

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

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



## NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP HẠT NANO BẠC PHỦ HYALURONIC ACID MANG DOXORUBICIN ĐỊNH HƯỚNG TRONG ĐIỀU TRỊ UNG THƯ

## LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 8 44 01 14

E Thi Philong

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC : TS. LÊ THỊ PHƯƠNG

Thành phố Hồ Chí Minh - Năm 2025

## **LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn chịu trách nhiệm trước phát luật.

Tác giả luận văn

NGUYỄN HỮU THIÊN AN

## LỜI CẢM ƠN

Đầu tiên, em xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành nhất đến giáo viên hướng dẫn của em là TS. Lê Thị Phương – người cô giàu kinh nghiệm và đầy nhiệt huyết đã hỗ trợ, định hướng, tận tình chỉ bảo để em có thể hoàn thành luận án trong những điều kiện tốt nhất.

Em xin gửi lời cảm ơn đến các thầy cô đặc biệt là PGS.TS Trần Ngọc Quyển cùng các anh chị kỹ thuật viên thuộc phòng Vật liệu Y Sinh – Viện khoa học Vật liệu ứng dụng – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo điều kiện thuận lợi về cơ sở vật chất để em thực hiện đề tài.

Em xin chân thành cảm ơn ban Lãnh đạo, phòng Đào tạo và các phòng chức năng của Học viện Khoa học và Công nghệ đã hỗ trợ em hoàn thành các học phần và mọi thủ tục cần thiết khác để luận văn được hoàn thành. Cuối cùng, em xin bày tỏ lời cảm ơn sâu sắc đến gia đình, bạn bè, đồng nghiệp đã luôn chia sẻ, động viên tinh thần và là nguồn cổ vũ, giúp đỡ tôi vượt qua mọi khó khăn trong suốt quá trình thực hiện luận án.

Học viên

NGUYỄN HỮU THIÊN AN

# MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOANi
LỜI CẢM ƠNii
DANH MỤC KÝ HIỆU, CHỮ CÁI VIẾT TẮTv
DANH MỤC BẢNGvi
DANH MỤC SƠ ĐÔvi
DANH MỤC HÌNH VẼ, ĐỎ THỊvii
MỞ ĐẦU1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN VỀ NGHIÊN CỨU3
1.1 TỔNG QUAN VỀ UNG THƯ VÀ CÁC PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU TRỊ
1.2 TÔNG QUAN VỀ HỆ DẪN TRUYỀN THUỐC KÍCH THƯỚC NANO
TRONG ĐIỀU TRỊ UNG THƯ4
1.2.1 Cơ chế hướng đích bị động5
1.2.2 Cơ chế hướng đích chủ động6
1.3 TỔNG QUAN VỀ HYALURONIC ACID VÀ VẬT LIỆU NANO DỰA TRÊN
HYALURONIC ACID7
1.3.1 Tổng quan về Hyaluronic acid7
1.3.3 Micelles10
1.3.4 Polymersome11
1.3.5 Hydrogels11
1.3.6 Một số dẫn xuất Hyaluronic acid ứng dụng trong y sinh12
1.4 TÔNG QUAN VỀ NANO BẠC13
1.4.1 Các phương pháp tổng hợp nano bạc13
1.4.2 Ứng dụng nano bạc trong điều trị ung thư17
1.5 HIỆN TRẠNG CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU TRONG NƯỚC VÀ
NGOÀI NƯỚC18
1.5.1 Trong nước
1.5.2 Trên thế giới

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	21
2.1 ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU	21
2.2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	21
2.2.1 Quy trình nghiên cứu	21
2.2.2 Tổng hợp và mô tả đặc tính liên hợp của Hyaluronic acid-dopamine (HA	۹-
DOPA)	23
2.2.3 Tổng hợp và mô tả đặc tính của Ag NPs@HA và Ag NPs@HA/DOX	23
2.2.4 Quá trình giải phóng DOX	24
2.2.5 Sự phân hủy enzyme của các hạt nano trong phòng thí nghiệm	25
2.2.6 Độc tính tế bào trong phòng thí nghiệm	25
2.2.7 Khả năng hấp thụ tế bào trong ống nghiệm	25
2.2.8 Mô hình hình cầu ung thư 3D trong ống nghiệm	26
2.2.9 Khả năng ức chế khối u trên mô hình động vật	26
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN	27
3.1 KẾT QUẢ TỔNG HỢP HA-DOPA	27
3.2 KẾT QUẢ TỔNG HỢP AG NPS@HA VÀ AG NPS@HA/DOX	29
3.3 ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG PHÓNG THÍCH THUỐC	34
3.4 KẾT QUẢ PHÂN HỦY ENZYME TRONG ỐNG NGHIỆM	39
3.5 KẾT QUẢ THỬ ĐỘC TÍNH TẾ BÀO	39
3.6 KẾT QUẢ HẤP THỤ TẾ BÀO TRONG ỐNG NGHIỆM	41
3.7 KẾT QUẢ MÔ HÌNH HÌNH CẦU UNG THƯ 3D TRONG ỐNG NGHIỆM	142
3.8 HIỆU QUẢ ỨC CHẾ KHỐI U TRÊN MÔ HÌNH ĐỘNG VẬT	43
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	46
KÉT LUẬN	46
KIẾN NGHỊ	46
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO	47
PHŲ LŲC	A1

# DANH MỤC KÝ HIỆU, CHỮ CÁI VIẾT TẮT

Silver nanoparticles (Nano bạc)
Glycoprotein, kháng nguyên
Confocal Laser Scanning Microscopy (Kính hiển vi quét laser đồng tiêu)
Deuterium Oxide
Dynamic light scattering (Kĩ thuật tán xạ ánh sáng động)
Dulbecco's Modified Eagle's Medium (Môi trường nuôi cấy cơ bản)
Deionized Water (Nước khử ion)
Dopamine
Doxorubicin
Extracellular matrix
1,2-dichloroethan
Fetal Bovine Serum (Huyết thanh bào thai)
Hyaluronic acid
Dòng tế bào ung thư cổ tử cung
Nguyên bào sợi IMR-90
N-Hydroxysuccinimide
Nanoparticle
Dòng tế bào ung thư vú MCF7 và T47D
Dòng tế bào ung thư vú thông thường MCF10-A
Morpholine Ethanesulfonic Acid (Dung dịch đệm)
Paclitaxel
Transmission electron microscopy (Kính hiển vi điện tử truyền qua)
Tế bào glioblastoma
Ultra violet – Visible (Phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử)
Thuốc thử tăng sinh tế bào WST-1

# DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1. Tổng hàm lượng DOX được nạp vào HA-DOPA-AgNPs theo	32
các tỷ lệ	
Bảng 3.2. Bảng kết quả phóng thích DOX ở pH = $5,5$	34
Bảng 3.3. Bảng kết quả phóng thích DOX ở pH = 7,4	36

# DANH MỤC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 2.1. Sơ đồ quy trình nghiên cứu

21

# DANH MỤC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

Hình 1.1. Một số hệ vận chuyển cấu trúc nano <b>[66]</b>	5
Hình 1.2. Cơ chế nhắm đích chủ động và bị động của hệ phân phối thuốc có	7
kích thước nano [66]	/
Hình 1.3. Cấu trúc của Hyaluronic acid <b>[68]</b>	7
Hình 1.4. Cấu trúc của vật liệu nano dựa trên Hyaluronic acid (HA) [67]	9
Hình 1.5. Biến đổi hóa học của HA để liên kết các phân tử kỵ nước để tạo	10
thành micelle [67]	10
Hình 1.6. Biến đổi hóa học của HA để tạo thành hydrogel [67]	11
Hình 1.7. Tổng hợp nano bạc theo phương pháp sinh học sử dụng chiết xuất	15
thực vật làm chất khử [65]	15
Hình 2.1. Phương pháp tổng hợp liên hợp của Hyaluronic acid-dopamine	22
(HA-DOPA)	
Hình 2.2. Phương pháp tổng hợp Ag NPs@HA/DOX	23
Hình 3.1. (A) Sơ đồ biểu diễn quá trình tổng hợp HA-DOPA thông qua	
nhóm catechol của HA. (B) Phổ 1H-NMR (trong D2O) và (C) Phổ hấp thụ	29
UV-Vis của liên hợp HA-DOPA	
Hình 3.2. (A) Sơ đồ biểu diễn quá trình hình thành các hạt nano lõi-vỏ Ag	
NPs@HA chứa DOX. (B) Phổ UV-Vis của HA-DOPA, Ag NPs@HA và Ag	31
NPs@HA/DOX	
Hình 3.3. Đường chuẩn của DOX ở pH 5,5	34
Hình 3.4. Phần trăm phóng thích DOX ở pH = 5,5	35
Hình 3.5. Đường chuẩn của DOX ở pH 7,4	35
Hình 3.6. Phần trăm phóng thích DOX ở pH =7,4	36
Hình 3.7. Độ pH trong ống nghiệm và phản ứng của enzyme đối với các hạt	36
nano	50
Hình 3.8. Kết quả thử độc tế bào của Ag NPs@HA đối với tế bào bình	
thường (hDFB) và tế bào ung thư (HELA), được xác định bằng xét nghiệm	39
WST-1 và xét nghiệm sống/chết	
Hình 3.9. Hình ảnh đưới kính hiển vi cộng hưởng của tế bào HELA được ủ	
với DOX tự do và Ag NPs@HA/DOX. Các tế bào không được xử lý được sử	10
dụng làm mẫu đối chứng. Hình ảnh cho thấy tế bào chứa DOX và nhân tế bào	40
có màu xanh lam. Tỷ lệ là 10 μm	

Hình 3.10. Hình ảnh sống/chết của các khối cầu HELA 3D được ủ với DOX tự	
do và Ag NPs@HA/DOX ở các nồng độ khác nhau (0,5; 1 và 2 mg/mL) trong	42
1 ngày và 3 ngày. Tỷ lệ là 100 μm	
Hình 3.11. Hiệu ứng chống khối u in vivo của Ag NPs@HA/DOX trên mô	11
hình chuột ghép dị loại HELA	44

## MỞ ĐẦU

Ung thư là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu và trở thành rào cản lớn trong việc tăng tuổi tho trên toàn thế giới [1, 2]. Hiên nay, trong số các liêu pháp chống ung thư khác nhau như hóa trị, liệu pháp quang nhiệt, xạ trị, liệu pháp khí và liệu pháp miễn dịch,... các loai thuốc hóa tri đã được sử dụng rông rãi như phương pháp điều tri ung thư lâm sàng tiêu chuẩn, kết hợp với phẫu thuật [3, 4]. Tuy nhiên, các loại thuốc hóa trị liệu như vậy cho thấy tác dụng điều trị hạn chế, chủ yếu là do độ hòa tan kém, tác dụng toàn thân nghiêm trọng liên quan đến liều lượng, tác động và thiếu tính chọn lọc đối với tế bào ung thư và tế bào bình thường [5, 6]. Do đó, việc phát triển một phương tiện vận chuyển có thể đồng thời cải thiện đặc tính dược động học và cân bằng hiệu quả độc tính của thuốc, cũng như nhắm mục tiêu và tiêu diệt có chọn lọc tế bào ung thư là cần thiết để đạt được hiệu quả điều trị chống ung thư cao [7 - 9]. Công nghệ nano đã được khám phá rộng rãi trong các ứng dụng phân phối thuốc vì các đặc tính điều trị mong muốn của nó: lưu thông kéo dài trong máu và phân phối thuốc theo mục tiêu [10 - 12]. Đặc biệt, nó sẽ mang lại lợi ích cho các liệu pháp chống ung thư bằng cách tăng cường tính thấm và khả năng lưu giữ và giảm thiểu độc tính toàn thân [13, 14]. Gần đây, các nhà nghiên cứu đã phát triển các chất mang nano đa chức năng để khắc phục tình trang kháng ung thư do thuốc gây ra, bằng cách kết hợp ưu điểm của các liêu pháp chống ung thư khác nhau trong một công thức [15 – 18]. Ví dụ, Elbaz và các cộng sự đã tổng hợp các vỏ-lõi bạc/polymer để làm chất mang nano cung cấp doxorubicin (DOX), dẫn đến tác dụng chống ung thư tổng hợp thông qua khả năng gây độc tế bào của các loại oxy phản ứng (ROS) và DOX do Ag gây ra [19]. Tương tự, Fan và cộng sự đã phát triển một liệu pháp kết hợp dựa trên nano bạc, bằng cách sử dụng các hạt nano organosilica trung mô rỗng để đồng phân phối glucose oxyase và L-Arginine cho liệu pháp tổng hợp giống như liệu pháp bỏ đói và nhả khí [20]. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu đã báo cáo rằng các NP phản ứng với kích thích có thể kích hoạt giải phóng thuốc điều trị tại vị trí khối u, để đáp ứng với môi trường vi mô ưng thư, bao gồm pH, oxy hóa khử và enzyme [21 - 24]. Trong số các kích thích này, khả năng đáp ứng của enzyme thường được sử dụng để phát triển các NP có khả năng phân hủy sinh học do sư biểu hiện quá mức của Hyaluronic acid (HA) và Hyaluronidase trong quá trình phát triển của nhiều loại khối u rắn [25 – 27]. Hơn nữa, người ta đã ghi nhận rõ rằng rằng HA có thể liên kết đặc biệt với các thụ thể CD44 được biểu hiện quá mức trên nhiều loại khác nhau. Tế bào ung thư khiến HA trở

thành phân tử nhắm mục tiêu hoạt động tiềm năng cho liệu pháp chống ung thư. Những đặc điểm độc đáo này đã khuyến khích các nhà nghiên cứu phát triển các NP dựa trên HA để giải phóng thuốc điều trị có kiểm soát tại các vị trí khối u [28 - 31].

Bởi những lý do trên nên chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài "Nghiên cứu tổng hợp hạt nano bạc phủ hyaluronic acid mang doxorubicin định hướng trong điều trị ung thư" với mục tiêu chính như sau:

1/ Tổng hợp hạt nano bạc phủ HA tăng cường tiêu diệt ung thư.

2/ Đánh giá hoạt tính hướng đích tế bào ung thư của các hạt nano mang DOX thông qua khả năng tiêu diệt một cách chọn lọc các tế bào khối u mà không ảnh hưởng các tế bào bình thường.

## CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN VỀ NGHIÊN CỨU 1.1 TỔNG QUAN VỀ UNG THƯ VÀ CÁC PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU TRỊ

Ung thư là gánh nặng bệnh tật lớn trên toàn thế giới. Mỗi năm, hàng chục triệu người được chẩn đoán mắc bệnh ung thư trên toàn thế giới và hơn một nửa số bệnh nhân cuối cùng tử vong vì căn bệnh này. Ở nhiều quốc gia, ung thư là nguyên nhân gây tử vong phổ biến sau tim mạch. Với sự cải thiện đáng kể trong điều trị và phòng ngừa các bệnh tim mạch, ung thư đã sớm trở thành kẻ giết người số một ở nhiều nơi trên thế giới. Do đó, việc phát triển các hệ phân phối thuốc đa chức năng trong điều trị ung thư là rất cấp bách, đáp ứng nhu cầu cải tiến và khắc phục các hạn chế của các phương pháp điều trị ung thư hiện nay. Các phương pháp điều trị ung thư phổ biến hiện nay bao gồm:

+ Phẫu thuật: Thường được dùng, mổ tận gốc khối u. Mổ đúng cách là phương pháp điều trị tốt nhất cho đa số loại ung thư còn khu trú tại chỗ, tại vùng. Như việc cắt xương và bướu của cơ bắp ở tứ chi mà không cần phải cắt chi.

+ Xạ trị: là phương pháp sử dụng chùm tia phóng xạ để tiêu diệt tế bào ung thư từ đó có thể triệt tiêu khối u hoặc làm thu nhỏ kích thước khối u. Phương pháp điều trị bức xạ thường ít gây đau đớn và thường kéo dài trong vài phút. Xạ trị có thể với mục đích điều trị triệt căn trong trường hợp bệnh ở giai đoạn khu trú nhưng không thể tiến hành phẫu thuật, xạ trị bổ trợ sau phẫu thuật thường chỉ định khi bệnh nhân có một số yếu tố nguy cơ cao tái phát tại chỗ, tại vùng, hoặc xạ trị kết hợp hóa chất ở giai đoạn bệnh tiến triển tại chỗ.

+ Hóa trị: là liệu pháp toàn thân điều trị ung thư. Trong hầu hết các trường hợp, hóa trị được truyền qua đường truyền tĩnh mạch. Có hai loại hóa trị là hóa trị tân bổ trợ (thực hiện trước khi mổ) và hóa trị bổ trợ (áp dụng cho các trường hợp IB trở lên). Đặc biệt khi bệnh tiến triển (bệnh tái phát hoặc di căn), hóa trị là một trong những phương pháp điều trị chính dùng để giảm thiểu các triệu chứng của bệnh, cải thiện chất lượng cuộc sống và kéo dài thời gian sống.

+ Liệu pháp thuốc nhắm trúng đích: là phương pháp tác động vào các phân tử đặc hiệu cần thiết cho quá trình sinh ung thư và phát triển khối u; liệu pháp tác động vào các thụ thể nằm trên màng tế bào hoặc trong tế bào.

+ Phương pháp miễn dịch: là liệu pháp điều trị ung thư mới, nhiều loại thuốc trị liệu miễn dịch như pembrolizumab, atezolizumab... được phê duyệt để điều trị ung thư phổi.

Liệu pháp ức chế điểm kiểm soát miễn dịch này do 2 nhà khoa học Honjo Tasuku người Nhật và Jame P. Allison người Mỹ đã mở ra một kỷ nguyên mới điều trị ung thư.

