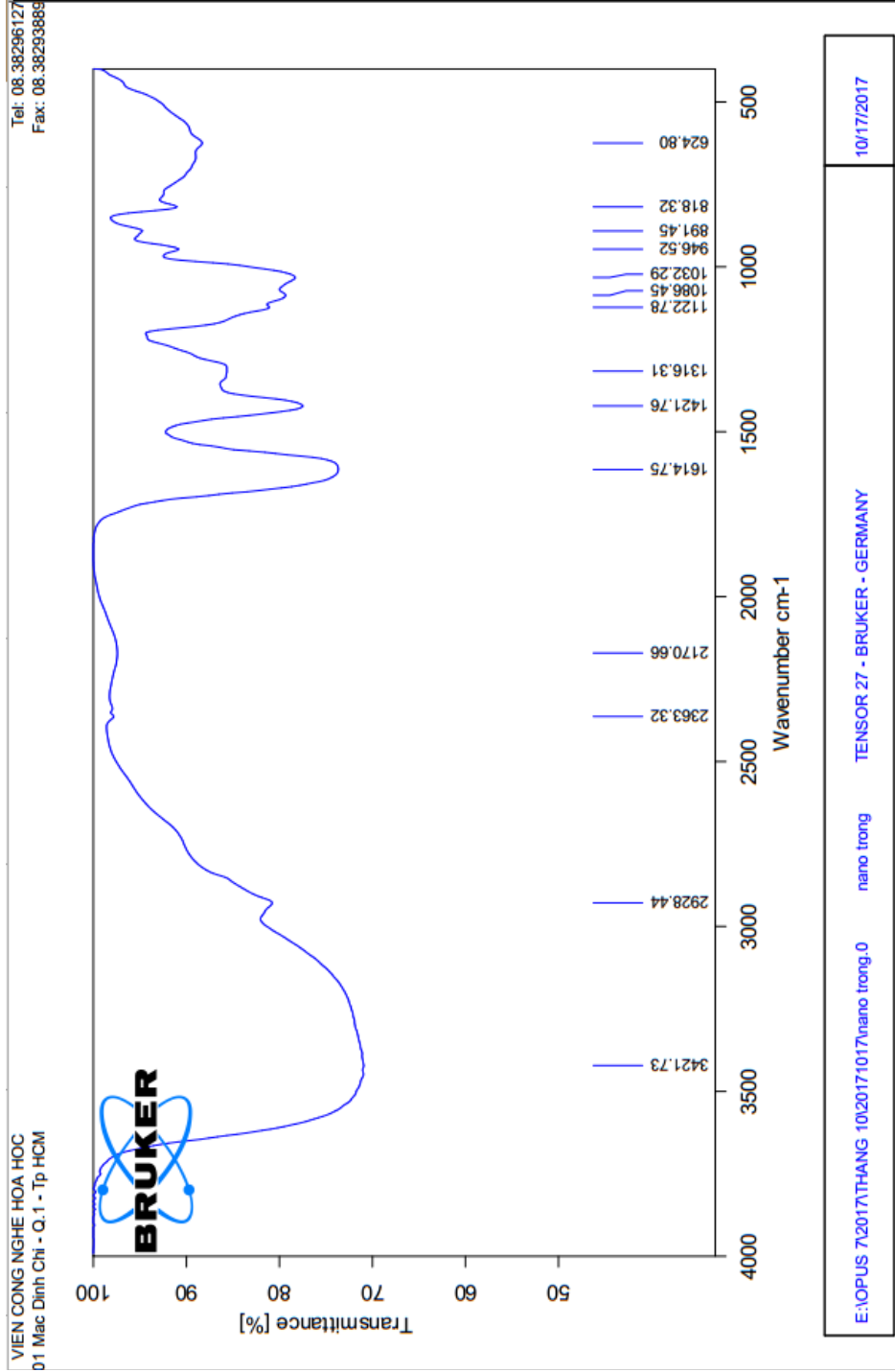
Tel: 08.38296127  
Fax: 08.38293886



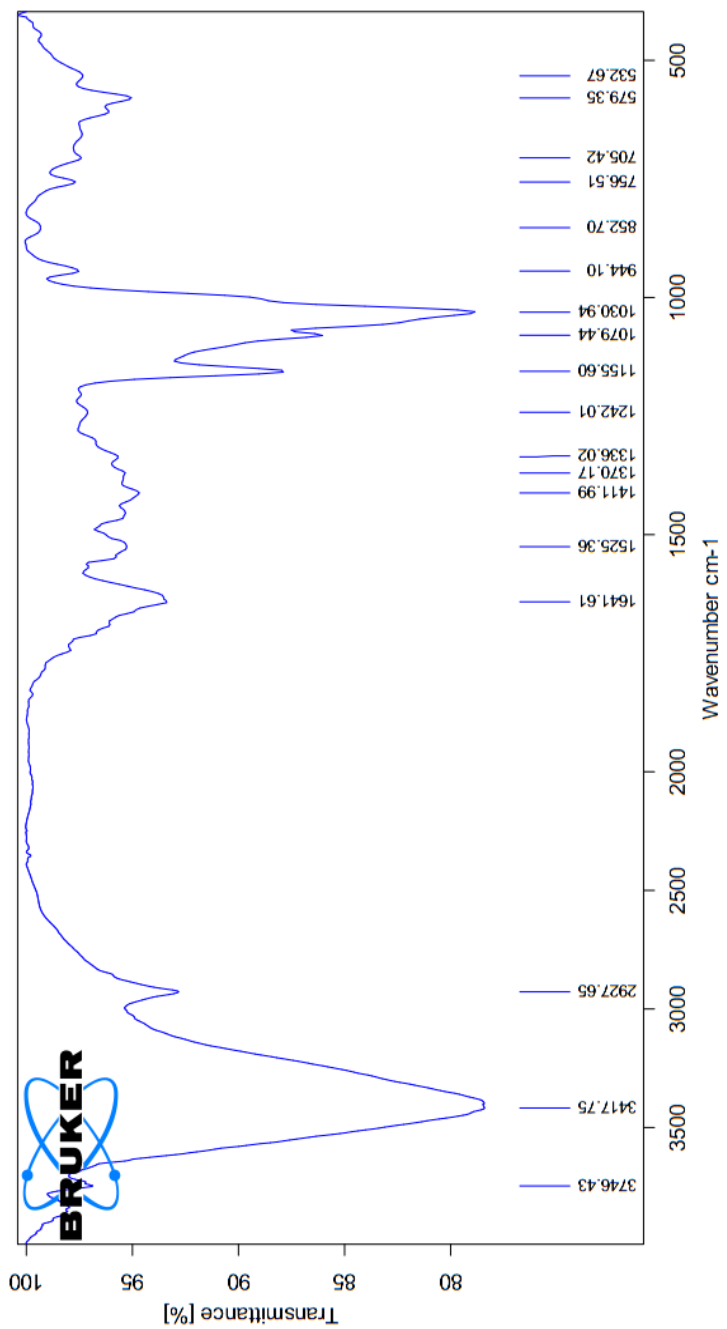
