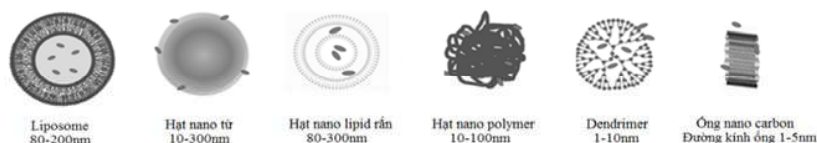


## HỆ VẬN CHUYỂN THUỐC LIPOSOME TRONG ĐIỀU TRỊ Y HỌC: NGHIÊN CỨU VÀ ỨNG DỤNG

NGUYỄN HỒNG QUANG

### 1. MỞ ĐẦU

Công nghệ nano hiện đại là sự tổng hợp của các phương pháp sản xuất và ứng dụng các sản phẩm ở cấp độ phân tử. Các hệ nano được mô tả bởi những tính chất vật lý, quang học, điện học rất riêng biệt mà qua đó có thể định hướng việc sử dụng chúng trong nhiều lĩnh vực khác nhau, từ công nghệ vật liệu cho đến y sinh học. Một trong những hướng nghiên cứu nổi bật nhất hiện nay của công nghệ nano là y học nano, đặc biệt là bào chế các hệ vận chuyển thuốc để gia tăng hiệu quả dược lý cho các chế phẩm thuốc truyền thống, giảm thiểu tác dụng phụ khi sử dụng và đi kèm với nó là giảm thiểu giá thành của thuốc. Các cấu trúc nano khác nhau (hình 1) có thể bao bọc, phân tán các hợp chất thuốc hoặc tạo ra tổ hợp ghép đôi với chúng để cải thiện tính chất dược lý của chế phẩm. Việc kết hợp hợp chất thuốc với cấu trúc nano có thể giải quyết được vấn đề về khả năng hòa tan, gia tăng tính kết dính đến các bề mặt sinh học cũng như đảm bảo sự giải phóng nhanh chóng và cải thiện sinh khả dụng của thuốc [33].



**Hình 1.** Các cấu trúc nano được sử dụng trong việc vận chuyển thuốc [33]

Về mặt cấu trúc, liposome là các túi hình cầu, cấu thành từ các phospholipid và steroid (ví dụ như cholesteryl). Nhờ cấu trúc hai đầu (một ưa nước, một kỵ nước), các hợp chất này trong môi trường nước có khả năng cuộn lại thành các hạt cầu với cấu trúc lớp màng kép, phần lõi thường là pha ưa nước, giữa hai lớp màng là pha kỵ nước. Kích thước trung bình của liposome dao động từ 80÷200 nm. Nhờ có cấu trúc đặc biệt, liposome có thể gắn kết, bao bọc và vận chuyển các hợp chất thuốc đến tế bào, ngăn ngừa sự phá hủy cấu trúc thuốc bởi một số enzym cũng như gia tăng nồng độ của thuốc bên trong cơ thể. Mặt khác, đa phần các liposome hiện tại được nghiên cứu đều được bào chế từ các phospholipid có nguồn gốc tự nhiên (chủ yếu trích xuất từ mô động vật) do vậy khi bọc thuốc và di chuyển trong cơ thể sẽ có tính tương thích sinh học rất cao và ít bị cơ thể đào thải hơn so với các cấu trúc nano khác. Sự giải phóng thuốc khỏi liposome phụ thuộc rất nhiều vào thành phần, độ pH, áp suất thẩm thấu và môi trường xung quanh. Ngoài ra, việc đưa các chế phẩm thuốc vào liposome cũng gia tăng thời gian tác dụng của thuốc và giảm hàm lượng thuốc cần thiết sử dụng trong quá trình điều trị. Sự tương tác của liposome với tế bào có thể được thực hiện thông qua một số cơ chế khác nhau như: Sự hấp phụ, sự kết hợp

nhập bào (endocytosis) và trao đổi lipid [34]. Hiện nay, rất nhiều hợp chất thuốc đã được tải vào các cấu trúc liposome dành cho các mục đích điều trị khác nhau. Dưới đây sẽ xem xét việc nghiên cứu và sử dụng các hệ vận chuyển thuốc liposome cho một số hướng điều trị y học phổ biến.

## 2. NGHIÊN CỨU VÀ ỨNG DỤNG HỆ VẬN CHUYỂN THUỐC LIPOSOME TRONG ĐIỀU TRỊ CÁC BỆNH UNG THƯ

Hầu hết các thuốc điều trị ung thư trên thị trường hiện nay đều có chung nhược điểm là khi đưa vào cơ thể sẽ phân tán không chọn lọc. Hợp chất thuốc ở dạng tự do có thể đi vào cơ thể và tiêu diệt tổ chức ung thư, nhưng cũng tấn công cả tế bào, mô khỏe mạnh và gây ra những biểu hiện độc tính khác nhau trên cơ thể. Việc bọc các hợp chất thuốc vào cấu trúc liposome có thể làm gia tăng thời gian lưu thông trong máu, bảo vệ cấu trúc thuốc khỏi sự phân hủy trao đổi chất, thay đổi sự phân tán của thuốc tại các mô làm gia tăng khả năng hấp thụ trong các cơ quan và các thực bào đơn nhân (gan, lá lách, tủy xương), đồng thời giảm hấp thụ trong thận, cơ tim và vỏ não. Để có thể kết dính vào khối u, các liposome cần phải ổn định trong máu và có tính tương thích với mục tiêu. Nghiên cứu của Yshinobu F. cho thấy liposome có thể tích tụ trong mô khối u với nồng độ cao hơn hẳn so với các mô thường [31]. Điều này có thể giải thích bởi một số nguyên nhân: (1) Quá trình nhập bào xảy ra dễ dàng hơn đối với tế bào khối u, kết hợp được với sự mở rộng khả năng thẩm thấu mao mạch tạo điều kiện cho các liposome kích thước nhỏ dễ dàng đi qua; (2) Sự khuếch tán các hợp chất thuốc từ liposome hoặc sự tuần hoàn nhất thời của thuốc sau khi tiếp cận với mô khối u và sự di chuyển tiếp theo bên trong khối u hiệu quả hơn so với thuốc ở dạng tự do; (3) Các liposome sẽ chịu tác động của quá trình thực bào được gây ra bởi các bạch cầu đơn nhân, nhờ đó có thể dịch chuyển đến các vị trí khối u; (4) Sự tác dụng kéo dài của các liposome sẽ gia tăng hiệu quả độc tính lên tế bào ung thư của các chất thuốc. Cơ chế hướng đích bị động cũng cho phép kéo dài sự tuần hoàn của liposome trong mô khối u và sẽ mang lại những lợi ích trong việc vận chuyển hướng đích các thành phần hóa trị liệu chống ung thư.