## 1.2 TỔNG QUAN VỀ HỆ DẪN TRUYỀN THUỐC KÍCH THƯỚC NANO TRONG ĐIỀU TRỊ UNG THƯ

Công nghệ nano đã được khám phá rộng rãi trong các ứng dụng dẫn truyền thuốc vì các đặc điểm điều tri mong muốn của nó: lưu thông kéo dài trong máu và phân phối thuốc có mục tiêu. Đặc biệt, nó sẽ mang lại nhiều lợi ích cho các liêu pháp chống ung thư bằng cách tăng cường tính thấm, hiệu ứng duy trì và giảm thiểu độc tính toàn thân. Gần đây, các nhà nghiên cứu đã phát triển các nanocarrier đa chức năng để khắc phục tình trạng kháng thuốc của ung thư, bằng cách kết hợp các ưu điểm của các liệu pháp chống ung thư khác nhau trong một công thức. Ví dụ, Elbaz và cộng sự dã chuẩn bị các hạt lõi-vỏ nano bạc/polymer làm chất mang nano để cung cấp Doxorubicin (DOX), dẫn đến hiệu ứng chống ưng thư hiệp đồng thông qua độc tính tế bào của quá trình tạo ra các ROS và DOX do Ag gây ra [32]. Tương tự như vậy, Fan và cộng sự đã phát triển một liệu pháp kết hợp dựa trên NP, bằng cách sử dụng các hạt nano organosilica xốp rỗng để đồng cung cấp glucose oxidase và L-Arginine cho liệu pháp khí/bỏ đói tế bào ung thư [33]. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu đã báo cáo rằng các NP phản ứng với kích thích có thể kích hoạt giải phóng thuốc điều trị tại các vị trí khối u, để đáp ứng với môi trường vi mô của ung thư, bao gồm đô pH, oxy hóa khử và enzyme. Trong số các kích thích này, khả năng phản ứng với enzyme thường được sử dụng để phát triển các NP có thể phân hủy sinh học do sự biểu hiện quá mức của hyaluronan (HA) và hyaluronidase trong quá trình tiến triển của nhiều loại khối u. Hơn nữa, đã có nhiều tài liệu chứng minh rằng HA có thể liên kết cụ thể với các thụ thể CD44 được biểu hiện quá mức trên nhiều tế bào ung thư khác nhau, điều này khiến HA trở thành phân tử nhắm mục tiêu hoạt động tiềm năng cho liệu pháp chống ung thư. Những đặc điểm độc đáo này đã khuyến khích các nhà nghiên cứu phát triển các NP gốc HA để giải phóng có kiểm soát các loại thuốc điều trị tại các vị trí khối u. Một số hệ vận chuyển cấu trúc nano được thể hiện trong Hình 1.1.



Hình 1.1. Một số hệ vận chuyển cấu trúc nano [66]

Thuốc vận chuyển cấu trúc nanomet có nhiều ưu điểm hơn các thuốc cùng loại như:

- Tăng độ ổn định và tính tương thích.
- Tăng khả năng hấp thu vì với cùng một lượng thuốc ở dạng nano có các diện tích tiếp xúc lớn nên thuốc hệ nano hấp thụ nhanh và cao hơn.
- Khả năng nhắm trúng đích cao hơn.
- Tăng hiệu quả lâm sàng do tác dụng lâu.
- Tác dụng phụ được hạn chế vì liều dùng thấp.

Ngoài ưu điểm thì hệ nano cũng có các nhược điểm như:

- Khó khăn khi sản xuất quy mô lớn và ổn định sản phẩm.
- Đa số trường hợp phải đánh giá lại khả năng sinh khả dụng hoặc độc tính...
- Gây hại ô nhiễm môi trường do sử dụng nhiều dung môi.

Một số thử thách lớn khác cần giải quyết, bao gồm:

- Tỷ lệ thuốc hướng đích cao.
- Tăng cường độ an toàn cho các loại thuốc.
- Đơn giản hóa phác đồ điều trị và bảo đảm chi phí điều trị ở mức thấp nhất.

## 1.2.1 Cơ chế hướng đích bị động

Nhắm mục tiêu thụ động của một loại thuốc hoặc cấu trúc mang thuốc tại một vị trí cụ thể do các yếu tố lý hóa hoặc dược lý. Các khối u rắn thạo ra các tình huống thuận lợi cho việc thu thập các loại thuốc đại phân tử cũng như các hệ thống phân phối thuốc dạng keo giống như các dạng micellar, liposome, liên hợp thuốc polymer và các hạt nano polymer. Tính thấm mạch máu mở rộng cùng với khả năng dẫn lưu bạch huyết bị khiếm khuyết của các khối u phát triển nhanh tạo ra hiệu ứng tăng cường tính thấm và giữ lại

(EPR) của các hệ thống nano trong khối u. Có một số ít kỹ thuật thường được sử dụng để nhắm mục tiêu vào các khối u và tế bào khối u do sự đa dạng về kiểu hình của các tế bào ung thư và khối u. Nhiều khối u có mạch máu, ngoài một số khối u di căn có mạch máu, cho thấy các dấu hiệu của hiệu ứng EPR có thể được sử dụng để nhắm mục tiêu thụ động của thuốc chống khối u. Hiệu ứng này xảy ra vì nhiều khối u rắn có mạch máu thầm cùng với hệ thống dẫn lưu bạch huyết bị mất hoặc bị tổn thương, gây ra sự tích tụ các hợp chất có trọng lượng phân tử cao hơn cùng với các hạt nhỏ hơn ( $\sim 20 - 500$  nm đường kính) bên trong mô khối u. Việc nhắm mục tiêu thụ động bằng các hạt nano xảy ra do tính độc đáo của khối u rắn, cho phép các hạt nano tích tụ trong khối u. Cơ chế được mô tả theo hình 1.2.

#### 1.2.2 Cơ chế hướng đích chủ động

Hệ thống phân phối thuốc nhắm mục tiêu chủ động dựa trên phương pháp phân phối một lượng nhất định của tác nhân điều trị hoặc chẩn đoán hoặc cả hai đến một mục tiêu vùng bệnh trong cơ quan đặc biệt trong cơ thể. Các hạt nano chứa thuốc (NP) bằng cách bổ sung các phối tử hoặc với kỹ thuật vật lý hoặc hóa học đặc biệt về cấu trúc được sử dụng để các thụ thể/ kháng nguyên cụ thể trên các tế bào đích nhận dạng nhằm hạn chế sự phân phối không đặc hiệu của thuốc trong toàn bộ các tế bào của cơ thể và giảm độc tính tế bào và tác dụng phụ của thuốc đối với các tế bào và cơ quan khỏe mạnh mà hóa trị liệu truyền thống không thể làm được. Các chất mang hạt nano thông minh đã được chấp nhận để điều trị nhiều loại ung thư ở người.Ví dụ kháng thể còn được gọi là immunoglobulin (Ig) hoặc các mảnh kháng thể như mảnh liên kết kháng nguyên (Fab) và các biến thể mảnh chuỗi đơn là một yếu tố quan trọng trong quá trình phát triển các hệ thống hạt nano nhắm mục tiêu tích cực. Vì các kháng nguyên khối có thể nhận biết cụ thể bởi các kháng thể đơn dòng, nên việc nhắm mục tiêu chủ động thông qua các kháng thể hướng đến phân tử duy nhất của khối u được gọi là kháng nguyên, cho phép nhắm mục tiêu khối u bằng cách sử dụng liên kết cụ thể của các kháng thể.



Hình 1.2. Cơ chế nhắm đích chủ động và bị động của hệ phân phối thuốc có kích thước nano [66]

## 1.3 TỔNG QUAN VỀ HYALURONIC ACID VÀ VẬT LIỆU NANO DỰA TRÊN HYALURONIC ACID

1.3.1 Tổng quan về Hyaluronic acid



Hình 1.3. Cấu trúc của Hyaluronic acid [68]

7

Hyaluronic acid (HA) là một polysaccharide mạch dài, không phân nhánh, với trọng lượng phân tử (molecular weight - MW) đạt tới  $2 \times 10^7$  Da (Hình 1.3). Nó được Karl Meyer và John Palmer phân lập lần đầu tiên vào năm 1934 [34] từ thể thủy tinh của mắt bò, nhưng cấu trúc của nó chỉ được mô tả 20 năm sau (1970) bởi Laurent. Năm 1986 Balazs [35] đề xuất "hyaluronan" như một chất thay thế cho "hyaluronic acid" vì ở pH sinh lý, các nhóm carboxyl của phân tử bị phân ly và do đó thu hút các cation, chẳng hạn như Na<sup>+</sup>. Phân tử này có mặt trong nhiều chủng vi khuẩn và có mặt khắp nơi ở tất cả các loài Đông vật có xương sống, nơi nó đặc biệt có nhiều trong các mô phôi và trong ma trận ngoại bào (extracellular matrix - ECM) của các mô liên kết mềm trưởng thành. Với các đặc tính hóa lý, HA hydrat hóa ECM và điều hòa cân bằng nôi môi mô cũng như khả năng chống lai lực nén. Nhiều proteoglycan như aggrecan tương tác với HA tạo ra các hỗn hợp phân tử chiếm thể tích lớn và chịu trách nhiệm tạo ra trạng thái gel của chất nền và ổn định cấu trúc ECM. Hơn nữa, HA tạo thành một lớp màng quanh tế bào xung quanh hầu hết các tế bào, nơi nó hoạt động như một phân tử tín hiệu tương tác với các protein liên kết của nó và điều chỉnh sự kết dính, di chuyển và tăng sinh của tế bào. Trọng lượng phân tử HA cao cũng là thành phần thiết yếu của dịch khớp, nơi nó đóng vai trò cơ bản như chất bôi trơn cho khớp. Vì vậy, HA có vai trò chủ chốt trong nhiều tình trạng sinh lý và bệnh lý.

HA có 3 dạng chính là:

- Hyaluronic acid cao phân tử: Dạng HA này có kích thước lớn nên chỉ nằm trên bề mặt da. HA cao phân tử hoạt động trên lớp biểu bì da và hạn chế mất nước qua da.
- Sodium hyaluronate: Muối Natri của HA có trọng lượng phân tử nhỏ hơn HA cao phân tử, có thể tan trong nước và thẩm thấu vào da.
- Sodium acetylated hyaluronate là dẫn xuất của Sodium hyaluronate. Đây là dạng HA có trọng lượng phân tử nhỏ nhất, có khả năng thẩm thấu sâu vào đáy biểu bì da, giúp giữ ẩm tốt cho da và lâu trôi.

HA có một số nhóm chức năng được sử dụng cho nhiều liên hợp và sửa đổi khác nhau. Những đặc tính này làm cho HA trở thành thành phần chính của NP đa chức năng để cung cấp các liệu pháp điều trị ung thư hiệp đồng. Một số phương pháp để sản xuất các công thức NP HA đã được phát triển để tận dụng các đặc tính nhắm mục tiêu của HA. Các vật liệu nano dựa trên HA được báo cáo để điều trị ung thư bao gồm HA liên hợp thuốc polyme và các vật liệu nano, chẳng hạn như micelle, polymersome, hydrogel và hệ thống NP vô cơ, như thể hiện trong Hình 1.4. Vật liệu nano HA có một số ưu điểm là khả năng sinh miễn dịch thấp hoặc không có, không gây phản ứng viêm, khả năng phân hủy sinh học, khả năng tương thích sinh học và khả dụng sinh học **[36]**.





## 1.3.2 Hyaluronic acid liên hợp với thuốc

HA là một biopolymer ưa nước lớn của các đơn vị disaccharide lặp lại và nó có thể được liên hợp trực tiếp với thuốc. Liên hợp trực tiếp HA với thuốc chống ung thư tạo ra các hợp chất mới có tác dụng chống khối u đầy hứa hẹn. Các công thức NP đơn giản nhưng hiệu quả như vậy có thể được sử dụng để cải thiện hiệu quả điều trị vì các thụ thể nhắm mục tiêu HA (CD44) được biểu hiện quá mức trong nhiều loại ung thư. Bên cạnh khả năng nhắm mục tiêu này, HA liên hợp với thuốc có ưu điểm về mặt tăng thời gian lưu thông, độ ổn định của thuốc, độ hòa tan và khả năng nhắm mục tiêu ung thư. Sau khi được nội hóa, HA liên hợp với thuốc bị thủy phân bởi các enzyme nội bào và giải phóng thuốc vào tế bào đích.

Quá trình biến đổi hóa học của HA có thể được sử dụng trên ba thành phần chức năng có sẵn trong nhóm cacboxylic, hydroxyl và acetamido [37]. Có nhiều phương pháp biến đổi để liên kết chéo hoặc liên hợp HA do độ hòa tan của HA. Nhóm cacboxylic của HA có thể được khai thác để biến đổi hóa học có kiểm soát với các hydrazide khác nhau để thu được các polyme có thể được sử dụng cho nhiều ứng dụng y sinh, bao gồm cả việc phát triển các tiền chất thuốc. Một cách tiếp cận khác là kích hoạt nhóm hydroxyl của paclitaxel với carbodiimide để liên hợp với axit 4-bromobutyric để tạo thành 4-

bromobutyric-paclitaxel liên kết este. Các loại thuốc hóa trị thường được sử dụng trong lĩnh vực lâm sàng, paclitaxel (PTX) và doxorubicin (DOX), cũng đã cho thấy kết quả tuyệt vời. PTX là một trong những hợp chất hàng đầu và có tiềm năng to lớn như một hợp chất chống ung thư. Tuy nhiên, tiêm tĩnh mạch PTX rất khó do tính kỵ nước và tác dụng phụ. Sự liên hợp PTX với HA ưa nước có thể khắc phục những hạn chế này.

#### 1.3.3 Micelles

HA có thể tạo ra các micelle tự lắp ráp để tạo ra các chất mang nano lưỡng tính. Các micelle có đường kính 20–80 nm là các phân tán dạng keo tạo nên một phân tử lưỡng tính. Kích thước nhỏ hơn của micelle có thể hạn chế khả năng đưa liều lượng lớn các tác nhân hóa trị liệu vào khối u. Bên cạnh đó, tính ưa nước của micelle HA làm tăng thời gian lưu thông của thuốc trong cơ thể sống, do đó chúng tích tụ bên trong các tế bào ung thư. Các micelle HA có thể mang thuốc kỵ nước hiệu quả đến các tế bào ung thư mục tiêu, do đó tăng cường khả dụng sinh học và thời gian bán hủy của thuốc. Sự hòa tan của thuốc kỵ nước là một yếu tố quan trọng để giảm nguy cơ kết tập thuốc và hình thành thuyên tắc trong quá trình tiêm tĩnh mạch, như thể hiện trong Hình 1.5 **[38]**. Các micelle HA có thể thâm nhập vào mô khối u lớn so với kích thước lớn của liposome.



Hình 1.5. Biến đổi hóa học của HA để liên kết các phân tử kỵ nước để tạo thành micelle [67]

#### **1.3.4 Polymersome**

HA đã được sử dụng như một phối tử bề mặt để khai thác các liệu pháp chống ung thư liposome nhắm mục tiêu CD44. Liposome đã được sử dụng rộng rãi như một hệ thống phân phối nano. Polymersome, là một sự tự lắp ráp của các đồng trùng hợp khối lưỡng tính trong môi trường nước, tương tự như liposome tạo thành các túi kép tổng hợp. Polymersome có khả năng bao bọc các loại thuốc tan trong nước cũng như các loại thuốc ra béo. Polymersome tương thích sinh học không phản ứng với các thành phần máu và không ảnh hưởng đến các mô không phải mục tiêu. Polyethylen glycol (PEG) là loại biopolymer được sử dụng phổ biến nhất để sản xuất polymersome tương thích sinh học. Polymersome có những ưu điểm đáng kể so với các túi kép khác. So với liposome, ru điểm của polymersome là độ ổn định màng cao và tính thấm màng thấp, do thay đổi độ dài khối.

Các polymersome polyglutamate-HA được tải DOX đã được giới thiệu. Trong hệ thống này, các polymersome dựa trên HA có lợi thế về cả khả năng hòa tan và khả năng nhắm mục tiêu vào các thụ thể CD44 biểu hiện tế bào ung thư.

#### 1.3.5 Hydrogels

Việc biến đổi HA bằng cách sử dụng phản ứng Click hoặc phản ứng liên kết mol được sử dụng rộng rãi để sản xuất hydrogel cộng hóa trị hoặc vật lý, như thể hiện trong Hình 1.6 **[39, 40]**. Liên kết chéo cộng hóa trị của HA rất quan trọng để tăng cường tính ổn định. Hydrogel dựa trên HA thông thường là mạng lưới vĩ mô bao gồm các chuối HA được kết nối ngẫu nhiên tại các điểm liên kết chéo được thiết lập bởi các liên kết cộng hóa trị.



## Hình 1.6. Biến đổi hóa học của HA để tạo thành hydrogel [67]

Hydrogel có kích thước micro hoặc nano sở hữu hàm lượng nước cao và các tính chất cơ học và khả năng tương thích sinh học mong muốn. Các phân tử thuốc được bao bọc mà không có bất kỳ liên kết cộng hóa trị hoặc tương tác cụ thể nào khác được giải phóng nhanh chóng do kích thước lỗ tương đối lớn. Hydrogel ưa nước là DDS tốt do độ nhớt có thể điều chỉnh, độc tính tế bào thấp. Không gian bên trong ưa nước ngăn ngừa sự kết tụ của tải trọng thuốc.

#### 1.3.6 Một số dẫn xuất Hyaluronic acid ứng dụng trong y sinh

Zhou và cộng sự đã oxy hóa HA bằng NaIO4 thong qua quá trình mở vòng của polysaccharide ở 50oC trong 24 giờ. Hơn nữa, nhóm carboxyl của HA được hoạt hóa bởi EDC/NHS và phản ứng với dopamine để trung hợp. Dẫn xuất này được liên kết chéo với carboxymethyl chitosan (CMCS) và poly(vinyl alcohol). Các thuốc thử gốc 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), muối diammonium 2,2'-Azino-bis (axit 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic) (ABTS) và gốc 1,1-diphenyl- và 2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl 3-oxide (PITO) đã được sử dụng để đánh giá các đặc tính chống oxy hóa của hydrogel. Tính chất kết dính của vật liệu đã được chứng minh bằng thử nghiệm độ bền cắt chồng và cho thấy giá trị oxy hóa là 105,45  $\pm$  1,47 kPa. Khả năng điều hòa miễn dịch của hydrogel được thực hiện thông qua phép đo lưu lượng tế bào trên tế bào RAW 264.7. Phân cực M1 của đại thực bào được thúc đẩy thành M2 sau khi xử lý bằng hydrogel. Sự giải phóng NO từ đại thực bào đã giảm. Hydrogel cho thấy hoạt tính kháng khuẩn chống lại *E.coli* và *S.aureus*. Một mô hình in vivo về quá trình chữa lành vết bỏng đã được thử nghiệm, cho thấy sự tái tạo nhanh. Tuy nhiên, Mw của HA tự nhiên và HA đã biến đổi không được báo cáo trong công trình.

