

BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**



**PHAN KẾ SƠN**

**NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO, ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG HOÁ -  
NHIỆT TRỊ UNG THƯ VÀ SỰ PHÂN BỐ *IN VIVO* CỦA HỆ  
DẪN THUỐC NANO ĐA CHỨC NĂNG GẮN CHẤT PHÁT  
HUỖNH QUANG HỒNG NGOẠI GẦN**

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT**

**Ngành: Vật liệu cao phân tử và tổ hợp  
Mã số: 9440125**

*Hà Nội - 2024*

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

Người hướng dẫn khoa học:

1. Người hướng dẫn 1: PGS.TS. Hà Phương Thu
2. Người hướng dẫn 2: TS. Lê Thị Thu Hương

Phản biện 1: PGS.TS. Lê Trọng Lư

Phản biện 2: PGS.TS. Phan Minh Giang

Phản biện 3: PGS.TS. Dương Thị Ly Hương

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện, họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi 09 giờ, ngày 28 tháng 9 năm 2024.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

**DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN  
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. **Ke Son Phan**, Phuong Thu Ha\*, Huu Nghi Do, Trung Anh Nguyen, Thuc Quang Bui, Hong Nam Pham, Mai Huong Le, Thi Thu Huong Le, “*Dual loading of Doxorubicin and magnetic iron oxide into PLA-TPGS nanoparticles: Design, in vitro drug release kinetics and biological effects on cancer cells*”, **ChemMedChem**, 16, 2021, 3615–25 (SCIE, Q1, IF = 3.46).

2. **Ke Son Phan**, Bich Thuy DOAN, Thi Thu Huong Le, Thi Thu Trang Mai, Thi Dieu Thuy Ung, Thuc Quang Bui, Sarah Boumati, Phuong Thu Ha\*, “*Near-Infrared Cyanine 5.5 and Doxorubicin loaded PLA-TPGS copolymer Based magnetite Nanoparticles for dual- in vivo Magnetic Resonance and Biodistribution Imaging*”, **ChemistrySelect**, 8(40), e202303580, 2023 (SCIE, Q2, IF = 2.307).

3. **Phan Kế Sơn**, Lê Thị Thu Hương, Mai Thị Thu Trang, Đỗ Hữu Nghị, Bich Thuy DOAN, Phạm Hồng Nam, Nguyễn Hoài Nam, Đồng Thị Nhâm, Tô Xuân Thắng, Vương Thị Kim Oanh, Nguyễn Hải Bình, Hà Phương Thu\*, “*Nghiên cứu chế tạo và đánh giá khả năng phân bố in vivo bằng hình ảnh huỳnh quang của hệ dẫn thuốc nano đa chức năng  $Fe_3O_4$ -Doxorubicin/Curcumin@PLA-TPGS-Cyanine 5.5*”, Hội nghị Vật lý chất rắn và Khoa học vật liệu toàn quốc lần thứ XII năm 2022, p.859-864.

4. **Phan Kế Sơn**, Hà Phương Thu\*, Lê Thị Thu Hương, Mai Thị Thu Trang, Đỗ Hữu Nghị, Bùi Thúc Quang, bằng độc quyền Sáng chế số 40854 “*Phương pháp sản xuất vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin - nano oxit sắt từ*”, được Cục Sở hữu trí tuệ cấp theo QĐ số 8527w/QĐ-SHTT ngày 17 tháng 7 năm 2024.



## MỞ ĐẦU

### 1. Tính cấp thiết của luận án

Hiện nay, việc sớm tìm ra giải pháp nhằm chẩn đoán sớm và điều trị ung thư hiệu quả là việc làm hết sức cần thiết. Trong số các phương pháp điều trị ung thư, hóa trị vẫn là phương pháp được sử dụng nhiều nhất. Tuy nhiên, liệu pháp hóa trị truyền thống gây ra nhiều tác dụng phụ cho bệnh nhân như rụng tóc, suy nhược, giảm miễn dịch cơ thể, tiêu chảy, buồn nôn,... Vì vậy việc gắn các thuốc điều trị ung thư lên các hệ mang thích hợp có thể đưa thuốc đến đúng vị trí khối u với liều lượng cần thiết luôn là thử thách lớn và cần được các nhà khoa học tập trung giải quyết. Ngoài các tác nhân hóa trị, các hạt nano oxit sắt từ ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) được sử dụng rộng rãi trong điều trị ung thư do tính chất từ tính tự nhiên của chúng với khả năng hướng đích, khả năng mang nhiều chất có hoạt tính sinh học, tác dụng nhiệt từ trị, và ứng dụng làm chất tương phản ảnh chụp cộng hưởng từ MRI.

Đồng thời, điều trị ung thư thường là quá trình tốn nhiều thời gian. Khi bệnh nhân tiếp nhận hóa trị sẽ thường phải trải qua thêm nhiều xét nghiệm để đánh giá hiệu quả tác động của thuốc. Một cách theo dõi quá trình điều trị ung thư thường được sử dụng là kỹ thuật hình ảnh quang học (optical imaging) dựa vào các chất phát huỳnh quang. Tuy nhiên, trong các quan sát tín hiệu huỳnh quang hoặc phát quang sinh học trong cơ thể sống, do các đặc điểm quang học như hấp thụ và tán xạ nên việc quan sát mô sâu rất khó khăn. Các chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần có nhiều lợi thế cho quá trình sinh học so với huỳnh quang trong phổ khả kiến, do khả năng tự phát huỳnh quang và hấp thụ của các mô sinh học ở vùng sóng này thấp hơn. Do đó tạo điều kiện thuận lợi trong quá trình theo dõi sự phân bố *in vivo* của thuốc trong quá trình điều trị nhờ hình ảnh quang học.

Từ nhận định trên cho thấy việc kết hợp thuốc hoá trị ung thư với hạt nano  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  và chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần có thể vừa giúp đưa thuốc kháng ung thư đến mô cần điều trị một cách hiệu quả, vừa theo dõi được đáp ứng điều trị của mô ung thư. Việc kết hợp các thành phần như vậy thường được thực hiện nhờ các polyme. Mặc dù, một số nghiên cứu trước đây đã chế tạo ra một số hệ dẫn thuốc đa chức năng khác nhau, tuy nhiên theo chúng tôi được biết nghiên cứu kết hợp các thành phần này còn chưa được thực hiện.

Nghiên cứu trong luận án này thiết kế một hệ dẫn thuốc nano đa chức năng có gắn tác nhân phát huỳnh quang hồng ngoại gần PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Doxorubicin-Cyanine 5.5. Trong đó, vai trò của Doxorubicin là thuốc hóa trị nhờ khả năng tham gia nhiều phản ứng của các con đường ức chế sự phát triển của tế bào ung thư. Copolyme PLA-TPGS có khả năng mang thuốc nhờ

đầu kỵ nước, vừa có khả năng tăng sự hấp thu của thuốc nhờ đầu ưa nước, làm tăng hiệu quả điều trị và làm giảm lượng thuốc cần dùng.  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ở kích cỡ nano có vai trò làm tăng khả năng mang thuốc của hệ (bề mặt nano  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  có khả năng hấp phụ tốt các phân tử thuốc Doxorubicin). Bên cạnh đó, lõi  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  với tính chất siêu thuận từ (ở kích cỡ nhất định) có khả năng tự nóng lên dưới tác động của từ trường ngoài. Điều này giúp cho hệ có thể áp dụng trong diệt tế bào ung thư bằng phương pháp nhiệt từ trị.

Trên cơ sở các phân tích kể trên, chúng tôi thực hiện luận án “**Nghiên cứu chế tạo, đánh giá tác dụng hoá trị - nhiệt trị ung thư và sự phân bố *in vivo* của hệ dẫn thuốc nano đa chức năng gắn chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần**”. Trong luận án này, chúng tôi chế tạo hệ dẫn thuốc nano đa chức năng trên cơ sở hạt nano  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  được bọc bởi copolyme PLA-TPGS, mang thuốc Doxorubicin và gắn chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần Cyanine 5.5, với 4 điểm mới sau đây:

(1) Theo dõi sự phân bố *in vivo* của hệ dẫn thuốc nano đa chức năng nhờ khả năng phát huỳnh quang trong vùng hồng ngoại gần của Cyanine 5.5. Qua đó, đánh giá được khả năng hướng đích thụ động tới vị trí khối u và đặc điểm phân bố tại các cơ quan bằng kỹ thuật hình ảnh quang học (optical bioimaging) trên mô hình chuột gây khối u đại tràng CT26.

(2) Đánh giá tác dụng hóa trị của hệ dẫn thuốc nano đa chức năng bằng kỹ thuật phát quang sinh học (Bioluminescence).

(3) Việc kết hợp tác dụng hóa trị và nhiệt từ trị mang lại hiệu quả điều trị khối u vượt trội. Đồng thời xác định cơ chế gây độc tế bào ung thư của hệ dẫn thuốc nano đa chức năng bằng kỹ thuật sàng lọc nội hàm cao (High Content Screening).

(4) Trong các nghiên cứu trước, bên cạnh việc xác định độ hồi phục  $r_1$ ,  $r_2$ , khả năng tăng độ tương phản trong chụp cộng hưởng từ MRI được xác định bằng cách định tính trên hình ảnh *in vivo*. Ở luận án này, chúng tôi định lượng tín hiệu MRI bằng phương pháp  $\%I_{0,25}$  để khẳng định sự khác biệt về khả năng tăng độ tương phản, đồng thời chứng minh được khả năng hướng đích thụ động tới vị trí khối u của hệ dẫn thuốc nano đa chức năng trên mô hình chuột gây khối u đại tràng CT26.

## 2. Mục tiêu nghiên cứu của luận án

- Chế tạo được các hệ dẫn thuốc nano đa chức năng có gắn tác nhân phát huỳnh quang hồng ngoại gần

- Đánh giá được tác dụng hóa trị, khả năng theo dõi, phát hiện sự phân bố *in vivo* của thuốc tại các mô ung thư bằng chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần, khả năng tăng độ tương phản trong chụp cộng hưởng từ hạt nhân và khả năng nhiệt từ trị của các hệ dẫn thuốc nano đa chức năng.

## 3. Các nội dung nghiên cứu chính của luận án

Luận án thực hiện các nội dung sau:

1. Nghiên cứu chế tạo hệ dẫn thuốc nano đa chức năng PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin, đặc trưng tính chất lý hóa, động học giải phóng thuốc, đánh giá độc tính và cơ chế gây độc tế bào của hệ nano thu được.

