

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

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

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGÔ THỊ TƯỜNG VY

**NGHIÊN CỨU TỔNG HỢP VẬT LIỆU
NANO HYDROXIDE LỚP ĐÔI $ZnAl$ -LDH MANG THUỐC
ĐỊNH HƯỚNG ĐIỀU TRỊ VẾT THƯƠNG NHIỄM KHUẨN**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa lý thuyết và Hóa lý

Mã số: 9 44 01 19

TP.HCM – Năm 2025

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

Người hướng dẫn khoa học: PGS. TS. Nguyễn Thị Kim Phụng

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi giờ, ngày tháng năm 2025.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

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

MỞ ĐẦU

1. Lý do chọn đề tài

Nhiễm trùng vết thương xảy ra khi vi khuẩn xâm nhập vào vết rách trên da, khiến vết thương bị viêm và đau. Vết thương bị nhiễm trùng có thể gây ra các biến chứng tại chỗ, toàn thân và thậm chí tử vong do nhiễm khuẩn huyết và nhiễm trùng huyết. Những tiến bộ đáng kể trong hiểu biết về sinh lý của vết thương nhiễm trùng đã dẫn đến phát triển hệ thống phân phối thuốc có kiểm soát hoặc phân phối kéo dài. Trong hệ thống phân phối thuốc có kiểm soát hoặc phân phối kéo dài, thuốc được phóng thích trong một khoảng thời gian theo cách được kiểm soát để tối đa hóa tác dụng của thuốc (đặc biệt là thuốc có thời gian bán hủy ngắn), giảm tần suất dùng thuốc và giảm thiểu tác dụng phụ.

Hệ thống phân phối thuốc có kiểm soát dựa trên hạt nano đang được quan tâm nghiên cứu trong những năm gần đây. So với các hợp chất vô cơ dạng lớp khác, hydroxide lớp đôi (layered double hydroxide-LDH) được coi là ứng cử viên mang thuốc mới và đầy hứa hẹn cho mục đích phân phối thuốc kéo dài nhờ có các tính năng đặc biệt như: diện tích bề mặt lớn, không gian xen kẽ có thể chứa các anion thuốc và bảo vệ thuốc khỏi sự phân hủy, hiệu quả giữ nước, đặc tính giải phóng thuốc, nhạy cảm với pH, mật độ điện tích cao, độc tính tế bào thấp và khả năng tương thích sinh học tốt. Mặc dù, LDH ngày càng được công nhận về tiềm năng trong lĩnh vực phân phối thuốc, cho đến nay các nghiên cứu chủ yếu tập trung vào sử dụng LDH làm chất mang để cung cấp thuốc qua đường uống. Trong nghiên cứu này, ZnAl-LDH được lựa chọn để làm chất mang thuốc kháng sinh, kháng viêm là do nguyên tố Zn có khả năng kháng khuẩn và Al là một trong các nguyên tố hóa trị cao ít gây độc tính tế bào.

Liệu pháp cung cấp thuốc kháng sinh tại chỗ thường mang lại những lợi ích nổi bật như là hạn chế tình trạng sử dụng kháng sinh không đúng cách, giảm số lượng liều hiệu quả cần thiết để tiêu diệt mầm bệnh và hạn chế toàn thân bị ảnh hưởng bởi thuốc. Tuy nhiên, độc tính của các vật liệu được sử dụng làm chất phân phối vẫn là một thách thức lớn. Do đó, nhiệm vụ quan trọng đối với cộng đồng khoa học là tìm ra vật liệu với khả năng giải phóng thuốc có kiểm soát và độc tính thấp để điều trị vết thương nhiễm trùng. Mặc

dù chưa được nghiên cứu rộng rãi, nhưng LDH cho thấy triển vọng trong việc chữa lành vết thương do độc tính thấp và khả năng tương thích sinh học tốt. Quan trọng hơn, LDH có khả năng đưa chất kháng khuẩn và chống viêm trực tiếp vào vị trí vết thương, đẩy nhanh quá trình lành vết thương và giảm viêm. Tuy nhiên, hiện nay chưa có một nghiên cứu nào nghiên cứu đồng thời vật liệu LDH mang thuốc kháng sinh và LDH mang thuốc kháng viêm nhằm định hướng điều trị vết thương nhiễm khuẩn.

Ngoài ra, tối ưu hóa hiệu suất tải thuốc lên các hệ thống phân phối cũng là một thách thức lớn khác mà các nhà nghiên cứu phải đối mặt. Tối ưu hóa hiệu suất tải thuốc theo phương pháp truyền thống (từng yếu tố) tốn nhiều thời gian hơn và không hiệu quả về mặt kinh tế. Do đó, các thiết kế thử nghiệm thống kê (đặc biệt là phương pháp bề mặt đáp ứng) là công cụ tối ưu hóa tuyệt vời đã được phát triển để giải quyết vấn đề này. Phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) bao gồm thiết kế yếu tố và phân tích hồi quy, có thể cung cấp kiến thức rõ ràng về mối quan hệ hoàn hảo và hiệu quả giữa các biến độc lập và biến phụ thuộc để đạt được kết quả mong muốn. Ưu điểm lớn của RSM là giảm thời gian và công sức thử nghiệm, đạt được kết quả tốt hơn và tiết kiệm chi phí hơn so với các mô hình thử nghiệm truyền thống.

2. Mục tiêu của đề tài

Mục tiêu của đề tài "*Nghiên cứu tổng hợp vật liệu nano hydroxide lớp đôi ZnAl-LDH mang thuốc định hướng điều trị vết thương nhiễm khuẩn*" là phát triển vật liệu ZnAl-LDH có khả năng phóng thích thuốc kháng sinh, thuốc chống viêm đúng liều lượng và thời điểm, trọng tâm là tiêu diệt hiệu quả vi khuẩn và ức chế phản ứng viêm, đáp ứng yêu cầu sử dụng điều trị vết thương. Ngoài ra, tối ưu hóa hiệu suất tải thuốc kháng sinh (levofloxacin, ciprofloxacin) và thuốc chống viêm (salicylic acid, ibuprofen) lên cấu trúc ZnAl-LDH cũng được thiết kế dựa trên thiết kế tổng hợp có tâm (CCD) – phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM).

3. Nội dung nghiên cứu

Tổng hợp vật liệu ZnAl-LDH và xác định tính chất đặc trưng (TGA, XRD, FTIR, SEM), khả năng diệt vi khuẩn *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus* và độc tính đối với tế bào RAW264.7.

Sử dụng CCD-RSM để tối ưu hóa hiệu suất tải thuốc kháng sinh (levofloxacin-LEV và ciprofloxacin-CIP) và thuốc chống viêm (salicylic acid-SAL và ibuprofen-IBU) lên cấu trúc ZnAl-LDH.

Xác định các tính chất đặc trưng của công thức thuốc LEV-LDH, CIP-LDH, SAL-LDH và IBU-LDH bằng TGA, XRD, FTIR, SEM.

Nghiên cứu tính chất và động học phóng thích có kiểm soát của các công thức thuốc LEV-LDH, CIP-LDH, SAL-LDH và IBU-LDH.

Nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn (*E.coli* và *S.aureus*) và độc tính đối với tế bào RAW264.7.

4. Cơ sở khoa học và thực tiễn của đề tài

Kết quả nghiên cứu này cung cấp cơ sở khoa học để nghiên cứu phát triển vật liệu trạng thái rắn LDH ứng dụng trong lĩnh vực vận chuyển và giải phóng thuốc để chăm sóc vết thương.

Các công thức thuốc LEV-LDH, CIP-LDH, SAL-LDH và IBU-LDH có hiệu quả diệt khuẩn cao và độc tính tế bào thấp, cho thấy tiềm năng ứng dụng các công thức thuốc này để chăm sóc và điều trị vết thương nhiễm trùng.

5. Những đóng góp mới của luận án

Tổng hợp thành công vật liệu tiên tiến ZnAl-LDH đa chức năng bằng phương pháp đơn giản và tối ưu hóa các điều kiện để tải thuốc kháng sinh (LEV, CIP) và kháng viêm (SAL, IBU) lên cấu trúc ZnAl-LDH dựa trên RSM-CCD.

Tính chất dẫn truyền và giải phóng thuốc có kiểm soát của ZnAl-LDH có thể mang lại kết quả điều trị tốt hơn cho các vết thương nhiễm khuẩn và biến chứng bằng cách duy trì thuốc ở nồng độ mong muốn tại vị trí vết thương trong thời gian dài hơn (12 giờ), đồng thời chống lại sự tái phát hoặc tiến triển của tình trạng viêm và sự phát triển của vi khuẩn.