### Phụ lục 33. Phổ FT-IR của HPCD

1/10/2018

E:\OPUS 7\2018\thang 1\20140109\CD HUONG.0 CD HUONG TENSOR 27 - BRUKER - GERMANY



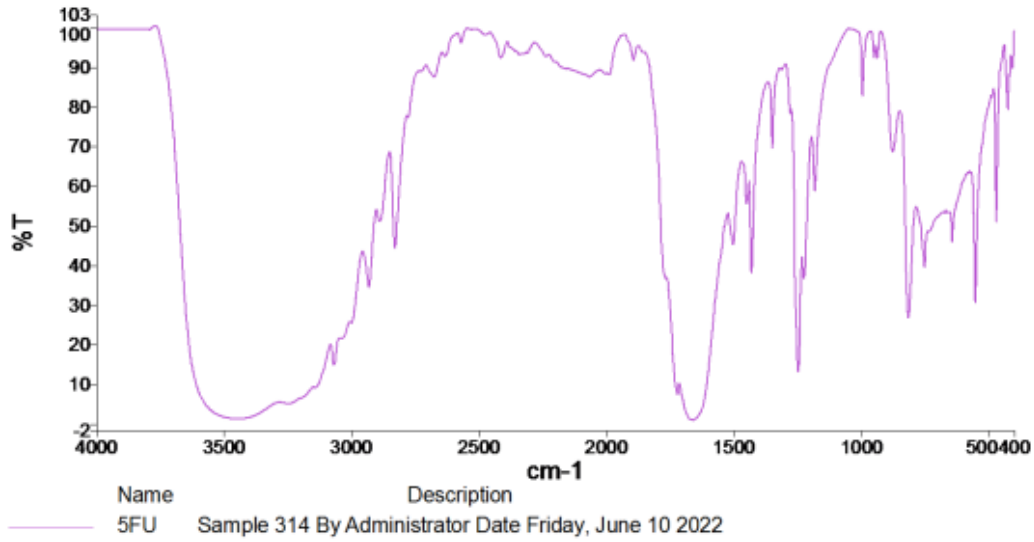
