

ỨNG DỤNG KỸ THUẬT PHÂN TÍCH TRẮC QUANG UV-VIS TRONG ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG MANG TẢI HOẠT CHẤT 5-FLUOROURACIL CỦA VẬT LIỆU SẮT (III)-PEG

Đến tòa soạn 05-03-2021

Nguyễn Thị Phượng, Nguyễn Thị Hoài Phương, Lê Thanh Bắc,
Nguyễn Văn Trí, Bùi Thị Quỳnh, Nguyễn Thị Lâm Oanh
Viện Hóa học- Vật liệu

SUMMARY

THE USE OF UV-VIS SPECTROSCOPY IN EVALUATION OF 5-FLUOROURACIL- ACTIVE LOADING CAPABILITY OF IRON (III) –PEG MATERIAL

Fluorouracil (5-FU) adsorb the UV-Vis spectroscopy in the near ultraviolet wavelength region ($\lambda = 200\div 400$ nm). Therefore, the concentration of 5-FU in several different solution is able to determine by UV-Vis spectroscopy. In this paper, UV-Vis spectroscopy was used in order to evaluate 5-FU loading and unloading capability of Fe(III)-PEG250 material. The result indicated that 5-FU loaded capacity was 14.275 mg/g and unloading time period was almost completed in 96 hours with an efficiency of 95.4%.

Keywords: UV-Vis, 5- Fluorouracil, Fe(III)PEG250, loading capability.

1. MỞ ĐẦU

Fluorouracil (5-FU) có công thức phân tử $C_4H_3FN_2O_2$ là một loại thuốc hóa trị được sử dụng trong việc điều trị bệnh ung thư đặc biệt là ung thư vùng đầu cổ, đại tràng, và buồng trứng.^[4] 5-FU thuộc họ thuốc chống chuyển hóa và tương tự như pyrimidine.^{[5][6]} Nhược điểm của 5-FU là có thời gian bán hủy sinh học ngắn, tính chọn lọc thấp và tác dụng phụ độc hại đối với tủy xương và đường tiêu hóa.^[1] Để khắc phục các nhược điểm này các nhà khoa học đã tổng hợp các vật liệu kim loại - hữu cơ trên cơ sở sắt (III) xốp không độc (MIL-53, MIL-88A, MIL-88Bt, MIL-89, MIL-100 và MIL-101_NH2) làm các chất mang nano ứng dụng cho việc dẫn các loại thuốc như busufan, azidothymidin triphosphat, doxorubicin, chống ung thư cũng như AIDS.^{[2][3]} Ion Fe(III) có độc tính thấp, khả năng mang 5FU cao với dung lượng 180-686 mg/g. Thời gian gần đây nhóm

đã quan tâm nghiên cứu tổng hợp vật liệu trên cơ sở Fe(III) với PEG đi axit nhằm mang thuốc 5-FU vừa có khả năng mang thuốc với dung lượng lớn vừa có độc tính thấp và tính tương thích sinh học cao. Khả năng nhả thuốc của vật liệu khung kim loại - hữu cơ trên cơ sở Fe(III) đạt đến 90% sau 10 ngày. Thời gian nhả thuốc chậm nên có tác dụng điều trị lâu không cần sử dụng liều cao để tránh gây ra các tác dụng phụ không mong muốn, tăng độ an toàn đối với người bệnh.

Phương pháp trắc quang là phương pháp phân tích định lượng dựa vào hiệu ứng hấp thụ xảy ra khi phân tử vật chất tương tác với bức xạ điện từ. Vùng bức xạ được sử dụng trong phương pháp này là vùng tử ngoại gần hay khả kiến ứng với bước sóng khoảng từ $200 \div 800$ nm. Hiện tượng hấp thụ bức xạ điện từ tuân theo định luật Bouguer - Lambert - Beer. Ứng dụng phương pháp phổ đo quang, người ta có thể xác định nhiều hợp chất trong phạm vi

