

DOI:10.22144/ctujos.2025.082

BÀO CHẾ HỆ VI HẠT PLGA CHỨA HOẠT CHẤT LUTEOLIN-7-O- β -D-GLUCOPYRANOSIDE VÀ ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH KHÁNG UNG THƯ CỦA CHẾ PHẨM

Nguyễn Quốc Châu Thanh^{1,2*}, Nguyễn Thị Kiều My^{1,2}, Đoàn Thị Trúc Linh^{1,2}, Bùi Thị Ngọc Nhi^{1,2}, Nguyễn Hữu Khiêm^{1,2}, Võ Thành Khang^{1,2} và Tạ Thanh Hồng¹

¹Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

²Phòng thí nghiệm Hóa dược tiên tiến, Tòa nhà Công nghệ cao, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): ngqcthanh@ctu.edu.vn

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 18/10/2024

Sửa bài (Revised): 23/10/2024

Duyệt đăng (Accepted): 23/01/2025

Title: Development of PLGA nanoparticles loaded luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside and evaluated its anticancer efficacy

Author: Nguyen Quoc Chau Thanh^{1,2*}, Nguyen Thi Kieu My², Doan Thi Truc Linh², Bui Thi Ngoc Nhi^{1,2}, Nguyen Huu Khiem^{1,2}, Vo Thanh Khang^{1,2} and Ta Thanh Hong¹

Affiliation(s): ¹College of Natural Sciences, Can Tho University, Viet Nam; ²Advance Medicinal Chemistry Laboratory, CTU Hi-tech Building, Can Tho University, Viet Nam

TÓM TẮT

Hệ vi hạt PLGA chứa hoạt chất luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside (LUT/PLGA-NPs) đã được bào chế thành công và được thử nghiệm đánh giá hoạt tính kháng ung thư. Kết quả cho thấy hệ vi hạt LUT/PLGA-NPs có kích thước trung bình trong khoảng 188 – 224 nm, điện thế zeta từ – 70 mV đến – 43 mV, khả năng giải phóng hoạt chất đạt 27,98 % và 74,80 % trong 72 giờ khảo sát, tương ứng tại pH 7,4 và 5,3. Điều này cho thấy LUT/PLGA-NPs có tính ổn định cao, phóng thích có kiểm soát và phân tán tốt. Hơn thế nữa, khả năng gây độc đối với tế bào ung thư cổ tử cung (HeLa) và giảm thiểu độc tính đối với tế bào phôi thận bình thường của chế phẩm cũng được ghi nhận. Vì vậy, hệ vi hạt LUT/PLGA-NPs hứa hẹn là một liệu pháp điều trị tiềm năng của các hợp chất có nguồn gốc từ thiên nhiên đối với bệnh ung thư từ công nghệ nano.

Từ khóa: Hệ vi hạt, luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside, PLGA, tế bào phôi thận, ung thư cổ tử cung

ABSTRACT

PLGA nanoparticles loaded with luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside (LUT/PLGA-NPs) were successfully prepared and evaluated for anti-cancer activity. The results showed that the LUT/PLGA-NPs had an average particle size in the range of 188 – 224 nm, zeta potential from – 70 mV to – 43 mV, and the drug release of up to 27.98 % and 74.80 % for 72 hours, at pH 7.4 and 5.3, respectively. This study indicated that LUT/PLGA-NPs had high stability, controlled release, and good dispersibility. Furthermore, LUT/PLGA-NPs exerted toxicity to cervical cancer cells (HeLa) and reduced toxicity to kidney embryonic cells. Therefore, the LUT/PLGA-NPs promise the possibility of natural compounds being applied in cancer therapy using nanotechnology.

Keywords: Cervical cancer, embryonic kidney cells, luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside, nanoparticles, PLGA

1. GIỚI THIỆU

Ung thư là một trong những căn bệnh có tỷ lệ tử vong cao nhất trên toàn cầu, đặt ra thách thức lớn đối với nền y học hiện đại trong việc điều trị bệnh (Barrios, 2022). Hơn thế nữa, nhiều bằng chứng cho thấy tình trạng viêm có mối quan hệ chặt chẽ đối với sự khởi phát và phát triển của ung thư. Hóa trị là phương pháp tiềm năng nhất trong việc điều trị ung thư tại chỗ và di căn (Chouhan et al., 2009). Tuy nhiên, hầu hết các thuốc hóa trị hiện nay đều có tốc độ thanh thải qua máu nhanh, độ chọn lọc khối u thấp và gây độc đối với các tế bào khỏe mạnh (Bromberg et al., 2003).

Trong những năm gần đây, việc nghiên cứu về các hoạt chất có nguồn gốc thực vật đang nhận được sự quan tâm lớn từ các nhà khoa học bởi tính an toàn và ít tác dụng phụ của chúng. Điển hình là nhóm flavonoid, đây là nhóm hợp chất phổ biến ở hầu hết các loài thực vật với nhiều hoạt tính sinh học nổi bật (Gajender et al., 2023). Cụ thể, luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside (hay cynaroside, luteoloside) thu hút nhiều sự chú ý bởi những hoạt tính tiềm năng, đặc biệt là khả năng kháng viêm, kháng ung thư (Žemlička et al., 2014). Tuy nhiên, việc ứng dụng hợp chất này vào việc phát triển thuốc vẫn còn gặp nhiều khó khăn vì độ hòa tan, tính thấm kém của nó (Halder et al., 2018). Để giải quyết vấn đề này, một trong những giải pháp tiềm năng là ứng dụng công nghệ nano trong vận chuyển luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside.

