



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0040854

(51)^{2020.01} B82Y 5/00; B82Y 30/00; C08J 3/00;
C01G 49/08; B82B 3/00

(13) B

(21) 1-2022-02022

(22) 31/03/2022

(45) 26/08/2024 437

(43) 26/09/2022 414

(73) VIỆN KHOA HỌC VẬT LIỆU - VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
VIỆT NAM (VN)

Nhà A2, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

(72) PHAN KẾ SƠN (VN); HÀ PHƯƠNG THƯ (VN); LÊ THỊ THU HƯƠNG (VN);
MAI THỊ THU TRANG (VN); ĐỖ HỮU NGHỊ (VN); BÙI THỨC QUANG (VN).

(54) PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT VẬT LIỆU NANO ĐA CHỨC NĂNG TRÊN NỀN
COPOLYME PLA-TPGS MANG ĐỒNG THỜI DOXORUBICIN - NANO OXIT
SẮT TỪ

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin và nano oxit sắt từ. Vật liệu nano đa chức năng này chứa doxorubicin với nồng độ từ 1- 10%, và nano oxit sắt từ có nồng độ 1-5%. Trong đó, hoạt chất doxorubicin được nano hóa và phối hợp với các hạt nano oxit sắt từ để có thể định hướng được các phân tử doxorubicin tập trung vào tế bào ung thư mà không gây độc tính trên tế bào lành, đồng thời kết hợp với tác dụng nhiệt trị của các hạt nano oxit sắt từ. Doxorubicin và nano oxit sắt từ được mang trên hệ chất mang copolyme PLA-TPGS tạo thành các hạt mixen giúp cho chúng có thể dễ dàng di chuyển trong cơ thể, phân phối hiệu quả đến tế bào ung thư nhờ tránh được quá trình đại thực bào của hệ miễn dịch. Đồng thời, vật liệu nano đa chức năng này sử dụng chất hoạt động bề mặt lưỡng tính lexitin làm giảm nồng độ mixen tới hạn, tăng độ ổn định của các hạt mixen giúp kéo dài thời gian di chuyển trong cơ thể của các hạt mixen và kiểm soát giải phóng dược chất. Từ đó, có thể đảm bảo được khả năng hướng đích, tiêu diệt các tế bào ung thư, và không gây tổn thương các tế bào bình thường, đồng thời khai thác hiệu quả đặc tính phát huỳnh quang tự nhiên của doxorubicin.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực công nghệ dược phẩm. Cụ thể, sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ và vật liệu nano đa chức năng mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ thu được theo phương pháp này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hiện nay, công nghệ nano được ứng dụng rộng rãi trong sản xuất dược phẩm, đặc biệt là nghiên cứu phát triển thuốc mới nhằm khắc phục những hạn chế của các phương pháp truyền thống trong điều trị ung thư. Doxorubicin (dox) là một trong những loại thuốc chống ung thư hiệu quả nhất hiện nay như ung thư vú, ung thư buồng trứng, bàng quang, ... Tuy nhiên, việc sử dụng trên lâm sàng gặp nhiều hạn chế do độc tính của nó, đặc biệt gây suy tủy và độc tính trên tim, sự xuất hiện của kháng thuốc và tính đặc hiệu thấp trên đối với tế bào ung thư làm giảm liều dung nạp tối đa của thuốc. Để khắc phục được hạn chế của nó, nhiều công thức nano khác nhau đã được điều chế trong đó có các hệ mixen.

Trong nghiên cứu trên tạp chí *Nanomedicine*, năm 2007 (tập 2, số 2, trang 219 – 232) tác giả Betancourt và cộng sự đã xây dựng công thức nano của dox trên nền polylactic (axit lactic-co-glycolic) bằng phương pháp kết tủa nano. Kết quả thử nghiệm trên invitro cho thấy hoạt động ức chế tế bào ung thư vú MDA-MB 2317 của công thức này tốt hơn so với dox tự do.

Ngoài ra, các hạt nano oxit sắt từ tính đã được sử dụng trong điều trị và chẩn đoán ung thư nhờ tính chất từ với khả năng hướng đích từ tính, đặc tính sinh nhiệt và mang nhiều chất có hoạt tính sinh học. Hạt nano oxit sắt từ có khả năng sinh nhiệt thông qua quá trình tự đốt nóng dưới tác dụng của từ trường xoay chiều. Nhờ khả năng này mà các hạt nano oxit sắt từ tập trung ở khối u và chỉ những

vùng mô chứa các hạt nano oxit sắt từ mới bị ảnh hưởng bởi nhiệt. Khi các khối u tiếp xúc với sự tăng lên của nhiệt độ (40 - 45°C) thúc đẩy các tế bào ung thư diễn ra quá trình chết theo chu trình và không ảnh hưởng đến các tế bào bình thường do tế bào ung thư nhạy cảm với nhiệt hơn các tế bào bình thường. Trong nghiên cứu trên tạp chí *Nanoscal*, năm 2016 (tập 8, trang 12152 – 12161) tác giả Hervault và cộng sự đã chế tạo hệ vật liệu nano gồm sắt oxit – dox trên nền polime đáp ứng với pH và nhiệt, có thể sử dụng làm chất mang thuốc và nhiệt trị. Do vậy, việc phối hợp các hạt nano oxit sắt từ với doxorubicin mang lại nhiều vai trò bao gồm là hệ mang thuốc điều trị tới các tế bào ung thư và loại bỏ các tế bào ung thư bằng tác dụng hóa trị của thuốc và hiệu ứng nhiệt trị liệu.

Việc phối hợp các hạt nano oxit sắt từ với các hạt nano doxorubicin tạo thành vật liệu nano đa chức năng làm tăng hiệu quả của điều trị ung thư bằng cách kết hợp hai cơ chế nhiệt trị và hóa trị của thuốc. Các hạt nano oxit sắt từ có khả năng sinh nhiệt thúc đẩy các tế bào ung thư chết theo chu trình. Ngoài ra, các hạt nano oxit sắt từ có khả năng giúp định hướng các tiểu phân hoạt chất doxorubicin thâm nhập vào tế bào ung thư và không gây tác dụng không mong muốn lên tế bào bình thường. Do vậy, vật liệu nano đa chức năng có thể thâm nhập và tiêu diệt tế bào ung thư một cách dễ dàng với nồng độ doxorubicin sử dụng thấp hơn.