nồng độ khá rộng nhờ các cải tiến quan trọng trong thủ tục phân tích.^[1] Trong những năm gần đây, phương pháp trắc quang UV-Vis được xem là kỹ thuật triển vọng đánh giá khả năng mang nhà thuốc trên vật liệu. Han-Chun Yao và các cộng sự đã sử dụng phương pháp UV-Vis để xác định nồng độ của doxorubicin trong chế phẩm được phẩm và huyết tương,^[10] hay ở dạng tự do trong CH₃CL₃ và dạng liên kết trong dung môi Mixen.^[11] Sergio I Uribe Madrid và các cộng sự đã sử dụng phương pháp UV-Vis để xác định nồng độ của Isobufen trong Fe₃O₄@mSiO₂.^[12] Alina Maria Tomoiaga và các cộng sự đã sử dụng phương pháp trắc quang UV-Vis để xác định nồng độ 5-FU trong dung môi MSN và MSN(F).^[8] Ying Yang và các cộng sự đã sử dụng phương pháp trắc quang UV-Vis để xác định nồng độ 5-FU trong hỗn hợp Oxit graphene và Barassica Chinensis.^[9]

Trong bài báo này nghiên cứu ứng dụng phương pháp trắc quang UV-Vis để đánh giá khả năng mang thuốc 5-FU của vật liệu lai sắt(III) với polyetylen glycol di-axit phục vụ nghiên cứu điều chế thuốc điều trị ung thư.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, thiết bị

2.1.1. Hóa chất

- 5-fluorouracil chuẩn USP của Sigma-Aldrich.
- Vật liệu lai cơ kim Fe-PEG250 do viện Hóa học Vật liệu viện Khoa học và Công nghệ quân sự chế tạo.
- Nước cất 2 lần.

2.2.2. Thiết bị

- Cân phân tích TDX-A Marcus.
- Máy đo quang phổ UV-Vis .
- Máy ly tâm.
- Các dụng cụ thủy tinh trong phòng thí nghiệm.

2.2. Quy trình phân tích trắc quang UV-Vis.

- Xác định đường chuẩn 5-FU: Pha loãng dung dịch 5-fluorouracil lần lượt với nồng độ 5, 10, 15, 20, 25, 30 mg/l trong nước. Độ hấp phụ được xác định bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 265nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Giá trị được ghi nhận và tiến hành vẽ đường thẳng hiệu chuẩn.

- Xác định khả năng mang tải thuốc của vật liệu: 0,01g Fe-PEG250 rỗng được ngâm trong 1 ml dung dịch hoạt chất 5-FU 10g/l trong 72 giờ. Ly tâm tách vật liệu ra khỏi dung dịch và xác định nồng độ dung dịch 5-FU sau khi vật liệu lấy thuốc ra khỏi dung dịch.

- Xác định khả năng nhả thuốc của vật liệu: Ngâm vật liệu sau tải thuốc trong 200 ml nước cất 2 lần ở 37 °C sau các thời gian khác nhau (15 phút, 1 giờ, 3 giờ, 8 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ) lọc tách vật liệu và xác định nồng độ 5-FU để đánh giá.

2.3. Phương pháp đánh giá.

- Dựa vào kỹ thuật phân tích trắc quang UV-Vis để đánh giá khả năng mang-nhả thuốc 5-FU của vật liệu Fe- PEG250.

- Nồng độ 5-FU trong dung dịch được xác định thông qua cường độ hấp thụ ánh sáng tại bước sóng $\lambda = 265\text{nm}$ theo phương trình đường chuẩn được xây dựng.

- Dung lượng mang hoạt chất 5-FU của vật liệu được xác định thông qua nồng độ dung dịch 5-FU sau khi ngâm và tách vật liệu ra khỏi dung dịch được tính theo công thức:

$$Q = (C_{5\text{-FU bd}} - C_{5\text{-FU sau tải}}) * V_{\text{H}_2\text{O}} / m_{\text{Fe-PEG250}} \text{ (mg/g)}$$

Trong đó : C_{5-FU}: nồng độ 5-FU

V_{H₂O}: thể tích của nước cất 2 lần

m_{Fe-PEG250}: khối lượng của Fe-PEG250

- Khả năng nhả thuốc được đánh giá thông qua nồng độ dung dịch 5-FU được tạo ra nhờ quá trình ngâm vật liệu mang thuốc trong nước cất 2 lần ở các khoảng thời gian khác nhau được tính theo công thức:

$$Q = C_{5\text{-FU}} * V_{\text{H}_2\text{O}} / m_{\text{Fe-PEG250}} \text{ (mg/g)}$$