Phụ lục 34. Phổ FT-IR của HPCD/Alg



Phụ lục 35. Phổ FT-IR của TMACD/Alg

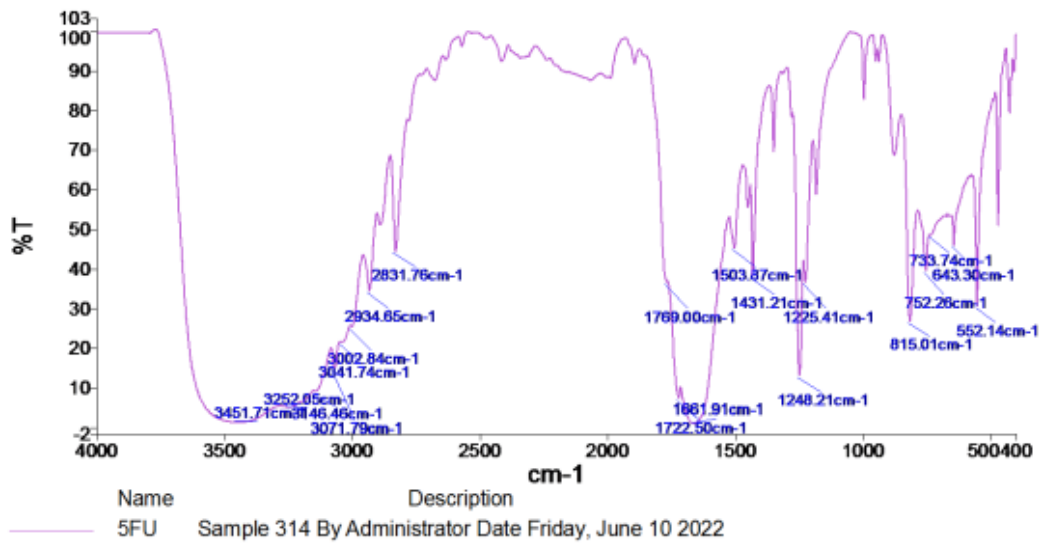