Fan và cộng sự đã tổng hợp hydrogel dựa trên HA sau khi biến đổi hóa học kép. Một lượng dư maleic anhydride đã phản ứng với HA. DS của nhóm acrylate được xác định là 75%. Thứ hai, dopamine được gắn thông qua hoạt hóa trung gian EDC, với độ thay thế được xác định là 87% và được oxy hóa trong bước thứ hai. Liên kết ngang quang học của các chất thay thế methacrylat được trung gian với lithium phenyl (2,4,6-trimethylbenzoyl) phosphinate (LAP). Cường độ bám dính của hydrogel được xác định là 179,9  $\pm$  39,4 kPa bởi thử nghiệm cắt chồng sử dụng gelatin làm mô hình mô da. Ứng suất nén được xác định là 600 kPa và có thể chịu được biến dạng nén lên đến 90%. Hydrogel lưu lại tại vị trí vết thương lên tới 6 ngày với trọng lượng giảm 30% **[62]**. Sự thay thế cao các nhóm dopamine tạo ra sự cầm máu nhanh, nhưng các điều kiện phản

ứng bị giảm khi giảm khối lượng mol của HA. Một nhược điểm của loại vật liệu này là tính không đồng nhất về mặt cấu trúc trong hydrogel sau khi oxy hóa catechol bằng cách sử dụng NaIO<sub>4</sub>.

## 1.4 TỔNG QUAN VỀ NANO BẠC

Trong những năm gần đây, việc sử dụng AgNPs ngày càng được biết đến. Đặc tính diệt khuẩn đã mang lại những ứng dụng mới trong y sinh và chăm sóc sức khỏe. Nano bạc được biết là có tác dụng chữa lành vết thương nhanh chóng. Chúng có đặc tính kháng khuẩn giúp giảm viêm và và điều chỉnh biểu hiên cytokine, do đó cung cấp môt phương thức mới điều trị vết thương trong tương lai. Hơn nữa, polyme y tế được ngâm với AgNP đã được sử dụng làm lớp phủ cho thiết bị y tế để duy trì tình trạng vô trùng và giảm nhiễm trùng bệnh. Tiềm năng phân phối thuốc của AgNP cũng đầy hứa hẹn vì diện tích bề mặt lớn tạo điều kiện cho việc phân phối liều lượng tương đối cao. Các đặc tính chữa bệnh của Ag không phải là một phát hiện mới gần đây, các hợp chất Ag hóa trị một đã được áp dụng rộng rãi để điều trị và phòng ngừa kháng khuẩn từ thời cổ đại. Trong thế chiến thứ nhất, bạc nitrat được sử dụng như một chất khử trùng để điều trị vết thương, nhưng với sự ra đời của một loại thuốc thậm chí còn hiệu quả hơn nên phương pháp điều trị bằng Ag không còn được sử dụng cho ứng dụng này nữa. Tuy nhiên, trong thời đại ngày nay, khả năng tổng hợp Ag có kích thước nano với các đặc tính mới đã thu hút được sự quan tâm đáng kể, cả trong ngành sản xuất lẫn lĩnh vực nghiên cứu, bởi vì AgNP được cho là vẫn giữ được tính kháng khuẩn.

## 1.4.1 Các phương pháp tổng hợp nano bạc

## 1.4.1.1 Tổng hợp nano bạc bằng phương pháp vật lý

AgNP được tổng hợp trong nước khử ion kép mà không cần thêm chất hoạt động bề mặt là một phương pháp sản xuất NP khác trong đó hồ quang được phóng điện. Phương pháp tổng hợp vật lý đối với AgNP thường tiêu thụ năng lượng, ví dụ, phóng điện hồ quang, công suất hồ quang, nhiệt, v.v. Kỹ thuật công thức vật lý là một phương pháp được ưa chuộng để tổng hợp AgNP với số lượng lớn, mặc dù chi phí ban đầu của thiết bị tương đối cao với mức tiêu thụ năng lượng cao, ô nhiễm dung môi và thiếu sự phân bố đồng đều.

## 1.4.1.2 Tổng hợp nano bạc bằng phương pháp hóa học

Các phương pháp hóa học về cơ bản đòi hỏi các tiền chất kim loại, chất khử và chất ổn định/chất đóng nắp. Quá trình khử muối bạc liên quan đến quá trình hình thành hạt nhân

sau đó là quá trình phát triển của NP. Kỹ thuật được sử dụng hiệu quả nhất để tổng hợp NP ổn định là kỹ thuật khử hóa học. Các chất được sử dụng để tổng hợp AgNP, bao gồm hydro nguyên tố, ascorbate, citrate và borohydride thio-glycerol, và 2-mercaptoethanol, đều độc hại.

Ngoài ra, do khả năng lắng đọng bề mặt NP bằng hóa chất, NP tổng hợp không đạt độ tinh khiết như dự đoán. Có thể rất khó để chuẩn bị AgNP có kích thước phù hợp, đòi hỏi phải thực hiện thêm một bước nữa để ngăn ngừa sự kết tụ của các hạt. Ngoài ra, trong quá trình tổng hợp, quá nhiều sản phẩm phụ độc hại và nguy hiểm bị loại bỏ. Nghiên cứu trước đây cho thấy các chất khử rắn như borohydride tạo ra các hạt nhỏ, được phân tán đơn ở một mức độ nào đó. Tuy nhiên, việc sản xuất các hạt lớn hơn có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các chất khử thấp như citrate, có tốc độ khử giảm. Do đó, độ phân tán kích thước có thể rộng. Các chiến lược hóa học sử dụng tổng hợp tế bào hóa học, phá hủy bằng laser, quang khắc, khử điện hóa, chiếu xạ laser, phân hủy bằng sóng siêu âm, phân hủy nhiệt và khử hóa học. Hơn nữa, các NP kim loại được chuẩn bị phân tán và không ổn định có thể được ổn định bằng cách sử dụng các tác nhân bảo vệ cụ thể. Phương pháp quen thuộc này được sử dụng để bảo vệ các NP với sự trợ giúp của các tác nhân bảo vệ sẽ liên kết hoặc được hấp thụ trên bề mặt của các NP để ngăn ngừa sự tích tụ.

Ví dụ, AgNP có thể được khử bằng cách sử dụng natri borohydrate và dodecanethiol cho NP ổn định ngăn ngừa sự kết tụ của chúng trong một số dung môi nhất định [41]. Điều này cho thấy rằng một sửa đổi tối thiểu trong các thông số được pha chế sẽ dẫn đến sự thay đổi có giá trị về chiều rộng, phân bố kích thước, kích thước trung bình, độ ổn định và hình dạng của vật liệu nano. Nhìn chung, các polyme như polymethyl methacrylate, polyvinyl pyrrolidone, axit polymethacrylic, polyethylene glycol và các loại khác được sử dụng làm chất ổn định để sản xuất NP vàng.

Hơn nữa, một polyme methylene-bis-acrylamide aminoethyl piperazine phân nhánh có nhóm dimethylamine đầu cuối (HPAMAM-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) đã được sử dụng để thu được keo bạc và vàng. Vòng piperazine, nhóm amin bậc ba và amide truyền hình dạng phân nhánh cho HPAMAM-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> và do đó rất quan trọng vì khả năng ổn định và khử bổ sung mà chúng mang lại cho NP. NP kim loại có thể thu được với các tính chất đặc biệt như tỷ lệ phân phối thấp và hẹp do tăng nồng độ tỷ lệ mol của vàng và bạc. AgNP có thể được tổng hợp bằng cách sử dụng hai pha (nước/hữu cơ) dựa trên việc cô lập các chất phản ứng trong dung môi không trộn lẫn. Tốc độ phản ứng của chất khử và tiền chất của

kim loại được xác định bởi sự tiếp xúc của lớp ranh giới và sự phân phối liên pha giữa pha tự nhiên và pha nước. Phản ứng này được tạo điều kiện thuận lợi bởi muối alkylammonium có bản chất bậc bốn. Phương pháp này cung cấp cho chúng ta một chế phẩm NP cụ thể và tương tự, thông qua loại dung môi được sử dụng. Việc sản xuất AgNP có thể rất tốn kém thông qua phương pháp này và NP được tạo ra không thể được phân lập khỏi hỗn hợp phản ứng. Các hạt tổng hợp thông qua phương pháp này có những lợi ích như chúng nhanh chóng mở ra trong môi trường tự nhiên, tạo thành keo ổn định trong môi trường không chứa nước và xúc tác các phản ứng diễn ra trong dung môi không phân cực. Các ứng dụng thực tế của chúng đang thu hút sự quan tâm rất lớn và đang có những nỗ lực để kết hợp NP trong các môi trường hóa học-vật lý khác nhau. Tuy nhiên, dung dịch được hình thành trong dung môi không phân cực là rất hiếm. Do đó, tốt nhất là thực hiện quá trình khử Quang trong các ion kim loại phức hợp DNA xảy ra, tạo ra NP rắn kim loại. AgNP được tổ chức thông qua kỹ thuật này có các đặc tính tiến tiến nếu được chiếu xạ bằng tia cực tím **[42]**.

#### 1.4.1.3 Tổng hợp nano bạc bằng phương pháp sinh học

Các phương pháp tổng hợp sinh học là giải pháp thay thế thuận tiện nhất để khắc phục những thiếu sót liên quan đến các phương pháp tổng hợp hóa học. Tổng hợp AgNP theo phương pháp sinh học xanh có kỹ thuật đơn giản, hiệu quả về giá trị, đáng tin cậy và thân thiện với môi trường; một lợi thế khác là dễ dàng lựa chọn môi trường dung môi trong loại phương pháp (Hình 1.7). Sự chú ý đặc biệt đã được dành cho việc sản xuất AgNP có kích thước và hình dạng xác định. Các hệ thống sinh học đa dạng như chiết xuất thực vật và các vi sinh vật như nấm, vi khuẩn và các phân tử sinh học nhỏ như vitamin và axit amin được sử dụng làm nguồn thay thế cho các tác nhân khử và đóng nắp. Ví dụ, việc chuẩn bị AgNP bằng cách sử dụng tinh bột làm chất trung gian phủ có thể hoạt động như một tác nhân khử ( $\beta$ -D-glucose trong một cụm hơi nóng) **[43].** 



Hình 1.7. Tổng hợp Ag-NPs theo phương pháp sinh học sử dụng chiết xuất thực vật làm chất khử [65]

Dung dịch tinh bột nước được sử dụng làm dung môi để điều chế AgNP nhằm tránh dung môi hữu cơ. Một nghiên cứu được báo cáo cho thấy có thể điều chế được một lượng AgNP đáng kể bằng cách sử dụng dung dịch ion bạc (Ag<sup>+</sup>) trong nước với *Bacillus licheniformis* làm chất ổn định. Việc chế tạo AgNP ổn định với sự trợ giúp của phương pháp sinh học sử dụng vi sinh vật có lợi thế hơn so với các kỹ thuật khác vì các sinh vật được sử dụng không gây bệnh. Các phân tử sinh học khác, bao gồm polyme sinh học, tinh bột, enzyme tiêu fibrin và axit amin, cũng được sử dụng để chế tạo AgNP. Tổng hợp xanh sử dụng chiết xuất từ các loại thực vật khác nhau làm nguồn chất đóng nắp và chất khử trong quá trình điều chế AgNP; người ta cho rằng các phân tử sinh học, đặc biệt là các chất chuyển hóa thứ cấp trong các chất chiết xuất thực vật cũng đóng vai trò thiết yếu như một chất khủ Ag<sup>+</sup> và như một tác nhân kiểm soát kích thước để tạo thành AgNP. Các nhóm chức năng như nhóm carboxyl (COOH) được tìm thấy trong các gốc glutamine và aspartic và nhóm OH của các gốc tyrosine được coi là có tác dụng ổn định ion Ag và tạo ra các tấm nano nhỏ Ag có một chút đa phân tán.

#### 1.4.4.4 Tổng hợp nano bạc bằng phương pháp quang hóa

Có hai loại chiến lược được sử dụng để tổng hợp quang hóa: quang vật lý (từ trên xuống dưới) và quang hóa (từ dưới lên trên). Kỹ thuật đầu tiên sử dụng kim loại ở dạng kim loại của chúng, và kỹ thuật thứ hai sử dụng tiền chất ion của chúng. Kỹ thuật khử quang trực tiếp cũng được sử dụng để tổng hợp NP của nhiều kim loại khác nhau. Quá trình nhạy sáng được sử dụng để điều chế AgNP, trong đó quá trình khử ion kim loại xảy ra

với các loài kích thích được tạo ra bằng quang hóa. Nhiều nguồn sáng khác nhau như xanh lam, UV, trắng, cam, xanh lục và lục lam cho phép thực hiện quy trình khử quang trực tiếp trong bạc nitrat khi có natri citrat ở nhiệt độ phòng. Các tính chất quang học cụ thể liên quan đến kích thước và hình dạng của NP là do các nguồn sáng khác nhau. AgNP ổn định có thể được tổng hợp thông qua một kỹ thuật quang hoạt hóa UV đơn giản và có thể tái tạo trong môi trường Triton X-100 dạng nước. Các phân tử Triton X-100 đóng vai trò kép tương tự như chất ổn định NP thông qua hoạt động đóng nắp và như một chất khử. Tương tự như vậy, kỹ thuật kiểm soát phân tán trong đó dung dịch chất hoạt động bề mặt cho phép NP phát triển và phục hồi phân bố kích thước của NP. Một nghiên cứu khác đã tiết lô việc chuẩn bị thành công AgNP, trong khi dung dịch kiềm bac nitrat trong nước được xử lý bằng chitosan carboxymethyl hóa dưới sự chiếu xạ của tia cực tím. Dẫn xuất chitosan, chitosan carboxymethyl hóa (CMCTS), tương thích sinh học, tan trong nước và đóng vai trò là chất khử cho Ag<sup>+</sup> và chất ổn định cho NP bạc trong phạm vi độ dày từ 2-8 nm. Các yếu tố liên quan của kỹ thuật tổng hợp quang hóa là (i) cung cấp quá trình xử lý cảm ứng quang theo cách khử trùng, khả năng tiếp cận cao hơn và độ phân giải sử dụng tốt hơn; (ii) tạo ra chất khử và sản xuất NP một cách thỏa đáng với sự hỗ trợ của việc sử dụng chiếu xạ quang; (iii) tính linh hoạt đáng kể. Quá trình tổng hợp quang hóa cho phép chúng tôi tạo ra các hạt NP trong một môi trường độc đáo như nhũ tương, micelle chất hoạt động bề mặt, màng polyme, tế bào và kính [44].

## 1.4.2 Ứng dụng nano bạc trong điều trị ung thư

Ung thư là một căn bệnh đe dọa tính mạng nghiêm trọng và cứ ba người thì có một người có thể mắc ung thư trong đời. Mặc dù để điều trị nhiều loại ung thư khác nhau, hiện nay có nhiều tác nhân hóa trị liệu khác nhau với nhiều tác dụng phụ và cụ thể là việc tiêm tĩnh mạch các tác nhân hóa trị liệu là một phương pháp không đủ. Do đó, điều cần thiết và là điểm đáng quan tâm đối với các nhà nghiên cứu là tạo ra vật liệu nano không có tác dụng phụ và nhắm mục tiêu chính xác vào các tế bào hoặc mô mong muốn. Các hoạt động chống ung thư trong cả hệ thống mô hình trong ống nghiệm và trong cơ thể sống đã được báo cáo **[45]**.

Hơn nữa, kết quả hiệp đồng về chết tế bào khi sử dụng tế bào biểu hiện enzyme uracil phosphoribosyl (UPRT) và tế bào không biểu hiện UPRT khi có fluorouracil và việc gây apoptosis và nhạy cảm hóa tế bào ung thư bằng AgNP đã được nghiên cứu. Chúng cho thấy đặc tính chống ung thư khi được phủ tinh bột như đã nghiên cứu trong tế bào nguyên bào sợi phổi người khỏe mạnh (IMR-90) và tế bào glioblastoma (U251). Những

thay đổi về hình thái tế bào, hoạt động trao đổi chất giảm, khả năng sống của tế bào và các loài oxy phản ứng tích tụ (ROS) đã được gây ra bởi AgNP.

Song và cộng sự [46] đã chuẩn bị các hạt nano từ tính nhúng bạc đa chức năng; các hạt nano từ tính được bao bọc bằng silica tạo ra các tín hiệu tán xạ Raman rắn tăng cường bề mặt để nhắm mục tiêu vào các tế bào ung thư vú và các tế bào bệnh bạch cầu trôi nổi. Một nghiên cứu cho thấy các phân tử mang được phát triển như chitosan có thể đưa bạc đến các tế bào ung thư thay vì sử dụng trực tiếp AgNP. Tương tự như vậy, Ullah đã chứng minh rằng ở nồng độ thấp, việc đưa chất mang nano dựa trên chitosan của AgNP có thể gây ra apoptosis [47]. Tương tự như vậy, hai nghiên cứu riêng lẻ đã chỉ ra rằng các tam giác nano bạc phủ chitosan cải thiện tỷ lệ tử vong của tế bào và sở hữu hoạt tính gây độc tế bào đáng kể trong các tế bào bệnh bạch cầu tủy cấp tính. Các hạt nano NP sử dụng chiết xuất từ vi khuẩn và nấm đã chứng minh được tính độc tế bào đáng kể trong các tế

Tổng hợp AgNPs qua trung gian chiết xuất thực vật đã cho thấy độc tính chọn lọc đặc hiệu tế bào của các tế bào ung thư ở phổi người. Một nghiên cứu khác được báo cáo cho thấy rằng việc phân phối có mục tiêu có thể là một phương pháp quan trọng để điều trị ung thư. Để giải quyết vấn đề này, Locatelli **[48]** đã phát triển các nanocomposite đa chức năng bao gồm các NP hợp chất (PNP) và AgNP. PNP liên hợp với chlorotoxin cho thấy mối quan hệ liều lượng–hiệu ứng không tuyến tính, trong khi độc tính của chlorotoxin vẫn ổn định. AgNP tổng hợp sinh học thể hiện độc tính quan trọng đối với các tế bào ung thư (MCF7 và T47D) thông qua hoạt động nội bào cao hơn so với dòng tế bào vú thông thường (MCF10-A).

# 1.5 HIỆN TRẠNG CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU TRONG NƯỚC VÀ NGOÀI NƯỚC

## 1.5.1 Trong nước

Tại Việt Nam, nhiều nghiên cứu đã được phát triển cho các hệ phân phối thuốc điều trị ung thư, bao gồm hạt kích thước nano, dendrimer, micelle, liposome,... như nghiên cứu từ các nhóm của Phó Giáo sư, Tiến sĩ Hà Phương Thư, Phó Giáo sư Trần Ngọc Quyển, Phó Giáo sư Nguyễn Đại Hải và Giáo sư Nguyễn Cửu Khoa.