Paclitaxel là một trong những hợp chất thuốc chống ung thư quan trọng hiện nay. Đây là một alkaloid có khả năng ổn định các vi ống và ức chế sự sinh sôi của tế bào nội mô. Hợp chất thuốc kỵ nước rất mạnh, khó bào chế và vì vậy đã được định hướng sử dụng trong các nghiên cứu ở dạng liposome. Nghiên cứu của Zhang đã thiết kế một cấu trúc liposome từ các polymer 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine/cholesteryl/cardiolipin để vận chuyển paclitaxel [32]. Các thử nghiệm sinh học của chế phẩm nano này được tiến hành trên chuột mang khối u buồng trứng (OVCAR-3), u phổi (A-549), u vú (MX-1) và u tuyến tiền liệt (PC-3) của người. Kết quả cho thấy việc sử dụng paclitaxel ở dạng liposome làm giảm kích thước và gia tăng sự biến mất của các khối u so với việc sử dụng thuốc ở dạng tự do. Ngoài ra, các thử nghiệm độc học cũng khẳng định chế phẩm liposome của paclitaxel có độc tính với cơ thể thấp hơn rất nhiều lần so với paclitaxel ở dạng hợp chất tự do.

Nghiên cứu của Yang đã bào chế chế phẩm liposome gắn polyethylene glycol (PEG) tải paclitaxel nhằm mục đích sử dụng trong điều trị các dòng tế bào ung thư vú (MDA-MB-231 và SK-BR-3) [30]. Hiệu quả dược lý của chế phẩm nano này sau 72h thí nghiệm đã được đánh giá, so sánh với chế phẩm đang được sử dụng trong điều trị ung thư vú nổi tiếng trên thị trường là Taxol. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi so sánh với Taxol, chế phẩm liposome gắn thêm PEG làm tăng chu kỳ bán rã của paclitaxel từ  $50,5 \pm 1,52$  đến  $17,8 \pm 2,35$  h ở chuột. Nghiên cứu sự phân bố sinh học trên các mô ghép dị loại (*Xenograft*) từ khối u ung thư vú của chuột đã chứng minh sự tăng lên đáng kể hàm lượng paclitaxel ở dạng chế phẩm liposome PEG sau tiêm khi so sánh với chế phẩm Taxol. Ngoài ra, liposome PEG cũng tạo ra hiệu quả ức chế sự lớn lên của các khối u cao hơn hẳn trong các thử nghiệm *in vivo*.

Cisplatin (CDDP) là một trong những tác nhân hóa trị hiệu quả hiện nay, thường sử dụng qua đường tiêm tĩnh mạch để điều trị các loại ung thư vú, phổi, não và các khối u ở cổ [18]. Ngoài ra, CDDP cũng được sử dụng rộng rãi trong điều trị ung thư di căn phúc mạc bằng tiêm truyền ổ bụng. CDDP mang đến hiệu quả điều trị đáng kể ở các bệnh nhân sử dụng. Tuy nhiên, hợp chất này cũng kỵ nước và giống như nhiều hợp chất thuốc kỵ nước khác gây khó hấp thu nên xu hướng nghiên cứu bào chế dạng nano kết hợp với việc sử dụng liposome cũng đã được tiến hành. CDDP đã được bao bọc trong các hạt liposome được cấu tạo từ tổ hợp 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DPPC)/cholesteryl/ganglioside/dicetyl phosphate/dipalmitoyl-phosphatidylethanolamine (DPPE) với tỉ lệ mol 35:40:5:15:5 tạo ra chế phẩm nano CDDP-Lip [12]. Dựa trên CDDP-Lip, các tác giả tiếp tục đề xuất tải lên bề mặt hạt nano các phân tử tetrasaccarit (các phân tử này được kẹp vào các O-glycans trên bề mặt tế bào và đóng vai trò quan trọng trong quá trình nhận biết tế bào (Sialyl LewisX). Từ đây, nhóm nghiên cứu đã nhận được chế phẩm tiếp theo với tên gọi CDDP-SLX-Lip. Các thử nghiệm sinh học đã được tiến hành với hai chế phẩm trên chuột mang khối u A549. Kết quả cho thấy sau khi sử dụng CDDP-SLX-Lip, tỷ lệ sống sót của chuột tăng đến 75% sau 14 ngày so với CDDP thông thường. Khối lượng cơ thể chuột trong các thực nghiệm giảm không đáng kể, không ghi nhận thấy sự biến đổi bất thường ở mô. Khi so sánh với chế phẩm CDDP-Lip và CDDP dạng tự do, nhóm nghiên cứu cũng nhận thấy nồng độ tích tụ của CDDP-SLX-Lip ở các khối u cao hơn 6 lần. Như vậy, chế phẩm CDDP-SLX-Lip có hoạt tính chống ung thư tốt hơn so với CDDP-Lip và CDDP tự do, làm giảm độc tính trên các mô thường.