PerkinElmer Spectrum 10.5.2

June 10, 2022 1:40

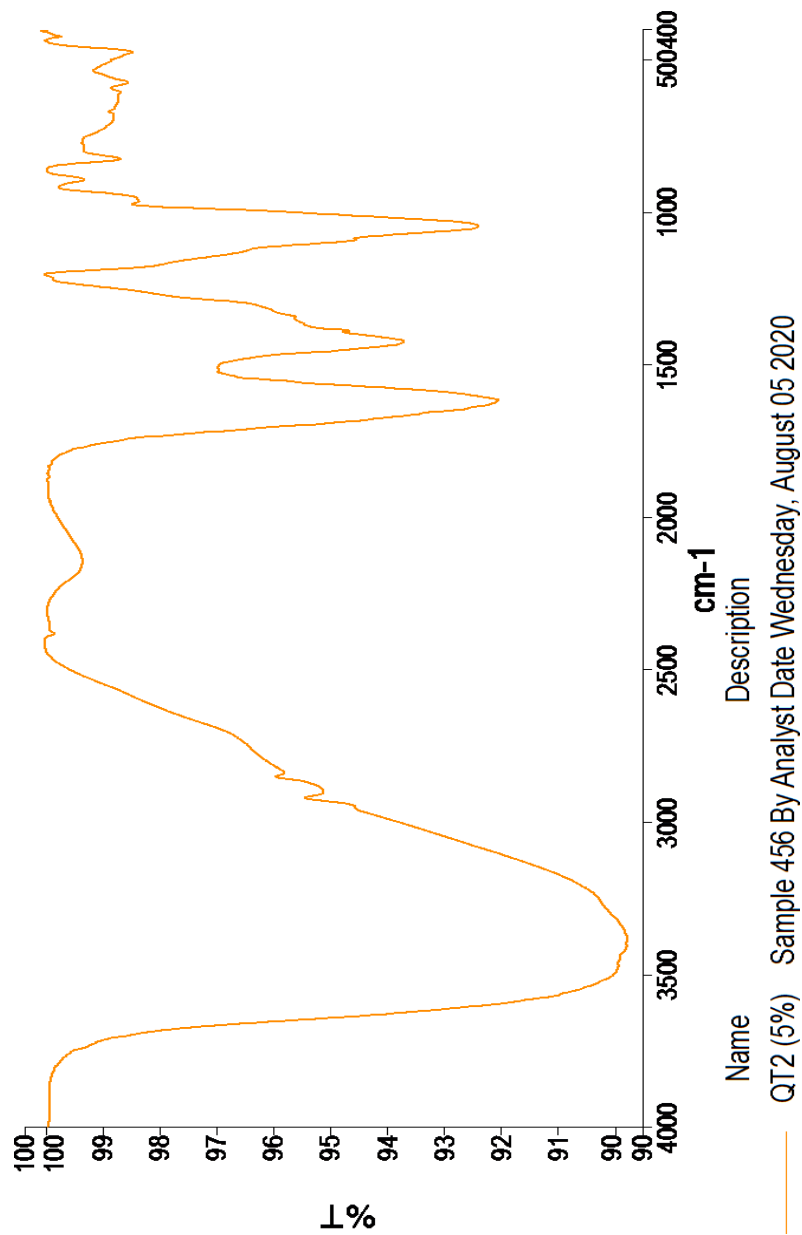


Peak Table Results

Result Spectrum

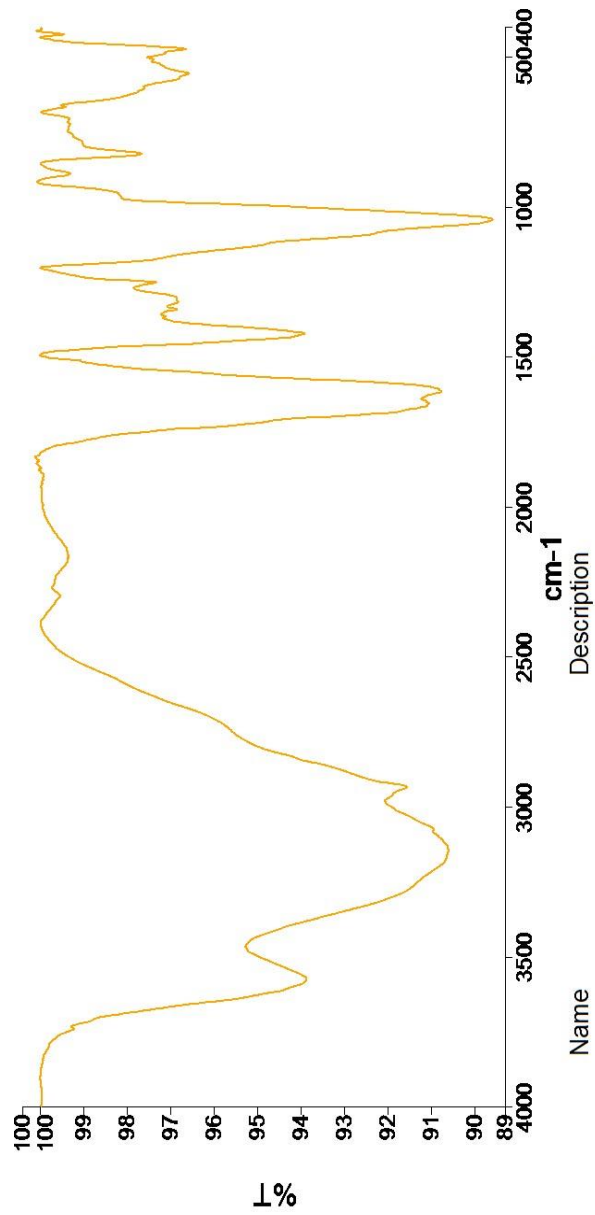