2. Nghiên cứu chế tạo hệ dẫn thuốc nano đa chức năng gắn chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin-Cyanine 5.5, đặc trưng tính chất lý hóa, động học giải phóng thuốc, đánh giá độc tính và cơ chế gây độc tế bào của hệ nano thu được.

3. Đánh giá khả năng tăng độ tương phản trong chụp cộng hưởng từ hạt nhân MRI, sự phân bố *in vivo*, tác dụng hóa trị và nhiệt từ trị của hệ dẫn thuốc nano đa chức năng gắn chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin-Cyanine 5.5.

## CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN VỀ HỆ DẪN THUỐC NANO ĐA CHỨC NĂNG TRONG CHẨN ĐOÁN VÀ ĐIỀU TRỊ UNG THƯ

### 1.1. Khái quát về hệ dẫn thuốc nano đa chức năng trong chẩn đoán, điều trị ung thư

Phương pháp điều trị ung thư hiện nay chủ yếu bao gồm phẫu thuật, sau đó là xạ trị và/hoặc hóa trị và các phương thức mới khác như liệu pháp miễn dịch, liệu pháp gen, liệu pháp nhiệt, liệu pháp quang học. Tuy nhiên, rõ ràng là mặc dù thành công ở một mức độ nhất định, cho đến nay những phương thức đơn lẻ đó khó có thể cung cấp phương pháp điều trị hoàn chỉnh do giới hạn liều lượng và khả năng kháng thuốc của tế bào ung thư đối với phương thức này. Do đó, nếu kết hợp được hai hoặc nhiều phương thức đó trên cùng một hệ đa chức năng sẽ giúp phát huy những ưu điểm và tránh những nhược điểm của chúng, và rất có thể đạt được tác dụng hiệp đồng  $1 + 1 > 2$ . Trong số các phương thức điều trị ung thư kể trên, hoá trị là một trong những liệu pháp quan trọng nhất. Hóa trị liệu có hiệu quả đối với nhiều loại ung thư trong thực tế. Tuy nhiên, hóa trị gây ra nhiều tác dụng phụ, nguyên nhân là do không có tính hướng đích, sự kháng thuốc của tế bào ung thư và các vấn đề về độ hòa tan, tính thấm và tính ổn định của thuốc hóa trị. Do đó, các hệ mang thuốc được phát triển để hạn chế những tác dụng phụ này. Thêm vào đó, các hệ mang thuốc đa chức năng, kết hợp việc mang thuốc chống ung thư với các chức năng khác cũng được phát triển. Tuy nhiên, việc hai hoặc nhiều chức năng liên quan có thể phối hợp nhịp nhàng khai thác tối đa hiệu quả trên cùng một vật liệu nano cũng là một thách thức. Với việc hiện thực hóa những điều kiện này, các vật liệu nano đa chức năng được kỳ vọng sẽ là một liệu pháp chẩn đoán và điều trị ung thư hiệu quả.

## 1.2. Polyme và các hệ nano polyme

Polyme là những hợp chất có mạch phân tử dài, có khối lượng phân tử rất lớn do nhiều mắt xích (monome) liên kết với nhau bằng liên kết đồng hóa trị. Các polyme có nhiều ứng dụng trong phát triển các hệ dẫn thuốc nano đa chức năng, đã mang lại sự thay đổi mang tính đột phá trong lĩnh vực y sinh. Hệ dẫn thuốc nano sử dụng chất mang là polyme hoặc copolyme có thể cung cấp phương pháp phân phối thuốc bền vững, có kiểm soát và hướng đích để cải thiện hiệu quả điều trị và giảm tác dụng phụ của thuốc hóa trị truyền thống. Polyme có nhiều ưu điểm ứng dụng trong hệ dẫn thuốc nano bao gồm: (1) cung cấp khả năng kiểm soát giải phóng thuốc đến vị trí đích, (2) mang lại sự ổn định cho các phân tử kém bền (ví dụ: protein, DNA, thuốc kỵ nước,...) và (3) cung cấp khả năng biến đổi các bề mặt bằng chất gắn trung gian hoặc thụ thể cho mục đích phân phối thuốc hướng đích chủ động.

Copolyme là loại polyme cấu tạo từ hai hoặc nhiều loại monome khác nhau, được hình thành bằng cách trùng hợp hỗn hợp các monome có cấu trúc hóa học khác nhau. Trong số các copolyme, PLA-TPGS, đã thu hút được nhiều sự chú ý trong ứng dụng phân phối thuốc điều trị ung thư. Copolyme PLA-TPGS là một loại copolyme lưỡng cực được sử dụng làm chất mang trong các hệ dẫn thuốc nano nhằm làm tăng khả năng sự hấp thu tế bào nhờ đặc tính cân bằng kỵ nước-ưa nước và tránh được sự đào thải của hệ thống lưới nội mô. Copolyme PLA-TPGS có thể được tổng hợp bằng phản ứng trùng hợp mở vòng hoặc liên hợp đơn giản PLA với TPGS. Copolyme thu được có thể mang lại các tính chất đặc biệt của TPGS để khắc phục những hạn chế của PLA, và đã được áp dụng rộng rãi để phân phối thuốc chống ung thư.

## 1.3. Hệ dẫn thuốc nano polyme mang $Fe_3O_4$

Trong các ứng dụng tiềm năng thì ứng dụng các hạt nano  $Fe_3O_4$  làm tác nhân tăng tương phản chụp ảnh cộng hưởng từ hạt nhân (Magnetic resonance imaging, MRI) đã sớm được phát triển thành thương phẩm. MRI là một kỹ thuật hình ảnh không xâm lấn, sử dụng sự giãn từ tính của các proton nước trong cơ thể để tạo ra hình ảnh chụp cắt lớp ba chiều. Để làm tăng độ ổn định và khả năng ứng dụng của hạt nano  $Fe_3O_4$ , các nghiên cứu đã bọc  $Fe_3O_4$  bằng các polyme tương thích sinh học như dextran, latex, polyethylene glycol, polyvinylpyrrolidone-iodine, poly(axit aspartic), ... Ngoài ra, hạt nano  $Fe_3O_4$  có tiềm năng ứng dụng nhiệt từ trị, làm tăng nhiệt độ của vùng khối u dưới tác động của từ trường xoay chiều. Để nâng cao hơn nữa hiệu quả của hệ nano đa chức năng, nhiệt từ trị thường được kết hợp cùng với hóa trị liệu. Hơn nữa, nhiệt từ trị ảnh hưởng đến tính lưu động và ổn định của màng tế bào. Nó ngăn chặn chức năng của protein xuyên màng và thụ thể bề mặt tế bào, do đó tạo điều kiện cho các hạt nano xâm nhập vào



tế bào và làm tăng chức năng của chúng. Do vậy, kết hợp tác dụng hóa trị của thuốc chống ung thư cùng với tác dụng nhiệt từ trị của  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , làm tăng độc tính của thuốc do sự hấp thu thuốc của tế bào được cải thiện và tăng độ nhạy cảm của tế bào với thuốc.

Tuy nhiên, một trong những thách thức lớn của vật liệu nano đa chức năng kết hợp hóa-nhiệt trị ung thư là đạt được sự tích lũy đồng nhất của vật liệu trong khối u sau khi tiêm. Hiệu quả điều trị có thể bị giảm do tính không đồng nhất của liều nhiệt đạt được trong khối u khi một lượng nhỏ vật liệu nano tới được vị trí khối u hoặc do sự phân bố không đồng đều của vật liệu nano trong khối u. Do vậy, khi thiết kế các vật liệu nano đa chức năng, cần nghiên cứu sâu hơn về khả năng thâm nhập và lưu giữ của vật liệu nano vào trong khối u sau khi tiêm. Để đạt được mục đích này, chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần (near-infrared, NIR) được sử dụng trong nghiên cứu của luận án như một chất đánh dấu huỳnh quang để theo dõi sự phân bố *in vivo* và đánh giá hiệu quả hướng đích tới vị trí khối u của vật liệu nano đa chức năng.

#### **1.4. Hệ dẫn thuốc nano polyme gắn chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần**

Bước sóng huỳnh quang vùng hồng ngoại gần NIR rất hữu ích cho các ứng dụng tạo hình ảnh và định lượng tín hiệu trên mô hình *in vivo*. Trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu đã phát triển các phương pháp hiệu quả để tổng hợp các hệ vật liệu mang chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần, và cải thiện tính chất quang của chúng cho các ứng dụng sinh học. Cyanine 5.5 có bước sóng hấp thu/phát xạ cực đại tại 675/690 nm, bước đầu được nghiên cứu trong hình ảnh quang học *in vivo* do độ nhiễu nền thấp. Ứng dụng trong chẩn đoán sớm ung thư, nhóm nghiên cứu của Choi và cộng sự đã sử dụng Cyanine 5.5 làm chất đánh dấu huỳnh quang trên mô hình chuột gây khối u đại tràng HT29. Cyanine 5.5 được liên hợp với nano axit hyaluronic và poly(ethylene glycol), cho thấy tín hiệu huỳnh quang tập trung tại khối u sau 1 giờ tiêm, và tiếp tục tăng đến 6 giờ sau khi tiêm, sau đó giảm dần theo thời gian. Theo thời gian, các mô khối u được phân biệt rõ ràng với các mô bình thường, có khả năng ứng dụng trong chẩn đoán sớm ung thư.

#### **Nhận xét**

Các polyme, copolyme có nhiều ứng dụng trong phát triển các hệ dẫn thuốc nano đa chức năng, có khả năng khắc phục nhiều nhược điểm của các thuốc điều trị hóa dược hiện nay. Hệ dẫn thuốc nano có các tính chất vượt trội so với các thuốc truyền thống như: tăng khả năng hấp thu chọn lọc, hướng đích thụ động nhờ hiệu ứng tăng tính thấm lưu trữ. Từ đó làm giảm độc tính và tác dụng phụ của thuốc, tăng hiệu quả chữa trị. Hạt nano  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  có khả năng ứng dụng làm tăng độ tương phản ảnh chụp cộng hưởng từ MRI và khai thác tác dụng nhiệt từ trị ung thư khi đặt trong từ trường ngoài. Các

chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần tạo điều kiện thuận lợi trong quá trình theo dõi sự phân bố *in vivo* của thuốc trong quá trình điều trị nhờ hình ảnh quang học. Điểm đặc biệt của chất phát huỳnh quang mạnh trong vùng hồng ngoại gần là cho hình ảnh huỳnh quang có ít tán xạ nền cũng như khả năng thâm nhập vào mô sâu, có thể tạo điều kiện thích hợp cho việc phát hiện, theo dõi quá trình sinh học của hệ dẫn thuốc, hứa hẹn đem lại hiệu quả cao trong việc theo dõi và chữa trị ung thư.

## CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Tổng hợp copolymer PLA-TPGS

Copolymer PLA-TPGS được tổng hợp bằng phản ứng đồng trùng hợp mở vòng của monome lactide với TPGS với sự có mặt của octoate thiếc làm chất xúc tác.

### 2.2. Tổng hợp hạt nano oxit sắt từ ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ NPs)

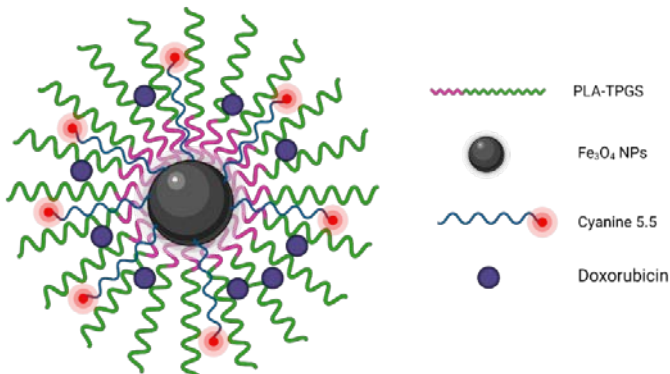
Hạt nano oxit sắt từ ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs) được tổng hợp theo phương pháp đồng kết tủa từ muối  $\text{Fe}^{2+}$  và  $\text{Fe}^{3+}$  sử dụng hệ phản ứng vi sóng Sineo – Uwave 1000.

### 2.3. Chế tạo hệ dẫn thuốc nano đa chức năng PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Doxorubicin

Thuốc điều trị ung thư Doxorubicin và  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs được nano hoá bằng phương pháp nhũ hóa bay hơi dung môi trên cơ sở copolymer PLA-TPGS.

### 2.4. Chế tạo hệ dẫn thuốc nano đa chức năng gắn chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Doxorubicin-Cyanine 5.5

Hạt  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs được chức năng hóa bề mặt bằng 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES), với sự có mặt của EDC và NHS làm chất xúc tác, sau đó được nano hóa cùng Doxorubicin bằng copolymer PLA-TPGS (hình 2.1). Các điều kiện: tỉ lệ  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  : APTES (w/w), Cyanine 5.5 :  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs (w/w), độ pH, nhiệt độ, và thời gian ở bước gắn Cyanine 5.5 được khảo sát.



**Hình 2.1.** Sơ đồ hệ dẫn thuốc nano đa chức năng PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5

## 2.5. Các phương pháp đặc trưng vật liệu

Phương pháp phổ hồng ngoại biến đổi Fourier FTIR  
 Phương pháp hiển vi điện tử quét phát xạ trường FESEM  
 Phương pháp hiển vi điện tử truyền qua TEM  
 Phương pháp phân tích nhiệt khối lượng TGA  
 Phương pháp xác định phân bố kích thước hạt và thế zeta  
 Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến UV-Vis  
 Phương pháp nhiễu xạ tia X  
 Từ kế mẫu rung VSM  
 Đốt nóng cảm ứng từ MIH

## 2.6. Đánh giá động học và cơ chế giải phóng thuốc *in vitro*

Quá trình giải phóng thuốc Doxorubicin từ hệ dẫn thuốc nano đa chức năng được nghiên cứu tại các điều kiện khác nhau, gồm môi trường sinh lý (pH 7,4), và môi trường ngoại bào khối u (pH 5,0 và pH 6,5). Cơ chế giải phóng thuốc được xác định qua sáu mô hình động học khác nhau, gồm các mô hình động học bậc 0 (Zero-Order), Higuchi, bậc 1 (First-Order), Weibull, Hixson-Crowell và Korsmeyer-Peppas.

## 2.7. Đánh giá hiệu quả và cơ chế gây độc tế bào ung thư của hệ dẫn nano trên các dòng tế bào thử nghiệm

Hoạt tính gây độc hay ức chế sự tăng sinh tế bào của các hệ nano được đánh giá qua khả năng ức chế enzyme oxidoreductase phụ thuộc NAD(P)H của tế bào. Enzyme này xúc tác phản ứng khử thuốc nhuộm tetrazolium MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; nồng độ cuối 5 mg/mL] thành sản phẩm formazan không hoà tan (có màu xanh-tím).

Đánh giá hoạt tính kháng phân bào bằng kỹ thuật phân tích hình ảnh huỳnh quang nội hàm cao HCS (High content screening).

## 2.8. Đánh giá khả năng tăng độ tương phản ảnh cộng hưởng từ MRI

Độ hồi phục ở 7 T của các hệ nano được thực hiện bằng cách chụp MRI ở chế độ trọng T1 và T2 bằng thiết bị cộng hưởng từ 7T (300WB, Bruker, Avance II, Wissembourg, Pháp). Tín hiệu MRI *in vivo* trên hình ảnh MRI trọng T2\* (ghi theo chuỗi FLASH để định lượng T2 hiệu quả) được định lượng bằng phương pháp %I<sub>0,25</sub>.

## 2.9. Đánh giá sự phân bố *in vivo* của hệ dẫn thuốc nano đa chức năng

Sự phân bố *in vivo* của hệ nano được đánh giá bằng phương pháp hình ảnh quang học (optical imaging) trên mô hình chuột gây khối u trực tràng CT26, bằng hệ thống Photon IMAGER Optima, Biospace Lab, Pháp.

## 2.10. Đánh giá tác dụng hóa trị bằng kỹ thuật bioluminescence

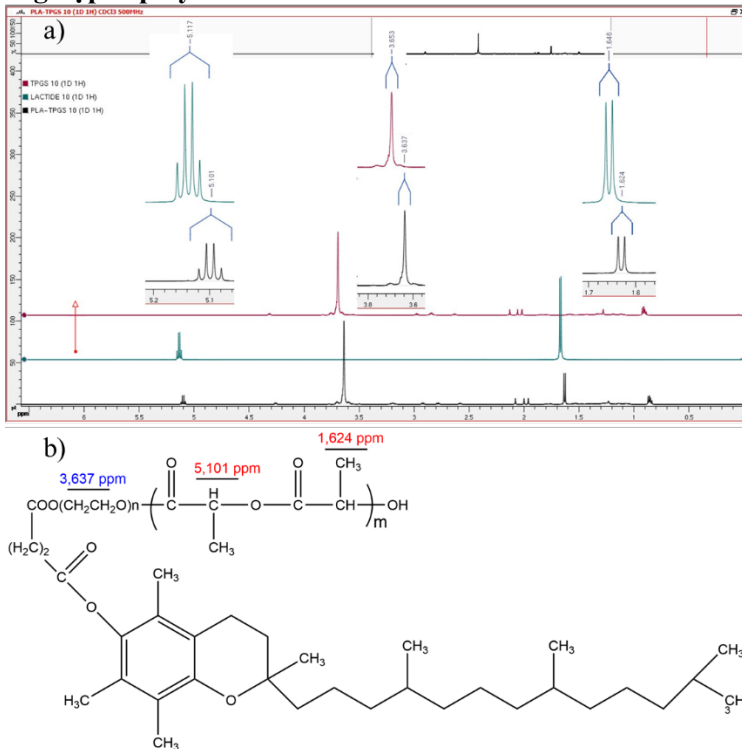
Tác dụng hóa trị của hệ dẫn thuốc nano đa chức năng được đánh giá qua mức độ biểu hiện gen luciferase của khối u, dựa trên nguyên lý của kỹ thuật phát quang sinh học (bioluminescence).

## 2.11. Đánh giá tác dụng nhiệt từ trị

Chuột được tiêm trực tiếp vật liệu nano vào khối u với liều 150  $\mu\text{L}/\text{con}$ . Sau đó, 40 phút tiến hành thử nghiệm nhiệt từ trị để đảm bảo độ phân tán hạt trong khối u. Chiếu từ trường (4 lần, mỗi lần cách nhau 72 giờ) trên hệ RDO, model HFI (Viện Khoa học vật liệu) với cường độ 150 Oe, tần số 450 kHz trong thời gian 30 phút. Cân nặng, kích thước, hình ảnh khối u được ghi lại ngay trước khi điều trị, nhằm đánh giá ảnh hưởng của nhiệt từ trị lên sự phát triển của khối u cũng như thể trạng chuột.

## CHƯƠNG 3. HỆ DẪN THUỐC NANO ĐA CHỨC NĂNG PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -DOXORUBICIN

### 3.1. Tổng hợp copolymer PLA-TPGS



**Hình 3.1.** (a) Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của Lactide, TPGS và copolymer PLA-TPGS, (b) cấu trúc phân tử của copolymer PLA-TPGS

Hình 3.1a là phổ cộng hưởng từ hạt nhân  $^1\text{H-NMR}$  trong  $\text{CDCl}_3$  của copolymer PLA-TPGS. Các tín hiệu ở 5,117 và 1,646 ppm lần lượt tương ứng với các proton  $-\text{CH}$  và proton methyl  $-\text{CH}_3$  của monomer Lactide. Tín hiệu ở 3,653 ppm trong phổ TPGS của proton  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ . Ba vân phổ này tương

ứng dịch chuyển sang 5,101; 1,624 và 3,637 ppm trong phổ của copolymer PLA-TPGS. Kết quả này cho thấy copolymer PLA-TPGS đã được tổng hợp và tinh chế thành công. Cấu trúc phân tử của copolymer PLA-TPGS được trình bày trong hình 3.1b.

### 3.2. Chế tạo hệ dẫn thuốc nano đa chức năng PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin

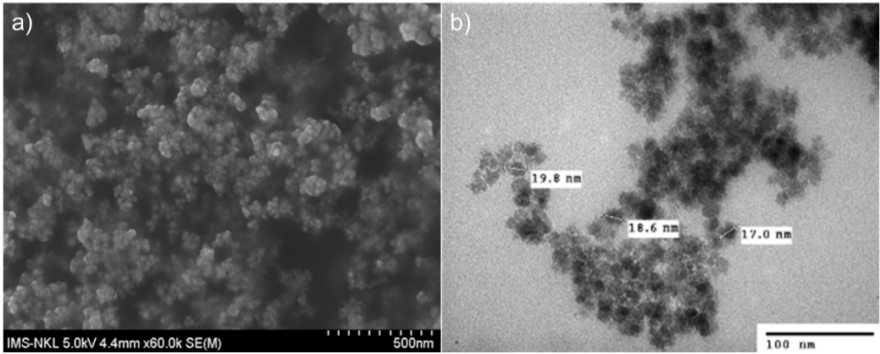
Hệ dẫn thuốc nano đa chức năng mang đồng thời Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs và thuốc Doxorubicin (PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin, MNDDS) với tỉ lệ Dox : Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs w/w = 1:1 là tối ưu về kích thước, độ bền, khả năng mang thuốc và hiệu suất nano hóa thuốc Doxorubicin (bảng 3.1).