Hiện nay, công nghệ nano là một lĩnh vực khoa học đang được quan tâm phát triển và là liệu pháp vô cùng tiềm năng. Một trong những ứng dụng của công nghệ này trong y học là thiết kế các vật liệu có kích thước hạt nano làm hệ thống dẫn truyền thuốc. Hệ thống này giúp cải thiện sự phân bố, tăng tính đặc hiệu và kéo dài thời gian lưu thông của thuốc trong cơ thể. Trong số các loại vật liệu dùng làm hệ nano, polymer poly (D,L-lactic-co-glycolic) acid (PLGA) được Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (U.S Food and Drug Administration, FDA) công nhận là an toàn và đã được sử dụng trong các thử nghiệm lâm sàng vì chúng phân hủy thành lactic acid và glycolic acid và được chuyển hóa dễ dàng thông qua chu trình Krebs (Fredenberg et al., 2011). Một số nghiên cứu gần đây cho thấy các hạt nano PLGA chứa quercetin có thể cải thiện được những hạn chế như độ tan, sinh khả dụng và khả năng chống ung thư vú, ung thư cổ tử cung thông qua caspase-3 đồng thời ức chế đường dẫn tín hiệu PI3K/Akt (Yadav et al., 2022). Ngoài ra, hệ nano PLGA được chứa hoạt chất apigenin, kết hợp phụ

hyaluronic acid được bào chế thành công, đã cải thiện được độ tan, tăng cường khả năng phóng thích kéo dài và chọn lọc thụ thể CD44 trên các tế bào ung thư ruột kết (Yang et al., 2023).

Chính vì vậy, nghiên cứu hướng đến việc bào chế hệ vi hạt từ PLGA chứa hoạt chất luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside và phát triển hệ thống này theo hướng giải phóng hoạt chất kéo dài, hướng đích tác dụng đến các mô khối u để làm giảm tác dụng phụ của hoạt chất đến các tế bào khỏe mạnh. Đồng thời, khả năng kháng ung thư của hệ vi hạt PLGA ở mức độ *in vitro* trên mô hình các dòng tế bào thử nghiệm được đánh giá trong nghiên cứu làm cơ sở để phát triển vào các liệu pháp tiềm năng điều trị các bệnh ung thư trong tương lai.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Hóa chất được sử dụng bao gồm ethanol, dichloromethane (DCM), dimethylformamide (DMF) (Chemsol, Việt Nam). Dimethyl sulfoxide (DMSO), PLGA với tỉ lệ lactic và glycolic acid là 50:50 (MW 7.000 – 17.000 g/mol), polyvinyl alcohol (PVA, MW 31.000 – 50.000), L-glutamine, penicillin-streptomycin, luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside (Sigma-Aldrich, Mỹ), huyết thanh nhau thai bò – fetal bovine serum (FBS) (Hyclone, Mỹ), tế bào HeLa (CCL-2, ATCC, Mỹ), tế bào HEK293 (CRL-1573, ATCC, Mỹ), thuốc thử CCK-8 (Dojindo Molecular Technologies Inc., Mỹ). Các dung môi hữu cơ của Chemsol, Việt Nam và một số hóa chất khác của Xilong, Trung Quốc.

2.2. Bào chế hệ vi hạt PLGA chứa luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside

Hệ vi hạt PLGA chứa hoạt chất luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside (LUT) được bào chế theo phương pháp nhũ hóa bay hơi dung môi với một số sửa đổi (Pereira et al., 2018). Pha hữu cơ gồm có 20 mg PLGA hòa tan trong 10 mL DCM – tween 80 1 % (v/v), 2 - 10 mg LUT được hòa tan trong 5 mL DMF. Pha nước là dung dịch PVA 3% và 0,3% (w/v). Đầu tiên, pha hữu cơ được bơm qua hệ bơm nhu động (NC-NE17, Nanocast. JSC, Việt Nam) với tốc độ 500 mL/phút, sau đó đồng hóa pha hữu cơ với 20 mL PVA 3% ở 15.000 vòng/phút (Hercuvan TT – 30K, Anh) trong 10 phút (điều kiện 4 - 5°C) thu được hệ nhũ tương dầu/nước. Sau đó, 20 mL PVA 0,3 % được thêm vào hệ nhũ tương trên, đánh siêu âm 10 phút với tần số 42 kHz, 100 W (Elmasonic S100H, Elma, Đức) tại 4°C thu được hệ nhũ tương nước/dầu/nước. Hỗn hợp được khuấy từ trong 18 giờ để làm bay hơi dung môi. Cuối cùng, hỗn hợp

được ly tâm với tốc độ 14.000 vòng/phút (Mikro 220, Hettich, Đức) trong 10 phút (điều kiện 4 - 5°C) thu được hệ vi hạt (LUT/PLGA-NPs). Hạt được rửa nhiều lần bằng nước cất để loại bỏ phần hoạt chất dư, dịch nổi sau ly tâm được thu hồi để đánh giá khả năng tải/ nạp.

2.3. Đánh giá các đặc tính lý hóa của hệ vi hạt

Hiệu suất tải (Encapsulation Efficiency – EE) và hiệu suất nạp (Drug Loading – DL) được đánh giá thông qua việc xác định lượng LUT tự do có trong dịch nổi sau ly tâm. Mật độ quang của dịch nổi được đo ở bước sóng hấp thụ cực đại của LUT là 352 nm, tính toán lượng hoạt chất tự do dựa vào phương trình đường chuẩn: $y = 0,0407x + 0,0019$ ($R^2 = 0,9975$). Hiệu suất tải/nạp được tính theo công thức (Pereira et al., 2018):

$$EE \% = \frac{\text{Hoạt chất ban đầu} - \text{Hoạt chất tự do}}{\text{Hoạt chất ban đầu}} \times 100 \%$$

$$DL \% = \frac{\text{Hoạt chất ban đầu} - \text{Hoạt chất tự do}}{\text{Lượng polymer} + \text{Hoạt chất bắt giữ}} \times 100 \%$$

Kích thước hệ vi hạt và điện tích bề mặt được xác định dựa trên phương pháp tán xạ ánh sáng động (Dynamic light scattering – DLS, Horiba SZ-100, Nhật Bản). Hình thái của hệ vi hạt được quan sát bằng phương pháp hiển vi điện tử truyền qua (TEM, JEM2100, Jeol, Nhật Bản) và phương pháp hiển vi điện tử quét (SEM, Hitachi S4800, Nhật Bản).