Phụ lục 36. Phổ FT-IR của 5-FU



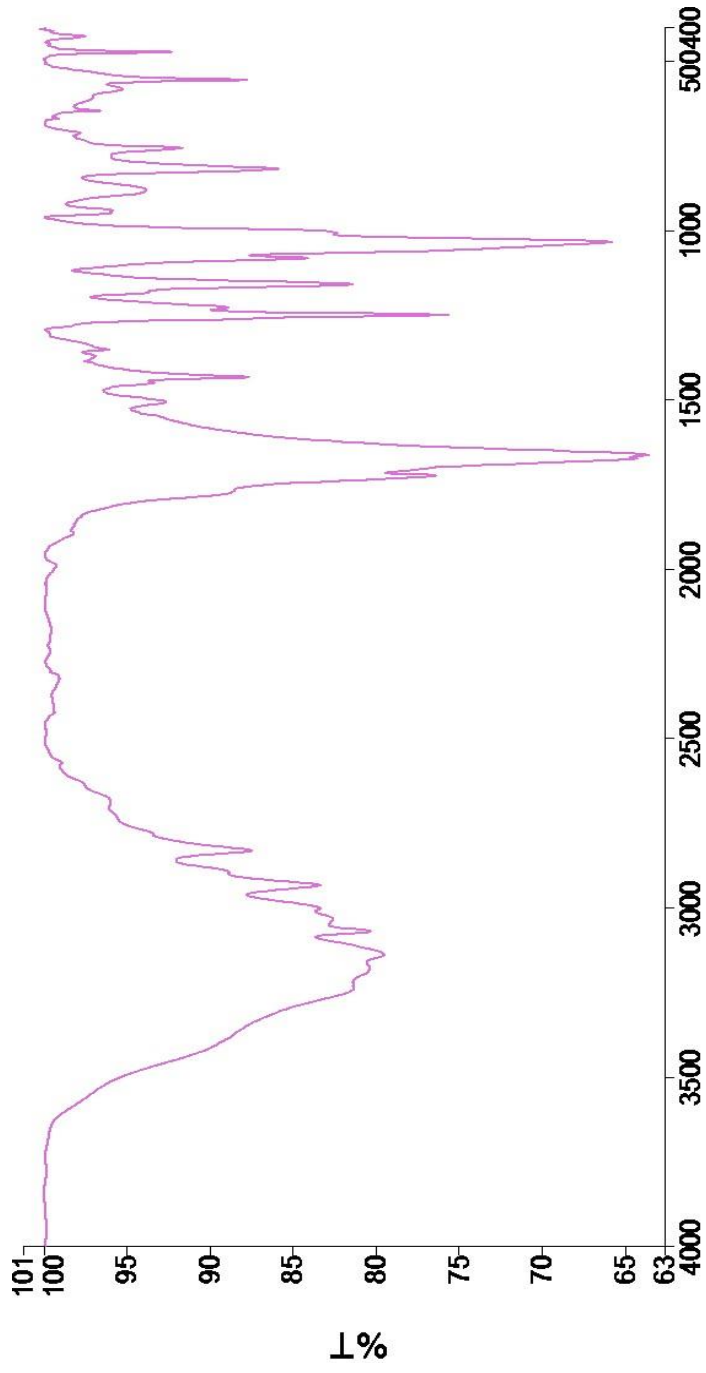
**Phụ lục 37. Phổ FT-IR của 5-FU@CD/Alg**