Bên cạnh đó, doxorubicin có đặc tính tự phát huỳnh quang (ở bước sóng 485 nm) nên rất thuận lợi cho các nghiên cứu hình thái tế bào hoặc khả năng xâm nhập và sự phân bố của hạt nano trong tế bào nhờ kỹ thuật hiển vi huỳnh quang. Tuy nhiên khi phối hợp doxorubicin cùng nano oxit sắt từ, đặc tính phát huỳnh quang bị giảm đáng kể do hiệu ứng dập tắt huỳnh quang của hạt nano oxit sắt từ. Do vậy, khi kết hợp doxorubicin và nano oxit sắt từ trong cùng 1 hệ vật liệu, để vừa khai thác được tác dụng hiệp đồng (tác dụng hóa trị và nhiệt trị) và khả năng phát huỳnh quang tự nhiên của doxorubicin vẫn là một vấn đề khó khăn.

Hệ mixen được sử dụng làm chất mang thuốc do khả năng tăng cường quá trình thẩm thấu và lưu giữ của thuốc. Tuy nhiên, nhược điểm của hệ mixen là thiếu sự ổn định trong môi trường sinh lý, các hạt mixen có xu hướng tách rời và

giải phóng sớm thuốc làm giảm hiệu quả phân phối thuốc và gây độc tính với các tế bào bình thường. Do vậy, khi sử dụng copolyme và chất hoạt động bề mặt lưỡng cực sẽ làm giảm nồng độ mixen tới hạn, làm tăng cường sự ổn định của các mixen.

Sáng chế này tập trung vào phương pháp sản xuất vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ. Trong đó (1) doxorubicin được nano hóa và phối hợp với các hạt nano oxit sắt từ; (2) Các hoạt chất này được mang trên nền copolyme PLA-TPGS /đồng thời sử dụng chất hoạt động bề mặt lưỡng cực lexitin tạo thành vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPGS mang đồng thời thuốc doxorubicin và nano oxit sắt từ; (3) nhằm tiêu diệt các tế bào ung thư bằng cách kết hợp phương pháp hóa trị và nhiệt trị, đồng thời khai thác hiệu quả đặc tính phát huỳnh quang tự nhiên của doxorubicin ứng dụng đánh dấu tế bào.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế nhằm (1) khắc phục được nhược điểm về độc tính của doxorubicin; (2) khắc phục độ ổn định kém của hệ mang thuốc dạng mixen; (3) làm tăng hiệu quả điều trị ung thư nhờ tác dụng hiệp đồng của 2 cơ chế: hóa trị (doxorubicin) và nhiệt trị (nano oxit sắt từ); (4) khai thác hiệu quả đặc tính phát huỳnh quang tự nhiên của doxorubicin để đánh dấu tế bào, hỗ trợ quá trình theo dõi sự phân bố của thuốc trong cơ thể.

Cụ thể sáng chế đề xuất phương pháp nano hóa doxorubicin và kết hợp các hạt nano oxit sắt từ được mang trên nền copolyme PLA-TPGS. Quá trình nano hóa làm giảm kích thước tiểu phân của doxorubicin và tăng diện tích tiếp xúc với màng sinh học, tăng khả năng hấp thu qua màng, từ đó làm tăng sinh khả dụng của thuốc. Đồng thời khi kết hợp với các hạt nano oxit sắt từ giúp vận chuyển thuốc hướng tới các tế bào ung thư và phối hợp với phương pháp nhiệt trị để tiêu diệt tế bào ung thư. Từ đó có thể sử dụng liều doxorubicin thấp hơn liều thông thường và tăng hiệu quả điều trị khi phối hợp với phương pháp nhiệt trị. Hệ nano doxorubicin và nano oxit sắt từ được bọc bằng copolyme PLA-TPLS nhằm tạo ra

các hạt mixen. Đây là điểm sáng tạo của sáng chế, các hạt mixen giúp vận chuyển thuốc dễ dàng do làm chậm quá trình thực bào của cơ thể, tăng khả năng lưu thông của thuốc trong môi trường. Ngoài ra, ngăn doxorubicin tiếp xúc với môi trường trong quá trình di chuyển tới tế bào ung thư, làm giảm độc tính của doxorubicin với tế bào khỏe mạnh.

Trong vật liệu nano đa chức năng này, các hạt mixen được tăng cường sự ổn định bằng cách sử dụng chất hoạt động bề mặt lưỡng tính lexitin. Đây là điểm sáng tạo thứ hai của sáng chế, khi sử dụng chất hoạt động bề mặt lưỡng tính lexitin sẽ làm giảm nồng độ mixen tới hạn do tính siêu ưa nước của các phân tử lưỡng cực, thúc đẩy tương tác kỵ nước - kỵ nước trong lõi mixen. Vì vậy, khi cho chất hoạt động bề mặt lưỡng cực vào dung dịch thì mixen trong dung dịch ổn định ở nồng độ thấp hơn nồng độ mixen tới hạn ban đầu.

Đồng thời, ở công thức bào chế vật liệu nano đa chức năng này, vật liệu nano thu được vẫn thể hiện đặc tính phát huỳnh quang tốt của doxorubicin, có khả năng ứng dụng để đánh dấu tế bào.

Phương pháp sản xuất vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ theo sáng chế gồm các bước:

- i) hòa tan copolyme poly(lactit)-tocopheryl polyetylen glycol suxinat (PLA-TPGS) với nồng độ 0,5 – 2,5 mg/ml vào trong dung dịch tetrahydrofuran (THF), khuấy trong 30 phút với tốc độ khuấy 350-500 vòng/phút, thu được dung dịch copolyme PLA-TPGS;
- ii) hòa tan doxorubicin Hydrocloric (dox.HCl) và các hạt nano oxit sắt từ với tỉ lệ trọng lượng dox.HCl : nano oxit sắt từ là 1 : 5 đến 2 : 1 trong nước, thu được dung dịch A;
- iii) thêm từ từ từng giọt dung dịch A vào dung dịch copolyme PLA-TPGS, khuấy mạnh; thời gian khuấy trong 24 giờ trong bình kín, thu được dung dịch B;

- iv) thêm từ từ dung dịch 0,5 – 4 % lexitin (thể tích/thể tích) vào dung dịch B, khuấy trong 2 - 6 giờ, tốc độ khuấy 450 - 700 vòng/phút, thu được hệ mixen doxorubicin – nano oxit sắt từ trên nền copolyme PLA-TPGS;
- v) làm bay hơi dung môi THF bằng phương pháp cô quay chân không để thu hồi dung môi THF;
- vi) hệ thu được ở bước (v) thẩm tách với nước cất để loại bỏ doxorubicin tự do;
- vii) đông khô dung dịch, bảo quản ở 4°C thu được vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là sơ đồ quy trình sản xuất vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ.