Đặc trưng về liên kết hóa học của hệ vi hạt được xác định thông qua phổ hồng ngoại FT-IR với độ phân giải 1 cm^{-1} , dải phổ $4000 - 500 \text{ cm}^{-1}$, sử dụng kỹ thuật xử lý tín hiệu Cosine, đầu dò TGS (FT/IR 4600, Jasco, Nhật Bản).

2.4. Khả năng giải phóng hoạt chất

LUT/PLGA-NPs được phân tán vào 20 mL đệm phosphate (PBS) chứa 1% tween 80 (v/v), điều chỉnh dung dịch mô phỏng thích hợp với pH 5,3 (môi trường phù hợp với sự phát triển của các tế bào khối u) và pH 7,4 (môi trường sinh lý), khuấy từ với tốc độ 100 vòng/phút trong điều kiện 37°C (Karthick et al., 2019). Thí nghiệm được tiến hành trong 72 giờ, tại các mốc thời gian khảo sát, 1 mL hỗn hợp được hút và bù lại thể tích dung dịch đệm PBS tương ứng. Sau đó, các hỗn hợp được ly tâm lạnh (18.000 vòng/phút, 10 phút) để loại bỏ phần hạt, phần dịch nổi được đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 352 nm để xác định phần trăm giải phóng tích lũy của hoạt chất ở mỗi thời điểm theo công thức (*). Hàm lượng hoạt chất giải phóng được tính dựa theo phương trình đường chuẩn $y = 0,0049x + 0,0017$, $R^2 = 0,99$ (pH 5,3); $y = 0,0109x + 0,0007$, $R^2 = 0,99$ (pH 7,4).

$$\%T = \frac{C_t V_0 + V \sum_{i=1}^{t-1} C_i}{M_0 - \sum_{i=1}^{t-1} M_i} \times 100 \quad (*)$$

Trong đó, C_t , C_i : nồng độ của LUT được giải phóng tại thời điểm t và i ; V_0 : tổng thể tích dung dịch đệm giải phóng (20 mL); V : thể tích mẫu rút tại mỗi thời điểm (1 mL); M_0 : hàm lượng LUT ban đầu; M_i : tổng lượng LUT rút tại thời điểm i .

2.5. Nuôi cấy tế bào

Tế bào ung thư cổ tử cung (HeLa) và tế bào phôi thận (HEK293) được nuôi cấy trong môi trường DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) có bổ sung 10% huyết thanh nhau thai bò (fetal bovine serum – FBS), penicilin-streptomycin 1% trong tủ nuôi cấy tế bào (nhiệt độ 37°C , 5% CO_2). Khi tế bào nhân lên và đạt độ bao phủ 80 - 90% đáy bình nuôi cấy, số lượng tế bào sống được thu và đếm, cấy chuyển tế bào vào đĩa 96 giếng hoặc đĩa 24 giếng với mật độ thích hợp để tiến hành các thử nghiệm (Nguyen et al., 2020).

2.6. Đánh giá khả năng gây độc tế bào ung thư của LUT và LUT/PLGA-NPs

Tế bào được nuôi cấy trong đĩa 96 giếng với mật độ 2×10^5 tế bào/giếng trong 24 giờ với cùng điều kiện ở mục 2.5. Mẫu thử được hòa tan vào DMSO, sau đó pha loãng thành dãy nồng độ từ 50 đến 1000 μM bằng môi trường nuôi cấy. Tế bào được xử lý với mẫu thử ở các nồng độ khác nhau trong 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ ở cùng điều kiện thí nghiệm. Sau đó, môi trường được loại bỏ và bổ sung 100 μL môi trường nuôi cấy chứa CCK-8 kit vào mỗi giếng. Khả năng gây độc của mẫu thử thể hiện thông qua khả năng sống sót của tế bào được đo tại bước sóng 450 nm, tính theo công thức:

$$\text{Khả năng sống sót của tế bào (\%)} = \frac{Absm}{Absc} \times 100\%$$

Trong đó, Absm là giá trị độ hấp thụ quang ở các giếng có mẫu thử, Absc là giá trị độ hấp thụ quang ở giếng đối chứng (không có mẫu thử).