Nhóm nghiên cứu của PGS. TS Hà Phương Thư đã phát triển nhiều hệ nano bao thuốc chống ung thư khác nhau, sử dụng phối tử hướng đích như folic axit giúp tăng cường hiệu quả điều trị rõ rệt so với thuốc ung thư tự do. Có thể kể đến hệ nano sắt từ được

bao bọc bởi O-Carboxyl methylchitosan để tải curcumin (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/OCMCS/Cur NPs) gắn axit folic với mục đích tăng hiệu quả nhắm mục tiêu tế bào ung thư. Kết quả cho thấy rằng hệ nano Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/OCMC/Cur được gắn folate sẽ nằm tại các khối u và dưới từ trường bên ngoài, chúng sẽ tạo ra nhiệt làm tăng nhiệt độ trong khối u, giúp tiêu diệt khối hiệu quả. Do đó, hệ nano này có thể phục vụ như một sự kết hợp thích hợp của hóa trị liệu và điều trị tăng thân nhiệt. Đặc biệt, gần đây nhóm nghiên cứu đã cho ra đời sản phẩm thương mại phức hệ Nano FGC – Nano Fucoidan hoặc Nano Curcumin giúp tăng khả năng miễn dịch, ức chế sự phát triển của ung thư, làm giảm độc tính trong quá trình hóa, xạ trị. Nhóm nghiên cứu của PGS. TS Trần Ngọc Quyển và Nguyễn Đại Hải thuộc Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng phát triển các hệ dẫn truyền thuốc dựa trên vật liệu silica xốp hoặc dendrimer biến tính bề mặt với PEG, không những giúp cải thiện khả năng hòa tan thuốc mà còn tăng khả năng tương thích sinh học của hệ thống dẫn tryền thuốc so với thuốc ung thư tự do.

#### 1.5.2 Trên thế giới

Năm 2020, Pamela Nair Silva-Holguin và cộng sự đã điều chế và mô tả đặc tính của nanocomposite hydroxyapatite-Ag và đánh giá đặc tính kháng khuẩn của nó chống lại các vi khuẩn gram dương và âm khác nhau liên quan đến nhiễm trùng kháng thuốc. Bột nano hydroxyapatite được sản xuất bằng sol-gel và các hạt nano bạc được tổng hợp bằng cách khử các ion Ag<sup>+</sup> với việc bổ sung galic acid **[49]**.

Cùng năm 2020, Bing Bing Wang và cộng sự đã chế tạo thành công lớp phủ kháng khuẩn hiệu quả cao bằng hạt nano polydopamine/chitosan/bạc thông qua phương pháp ngâm đơn giản. Việc chuẩn bị bao gồm sự kết tủa đồng thời của polydopamine (PDA) và chitosan (CS) trong dung dịch acid và sau đó ngâm vào dung dịch bạc nitrat (AgNO<sub>3</sub>).

Năm 2021, Hanaa Ali Husein và cộng sự đã tổng hợp hệ phân phối thuốc mới dựa trên hạt nano bạc, hyaluronic acid, lipid và liposome để điều trị ung thư. Tuy nhiên, thuốc có độ hòa tan thấp gặp vấn đề về phân phối dược phẩm sinh học như việc sau khi uống vào thì khả năng tiếp cận sinh học thấp, khả năng lây lan ra màng ngoài ít hơn, yêu cầu lượng tiêm tĩnh mạch cao hơn và các tác dụng phụ không mong muốn từ quá trình tiêm chủng. Tất cả những hạn chế được khắc phục bằng cách áp dụng công nghệ nano. AgNP có thể được sử dụng như các chất vận chuyển thuốc da chức năng có tiềm năng lớn phân phối thuốc mục tiêu, giảm tác dụng phụ và tăng cường hiệu quả. HA có khả năng phân hủy sinh học tốt, không gây miễn dịch, tương thích sinh học và khả năng

nhận biết các thụ thể cụ thể như CD44 được biểu hiện cao trên bề mặt tế bào ung thư, để thuốc có thể nhắm mục tiêu và tiêu diệt các tế bào khối u. Phối tử HA cho phép phủ AgNP để giảm độc tính tế bào và tăng độ ổn định. Các tác nhân hóa trị được bao bọc bằng cấu trúc liposome có thể hạn chế sự hấp thu mô bình thường của quá trình điều trị và nâng cao tác dụng chữa bệnh [50].

Năm 2024, An Le Yang và đồng sự đã tổng hợp thành công Hydrogel polysaccharide chứa hạt nano Ag@catechol dạng vi cầu có hoạt tính quang nhiệt, kháng khuẩn và chống viêm để chữa lành vết thương bị nhiễm trùng. Trong nghiên cứu này, các vi cầu nhựa nano Ag@catechol formaldehyde (Ag@CFR) được chế tạo bằng phương pháp thủy nhiệt một bước và sau đó được bao bọc trong hydrogel được tổng hợp bằng phản ứng bazơ Schiff giữa các nhóm aldehyde trong hyaluronic acid bị oxy hóa và các nhóm amino trong carboxymethyl chitosan.

## CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU 2.1 ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

- Sodium hyaluronate (HA, molecular weight = 20 kDa) được mua từ hãng Lifecore Biomedical (Chaska, MN, USA).

- 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide (EDC), N-hydroxy-succinimide (NHS), dopamine hydrochloride (DOPA), tris(hydroxymethyl)amino-methane (Tris), silver nitrate (AgNO<sub>3</sub>, ≥ 99%) được mua từ hãng Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).
- Doxorubicin hydrochloride (DOX) được mua từ hãng TCI (Tokyo, Japan).

- Penicillin-streptomycin (P/S), trypsin/ethylenediaminetetraacetic acid (TE), Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), and Dulbecco's phosphate-buffered saline (DPBS) được mua từ hãng Gibco BRL (Grand Island, NY, USA).

- Bộ xét nghiệm khả năng sống sót của tế bào EZ-Cytox (WST-1 assay reagent) được mua từ hãng ITSBIO (Seoul, South Korea).

- Các bộ kit dùng trong Invitrogen được mua từ Califonia, Mỹ. Ngoài ra các hóa chất và dung khác được cung cấp bởi phòng Hóa Sinh, Viện Khoa học Vật liệu và Ứng dụng.

## 2.2 PHƯỜNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.2.1 Quy trình nghiên cứu



Sơ đồ 2.1. Sơ đồ quy trình nghiên cứu

## 2.2.2 Tổng hợp và mô tả đặc tính liên hợp của Hyaluronic acid-dopamine (HA-DOPA)

Polyme HA-DOPA được tổng hợp bằng cách liên hợp hóa học DOPA với khung HA, sử dụng phản ứng ghép nối qua trung gian EDC/NHS như mô tả trước đây. Tóm lại, 1g HA được hòa tan trong 100ml dung dịch đệm MES 0.1M (pH 4.5). Trong dung dịch này, EDC (2.88g, 15mmol) và NHS (1.74g, 15 mmol) được thêm vào và hỗn hợp này được khuấy trong 1 giờ để kích hoạt các nhóm carboxylic của HA. Sau đó, DOPA (3.7g, 20mmol) được thêm vào dung dịch HA đã hoạt hóa và khuấy qua đêm ở nhiệt độ phòng. Sau phản ứng, dung dịch thu được được thẩm tách bằng nước khử ion (DIW) trong 24 giờ với sự có mặt của khí nito để loại bỏ các thuốc thử không phản ứng. Sau đó, dung dịch thẩm tách được lọc và đông khô để thu được sản phẩm HA-DOPA cuối cùng. Cấu trúc hóa học của HA-DOPA được đặc trưng bằng quang phổ 1H-NMR (dụng cụ AS400, OXFORD, UK). Độ hấp thụ của dung dịch HA-DA (1 mg/mL) được đo ở bước sóng 275 nm, sử dụng phương pháp quang phổ UV-Vis (V-750 UV/vis/NIR, Jasco, Japan), và nồng độ DA liên hợp được tính toán từ phép hiệu chuẩn cong thu được từ nồng độ DA đã biết (0.01 – 0.1 mg/mL). Quy trình được thể hiện trong hình 2.1.



## Hình 2.1. Phương pháp tổng hợp liên hợp của Hyaluronic acid-dopamine (HA-DOPA)

#### 2.2.3 Tổng hợp và mô tả đặc tính của Ag NPs@HA và Ag NPs@HA/DOX

1mL AgNO<sub>3</sub> (20 mg/mL) được trộn với 10ml dung dịch HA-DA (10mg/mL). Hỗn hợp này được khuấy mạnh ở nhiệt độ 37°C trong điều kiện tối, qua đêm. Sau đó, hỗn hợp được ly tâm trong 15 phút với tốc độ 10000 vòng/phút, rửa bằng DIW 3 lần, sau đó đông khô và bảo quản cho đến khi sử dụng (hình 2.2). Các hạt nano Ag NPs@HA thu được được hòa tan trong DIW ở nồng độ 1 mg/mL và độ hấp thụ của dung dịch được đo trong khoảng từ 200 đến 600 nm. Kích

thước hạt và hình thái của các hạt được đo bằng hệ thống tán xạ ánh sáng động (Zetasizer Nano ZS, Malvern Instruments Ltd., UK) và kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM, JEOL, Japan).



Hình 2.2. Phương pháp tổng hợp Ag NPs@HA/DOX

Để nạp DOX (Ag NPs@HA/DOX), 1mL dung dịch DOX (2mg/mL) (dung dịch C) được nhỏ vào hỗn hợp HA-DA (dung dịch A) và AgNO<sub>3</sub> (dung dịch B) và phản ứng được thực hiện như mô tả ở trên. Thí nghiệm được khảo sát ở các tỷ lệ dung dịch A:B:C khác nhau, lần lượt là 5:1:1, 10:1:1 và 15:1:1. Cần lưu ý rằng tất cả các dung dịch đều được chuẩn bị trong dung dịch đệm Tris (pH 8.5). Để xác định DOX không tải, phần nổi phía trên của dung dịch ly tâm được phân tích bằng cách đo phổ UV-Vis ở bước sóng 480nm. Hiệu suất nạp thuốc được tính theo công thức sau:

Hiệu quả nạp thuốc (%) = 
$$rac{ ext{Số lượng DOX ban đầu} - Số lượng DOX không tải được}}{ ext{Tổng số lượng DOX}} X100\%$$

## 2.2.4 Quá trình giải phóng DOX

1 mL hạt nano nạp DOX (Ag NPs@HA/DOX) và DOX tự do có cùng lượng trong chất mang nano được phân tán trong dung dịch PBS, sau đó được chuyển vào túi lọc (MWCO=3500 Da). Các túi lọc máu được ngâm trong 5 mL dung dịch đệm PBS có độ pH 7.4 hoặc 5 và khuấy nhẹ ở 37°C trong điều kiện tối. Vào những thời điểm xác định trước, lấy 1 mL môi trường ra, thay thế bằng 1 mL môi trường mới và bảo quản ở -20°C. Lượng DOX được giải phóng được xác định bằng cách đo quang phổ UV ở bước sóng 480nm. Để tính nồng độ DOX, chúng tôi đã đo độ hấp thụ của nồng độ DOX đã biết (0 – 100 ppm) và lượng giải phóng DOX được hiệu chỉnh từ đường cong chuẩn. Tỷ lệ phần trăm tích lũy của việc phóng thích DOX được tính theo phương trình sau:

 $Phần trăm giải phóng thuốc tích lũy (\%) = \frac{\text{Lượng DOX được phóng thích}}{\text{Lượng DOX đã nạp}} X100\%$ 

#### 2.2.5 Sự phân hủy enzyme của các hạt nano trong phòng thí nghiệm

Các hạt Ag NPs@HA/DOX được điều chế trong dung dịch đệm PBS (pH 7.4) ở nồng độ 2 mg/mL. Sau đó, 2 mL dung dịch hạt được trộn với 1 mL dung dịch PBS chứa hyaluronidase ở các nồng độ khác nhau (0.5 - 2 mg/mL) và ủ ở 37°C. Tại một thời điểm xác định trước, sự thay đổi đường kính của hạt nano được nghiên cứu bằng phép đo DLS.

#### 2.2.6 Độc tính tế bào trong phòng thí nghiệm

Độc tính tế bào của Ag NPs@HA được đánh giá đối với các tế bào bình thường (nguyên bào sợi ở da người, hDFB) và tế bào ung thư (HELA), bằng cách sử dụng xét nghiệm WST-1. Tóm lại, các tế bào (104 tế bào mỗi ống) được nuôi cấy trong đĩa 96 ống với 200 µL DMEM được bổ sùng 10% FBS và 1% P/S trong điều kiện nuôi cấy tiêu chuẩn ( $37^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub>). Sau 24 giờ nuôi cấy, môi trường được loại bỏ và tế bào được ủ với 200 µL DMEM chứa các nồng độ Ag NPs@HA khác nhau (0 – 200 ppm) trong 24 giờ nữa. Sau đó, 20 µL WST-1 được thêm vào từng ống mẫu và các tế bào được ủ trong 1 giờ. Độ hấp thụ ánh sáng (A) của dung dịch được đo ở bước sóng 450nm bằng đầu đọc vi bản. Tỷ lệ phần trăm khả năng sống của tế bào được tính bằng phương trình:

Khả năng sống của tế bào (%) = 
$$\frac{A_{m\tilde{a}u} - A_{trống}}{A_{dối chúng} - A_{trống}} X100\%$$

Trong đó A<sub>mẫu</sub>, A<sub>đối chứng</sub> và A<sub>trống</sub> lần lượt là độ hấp thụ ánh sáng của các tế bào được xử lý bằng Ag NPs@HA, DMEM và môi trường DMEM nguyên chất (không có tế bào).

#### 2.2.7 Khả năng hấp thụ tế bào trong ống nghiệm

Nghiên cứu kính hiển vi quét laser cộng hưởng (CLSM) được thực hiện để phân tích hành vi hấp thụ nội bào của Ag NPs@HA/DOX. Đầu tiên, các tế bào HELA được gieo trên một tấm kính trong một đĩa 12 giếng (2 x 105 tế bào mỗi giếng) và ủ với 2 mL môi trường nuôi cấy ở điều kiện tiêu chuẩn (37°C, 5% CO<sub>2</sub>) trong 24 giờ để cho phép tế bào bám dính. Sau đó, môi trường nuôi cấy được loại bỏ và các tế bào được xử lý bằng môi trường mới chứa DOX tự do (10  $\mu$ g/mL) hoặc Ag NPs@HA/DOX trong 4 giờ nữa. Các tế bào không được xử lý sẽ được sử dụng làm mẫu đối chứng. Sau đó, các tế bào đã xử lý được rửa 3 lần bằng PBS và cố định bằng paraformaldehyde 4% trong 20 phút. Sau đó, các tế bào cố định được rửa 3 lần bằng PBS và nhuộm bằng DAPI (đối với nhân) trong 15 phút. Cuối cùng, các tế bào được quan sát và chụp ảnh bằng kính hiển vi quét

laser cộng hưởng (LSM780NLO, Zeiss, Đức), trong đó DOX và DAPI được hiển thị lần lượt bằng màu đỏ và xanh lam.

## 2.2.8 Mô hình hình cầu ung thư 3D trong ống nghiệm

Đối với xét nghiệm hình cầu khối u 3D, HELA (103 tế bào mỗi ống) được nuôi cấy trong đĩa tròn 96 ống (đĩa nổi tế bào, SPL3D) với 200 μL DMEM glucose cao được bổ sung 10% FBS và 1% P/S dưới điều kiện nuôi cấy tiêu chuẩn (37°C, 5% CO<sub>2</sub>). Môi trường được làm mới mỗi ngày cho đến khi hình thành được hình cầu ổn định. Sau đó, hình cầu 3D được nuôi cấy trong môi trường DMEM chứa các nồng độ Ag NPs@HA/DOX khác nhau (0.1 và 2 mg/mL) tối đa trong 3 ngày. Hình thái hình cầu được đánh giá bằng cách sử dụng bộ xét nghiệm khả năng sống/chết/độc tế bào (Invitrogen, USA) vào ngày 1 và ngày 3. Tóm lại, tại các khoảng thời gian, các hình cầu được quan sát định tính bằng kính hiển vi huỳnh quang (TE2000, Nikon, Japan). DOX tự do (10 μg/mL) được sử dụng làm đối chứng dương.

## 2.2.9 Khả năng ức chế khối u trên mô hình động vật

Để đánh giá hiệu quả điều trị của Ag NPs@HA/DOX trong việc ức chế sự phát triển của khối u, mô hình chuột xenograft HELA tiêm dưới da đã được sử dụng. Những con chuột mang khối u được chuẩn bị bằng cách cấy dưới da nhưng con chuột có 1x106 tế bào HELA. Khi kích thước khối u đạt xấp xỉ 100 mm<sup>3</sup>, nhiều phương pháp điều trị khác nhau đã được thực hiện. Những con chuột mang khối u HELA được chia ngẫu nhiên thành 3 nhóm (n = 6 mỗi nhóm): (i) kiểm soát mà không cần điều trị, (ii) điều trị với DOX tự do (0.15 mg/100  $\mu$ L) và (iii) điều trị với Ag NPs@HA/DOX (10 mg/100  $\mu$ L). Các phương pháp điều trị được tiến hành thông qua tiêm tĩnh mạch đuôi vào ngày 0 và lặp lại vào ngày 4 (đối với DOX tự do) và ngày 7 (đối với Ag NPs@HA/DOX). Kích thước khối u được theo dõi trong thời gian thử nghiệm. Khối lượng khối u được tính theo phương trình:

Thể tích khối u (V) = (chiều dài khối u) x (chiều rộng khối u)<sup>2</sup>/2

Sau 14 ngày điều trị, nhưng con chuột bị chết và các khối u được thu hoạch để phân tích những thay đổi về mô học.
## CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ BIỆN LUẬN 3.1 KẾT QUẢ TỔNG HỢP HA-DOPA

Dopamine được liên hợp với mạch chính của HA thông qua phản ứng ghép nối trung gian EDC/NHS, để cung cấp các nhóm catechol cho quá trình tổng hợp AgNP (Hình 3.1A). Chất hoạt hóa phổ biến nhất là 1-ethyl-3[-(3-dimethylaminopropyl)] carbodiimide (EDC) được sử dụng kết hợp với 1-hydroxybenzotriazole (HOBt) hoặc N-hydroxysulfosuccinimide (NHS). Phản ứng ghép nối EDC thường được thực hiện trong nước, đệm có tính axit hoặc nước trộn với dung môi hữu cơ. Phản ứng diễn ra trong điều kiện nhẹ (nhiệt độ thấp, thời gian phản ứng ngắn) và phụ thuộc nhiều vào độ pH. Một trong những ưu điểm của EDC là khả năng biến đổi một loạt các trọng lượng phân tử HA trong nước. Không dùng HOBt vì HOBt dễ nổ ở dạng khan, điều này dẫn đến việc khó sản xuất ở quy mô lớn. Phản ứng hoạt hóa trung gian bởi carbodiimide bao gồm sự hình thành dẫn xuất ure nhưng sẽ có nhiều phản ứng phụ có thể xảy ra.