Name: QT2 (20%)  
Description: Sample 468 By Analyst Date Wednesday, August 05 2020

**Phụ lục 38. Phổ FT-IR của 5-FU@HPCD/AIg**



Name: DAHC-5FU  
Description: Sample 328 By Administrator Date Thursday, January 20 2022

**Phụ lục 39. Phổ FT-IR của 5-FU@TMACD/Alg**

## KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ BÀO CỦA MẪU

Người gửi mẫu: NGUYỄN CAO HIỀN

Đơn vị: Viện công nghệ Hóa học

Mã số: 117

Ngày trả kết quả: 22/12/21

### Giá trị $IC_{50}$ của các mẫu trên các dòng tế bào

Tế bào	Mẫu	Giá trị $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )				
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	TB	ĐLC
Fibroblast	R (pH7.4)	> 100 $\mu\text{g/mL}$				
	20% 5-FU					
	CD/ALG					
MCF-7	R (pH7.4)	2,46	1,84	1,77	2,02	0,38
	20% 5-FU	19,17	22,51	23,37	21,68	2,22
	CD/ALG	> 100 $\mu\text{g/mL}$				

TB: trung bình; ĐLC: độ lệch chuẩn

Trưởng Bộ môn



Nguyễn Thụy Vy

## KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ BÀO CỦA MẪU

Người gửi mẫu: NGUYỄN CAO HIỀN

Đơn vị: Viện công nghệ Hóa học

Mã số: 123

Ngày trả kết quả: 11/01/22

### Giá trị $IC_{50}$ của các mẫu trên các dòng tế bào

Tế bào	Mẫu	Giá trị $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )				
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	TB	ĐLC
Fibroblast	5-FU (pure)	> 100 $\mu\text{g/mL}$				
	R (pH acid)					
	Au/ HMDAC /5FU					
	Au/ HMDAC					
MCF-7	5-FU (pure)	1,27	1,47	1,11	1,28	0,18
	R (pH acid)	11,20	10,18	11,49	10,96	0,69
	Au/ HMDAC /5FU	> 100 $\mu\text{g/mL}$				
	Au/ HMDAC					

TB: trung bình; ĐLC: độ lệch chuẩn

Trưởng Bộ môn

PTN. SINH HỌC PHÂN TỬ  
BM. Di Truyền-Khoa Sinh học  
ĐH Khoa học Tự nhiên HCM

Nguyễn Thụy Vy

## KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ BÀO CỦA MẪU

Người gửi mẫu: **NGUYỄN CAO HIỀN**

Đơn vị: Viện công nghệ Hóa học

Mã số: 2236

Ngày trả kết quả: 17/09/22

*Phần trăm gây độc tế bào của mẫu trên các dòng tế bào ung thư vú MCF-7 và nguyên bào sợi (fibroblast) được xác định bằng phương pháp SRB*

Dòng tế bào	Mẫu	Phần trăm gây độc tế bào (%)				
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	TB	ĐLC
MCF-7	5FU 100 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	73,35	73,21	74,77	73,78	0,87
	H <sub>2</sub> O 10%	5,46	5,59	8,70	6,58	1,83
	CPT 0,05 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	56,02	56,80	57,29	56,71	0,64
Fibroblast	5FU 100 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	31,08	31,67	36,07	32,94	2,73
	H <sub>2</sub> O 10%	7,88	6,75	7,98	7,54	0,68
	CPT 2,5 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	37,34	43,88	43,28	41,50	3,61