Boulikas đã đề xuất giả thuyết việc đưa Lipoplatin vào cơ thể theo đường tiêm tĩnh mạch có thể dẫn đến sự hấp thụ chọn lọc ở các khối u trong các thử nghiệm lâm sàng [2]. Lipoplatin là một chế phẩm liposome có khả năng tuần hoàn lâu trong máu được tạo thành từ sự kết hợp của hợp chất CDDP với hạt liposome từ hỗn hợp phosphatidylcholine của đậu nành/ dipalmitoylphosphatidylglycerol/cholesteryl/1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phospho ethanolamine N-[amino (polyethylene glycol)-2000]. Kết quả xác định hàm lượng platin trong khối u và mô thường cho thấy, Lipoplatin được ưu tiên tích tụ ở mô ác tính (cao hơn 10 đến 15 lần) đối với cả khối u khởi nguyên và u di căn khi so với mô thường sau khi tiêm thuốc vào cơ thể bệnh

nhân. Một nghiên cứu hai giai đoạn được tiến hành với mục tiêu xác định liều lượng sử dụng thuốc lớn nhất cho phép (MPD) và liều lượng giới hạn để không gây độc tính (ODT) của Lipoplatin. Thử nghiệm đầu tiên được tiến hành bằng cách sử dụng kết hợp hai chế phẩm Lipoplatin và gemcitabine cho các bệnh nhân bị ung thư tụy mà trước đó đã được điều trị hóa trị liệu với gemcitabine đơn độc nhưng không nhận được kết quả khả quan. Kết quả thu được cho thấy việc sử dụng kết hợp Lipoplatin với MPD và ODT tương ứng là 100 mg/m<sup>2</sup> và 125 mg/m<sup>2</sup> và gemcitabine với liều lượng 1000 mg/m<sup>2</sup> không gây độc cho thận. Tuy nhiên khi tăng liều lượng MPD của Lipoplatin ở giai đoạn 1 của quá trình nghiên cứu thấy xuất hiện một số tác dụng phụ như: buồn nôn, nôn mửa, mệt mỏi, đi ngoài, ngộ độc thận và các biến chứng huyết khối. Ở giai đoạn 2 của quá trình nghiên cứu, gia tăng liều lượng ODT dẫn đến suy giảm bạch cầu. Như vậy, các liều lượng cho phép tối đa của MPD và ODT đối với Lipoplatin khi sử dụng kết hợp với gemcitabine trong nghiên cứu này tương ứng là 100 mg/m<sup>2</sup> và 125 mg/m<sup>2</sup>.

### 3. NGHIÊN CỨU VÀ ỨNG DỤNG CÁC HỆ VẬN CHUYỂN THUỐC LIPOSOME TRONG ĐIỀU TRỊ CÁC BỆNH NHIỄM TRÙNG

Điều trị các bệnh nhiễm trùng do truyền nhiễm được phân biệt với các bệnh nhiễm khuẩn thông thường bởi đặc điểm của vi khuẩn gây nhiễm trùng. Một trong số những đặc điểm đặc trưng của các vi khuẩn này là lớp vỏ tế bào của chúng sở hữu hàm lượng lớn các hợp chất lipid có cấu trúc đặc biệt có thể bảo vệ cho tế bào khỏi sự đáp ứng miễn dịch của cơ thể vật chủ cũng như các liệu pháp chống nhiễm khuẩn. Ngoài ra, nhiều loại vi khuẩn gây nhiễm trùng cũng là các cá thể sống ký sinh tế bào tùy ý, có thể gây ra các bệnh mãn tính. Để điều trị dứt điểm các căn bệnh liên quan đến những vi khuẩn này, các chế phẩm thuốc chống vi khuẩn bắt buộc phải chuyển vào được bên trong thực bào của tế bào vật chủ, có độc tính thấp và hiệu quả điều trị cao kể cả sử dụng ở liều lượng thấp [3].

Các thuốc kháng sinh hiện nay có thể gặp phải tính kháng đối với các dạng nhiễm trùng bên trong tế bào khi di chuyển vào bên trong thực bào. Tuy nhiên, một số kết quả khả thi đã được công bố khi sử dụng các hệ liposome để vận chuyển thuốc đến gan, lá lách và các thành phần của hệ thống lưới nội mô, nơi tập trung rất nhiều vi sinh vật gây bệnh. Do vậy về lý thuyết, liposome hoàn toàn có thể được sử dụng cho việc vận chuyển thuốc kháng sinh đến các tế bào mục tiêu bị nhiễm trùng để điều trị bệnh [14].

Polymixin B là thuốc ức chế hiệu quả nhiều loại vi khuẩn gây nhiễm trùng khác nhau, bao gồm cả *Pseudomonas aeruginosa*. Tuy nhiên tác dụng phụ và độc tính của nó trong quá trình điều trị, bao gồm cả độc tính với dây thần kinh, độc tính gan, độc tính khối thần kinh cơ luôn gây ra trở ngại lớn trong việc chỉ định sử dụng thuốc. Các kết quả của nghiên cứu cũng chỉ ra rằng tác dụng phụ của Polymixin B khi sử dụng ở dạng liposome đã giảm thiểu đáng so với dạng tự do [22]. Ngoài ra, kết quả các thử nghiệm *in vitro* trên vi khuẩn *Bordetella bronchiseptica*, *Escherichia coli*, *Klebsiellapneumoniae*, *Acinetobacter lwoffii* và *Acinetobacter baumannii* cũng cho thấy việc bọc Polymixin B trong các liposome đã cải thiện hoạt tính chống khuẩn và làm giảm sự phát triển của các tổ chức vi khuẩn ký sinh [6].