**Bảng 3.1.** Khảo sát tỷ lệ Dox : Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs (w/w) (n=3, mean ± SD)

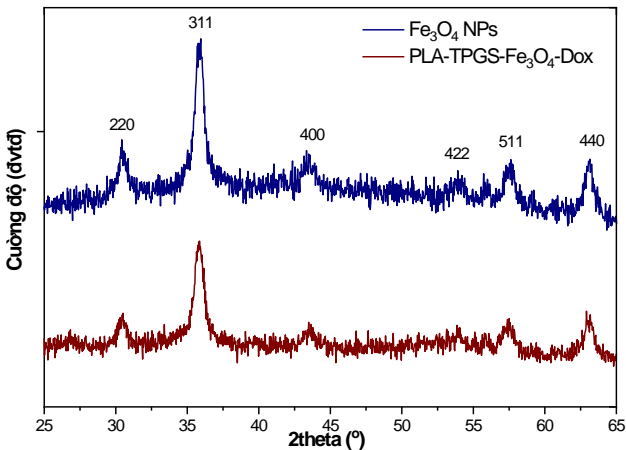
Ký hiệu mẫu	Tỷ lệ Dox : Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NPs (w/w)	Kích thước thủy động (nm)	Polydispersity index (PDI)	Thế Zeta trong nước cất (mV)	Thế Zeta trong đệm PBS (mV)	Khả năng mang thuốc Dox (%)	Hiệu suất nano hoá (%)
MNDDS 1	1 : 5	217,5 ± 4,8	0,19 ± 0,01	-28,7± 0,9	-17,5± 1,1	7,97 ± 0,33	86,49 ± 0,36
MNDDS 2	2 : 5	172,3 ± 2,0	0,41 ± 0,04	-22,6± 1,0	-19,3± 0,8	13,44 ± 0,38	77,67 ± 0,90
MNDDS 3	1 : 2	167,6 ± 2,6	0,39 ± 0,01	-29,6± 1,3	-21,1± 1,5	18,13 ± 0,78	88,64 ± 0,45
MNDDS 4	1 : 1	147,5 ± 1,2	0,15 ± 0,01	-41,1± 0,9	-28,4± 1,3	31,28 ± 1,64	91,05 ± 0,85

### 3.3. Đặc trưng tính chất lý, hóa

Các tiểu phân nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin MNDDS4 có dạng hình cầu với đường kính đều khoảng 20 nm (Hình 3.2a). Trên hình ảnh hiển vi điện tử truyền qua (TEM), hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin có dạng gần như hình cầu ở phạm vi kích thước từ 17,0 đến 19,8 nm (Hình 3.2b). Các đỉnh nhiễu xạ tia X (XRD) (Hình 3.3) đối với Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs xuất hiện ở 2θ = 30,74°, 35,86°, 43,38°, 54,04°, 57,3° và 63,02°, phù hợp với các mặt phẳng (220), (311), (400), (422), (511) và (440) đặc trưng cho cấu trúc Spinel đơn pha của hạt nano Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Sự có mặt của copolymer PLA-TPGS và Doxorubicin trong hệ nano MNDDS chỉ làm giảm cường độ của các đỉnh nhiễu xạ chứ không làm thay đổi vị trí của các đỉnh nhiễu xạ so với các hạt nano Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Kích thước tinh thể trung bình của Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs và hệ nano MNDDS được tính toán thông qua công thức Scherrer lần lượt là khoảng 11,55 nm và 10,72 nm.



**Hình 3.2.** Ảnh (a) FESEM và (b) TEM của hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin



**Hình 3.3.** Giải đồ nhiễu xạ tia X của hạt nano oxit sắt từ và hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin

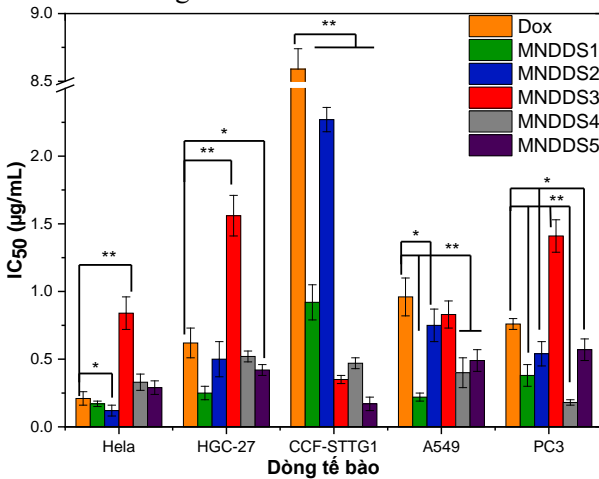
Từ độ bão hòa ( $M_s$ ) của Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs ở 11 kOe là 66,1 emu/g. Từ độ của hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin ở các tỉ lệ w/w Dox : Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs khác nhau đã giảm so với Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs do ảnh hưởng của copolyme PLA-TPGS bao bọc Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs và phân tử thuốc Doxorubicin khi được nano hoá đồng thời trên hệ nano. Cả 5 hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin (MNDDS) ở các tỉ lệ w/w Dox : Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs khác nhau đều cho thấy khả năng sinh nhiệt tốt trong điều trị ung thư (đạt vùng  $T_{max} > 50$  °C ở 1500s) dưới tác dụng của từ trường ngoài ở cường độ 100 Oe, tần số 340 kHz. Như vậy, hiệu ứng đốt nóng cảm ứng từ của hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin có khả năng ứng dụng trong liệu pháp nhiệt trị liệu khối u.

### 3.4. Đánh giá động học và cơ chế giải phóng thuốc *in vitro*

Quá trình giải phóng *in vitro* của Doxorubicin từ hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin MNDDS4 phụ thuộc vào độ pH của môi trường, so với Doxorubicin tự do. Hơn 95% Doxorubicin tự do được giải phóng ở pH 7,4 sau 1 giờ đầu tiên ở cả hai môi trường pH. Ngược lại, sự giải phóng Doxorubicin từ hệ nano cho thấy động học giải phóng hai pha. Pha thứ nhất liên quan đến việc giải phóng nhanh các phân tử thuốc diễn ra trong 12 giờ đầu tiên, trong khi giai đoạn thứ hai là giai đoạn giải phóng bền vững trong những giờ tiếp theo. Thuốc Doxorubicin được giải phóng từ hệ nano theo mô hình động học Weibull, phụ thuộc vào pH. Trong điều kiện pH axit, Doxorubicin được giải phóng theo cơ chế khuếch tán Fickian cổ điển. Trong môi trường pH sinh lý 7,4, Doxorubicin được giải phóng do tác động đồng thời của cơ chế trương nở và ăn mòn của copolyme PLA-TPGS.

### 3.5. Đánh giá tác dụng và cơ chế gây độc tế bào ung thư

Tất cả năm hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin đều có hoạt tính gây độc tế bào cao với giá trị IC<sub>50</sub> thấp, dưới 2 µg/mL (Hình 3.4). Hầu hết các hệ nano MNDDS đều có giá trị IC<sub>50</sub> thấp hơn Doxorubicin tự do, ngoại trừ hệ MNDDS3 trên các dòng tế bào HeLa, HGC-27 và PC3. Ngoài ra, sự khác biệt rõ rệt về giá trị IC<sub>50</sub> giữa các hệ nano MNDDS và Doxorubicin tự do được thể hiện trên dòng tế bào CCF-STTG1 ( $p < 0,001$ ). Những kết quả này cho thấy hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin có tiềm năng trong việc điều trị khối u não ở người.



**Hình 3.4.** Đánh giá độc tính tế bào *in vitro* của các hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin và Doxorubicin tự do (\*\* $p < 0,001$ ; và \* $p < 0,05$ ,  $n = 3$ )

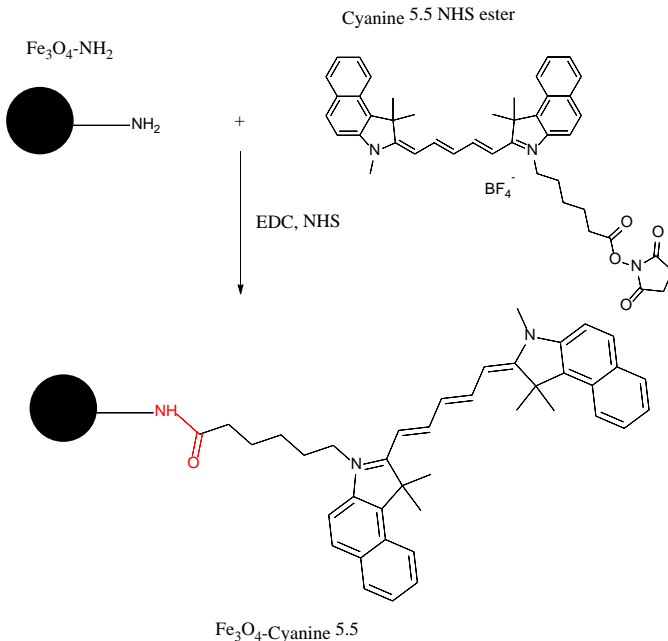
Để đánh giá cơ chế gây độc tế bào ung thư của hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin, khả năng bắt giữ chu kỳ tế bào được đánh giá nhờ vào

kỹ thuật sàng lọc nội hàm cao (High-content screening, HCS). Sự phân bố chu kỳ tế bào ở pha G0/G1 của tế bào HeLa được xử lý bằng Dox tự do là 28,68%, trong khi giá trị này ở nhóm đối chứng âm là 62,46%. Các hệ nano PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Doxorubicin (MNDDS) ở các tỉ lệ w/w Dox :  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs khác nhau dẫn đến những thay đổi khác nhau trong cấu hình chu kỳ tế bào. Có sự gia tăng số lượng tế bào ở pha G0/G1 của mẫu được xử lý MNDDS1 (tỷ lệ  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  cao nhất) so với đối chứng. Trong khi đó, đối với 4 hệ MNDDS còn lại, quan sát thấy nhiều tế bào trong pha G2/M hơn so với đối chứng âm.