Trong đó : C_{5-FU}: nồng độ 5-FU

V_{H₂O}: thể tích của nước cất 2 lần

m_{Fe-PEG250}: khối lượng của Fe-PEG250

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

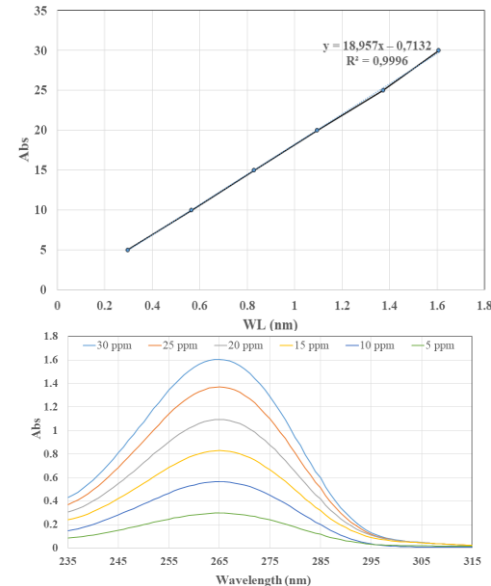
3.1. Xây dựng đường chuẩn 5-FU.

Phương trình đường chuẩn của 5-FU được đánh giá thông qua sự phụ thuộc hấp phụ ánh sáng vào nồng độ của dung dịch. Pha loãng dung dịch 5-fluorouracil lần lượt với nồng độ 5, 10, 15, 20, 25, 30 mg/l trong nước. Độ hấp phụ được xác định bằng máy đo quang phổ ở bước sóng 265nm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Giá trị được ghi nhận theo bảng 1:

Bảng 1. Giá trị đo độ hấp phụ quang của 5-FU

STT	Nồng độ(C)	Độ hấp phụ (Abs)
1	5	0,2976
2	10	0,5652
3	15	0,8294
4	20	1,0943
5	25	1,3721
6	30	1,6061

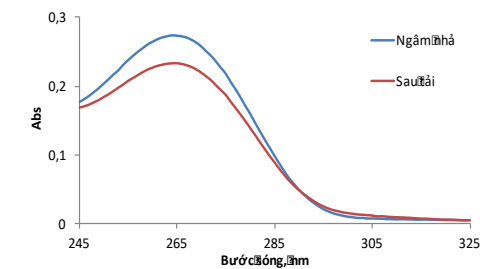
Từ bảng số liệu ta vẽ đường thẳng hiệu chuẩn và xác định được phương trình đường chuẩn như hình 1:



Hình 1. Phổ UV-Vis và đường chuẩn 5-FU
Phương trình đường chuẩn thu được là $C = 18,957x - 0,7132$ ($R^2 = 0,9996$)

Với kỹ năng thực nghiệm, hệ số tương quan đạt giá trị xấp xỉ bằng 1 thể hiện mức độ sai số thấp có độ tin cậy cao.

3.2. Đánh giá khả năng mang nhả thuốc 5-FU của vật liệu



Hình 2. Phổ UV-Vis của dung dịch 5-FU sau tải thuốc và sau ngâm nhả của vật liệu Fe-PEG250

3.2.1. Xác định nồng độ 5-FU của dung dịch

sau mang tải thuốc của vật liệu.

Lấy 0,01g Fe-PEG250 rỗng được ngâm trong 1ml dung dịch hoạt chất 5-FU 10g/l trong 72 giờ và xem xét khả năng mang thuốc thông qua hình thái học, thu dịch lọc và xác định nồng độ 5-FU sau ngâm bằng phương pháp phổ trắc quang UV-Vis ở bước sóng $\lambda_{\max} = 265\text{nm}$. Trong đó, phương trình đường chuẩn của 5-FU được xác định là: $C = 18,957x - 0,7132$ với x là độ hấp thụ quang Abs ta thu được bảng 2:

Bảng 2. Dung dịch sau mang tải 5-FU của vật liệu

	Ban đầu	Sau tách vật liệu tải thuốc
Abs	0,5416	0,4663
C(mg/l)	9,5540	8,1264
Q(mg/g)		14,275

Trong đó dung dịch sau tách vật liệu tải thuốc được pha loãng 1000 lần.