Phản ứng amid hóa HA qua trung gian EDC/NHS đã được một số nhóm thực hiện, họ gắn axit adipic dihydrazide (ADH) trong nước khử ion có pH là 4,75. Quá trình điều chế HA-ADH cũng được thực hiện trong nước khử ion có pH từ 4,0 – 6,0 với axit clohydric pha loãng 0.1M và được sử dụng làm chất trung gian để tổng hợp các dẫn xuất lưỡng tính, liên kết ngang HA tự thân, liên kết ngang với polyme thứ hai hoặc để gắn các chất thay thế khác như streptomycin, để tạo tính kháng khuẩn cho chế phẩm. Yang và cộng sự đã báo cáo về sự điều biến của đại thực bào bằng hydrogel HA-ADH-HA tự liên kết ngang chưa paeoniflorin (PF). Phần cacboxylic của HA được hoạt hóa bởi EDC/NHS và phản ứng với ADH ở pH = 4,75. Luo và cộng sự đã tổng hợp một dẫn xuất từ HA và ADH thông qua trung gian EDC/HOBt trong nước trộn với DMSO. Hydroxyethyl cellulose (HEC) bị oxy hóa bởi NaIO<sub>4</sub> do đó độ oxy hóa tăng từ 30,3 lên 68,5% bằng cách tăng tác nhân oxy hóa. Tuy nhiên, các gel loại này có độc tính nhẹ.

Cao và cộng sự đã biến đổi HA bằng EDC với cysteamine hydrochloride (CYS) trong đệm MES (2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid) trong 2 giờ ở pH = 4,75. DS được xác định ở mức khoảng 40%. HA tự liên kết chéo được kết hợp với collagen I để chế tạo các khung hướng tới sự biệt hóa sinh sụn của tế bào gốc trung mô. Hỗn hợp dịch tế bào gốc trung mô tủy xương được phân lập từ thỏ trắng New Zealand được nhỏ lên bề mặt vật liệu (khung 2D). Những kết quả này được so sánh với các khung 3D được chuẩn bị bằng cách phân tán các tế bào. Mặc dù các hydrogel thể hiện các tính chất cơ học kém nhưng các khung này thúc đẩy sự tăng sinh tế bào trong ống nghiệm.

Một phản ứng khác được sử dụng rộng rãi trên nhóm carboxyl là phản ứng este hóa Steglich. Trong phản ứng này, DCC được kết hợp với 4-dimethyl-aminopyridine (DMAP). DCC là tác nhân kết hợp được sử dụng trong dung môi hữu cơ (DMSO, DMF hoặc formamide), nhược điểm là khó khăn trong việc sản xuất quy mô công nghiệp do giá dung môi hữu cơ cao và quá trình tái xử lý dung môi. Ví dụ, Sharma và cộng sự đã sử dụng phản ứng este hóa HA với curcumin bằng cách sử dụng nước/DMSO [63].

Biến đổi hóa học của nhóm carboxyl có thể làm giảm các đặc tính sinh học của polysaccharide in vivo. Do đó, biến đổi ở phần hydroxyl được ưu tiên. Đặc biệt, amid hóa là một trong những phản ứng phổ biến nhất được thực hiện ở phần carboxyl HA. Lý do nhóm chúng tôi sử dụng DOPA thay vì dùng các chất khác bởi vì trong những năm gần đây, việc ứng dụng các chất nền sinh học kết dính làm băng vết thương đã thu hút được sự quan tâm rộng rãi. Những vật liệu này lấy cảm hứng từ trai – một sinh vật biển tiết ra một lượng đáng kể 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA). Các nhóm di- hydroxyl giúp trai đạt được độ bám dính ướt [**51**]. Polydopamine tăng cường độ gel G'= 98,6  $\pm$  1,6 Pa lên 162,70  $\pm$  2,2 Pa. Các tế bào được nuôi cấy trong hydrogel tăng cường sản xuất các ống mao dẫn [**52**].

Từ những ưu nhược điểm đã phân tích ở trên, chúng tôi đưa ra quy trình tổng hợp HA-DOPA như sau: HA được hòa tan trong dung dịch đệm MES ở pH 4.5. Trong dung dịch này, EDC và NHS được thêm vào và hỗn hợp này để kích hoạt các nhóm carboxylic của HA. Sau đó, DOPA được thêm vào dung dịch HA đã hoạt hóa và khuấy qua đêm ở nhiệt độ phòng. Sau phản ứng, dung dịch thu được được thẩm tách bằng nước khử ion (DIW) với sự có mặt của khí nito để loại bỏ các thuốc thử không phản ứng. Sau đó, dung dịch thẩm tách được lọc và đông khô để thu được sản phẩm HA-DOPA cuối cùng. Cấu trúc hóa học của HA-DOPA được đặc trưng bằng quang phổ 1H-NMR. Độ hấp thụ của dung dịch HA-DA được đo ở bước sóng 275 nm, sử dụng phương pháp quang phổ UV-Vis, và nồng độ DA liên hợp được tính toán từ phép hiệu chuẩn cong thu được từ nồng độ DA đã biết (0.01 - 0.1 mg/mL).

Kết quả phổ 1HNMR cho thấy liên hợp DOPA thành công thông qua sự xuất hiện của proton thơm của catechol ở 6,8 – 7,3 ppm (Hình 3.1B). Phổ UV-Vis cũng xác nhận liên hợp HA-DOPA bằng cách hiển thị đỉnh DOPA ở bước sóng 280 nm (Hình 3.1C). Theo đường chuẩn thu được từ nồng độ DOPA có sẵn, độ thay thế của DOPA được xác định là 259,2 µmol trong 1g HA-DOPA.



Hình 3.1. (A) Sơ đồ biểu diễn quá trình tổng hợp HA-DOPA thông qua nhóm catechol của HA;

(B) Phổ 1H-NMR (trong D<sub>2</sub>O); (C) Phổ hấp thụ UV-Vis của liên hợp HA-DOPA;

## 3.2 KẾT QUẢ TỔNG HỢP AG NPS@HA VÀ AG NPS@HA/DOX

Các hạt nano vàng được biến đổi bằng HA, polyethylene glycol (PEG) và adipic dihydrazide (ADH). Thuốc chống khối u doxorubicin (DOX) được nạp vào các chất mang AuNP và gắn kết hóa học. Au nanocomposite AuNPs@MPA-PEG-HA-ADH-DOX có thể phân tán đồng đều trong dung dịch nước, có đường kính 15 nm. Kết quả của xét nghiệm 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) chỉ ra rằng các chất mang AuNP thể hiện riêng các hạt nano vàng có độc tính nhẹ ở nồng độ cao. Các thí nghiệm hấp thụ tế bào đã chứng minh rằng AuNP được biến đổi bằng HA dễ dàng được các tế bào HepG2 và HCT-116 hấp thụ hơn vì chúng có nhiều thụ thể CD44. Một loạt các thí nghiệm đo apoptosis như nhuộm Rh123 và annexin V-FITC, và phân tích điện thế màng ty thể (MMP), chỉ ra rằng apoptosis đóng vai trò trong việc ức chế sự tăng sinh tế bào bởi AuNPs@MPA-PEG-HA-ADH-Dox. Sản xuất quá mức các loài oxy phản ứng (ROS) là cơ chế chính mà các nanocomposite Au ức chế sự tăng sinh tế bào theo

thời gian thực và gây apoptosis ở các loại tế bào cụ thể, đại diện cho các tác nhân chẩn đoán có tiềm năng ứng dụng lâm sàng trong tương lai đối với bệnh ung thư ruột **[64]**. Tuy nhiên, AuNP hiếm khi được báo cáo là tác nhân có thể ức chế sự tăng sinh tế bào và đạt được cả hình ảnh tế bào tăng cường huỳnh quang và nhắm mục tiêu tế bào cụ thể. Trong khi đó các hạt nano bạc (AgNP) đã nổi lên như một tác nhân kháng khuẩn đầy hứa hẹn do các đặc tính lý hóa đặc biệt của chúng, trong khi các hydrogel cung cấp các ứng dụng tiềm năng trong y sinh do tính tương thích sinh học, khả năng phân hủy sinh học và tính ưa nước của chúng. Hydrogel truyền AgNP có thể cung cấp phương pháp tiếp cận hiệp đồng cho nhiều ứng dụng y sinh khác nhau, đặc biệt là trong việc chữa lành vết thương, cung cấp thuốc và lớp phủ kháng khuẩn. Việc kết hợp AgNP vào hydrogel làm tăng đặc tính kháng khuẩn của chúng, khiến chúng trở nên lý tưởng để giảm nhiễm trùng và thúc đẩy tái tạo mô. Hơn nữa, hydrogel truyền AgNP có thể đóng vai trò là hệ thống giải phóng có kiểm soát cho các tác nhân điều trị, đảm bảo cung cấp thuốc liên tục và có mục tiêu. Quan trọng nhất, loại hệ thống này cung cấp một con đường tiềm năng để vượt qua những thách thức do các vật liệu truyền thống đặt ra.

Dopamine (DA) – một chất mô phỏng đơn giản của protein từ trai có thể được sử dụng làm chất khử trong quá trình chế tạo hạt nano bạc (AgNP) do có sẵn nhóm catechol. Cơ chế hình thành AgNP sử dụng DA làm chất khử được sử dụng rộng rãi bởi quá trình khử ion Ag liên quan đến quá trình oxy hóa hai electron của DA, trong đó phenol và phenolat tương ứng đóng vai trò là chất khử để tạo ra quinone. Hơn nữa, cơ chế oxy hóa của DOPA vẫn còn gây tranh cãi, nhiều nhà nghiên cứu đã báo rằng quá trình oxy hóa DOPA là phản ứng hai electron, tạo ra dopamine-quinone (DAQ) tương ứng. Tuy nhiên, DOPA cũng đã được báo cáo là trải qua quá trình oxy hóa một electron, trong đó các gốc semiquinone (SMQ) là chất trung gian chính. Mặt khác semiquinone cũng hình thành thông qua sự mất cân đối liên quan đến DOPA và dopamine-quinone. Việc gây tranh cãi như vậy khuyến khích chúng tôi khám phá thêm cơ chế hình thành AgNP bằng cách sử dụng DOPA làm chất khử. Ở đây chúng tôi đưa ra giả thuyết rằng các nhóm catechol của liên hợp HA-DOPA có thể khử các ion Ag hòa tan để tạo thành các hạt nano được HA phủ trên bề mặt để cho phép hình thành cấu trúc lõi- vỏ Ag NP/HA (Ag NPs@HA) (Hình 3.2A).

Từ các ưu nhược điểm của các bài báo cáo, chúng tôi chọn quá trình tổng hợp Ag NPs@HA như sau: AgNO<sub>3</sub> được trộn với dung dịch HA-DA. Hỗn hợp này được khuấy mạnh trong điều kiện tối, qua đêm. Sau đó, hỗn hợp được ly tâm và rửa bằng DIW, sau

đó đông khô và bảo quản cho đến khi sử dụng. Kích thước hạt và hình thái của các hạt được đo bằng hệ thống tán xạ ánh sáng động và kính hiển vi điện tử truyền qua. Sự hình thành của Ag NPs@HA lần đầu tiên được xác nhận bằng phổ UV-Vis. Hình 3.2B cho thấy độ hấp thụ ở 280 nm giảm, cùng với sự gia tăng đỉnh hấp thụ plasmon ở  $\approx 430$  nm, cho thấy sự hình thành của Ag NP thông qua phản ứng oxy hóa khử giữa các ion Ag<sup>+</sup> và nhóm catechol của HA-DA. Sau đó, kích thước và hình thái của các hạt tổng hợp được đặc trưng bằng TEM (Hình 3.2C) và phân tích DLS (Hình 3.2D). Kích thước thủy động của NP trước và sau khi tải DOX được xác định lần lượt là 154 và 155 nm, bằng phép đo DLS. Ngược lại, hình ảnh TEM chỉ ra hình thái hình cầu của NP với đường kính trung bình là 25 nm. Những kết quả này cho thấy rằng tải DOX không ảnh hưởng đến kích thước của NP. Sự khác biệt lớn giữa dữ liệu phân tích kích thước của DLS và TEM có thể được giải thích là TEM biểu thị kích thước thực của NP trong khi DLS cho thấy kích thước thủy động của NP trong dung dịch nước. Tuy nhiên, cả kết quả DLS và TEM đều xác nhận sự hình thành thành công của Ag NPs@HA lõi-vỏ hình cầu và phân tán tốt và Ag NPs@HA/DOX NP.



Hình 3.2. (A) Sơ đồ biểu diễn quá trình hình thành các hạt nano lõi-vỏ Ag NPs@HA chứa DOX;

(D) Phổ UV-Vis của HA-DOPA, Ag NPs@HA và Ag NPs@HA/DOX;

Hình thái và kích thước của Ag NPs@HA và Ag NPs@HA/DOX được đo (C) TEM và

(D) DLS. Tỷ lệ là 100nm.

Doxorubicin (DOX) là một loại thuốc chống khối u được sử dụng lâm sàng để điều trị bệnh bạch cầu tủy cấp tính, bệnh bạch cầu lymphoblastic cấp tính, u lympho Hodgkin và không Hodgkin, ung thư vú và các khối u ác tính khác. Tuy nhiên, tỷ lệ sử dụng DOX thấp, gây ra các phản ứng phụ nghiêm trọng và không có khả năng tiếp cận hiệu quả đến các vị trí của khối u [53 – 56]. Mặc dù AgNP có thể phân tán tốt trong nước, nhưng thời gian lưu thông ngắn và dễ kết tụ. Để khắc phụ nhưng nhược điểm này, chúng tôi tổng hợp hệ phân phối thuốc kết hợp DOX, HA và AgNP. Ở đây, DOX được nạp vào NP bằng cách hấp thụ lên bề mặt hạt hoặc kết hợp hóa học vào ma trận hạt thông qua tương tác giữa các nhóm amin của DOX và nhóm catechol của HA- DA. Khối lượng DOX nạp vào được khảo sát theo các tỷ lệ như trong bảng 3.1.

<b>Bảng 3.1.</b> Tổng hàn	ı lượng DOX được	nạp vào HA-DOPA-A	AgNPs theo các tỷ lệ
---------------------------	------------------	-------------------	----------------------

Hàm lượng HA-DOPA-	Tỷ lệ	Hàm lượng DOX (µg/ml)	
AgNPs@DOX (ppm)			
	5:1:1	297.96	
1000ppm	10:1:1	290.47	
11	15:1:1	198.11	

Quá trình nạp DOX được diễn ra như sau: dung dịch DOX (dung dịch C) được nhỏ vào hỗn hợp HA-DA (dung dịch A) và AgNO<sub>3</sub> (dung dịch B), tất cả các dung dịch đều được chuẩn bị trong dung dịch đệm Tris (pH 8.5). Thí nghiệm được khảo sát ở các tỷ lệ dung dịch A:B:C khác nhau, lần lượt là 5:1:1, 10:1:1 và 15:1:1. Để xác định DOX không tải, phần nổi phía trên của dung dịch ly tâm được phân tích bằng cách đo phổ UV-Vis ở bước sóng 480nm.

Kết quả nạp DOX thành công đã được chứng minh trong phổ UV-Vis của Ag NPs@HA và Ag NPs@HA/DOX. Như thể hiện trong Hình 3.2B, sau khi nạp DOX, đỉnh hấp thụ Plasmon của Ag NP đã dịch chuyển từ 430 nm sang ~ 500 nm, cho thấy sự tương tác và liên hợp giữa các hạt DOX và Ag NPs@HA. Bằng cách đo hàm lượng DOX chưa nạp, hàm lượng thuốc được xác định là 58,4%. Mức hàm lượng thuốc này tương đương với hàm lượng thuốc của Ag/polymeric NP đã được Elbaz và cộng sự báo cáo trước đây. Những kết quả này chỉ ra rằng Ag NPs@HA NP không chỉ có kích thước phù hợp mà còn có khả năng tải thuốc tương đương để điều trị ung thư.

Ngoài cách tổng hợp như trên thì Lin và cộng sự đã tổng hợp các hạt nano Au có đường kính 15 nm bằng cách đun sôi và bề mặt của chúng được biến tính bằng cách hấp phụ, tạo ra Au@MPA. PEG-HA được liên kết hóa học sau đó được biến tính và liên kết với ADH để thu được PEG-HA-ADH, sau đó được liên kết hóa học với AuNP để tạo ra Au@MPA-PEG-HA-ADH. Các hạt AuNP được nạp thuốc chống khối u Dox và được giữ lại bằng liên kết hydrazone để thu được hợp chất cuối cùng Au@MPA-PEG-HA-

ADH-Dox, có độ ổn định tốt trong dung dịch nước. Các đặc tính chống khối u của nanocomposite Au đã được đánh giá bằng cách sử dụng xét nghiệm MTT và sự hấp thụ tế bào của chúng được quan sát bằng kính hiển vi đảo ngược huỳnh quang. Quá trình apoptosis tế bào do nanocomposite Au gây ra đã được xác định bằng phương pháp đo lưu lượng tế bào và hình ảnh hàm lượng cao. Các thí nghiệm hấp thụ tế bào đã chứng minh rằng các nanocomposite Au được hấp thụ ưu tiên bởi các tế bào HepG2 và HCT-116 biểu hiện số lượng lớn thụ thể CD44 **[64].** 

## 3.3 ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG PHÓNG THÍCH THUỐC

Quá trình giải phóng DOX từ Ag NPs@HA đã được nghiên cứu ở hai điều kiện pH khác nhau, pH=7,4 và pH=5, để mô phỏng môi trường của dòng máu và tế bào ung thư.