## CHƯƠNG 4. HỆ DẪN THUỐC NANO ĐA CHỨC NĂNG GẮN CHẤT PHÁT HUỖNH QUANG HỒNG NGOẠI GẮN PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Doxorubicin-Cyanine 5.5

### 4.1. Khảo sát các điều kiện chế tạo hệ dẫn thuốc nano đa chức năng PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Doxorubicin-Cyanine 5.5

Hệ dẫn thuốc nano đa chức năng PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5 có khả năng phát huỳnh quang tốt, với các điều kiện như sau: tỉ lệ  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs : APTES (w/w) = 10 : 3; tỉ lệ Cyanine 5.5 :  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs (w/w) = 0,05 : 1; nhiệt độ 70 °C; độ pH 8,5; thời gian phản ứng 5 giờ (Hình 4.1).

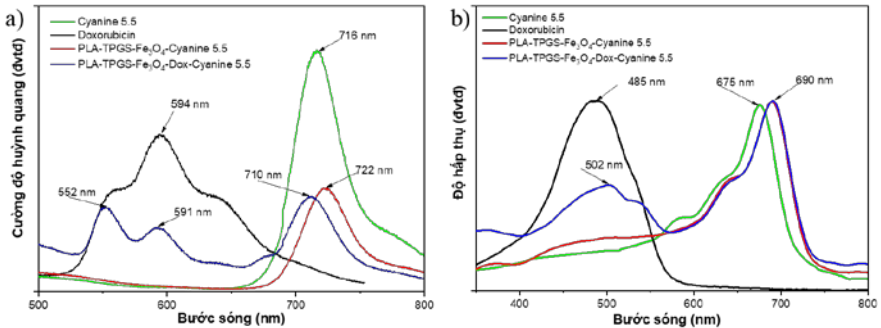


**Hình 4.1.** Sơ đồ phản ứng gắn Cyanine 5.5 lên bề mặt  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -NH<sub>2</sub>



## 4.2. Đặc trưng tính chất lý, hóa

Phổ huỳnh quang trên hình 4.2a cho thấy các cực đại phát xạ chính ở khoảng 716 nm và 594 nm tương ứng với Cyanine 5.5 và Doxorubicin. Sau khi gắn Cyanine 5.5, đỉnh phát xạ đặc trưng của Cyanine 5.5 trong hệ nano PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Cyanine 5.5 bị dịch chuyển đỏ (redshift) 6 nm so với Cyanine 5.5 tự do. Sự dịch chuyển đỏ có thể được giải thích bằng sự gia tăng kích thước hạt nano và sự tương tác giữa các hạt nano oxit sắt từ  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  và Cyanine 5.5 sau khi gắn, được bao bọc trong copolyme PLA-TPGS. Trong khi đó, sự dịch chuyển xanh (blueshift) trên phổ huỳnh quang của hệ nano PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5 có thể là do sự tương tác giữa Dox và các thành phần Cyanine 5.5,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs, và copolyme PLA-TPGS trong hệ nano. Do những tương tác này, cường độ phát huỳnh quang của cả hai hệ nano PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Cyanine 5.5 và PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5 đều thấp hơn so với mẫu Cyanine 5.5 và Doxorubicin tự do. Hơn nữa, cường độ phát huỳnh quang thấp hơn một phần do ảnh hưởng của lõi  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs gây ra hiệu ứng dập tắt huỳnh quang.

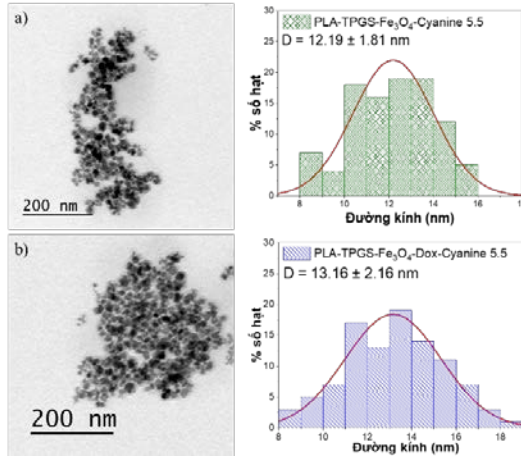


**Hình 4.2.** (a) Phổ huỳnh quang và (b) phổ UV-vis của

hệ nano PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5 và các chất thành phần

Phổ hấp thụ UV-Vis của các hệ nano trước và sau khi gắn Cyanine 5.5 và mang thuốc Doxorubicin được trình bày trên Hình 4.2b. Cyanine 5.5 tự do có cực đại hấp thụ điển hình ở bước sóng 675 nm. Điều thú vị là cực đại hấp thụ của cả hệ nano PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Cyanine 5.5 và PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5 đều ở vùng hồng ngoại gần với độ dịch chuyển đỏ 15 nm từ 675 đến 690 nm. Sự dịch chuyển đỏ trong phổ hấp thụ của hệ nano có thể được giải thích bằng sự hình thành liên kết NH-CO giữa phân tử Cyanine 5.5 và nhóm  $\text{NH}_2$  trên bề mặt  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs sau khi chức năng hoá bằng APTES, đặt phân tử Cyanine 5.5 vào môi trường kỵ nước hơn do tính chất kỵ nước của  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs và chuỗi PLA của copolyme PLA-TPGS.

Hình 4.3 thể hiện ảnh TEM của các hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Cyanine 5.5 và PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Dox-Cyanine 5.5. Có thể thấy rằng các hạt nano có dạng hình cầu và đơn phân tán mà không có sự kết tập tiểu phân lớn. Kích thước hạt khoảng 10 - 15 nm với sự phân bố kích thước hẹp. Kích thước trung bình của các hạt nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Cyanine 5.5 và PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Dox-Cyanine 5.5 được đo từ ảnh TEM bằng phần mềm ImageJ lần lượt là  $12,19 \pm 1,81$  nm và  $13,16 \pm 2,16$  nm.

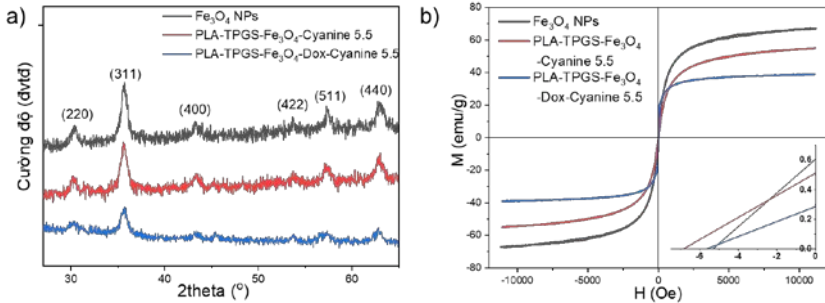


**Hình 4.3.** Ảnh TEM và biểu đồ phân bố kích thước của hệ nano (a) PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Cyanine 5.5 và (b) PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Dox-Cyanine 5.5

Giản đồ XRD của hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Dox-Cyanine 5.5 và PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Cyanine 5.5 (Hình 4.4a) cho thấy các pic đặc trưng quan sát được ở  $30,34^\circ$  (220),  $35,71^\circ$  (311),  $43,22^\circ$  (400),  $53,65^\circ$  (422),  $57,24^\circ$  (511) và  $63,09^\circ$  (440) phù hợp với pha Spinel lập phương nghịch đảo của Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (magnetit, JCPDS số 85-1436), chứng tỏ rằng sự hình thành hệ PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Dox-Cyanine 5.5 và PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Cyanine 5.5 không ảnh hưởng đến cấu trúc tinh thể của hạt lõi nano từ Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Kết quả này dẫn đến việc bảo toàn các tính chất từ của hệ nano, điều này có thể thấy rõ ở các kết quả nghiên cứu tiếp theo.

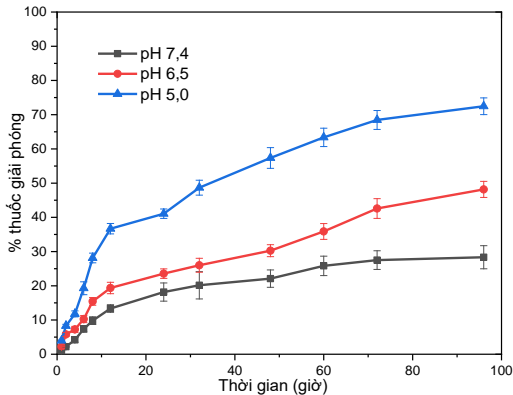
Từ độ bão hòa ( $M_S$ ) là khoảng 67,4 emu/g đối với hạt nano Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> ở nhiệt độ phòng. Tuy nhiên, từ độ bão hòa của Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs sau khi được phủ bởi copolyme PLA-TPGS trong hệ dẫn thuốc nano đa chức năng đã giảm đáng kể. Hình 4.4b cho thấy các giá trị từ độ bão hòa của các hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Cyanine 5.5 và PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Dox-Cyanine 5.5 lần lượt là 54,6 và 38,6 emu/g. Giá trị  $M_S$  thấp hơn của cả hai hệ nano là do các thành phần copolyme hợp PLA-TPGS, Cyanine 5.5, và Doxorubicin là các chất

không từ tính, như vậy tổng momen từ trên một đơn vị khối lượng giảm dần đến giảm từ độ bão hòa.



**Hình 4.4.** (a) Giải đồ XRD và (b) đường cong từ trễ của Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, các hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Cyanine 5.5 và PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Dox-Cyanine 5.5 ở 300 K.