Theo bảng số liệu, kết quả thực nghiệm cho thấy, nồng độ 5-FU trong dung dịch sau tải là 8,1264 g/l với dung lượng tải thuốc đạt 14,275 mg/g. Do nồng độ ban đầu của 5-FU cao và hệ số pha loãng nhiều nên cho kết quả tải 5-FU của vật liệu thấp.

3.2.2. Xác định nồng độ 5-FU của dung dịch ngâm nhả của vật liệu.

Để xác định nồng độ 5-FU của dung dịch ngâm nhả của vật liệu, tiến hành lấy 0,01g vật liệu sau tải thuốc được ngâm trong 200 ml nước cất 2 lần 2 lần ở 37 °C sau các thời gian khác nhau (15 phút, 1 giờ, 3 giờ, 8 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ, 120 giờ và 240 giờ) lọc tách vật liệu và xác định nồng độ 5-FU để đánh giá. Các kết quả tính nồng độ 5-FU của dịch ngâm nhả trong bảng sau:

Bảng 3. Kết quả trắc quang UV-Vis dung dịch 5-FU sau ngâm nhả của Fe-PEG250 theo thời gian.

STT	t, giờ	Abs	C _b , mg/l	Q (mg/g)
1	0,25	0.347	5.864	117.297
2	1	0.502	8.803	176.064
3	3	0.754	13.580	271.607
4	8	0.993	18.111	362.222
5	24	1.074	19.646	392.932
6	48	1.395	25.731	514.636
7	72	1.413	26.073	521.460
8	96	1.475	27.248	544.967

Trong đó dung dịch 5-FU sau ngâm được pha loãng 50 lần trước khi đo quang phổ.

Lượng 5-FU được giải phóng ra khỏi vật liệu tăng nhanh trong vòng 24 giờ đầu với nồng độ

là 689,1 mg/l. Sau đó, lượng thuốc tiếp tục nhả dần trong môi trường. Đến khoảng 96 giờ thì nhả gần hoàn toàn hiệu suất đạt 95,4%
Kết quả khảo sát khả năng mang nhả thuốc chậm của 5-FU trong vật liệu vật liệu Fe-PEG250.

3.3. Đánh giá sự sai số của phương pháp trắc quang UV-Vis

Từ phương trình định luật Beer, ta có thể thấy mối quan hệ giữa Abs và C là mối quan hệ tuyến tính vậy nên sẽ có 3 nhóm chính làm cho mối quan hệ tuyến tính giữa độ hấp phụ và nồng độ chất phân tích sai lệch

3.3.1. Ảnh hưởng của nồng độ chất phân tích

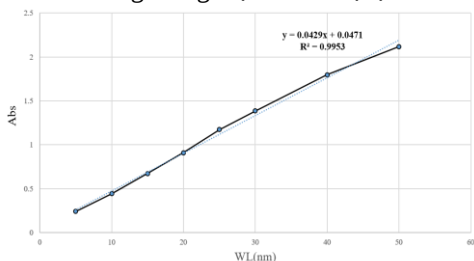
Yếu tố này được coi là quyết định gần hết sự sai số. Định luật Beer chỉ đúng khi nồng độ chất phân tích đủ nhỏ.

- Với nồng độ của 5-FU tương đối lớn > 40mg/l các cấu tử trong dung dịch không còn độc lập với nhau mà có các tương tác nhất định với nhau làm thay đổi giá trị hấp phụ phân tử dẫn đến sự sai lệch quang phổ khi đo.

- Với nồng độ 5-FU quá nhỏ < 3mg/l thì các cấu tử trong dung dịch không thể tham gia sự hấp phụ ánh sáng của quang phổ được, khi đó sẽ không thể tìm ra được quang phổ hấp phụ.