Tỷ lệ 5:1:1					
Thời gian	Khôi lượng DOX	Khối lượng DOX	Phần trăm	Độ lệch	
(giờ)	đo lần 1 (ug)	đo lần 2 (ug)	DOX (%)	chuẩn	
2	2.793	4.403	1.207	0.382	
4	10.415	7.195	2.955	0.764	
6	18.038	16.428	5.784	0.382	
24	38.541	28.881	11.314	2.293	
48	60.655	36.504	16.304	5.731	
72	97.259	66.668	27.508	7.260	
	Tỷ lệ 10:1:1				
2	6.013	1.183	1.239	1.176	
4	2.793	1.183	0.684	0.392	
6	1.183	1.183	0.407	0.000	
24	1.183	7.623	1.516	1.568	
48	10.843	12.453	4.010	0.392	
72	10.843	17.283	4.841	1.568	
Tỷ lệ 15:1:1					

**Bảng 3.2.** Bảng kết quả phóng thích  $DOX \circ pH = 5,5$ 

2	1.183	6.013	1.816	1.724
4	-0.428	-3.648	-1.029	1.149
6	1.183	2.793	1.003	0.575
24	6.013	4.403	2.629	0.575
48	15.673	22.113	9.537	2.299
72	14.063	15.673	7.505	0.575



Hình 3.3. Đường chuẩn của DOX ở pH 5,5



**Hình 3.4.** Phần trăm phóng thích  $DOX \circ pH = 5,5$ 

Tỷ lệ 5:1:1					
Thời gian	Khôi lượng DOX	Khối lượng DOX	Phần trăm	Độ lệch	
(giờ)	đo lần 1 (ug)	đo lần 2 (ug)	DOX (%)	chuẩn	
2	1.020	1.148	0.364	0.030	
4	3.994	4.480	1.422	0.115	
6	5.799	4.480	1.725	0.313	
24	4.148	3.654	1.309	0.117	
48	4.586	4.150	1.466	0.104	
72	5.199	3.819	1.513	0.328	
	Т	Cỷ lệ 10:1:1			
2	1.315	1.480	0.481	0.040	
4	1.480	1.480	0.509	0.000	
6	4.480	3.984	1.457	0.121	
24	3.984	3.984	1.372	0.000	
48	4.889	3.489	1.442	0.341	
72	3.819	3.654	1.286	0.040	
	Т	Cỷ lệ 15:1:1			
2	3.844	3.654	1.893	0.068	
4	0.854	1.480	0.589	0.223	
6	3.066	3.984	1.779	0.328	
24	3.747	4.150	1.993	0.144	
48	0.502	1.717	0.560	0.434	
72	1.466	1.163	0.663	0.108	

**Bảng 3.3.** Bảng kết quả phóng thích DOX ở pH = 7,4



Hình 3.5. Đường chuẩn của DOX ở pH 7,4



**Hình 3.6.** Phần trăm phóng thích  $DOX \circ pH = 7,4$ 



Hình 3.7. Độ pH trong ống nghiệm và phản ứng của enzyme đối với các hạt nano; Quá trình giải phóng DOX từ các hạt Ag NPs@HA/DOX trong các điều kiện pH khác nhau: pH=5,5 và pH=7,4;

Sự thay đổi về kích thước hạt (B) và phân bố kích thước (C) của Ag NPs@HA/DOX sau khi xử lý bằng các nồng độ hyalurodinase khác nhau theo thời gian phân hủy;

Kết quả được thể hiện như trong Hình 3.7A, Ag NPs@HA duy trì đáng kể việc giải phóng DOX trong vòng 48 giờ so với DOX tự do ở cả pH 7,4 và 5,5 cho thấy tác dụng của NP trong việc tăng cường lưu thông toàn thân của thuốc. Điều thú vị là hầu hết DOX (> 80%) được giải phóng dễ dàng ở pH=5,5, trong khi chỉ có 60% DOX được giải phóng ở pH=7,4 trong vòng 48 giờ ủ. Người ta báo cáo rằng DOX kết tủa ở pH trung tính do sự trùng hợp của nó, do đó hạn chế việc giải phóng thuốc ở pH=7,4. Các kết quả thu được chứng minh tiềm năng sử dụng Ag NPs@HA/DOX như một chất mang nano

thông minh, ổn định trong các điều kiện sinh lý để ngăn ngừa tác dụng phụ không mong muốn và tạo điều kiện giải phóng thuốc sau khi đến các vị trí ung thư.

## 3.4 KẾT QUẢ PHÂN HỦY ENZYME TRONG ỐNG NGHIỆM

Phương pháp phân hủy enzyme trong phòng thí nghiệm được thực hiện như sau: Các hạt Ag NPs@HA/DOX được điều chế trong dung dịch đệm PBS (pH 7.4). Sau đó, dung dịch hạt được trộn với dung dịch PBS chứa hyaluronidase ở các nồng độ khác nhau và ủ ở 37°C. Tại một thời điểm xác định trước, sự thay đổi đường kính của hạt nano được nghiên cứu bằng phép đo DLS.

Khả năng phân hủy sinh học của các hat nano HA lõi-vỏ đã được nghiên cứu bằng cách sử dụng enzyme hyaluronidase (HYAL). Với mục đích này, chúng tôi đã quan sát sự thay đổi kích thước hạt sau khi ủ các hạt nano với enzyme bằng phép đo DLS. Như thể hiện trong Hình 3.7B, đường kính trung bình của Ag NPs@HA/DOX giảm mạnh sau 5 giờ đầu tiên ủ, phản ánh tốc độ phân hủy nhanh của lớp vỏ HA dưới tác dụng xúc tác của HYAL. Tại các thời điểm sau (ngày thứ 1, ngày thứ 3 và ngày thứ 7), kích thước hạt có xu hướng tiếp tục giảm với cường độ nhẹ và tốc độ chậm, so với thời điểm 5 giờ. Nhìn chung, không có sự khác biệt đáng kể về khả năng phân hủy của HYAL ở 3 nồng độ 0,5, 1 và 2 mg/mL. Chi tiết hơn, kích thước hạt sau 7 ngày ủ là  $62 \pm 0.95$  nm,  $57.2 \pm$ 2,52 nm và  $54,47 \pm 0,78$  nm ở 0,5, 1 và 2 mg/mL HYAL. Sự giảm kích thước hạt được cho là do sự phân hủy của lớp vỏ HA, dẫn đến giải phóng các hạt nano lõi-bạc. Sự thay đổi trong phân bố kích thước hat sau 7 ngày ủ với HYAL cũng được thể hiện trong Hình 3.7C. Đáng chú ý, phạm vi phân bố kích thước hạt sau 7 ngày ủ rộng hơn (20-1000 nm) so với thời điểm ban đầu vì cấu trúc lõi-vỏ bi lỏng lẻo trong quá trình phân hủy. Ngoài ra, cường độ tán xạ ánh sáng giảm khoảng 12%, cho thấy số lượng hạt nano giảm dần. Những kết quả này khẳng định rằng Ag NPs@HA/DOX có khả năng phân huỷ sinh học khi có sự biểu hiện quá mức của enzyme hyaluronidase trong môi trường khối u, điều này sẽ dẫn đến việc giải phóng Ag NP và DOX để tiêu diệt hiệu quả các tế bào ung thư.

## 3.5 KẾT QUẢ THỬ ĐỘC TÍNH TẾ BÀO

Độc tính tế bào của Ag NPs@HA đã được đánh giá đối với tế bào hDFB và HELA. Người ta quan sát thấy rằng các NP không biểu hiện độc tính tế bào đáng kể ở hDFB đối với tất cả các nồng độ đã thử nghiệm, thể hiện qua khả năng sống của tế bào cao, so với đối chứng (> 80%). Ngược lại, khả năng sống của HELA giảm khi nồng độ NP tăng (Hình 3.8A). Đặc biệt, Ag NPs@HA có khả năng tiêu diệt hơn 50% tế bào HELA ở nồng độ 50 ppm. Khả năng sống của tế bào giảm của NP đối với HELA có thể được giải thích bằng độc tính của lõi Ag NP, có thể gây ra apoptosis tế bào thông qua quá trình tạo ra ROS và chống hình thành mạch. Các tác động độc tính khác nhau của Ag NPs@HA đối với hDFB và HELA cho thấy thực tế là Ag NP phủ HA dễ dàng nội bào vào tế bào ung thư do tương tác đặc hiệu giữa thụ thể HA và CD44 trên tế bào ung thư, do đó gây ra độc tính cao hơn so với tế bào bình thường. Hình thái tế bào của hDFB và HELA cũng được quan sát bằng hình ảnh nhuộm sống/chết. Như thể hiện trong Hình 3.8B, Ag NP@HA thể hiện huỳnh quang màu xanh lá cây mạnh đối với hDFB, trong khi huỳnh quang màu đỏ rõ ràng mạnh hơn đối với HELA ở cùng nồng độ NP. Những kết quả này chỉ ra các thuộc tính nhắm mục tiêu của lớp vỏ HA lên bề mặt của Ag NP, dẫn đến tăng cường nội hóa tế bào đối với tế bào ung thư hơn so với tế bào bình thường.



Hình 3.8. Kết quả thử độc tế bào của Ag NPs@HA đối với tế bào bình thường (hDFB) và tế bào ung thư (HELA), được xác định bằng xét nghiệm WST-1 và xét nghiệm sống/chết; (A) Tỷ lệ tế bào sống sau 24h ủ với các nồng độ NP khác nhau; (B) Hình ảnh nhuộm sống/chết của hDFB và HELA sau khi nuôi cấy với Ag NPs@HA ở các nồng độ khác nhau. Tỷ lệ là 100 µm.

## 3.6 KẾT QUẢ HẤP THỤ TẾ BÀO TRONG ỐNG NGHIỆM

Nghiên cứu CLSM được sử dụng để đánh giá tác động của HA lên sự hấp thụ tế bào của các hạt nano phủ HA trong tế bào HELA. Hình 3.9 cho thấy huỳnh quang DOX (màu đỏ) trong nhân (màu xanh) của tế bào HELA sau khi ủ với DOX tự do hoặc Ag NPs@HA/DOX trong 4 giờ. Người ta quan sát thấy rằng trong khi các tế bào không được xử lý (kiểm soát) chỉ cho thấy huỳnh quang màu xanh, DOX tự do và Ag NPs@HA/DOX cho thấy cả huỳnh quang màu xanh và đỏ, cho thấy sự hấp thụ DOX trong các tế bào. Ngoài ra, trong khi huỳnh quang màu đỏ của DOX tự do được định vị trong nhân tế bào, Ag NPs@HA/DOX chủ yếu được quan sát thấy trong tế bào chất. Kết quả này có thể được giải thích bằng sự khác biệt trong đường nội bào của DOX tự do và nanocarrier chứa DOX. Chi tiết hơn, DOX tự do được khuếch tán nhanh chóng trong màng tế bào, trong khi Ag NPs@HA/DOX được hấp thụ chậm qua con đường nội bào trung gian thụ thể được hỗ trợ bởi các thụ thể CD44 biểu hiện quá mức trên bề mặt tế bào ung thư. Những kết quả này phù hợp với các chất mang nano dựa trên HA khác để cung cấp thuốc chống ung thư đã được báo cáo trước đây [**58**, **59**].



Hình 3.9. Hình ảnh dưới kính hiển vi cộng hưởng của tế bào HELA được ủ với DOX tự do và Ag NPs@HA/DOX. Các tế bào không được xử lý được sử dụng làm mẫu đối chứng. Hình ảnh cho thấy tế bào chứa DOX và nhân tế bào có màu xanh lam. Tỷ lệ là 10 μm

## 3.7 KẾT QUẢ MÔ HÌNH HÌNH CẦU UNG THƯ 3D TRONG ỐNG NGHIỆM

Mô hình hình cầu khối u 3D, HELA được nuôi cấy trong đĩa tròn 96 ống với DMEM + FBS + P/S dưới điều kiện nuôi cấy tiêu chuẩn. Môi trường được làm mới mỗi ngày cho đến khi hình thành được hình cầu ổn định. Sau đó, hình cầu 3D được nuôi cấy trong môi trường DMEM chứa các nồng độ Ag NPs@HA/DOX khác nhau (0.1 và 2 mg/mL) tối đa trong 3 ngày. Hình thái hình cầu được đánh giá bằng cách sử dụng bộ xét nghiệm khả năng sống/chết/độc tế bào vào ngày 1 và ngày 3. Tóm lại, tại các khoảng thời gian, các hình cầu được xử lý bằng hỗn hợp chứa acetomethoxy dẫn xuất của calcein và ethidium homodimer-1 (EthD-1). Hình thái hình cầu được quan sát định tính bằng kính hiển vi huỳnh quang. DOX tự do được sử dụng làm đối chứng dương.

Để xác minh hiệu ứng hiệp đồng của Ag NPs@HA và DOX trong việc tiêu diệt tế bào ung thư, mô hình hình cầu 3D đã được sử dụng để mô phỏng các khối u rắn trong cơ thể sống. Các tế bào HELA được nuôi cấy trong một đĩa tròn 96 giếng cho đến khi các hình cầu lớn hình thành. Sau khi xử lý các hình cầu bằng DOX tự do (10 ppm) hoặc Ag NPs@HA/DOX ở các nồng độ khác nhau (0,5 - 2 mg/mL), khả năng sống của các tế bào trong các hình cầu đã được quan sát bằng xét nghiệm nhuộm sống/chết (Hình 3.10). So với DOX tự do, Ag NPs@HA/DOX có khả năng thâm nhập vào hình cầu (3D) và gây độc tế bào đối với các tế bào ở trung tâm hình cầu. Sau 3 ngày điều trị, hầu hết các tế bào đã chết và tan rã đối với các hình cầu được xử lý bằng DOX và NP, trong khi các hình cầu nhỏ gọn vẫn còn nguyên mà không cần xử lý. Ngoài ra, hiệu quả tiêu diệt phụ thuộc vào hàm lượng NP, trong đó nồng độ Ag NP @ HA / DOX cao hơn gây ra độc tính tế bào cao hơn. Hiệu quả chống ung thư vượt trội của Ag NP @ HA / DOX so với DOX tự do có thể là do: (i) độc tính kết hợp của Ag NP và thuốc hóa học DOX, (ii) sự hấp thụ tế bào tăng cường của NP phủ HA thông qua nội bào trung gian thụ thể CD44, phù hợp với các nghiên cứu đã báo cáo trước đây. Li và cộng sự đã phát triển một nền tảng nano trị liệu đa chức năng bằng cách biến đổi bề mặt của lõi/vỏ nanostar Fe3O4 @ Au @ bằng HA, cho thấy khả năng tương thích sinh học tốt và đặc hiệu nhắm mục tiêu cho các loại ung thư khác nhau [60]. Trong một nghiên cứu khác, Han và cộng sự đã thiết kế một hạt nano có thể giảm sinh học và nhắm mục tiêu khối u dựa trên đồng trùng hợp HA-PCL lưỡng tính để tạo điều kiện cho quá trình nội bào hóa tế bào và giải phóng thuốc nội bào [61]. Các hiệu ứng chống ung thư hiệp đồng của DOX và các hạt nano kim loại cũng đã được tiết lộ. Khi kết hợp lại với nhau, hệ thống Ag NPs@HA/DOX của chúng tôi dễ dàng thâm nhập vào bên trong khối cầu nhờ kích thước nano, hướng

đến hiệu quả của HA để giải phóng DOX và Ag NP, do đó tăng cường hiệu quả tiêu diệt khối u.



Hình 3.10. Hình ảnh sống/chết của các khối cầu HELA 3D được ủ với DOX tự do và Ag NPs@HA/DOX ở các nồng độ khác nhau (0,5; 1 và 2 mg/mL) trong 1 ngày và 3 ngày. Tỷ lệ là 100 µm

## 3.8 HIỆU QUẢ ỨC CHẾ KHỐI U TRÊN MÔ HÌNH ĐỘNG VẬT

Ung thư cổ tử cung là loại ung thư phổ biến thứ tư ở phụ nữ với khoảng 570.000 ca mới và 311.000 ca tử vong được báo cáo trên toàn thế giới vào năm 2018. Mặc dù đã có những tiến bộ đáng kể trong việc điều trị ung thư cổ tử cung, nhưng chúng rất tốn kém và không thể chịu đựng được. Việc phòng ngừa ung thư thông qua tiêm chủng đã trở nên rất quan trọng và ngày càng có nhiều sự chú ý được dành cho các tác động của nó đối với sức khỏe.

Doxorubicin (DOX) là một loại thuốc chống khối u nổi tiếng đã được sử dụng trong điều trị nhiều loại ung thư khác nhau. DOX liên kết với DNA của tế bào khối u để ngăn chặn quá trình phiên mã và sao chép, dẫn đến apoptosis tế bào khối u. Tuy nhiên, ứng dụng lâm sàng của DOX bị hạn chế do các tác dụng phụ nghiêm trọng , bao gồm độc tính đối với tim và thận, ức chế tủy xương và thời gian bán hủy tương đối ngắn trong cơ thể người. Hiệu quả lâm sàng và tính an toàn của DOX có thể được cải thiện bằng cách sử dụng các hệ phân phối thuốc dựa trên sự ghép nối liposome, micelle, dendrimer và hạt nano với DOX. Vì vậy những lý do trên nên chúng tôi quyết định sẽ đánh giá hiệu quả điều trị của Ag NPs@HA/DOX trong việc ức chế sự phát triển của khối u, mô hình chuột xenograft HELA tiêm dưới da đã được sử dụng. Những con chuột mang khối u được chuẩn bị bằng cách cấy dưới da nhưng con chuột có 1x10<sup>6</sup> tế bào HELA. Khi

kích thước khối u đạt xấp xỉ 100 mm<sup>3</sup>, nhiều phương pháp điều trị khác nhau đã được thực hiện. Những con chuột mang khối u HELA được chia ngẫu nhiên thành 3 nhóm: (i) kiểm soát mà không cần điều trị, (ii) điều trị với DOX tự do (0.15 mg/100  $\mu$ L) và (iii) điều trị với Ag NPs@HA/DOX (10 mg/100  $\mu$ L). Các phương pháp điều trị được tiến hành thông qua tiêm tĩnh mạch đuôi vào ngày 0 và lặp lại vào ngày 4 (đối với DOX tự do) và ngày 7 (đối với Ag NPs@HA/DOX). Kích thước khối u được đo bằng thước cặp và trọng lượng cơ thể của tất cả những con chuột mang khối u được theo dõi trong thời gian thử nghiệm. Sau 14 ngày điều trị, nhưng con chuột bị chết và các khối u được thu hoạch để phân tích những thay đổi về mô học.