TB: trung bình; ĐLC: độ lệch chuẩn; CPT: Camptothecine

Trưởng Bộ môn



Nguyễn Thụy Vy

**KẾT QUẢ XÁC ĐỊNH HOẠT TÍNH GÂY ĐỘC TẾ BÀO CỦA MẪU**Người gửi mẫu: **NGUYỄN CAO HIỀN**

Đơn vị: Viện CN Hoá học

Mã số: 2218

Ngày trả kết quả: 22/07/22

*Phần trăm gây độc tế bào của mẫu trên dòng tế bào ung thư vú MCF-7 và fibroblast được xác định bằng phương pháp SRB*

Dòng tế bào	Mẫu	Nồng độ (µg/mL)	Phần trăm gây độc tế bào (%)				
			Lần 1	Lần 2	Lần 3	TB	ĐLC
MCF-7	BCD/Au	100	8,64	6,49	6,92	7,35	1,13
		100	59,85	49,93	52,12	53,96	5,21
		80	61,16	64,25	60,07	61,83	2,17
	BCD/Au/5FU	40	60,85	59,02	55,31	58,39	2,82
		20	48,76	51,67	46,90	49,11	2,40
		10	35,85	39,31	35,84	37,00	2,00
		1	26,65	22,49	19,91	23,02	3,40
	TMACD/Au	100	20,45	12,41	15,96	16,27	4,03
		100	88,64	91,92	90,25	90,27	1,64
	TMACD/Au/5FU	50	87,27	86,29	79,24	84,27	4,38
		25	88,64	88,31	74,58	83,84	8,03
		10	21,06	14,86	19,07	18,33	3,16
		1	8,18	6,93	-0,71	4,80	4,81
	HPCD/Au	100	11,21	3,32	13,28	9,27	5,26
	HPCD/5FU	100	36,67	27,99	35,59	33,42	4,73
CPT	0,05	56,95	51,73	54,00	54,23	2,62	
H2O	10%	11,76	7,60	11,50	10,29	2,33	
Fibroblast	BCD/Au	100	4,42	5,21	2,48	4,04	1,41
	BCD/Au/5FU	100	7,52	16,59	8,26	10,79	5,03
	TMACD/Au	100	0,88	0,95	-4,13	-0,77	2,92
	TMACD/Au/5FU	100	39,69	38,85	44,22	40,92	2,89

PTN SHPT – BM Di truyền – ĐHKHTN

HPCD/Au	100	-19,47	-10,43	-9,09	-13,00	5,65
HPCD/5FU	100	3,54	2,37	2,89	2,93	0,59
CPT	2,5	50,00	47,88	45,70	47,86	2,15
H <sub>2</sub> O	10%	2,59	-0,96	2,02	1,22	1,90

TB, trung bình; ĐLC, độ lệch chuẩn

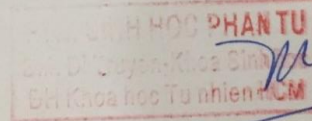
Tại nồng độ sàng lọc 100 µg/mL, mẫu 2 và 4 có giá trị phần trăm gây độc tế bào >50% nên thực hiện thí nghiệm xác định IC<sub>50</sub>.

**Giá trị IC<sub>50</sub> của mẫu**

Dòng tế bào	Mẫu	Giá trị IC <sub>50</sub> (µg/mL)				
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	TB	ĐLC
MCF-7	BCD/Au/5FU	22,19	19,80	28,98	23,66	4,76
	TMACD/Au/5FU	14,61	15,51	18,01	16,04	1,76

**Lưu ý:** mẫu có nhiễm khuẩn, do vậy các mẫu sau khi hòa tan trong nước ở nồng độ 1 mg/mL, sẽ được pha loãng trong môi trường nuôi cấy tế bào đến nồng độ thử nghiệm và lọc loại khuẩn bằng phin lọc 0,2 µm.

Trưởng Bộ môn



Nguyễn Thụy Vy

**Phụ lục 40: Kết quả gây độc tế bào của các mẫu trên các dòng tế bào MCF-7 và Fibroblast**