### 4.3. Đánh giá động học giải phóng thuốc *in vitro*

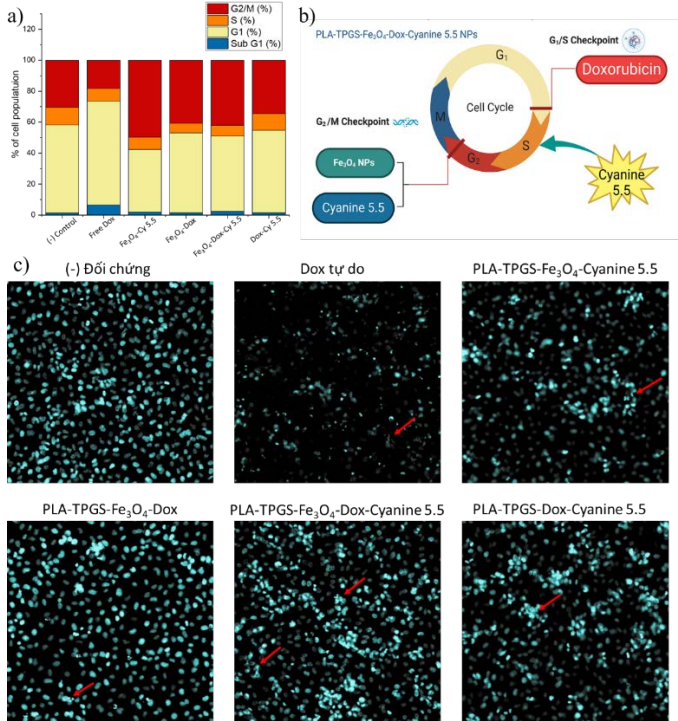


**Hình 4.5.** Động học giải phóng thuốc *in vitro* của Doxorubicin từ PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Dox-Cyanine 5.5 trong các dung dịch pH 7,4, 6,5 và 5,0

Động học giải phóng thuốc cho thấy rõ ràng sự giải phóng Dox phụ thuộc vào độ pH từ hệ nano này (Hình 4.5). Sự giải phóng Dox ở pH sinh lý rất chậm, với mức giải phóng ban đầu khoảng 9% trong 8 giờ đầu tiên và chỉ giải phóng 28,33% trong 96 giờ. Tốc độ giải phóng được chất tăng khi giá trị pH giảm. Tốc độ giải phóng được chất ở pH 5,0 và 6,5 tăng rõ rệt hơn so với pH 7,4. 48% Doxorubicin được giải phóng ở pH 6,5 trong vòng 96 giờ và tăng lên 72,47% ở pH 5,0. Kết quả này cho thấy rằng hầu hết Doxorubicin được nano hóa trong hệ dẫn thuốc nano đa chức năng giải phóng chậm ở pH 7,4; có khả năng giữ ổn định tương đối trong huyết tương sau khi tiêm, làm giảm đáng kể khả năng tác dụng phụ toàn thân lên các mô khỏe mạnh. Ngược

lại, sự giải phóng Dox nhanh hơn sẽ xảy ra sau khi hệ thống nano xâm nhập vào khối u, do độ pH thấp hơn nhiều (5,0 đến 6,5) so với pH sinh lý.

#### 4.4. Đánh giá tác dụng và cơ chế gây độc tế bào ung thư



**Hình 4.6.** (a) Phân bố chu kỳ tế bào, (b) Sơ đồ minh họa cơ chế gây độc tế bào của từng thành phần Doxorubicin, Cyanine 5.5 và Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>; (c) Chụp ảnh đồng tiêu hệ nano trên dòng tế bào CCF-SSTG1 (độ phóng đại 20 lần, camera sCMOS). Mũi tên màu đỏ cho thấy các tế bào được cảm ứng để trải qua quá trình apoptosis.

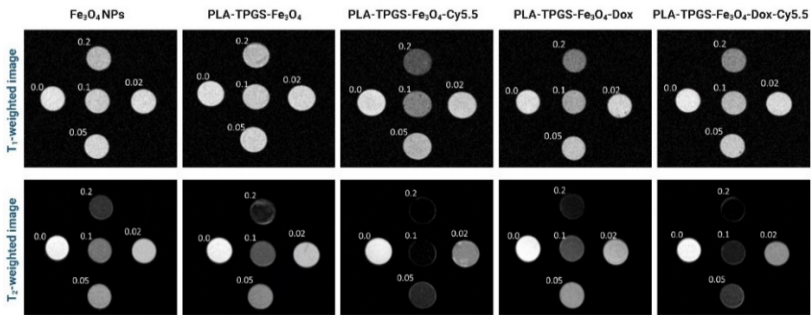
Vai trò gây độc tế bào của các hạt nano Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Doxorubicin và Cyanine 5.5 trong các hệ nano bằng kỹ thuật đo tế bào định lượng, còn gọi là phân tích sàng lọc nội hàm cao (High-content screening, HCS). Hình 4.6 cho thấy Dox tự do đã bắt giữ chu kỳ tế bào trong giai đoạn G1 của tế bào ung thư biểu mô não (CCF-SSTG1) tăng 67,02%. Sự kết hợp của Cyanine 5.5 và Dox trong hệ nano PLA-TPGS-Dox-Cyanine 5.5 đã làm giảm số lượng tế bào trong pha G1 xuống 53,23% và tăng số lượng tế bào trong pha G2/M lên 34,44%. Ngược lại, sự phân bố chu kỳ tế bào ở pha G2/M của tế bào CCF-SSTG1 được xử lý bằng PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Cyanine 5.5 là 49,69%, trong khi ở nhóm đối chứng (-) là 30,5%. So với nhóm đối chứng,

hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Dox-Cyanine 5.5 làm tăng tỷ lệ tế bào ở pha G2/M cao hơn hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Dox, với tỷ lệ lần lượt là 42,12% và 40,79%. Như vậy, kết quả cho thấy các hạt nano Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> và Cyanine 5.5 có tác dụng ức chế sự phát triển của tế bào, gây ra sự ngừng chu kỳ tế bào ở pha G2/M đối với các tế bào ung thư biểu mô não. Hình 4.6c cho thấy tất cả các hệ nano đều gây ra apoptosis trong các tế bào CCF-STTG1 (mũi tên màu đỏ), cho thấy sự hiện diện của các tế bào chết. Những kết quả đầy hứa hẹn này xác nhận khả năng thâm nhập tế bào hiệu quả của hệ nano đa chức năng.

## CHƯƠNG 5. ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG TĂNG ĐỘ TƯƠNG PHẢN TRONG CHỤP CỘNG HƯỞNG TỪ HẠT NHÂN, SỰ PHÂN BỐ *IN VIVO*, TÁC DỤNG HÓA TRỊ VÀ NHIỆT TỬ TRỊ CỦA HỆ DẪN THUỐC NANO ĐA CHỨC NĂNG GẮN CHẤT PHÁT HUỖNH QUANG HỒNG NGOẠI GẦN

### 5.1. Đánh giá khả năng tăng độ tương phản trong chụp cộng hưởng từ hạt nhân MRI

Một trong những tiềm năng ứng dụng quan trọng của hạt nano Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> là khả năng tăng độ tương phản ảnh chụp cộng hưởng từ MRI. Vấn đề đặt ra là khi kết hợp Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> trong một hệ nano đa chức năng cùng với tác nhân hóa trị Doxorubicin (Dox), chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần, và được bọc bởi copolyme PLA-TPGS, thì khả năng tăng độ tương phản ảnh MRI có còn hiệu quả và khả năng ứng dụng hay không. Về lý thuyết, để hạt nano Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> hoạt động như một chất tương phản MRI thành công, cần phải có sự trao đổi hiệu quả giữa nước hoặc các thành phần polyme. Do đó, khả năng tăng cường độ tương phản MRI của hạt nano Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> và các hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> có hoặc không có Dox và Cyanine 5.5 trước hết được đánh giá *in vitro* trên thiết bị cộng hưởng từ MRI 7 T ở nhiệt độ phòng.

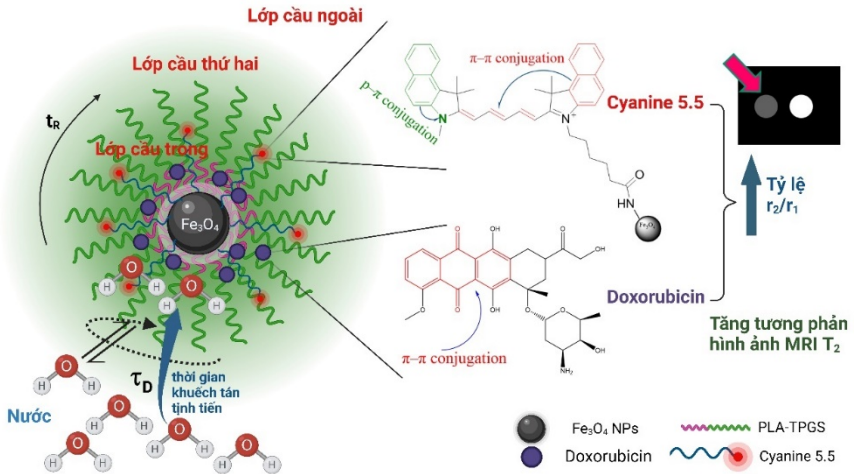


**Hình 5.1.** Hình ảnh chụp cộng hưởng từ MRI của các hệ nano theo chế độ trọng T1 và trọng T2 ở các nồng độ khác nhau của Fe

Hình 5.1 là ảnh cộng hưởng từ của các hệ nano  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Cyanine 5.5, PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox, và PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5 ở các nồng độ: 0,02 mM, 0,05 mM, 0,1 mM, và 0,2 mM (tính cho nguyên tố Fe) theo chế độ trọng T1 (trái), T2 (phải). Có thể thấy rõ tín hiệu tối tăng dần theo nồng độ Fe trong các hệ nano có trong các giếng so với đối chứng agarose 1% (giếng 0). Bảng 5.1 cho thấy tỷ lệ  $r_2/r_1$  được xác định bằng thực nghiệm theo thứ tự PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5 (375,9) > PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Cyanine 5.5 (325,4) > PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox (302,1). Những kết quả thú vị này cho thấy cấu trúc hóa học của Cyanine 5.5 và Doxorubicin góp phần đáng kể vào việc tăng cường khả năng hồi phục  $T_2$  của hạt nano  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , cơ chế được mô tả trong hình 5.2.