Hình 2 là phổ hồng ngoại FTIR của (1) doxorubicin (2) PLA-TPGS (3) nano oxit sắt từ (4) vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ.

Hình 3 là hình vẽ minh họa hình thái học của vật liệu nano đa chức năng được khảo sát bằng phương pháp FESEM.

Hình 4 là ảnh chụp TEM của vật liệu nano đa chức năng.

Hình 5 là hình vẽ minh họa thế zeta của vật liệu nano đa chức năng.

Hình 6 là giản đồ nhiễu xạ tia X của nano oxit sắt từ và vật liệu nano đa chức năng.

Hình 7 là đồ thị giải phóng doxorubicin từ vật liệu nano đa chức năng ở các điều kiện pH khác nhau.

Hình 8 là đường cong từ độ bão hòa của nano oxit sắt từ và vật liệu nano đa chức năng.

Hình 9 là hình ảnh đánh giá hoạt tính gây độc tế bào *in vitro* của doxorubicin tự do và vật liệu nano đa chức năng.

Hình 10 là ảnh hiển vi huỳnh quang của vật liệu nano đa chức năng trên dòng tế bào Hela.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết dựa vào các hình vẽ kèm theo. Sáng chế đề cập đến phương pháp sản xuất vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ theo sáng chế được tiến hành như sau:

Đầu tiên, hòa tan copolyme poly(lactit)-tocopheryl polyetylen glycol suxinat (PLA-TPGS) với nồng độ 0,5 – 2,5 mg/ml vào trong dung dịch tetrahydrofuran (THF), khuấy trong 30 phút với tốc độ khuấy 350 – 500 vòng/phút, thu được dung dịch copolyme PLA-TPGS. Hòa tan doxorubicin Hydrocloric (dox.HCl) và các hạt nano oxit sắt từ với tỉ lệ trọng lượng dox.HCl : nano oxit sắt từ là 1 : 5 đến 2 : 1 trong nước cất, thu được dung dịch A. Sau đó thêm từ từ từng giọt dung dịch A vào dung dịch copolyme PLA-TPGS, khuấy mạnh; thời gian khuấy trong 24 giờ trong bình kín, thu được dung dịch B. Tiếp theo, thêm từ từ dung dịch 0,5 - 4% lexitin (thể tích/thể tích) vào dung dịch B, khuấy trong 2 - 6 giờ, tốc độ khuấy 450 – 700 vòng/phút, thu được hệ mixen doxorubicin – nano oxit sắt từ trên nền copolyme PLA-TPGS. Làm bay hơi dung môi bằng phương pháp cô quay chân không để thu hồi dung môi THF. Sau đó thẩm tách với nước cất để loại bỏ doxorubicin tự do. Cuối cùng, đông khô dung dịch và bảo quản ở 4°C thu được vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ.

Các tác giả sáng chế đã tiến hành đo phổ hồng ngoại (FTIR) của vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ. Hình 2 là phổ hồng ngoại FTIR của doxorubicin, PLA-TPGS, nano oxit sắt từ, vật liệu nano đa chức năng. Cụ thể, hình 2 – (1) là phổ hồng ngoại của doxorubicin được đặc trưng bởi các cực đại hấp thụ: 3323 cm^{-1} (-OH trong nhóm phenol của Dox), 2924 cm^{-1} (nhóm CH kéo dài), 1728 cm^{-1} (C=O ester),

1613 cm^{-1} (C=C), 1523 cm^{-1} (N-H), 1011 cm^{-1} (C-O-C). Trên phổ FITR của copolymer PLA-TPGS có sự xuất hiện các pic đặc trưng 3446 cm^{-1} , 2978 cm^{-1} , 1752 cm^{-1} , và 1118 cm^{-1} ; dao động đặc trưng của Fe-O tại số sóng 588 cm^{-1} trên phổ FITR của nano oxit sắt từ. Trong phổ FITR của vật liệu nano đa chức năng, các pic đặc trưng của Dox cũng xuất hiện nhưng chuyển thành 3433 cm^{-1} (-OH), 1512 cm^{-1} (N-H), 1636 cm^{-1} (C=C), and 1110 cm^{-1} (C-O-C), dao động đặc trưng của Fe-O chuyển thành 582 cm^{-1} . Đặc biệt, dao động kéo dài của CH thể hiện ở số sóng 2925 cm^{-1} , băng sóng của C=O kéo dài cũng dịch chuyển thành 1736 cm^{-1} . Như vậy, có thể nhận thấy các đỉnh hấp thụ đặc trưng của nguyên liệu (PLA-TPGS; doxorubicin, nano oxit sắt từ) đã bị dịch chuyển số sóng khi hình thành vật liệu nano đa chức năng, chứng tỏ nano oxit sắt từ và Doxorubin đã được mang vào hệ copolymer PLA-TPGS trong vật liệu nano đa chức năng.

Hình 3 là ảnh chụp FESEM của vật liệu nano đa chức năng trên nền copolymer PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ, các mixen của vật liệu nano đa chức năng có hình cầu với đường kính khoảng 20 nm. Trong ảnh TEM (hình 4), các mixen có dạng gần như hình cầu, với kích thước nhỏ từ 17,0 đến 19,8 nm. Sự khác biệt của kích thước hạt đo bằng kỹ thuật tán xạ ánh sáng động và TEM do các chuỗi PEG ưa nước của copolymer PLA-TPGS trên bề mặt các hạt nano. Kết quả TEM và kết quả đo FTIR cho thấy các hạt nano oxit sắt từ được bao bọc bởi lõi kỵ nước của copolymer PLA-TPGS bằng cách sắp xếp các copolymer trong nước. Đồng thời qua hình 5 cho thấy vật liệu nano đa chức năng trên nền copolymer PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ với thế zeta là -41.1 mV