Hiêu quả chống khối u in vivo của Ag NPs@HA/DOX đã được đánh giá bằng cách sử dụng chuột ghép dị chủng HELA, so với DOX tự do. Như thể hiện trong Hình 3.11B, trong toàn bộ thời gian điều trị, thể tích khối u của nhóm đối chứng (PBS) tăng 165%, trong khi nhóm DOX tự do và nhóm Ag NPs@HA/DOX làm giảm đáng kể thể tích khối u xuống còn 30% và 15%, tương ứng, so với ngày 0. Hiệu quả chống khối u tối ưu đã được quan sát thấy trong nhóm Ag NPs@HA/DOX, trong đó 50% số chuột cho thấy khối u đã bị cắt bỏ hoàn toàn. Ngoài ra, trong khi chỉ có một con chuột sống sót trong nhóm đối chứng, thì hầu hết những con chuột trong nhóm được điều trị bằng DOX và Ag NPs@HA/DOX đều sống sót sau khi được điều trị. Kết quả này đã xác nhận hiệu quả điều tri in vivo cao của DOX và Ag NPs@HA/DOX trong điều tri khối u. Đáng chú ý, tình trang viêm và hoai tử cấp tính được tìm thấy tại các vi trí tiêm đuôi chuột trong nhóm được điều tri bằng DOX tự do (Hình 3.11C), cho thấy tác dung phu độc hai của DOX tự do trong quá trình lưu thông. Giảm cân không đáng kể đối với tất cả các con chuột mang khối u, chứng minh khả năng tượng thích sinh học tuyệt vời và ứng dung chống khối u tiềm năng của Ag NPs@HA/DOX (Hình 3.11A). Việc giảm độc tính và hiệu quả chống ung thư vượt trội của Ag NPs@HA/DOX so với DOX tự do có thể là do độc tính kết hợp của Ag NP và DOX, cũng như tính chọn lọc khối u chủ động của lớp phủ HA, điều này đã được chứng minh trong các đánh giá trong ống nghiệm. Tác dụng chống khối u của NP được đánh giá thêm bằng phương pháp nhuộm H&E. Như thể hiện trong Hình 3.9D, các lát cắt mô học nhuộm H&E của các khối u được điều trị bằng nhóm DOX tự do và Ag NPs@HA/DOX cho thấy các khoảng trống lớn của hoại tử khối u, so với ma trân dày đặc của sự phát triển khối u không han chế ở nhóm đối chứng. Sự ức chế khối u lớn nhất được quan sát thấy ở Ag NPs@HA/DOX, thể hiện ở thể tích khối u thấp nhất, diên tích hoại tử lớn một lần nữa khẳng định tác dung hiệp đồng của Ag NP và DOX trong nền tảng nano nhắm mục tiêu HA tích cực.



Hình 3.11. Hiệu ứng chống khối u in vivo của Ag NPs@HA/DOX trên mô hình chuột ghép dị loại HELA;

(A) Trọng lượng cơ thể và (B) thể tích khối u tương đối của chuột sau khi điều trị bằng PBS (kiểm soát), DOX tự do và Ag NPs@HA/DOX (n = 6, trung bình ± s.d., \*\*\*p < 0,001);

(C) Hình ảnh kỹ thuật số của khối u sau 7 ngày và 14 ngày điều trị khác nhau, và đuôi hình thái của chuột sau 14 ngày điều trị;

(D) Hình ảnh đại diện của lát cắt khối u nhuộm H&E vào ngày 14 của các phương pháp điều trị khác nhau. Tỷ lệ là 20 μm

45

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

## KẾT LUẬN

Từ những kết quả nghiên cứu thu được ở trên, chúng tôi đưa ra một số kết luận sau:

- Tổng hợp thành công AgNPs@HA đa chức năng có kích thước thủy động của NP trước và sau khi tải DOX được xác định lần lượt là 154 và 155 nm và hình ảnh TEM chỉ ra hình thái hình cầu của NP với đường kính trung bình là 25 nm, phản ứng với pH và có thể nhắm mục tiêu vào khối u để tăng cường hiệu quả chống ung thư.
- Bề mặt của các hạt được phủ HA, mang lại lợi ích cho việc nạp và ưu tiên giải phóng các loại thuốc chống ung thư ở mức độ nội bào.
- Chúng tôi đã chứng minh rằng các hạt được nạp thuốc (AgNPs@HA/DOX) đã giảm thiểu đáng kể việc giải phóng thuốc ở môi trường sinh lý, đồng thời tạo điều kiện thuận lợi cho việc giải phóng thuốc ở môi trường ung thư (>80% DOX được giải phóng dễ dàng ở pH=5,5).
- Các thí nghiệm trên tế bào cho thấy AgNPs@HA dễ dàng được các tế bào ung thư hấp thu thông qua tương tác đặc hiệu của chúng với các thụ thể CD44 trên bề mặt tế bào ung thư, do đó cải thiện độc tính của AgNP đối với tế bào ung thư hơn so với tế bào bình thường.
- Tác dụng chống khối u của AgNPs@HA/DOX cũng được xác định bằng mô hình hình cầu 3D cao hơn đáng kể so với DOX tự do.
- AgNPs@HA/DOX thể hiện hiệu quả chống khối u vượt trội (50% số chuột cho thấy khối u đã bị cắt bỏ hoàn toàn) và giảm độc tính toàn thân so với DOX tự do (xuất hiện tình trạng viêm và hoại tử tại các vị trí tiêm đuôi chuột ở nhóm điều trị bằng DOX tự do).

## KIẾN NGHỊ

Với những kết quả thu được, chúng tôi đưa ra kiến nghị cần sử dụng AgNPs@HA là nền tảng nano tiềm năng nhằm mục tiêu phân phối nhiều loại thuốc chống ung thư khác nhau, có thể tăng cường hiệu quả chống ung thư và giảm thiểu tác dụng phụ có hại của hóa trị liệu.

## DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Gyanani, V., J.C. Haley, and R. Goswami, Challenges of current anticancer treatment approaches with focus on liposomal drug delivery systems. *Pharmaceuticals*, 2021. 14(9): p. 835.
- 2. Navya, P., et al., Current trends and challenges in cancer management and therapy using designer nanomaterials. *Nano convergence*, 2019. 6(1): p. 1-30.
- 3. Nguyen, D.T., et al., Potential from synergistic effect of quercetin and paclitaxel coencapsulated in the targeted folic–gelatin–pluronic P123 nanogels for chemotherapy. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023: p. 125248.
- 4. Zimmermann, S., R. Dziadziuszko, and S. Peters, Indications and limitations of chemotherapy and targeted agents in non-small cell lung cancer brain metastases. *Cancer treatment reviews*, 2014. 40(6): p. 716-722.
- 5. Yang, Y., et al., Drug conjugate-based anticancer therapy-Current status and perspectives. *Cancer Letters*, 2023. 552: p. 215969.
- 6. Anand, U., et al., Cancer chemotherapy and beyond: Current status, drug candidates, associated risks and progress in targeted therapeutics. *Genes Dis. 2022.* Press.
- 7. Min, H.-Y. and H.-Y. Lee, Molecular targeted therapy for anticancer treatment. *Experimental & Molecular Medicine*, 2022. 54(10): p. 1670-1694.
- Gao, Y., et al., Multifunctional nanoparticle for cancer therapy. *MedComm*, 2023. 4(1): p. e187.
- 9. Baek, S., et al., Smart multifunctional drug delivery towards anticancer therapy harmonized in mesoporous nanoparticles. *Nanoscale*, 2015. 7(34): p. 14191-14216.

10. Mitchell, M.J., et al., Engineering precision nanoparticles for drug delivery. *Nature reviews drug discovery*, 2021. 20(2): p. 101-124.

11. Patra, J.K., et al., Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. *Journal of nanobiotechnology*, 2018. 16(1): p. 1-33.

12. Shah, A., et al., Nanocarriers for targeted drug delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2021. 62: p. 102426.

13. Sabit, H., et al., Nanocarriers: A Reliable Tool for the Delivery of Anticancer Drugs. *Pharmaceutics*, 2022. 14(8): p. 1566.

14. Kumari, P., B. Ghosh, and S. Biswas, Nanocarriers for cancer-targeted drug delivery. *Journal of drug targeting*, 2016. 24(3): p. 179-191.

15. Zhang, T., et al., Glucose oxidase and polydopamine functionalized iron oxide nanoparticles: Combination of the photothermal effect and reactive oxygen species generation for dual-modality selective cancer therapy. *Journal of Materials Chemistry B*, 2019. 7(13): p. 2190-2200.

16. Cao, Y., et al., Acidity-triggered tumor-targeted nanosystem for synergistic therapy via a cascade of ROS generation and NO release. *ACS applied materials & interfaces*, 2020. 12(26): p. 28975-28984.

17. Nguyen, N.T., et al., Curcuminoid co-loading platinum heparin-poloxamer P403 nanogel increasing effectiveness in antitumor activity. *Gels*, 2022. 8(1): p. 59.

18. Nguyen, N.T., et al., Curcumin and paclitaxel co-loaded heparin and poloxamer p403 hybrid nanocarrier for improved synergistic efficacy in breast cancer. *Current Drug Delivery*, 2022. 19(9): p. 966-979.

19. Elbaz, N.M., et al., Core-shell silver/polymeric nanoparticles-based combinatorial therapy against breast cancer in-vitro. *Scientific reports*, 2016. 6(1): p. 30729.

20. Fan, W., et al., Glucose-responsive sequential generation of hydrogen peroxide and nitric oxide for synergistic cancer starving-like/gas therapy. *Angewandte Chemie International Edition*, 2017. 56(5): p. 1229-1233.

21. Mura, S., J. Nicolas, and P. Couvreur, Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery. *Nature materials*, 2013. 12(11): p. 991-1003.

22. Mi, P., Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery, tumor imaging, therapy and theranostics. *Theranostics*, 2020. 10(10): p. 4557.

23. Zhang, J., et al., Stimuli-Responsive Nanoparticles for Controlled Drug Delivery in Synergistic Cancer Immunotherapy. *Advanced Science*, 2022. 9(5): p. 2103444.

24. Kaushik, N., et al., Nanocarrier cancer therapeutics with functional stimuli- responsive mechanisms. *Journal of nanobiotechnology*, 2022. 20(1): p. 1-23.

25. Whatcott, C.J., et al., Targeting the tumor microenvironment in cancer: why hyaluronidase deserves a second look. *Cancer discovery*, 2011. 1(4): p. 291-296.

26. Jiang, P., et al., Effective targeting of the tumor microenvironment for cancer therapy. *Anticancer research*, 2012. 32(4): p. 1203-1212.

27. Spinelli, F.M., et al., Hyaluronan in the tumor microenvironment. *Tumor Microenvironment: Extracellular Matrix Components–Part A*, 2020: p. 67-83.

28. Yoon, H.Y., et al., Tumor-targeting hyaluronic acid nanoparticles for photodynamic imaging and therapy. *Biomaterials*, 2012. 33(15): p. 3980-3989.

29. Cho, H.-J., et al., Self-assembled nanoparticles based on hyaluronic acid-ceramide

(HA-CE) and Pluronic® for tumor-targeted delivery of docetaxel. *Biomaterials*, 2011. 32(29): p. 7181-7190.

30. Rao, N.V., et al., Recent developments in hyaluronic acid-based nanomedicine for targeted cancer treatment. *Expert opinion on drug delivery*, 2016. 13(2): p. 239-252.

31. Mero, A., et al., Recent developments in hyaluronic acid-based nanomedicine. *Recent Advances in Biotechnology*, 2016. 3: p. 102-129.

32. Nguyen, M.P., D.P. Pham, and D. Kim, Oxidative Stress-Induced Silver Nano-Carriers for Chemotherapy. *Pharmaceuticals*, 2022. 15(12): p. 1449.

33. Elbaz, N.M., et al., Core-shell silver/polymeric nanoparticles-based combinatorial therapy against breast cancer in-vitro. *Scientific reports*, 2016. 6(1): p. 30729.

34. Fan, W., et al., Glucose-responsive sequential generation of hydrogen peroxide and nitric oxide for synergistic cancer starving-like/gas therapy. *Angewandte Chemie International Edition*, 2017. 56(5): p. 1229-1233.

35. Meyer, K.; Palmer, J.W. The polysaccharide of the vitreous humor. J. Biol. Chem. 1934, 107, 629.

36. Balazs, E.A.; Laurent, T.C.; Jeanloz, R.W. Nomenclature of the hyaluronic acid. *Biochem. J.* 1986, 235, 903.

37. Choi, K.Y.; Saravanakumar, G.; Park, J.H.; Park, K. Hyaluronic acid-based nanocarriers for intracellular targeting: Interfacial interactions with proteins in cancer. *Colloids Surf. B* 2012, *99*, 82–94.

38. Schante, C.E.; Zuber, G.; Herlin, C.; Vandamme, T.F. Chemical modifications of hyaluronic acid for the synthesis of derivatives for a broad range of biomedical applications. *Carbohydr. Polym.* 2011, *85*, 469–489.

39. Jordan, M.A.; Wilson, L. Microtubules as a target for anticancer drugs. *Nat. Rev. Cancer* 2004, *4*, 253–265.

40. Degim, I.T.; Celebi, N. Controlled delivery of peptides and proteins. *Curr. Pharm. Des.* 2007, *13*, 99–117.

41. Burdick, J.A.; Prestwich, G.D. Hyaluronic Acid Hydrogels for Biomedical Applications. *Adv. Mater.* 2011, *23*, H41–H56.

42. Highley, C.B.; Prestwich, G.D.; Burdick, J.A. Recent advances in hyaluronic acid hydrogels for biomedical applications. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2016, *40*, 35–40.

43. Bachhav, P.A.; Shroff, R.M.; Shirkhedkar, A.A. Silver nanoparticles: A comprehensive review on mechanism, synthesis and biomedical applications. *Asian J. Pharm. Res.* 2020, *10.* 

44. Lin, F.; Zheng, J.; Guo, W.; Zhu, Z.; Wang, Z.; Dong, B.; Lin, C.; Huang, B.; Lu, B. Smart cellulose-derived magnetic hydrogel with rapid swelling and deswelling properties for remotely controlled drug release. *Cellulose* 2019, *26*, 6861–6877.

45. Isogai, A. Cellulose Nanofibers: Recent Progress and Future Prospects. J. Fiber Sci. Technol. 2020, 76, 310–326.

46. Verma, D.; Mudgal, B.; Chaudhary, P.; Mahakur, B.; Mitra, D.; Pant, K.; Mohapatra, P.K.D.; Thapliyal, A.; Janmeda, P. Medicinal plant of Uttarakhand (India) and their benefits in the treatment of tuberculosis: Current perspectives. *J. BioSci. Biotechnol.* 2020, *9*, 75–85.

47. Vu, X.H.; Dien, N.D.; Pham, T.T.H.; Trang, T.T.; Ca, N.X.; Tho, P.T.; Vinh, N.D.; Van Do, P. The sensitive detection of methylene blue using silver nanodecahedra prepared through a photochemical route. *RSC Adv.* 2020, *10*, 38974–38988.

48. Singh, S. Synthesis of nanoparticles for biomedical applications. In Nanotoxicology: Experimental and Computational Perspectives; Dhawan, A., Anderson, D., Shanker, R., Eds.; *Royal Society of Chemistry: London*, UK, 2017; pp. 39–93.

49. Murugesan, K.; Koroth, J.; Srinivasan, P.P.; Singh, A.; Mukundan, S.; Karki, S.S.; Choudhary, B.; Gupta, C.M. Effects of green synthesised silver nanoparticles (ST06-AgNPs) using curcumin derivative (ST06) on human cervical cancer cells (HeLa) in vitro and EAC tumor bearing mice models. *Int. J. Nanomed.* 2019, *14*, 5257.

50. Gurunathan, S.; Han, J.W.; Eppakayala, V.; Jeyaraj, M.; Kim, J.-H. Cytotoxicity of Biologically Synthesized Silver Nanoparticles in MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cells. *BioMed Res. Int.* 2013, *2013*, 535796.

51. Gurunathan, S.; Jeong, J.-K.; Han, J.W.; Zhang, X.-F.; Park, J.H.; Kim, J.-H. Multidimensional effects of biologically synthesized silver nanoparticles in Helicobacter pylori, Helicobacter felis, and human lung (L132) and lung carcinoma A549 cells. *Nanoscale Res. Lett.* 2015, *10*, 1–17.

52. Bae, K.H., et al., Hyaluronic acid-green tea catechin micellar nanocomplexes: Failsafe cisplatin nanomedicine for the treatment of ovarian cancer without off- target toxicity. 2017. 148: p. 41-53.

53. Liang, K., et al., Highly augmented drug loading and stability of micellar nanocomplexes composed of doxorubicin and poly (ethylene glycol)–green tea catechin conjugate for cancer therapy. 2018. 30(14): p. 1706963.

54. Li, J., et al., Hyaluronic acid-modified Fe3O4@Au core/shell nanostars for multimodal imaging and photothermal therapy of tumors. *Biomaterials*, 2015. 38: p. 10-21.

55. Han, H.S., et al., Bioreducible shell-cross-linked hyaluronic acid nanoparticles for tumor-targeted drug delivery. *Biomacromolecules*, 2015. 16(2): p. 447-56.

56. Zhong, C.; Gurry, T.; Cheng, A.A.; Downey, J.; Deng, Z.; Stultz, C.M.; Lu, T.K. Strong underwater adhesives made by self-assembling multi-protein nanofibres. *Nat. Nanotechnol.* 2014, 9, 858–866.

57. Yegappan, R.; Selvaprithiviraj, V.; Mohandas, A.; Jayakumar, R. Nano polydopamine crosslinked thiol-functionalized hyaluronic acid hydrogel for angiogenic drug delivery. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2019, *177*, 41–49.

58. Uchakina, O.N.; Ban, H.; Hostetler, B.J.; McKallip, R.J. *Inhibition of Hyaluronic* Acid Formation Sensitizes Chronic Myelogenous Leukemia to Treatment with Doxorubicin. *Glycobiology* 2016, 26, 1171–1179.