**Bảng 5.1.** Giá trị độ hồi phục  $r_1$ ,  $r_2$  và tỷ số  $r_2/r_1$

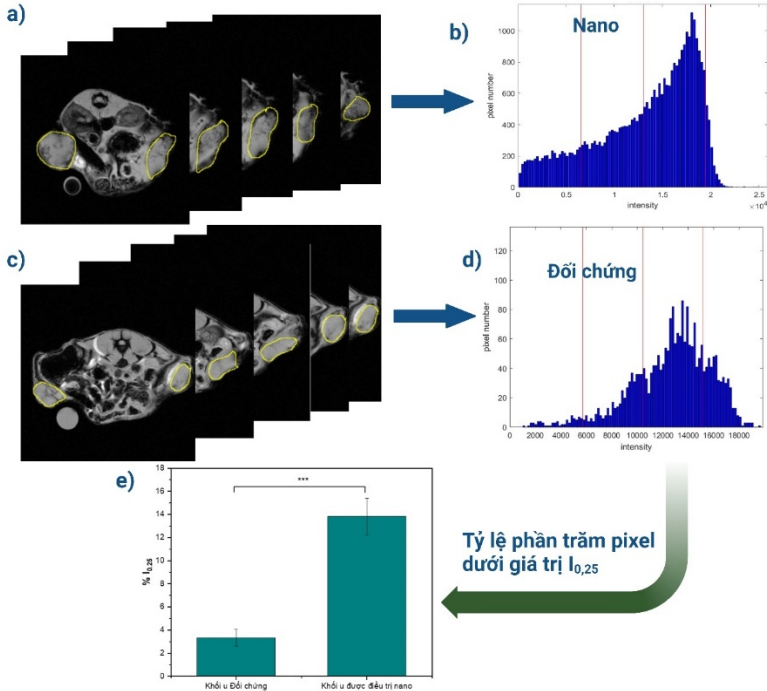
Mẫu	$r_2$ ( $\text{s}^{-1} \text{mM}^{-1}$ )	$r_1$ ( $\text{s}^{-1} \text{mM}^{-1}$ )	$r_2/r_1$
$\text{Fe}_3\text{O}_4$ NPs	198,88	0,9725	204,5
PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$	237,13	0,8717	272,0
PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Cyanine 5.5	249,92	0,768	325,4
PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox	282,21	0,9343	302,1
PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5	305,83	0,8135	375,9



**Hình 5.2.** Cơ chế ảnh hưởng của Doxorubicin và Cyanine 5.5 đến khả năng tương phản ảnh MRI của hệ nano đa chức năng

Trong luận án này, bên cạnh việc đánh giá độ tương phản ảnh MRI *in vivo*, chúng tôi phân tích sâu hơn để đánh giá hiệu quả hướng đích thụ động trong khối u đại tràng CT26 bằng cách định lượng tín hiệu trên hình ảnh MRI trọng  $T_2^*$ , sử dụng phương pháp xử lý  $\%I_{0,25}$ . Các vùng quan tâm (ROI) được vẽ trên từng lát cắt của khối u trên hình ảnh MRI (Hình 5.3a, c) và thu

được phân bố cường độ pixel cho từng lát cắt. Tổng hợp các đồ thị phân bố cường độ pixel này đưa ra phân bố cường độ pixel duy nhất cho mỗi khối u như trong Hình 5.3b, d. Hình 5.3e cho thấy tỷ lệ phần trăm pixel dưới  $I_{0,25}$  có sự khác biệt đáng kể ( $p < 0,001$ ) giữa chuột không được tiêm và chuột sau 4h tiêm vật liệu nano, tương ứng là 3,35 và 13,82%. Điều này phản ánh sự tích lũy thụ động hiệu quả của vật liệu nano trong các khối u này.

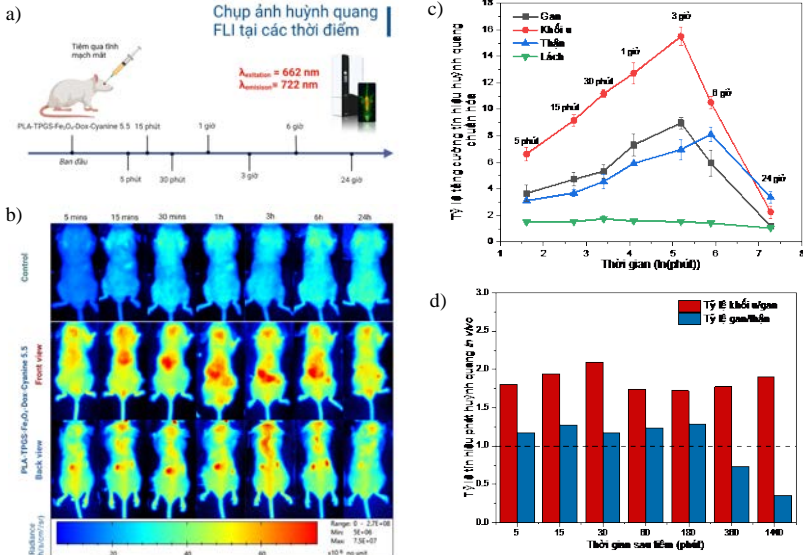


**Hình 5.3.** Phương pháp  $\%I_{0,25}$  xử lý dữ liệu từ hình ảnh MRI với chế độ chụp trọng T2\* để đánh giá sự tích lũy *in vivo* của hệ nano PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5 trong các khối u. a) Hình ảnh MRI ở chuột sau 4 giờ tiêm; b) Phân bố cường độ MRI liên quan đến khối u sau 4 giờ tiêm. C) Hình ảnh MRI ở chuột đối chứng; d) Phân bố cường độ MRI liên quan đến khối u ở chuột đối chứng. e) Tóm tắt tỷ lệ phần trăm pixel dưới  $I_{0,25}$  trên hình ảnh khối u MRI. Kiểm định Mann-Whitney phân phối phi gaussian: \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

## 5.2. Đánh giá sự phân bố *in vivo* bằng kỹ thuật optical bioimaging

Để nghiên cứu sự phân bố sinh học *in vivo* của hệ dẫn thuốc nano đa chức năng gắn chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần, chuột mang khối u

CT26 được tiêm tĩnh mạch mắt (hình 5.4a) 150  $\mu\text{L}$  PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5 (tương đương 0,065 mM Cyanine 5.5). Hình 5.4b mô tả phân bố *in vivo* theo thời gian của hệ nano PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5 tại các mốc thời gian: 5 phút, 15 phút, 30 phút, 1 giờ, 3 giờ, 6 giờ, và 24 giờ sau tiêm. Tín hiệu huỳnh quang được phân tích bằng phần mềm M3 vision software (BioSpace Lab, France) và được biểu thị dưới dạng độ bức xạ trung bình (average radiance,  $\text{ph/s/cm}^2/\text{sr}$ ).



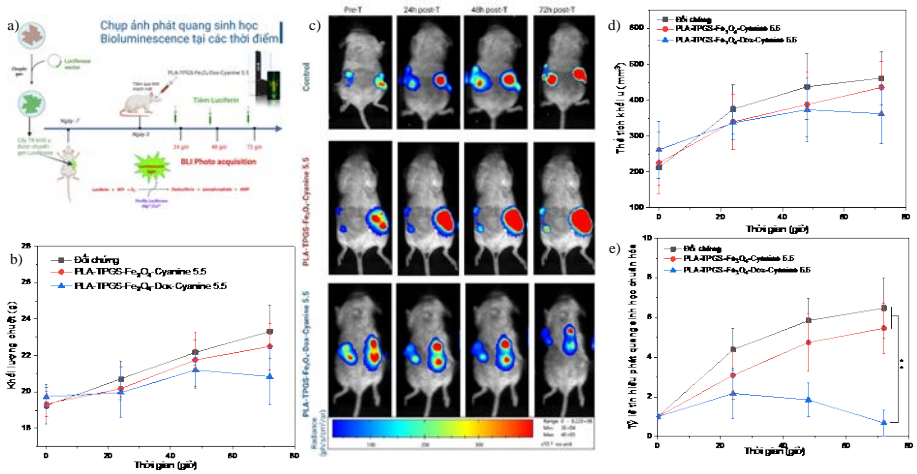
**Hình 5.4.** (a) Sơ đồ bố trí thí nghiệm *in vivo*, (b) sự phân bố *in vivo* theo thời gian của hệ nano PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5 trên mô hình chuột mang khối u CT26, (c) định lượng tín hiệu huỳnh quang tại khối u và các cơ quan của chuột, và (d) tỷ lệ tín hiệu khối u/gan và gan/thận

Ngay sau 5 phút tiêm, đã bắt đầu quan sát được tín hiệu huỳnh quang, cao nhất ở khối u, sau đó là gan, thận, và lách (hình 5.4c). Cường độ huỳnh quang tại khối u, gan và thận tăng dần theo thời gian. Sau 3 giờ tiêm, tín hiệu cao nhất ở khối u, sau đó là gan. Kết quả này cũng tương thích với kết quả định lượng MRI ở trên, cho thấy hiệu quả hướng đích thụ động tới vị trí khối u của hệ nano đa chức năng PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5. Đồng thời, tín hiệu huỳnh quang cao ở gan cho thấy một phần hệ nano đã tích lũy trong gan, là cơ quan chịu trách nhiệm loại bỏ các vật lạ khỏi hệ tuần hoàn. Điều thú vị là tín hiệu huỳnh quang ở thận đạt cao nhất tại thời điểm 6 giờ. Sau 24 giờ, tín hiệu huỳnh quang ở khối u thấp, giảm rõ rệt (5,6 lần so với thời điểm 3 giờ), nhưng cường độ huỳnh quang cao nhất ở thận của chuột, sau đó là



gan và lách. Kết quả này cho thấy hệ nano này đã bắt đầu bị đào thải khỏi cơ thể và thời gian tồn tại trong cơ thể của hệ nano này ít nhất là 24 giờ. Cuối cùng, tín hiệu huỳnh quang ở lách rất thấp, không thay đổi đáng kể trong suốt thời gian 24 giờ. Những kết quả này chứng tỏ rằng hệ nano PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5 là một hệ dẫn thuốc nano đa chức năng đầy hứa hẹn ứng dụng chụp ảnh phân bố sinh học *in vivo* NIR trong y sinh.

### 5.3. Đánh giá tác dụng hóa trị bằng kỹ thuật phát quang sinh học (Bioluminescence)

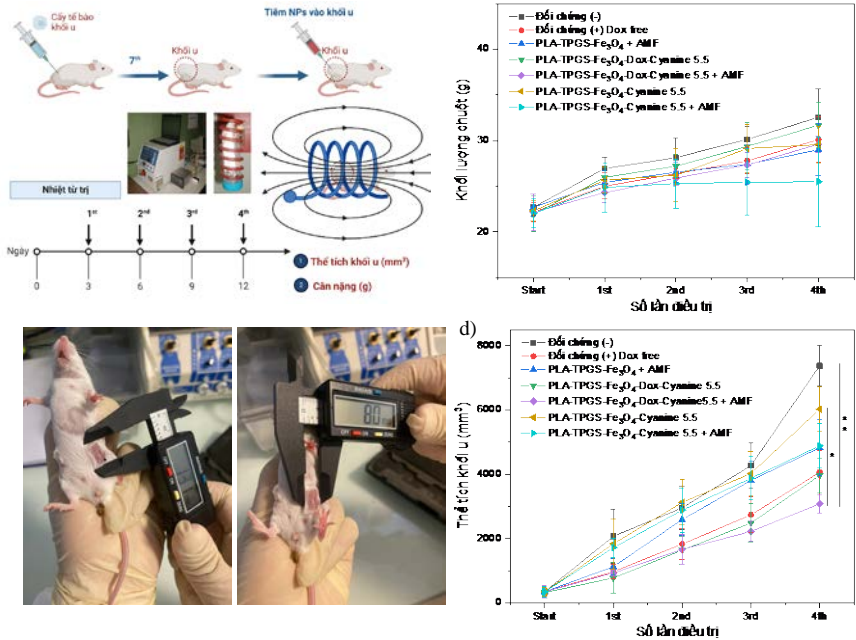


**Hình 5.5.** Đánh giá tác dụng hóa trị của vật liệu nano PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5 bằng hình ảnh phát quang sinh học. (a) Sơ đồ thí nghiệm; (b) Khối lượng khối u; (c) Chụp đại diện của từng nhóm thử nghiệm cho thấy hoạt động luciferase trong khối u; (d) Kích thước khối u; (e) Hoạt động luciferase trung bình trong khối u với độ lệch chuẩn. Tín hiệu luciferase đã được chuẩn hóa với tín hiệu trước khi điều trị.