Sự loại bỏ nhanh chóng các thuốc kháng sinh bởi hệ thống lưới nội mô của các tế bào Kupffer trong gan, tủy xương và đại thực bào trong lá lách được giải thích bởi tính kháng thuốc của các dạng nhiễm trùng viêm xương tủy do sự nhiễm khuẩn của mô xương. Chế phẩm thuốc liposome có thể cải thiện được hiệu quả kháng khuẩn trong việc điều trị nhiễm trùng ở các mô cứng. Nghiên cứu của Kadry cho thấy, việc tiêm theo đường tĩnh mạch vào cơ thể thỏ các liposome cation có bọc vancomycin hoặc ciprofloxacin làm giảm thiểu nhiễm trùng xương do các vi khuẩn *Staphylococcus aureus* gây ra khi so với việc sử dụng thuốc dạng tự do [15]. Sử dụng liposome trong thời gian từ 7÷14 ngày có thể giảm mức độ trầm trọng của bệnh từ 1,5 đến 2 lần. Cũng trong nghiên cứu này nhóm nghiên cứu đã sử dụng kết hợp cả hai chế phẩm liposome của ciprofloxacin và vancomycin cùng lúc trong thời gian 14 ngày. Kết quả đã ghi nhận được sự ức chế nhiễm trùng đi kèm với mức độ biểu hiện độc tính thấp ở gan. Hiệu quả thành công của phác đồ điều trị kết hợp giữa vancomycin và ciprofloxacin ở dạng liposome được giải thích do khả năng tuần hoàn lâu trong máu của thuốc khi ở dạng hạt nano và thuốc bị hấp thụ rất ít bởi các đại thực bào.

Trong nghiên cứu của Omri A., các aminoglycoside, trong đó có amikacin, netilmicin và tobramycin đã được đưa vào các liposome cation tạo thành từ tổ hợp lecithin/stearylamine/cholesteryl và các liposome anion tạo thành từ lecithin/dicetyl phosphate/cholesteryl [20]. Các chế phẩm liposome này sau đó được sử dụng trong thử nghiệm *invitro*. Kết quả cho thấy, liposome có thể giải phóng hợp chất thuốc một cách ổn định trong huyết thanh máu. Tuy nhiên, những khác biệt đáng kể về hoạt tính kháng khuẩn giữa các chế phẩm thuốc dạng liposome và các chế phẩm thuốc tự do không được ghi nhận. Hiệu quả kháng khuẩn của các liposome bọc các aminoglycoside không tăng được giải thích là do quá trình giải phóng rất chậm của thuốc khỏi liposome dẫn đến giảm tác dụng ngăn chặn tức thời của thuốc đối với các vi khuẩn [21].

Kết quả nghiên cứu của Mugabe C. đã chỉ ra rằng, việc bọc các hợp chất amikacin, tobramycin và gentamicin vào các hạt liposome được tạo thành từ hỗn hợp 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DPPC)/cholesteryl với tỷ lệ mol 2:1 đã tạo ra hoạt tính chống khuẩn *Pseudomonas* cao hơn rõ rệt so với dùng thuốc ở dạng tự do cũng như kéo dài thời gian tác dụng của thuốc trong cơ thể [19]. Ngoài ra, nhóm nghiên cứu cũng phát hiện ra với cùng một hiệu quả điều trị như nhau, liều lượng sử dụng thuốc ở dạng liposome sẽ giảm hơn nhiều lần so với thuốc ở dạng thông thường, cụ thể: giảm 64 lần đối với amikacin (512mg/l amikacin thường tương đương 8mg/l amikacin dạng liposome), 128 lần đối với tobramycin (1024 mg/l tobramycin thường tương đương 8 mg/l tobramycin dạng liposome) và 16 lần đối với gentamicin (256 mg/l gentamicin thường tương đương 8 mg/l gentamicin liposome).

CpG oligodeoxynucleotides (CpG - ODN) là một module miễn dịch tổng hợp có thể sử dụng để gia tăng khả năng sản xuất oxit nitơ của các đại thực bào [8]. Trong nghiên cứu của Puangpetch A., CpG đã được bọc vào các liposome cation tổng hợp từ 1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium-propane và mang đến hiệu quả ức chế nhiễm trùng *Burkholderia pseudomallei* ở chuột tốt hơn hẳn so với CpG dạng tự

do [24]. Số lượng vi khuẩn quan sát thấy bên trong các tế bào và đại thực bào ở các đối tượng thí nghiệm khi điều trị với liposome giảm đến 92% (nhóm đối chứng được sử dụng CpG tự do chỉ giảm 45%). Sự giảm số lượng vi khuẩn là kết quả của việc gia tăng khả năng tổng hợp oxit nito của các đại thực bào. Ngoài ra, các liposome cũng tích tụ nhiều trong gan và lá lách (nơi có mật độ cao các vi sinh vật gây nhiễm trùng). Như vậy, sử dụng các liposome trên đã cho thấy hiệu quả ưu việt trong việc vận chuyển định hướng hợp chất kháng sinh đến các cơ quan trong cơ thể.