2.7. Phân tích thống kê dữ liệu

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại ba lần. Phương pháp phân tích phương sai một chiều (ANOVA) trong phần mềm Prism phiên bản 9.0 (GraphPad Software Inc., Mỹ) được sử dụng để xử lý thống kê.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

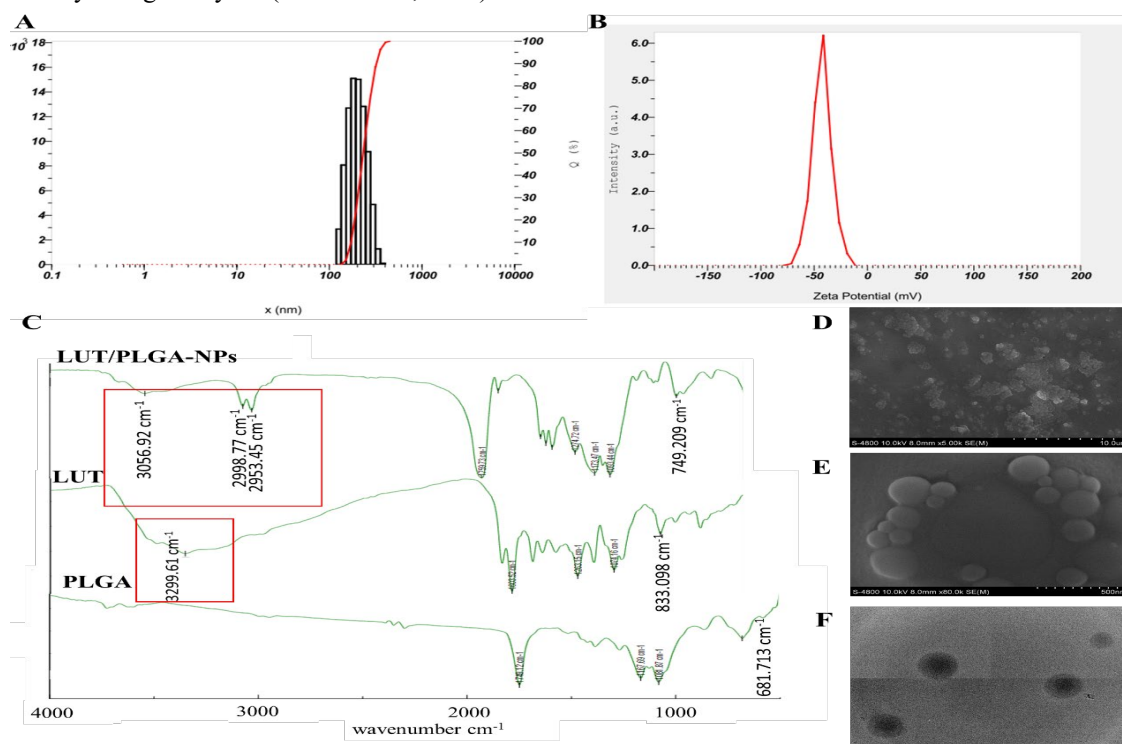
3.1. Hệ vi hạt PLGA

Hiệu suất tải và nạp của LUT/PLGA-NPs ở các nghiệm thức khảo sát lần lượt dao động trong khoảng từ 34 đến 54% và 3 - 22% (Bảng 1). Khi

khối lượng hoạt chất ở pha hữu cơ tăng, hiệu suất tải và nạp đều tăng dần. Điều này được giải thích do lượng hoạt chất tăng sẽ có nhiều phân tử LUT có thể tương tác với chuỗi polymer PLGA hơn làm tăng giá trị EE và DL (Eveen et al., 2022). Tuy nhiên, nhiều nguyên nhân cho thấy khối lượng hoạt chất sử dụng quá lớn sẽ làm giảm tính ổn định của hệ vi hạt đó PLGA đã đạt đến độ ổn định bão hòa trong ma trận polymer, kết quả làm giảm khả năng tải và nạp hoạt chất vào hệ thống (Liu et al., 2017). Kích thước hạt là một trong những thông số quan trọng quyết định việc ứng dụng của các công thức nano. Kích thước hạt trung bình của hệ vi hạt ở các tỉ lệ khảo sát nằm trong khoảng 188 – 224 nm (Hình 1.A). Kích thước này tương đối phù hợp để phát triển thuốc cho nhiều tác dụng hấp thu khác nhau, đặc biệt có tiềm năng cao dùng để dẫn truyền hoạt chất điều trị ung thư nhắm mục tiêu vào khối u (Danaei et al., 2018).

Điện thế zeta là thông số giúp hiểu rõ bề mặt và dự đoán sự ổn định của hạt nano trong dung dịch. Các hạt nano có độ ổn định cao khi có thế zeta nhỏ hơn -30 mV hoặc lớn hơn $+30$ mV. Các hệ phân tán có giá trị điện thế zeta nhỏ hơn $+25$ mV hoặc lớn hơn -25 mV dễ kết tụ do xảy ra tương tác giữa các hạt bằng tương tác van der Waals, tương tác kỵ nước hay tương tác hydro (Kumar et al., 2017). Kết

quả điện thế zeta ở các nghiệm thức khảo sát dao động từ -70 mV đến -43 mV, chứng tỏ rằng hệ vi hạt có tính ổn định cao và phân tán tốt trong dung dịch (Bảng 1, Hình 1.B). Bên cạnh đó, chỉ số phân tán (polydispersity index) thấp cho thấy sự đồng nhất của hệ vi hạt tạo thành, điều này phù hợp với các hệ phân phối thuốc sử dụng chất mang là polymer (Danaei et al., 2018). Phương pháp hiển vi điện tử quét (SEM) và hiển vi điện tử truyền qua (TEM) được sử dụng để xác định hình dạng cấu trúc của hệ vi hạt (Hình 1.D,E,F). Các LUT/PLGA-NPs có dạng hình cầu, có cấu trúc lõi-vỏ với lõi là hoạt chất LUT liên kết với vỏ là ma trận polymer PLGA. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu trước đây về điều chế hệ vi hạt PLGA dựa trên phương pháp nhũ hóa và bay hơi dung môi (Pereira et al., 2018). Hơn nữa, kết quả hình ảnh SEM và TEM còn cho thấy kích thước của các LUT/PLGA-NPs cũng phù hợp với kết quả DLS trước đó. Điều này chứng tỏ rằng, nghiên cứu đã thành công trong việc chế tạo vật liệu có kích thước nhỏ hơn 200 nm, có độ phân tán tốt và phù hợp cho việc ứng dụng phát triển thuốc đường tiêm trong các liệu pháp điều trị bệnh. Dựa trên các kết quả thu được, công thức LUT/PLGA-NPs chứa 5 mg LUT được chọn để khảo sát các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 1. (A) Biểu đồ phân bố kích thước hạt; (B) Biểu đồ điện thế zeta; (C) Phổ FT-IR của PLGA, LUT và LUT/PLGA-NPs; (D), (E) Hình ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của LUT/PLGA-NPs; (F) Hình ảnh hiển vi điện tử truyền qua (TEM) của LUT/PLGA-NPs