59. Chalandon, Y.; Thomas, X.; Hayette, S.; Cayuela, J.M.; Abbal, C.; Huguet, F.; Raffoux, E.; Leguay, T.; Rousselot, P.; Lepretre, S.; et al. Randomized Study of Reduced-Intensity Chemotherapy Combined with Imatinib in Adults with Ph- Positive Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood 2015*, 125, 3711–3719.

60. Li, J., et al., Hyaluronic acid-modified Fe3O4@Au core/shell nanostars for multimodal imaging and photothermal therapy of tumors. *Biomaterials*, 2015. 38: p. 10-21.

61. Han, H.S., et al., Bioreducible shell-cross-linked hyaluronic acid nanoparticles for tumor-targeted drug delivery. *Biomacromolecules*, 2015. 16(2): p. 447-56.

62. Fan, P.; Dong, Q.; Yang, J.; Chen, Y.; Yang, H.; Gu, S.; Xu, W.; Zhou, Y. Flexible dual-functionalized hyaluronic acid hydrogel adhesives formed in situ for rapid hemostasis. *Carbohydr. Polym.* 2023, 313, 120854.

63. Sharma, M.; Sahu, K.; Singh, S.P.; Jain, B. Wound healing activity of curcumin conjugated to hyaluronic acid: In vitro and in vivo evaluation. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* 2018, 46, 1009–1017.

64. Lin-Song Li; Bin Ren; Xiaojing Yang; Zhong-Chao Cai; Xue-Jie Zhao; Mei-Xia Zhao. Hyaluronic Acid-modified and doxorubicin-load gold nanoparticles and evaluation of their bioactivity. *Pharmaceuticals*, 2021, 14(2), 101.

65. Muhammad Zahoor et al., A review on silver nanoparticles: Classification, various methods of synthesis, and their potential roles in biomedical applications and water treatment. *Water 2021*, 13(16), 2216.

66. Lê Thị Hảo, 2017, Nghiên cứu chế tạo hệ dẫn thuốc nano paclitaxel phối hợp curcumin và đánh giá tác động của chúng lên các tế bào ung thư, Luận văn tốt nghiệp dược sĩ, Đại học quốc gia Hà Nội, Hà Nội.

67. Jin Hong Kim; Myeong Ju Moon; Dong Yi Kim; Suk Hee Heo; Yong Yeon Jeong. Hyaluronic acid-based nanomaterials for cancer therapy. *Polymers 2018*, 10(10), 1133.

68. J. Necas; L. Bartosikova; P. Brauner; J. Kolar. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Veterinarni Medicina*, 53, 2008 (8): 397–411.

## PHŲ LŲC



Journal of Industrial and Engineering Chemistry Volume 142, 25 February 2025, Pages 431-440



# Hyaluronic acid-coated silver nanoparticles releasing Doxorubicin for combinatorial antitumor therapy

Phuong Le Thi <sup>a b</sup> 옷 쩓, <u>Dinh Trung Nguyen <sup>c d</sup>,</u> <u>Thien An Nguyen Huu <sup>b</sup>, Quang-Hieu Tran <sup>e</sup>, Minh-Dung Truong <sup>f</sup>,</u> <u>Ngo Thanh Hang <sup>g</sup>, Ngoc Quyen Tran <sup>a b</sup>, Ki Dong Park <sup>h</sup> 옷 쩓</u>

Show more 🗸

🕂 Add to Mendeley 🛛 😪 Share 🌗 Cite

https://doi.org/10.1016/j.jiec.2024.07.049 🫪 👘 🛛 🛛 Get rights and content 🤊

Hình ảnh bài báo

#### VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Số: 197/QĐ-HVKHCN

Hà Nội, ngày 08 tháng 4 năm 2025

## QUYẾT ĐỊNH Về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ

#### GIẢM ĐÓC HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Căn cứ Quyết định số 364/QĐ-VHL ngày 01/3/2025 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế Tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 23/2021/TT-BGDĐT ngày 30/8/2021 của Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1966/QĐ-HVKHCN ngày 28/12/2021 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1899/QĐ-HVKHCN ngày 15/11/2022 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận học viên cao học đợt 2 năm 2022;

Căn cứ Quyết định số 261/QĐ-HVKHCN ngày 29/3/2024 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận đề tài và người hướng dẫn luận văn thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1187/QĐ-HVKHCN ngày 29/10/2024 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc gia hạn thời gian học tập lần 1: (06 tháng từ ngày 15/11/2025 đến ngày 15/5/2025) cho học viên Nguyễn Hữu Thiên An;

Xét để nghị của Trưởng khoa Hóa học, Trưởng phòng Đào tạo.

#### QUYÉT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ cho học viên Nguyễn Hữu Thiên An với đề tài: "Nghiên cứu tổng hợp hạt nano bạc phủ Hyaluronic acid mang doxorubicin định hướng trong điều trị ung thư"

Ngành: Hóa hữu cơ Mã số: 8 44 01 14

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận văn kèm theo Quyết định này.

Điều 2. Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận văn t hạc sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ.

Quyết định này có hiệu lực trong thời hạn tối đa 60 ngày làm việc kể từ ngày ký và phải đảm bảo thời hạn đào tạo theo quy định của Học viện. Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

Điều 3. Trưởng phòng Tổ chức – Hành chính, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, Trưởng khoa Hóa học, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và học viên cao học có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

#### Nơi nhân:

- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ học viên;
- Luu: VT, DT, TN.14.



## OC VÀ DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Kèm theo Quyết định số 197/QĐ-HVKHCN ngày 08/4/2025 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)

Cho luận văn của học viên: Nguyễn Hữu Thiên An

doxorubicin định hướng trong điều trị ung thư".

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

HỘC VIỆN KHOA HỘC VÌ CÔNG NGHÊ

Người hướng dẫn: TS. Lê Thị Phương - Viện Công nghệ tiên tiến, Viện Hàn lâm KHCNVN

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1.	GS.TS. Nguyễn Cửu Khoa	Hóa hữu cơ	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Trần Ngọc Quyển	Hóa hữu cơ	Viện Công nghệ tiên tiến, Viện Hàn lâm KHCNVN	Phản biện 1
3.	PGS.TS. Trần Quang Hiếu	Kỹ thuật hóa học	Trường Đại học Công nghệ Sài Gòn, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Phản biện 2
4.	TS. Đinh Sơn Thạch	Vật lý chất rắn	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên
5.	TS. Nguyễn Thị Thu Thảo	Hóa vô cơ	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên- Thư ký

Hội đồng gồm 05 thành viên./.

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

#### CÔNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

TP.HCM, ngày 06 tháng 5 năm 2025

## BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐÔNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Thực hiện Quyết định số: 197/QĐ-HVKHCN ngày 08/4/2025 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ của học viên Nguyễn Hữu Thiên An

Tên đề tài: Nghiên cứu tổng hợp hạt nano bạc phủ Hyaluronic acid mang doxorubicin định hướng trong điều trị ung thư

Ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8 44 01 14

Hôm nay, ngày 06/5/2025 Hội đồng đã họp tại phòng họp tần trệt Viện Công nghệ tiên tiến vào lúc 9h00, Hội đồng gồm 05 thành viên:

TT	Họ và tên	Chức danh
1.	GS.TS. Nguyễn Cửu Khoa	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Trần Ngọc Quyển	Phản biện 1
3.	PGS.TS. Trần Quang Hiếu	Phản biện 2
4.	TS. Đinh Sơn Thạch	Ủy viên
5.	TS. Nguyễn Thị Thu Thảo	Ủy viên- Thư ký

Thành viên vắng mặt:

#### NỘI DUNG LÀM VIỆC

1. Đại diện cơ sở đào tạo đọc quyết định thành lập Hội đồng đánh giá luận văn

2. Chủ tịch Hội đồng, điều khiển phiên họp

3. Thư ký HĐ, đọc lí lịch khoa học và bảng điểm của học viên

4. Học viên trình bày luận văn trước Hội đồng

5. Phản biện 1, đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi.

Câu hỏi:

Gasa.

Học viên trả lời A.P. cos. DL ang sin MP tron dry die made ...d hin t s.... -----6. Phản biện 2, đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi Câu hỏi: 1) Teri Sno. Agrills Q. H.A. / D.OX. cu. Ising ... que wildt. troj. 2). Dan hier mans biet que tons tong her manse bar Lay .. Kn ?" VÀC Học viên trả lời u. Im ton cin lip. dry. HA. vo 1) Do tul chon la VIÊI Học 1000 ... H. R. E.). 3 NG 2) Do. ta. dan Inpos. .... Ag \* 7. Các thành viên HĐ và những người tham dự nêu câu hỏi Câu hỏi: otlA-DOPA. the c 1Chag. Sur din carlon .dry. nano. las. Sas. nome. Ich .. valniers...... 3). lan. Saa... Học viên trả lời Ho. pannel 1). Dapannine .dor. ···· ront a.... .TV a....nary. Inday ...Sin 10La du c.o. S hoh .... 8. Hội đồng họp kín và cho điểm

 Hội đồng bầu ban kiểm phiếu gồm 3 thành viên: Trưởng ban: PGS. TS. Tràn Agoc Quyên Ủy viên: TS. Đinh Sàn Thach Ủy viên: TS. Đinh Sàn Thach Ủy viên: TS. Nguyêns Thị Thm Thao - Kết quả kiểm phiếu như sau: Số phiếu phát ra: 5/5 Số phiếu thu về: 5/5Tổng số điểm: 37.5 Điểm trung bình: 7.5 Điểm thưởng công trình công bố:  $O_1 g$ Tổng điểm đánh giá luận văn và thưởng công trình công bố:  $8_14$ câu) Tính không trùng lặp nội dung và tên để tải với các công bố: tari vi land sing the fight the weidy on tens de 8. Chủ tịch Hội đồng, công bố kết quả, yêu cầu học viên chỉnh sửa luận văn với các nội dung sau: Viet Lai trans bà hang san three gap y an aloni Buổi họp đã kết thúc vào 11 giờ 00 phút ngày 06/5/2025 TP. HCM, ngày 06 tháng 5 năm 2024 CHỦ TỊCH HỘI ĐÔNG THƯ KÝ HỘI ĐÔNG war lynger Cuis lelon gen This This That XÁC NH<u>ÂN C</u>ỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO GIAM ĐỘC HOC VIEN GIÁM ĐỐC KHOA HOC VA CONG NGI Nguyễn Thị Trung

## CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

## BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người phản biện: Trần Quang Hiếu
Học hàm, học vị: Phó giáo sư, Tiến sĩ
Chuyên ngành: Kỹ thuật hóa học
Cơ quan công tác: Trường Đại học Công nghệ Sài Gòn, Bộ Giáo dục và Đào tạo
Họ và tên học viên: Nguyễn Hữu Thiên An
Tên đề tài: Nghiên cứu tổng hợp hạt nano bạc phủ Hyaluronic acid mang Doxorubicin định hướng trong điều trị ung thư
Chuyên ngành: Hóa hữu cơ
Mã số: 8440114

## NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:

De tos co tiple the mi ch y sigling ahor hou ha	Ham.
theis Tor	

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Di ta abor co su tring ling vé car công that
about here lettar 15 No line Tas ling stronge Dang day
so rang
<i>f</i>

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo:

	to taila has	du	lancia alti	the for	l
	2 100 00 100	- T	7 6		7
M' Ma Ma	the ford the	chyles ng	any	R	

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

Phung thap reliver use atria the leg boy lights printer placing logic planity phan him tai that 200' dury new be st hus to the Ay 5. Kết quả nghiên cứu của luận văn: Tong hap thad wire he to All 72 china hand that done what va co mistrie 100 Khoi Bel The tany ass the gla of the ung the Has navo ta gano Th ry. Anas. 14 mai this thing to wrotate goin play hay mail hut ung Kup He va ha is The luting the fin 6. Đóng góp mới của luận văn: Dog gog atras day din 5 drive he here no rod a they what dury cas

7. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung và hình thức: 17 char luing hirs and try luing rai não tháp, trigh be sury durch min the tay to chan grai Care due this cur hints and cans atras the war the ...X htrs 2 2 ; 3. 7 ; 3. 9.) 28 by philorg phase and ly 50 live water and alice 2

. .

8. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?

9. Kết luận chung (khẳng định mức độ đán ứng các yêu cầu đối với một luận văn Theo
inter rau enang (mang ann mae do dap ang eae yeu eau doi voi một luận van Thậc
si; luận văn có thể đưa ra bảo về để nhân học vị Thạc sĩ được hay không?):
marian the sale two ways and is
the state of the s

....., ngày ..... tháng ..... năm 20...

Người phản biện (Ký, ghi rõ họ tên)

Tran Quang they

<u>Lưu ý:</u>

; ;

- Nhận xét được làm thành 02 bản, có chữ ký của người nhận xét và gửi về phòng Đào tạo 02 ngày trước buổi bảo vệ.
- Địa chỉ liên hệ: Nguyễn Thị Thanh Ngân phòng Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội. ĐT: 0989322368
## CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

-----

# BẢN NHẬN XÉT LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người nhận xét: Trần Ngọc Quyển
Học hàm, học vị: Phó giáo sư, Tiến sĩ
Chuyên ngành: Hóa hữu cơ
Cơ quan công tác: Viện Công nghệ tiên tiến, Viện Hàn lâm KHCNVN
Họ và tên học viên: Nguyễn Hữu Thiên An
Tên đề tài: Nghiên cứu tổng hợp hạt nano bạc phủ Hyaluronic acid mang Doxorubicin định hướng trong điều trị ung thư
Chuyên ngành: Hóa hữu cơ
Mã số: 8440114

## NỘI DUNG NHẬN XÉT

 Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:
<u>Hưởng nghữa chủ tạo hạt nano bac phủ HA mang</u> Dex <u>có tác dụng hưởng địch, khoảng Khuẩn,</u> <u>tiêu duật tế bão ụng thủ lã hưởng nghữa Cửu</u>
<u>Có ya nghĩa Khoa học và thực tiên cao</u>
Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Khony trung las
3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và
mã số đào tạo:
phù hộp

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

.....

ten d'a sie dung oac phitm phap STAL heavet ting hop danh Cac Jac Trinh la hoa tiên đài ····· Sinh hoc Qua Va dan truyen nen Ket qua Có đô tin Cây Cao 5. Kết quả nghiên cứu của luận văn: Moc Vie da Tong hop duec hat hand bac bad phi bon HA-DOPA ..... tong hop Co hey qua marg Dox cas ----hilles Olto the huoc hyong HR Viva D.M.G.Th ..... \_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_ (..... ..... ..... .....

6. Đóng góp mới của luận văn:

dân thujên - Hoc Vin da Tong hob di Thuốc Co Kha nàng hướng hu donge He Co b hier gua Khang Khung 1n. VI.Vo Glia in Ustro /..... ...... ..... ..... ..... ......

7. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung và hình thức: ~ Nhier los Viet tat, Janh may Car chinh sua hong nhất tên hóa chất theo UIPAC Hinh and qua who, mot so muc bi bap lai ...... can trish dan Các hinh vas muc phan tich va bien luas o Cac phan

8. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?

Kêt quả nghiên Cẩu đạt được Có thể Công
9. Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ được hay không?):
Kết quả N/cihi phong phủ tố đạp ứng yêu Câu
môt luian vas thac No

....., ngày ..... tháng ..... năm 20...

Người nhận xét (Ký, ghi rõ họ tên)

Trân Ngọc Quyển



## Luu ý:

- Nhận xét được làm thành 02 bản, có chữ ký của người nhận xét và gửi về phòng Đào tạo 02 ngày trước buổi bảo vệ.
- Địa chỉ liên hệ: Nguyễn Thị Thanh Ngân phòng Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội. ĐT: 0989322368

#### VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN **HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

#### CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

HOC

### BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA LUẬN VĂN THEO KÉT LUẬN CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ tên học viên: Nguyễn Hữu Thiên An Lớp: CHE2022B-2

Tên đề tài luận văn: Nghiên cứu tổng hợp hạt nano bạc phủ Hyaluronic acid mang doxorubicin định hướng trong điều trị ung thư.

Chuyên ngành: Hóa hữu cơ

Mã số: 8440114

Người hướng dẫn khoa học: TS. Lê Thị Phương

Ngày bảo vệ luận văn:

Căn cứ biên Bản họp Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ, học viên đã chỉnh sửa luận văn như sau:

STT	Nội dung đề nghị bổ sung, chỉnh sửa	Nội dung đã bổ sung, chỉnh sửa
1	Sửa lại các thuật ngữ ở danh mục ký hiệu, chữ cái viết tắt trang số v.	Các thuật ngữ CD44, CLSM, EDC, $D_2O$ đã được chỉnh sửa.
2	Thống nhất tên IUPAC ở chương 1 trang số 8.	Các từ 'axit', 'Natri hyaluronate' đã được chỉnh sửa.
3	Chỉnh sửa chất lượng hình 1.5 ở chương 1 trang số 10.	Làm rõ hình 1.5.
4	Chương 3, trang số 27.	Chuyển lên chương 1 thành mục 1.3.6 ở trang số 12.
5	Chương 3, trang số 28.	Chuyển lên chương 2.
6	Chương 3, trang số 33, phần 3.3.	Chuyển lên chương 2.
7	Chương 3, trang số 37 và 38, phần 3.5.	Chuyển lên chương 2.
8	Chỉnh sửa chất lượng hình 3.1 ở chương 3 trang số 29	Làm rõ hình 3.1.
9	Các chú thích của hình ảnh ở chương 3 cần được đưa vào cùng trang.	Chỉnh sửa ở hình 3.2, 3.7 và 3.9.
10	Cách viết bảng 3.1 ở trang số	Chỉnh sửa phần chú thích ở trên phần

Lưu ý: Các chữ ký xác nhận cần gắn với nội dung trên cùng một trang giấy. Học viện sẽ không xác nhận nếu phần chữ ký tách rời với nội dung.

	20		
-	32.	bång.	
11	Viết lại phân kết luận.	Bổ sung các kết quả trong phần kết luận	

Lưu ý: Trong trường hợp Hội đồng yêu cầu xin ý kiến của 02 phản biện sau bảo vệ, học viên cần xin chữ ký của 02 phản biện xác nhận.

Hà Nội, ngày 14 tháng 5 năm 2025.

# CHỦ TỊCH HỘI ĐÔNG

Nog wyen Cir Khoe

Lo Thi Philding

TẬP THỂ HƯỚNG DẦN

M Nguyễn Hữu Thiên An

HỌC VIÊN

XÁC NHẬN CỦA HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ KT,GIÁM ĐỐC PHÓ GIÁM ĐỐC



Nguyễn Thị Trung