Là ứng viên tiềm năng cho liệu pháp điều trị tại chỗ, ZnAl-LDH có thể giảm liều thuốc cần thiết để tiêu diệt mầm bệnh, hạn chế tác dụng toàn thân của thuốc. Ngoài ra, khả năng tăng cường hiệu quả thuốc kháng sinh của ZnAl-LDH đã mở ra một giải pháp để khắc phục tình trạng kháng thuốc của vi khuẩn và định hướng giải quyết một thách thức lớn trong lĩnh vực chăm sóc sức khỏe.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. Tổng quan về vết thương và nguyên nhân vết thương lâu lành

Da là một trong những cơ quan chiếm trọng lượng lớn nhất của cơ thể, là lớp bảo vệ các bộ phận bên trong khỏi sự xâm hại và tác động trực tiếp từ bên ngoài. Khi da bị tổn thương, quá trình tự nhiên của da là tạo ra hàng loạt các phản ứng sinh học phức tạp hay còn gọi là quá trình tương tác giữa các tế bào nhằm tái tạo biểu bì và mô da từ đó vết thương sẽ dần dần được phục hồi và tái tạo lại vùng bị ảnh hưởng.

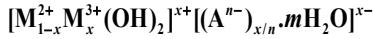
Quá trình lành thương là hiện tượng sinh lý tự nhiên, đóng vai trò quan trọng trong việc phục hồi và bảo vệ cơ thể sau chấn thương hoặc tổn thương mô. Tuy nhiên, tốc độ và hiệu quả của quá trình này không chỉ phụ thuộc vào cơ chế tự nhiên của cơ thể mà còn bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố từ các tình trạng sức khỏe tiềm ẩn như bệnh tiểu đường và bệnh mạch máu đến nhiễm trùng do vi khuẩn, viêm kéo dài và do lối sống.

Khi vết thương bị nhiễm khuẩn, các vi khuẩn xâm nhập và phát triển trên bề mặt vết thương khiến cho giai đoạn viêm kéo dài từ đó khiến cho vết thương lâu lành, thậm chí bùng mủ, gây loét hoặc biến chứng toàn thân. Một số loại vi khuẩn phổ biến được phát hiện trên bề mặt vết thương là *Staphylococcus aureus* (37%), *Pseudomonas aeruginosa* (17%), *Proteus mirabilis* (10%), *Escherichia coli* (6%) và *Corynebacterium spp.* (5%). Tuy nhiên, khi điều trị vết thương bằng thuốc kháng sinh, kháng viêm ở dạng giải phóng thông thường thường khó quản lý được liều lượng kháng sinh và gây ra nhiều tác dụng phụ.

Vì vậy, các hệ thống mang thuốc tiến tiến ngày càng được tập trung nghiên cứu để giảm thiểu các tác động này cũng như nâng cao chất lượng điều trị vết thương đặc biệt là vết thương nhiễm khuẩn, trong đó hydroxide lớp đôi là một trong các hệ thống vận chuyển thuốc vô cơ đang được đánh giá cao.

1.2. Vật liệu hydroxide lớp đôi

Hydroxide lớp đôi (layered double hydroxide – LDH) là các khoáng sét anion cấu trúc nano hai chiều (2D) với công thức chung là:

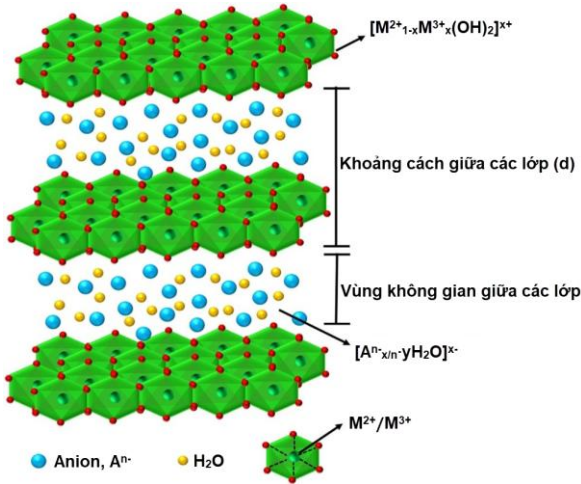


trong đó: M^{2+} : cation hóa trị 2 (Cu^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} ...)

M^{3+} : cation hóa trị 3 (Al^{3+} , Fe^{3+} , Ga^{3+} , Cr^{3+} ...)

A^{n-} : lớp anion xen kẽ giữa (Cl^- , Br^- , NO_3^- , I^- , OH^- , SO_4^{2-} , ...)

x : tỉ lệ mol $M^{3+}/(M^{2+} + M^{3+})$, thường là $0,2 \leq x \leq 0,33$.



Hình 1.1. Cấu trúc của vật liệu hydroxide lớp đôi

Các LDH có thể được tổng hợp bằng các phương pháp như đồng kết tủa, thủy nhiệt, trao đổi ion, oxide muối, urea, thủy phân, sol-gel, hóa cơ, ...

LDH có nhiều đặc tính nổi bật như tính hấp phụ cao, khả năng phân hủy sinh học, khả năng tương thích sinh học tốt, tỷ lệ bề mặt trên thể tích cao và dễ bóc tách. LDH cũng thể hiện độ nhạy pH và hiệu ứng nhớ đặc biệt. Bên cạnh đó, LDH còn có phương pháp tổng hợp đơn giản, dễ điều chỉnh với chi phí thấp. Vì thế, LDH được nghiên cứu ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như: hấp phụ, xúc tác, phân tách, siêu tụ điện, y sinh, cảm biến và bảo vệ môi trường, ...

Dựa vào các tính chất đặc trưng của LDH, việc kết hợp các loại thuốc kháng sinh (levofloxacin, ciprofloxacin), kháng viêm (salicylic acid, ibuprofen) lên LDH ngoài khả năng kiểm soát nhả thuốc còn có thể hạn chế các tác dụng phụ.

1.3. Tối ưu hóa hiệu suất tải thuốc bằng phương pháp đáp ứng bề mặt

1.3.1. Mục tiêu tối ưu hóa hiệu suất tải thuốc

Tối ưu hóa khả năng tải thuốc nhằm đạt được hiệu suất tải tối đa của thuốc trong cấu trúc phân tử hoặc lớp xen kẽ của LDH mà vẫn đảm bảo chất lượng, tính ổn định, cũng như chức năng giải phóng thuốc có kiểm soát, tăng hiệu quả vận chuyển thuốc, cải thiện sinh khả dụng, giảm liều lượng sử dụng thuốc, đồng thời giảm tác dụng phụ không mong muốn.

1.3.2. Phương pháp bề mặt đáp ứng

Phương pháp bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology – RSM) là sự tổng hợp các kỹ thuật toán học và thống kê đã được sử dụng hiệu quả để phát triển và tối ưu hóa quy trình. RSM cho thấy tương tác của tất cả các biến độc lập ảnh hưởng hưởng đến hàm mục tiêu dựa trên lượng thí nghiệm tối thiểu. RSM có thể tìm điểm tối ưu của các yếu tố để đạt tối đa hàm mục tiêu (trong vùng điều kiện khảo sát). RSM cũng được ứng dụng rộng rãi trong lĩnh vực y sinh đặc biệt trong việc tối ưu hóa hiệu suất tải thuốc và các thuộc tính liên quan.

Thiết kế phối hợp có tâm (central composite design – CCD) là một kiểu thiết kế trong RSM. Trong thiết kế này, điểm ở giữa là các điểm trung tâm của không gian thiết kế. Các điểm giai thừa là các mức hệ số được viết là -1, +1 và các điểm trục được sắp xếp đối xứng trên các trục của hệ tọa độ so với điểm trung tâm. CCD là một giải pháp thay thế tốt hơn cho thiết kế giai thừa đầy đủ, ba cấp vì nó đòi hỏi số lượng thí nghiệm ít hơn trong khi vẫn cung cấp kết quả tương đương. Do đó, đây là thiết kế thử nghiệm được chấp nhận nhiều nhất cho các mô hình bậc hai.