Bảng 1. Hiệu suất nạp (EE), hiệu suất tải (DL), kích thước trung bình và điện thế zeta của LUT/PLGA-NPs

Khối lượng LUT (mg)	EE (%)	DL (%)	Kích thước hạt (nm)	Điện thế zeta (mV)	Độ phân tán (PI)
10	53,52 ± 4,00 ^a	22,01 ± 2,56 ^a	223,5	- 42,8	0,217
5	33,73 ± 0,65 ^b	6,32 ± 0,11 ^b	214,6	- 69,6	0,214
2	35,20 ± 1,20 ^b	3,40 ± 0,11 ^c	188,3	- 67,5	0,225

Ghi chú: các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.2. Đặc trưng cấu trúc của hệ vi hạt

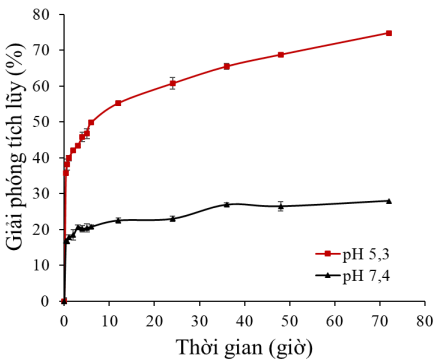
Hình 1.C thể hiện phổ FT-IR của các thành phần có trong hệ vi hạt. Kết quả phổ của LUT/PLGA-NPs thể hiện các mũi tín hiệu đặc trưng ở vùng 1759 cm^{-1} ($>\text{C}=\text{O}$); 1173 cm^{-1} và 1093 cm^{-1} ($\text{C}_{\text{sp}^3}-\text{O}$) của polymer PLGA (Chen et al., 2009). Ngoài ra, phổ của LUT/PLGA-NPs xuất hiện thêm mũi tín hiệu 3506 cm^{-1} , đây là mũi tín hiệu đặc trưng cho dao động nhóm ($-\text{OH}$) của LUT và mũi tín hiệu của nhóm flavone carbonyl ở vùng 1673 cm^{-1} . Vì vậy, có thể kết luận rằng hoạt chất luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside đã được nạp thành công vào hệ thống vi hạt mà vẫn giữ nguyên được cấu trúc đặc trưng của các thành phần.

3.3. Giải phóng LUT

Việc đánh giá khả năng giải phóng hoạt chất đóng vai trò quan trọng trong các nghiên cứu về hệ vi hạt, đặc biệt là những hệ vi hạt có tiềm năng ứng dụng trong điều trị ung thư. Quá trình giải phóng thuốc được kiểm soát là yếu tố then chốt để đảm bảo hiệu quả điều trị tối ưu trong các liệu pháp điều trị ung thư (Karthick et al., 2019). Hơn nữa, khả năng giải phóng thuốc một cách bền vững và có kiểm soát cũng phản ánh sự thành công trong quá trình điều chế hệ vi hạt (Wang et al., 2024).

Khả năng giải phóng LUT/PLGA-NPs ở pH 5,3 và pH 7,4 được trình bày trong Hình 2. Trong giai đoạn từ 0 đến 12 giờ đầu, giai đoạn giải phóng ồ ạt diễn ra, tiếp theo là sự giải phóng hoạt chất kéo dài do sự tan rã chậm của lõi vi hạt, điều này thường thấy ở các polymer sinh học (Mu et al., 2003). Ở pH 7,4, LUT/PLGA-NPs giải phóng 22,5% hoạt chất trong 12 giờ và duy trì trong suốt 72 giờ tiếp theo với 27,98%. Điều này cho thấy, hệ vi hạt bảo vệ tốt hoạt chất với khả năng phóng thích kém đối với môi trường sinh lý. Tuy nhiên, ở pH 5,3 đối với môi trường sống của các tế bào khối u, khả năng giải phóng tăng lên, đạt 55,22% trong 12 giờ đầu và tiếp tục tăng đến 74,80% tại 72 giờ khảo sát. Theo các kết quả nghiên cứu trước đây, PLGA và các polymer có cấu trúc tương tự dễ bị phân hủy trong môi trường acid (Shaobing et al., 2002; Enas et al., 2019). Quá trình phân hủy nhanh chóng này là do sự thủy phân

các liên kết ester trong cấu trúc PLGA xảy ra trong môi trường acid. Vì vậy, pH của môi trường là yếu tố quan trọng trong việc thiết kế hệ thống phân phối thuốc dựa trên PLGA cho các ứng dụng khác nhau (Visan et al., 2024). Cụ thể, khi cấu trúc PLGA bị phá hủy, khung cấu trúc của hạt nano dần tan rã, dẫn đến tốc độ giải phóng hoạt chất tăng cao. Khi vào môi trường sinh lý cơ thể (pH 7,4), cấu trúc hạt nano bền vững và giải phóng ít hoạt chất. Tuy nhiên, khi đến đích tác động là môi trường khối u (pH 5,3), quá trình giải phóng nhanh chóng diễn ra. Điều này cho phép hoạt chất được giải phóng hiệu quả hơn tại vị trí khối u, tối ưu hóa hiệu quả điều trị và giảm thiểu tác dụng phụ lên các mô lành. Sự khác biệt trong tỷ lệ giải phóng ở các mức pH khác nhau cho thấy khả năng kiểm soát tốt của hệ chất mang và chọn lọc giải phóng hoạt chất tiềm năng của LUT/PLGA-NPs.