3.3.2. Ảnh hưởng của các phản ứng hóa học xảy ra trong dung dịch.

Sai số xảy ra do ảnh hưởng của các yếu tố hóa học khi các cấu tử hấp phụ ánh sáng tham gia vào dung dịch. Khi cho 5-FU vào dung môi PBS thì đường thẳng hiệu chuẩn bị lệch.



Hình 3. Ảnh hưởng của dung môi PBS làm sai lệch đường hiệu chuẩn

3.4. Ảnh hưởng của thiết bị đo

Do thời gian sử dụng lâu bóng phát tia sáng bị già đi ảnh hưởng đến cường độ hấp phụ ánh sáng.

4. KẾT LUẬN

Bằng phương pháp phân tích trắc quang UV-Vis ta đã xác định được nồng độ mang tải hoạt chất 5-FU của vật liệu Sắt (III)-PEG. Với ưu điểm của phương pháp đơn giản, nhanh chóng với một đường chuẩn cho phép phân tích nhiều mẫu khác nhau.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được sự tài trợ của chương trình 562 “Chương trình phát triển khoa học cơ bản trong lĩnh vực Hoá Học, Khoa Học sự sống, Khoa học trái đất và Khoa

học biển trong gian đoạn 2017-2025 và tầm nhìn tới 2030”

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Từ Văn Mặc, “Phân tích dụng cụ”, NXB ĐHBK Hà Nội, 2006.
2. Horcajada, P.; Serre, C.; Maurin, G.; Ramsahye, N. A.; Balas, F.; Vallet-Regi, M.; Sebban, M.; Taulelle, F.; Ferey, G. Flexible Porous Metal-Organic Frameworks for a Controlled Drug Delivery. *J. AmChem. Soc.* 130, 2008, 6774.
3. Munoz, B.; Ramila, A.; Perez-Pariente, J.; Diaz, I.; Vallet-Regi, M. MCM-41 Organic Modification as Drug Delivery Rate Regulator. *Chem. Mater.* 15, 2003, 500.
4. "Fluorouracil – Definition and More from the Free Merriam-Webster Dictionary". Archived from the original on 2014-11-29. Retrieved 2014-11-19.
5. *British national formulary*: BNF 69 (69 ed.). British Medical Association. p. 590. ISBN 9780857111562, 2015.
6. Airley, Rachel “Cancer Chemotherapy: Basic Science to the Clinic. John Wiley & Sons. p. 76. ISBN 9780470092569. Archived “ from the original on 2017-11-05.
7. Arias J. L “Novel strategies to improve the anticancer action of 5-fluorouracil by using drug delivery systems”, *Molecules* 13, 2340-2369, 2008
8. Alina Maria Tomoiaga , Lacramioara Ochiuz and Aurelia Vasile. “Sonochemical Development of Magnetic Nanoporous Therapeutic Systems as Carriers for 5-Fluorouracil”, 01, 26-35, 2013.
9. Ying Yang,a Lin Zhu,b Feng Xia,a Baoyou Gong,a Anjian Xie,a Shikuo Li,a Fangzhi Huang,a Shaohua Wang,a Yuhua Shen*a and David T. Weaver “A novel 5-FU/rGO/Bce hybrid hydrogel shell on a tumor cell: one-step synthesis and synergistic chemo/photothermal/photodynamic effect “, 7, 2415, 2017.
10. Han-Chun Yao, Xiao- Ying Zeng, Wen-Yuan Zeng, Er-Jun Xu, Min Zhang “Determination of doxorubicin in pharmaceutical preparation and rat plasma with luminol $K_3Fe(CN)_6$ chemiluminescence system”, 279-285, 2013.
11. Sergio I Uribe Madrid “ Fabrication of $Fe_3O_4@m SiO_2$ Core-shell Composite Nanoparticles for Drug Delivery Applications”, 10:217, 2015
12. Sergio I Uribe Madrid , Umapada Pal, Young Soo Kang , Junghoon Kim , Hyungjin Kwon and Jungho Kim “Fabrication of $Fe_3O_4@mSiO_2$ Core-Shell Composite Nanoparticles for Drug Delivery Applications”, 10:207, 2015