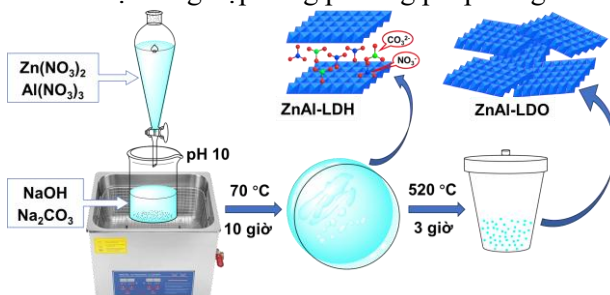
1.4. Mô hình động học giải phóng

Động học giải phóng thuốc bị chi phối bởi một hoặc nhiều cơ chế phụ thuộc vào thành phần của chất nền, hình dạng, phương pháp tổng hợp và môi trường hòa tan giải phóng thuốc. Dựa vào các mô hình toán học phù hợp như mô hình động học bậc nhất, Higuchi, Korsmeyer-Peppas, khuếch tán parabol, ... có thể giải thích được cơ chế động học phóng thích thuốc.

CHƯƠNG 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Tổng hợp vật liệu hydroxide lớp đôi ZnAl-LDH

ZnAl-LDH được tổng hợp bằng phương pháp đồng kết tủa.



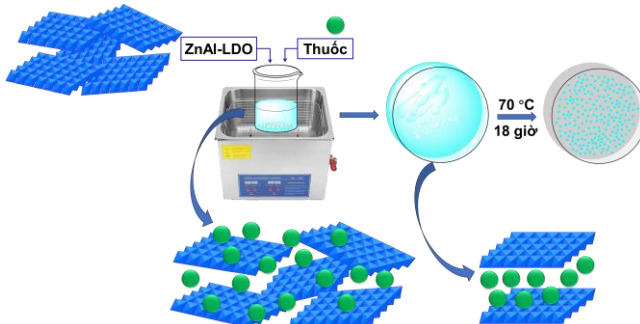
Hình 2.1. Sơ đồ quy trình tổng hợp ZnAl-LDH

2.2. Tối ưu hóa các thông số của quá trình tải thuốc vào ZnAl-LDH sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt kết hợp thiết kế phối hợp có tâm

Bảng 2.1. Biến độc lập và các mức thử nghiệm cho thiết kế CCD (Lượng ZnAl-LDH 1,0 gam trong tất cả các thử nghiệm)

Mã	Biến độc lập và các mức thử nghiệm			
	X ₁ (°C)	X ₂ (giờ)	X ₃ (g)	
			CIP/LEV/SAL	IBU
Cao (+1)	75,0	19,0	1,00	0,500
Trung bình (0)	65,0	17,5	0,75	0,375
Thấp (-1)	55,0	16,0	0,50	0,250

Thí nghiệm tải thuốc vào cấu trúc ZnAl-LDH



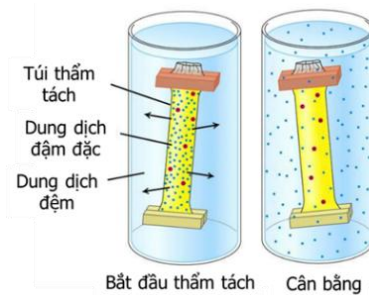
Hình 2.2. Quy trình tải thuốc LEV/CIP/SAL/IBU vào cấu trúc của ZnAl-LDH

2.3. Phân tích tính chất đặc trưng của mẫu vật liệu ZnAl-LDH và THUỐC-LDH

Các vật liệu ZnAl-LDH, LEV-LDH, CIP-LDH, SAL-LDH, IBU-LDH được phân tích thành phần nguyên tố, XRD, FTIR, SEM, DLS và TGA.

2.4. Nghiên cứu kiểm soát nhả thuốc

Thí nghiệm giải phóng thuốc được thực hiện theo phương pháp thẩm tích trong môi trường đệm phosphate (phosphat buffer saline – PBS), pH 5,8 và pH 7,4.



Hình 2.3. Thí nghiệm giải phóng thuốc theo phương pháp thẩm tách

Lượng thuốc giải phóng tích lũy được tính theo công thức:

$$\text{Lượng thuốc giải phóng tích lũy (mg/g)} = \frac{C_t \times V + \sum_{t=0}^{n-1} C_t \times V_t}{m}$$

$$\% \text{ Lượng thuốc giải phóng tích lũy} = \frac{\text{Lượng tích lũy} \times 100}{m_0}$$

Trong đó, V : tổng thể tích dung dịch trong bình phản ứng (50 mL)

V_t : thể tích mỗi lần rút mẫu (1 mL)

C_t : lượng thuốc trong mẫu (mg)

m : khối lượng thuốc-LDH (0,1 g)

m_0 : khối lượng thuốc nạp vào trong cấu trúc ZnAl-LDH

Các mô hình toán học được sử dụng để đánh giá động học giải phóng thuốc như sau:

Động học Bậc nhất:
$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - e^{-k_1 \times t}$$

Korsmeyer-Peppas (K-P):
$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = k_{K-P} \times t^n$$

Higuchi:
$$\frac{Q_t}{Q_\infty} = k_H \times t^{0.5}$$

Khuếch tán parabol:
$$\frac{Q_t / Q_\infty}{t} = k_P \times t^{-0.5} + b$$

trong đó, Q_∞ : lượng thuốc trong mẫu THUỐC-LDH
 Q_t : lượng thuốc được giải phóng tại thời điểm t
t : thời gian giải phóng
 k_1 : Hằng số tốc độ giải phóng bậc nhất
 k_{K-P} : Hằng số động học Korsmeyer-Peppas
 k_H : Hằng số động học giải phóng Higuchi
 k_P : Hằng số tốc độ khuếch tán

2.5. Thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn và độc tính tế bào

2.5.1. Thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn

Khảo sát tác dụng kháng khuẩn thông qua khuếch tán đĩa thạch, nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) sử dụng thuốc thử oxy hóa-khử resazurin và phương pháp đo độ đục.

2.5.2. Thử nghiệm độc tính tế bào

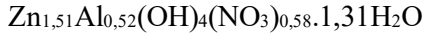
Thử nghiệm được thực hiện để đánh giá độc tính của các mẫu vật liệu: ZnAl-LDH, LEV-LDH, CIP-LDH, SAL-LDH và IBU-LDH đối với dòng tế bào đại thực bào RAW 264.7 cung cấp bởi ATCC (Manassas, VA, USA) bằng cách xác định nồng độ NO và xét nghiệm MMT [3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide].

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

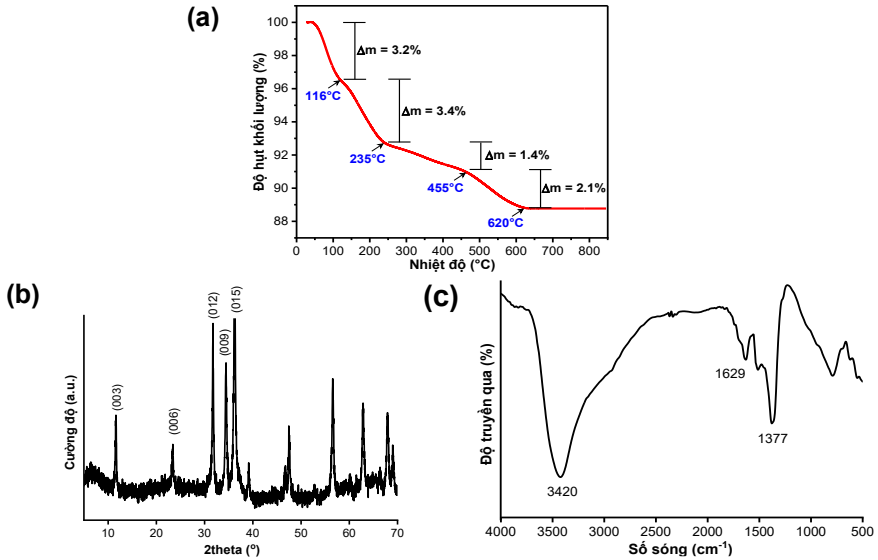
3.1. Vật liệu hydroxide lớp đôi ZnAl-LDH

• Phân tích thành phần nguyên tố

Dựa vào các kết quả phân tích thành phần nguyên tố, công thức hóa học của vật liệu ZnAl-LDH được đề nghị là:

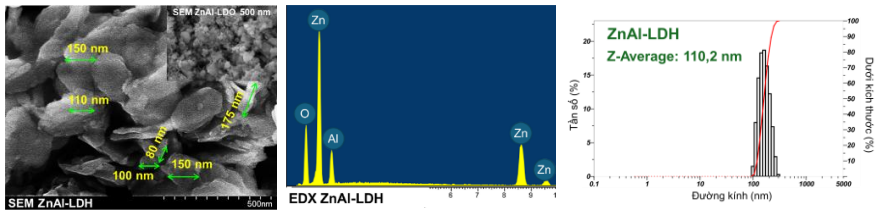


• Phân tích TGA, XRD và FTIR.