Trong luận án này, chúng tôi sử dụng hình ảnh phát quang sinh học luciferase để đánh giá phản ứng của khối u với tác dụng hóa trị của hệ dẫn thuốc nano đa chức năng PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5. Vì gen luciferase được chèn vào gen chỉ thị khối u CT26 nên chúng sẽ luôn được biểu hiện cùng nhau. Do đó sau khi tiêm luciferin, tín hiệu phát quang sinh học chỉ được tạo ra trong các tế bào ung thư tại vị trí khối u do hoạt động của luciferase. Cường độ tín hiệu phát quang sinh học cho phép đánh giá khả năng sống sót của tế bào ung thư (hình 5.5). Ở chuột được tiêm PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5, tín hiệu huỳnh quang giảm đi nhanh chóng sau 72 giờ, cho thấy sự mất hoạt động của luciferase. Ngược lại, cường độ phát quang sinh học ở những con chuột được tiêm PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Cyanine 5.5

giảm không đáng kể so với nhóm đối chứng được tiêm dung dịch PBS (sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê,  $p > 0,05$ ). Điều này chứng minh tác dụng hóa trị của hệ dẫn thuốc nano đa chức năng PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5 đã làm ức chế sự phát triển của khối u hiệu quả, thấy rõ tác dụng sau 72 giờ tiêm.

#### 5.4. Đánh giá tác dụng nhiệt từ trị



**Hình 5.6.** (a) Sơ đồ thí nghiệm đánh giá tác dụng nhiệt từ trị *in vivo*; (b) theo dõi khối lượng chuột; (c) đo kích thước khối u trên chuột; (d) thể tích khối u (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,001$ )

Sau 4 lần điều trị, kích thước khối u ở nhóm (tiêm PLA-TPGS- $\text{Fe}_3\text{O}_4$ -Dox-Cyanine 5.5 + chiếu từ trường) khác biệt rõ rệt so với các lô đối chứng. Thể tích khối u đạt  $3077 \pm 280 \text{ mm}^3$ , khác biệt đáng kể so với nhóm đối chứng âm ( $p < 0,001$ ), và các nhóm còn lại ( $p < 0,05$ ). Kết quả này cho thấy tác dụng hiệp đồng khi kết hợp hóa trị (Dox) cùng liệu pháp nhiệt từ trị ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  + chiếu từ trường) trong hệ nano đa chức năng gắn Cyanine 5.5 (hình 5.6). Cùng với những kết quả trước, kết quả nghiên cứu này một lần nữa khẳng định phương pháp nhiệt từ trị sử dụng hạt nano  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  kết hợp với tác dụng hóa trị của Doxorubicin là phương pháp triển vọng trong điều trị ung thư.

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

L luận án đã tập trung nghiên cứu chế tạo hệ dẫn thuốc nano đa chức năng gắn chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần Cyanine 5.5 trên cơ sở copolyme PLA-TPGS. Trong đó, hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin-Cyanine 5.5 gồm các chức năng: (1) mang thuốc Doxorubicin, (2) tăng cường độ tương phản ảnh MRI, (3) tác dụng hóa trị của Doxorubicin, (4) tác dụng nhiệt từ trị, (5) theo dõi sự phân bố *in vivo* và hiệu quả điều trị bằng kỹ thuật hình ảnh quang học. Từ các kết quả nghiên cứu chi tiết và các thảo luận thích hợp, một số kết luận chính được rút ra như sau:

1. Đã chế tạo và đặc trưng được hệ nano đa chức năng mang đồng thời Doxorubicin và Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, trong đó tỉ lệ Dox : Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs là 1 : 1 w/w. Hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Dox thu được có dạng hình cầu, kích thước tiểu phân trung bình 17 - 19,8 nm, hiệu suất nano hóa đạt  $91.05 \pm 0.8$  %, khả năng mang thuốc Doxorubicin đạt  $31.28 \pm 1.64$  %. Thuốc Doxorubicin được giải phóng từ hệ nano theo mô hình động học Weibull, cơ chế giải phóng thuốc phụ thuộc vào pH. Hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Doxorubicin có tác dụng gây độc tế bào ung thư hiệu quả, có khả năng xâm nhập tế bào và sinh nhiệt tốt, ứng dụng trong nhiệt từ trị. Trên dòng tế bào ung thư cổ tử cung HeLa, hệ nano có tỷ lệ Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> cao, gây độc tế bào theo cơ chế bắt giữ tế bào ở pha G0/G1. Trong khi, các hệ nano có tỷ lệ Doxorubicin cao hơn, sẽ gây độc tế bào theo cơ chế bắt giữ tế bào ở pha G2/M.

2. Đã chế tạo và đặc trưng được hệ nano đa chức năng gắn chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần Cyanine 5.5, với các thông số kỹ thuật như sau: tỉ lệ Cyanine 5.5 : Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs w/w = 1 : 20, tỉ lệ Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs : APTES w/w = 10 : 3, nhiệt độ 70 °C ở bước ghép APTES, pH 8,5 và thời gian 5 giờ ở bước gắn Cyanine 5.5. Hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Dox-Cyanine 5.5 thu được có dạng hình cầu, với kích thước trung bình  $13,16 \pm 2,16$  nm, có độ ổn định tốt, thể hiện khả năng phát huỳnh quang mạnh, cho thấy ứng dụng tiềm năng của chúng trong y sinh. Sự kết hợp của 3 thành phần Doxorubicin, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, và Cyanine 5.5 trong hệ dẫn thuốc nano đa chức năng gây ra sự chết tế bào theo chu trình trên các dòng tế bào ung thư thực nghiệm.

3. Đã đánh giá được sự phân bố *in vivo* của hệ nano đa chức năng gắn chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần trên mô hình chuột gây khối u đại tràng CT26 bằng phương pháp hình ảnh quang học (optical bioimaging). Hệ nano PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Dox-Cyanine 5.5 phân bố tập trung tại khối u hiệu quả, đạt cao nhất sau 3 giờ tiêm, sau đó được thanh thải qua gan, lách và thận.

4. Đã đánh giá được khả năng tăng độ tương phản trong chụp ảnh cộng hưởng từ MRI. Doxorubicin và Cyanine 5.5 khi kết hợp trong hệ nano đa chức năng PLA-TPGS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Dox-Cyanine 5.5 làm tăng hiệu ứng tương

phần  $T_2$  của hạt nano  $Fe_3O_4$ . Định lượng tín hiệu hình ảnh MRI trọng  $T_2^*$  bằng phương pháp  $\%I_{0,25}$  cho thấy sự tích lũy thụ động hiệu quả của hệ nano ở vị trí khối u, với tỷ lệ phần trăm pixel dưới  $I_{0,25}$  có sự khác biệt đáng kể ( $p < 0,001$ ) giữa nhóm đối chứng (3,35 %) và nhóm điều trị (13,82 %).

5. Đã đánh giá được tác dụng hóa trị và nhiệt từ trị của hệ dẫn thuốc nano đa chức năng trên mô hình *in vivo*. Tác dụng hóa trị sau 72 giờ điều trị hệ nano đa chức năng PLA-TPGS- $Fe_3O_4$ -Dox-Cyanine 5.5 được quan sát rõ ràng bằng phương pháp phát quang sinh học bioluminescence. Hơn nữa, hệ nano PLA-TPGS- $Fe_3O_4$ -Dox-Cyanine 5.5 thể hiện hiệu quả của tác dụng hiệp đồng khi kết hợp hóa trị và nhiệt từ trị, sau 4 lần chiếu từ trường cường độ 150 Oe, tần số 450 kHz và thời gian chiếu từ trường nhiệt trị là 30 phút.

Trên cơ sở đó, chúng tôi đề xuất một số kiến nghị sau đây:

1. Nghiên cứu đặc tính dược lực học, dược động học *in vivo* của hệ dẫn thuốc nano đa chức năng gắn chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần.
2. Tiến hành các thử nghiệm sâu hơn, nhằm phát triển hệ dẫn thuốc nano đa chức năng gắn chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần ứng dụng trong chẩn đoán và điều trị ung thư.

## NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Đã chế tạo thành công hệ dẫn thuốc nano đa chức năng mang đồng thời hạt nano oxit sắt từ  $Fe_3O_4$  và thuốc Doxorubicin, trên chất mang copolyme PLA-TPGS.

2. Đã chế tạo thành công hệ dẫn thuốc nano đa chức năng mang đồng thời hạt nano oxit sắt từ  $Fe_3O_4$ , thuốc Doxorubicin, và gắn chất phát huỳnh quang hồng ngoại gần Cyanine 5.5, trên chất mang copolyme PLA-TPGS.

3. Đã đánh giá được sự phân bố *in vivo* của hệ dẫn thuốc đa chức năng thông qua khả năng phát huỳnh quang hồng ngoại gần của Cyanine 5.5 trên mô hình chuột gây khối u đại tràng CT26. Các cơ quan như gan, lách và thận đóng vai trò trong quá trình chuyển hóa và thải trừ của hệ nano này.

4. Đã đánh giá được khả năng tăng độ tương phản trong chụp ảnh cộng hưởng từ MRI, tín hiệu hình ảnh MRI trọng  $T_2^*$  được định lượng bằng phương pháp  $\%I_{0,25}$  cho thấy sự tích lũy thụ động hiệu quả của hệ nano ở vị trí khối u, với tỷ lệ phần trăm pixel dưới  $I_{0,25}$  có sự khác biệt đáng kể ( $p < 0,001$ ) giữa nhóm đối chứng (3,35 %) và nhóm điều trị (13,82 %).

5. Đã đánh giá được tác dụng hóa trị của hệ dẫn thuốc nano đa chức năng bằng kỹ thuật phát quang sinh học bioluminescence.

6. Đã đánh giá được tác dụng nhiệt từ trị của hệ dẫn thuốc nano đa chức năng, cho thấy tác dụng hiệp đồng khi kết hợp hóa trị và nhiệt từ trị.