Sự nhiễm khuẩn ở đại thực bào có thể được phát hiện thông qua cảm thụ mannose [1]. Cảm thụ này sẽ định hướng một cách hiệu quả đến các đại thực bào bị nhiễm khuẩn nếu như có các hệ vận chuyển phù hợp. Dựa trên cơ chế này, các liposome gắn kết mannose bọc hợp chất amphotericin B (AmB) đã được bào chế và trở thành một chế phẩm nano nhiều tiềm năng để điều trị dạng nhiễm trùng *Leishmania donovani*, mang đến những hiệu quả rõ rệt hơn nhiều lần so với việc sử dụng AmB ở dạng tự do hoặc thậm chí cả với những chế phẩm liposome không được gắn kết cảm thụ mannose. Các cảm thụ mannose-fucose có mặt trên bề mặt của các đại thực bào cũng góp phần gia tăng khả năng hấp thụ mannose trong thành phần các liposome và cải thiện tác dụng phục hồi. Do vậy, trong các cơ quan hoặc các bộ phận chứa nhiều đại thực bào như gan, lá lách thường xuyên xảy ra sự gia tăng hàm lượng tích tụ liposome trong một khoảng thời gian dài [25].

SARS là một trong số những căn bệnh nguy hiểm được gây ra bởi vi khuẩn ký sinh *Trypanosoma cruzi*. Căn bệnh này có thể dẫn đến khả năng suy tim ở các bệnh nhân và trong một số trường hợp có thể dẫn đến tử vong. Từ nhu cầu cấp thiết của việc phát triển các chế phẩm thuốc điều trị bệnh, nhóm nghiên cứu của Cencig đã tiến hành bào chế và thử nghiệm trên chuột nhiễm *Trypanosoma cruzi* chế phẩm liposome có bọc hợp chất thuốc AmB. Kết quả thu được cho thấy việc sử dụng dạng liposome của AmB có thể giảm thiểu sự nhiễm trùng trong tim, gan, lá lách, cơ xương và các mô mỡ. Việc đưa chế phẩm liposome bọc AmB vào cơ thể ở giai đoạn đầu của quá trình nhiễm trùng cũng giảm thiểu mức độ ký sinh của *Trypanosoma cruzi* trong lá lách, gan và gia tăng khả năng sống sót cho động vật thí nghiệm [4].

#### 4. NGHIÊN CỨU VÀ ỨNG DỤNG LIPOSOME TRONG VẬN CHUYỂN GEN

Hiện nay, rất nhiều căn bệnh di truyền được hình thành từ việc khuyết thiếu các protein do sự hỏng hóc hoặc thiếu vắng một số gen. Sử dụng các liposome có khả năng bọc các cấu trúc gen có thể mang đến những hiệu quả trong việc điều trị các bệnh di truyền có liên quan đến hư hỏng cấu trúc gen, mã hóa các protein sống quan trọng. Để đảm bảo thành công khi sử dụng liệu pháp gen như trên, các cấu trúc gen cần phải có các điều kiện: (1) Bảo toàn được plasmid ở trạng thái ngưng kết và không bị thoái hóa bởi nuclease; (2) Có thể tương tác với lớp màng tế bào và tiếp hợp được các plasmid ngưng tụ; (3) Giải phóng được plasmid thông qua quá trình nội bào; (4) Đảm bảo các plasmid phải đi vào được trong nhân tế bào [7].

Hiện tại, các vector được sử dụng thường xuyên với mục đích vận chuyển gen là các virus bao gồm có *retrovirus*, *adenovirus* và thậm chí cả *virus herpes*. Tuy nhiên, nhược điểm của các vector có nguồn gốc virus đó là khả năng nhúng các bộ gen của virus vào bộ gen của các tế bào khỏe mạnh và biến các tế bào này trở thành ác tính. Để giải quyết vấn đề này, một giải pháp thay thế thích hợp đã được đề xuất đó là sử dụng các hệ vận chuyển liposome cấu tạo từ cation lipid để vận chuyển plasmid. Tổ hợp của plasmid và liposome mang nhiều các ưu điểm và thể hiện là một hệ vận chuyển gen đầy tiềm năng bởi: (1) Các hệ này hoàn toàn không miễn dịch vì nó không chứa các protein trong thành phần; (2) Các liposome hoặc các tổ hợp lipid có thể phù hợp để sử dụng cho quá trình chuyển nhiễm (transfection) các vật liệu gen có kích thước rất lớn [5]. Hiện nay, các nghiên cứu sử dụng liposome cation làm vector vận chuyển gen đang rất phát triển, được định hướng như một hướng đi chiến lược trong việc gia tăng hoạt tính sinh học. Song song với nó, rất nhiều hệ vận chuyển tương tự vẫn đang nằm ở giai đoạn nghiên cứu thực nghiệm và hứa hẹn sẽ được công bố rộng rãi trong một tương lai không xa.

Các liposome cation thường được cấu tạo từ các dẫn xuất cation lipid và phospholipid trung tính như: dioleoylphosphatidylethanolamine (DOPE). Một số hệ liposome cation phổ biến hiện nay có thể kể tên như: lipofectamine, lipofectin, transfectoma. Các liposome cation dựa trên nền tảng N-[1-(2,3-dioleoyloxy) propyl]-N,N,N-trimethylammonium clorit (DOTMA) hoặc một số cấu trúc lipid khác cũng mang đến hiệu quả chuyển nhiễm tích cực trong nhiều thực nghiệm *in vivo* và *in vitro* [28]. Vật liệu di truyền mang điện tích âm, ví dụ như plasmid về mặt nguyên lý sẽ không bọc được bên trong các liposome nhưng có thể liên kết trên bề mặt theo cơ chế tương tác tĩnh điện. Khi đó, các tổ hợp plasmid-liposome có thể di chuyển vào trong tế bào thông qua con đường dung hợp với các thành phần của plasmid hoặc theo cơ chế nội bào [26]. Việc sử dụng các liposome về nguyên tắc có thể mang đến hiệu quả vận chuyển gen ưu việt hơn so với các cấu trúc mixen được tạo ra từ cùng một thành phần lipid bởi vì một trong những yếu tố để duy trì khả năng vận chuyển chính là vai trò của lớp màng kép mà liposome sở hữu. Ngoài ra, hiệu quả vận chuyển gen của liposome phụ thuộc rất nhiều vào thành phần lipid, tỉ lệ giữa lipid/ADN, kích thước hạt của tổ hợp liposome-ADN và các dòng tế bào sử dụng.