Hình 2. Đồ thị giải phóng LUT của LUT/PLGA-NPs trong môi trường pH 5,3 và pH 7,4

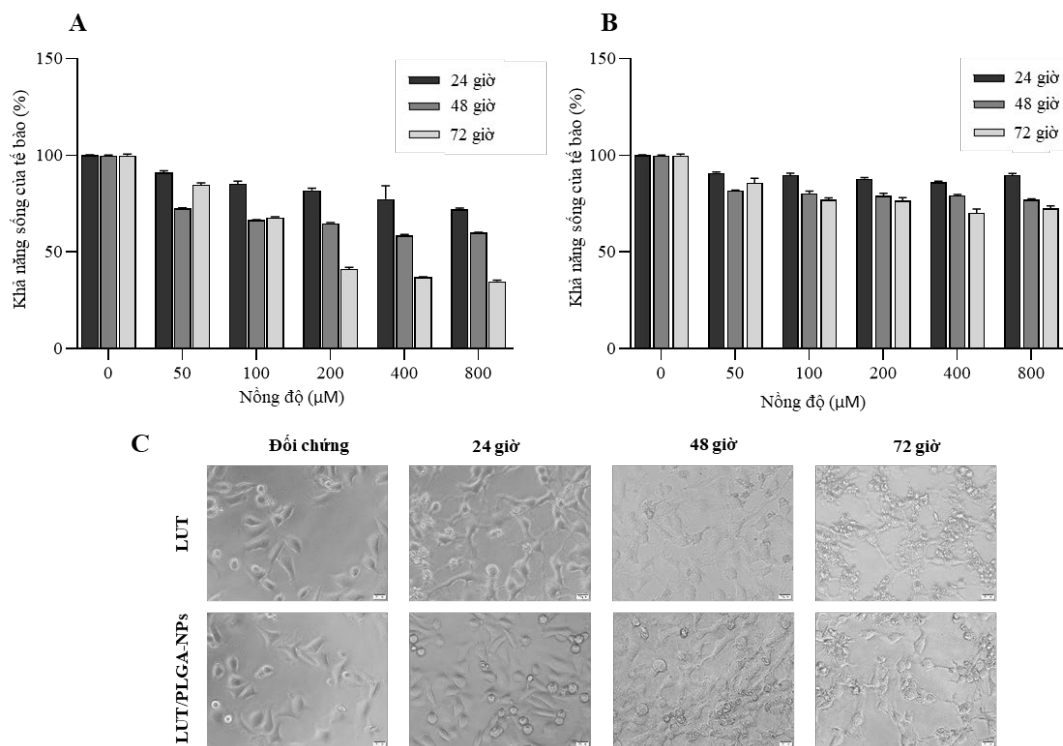
3.4. Khả năng ức chế tế bào ung thư của hệ vi hạt

Hiệu quả ức chế tế bào ung thư cổ tử cung (HeLa) và của LUT tự do và LUT/PLGA-NPs được đánh giá dựa trên phương pháp CCK-8. Đối với dòng tế bào HeLa, khi tăng dần thời gian khảo sát từ 24 giờ đến 72 giờ, theo chiều tăng dần nồng độ hoạt chất thì khả năng sống của tế bào cũng giảm dần. Ở nồng độ $200\text{ }\mu\text{M}$ của LUT, khả năng sống của tế bào HeLa khoảng 80% trong 24 giờ khảo sát và giảm còn 41% trong 72 giờ xử lý. Tương tự, đối với LUT/PLGA-NPs, khả năng sống của tế bào HeLa

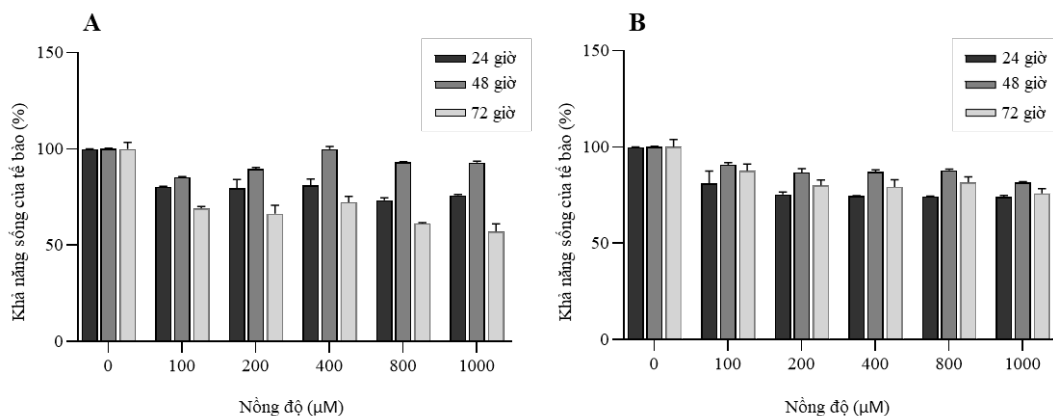
cũng giảm dần theo thời gian khảo sát, đạt ở mức 70% trong 72 giờ xử lý ở nồng độ 800 μM (Hình 3). Kết quả trên cho thấy LUT/PLGA-NPs có tính giải phóng hoạt chất theo thời gian và kéo dài, phù hợp với kết quả khảo sát khả năng phóng thích hoạt chất theo mô phỏng môi trường khối u pH 5,3.