Hình 3.1. (a) Giảm đồ TGA; (b) Giảm đồ XRD; (c) Phổ FTIR của ZnAl-LDH

• Ảnh SEM, EDX, DLS của ZnAl-LDH

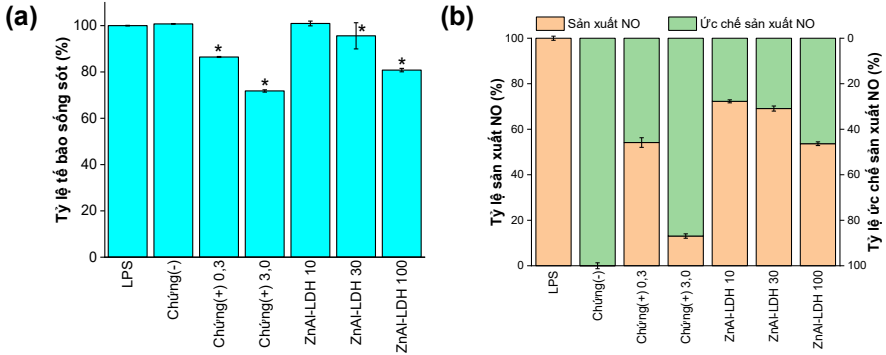


Hình 3.2. Ảnh SEM, phổ EDX và phân bố kích thước của ZnAl-LDH

Các kết quả trên xác nhận tổng hợp thành công vật liệu ZnAl-LDH với kích thước khoảng 110,2 nm.

• **Hoạt tính kháng khuẩn và độc tính tế bào của ZnAl-LDH**

MIC của ZnAl-LDH đối với vi khuẩn *E.coli* và *S.aureus* là 150 µg/mL. Tỷ lệ sống của các tế bào RAW 264.7 sau khi được xử lý với ZnAl-LDH (10 -100 µg/mL) đạt hơn 80%, cho thấy độc tính của ZnAl-LDH tương đối thấp.



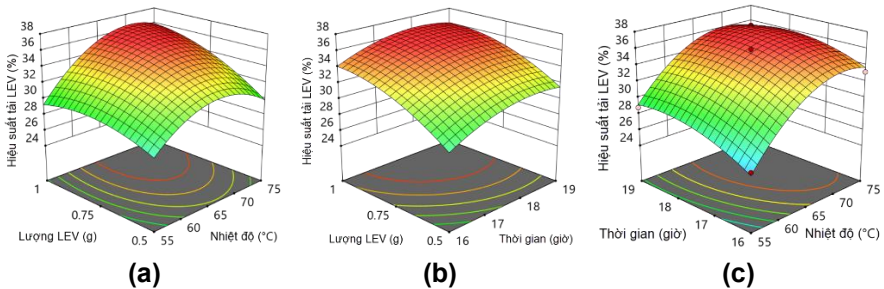
Hình 3.3. (a) Tỷ lệ tế bào RAW264,7 sống sót (MTT assay); (b) Tỷ lệ ức chế sinh khí NO của ZnAl-LDH

3.2. Thiết kế và tối ưu hóa thực nghiệm tải thuốc vào cấu trúc ZnAl-LDH

3.2.1. Thiết kế và tối ưu hóa thực nghiệm tải LEV vào cấu trúc ZnAl-LDH

Mô hình hồi quy bậc hai về hiệu suất tải LEV:

$$Y_{\text{LEV-LDH}} = 2,25X_1 + 1,40X_2 + 1,89X_3 - 3,06X_1^2 - 1,30X_2^2 - 1,27X_3^2 + 1,20X_1X_3 + 34,79$$



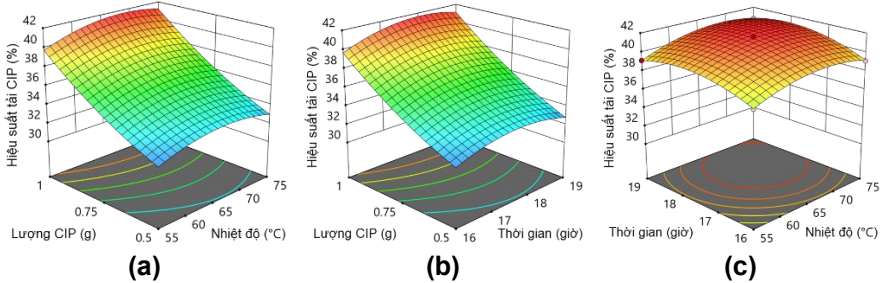
Hình 3.4. Đồ thị bề mặt đáp ứng của hiệu suất tải LEV vào cấu trúc ZnAl-LDH

Trong phạm vi khảo sát, điều kiện phản ứng để hiệu suất tải LEV tối đa là 70 °C, 18 giờ và 1,0 g LEV.

3.2.2. Thiết kế và tối ưu hóa thực nghiệm tải CIP vào cấu trúc ZnAl-LDH

Mô hình hồi quy bậc hai về hiệu suất tải CIP như sau:

$$Y_{\text{CIP-LDH}} = 0,53X_1 + 0,44X_2 + 3,87X_3 - 1,05X_1^2 - 1,10X_2^2 + 0,66X_3^2 + 0,12X_1X_2 + 0,17X_1X_3 + 0,22X_2X_3 + 36,90$$



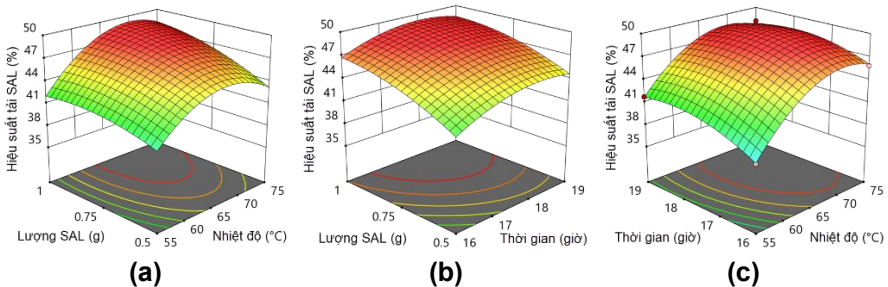
Hình 3.5. Đồ thị bề mặt đáp ứng của hiệu suất tải CIP vào cấu trúc ZnAl-LDH

Trong phạm vi khảo sát, điều kiện phản ứng để hiệu suất tải CIP tối đa là 70 °C, 18 giờ và 1,0 g CIP.

3.2.3. Thiết kế và tối ưu hóa thực nghiệm tải SAL vào cấu trúc ZnAl-LDH

Mô hình hồi quy bậc hai về hiệu suất tải SAL:

$$Y_{\text{SAL-LDH}} = 2,40X_1 + 1,32X_2 + 1,76X_3 - 3,31X_1^2 - 1,42X_2^2 + 0,85X_1X_3 + 47,42$$



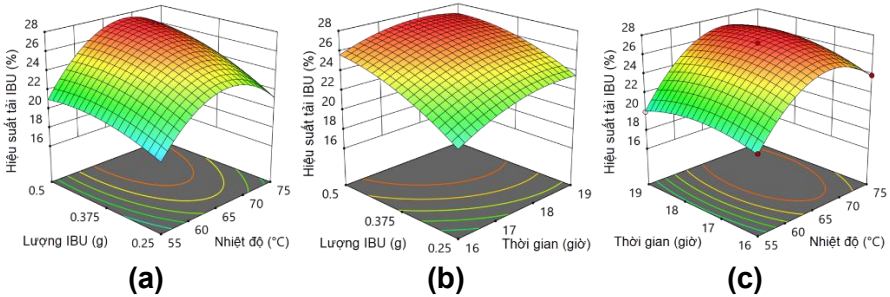
Hình 3.6. Đồ thị bề mặt đáp ứng của hiệu suất tải SAL vào cấu trúc ZnAl-LDH

Trong phạm vi khảo sát, điều kiện phản ứng để hiệu suất tải SAL tối đa là 70 °C, 18 giờ và 1,0 g SAL.

3.2.4. Thiết kế và tối ưu hóa thực nghiệm tải IBU vào cấu trúc ZnAl-LDH

Mô hình hồi quy bậc hai về hiệu suất tải IBU như sau:

$$Y_{\text{IBU-LDH}} = 1,59X_1 + 0,85X_2 + 1,76X_3 - 3,69X_1^2 - 1,04X_2^2 - 0,90X_3^2 + 0,44X_1X_2 + 0,68X_1X_3 - 0,41X_2X_3 + 26,24$$



Hình 3.7. Đồ thị bề mặt đáp ứng của hiệu suất tải IBU vào cấu trúc ZnAl-LDH

Trong phạm vi khảo sát, điều kiện phản ứng để hiệu suất tải IBU tối đa là 70 °C, 18 giờ và 0,5 g IBU.

3.2.5. Kiểm tra các điều kiện tối ưu

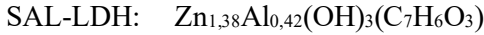
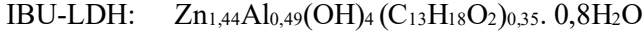
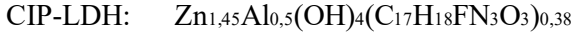
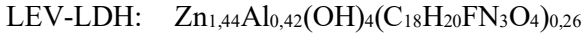
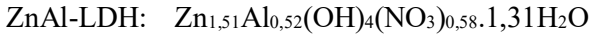
Bảng 3.1. Hiệu suất tải các thuốc vào cấu trúc ZnAl-LDH sử dụng các điều kiện tối ưu

Tên các thuốc (nhiệt độ-thời gian- khối lượng)	Hiệu suất tải thuốc dự đoán từ mô hình hồi quy bậc 2 (%)	Hiệu suất tải thuốc thực (%)	Sai số tương đối (%)
LEV (70°C-18h-1,0g)	36,56	35,35 ± 1,07	3,31
CIP (70°C-18h-1,0g)	41,63	41,89 ± 1,18	- 0,62
SAL (70°C-18h-1,0g)	49,18	48,00 ± 1,14	2,40
IBU (70°C-18h-0,5g)	27,42	27,51 ± 0,68	- 0,33

3.3. Phân tích đặc trưng của vật liệu THUỐC-LDH

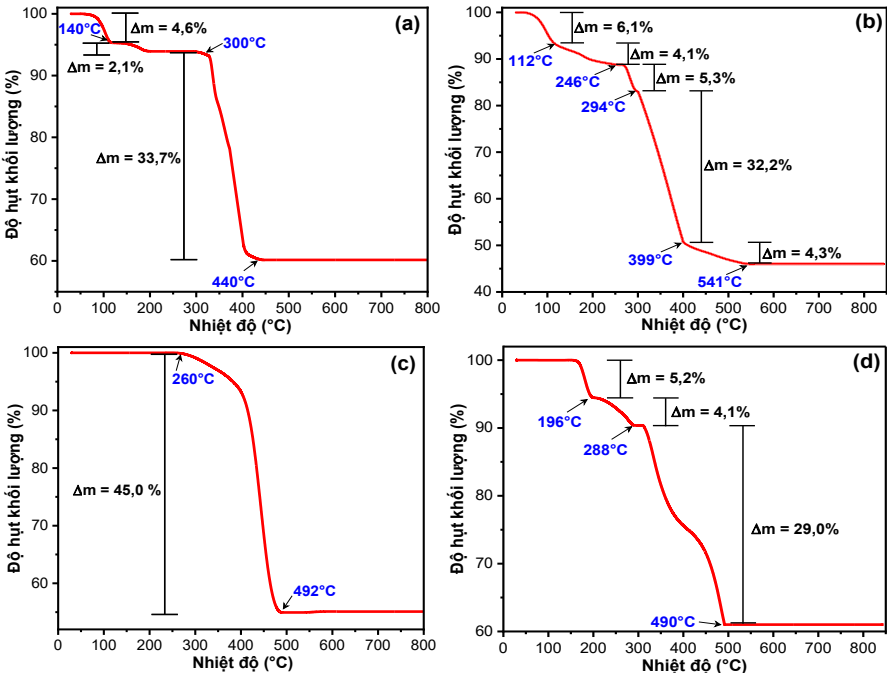
3.3.1. Thành phần phần trăm các nguyên tố hóa học

Dựa trên kết quả phân tích phần trăm nguyên tố cũng như nguyên tắc cân bằng điện tích, các công thức hóa học đề nghị như sau:



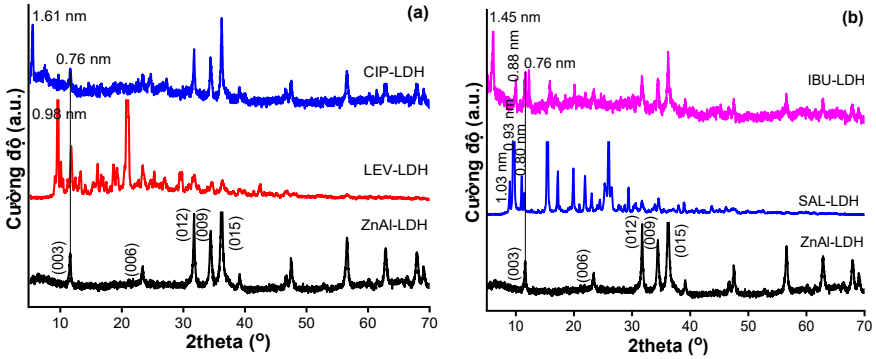
3.3.2. Phân tích nhiệt trọng lượng

Kết quả phân tích trọng lượng của LEV-LDH, CIP-LDH, SAL-LDH và IBU-LDH được trình bày dưới đây cho thấy các lần giảm khối lượng trong vật liệu chủ yếu là do quá trình mất nước trên bề mặt; mất nước trong vùng không gian xen giữa các cấu trúc và sự phân hủy thuốc xen cài trong vật liệu.



Hình 3.8. *Giản đồ phân tích nhiệt trọng lượng của (a) LEV-LDH, (b) CIP-LDH, (c) SAL-LDH và (d) IBU-LDH*

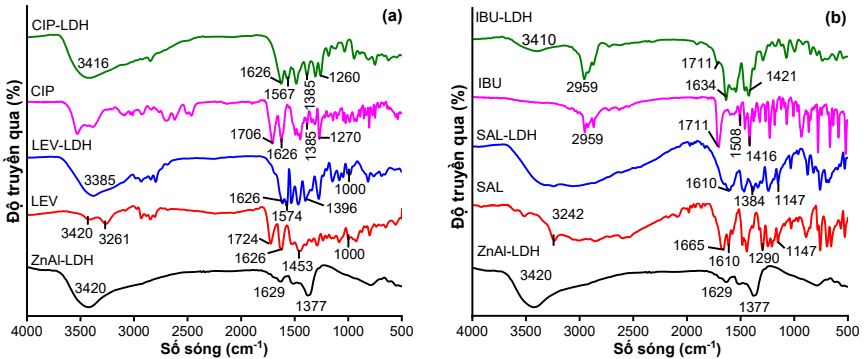
3.3.3. Giảm độ nhiễu xạ tia X



Hình 3.9. Giảm độ nhiễu xạ của (a) ZnAl-LDH, LEV-LDH, CIP-LDH và (b) ZnAl-LDH, SAL-LDH, IBU-LDH

Giảm độ nhiễu xạ của các mẫu LEV-LDH, CIP-LDH, SAL-LDH và IBU-LDH cũng thể hiện các đỉnh nhiễu xạ tương tự của ZnAl-LDH, xác nhận sự hình thành cấu trúc lớp.

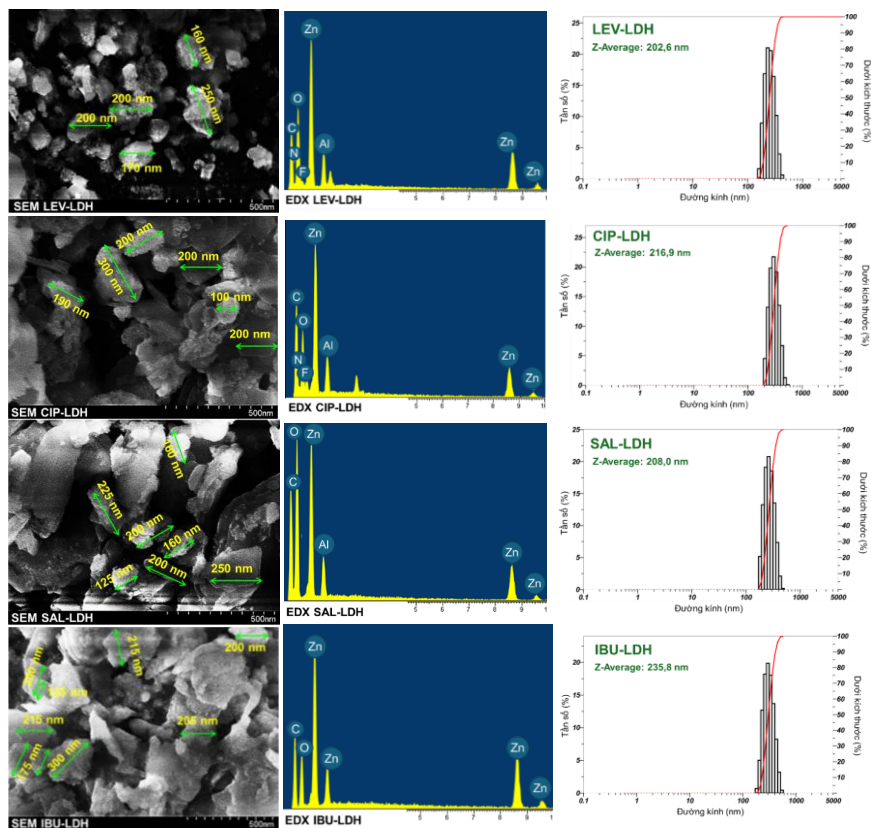
3.3.4. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier



Hình 3.10. Phổ FTIR của ZnAl-LDH, (a) thuốc kháng sinh (LEV, CIP), LEV-LDH, CIP-LDH; (b) thuốc kháng viêm (SAL, IBU), SAL-LDH, IBU-LDH

Từ phổ FTIR cho thấy, có sự dịch chuyển các đỉnh hấp thụ đặc trưng của thuốc với các vật liệu LEV-LDH, CIP-LDH, SAL-LDH, IBU-LDH, điều này xác nhận sự tương tác hóa học giữa các nhóm chức trong cấu trúc của thuốc với các ion kim loại ở các lớp của vật liệu ZnAl-LDH.

3.3.5. Ảnh SEM, EDX, DLS

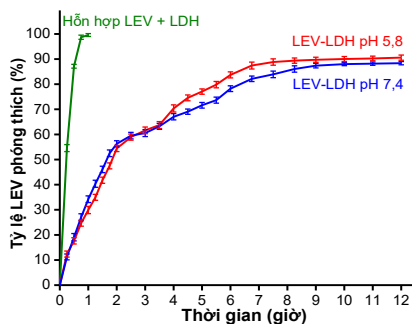


Hình 3.11. Ảnh SEM, phổ EDX và đồ thị phân bố kích thước của LEV-LDH, CIP-LDH, SAL-LDH và IBU-LDH

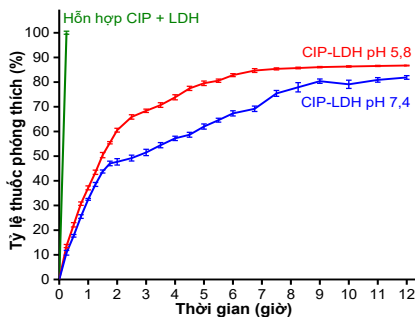
Ảnh SEM của LEV-LDH, CIP-LDH, SAL-LDH và IBU-LDH cho thấy các cụm anion thuốc (LEV, CIP, SAL và IBU) và ZnAl-LDH tạo ra các tấm phẳng riêng lẻ xếp chồng lên nhau. Phổ EDX của LEV-LDH và CIP-LDH có các nguyên tố Zn, Al, C, O, N và F; trong khi SAL-IBU và IBU-LDH có mặt của các nguyên tố Zn, Al, C và O. Sự xuất hiện của các nguyên tố C, O, N và F, chứng tỏ thuốc đã được xen cài vào ZnAl-LDH. Kết quả DLS cho biết đường kính thủy động lực học của các hạt THUỐC-LDH cao hơn đáng kể so với ZnAl-LDH; trong đó, đường kính thủy động lực học của LEV-LDH ~202,6 nm; CIP-LDH ~216,9 nm; LEV-LDH ~208,0 nm và IBU-LDH ~235,8 nm.

3.4. Nghiên cứu kiểm soát phóng thích thuốc

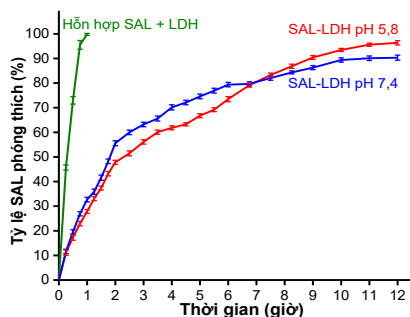
3.4.1. Tính chất phóng thích thuốc



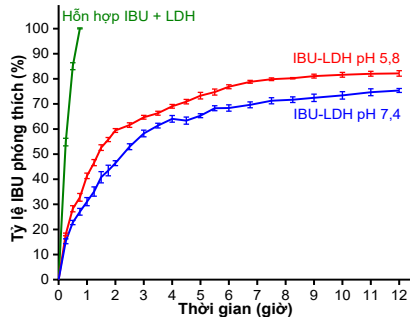
Hình 3.12. Quá trình phóng thích LEV từ LEV-LDH trong PBS (pH 5,8 và pH 7,4)



Hình 3.13. Quá trình phóng thích CIP từ CIP-LDH trong PBS (pH 5,8 và pH 7,4)



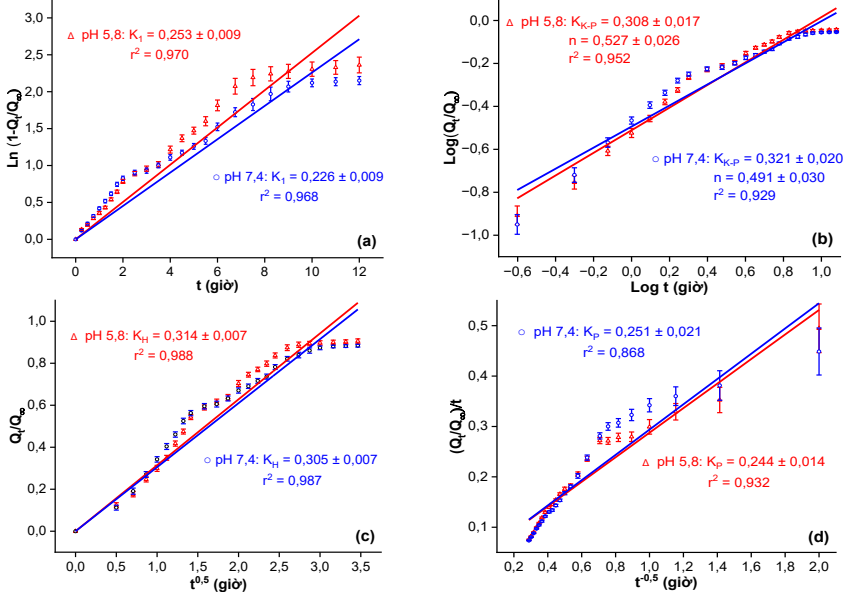
Hình 3.14. Quá trình phóng thích SAL từ SAL-LDH trong PBS (pH 5,8 và pH 7,4)



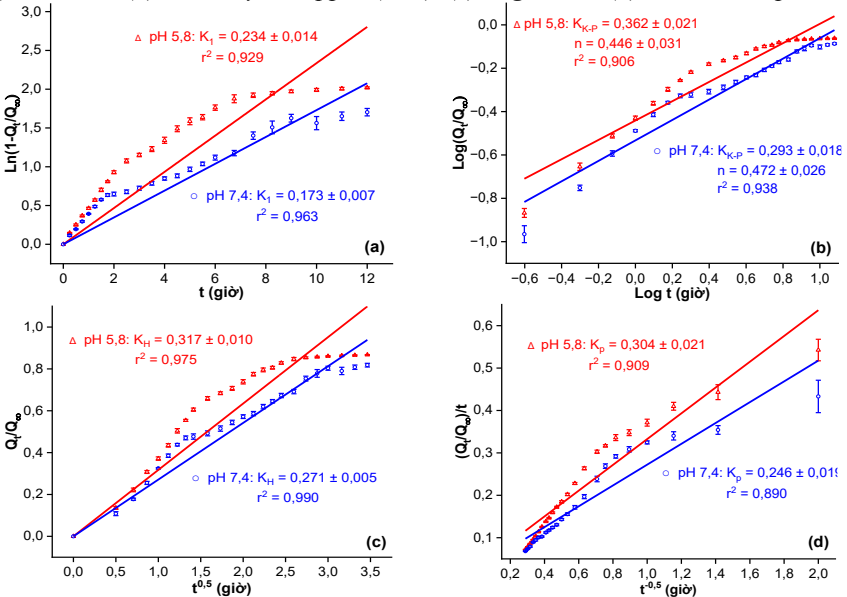
Hình 3.15. Quá trình phóng thích IBU từ IBU-LDH trong PBS (pH 5,8 và pH 7,4)

Các hỗn hợp vật lý của ZnAl-LDH với thuốc (LEV, CIP, SAL và IBU) không có hồ sơ phóng thích vì tất cả các thuốc đã hòa tan nhanh (trong vòng 1,0 giờ) kể từ khi được huyền phù trong dung dịch PBS. Các mẫu vật liệu LEV-LDH, CIP-LDH, SAL-LDH và IBU-LDH cho thấy khả năng kiểm soát phóng thích thuốc kéo dài trong 12 giờ và tỉ lệ thuốc phóng thích tại pH 5,8 nhiều hơn tại pH 7,4.

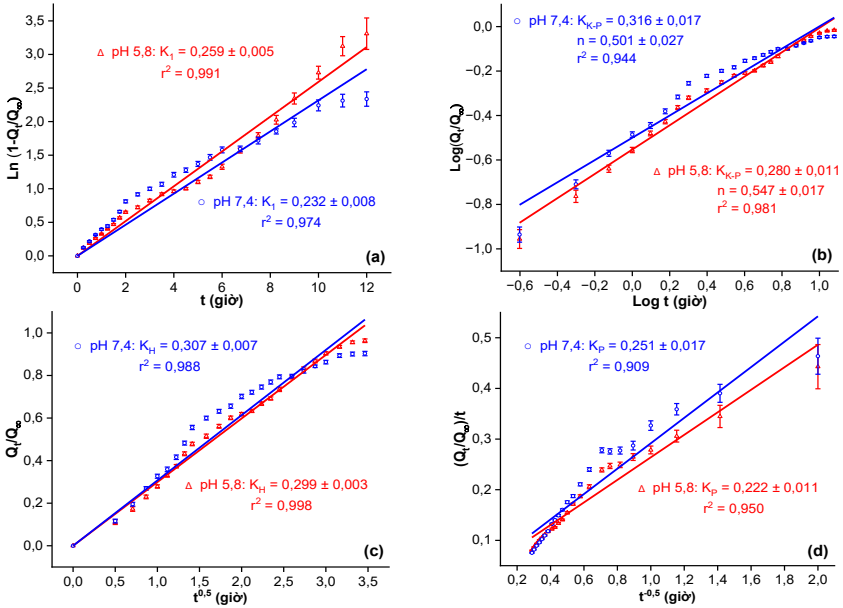
3.4.2. Động học phóng thích thuốc



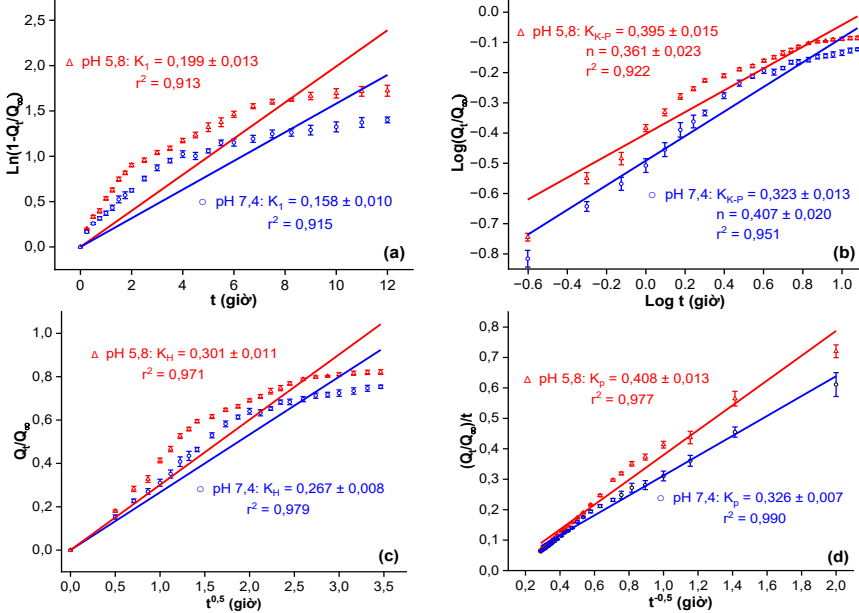
Hình 3.16. Nghiên cứu phóng thích LEV từ LEV-LDH theo mô hình động học (a) Bậc nhất, (b) Korsmeyer-Peppas (K-P), (c) Higuchi và (d) Khuếch tán parabol



Hình 3.17. Nghiên cứu phóng thích CIP từ CIP-LDH theo mô hình động học (a) Bậc nhất, (b) Korsmeyer-Peppas (K-P), (c) Higuchi và (d) Khuếch tán parabol



Hình 3.18. Nghiên cứu phóng thích SAL từ SAL-LDH theo mô hình động học (a) Bậc nhất, (b) Kormsmeier-Peppas (K-P), (c) Higuchi và (d) Khuếch tán parabol



Hình 3.19. Nghiên cứu nhà thuốc IBU từ IBU-LDH theo mô hình động học (a) Bậc nhất, (b) Kormsmeier-Peppas (K-P), (c) Higuchi và (d) Khuếch tán parabol

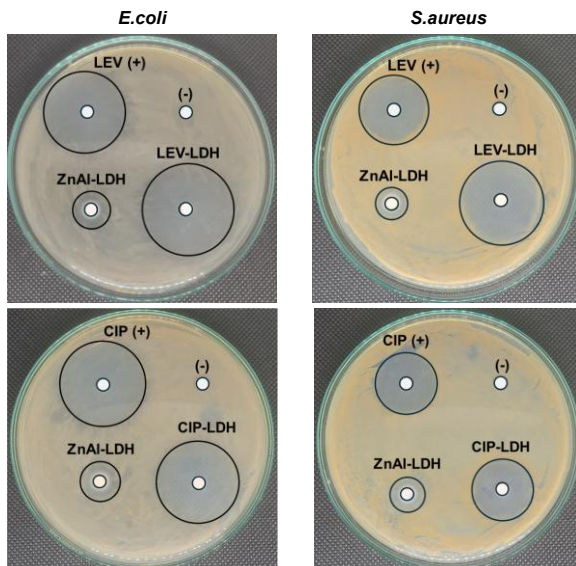
Cơ chế phóng thích thuốc được kiểm soát bởi chế độ khuếch tán của thuốc kết hợp trao đổi anion và chế độ hòa tan của ZnAl-LDH.

3.5. Nghiên cứu hoạt tính kháng khuẩn và độc tính tế bào

3.5.1. Hoạt tính kháng khuẩn

Bảng 3.2. Kết quả đường kính vùng ức chế của ZnAl-LDH, LEV-LDH, CIP-LDH đối với vi khuẩn *E.coli* và *S.aureus*

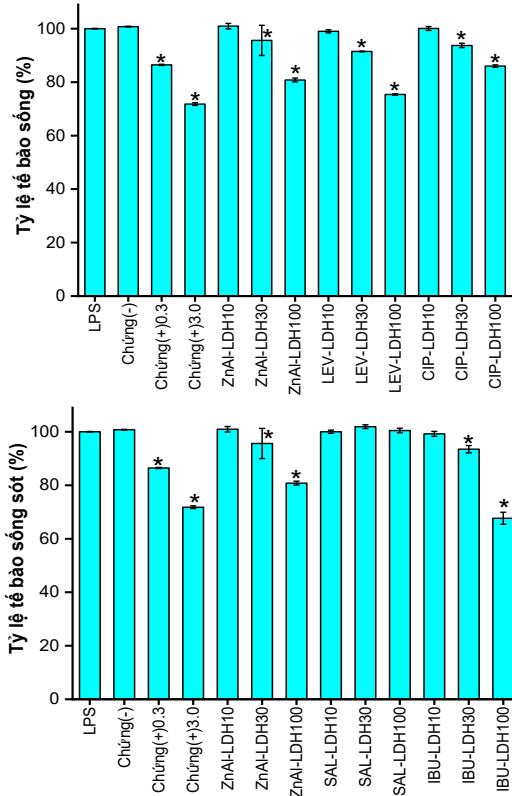
Vật liệu	Đường kính vùng ức chế (mm)	
	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>
Đối chứng âm	0	0
Đối chứng dương LEV (200 µg/mL)	$26,33 \pm 0,58$	$22,00 \pm 1,00$
Đối chứng dương CIP (200 µg/mL)	$29,33 \pm 0,58$	$17,67 \pm 0,58$
ZnAl-LDH (400 µg/mL)	$10,33 \pm 0,58$	$8,33 \pm 0,58$
LEV-LDH (400 µg/mL)	$30,67 \pm 0,58$	$25,67 \pm 1,15$
CIP-LDH (400 µg/mL)	$28,33 \pm 0,58$	$19,33 \pm 0,58$



Hình 3.20. Đường kính vùng ức chế của ZnAl-LDH, LEV-LDH, CIP-LDH đối với vi khuẩn *E.coli* và *S.aureus*

Hiệu quả diệt khuẩn của LEV-LDH và CIP-LDH chống lại vi khuẩn đã được tăng cường đáng kể so với ZnAl-LDH có thể là do tác dụng hiệp đồng của LEV và CIP với ZnAl-LDH.

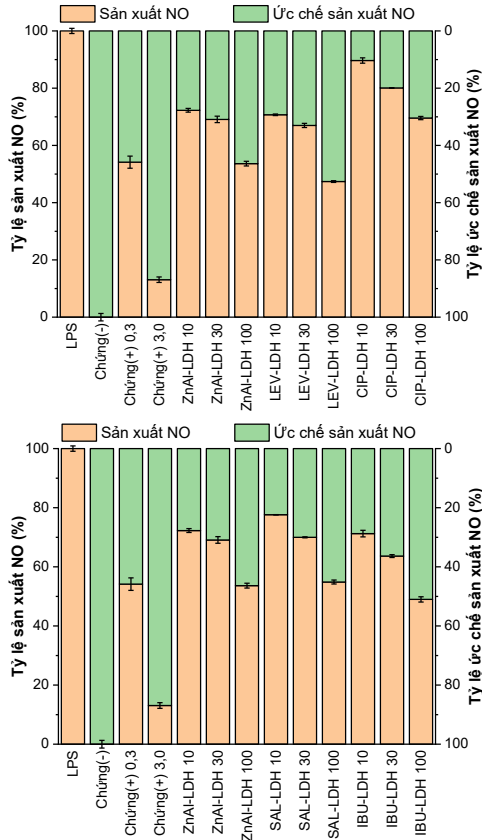
3.5.2. Độc tính tế bào



Hình 3.21. Tỷ lệ tế bào RAW264,7 sống sót (MTT assay).

Khả năng sống sót của tế bào bào RAW264.7 (%) (nồng độ THUỐC-LDH 100-10 $\mu\text{g/mL}$):

- LEV-LDH: Từ $75,40 \pm 0,26$ đến $99,01 \pm 0,58$
- CIP-LDH: Từ $85,99 \pm 0,46$ đến $100,09 \pm 0,72$
- SAL-LDH: Từ $100,01 \pm 0,61$ đến $100,47 \pm 0,84$
- IBU-LDH: Từ $67,67 \pm 2,25$ đến $99,23 \pm 0,93$



Hình 3.22. Tỷ lệ ức chế sinh khí NO của ZnAl-LDH, LEV-LDH, CIP-LDH, SAL-LDH, IBU-LDH

Ức chế sản xuất NO (%) (nồng độ THUỐC-LDH 100-10 $\mu\text{g/mL}$):

- LEV-LDH: Từ $22,93 \pm 0,28$ đến $52,62 \pm 0,31$
- CIP-LDH: Từ $10,34 \pm 0,93$ đến $30,44 \pm 0,56$
- SAL-LDH: Từ $22,38 \pm 0,03$ đến $45,15 \pm 0,67$
- IBU-LDH: Từ $28,77 \pm 1,11$ đến $51,02 \pm 0,89$

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

Trên cơ sở nghiên cứu tổng hợp vật liệu nano hydroxide lớp đôi ZnAl-LDH mang thuốc định hướng điều trị vết thương nhiễm khuẩn có thể đưa ra một số kết luận như sau:

1. Đã tổng hợp được vật liệu nano hydroxide lớp đôi ZnAl-LDH bằng phương pháp đồng kết tủa kết hợp với siêu âm với kích thước khoảng 110 nm. ZnAl-LDH có hoạt tính kháng khuẩn *E.coli* và *S.aureus* với nồng độ ức chế tối thiểu 150 µg/mL. Sử dụng ZnAl-LDH (10-100 µg/mL) đảm bảo hơn 80 % tỷ lệ sống của tế bào RAW 264.7. ZnAl-LDH phù hợp làm vật liệu mang thuốc điều trị vết thương nhiễm khuẩn.

2. Thiết kế tối ưu hóa thí nghiệm bằng phương pháp bề mặt đáp ứng kết hợp với phối hợp có tâm đã tìm ra được điều kiện tối ưu trong khoảng điều kiện được khảo sát để đạt được hiệu suất xen cài thuốc kháng sinh, kháng viêm tối đa lên cấu trúc ZnAl-LDH là 70 °C, 18 giờ và 1,0 g đối với LEV/ CIP/ SAL và 0,5 g đối với IBU. Dựa trên các điều kiện này đã tổng hợp được các vật liệu mang thuốc.

LEV-LDH chứa $35,35 \pm 1,07$ % LEV (với kích thước ~202,6 nm),

CIP-LDH chứa $41,89 \pm 1,18$ % CIP (với kích thước ~216,9 nm),

SAL-LDH chứa $48,00 \pm 1,14$ % SAL (với kích thước ~208,0 nm),

IBU-LDH chứa $27,51 \pm 0,68$ % IBU (với kích thước ~235,8 nm).

3. Các mẫu LEV-LDH, CIP-LDH, SAL-LDH, IBU-LDH đều có tính chất phóng thích thuốc chậm và kéo dài trong môi trường PBS (pH 7,4 và pH 5,8), đáp ứng mục đích sử dụng tại chỗ, kéo dài hiệu lực của liệu điều trị và giảm số liều cần thiết.

4. Nghiên cứu động học phóng thích của LEV-LDH, CIP-LDH, SAL-LDH, IBU-LDH cho thấy cơ chế phóng thích thuốc được kiểm soát bởi chế độ khuếch tán của thuốc kết hợp trao đổi anion và chế độ hòa tan của ZnAl-LDH.

5. Về hoạt tính kháng khuẩn đối với *E. coli* và *S.aureus*, nồng độ ức chế tối thiểu của LEV-LDH và CIP-LDH là 100 µg/mL. Về độc tính tế bào, sử dụng LEV-LDH, CIP-LDH, SAL-LDH (10-100 µg/mL) và IBU-LDH (10-30 µg/mL) đảm bảo hơn 80 % tỷ lệ sống của tế bào RAW 264.7 và IBU-LDH chỉ biểu hiện độc tính tế bào ở nồng độ cao (100 µg/mL).

Kiến nghị

Khảo sát thêm các điều kiện tổng hợp khác để nâng cao hiệu suất tải thuốc vào cấu trúc ZnAl-LDH.

Nghiên cứu đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của vật liệu đối với một số loại vi khuẩn khác để tăng phạm vi ứng dụng của vật liệu.

Nghiên cứu tổn thương màng vi khuẩn do ROS sản sinh.

Sử dụng LEV-LDH, CIP-LDH, SAL-LDH và IBU-LDH trong thử nghiệm *in vivo* để đánh giá toàn diện khả năng điều trị vết thương nhằm thiết kế hệ dẫn thuốc cho vùng viêm, gel bôi ngoài da, hoặc viên nén kiểm soát.

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

1. Ngo Thi Tuong Vy, Dang Nguyen Nha Khanh, Pham Duy Khanh, Nguyen Tan Phat, Nguyen The Anh, Nguyen Long Nguyen, Thong Ngoc Lan Anh, Nguyen Ngoc Vy, Le Thi Minh Dan, Nguyen Thi Kim Phuong, *Drug-Intercalated Zn–Al-Layered Double Hydroxides as Antibacterial and Anti-inflammatory Delivery Systems for Wound Healing Applications*, *Journal of Cluster Science*, 34, 2619–2632, 2023.
2. Ngo Thi Tuong Vy, Dang Nguyen Nha Khanh, Le Hai Khoa, Nguyen Tan Phat, Nguyen Quoc Thang, Le Hoai Trung, Nguyen Thi Huynh Nhu, Doan Thi Minh Phuong and Nguyen Thi Kim Phuong, *Experimental Design Modelling and Optimization of the Intercalation of Levofloxacin and Salicylic Acid into the Structure of ZnAl-LDH by Response Surface Method: in vitro Study of Release Kinetics, Antibacterial and Anti-Inflammatory Activities*, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 35, 5, 1-14, 2024.