Kawaura đã đánh giá hiệu quả của monosialoganglioside GM1, được đưa vào bên trong các liposome cation có chứa các dẫn xuất cation cholesteryl trên bề mặt trong quá trình vận chuyển gián tiếp gen vào tế bào nuôi cấy của động vật có vú [17]. Nhóm tác giả đã sử dụng hai dạng dẫn xuất khác nhau của cholesteryl: (1) Dẫn xuất có chứa gốc axit amin kỵ nước; (2) Dẫn xuất có chứa gốc axit amin ưa nước. Kết quả nghiên cứu cho thấy, liposome cation gắn các dẫn xuất cation cholesteryl và GM1 có khả năng vận chuyển plasmid (luciferase pGL3) đến các tế bào Hela và CHO-K1 hiệu quả hơn rất nhiều so với các liposome cation đối chứng không có chứa monosialoganglioside GM1. Hình ảnh hiển vi huỳnh quang đồng tiêu cũng chỉ ra rằng sự vận chuyển ADN trong thành phần của liposome đến tế bào đích sẽ hiệu quả hơn khi bổ sung monosialoganglioside GM1 so với liposome không chứa hợp chất này.

Một vài năm trở lại đây, nhiều sự quan tâm đặc biệt đã được tập trung cho các cấu trúc liposome vận chuyển ARN giao thoa (interference ARN - ARNi). Các cấu trúc liposome dựa trên nền tảng cation lipid như 1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium-propane (DOTAP) hoặc DOTMA đã được sử dụng thành công trong việc vận chuyển ARNi. Tổ hợp cation lipid và ARNi được thu nhận thường có tên gọi lipoplexes. Các lipoplexes sẽ di chuyển vào bên trong tế bào thông qua quá trình nội bào hoặc qua con đường kết dính với màng tế bào và giải phóng ARNi vào dịch tế bào [29].

Liposome cation được tạo thành từ cholesteryl oxy-propan-1-amin (COPA) đã được sử dụng thành công trong việc vận chuyển ARNi với hiệu quả vận chuyển được cải thiện đáng kể khi so sánh với các liposome cholesteryl thông thường [11]. Trong nghiên cứu, các nhà khoa học cũng bào chế và thu nhận cấu trúc liposome dựa trên việc trộn các tỷ lệ mol khác nhau của hỗn hợp N1-cholesterol-oxycarbonyl-3,7-diazanonon-1,9-diamine (CDAN) và lipid hỗ trợ DOPE để đánh giá khả năng vận chuyển nội tế bào của ARNi khi điều trị sự sụt giảm điều hòa (*downregulation*) gen mã hóa  $\beta$ -galactosidase [27]. Các hệ liposome CDAN/DOPE/ ARNi không biểu hiện độc tính đối với các tế bào của động vật có vú. Sự hấp thụ nội bào của các cấu trúc này được khởi đầu rất chậm, sau đó sẽ tăng lên đáng kể.

Mặc dù các cấu trúc liposome cation được sử dụng rộng rãi trong các nghiên cứu về vận chuyển ARNi, tuy nhiên các hệ này cũng có một số nhược điểm. Ví dụ, trong nhiều trường hợp sự tương tác tĩnh điện quá mức cho phép giữa các ARNi và các liposome cation có thể dẫn đến sự mất ổn định của hệ và gây ra thoái hóa enzym hoặc thoái hóa vật lý. Ngoài ra, các liposome cation có thể tương tác với protein của huyết tương trong máu, các lipoprotein và các thể nền ngoại bào. Các liposome cation cũng có thể kích hoạt hệ bổ sung và bị đào thải nhanh chóng bởi hệ thực bào đơn nhân. Sự hình thành các dạng oxy hoạt tính trung gian trong quá trình sử dụng liposome cation có thể là nguyên nhân gây độc tính cho tế bào [23].

Để khắc phục các nhược điểm trên, một số các nghiên cứu hiện nay đã đề xuất sử dụng liposome trung tính [13]. Liposome trung tính có thể giảm thiểu độc tính, gia tăng thời gian tuần hoàn trong máu và giảm thiểu tương tác với các protein. Gần đây, cấu trúc liposome tạo thành từ 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DOPC) với kích thước trung bình 65 nm đã được thiết kế dành cho việc vận chuyển ARNi [10]. Thử nghiệm *in vitro* với liposome trên không gây ra độc tính với các nguyên bào sợi, các tế bào tạo máu và tế bào tủy xương. Các liposome trung tính có thể vận chuyển ARNi hiệu quả hơn từ 10÷30 lần so với các liposome dựa trên nền tảng DOTAP [9]. Ngoài ra, kết quả thử nghiệm *in vivo* trong nghiên cứu [23] cũng chỉ ra rằng, các liposome dựa trên nền tảng DOPC khi tổ hợp với ARNi (150 $\mu$ g/kg)