Mặt khác, độc tính của hoạt chất đối với tế bào phôi thận HEK293 cũng được khảo sát nhằm đánh giá ảnh hưởng của hệ chất mang đối với các tế bào

lành tính. Đặc biệt, tế bào ở thận giữ chức năng đào thải độc tố, điều hòa cân bằng nội môi chịu ảnh hưởng trực tiếp qua quá trình đào thải (Chen et al., 2019). Chính vì vậy, việc đánh giá độc tính trên tế bào được thực hiện nhằm kiểm tra tiềm năng nghiên cứu của hoạt chất đối với các liệu pháp điều trị. Kết quả cho thấy, đối với hệ vi hạt LUT/PLGA-NPs giảm đáng kể khả năng gây độc tế bào Hek293 (Hình 4).



Hình 3. (A) Khả năng sống của tế bào HeLa khi xử lý với LUT, (B) Khả năng sống của tế bào HeLa khi xử lý với LUT/PLGA-NPs, (C) Hình thái tế bào HeLa khi xử lý với LUT và LUT/PLGA-NPs ở nồng độ 200 μM



Hình 4. (A) Khả năng sống của tế bào HEK293 khi xử lý với LUT, (B) Khả năng sống của tế bào HEK293 khi xử lý với LUT/PLGA-NPs

Kết quả cho thấy tiềm năng của LUT/PLGA-NPs trong việc kiểm soát hàm lượng hoạt chất và chiến lược nhắm mục tiêu thụ động (EPR) trong điều trị ung thư. Điển hình như hệ mạch máu trong khối u có tính thấm cao và dễ rò rỉ, vì vậy các phân tử có kích thước nano điển hình như LUT/PLGA-NPs dễ xâm nhập, tích tụ và giải phóng hoạt chất vào mô khối u, giảm thiểu độc tính trên các tế bào khỏe mạnh (Maeda et al., 2001).

4. KẾT LUẬN

Hệ vi hạt LUT/PLGA-NPs chứa hoạt chất chất luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside đã được bào chế thành công trong nghiên cứu với kích thước trung bình trong khoảng 188 – 224 nm bằng phương pháp nhũ hóa bay hơi dung môi, kết hợp với hệ bơm nhu động. Hệ vi hạt thu được có tính ổn định cao và phân tán tốt trong dung dịch với điện thế – 70 mV đến – 43 mV. Ngoài ra, khả năng gây độc tế bào ung thư

cô từ cung và giảm thiểu độc tính đối với tế bào phổi thận bình thường của chế phẩm cũng được ghi nhận. Kết quả này tương ứng với đặc tính bảo vệ hoạt chất tốt đối với môi trường sinh lý, kiểm soát và phóng thích tốt đạt trên 70 % đối với môi trường tế bào khối u. Tuy nhiên, sự đồng đều của kích thước hạt là một điểm hạn chế bởi các kỹ thuật của nghiên cứu. Do đó, định hướng ứng dụng công nghệ vi lưu (microfluidic) trong việc kiểm soát kích thước hạt sẽ được xem xét trong các nghiên cứu tiếp theo.

Tóm lại, hệ vi hạt PLGA chứa các hoạt chất tiềm năng có nguồn gốc từ thiên nhiên, đại diện là luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside hứa hẹn mang lại một liệu pháp điều trị ung thư mới với một hệ chất mang kiểm soát và an toàn đối với cơ thể người.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài này được tài trợ bởi Trường Đại học Cần Thơ, Mã số: TSV2024-21.

TÀI LIỆU THAM KHẢO (REFERENCES)

- Barrios, C. H. (2022). Global challenges in breast cancer detection and treatment. *Breast*, 62, S3-S6.
<https://doi.org/10.1016/j.breast.2022.02.003>
- Bromberg, L., & Alakhov, V. (2003). Effects of polyether-modified poly (acrylic acid) microgels on doxorubicin transport in human intestinal epithelial Caco-2 cell layers. *Journal of Controlled Release*, 88, 11–22.
[https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00419-4](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00419-4)
- Chen, Y., Xu, T., Yang, X., Chu, W., Hu, S., & Yin, D. (2019). The toxic potentials and focus of disinfection byproducts based on the human embryonic kidney (HEK293) cell model. *Science of The Total Environment*, 664, 948–957.
<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.01.361>
- Chen, H., Yang W., Chen H., Liu, L., Gao, F., Yang, X., & Jiang, Q. (2009). Surface modification of Mitoxantrone-loaded PLGA nanospheres with chitosan. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 73, 212–218.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.05.020>
- Chouhan, R., & Bajpai, A. (2009). Real-time *in vitro* studies of doxorubicin release from PHEMA nanoparticles. *Journal of Nanobiotechnology*, 7, 5–16.
<https://doi.org/10.1186/1477-3155-7-5>
- Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Hasanzadeh Davarani, F., Javanmard, R., Dokhani, A., Khorasani, S., & Mozafari, M. R. (2018). Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. *Pharmaceutics*, 10(2), 57.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics100>
- Enas, M. E., Mattia, T., & Mahmoud E. S. (2019). Biocompatibility, biodegradation and biomedical applications of poly(lactic acid)/ poly (lactic-co-glycolic acid) micro and nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 49, 347–380.
<https://doi.org/10.1007/s40005-019-00439-x>
- Even, A., Samah, A., Alaa, M. H., & Suhair, S. (2022). Rhoifolin loaded in PLGA nanoparticles alleviates oxidative stress and inflammation *in vitro* and *in vivo*. *Biomater Science*, 10(19), 5504-5519.
<https://doi.org/10.1039/d2bm00309k>
- Fredenberg, S., Wahlgren, M., Reslow, M., & Axelsson A. (2011). The mechanisms of drug release in poly (lactic-co-glycolic acid)-based drug delivery systems-a review. *International journal of pharmaceutics*, 415(1-2), 34-52.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.05.049>
- Gajender, A. M., Ashwani, S., & Md. A. K. A. (2023). A Comprehensive Review of the Pharmacological Importance of Dietary Flavonoids as Hepatoprotective Agents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. doi: 10.1155/2023/4139117
- Halder, A., Mukherjee, P., Ghosh, S., Mandal, S., Chatterji, U., & Mukherjee, A. (2018). Smart PLGA nanoparticles loaded with Quercetin: Cellular uptake and *in vitro* anticancer study. *Materials Today: Proceedings*, 5(3), 9698–9705.
[doi:10.1016/j.matpr.2017.10.156](https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.10.156)