Hình 6 là giản đồ nhiễu xạ tia X của vật liệu nano đa chức năng trên nền copolymer PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ. Giản đồ hình 6 cho thấy các hạt nano oxit sắt từ được tổng hợp thành công trên vật liệu nano đa chức năng với độ tinh khiết cao, chất lượng tinh thể tốt. Sử dụng công thức Debye Scherrer tính kích thước hạt: $d = \frac{K \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos \theta}$ (Trong đó: $K = 0,9$, $\lambda = 0,5406$ nm, β = độ bán rộng (radian), θ góc Bragg (độ), thu được kích thước trung bình

của tinh thể nano oxit sắt từ và vật liệu nano đa chức năng chế tạo lần lượt là 11,55 nm và 10,72 nm. Tại các pic ở các vị trí góc $2\theta = 30,74^\circ, 35,86^\circ, 43,38^\circ, 54,04^\circ, 57,3^\circ$ và $63,02^\circ$ tương ứng với các mặt tinh thể (220), (311), (400), (422), (511) và (440) là các pic đặc trưng cho tinh thể nano oxit sắt từ. Sự xuất hiện của copolyme PLA-TPGS và doxorubicin trong vật liệu nano đa chức năng làm cho các pic có cường độ thấp nhưng không làm thay đổi vị trí của các hạt nano oxit sắt từ. Do đó, các hạt nano oxit sắt từ trong vật liệu nano đa chức năng vẫn giữ nguyên cấu trúc tinh thể của chúng trong quá trình hình thành mixen.

Các tác giả cũng đánh giá giải phóng của doxorubicin từ vật liệu nano đa chức năng được thực hiện trong điều kiện sinh lý của cơ thể (37°C , pH 7,4) và điều kiện trong vi môi trường khối u (pH 5,0) với mẫu đối chứng là doxorubicin tự do. Kết quả từ hình 7 cho thấy khả năng giải phóng của các hạt nano của vật liệu nano đa chức năng phụ thuộc vào pH của môi trường khi so sánh với sự giải phóng của Dox tự do. Trong giờ đầu tiên, có hơn 95% Dox tự do giải phóng ở cả 2 môi trường pH. Ngược lại, lượng dox giải phóng từ các hạt nano của vật liệu nano đa chức năng thể hiện theo 2 giai đoạn: (1) các phân tử thuốc giải phóng nhanh chóng trong 12 giờ đầu tiên, (2) giải phóng kéo dài ở 12 giờ tiếp theo. Trong môi trường sinh lý, dox tự do giải phóng nhanh hơn do có nhóm amin trong cấu trúc của dox ($pK_b = 9,9335$) dễ dàng nhận các ion H^+ từ môi trường từ môi trường xung quanh trong điều kiện pH thấp để trở thành cation. Do đó dox có tính ưa nước hơn và dễ tương tác trong dung dịch. Đối với vật liệu nano đa chức năng, dox giải phóng chậm hơn trong môi trường sinh lý do quá trình ion hóa phân tử dox. Trong điều kiện môi trường axit của khối u, dox được giải phóng khỏi vật liệu nano đa chức năng và tích lũy có chọn lọc trong khối u dễ hơn. Điều này làm giảm thiểu độc tính của dox đối với mô bình thường khi ở pH sinh lý 7,4.

Về các tính chất từ, vật liệu nano đa chức năng có từ độ bão hòa 60,76 emu/g, so với hạt nano oxit sắt từ có từ độ bão hòa đạt 66,1 emu/g (hình 8). Về khả năng đốt nóng cảm ứng từ (bảng 1), dễ dàng nhận thấy rằng tại một từ trường nhất định (100 Oe), khi tăng nồng độ nano oxit sắt từ trong vật liệu nano đa chức năng, nhiệt

độ của dung dịch ở 1500 giây (s) tăng. Từ nhiệt độ ban đầu 25 °C, vật liệu nano đa chức năng có nồng độ 0,5 mg/ml Fe_3O_4 có thể làm nóng 1 ml mẫu đến 46,5 °C sau 1500 s và đáp ứng yêu cầu nhiệt từ trị (42 - 45 °C). Trong khi đó, dung dịch nồng độ 3 mg/ml có thể đạt tới 69,5 °C, có thể bóc tách khối u ung thư nhờ các cơ chế như huyết khối vi mạch, thiếu máu cục bộ và thiếu oxy máu. Công suất tỏa hao riêng (ILP) của vật liệu nano đa chức năng ở các nồng độ nano oxit sắt từ khác nhau nằm trong khoảng từ 2,42 nHm²/kg đến 3,37 nHm²/kg, cho thấy nó trở thành một ứng cử viên tiềm năng trong ứng dụng nhiệt từ trị.

Bảng 1. Tính chất gia nhiệt của vật liệu nano đa chức năng

Nồng độ nano oxit sắt từ (mg/ml)	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0
T 1500 s (°C)	46,5	52,5	59,2	61,8	69,5
dT/dt (°C/s)	0,0087	0,0170	0,0254	0,0282	0,0375
ILP (nHm ² /kg)	3,37	3,30	3,28	2,74	2,42

Các tác giả đã tiến hành đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư của vật liệu nano đa chức năng trên các tế bào ung thư Hela (tế bào ung thư cổ tử cung), HCG-27 (tế bào ung thư dạ dày), CCF-STTG1 (tế bào ung thư thần kinh não), A549 (tế bào ung thư phổi) và PC3 (tế bào ung thư tiền liệt tuyến) với mẫu đối chứng là doxorubicin tự do (hình 9). Kết quả cho thấy vật liệu nano đa chức năng có hoạt tính gây độc tế bào với giá trị IC₅₀ thấp (<2 µg/mL), hiệu quả hơn doxorubicin tự do. Ngoài ra, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trị IC₅₀ của mẫu dox tự do và vật liệu nano đa chức năng trên tế bào ung thư thần kinh não CCF-STTG1 ($p < 0,001$). Những kết quả này cho thấy vật liệu nano đa chức năng là một ứng cử viên sáng giá để điều trị ung thư não.

Ngoài ra, dựa vào tính chất huỳnh quang của dox, các tác giả cũng tiến hành phát hiện các hạt nano của vật liệu nano đa chức năng bằng cách phát hiện huỳnh quang của dox sau 24 giờ ủ với vật liệu nano đa chức năng (hình 10). Các tín hiệu

phát huỳnh quang màu đỏ đặc trưng cho dox ở vùng quanh nhân và tế bào chất. Các phân tử dox được khuếch tán vào nhân tế bào (mũi tên màu trắng) cho thấy tế bào hấp thu tốt các tiểu phân nano của vật liệu nano đa chức năng. Đặc tính huỳnh quang này của dox rất có lợi cho các nghiên cứu về hình thái tế bào và sự phân bố của các hạt nano trong tế bào. Từ đó có thể khai thác đồng thời các tính chất từ tính, tính chất huỳnh quang và hiệu ứng hóa trị của vật liệu nano đa chức năng này. Những kết quả này tương quan với kết quả độc tính tế bào và quá trình giải phóng thuốc dox, sau khi các tiểu phân nano thâm nhập vào tế bào, dox được giải phóng khỏi hệ nano. Sau đó, một số phân tử dox đã được phân phối thành công vào nhân của các tế bào ung thư. Điều này tạo điều kiện cho dox thể hiện tác dụng của nó trong việc gây ra tổn thương DNA bằng chất độc topoisomerase II trong các dòng tế bào ung thư dẫn đến độc tính tế bào cao.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế trở nên rõ ràng hơn qua những ví dụ dưới đây. Tuy nhiên, đây không phải giới hạn thực hiện sáng chế.

Ví dụ 1:

Đầu tiên, hòa tan copolyme PLA-TPGS với nồng độ 1,0 mg/ml vào trong dung dịch THF, khuấy trong 30 phút với tốc độ khuấy 350 - 500 vòng/phút, thu được dung dịch copolyme PLA-TPGS. Hòa tan doxorubicin Hydrochloric (dox.HCl) và các hạt nano oxit sắt từ với tỉ lệ trọng lượng dox.HCl : nano oxit sắt từ là 2 : 1 trong nước, thu được dung dịch A. Sau đó thêm từ từ từng giọt dung dịch A vào dung dịch copolyme PLA-TPGS, khuấy mạnh; thời gian khuấy trong 24 giờ trong bình kín, thu được dung dịch B. Tiếp theo, thêm từ từ dung dịch 1,5 % lexitin (thể tích : thể tích) vào dung dịch B, khuấy trong 3 giờ, tốc độ khuấy 450 - 700 vòng/phút, thu được hệ mixen doxorubicin – nano oxit sắt từ trên nền copolyme PLA-TPGS. Làm bay hơi dung môi bằng phương pháp cô quay chân không để thu hồi dung môi THF. Sau đó thẩm tách với nước cất để loại bỏ doxorubicin tự do. Cuối cùng, đông khô dung dịch và bảo quản ở 4°C thu được

vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ.

Ví dụ 2:

Đầu tiên, hòa tan copolyme PLA-TPGS với nồng độ 1,0 mg/ml vào trong dung dịch THF, khuấy trong 30 phút với tốc độ khuấy 350 - 500 vòng/phút, thu được dung dịch copolyme PLA-TPGS. Hòa tan doxorubicin Hydrochloric (dox.HCl) và các hạt nano oxit sắt từ với tỉ lệ trọng lượng dox.HCl : nano oxit sắt từ là 1 : 1 trong nước, thu được dung dịch A. Sau đó thêm từ từ từng giọt dung dịch A vào dung dịch copolyme PLA-TPGS, khuấy mạnh; thời gian khuấy trong 24 giờ trong bình kín, thu được dung dịch B. Tiếp theo, thêm từ từ dung dịch 1,5 % lexitin (thể tích/thể tích) vào dung dịch B, khuấy trong 3 giờ, tốc độ khuấy 450 - 700 vòng/phút, thu được hệ mixen doxorubicin – nano oxit sắt từ trên nền copolyme PLA-TPGS. Làm bay hơi dung môi bằng phương pháp cô quay chân không để thu hồi dung môi THF. Sau đó thẩm tách với nước cất để loại bỏ doxorubicin tự do. Cuối cùng, đông khô dung dịch và bảo quản ở 4°C thu được vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ.

Những lợi ích (hiệu quả) có thể đạt được

Sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPLS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ nhằm khắc phục các nhược điểm của khó hấp thu của doxorubicin tự do kích thước phân tử lớn; nhược điểm của các phương pháp điều trị như hóa trị, xạ trị tiêu diệt cả tế bào lành làm cho người bệnh mệt mỏi, suy nhược hay độc tính của doxorubicin trên tủy. Vật liệu nano đa chức năng thu được theo sáng chế này giúp các tiểu phân mixen chứa doxorubicin có tác dụng lên các tế bào ung thư và giảm tác dụng phụ lên các tế bào lành. Hiệu quả kỹ thuật của sáng chế được thể hiện ở bốn yếu tố chính sau:

Thứ nhất, doxorubicin có hiệu quả trong tiêu diệt các tế bào ung thư nhưng cũng gây độc tính trên các tế bào lành đặc biệt là trên tủy và tim; ngoài ra, doxorubicin có kích thước tiểu phân lớn, khó hấp thu qua màng sinh học. Việc nano hóa làm giảm kích thước tiểu phân của doxorubicin, tăng hấp thu qua màng, giúp doxorubicin thâm nhập tốt vào các tế bào ung thư. Đồng thời, khi kết hợp với các hạt nano oxit sắt từ làm tăng hiệu quả điều trị ung thư với liều sử dụng thấp và không gây độc tính với các tế bào khỏe mạnh nhờ kết hợp đồng thời hai biện pháp hóa trị và nhiệt trị.

Thứ hai, các tiểu phân doxorubicin và nano oxit sắt từ trên chất mang copolyme PLA-TPGS để tạo vật liệu nano đa chức năng ở dạng mixen. Các phân tử thuốc được mang trong các hạt mixen dễ dàng tránh được quá trình đại thực bào của cơ thể khiến thuốc bị phân hủy, đồng thời di chuyển lâu hơn và không gây độc tính tới các tế bào khỏe mạnh.

Thứ ba, việc sử dụng chất hoạt động bề mặt lưỡng cực làm giảm nồng độ mixen tới hạn, giúp khắc phục được nhược điểm của hệ mixen là kém ổn định và giải phóng được chất ô ạt.

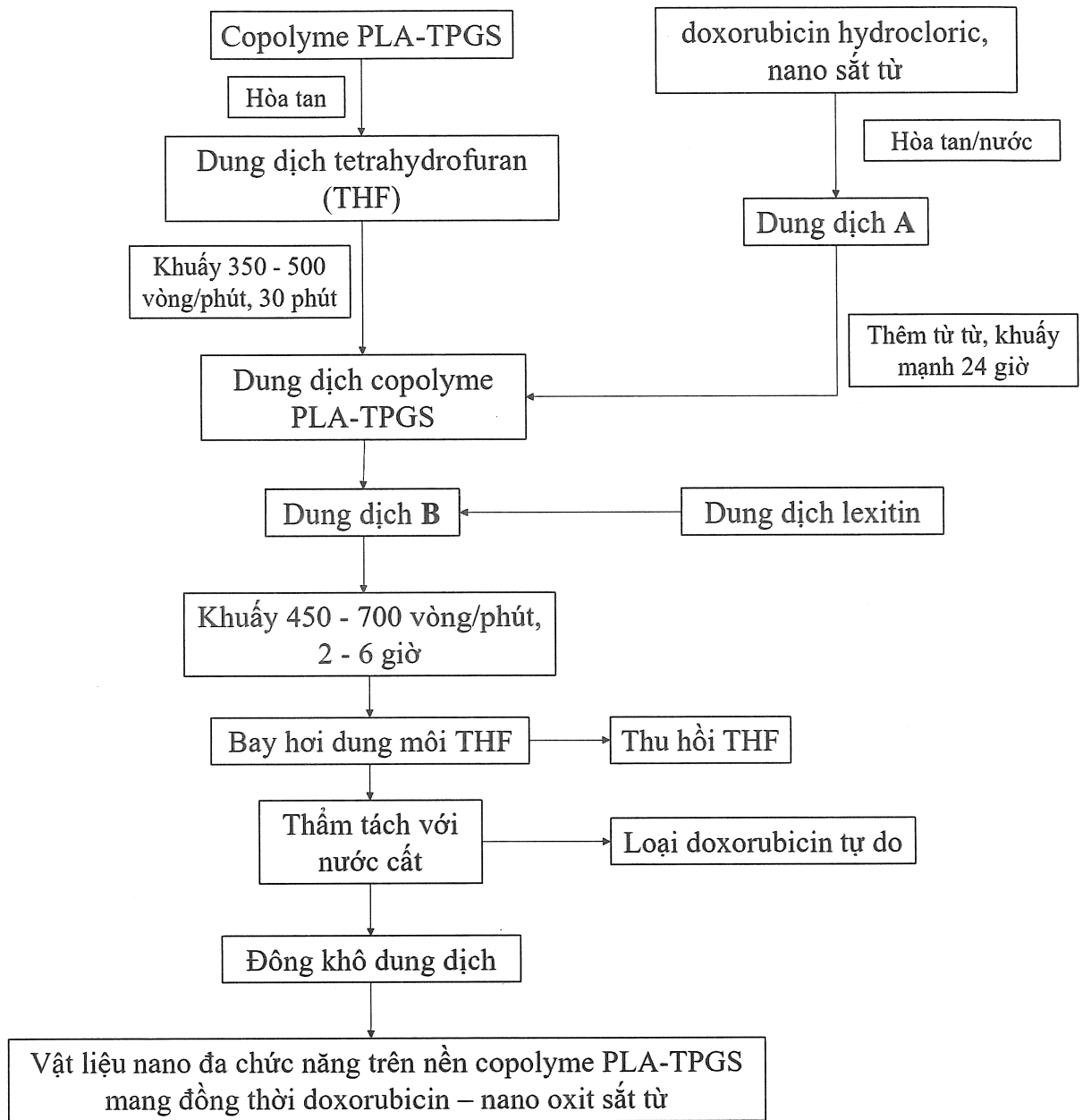
Thứ tư, khi kết hợp doxorubicin và nano oxit sắt từ trong vật liệu nano đa chức năng này cho phép khai thác hiệu quả đặc tính phát huỳnh quang tự nhiên của doxorubicin, giúp đánh dấu tế bào, hỗ trợ quá trình theo dõi sự phân bố của thuốc trong cơ thể.

YÊU CẦU BẢO HỘ

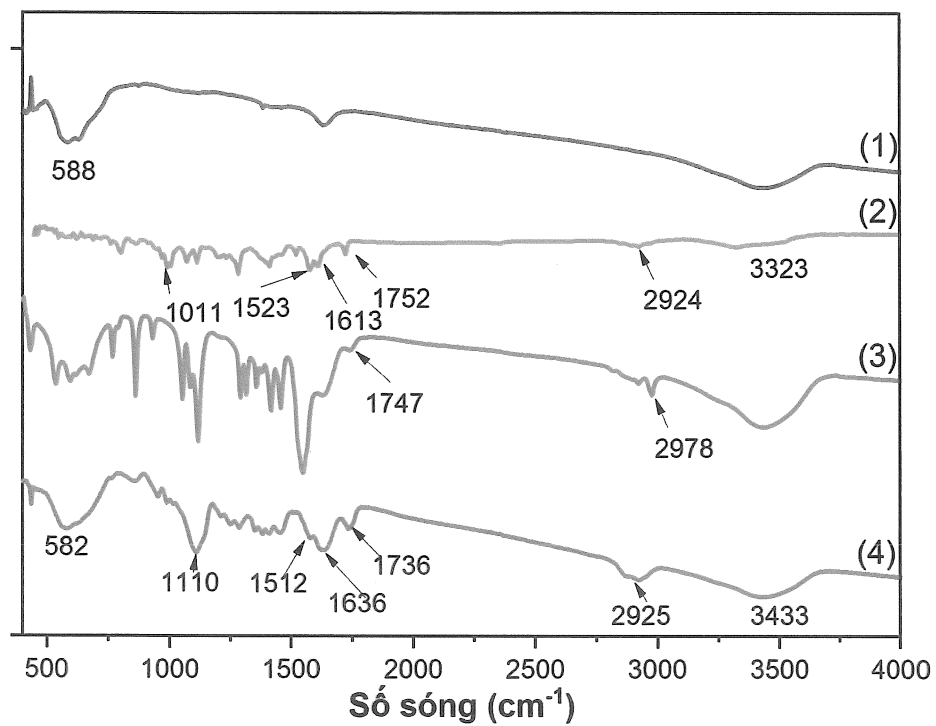
1. Phương pháp sản xuất vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ bao gồm các bước sau:

- i) hòa tan copolyme poly(lactit)-tocopheryl polyetylen glycol suxinat (PLA-TPGS) với nồng độ 0,5 – 2,5 mg/ml vào trong dung dịch tetrahydrofuran (THF), khuấy trong 30 phút với tốc độ khuấy 350 - 500 vòng/phút, thu được dung dịch copolyme PLA-TPGS;
- ii) hòa tan doxorubicin hydrocloric (dox.HCl) và các hạt nano oxit sắt từ với tỉ lệ trọng lượng dox.HCl:nano oxit sắt từ là 1:5 đến 2:1 trong nước, thu được dung dịch A;
- iii) thêm từ từ từng giọt dung dịch A vào dung dịch copolyme PLA-TPGS, khuấy mạnh; thời gian khuấy trong 24 giờ trong bình kín, thu được dung dịch B;
- iv) thêm từ từ dung dịch 0,5 - 4% lexitin (thể tích:thể tích) vào dung dịch B, khuấy trong 2 - 6 giờ, tốc độ khuấy 450 - 700 vòng/phút, thu được hệ mixen doxorubicin – nano oxit sắt từ trên nền copolyme PLA-TPGS;
- v) làm bay hơi dung môi THF bằng phương pháp cô quay chân không để thu hồi dung môi THF;
- vi) thẩm tách hệ thu được ở bước (v) với nước cất để loại bỏ doxorubicin tự do;
- vii) đông khô dung dịch, bảo quản ở 4°C thu được vật liệu nano đa chức năng trên nền copolyme PLA-TPGS mang đồng thời doxorubicin – nano oxit sắt từ.

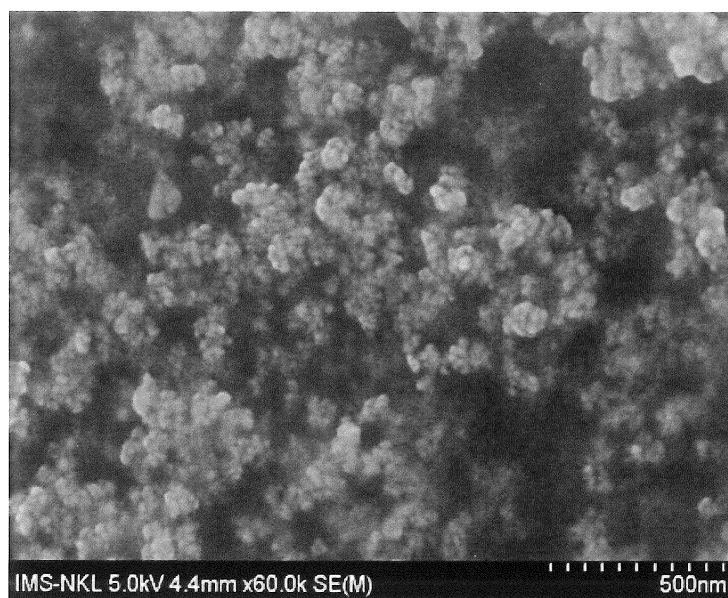
Hình 1

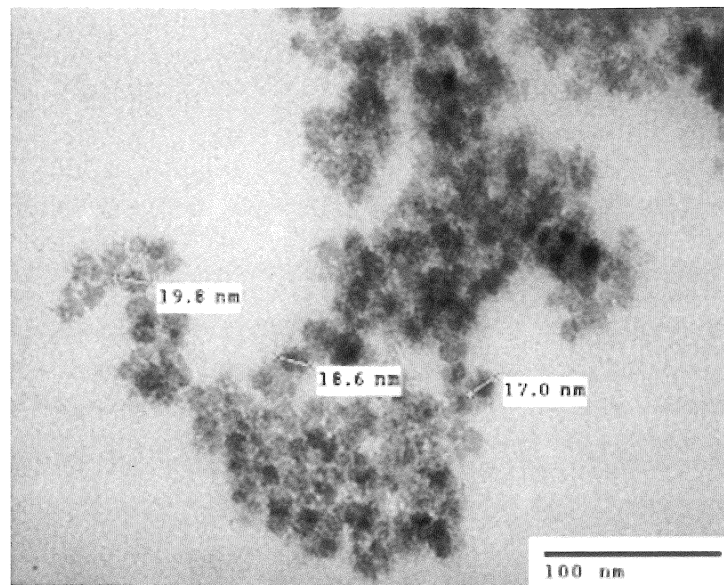
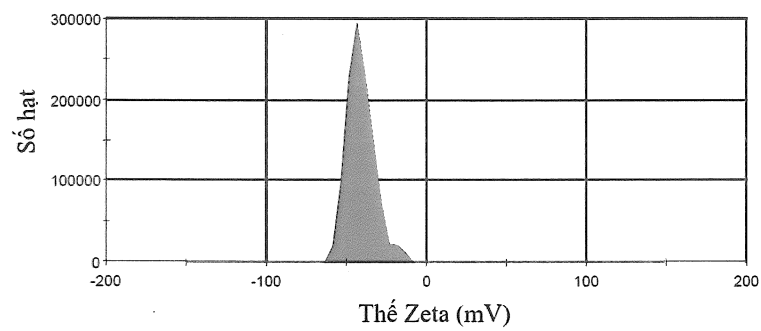
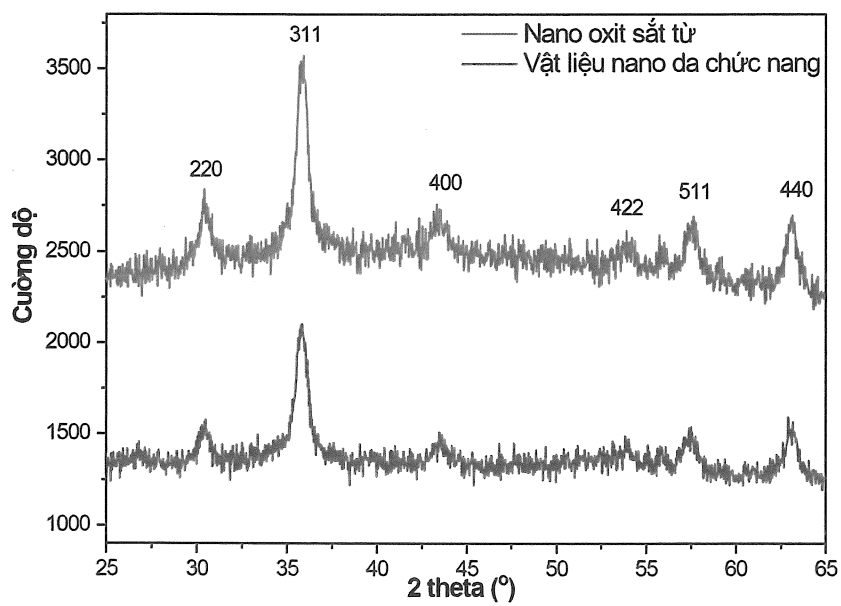


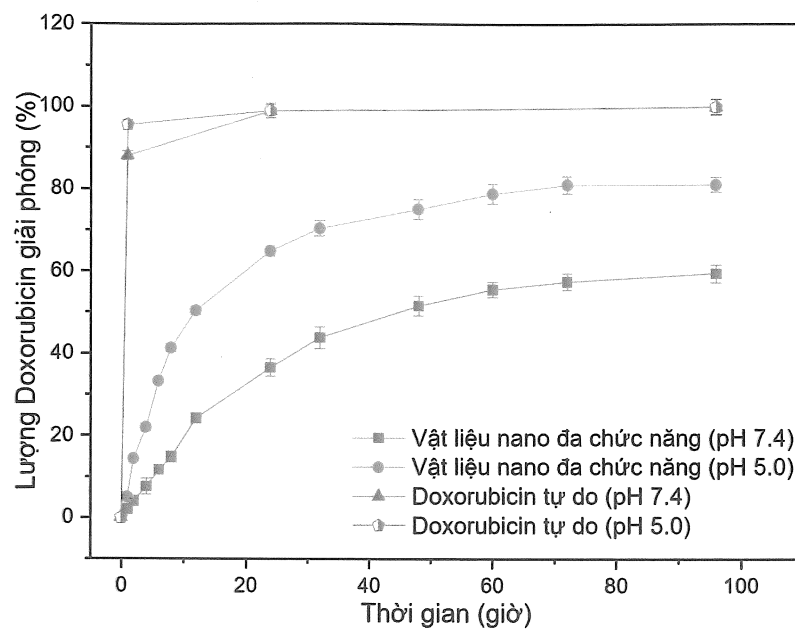
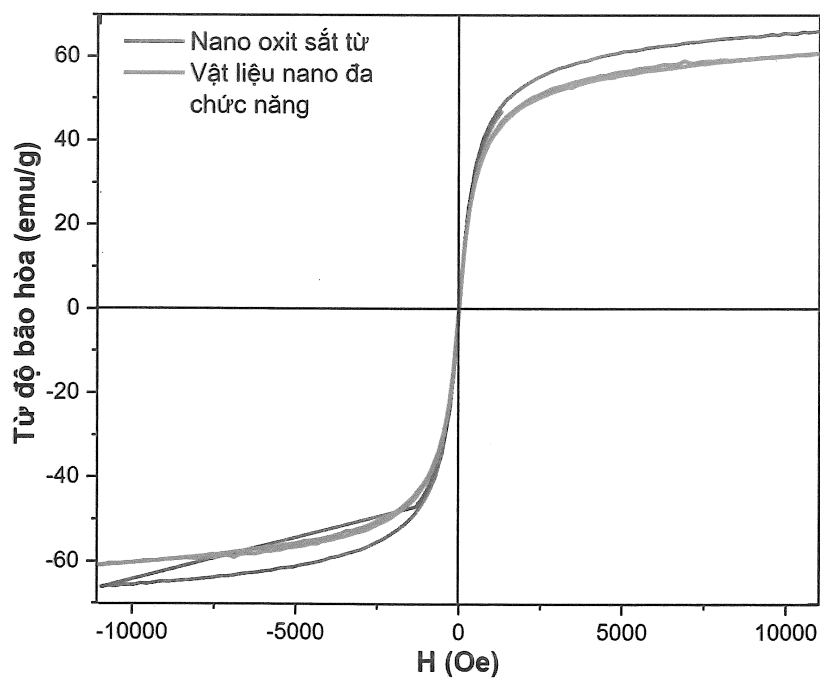
Hình 2



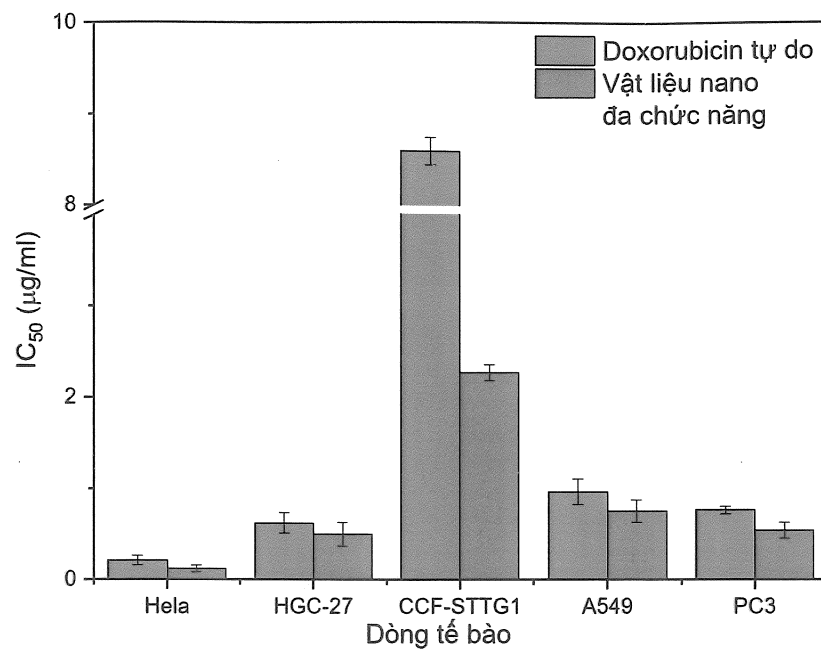
Hình 3



Hình 4**Hình 5****Hình 6**

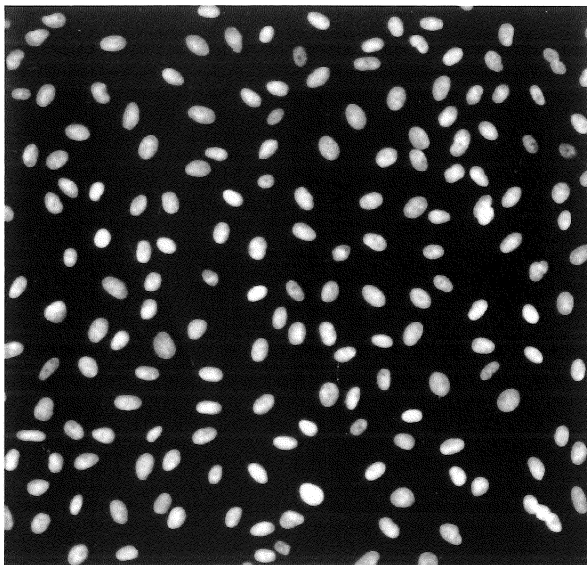
Hình 7**Hình 8**

Hình 9



Hình 10

Đối chứng



Vật liệu nano đa chức năng