có thể giảm thiểu hiệu quả sự điều hòa gen mục tiêu mã hóa các protein như Ephod2, neuropilins, IL-8, Bcl-2, cũng như giảm kích thước của các khối u thẳng (orthotopic tumors). Rất nhiều nỗ lực đã được thực hiện để đề xuất và bào chế thành công các cấu trúc liposome anion dành cho việc vận chuyển ARNi. Mục tiêu chính của các nghiên cứu này là giảm thiểu hoặc loại trừ hoàn toàn sự tương tác không đặc hiệu trong huyết tương của máu, điều thường xuyên gặp phải đối với các liposome cation. Tuy nhiên việc sử dụng các liposome anion gặp phải những vấn đề như: hiệu quả bọc ARNi kém; khả năng hấp thụ qua tế bào thấp dẫn đến hiệu quả vận chuyển chung không như kỳ vọng. Gần đây, Kapoor đã nghiên cứu, công bố bào chế thành công cấu trúc liposome anion được tạo thành từ hỗn hợp (1,2-Dioleoyl-sn-glycero-3-[phosphor-rac-(1-glycerol)] (DOPG) và DOPE với tỷ lệ mol 40:60 để vận chuyển ARNi [16]. Các phân tử ARNi đã được gắn vào liposome thông qua cầu nối canxi, không có độc tính và ổn định rất lâu trong huyết tương của máu.

## 5. KẾT LUẬN

Như vậy, liposome là một trong những hệ vận chuyển các hợp chất có hoạt tính sinh học rất tiềm năng. Các hệ này có thể vận chuyển một lượng lớn các hợp thuốc để sử dụng trong các mục đích điều trị khác nhau và cho phép giảm thiểu độc tính, loại bỏ tối đa tác dụng phụ cũng như tăng tính ổn định và khả năng hòa tan của thuốc. Các nghiên cứu về hệ vận chuyển thuốc nano vẫn đang tiếp tục được thực hiện rộng rãi trên thế giới, cũng như đã bắt đầu xuất hiện tại Việt Nam, mang đến những tương lai hứa hẹn cho hướng nghiên cứu đầy triển vọng này. Riêng đối với liposome, hướng nghiên cứu trong tương lai gần sẽ là tiếp tục tối ưu hóa cấu trúc, gia tăng tính đặc hiệu và khả năng hướng đích cũng như khắc phục được triệt để tính kém ổn khi lưu thông trong máu bằng việc nghiên cứu và gắn kết trên bề mặt hạt các tổ hợp làm bền vững.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Basu N., Sett R., Das P.K., *Down-regulation of mannose receptors on macrophages after infection with Leishmania donovani*, Biochem. J, 1991, **277**:451-456.
2. Boulikas T., Stathopoulos G.P., Volakakis N., Vougiouka M., *Systemic Lipoplatin infusion results in preferential tumor uptake in human studies*, Anticancer Research, 2005, tr.3031-3039.
3. Carlton L.G., John F., Glenn J.S., Charles O.T., *Pathogenesis of bacterial infections in animals*, Fourth Edition. US: Wiley-Blackwell, 2010, 664 p.
4. Cencig S., Coltel N., Truyens C., *Parasitic loads in tissues of mice infected with Trypanosoma cruzi and treated with AmBisome*, PLoS Negl. Trop. Dis, 2011, **5**(6):e1216.

5. Crystal R.G., *Transfer of genes to humans: early lesions and obstacles to success*, Science 270, **1995**:404-410.
6. Dana M.S., *Recent advances in microbiology*, Canada: Apple Academic Press Inc, 2012, tr.77-89.
7. Daniel A. Balazs, WT. Godbey, *Liposome for use in gene delivery*, Journal of Drug Delivery, 2011, Article ID 326497.
8. Deng J.C., Moore T.A., Newstead M.W., CpG oligodeoxynucleotides stimulate protective innate immunity against pulmonary Klebsiella infection, J. Immunol, 2004, **173**:5148-5155.
9. Gewirtz A.M., *On future's doorstep: RNA interference and the pharmacopeia of tomorrow*, J. Clin. Invest, 2007, **117** (12):3612-3614.
10. Gray M.J., Van Buren G., Dallas N.A., *Therapeutic targeting of neuropilin-2 on colorectal carcinoma cells implanted in the murine liver*, J. Natl. Cancer Inst, 2008, **100**:109-120.
11. Han S.E., Kang H., Shim G.Y., *Novel cationic cholesterol derivative-based liposomes for serum-enhanced delivery of siRNA*, Int. J. Pharm, 2008, **353**:2602-69.
12. Hirai M., Minematsu H., Hiramatsu Y., Kitagawa H., Otani T., Iwashita S., Kudoh T., Chen L., Li Y., Okada M., Salomon D.S., Igarashi K., Chikuma M., Seno M., *Novel and simple loading procedure of cisplatin into liposomes and targeting tumor endothelial cells*, Int. J. Pharm, 2010, **391**:274-283.
13. Hughes J., Yadava P., Mesaros R., *Liposomal siRNA delivery*, Methods Mol. Biol, 2010, **605**:445-459.
14. Irma A.J.M., Bakker-Woudenberg., Storm G., Woodle M.C., *Liposomes in the Treatment of Infections. Journal of Drug Targeting*, 1994, **5**:363-371.
15. Kadry A.A., Al-Suwayeh S.A., Abd-Allah A.R., *Treatment of experimental osteomyelitis by liposomal antibiotics*, J. Antimicrob. Chemother, 2004, **54**:1103-1108.
16. Kapoor M., Burgess D.J., *Efficient and safe delivery of siRNA using anionic lipids: formulation optimization studies*, Int. J. Pharm, 2012, **432**:80-90.
17. Kawaura C., Hasegawa S., Hirashima N., Nakanishi M., *Monosialoganglioside containing cationic liposomes with a cationic cholesterol derivative promote the efficiency of gene transfection in mammalian culture cells*, Biol. Pharm. Bull, 2000, **23**:778-780.
18. Krieger M., Eckstein N., Schneider V., Koch M., Royer H.D., Jaehde U., Bendas G., *Overcoming cisplatin resistance of ovarian cancer cells by targeted liposomes in vitro*, Int. J. Pharm, 2010, **389**:10-17.
19. Mugabe C., Halwani M., Azghani A.O., *Mechanism of enhanced activity of liposome-entrapped aminoglycosides against resistant strains of Pseudomonas aeruginosa*, Antimicrob. Agents Chemother, 2006, **50**:2016-2022.