- Karthick, V., Panda, S., Kumar, V. G., Kumar, D., Shrestha, L. K., Ariga, K., Vasanth, K., Chinnathambi, S., Dhas, T. S., & Suganya, K. S. U. (2019). Quercetin-loaded PLGA microspheres induce apoptosis in breast cancer cells. *Applied Surface Science*, 487, 211–217. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.05.047>
- Kumar, A., & Dixit, C. K. (2017). Methods for characterization of nanoparticles. Kumar, A., & Dixit, C. K. *Advances in Nanomedicine for the Delivery of Therapeutic Nucleic Acids*, (pp. 43–58). Elsevier. doi:10.1016/b978-0-08-100557-6.00003-1
- Liu, Y., Wu, X., Mi, Y., Zhang, B., Gu, S., Liu, G., & Li, X. (2017). PLGA nanoparticles for the oral delivery of niferedine: preparation, physicochemical characterization and *in vitro/in vivo* studies. *Drug Delivery*, 24(1), 443–451. <https://doi.org/10.1080/10717544.2016.1261381>
- Maeda, H., Sawa, T., & Konno, T. (2001). Mechanism of tumor-targeted delivery of macromolecular drugs, including the EPR effect in solid tumor and clinical overview of the prototype polymeric drug SMANCS. *Journal of Controlled Release*, 74, 47–61. doi: 10.1016/S0168-3659(01)00309-1
- Mu, L., & Feng, S. S. (2003). A novel controlled release formulation for the anticancer drug paclitaxel (Taxol®): PLGA nanoparticles containing vitamin E TPGS. *Journal of Controlled Release*, 86(1), 3-48. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00320-6](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00320-6)
- Nguyen, T. Q. C., Binh, T. D., Kusunoki, R., Pham, T. L. A., Nguyen, Y. D. H., Nguyen, T. T., Kanaori, K., & Kamei, K. (2020). Effects of *Launaea sarmentosa* Extract on Lipopolysaccharide-Induced Inflammation via Suppression of NF-κB/MAPK Signaling and Nrf2 Activation. *Nutrients*, 12(9), 2586. <https://doi.org/10.3390/nu12092586>
- Pereira, M. C., Oliveira, D. A., Hill, L. E., Zambiasi, R. C., Borges, C. D., Vizzotto, M., Mertens-Talcott, S., Talcott, S., & Gomes, C. L. (2018). Effect of nanoencapsulation using PLGA on antioxidant and antimicrobial activities of guabiroba fruit phenolic extract. *Food Chemistry*, 240, 396–404. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.144>
- Shaobing, Z., & Xianmo, D. (2002). *In vitro* degradation characteristics of poly-DL-lactide–poly(ethylene glycol) microspheres containing human serum albumin. *Reactive & Functional Polymers*, 51, 93-100. [https://doi.org/10.1016/S1381-5148\(02\)00029-9](https://doi.org/10.1016/S1381-5148(02)00029-9)
- Visan, A.I., & Negut, I. (2024). Development and Applications of PLGA hydrogels for sustained delivery of therapeutic agents. *Gels*, 10, 1-33. <https://doi.org/10.3390/gels10080497>
- Wang, L., Wang, P., Liu, Y., Mustafa, M. M. A., Li, R., Zhang, W., Zhan, Y., & Li, Z (2024). The Effect of Different Factors on poly(lactic-co-glycolic acid) Nanoparticle Properties and Drug Release Behaviors When Co-Loaded with Hydrophilic and Hydrophobic Drugs. *Polymers*, 16, 865.
- Yadav, N., Tripathi, A.K., Parveen, A., Parveen, S., & Banerjee, M. (2022). PLGA-Quercetin nano-formulation inhibits cancer progression via Mitochondrial dependent Caspase-3,7 and independent FoxO1 activation with concomitant PI3K/AKT suppression. *Pharmaceutics*, 14(7),1-16. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14071326>
- Yang, B., Mao, Y., Zhang, Y., Hao, Y., Guo, M., Li, B., & Peng, H. (2023). HA-Coated PLGA nanoparticles loaded with Apigenin for colon cancer with high expression of CD44. *Molecules*, 28, 1-13. <https://doi.org/10.3390/molecules28227565>
- Žemlička, L., Fodran, P., Lukeš, V., Vagánek, A., Slovák, M., Staško, A., Dubaj, T., Liptaj, T., Karabín, M., Birošová, L., & Rápta, P. (2014). Physicochemical and biological properties of luteolin-7-O-β-D-glucoside (cynaroside) isolated from *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm. *Monatshefte Für Chemie - Chemical Monthly*, 145(8), 1307–1318. doi:10.1007/s00706-014-1228-3