20. Omri A., Ravaoarinoro M., Poisson M., *Incorporation, release and in vitro antibacterial activity of liposomal aminoglycosides against Pseudomonas aeruginosa*, J. Antimicrob. Chemother, 1995, **36**:631-639.
21. Omri A., Ravaoarinoro M., *Comparison of the bactericidal action of amikacin, netilmicin and tobramycin in free and liposomal formulation against Pseudomonas aeruginosa*, Chemotherapy, 1996, **42**:170-176.
22. Omri A., Suntres Z.E., Shek P.N., *Enhanced activity of liposomal polymyxin B against Pseudomonas aeruginosa in a rat model of lung infection*, Biochem. Pharmacol, 2002, **64**:1407-1413.
23. Ozpolat B., Sood A., Lopez-Berestein G., *Nanomedicine based approaches for the delivery of siRNA in cancer*, J. Intern. Med, 2010, **267**:44-53.
24. Puangpetch A., Anderson R., Huang Y.Y., *Cationic liposomes extend the immunostimulatory effect of CpG oligodeoxynucleotide against Burkholderia pseudomallei infection in BALB/c mice*, Clin Vaccine Immunol, 2012, **19**:675-683.
25. Rathore A., Jain A., Gulbake A., *Mannosylated liposomes bearing Amphotericin B for effective management of visceral Leishmaniasis*, J. Liposome Res, 2011, **21**:3333-3340.
26. Sharma A., Sharma U.S., *Liposomes in drug delivery: progress and limitations*, Int. J. Pharm, 1997, **154**:123-140.
27. Spagnou S., Miller A.D., Keller M., *Lipidic carriers of siRNA: differences in the formulation, cellular uptake, and delivery with plasmid DNA*, Biochemistry, 2004, **43**:13348-13356.
28. Tomlinson E., Rolland A.P., *Controllable gene therapy: pharmaceuticals of non viral gene delivery systems*, J. Contr. Rel, 1996, **39**:357-372.
29. Tseng Y.C., Mozumdar S., Huang L., *Lipid-based systemic delivery of siRNA*, Advanced Drug Delivery Reviews, 2009, **61**:721-731.
30. Yang T., Cui F.D., Choi M.K., Cho J.W., Chung S.J., Shim C.K., Kim D.D., *Enhanced solubility and stability of PEGylated liposomal paclitaxel: In vitro and in vivo evaluation*, Int. J. Pharm, 2007, **338**:317-326.
31. Yoshinobu F., Hideki I., *Nanoparticles for cancer therapy and diagnosis*, Advanced Powder Technology, 2006, **17**:1-28.
32. Zhang J.A., Anyarambhatla G., Ma L., Ugwu S., Xuan T., Sardone T., Ahmad I., *Development and characterisation of a novel Cremophor EL free liposome based paclitaxel (LEP-ETU) formulation*, Eur. J. Pharm. Biopharm, 2005, **59**:177-187.
33. Weissig V., *Liposomes: Methods and Protocols. Vol. 1: Pharmaceutical Nanocarriers*, New York: Humana Press, 2010, tr.1-27.
34. Шве́ц В.И., Каплун А.П., Краснопо́льский Ю.М., Степа́нов А.Е., Чехо́нин В.П., *От липосом семидесятых к нанобиотехнологии XXI века*, Рос. Нанотехнологии, 2008, Т.3, **11**:52-67.

## SUMMARY

### LIPOSOMAL DELIVERY SYSTEMS IN MEDICAL TREATMENT: RESEARCH AND APPLICATION

Liposomes are spherical vesicles composed of one or more lipid bilayers, involving an aqueous compartment. The lipid molecules possess head groups which are attracted to water molecules and organize themselves in such a way as to point toward the aqueous cavity, whereas the hydrocarbon tails are repelled by the water molecules and point in the opposite direction. The pioneering work of countless liposome researchers over almost 6 decades led to the development of important technical advances such as remote drug loading. Since then, the technology has grown considerably, and pioneering recent work in liposome-based delivery systems has brought about remarkable developments with significant clinical implications. This includes long-circulating-, stimuli-responsive-, nebulized-, and elastic- liposomes for topical, triggered release liposomes, liposomes containing nucleic acid polymers, ligand-targeted liposomes and liposomes containing combinations of drugs. There are several clinical trials in such diverse areas as the delivery of anti-cancer, anti-fungal and antibiotic drugs, gene medicines, anesthetics, and anti-inflammatory drugs. Based on the aggregate results from several different studies, this article provides readers a survey view about the ability to drug delivery one of the most typical nano structures - liposome and the use of this structure for various therapeutic purposes, including anticancer therapy, antibacterial therapy and gene therapy.

*Từ khóa: Nanoparticle, liposome, anticancer therapy, antibacterial therapy, gene therapy.*

*Nhận bài ngày 20 tháng 6 năm 2017*

*Hoàn thiện ngày 18 tháng 10 năm 2017*

*Viện Y sinh nhiệt đới, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga*