Tổng hợp hệ vật liệu nanocomposite kháng virus SARS-CoV-2

TS Lê Tiến Khoa
Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

Trong thời gian vừa qua, nhiều loại vaccin cũng như thuốc đặc trị đã được phát triển nhằm ngăn chặn sự lây lan trên phạm vi toàn cầu của đại dịch COVID-19. Tuy nhiên, dù đã có những bước tiến nhất định, cuộc chiến chống lại virus SARS-CoV-2 vẫn còn một chặng đường dài phía trước. Bên cạnh những sản phẩm dược liệu truyền thống, nhiều nhà khoa học cho rằng vật liệu nano kim loại có thể đóng vai trò quan trọng trong các giải pháp ngăn ngừa và điều trị COVID-19. Chính vì vậy, nhóm nghiên cứu của GS Pan-Chyr Yang (Khoa Nội, Đại học Y khoa Quốc gia Đài Loan) đã đề nghị tổng hợp hệ vật liệu nanocomposite TPNT1 dựa trên sự kết hợp của ba loại vật liệu nano: nano bạc, nano ZnO và nano vàng nhằm khắc chế hiệu quả virus SARS-CoV-2, qua đó hứa hẹn có thể ứng dụng trong nhiều giải pháp mới chống COVID-19.

Sử dụng vật liệu nano kim loại trong cuộc chiến chống COVID-19

Cho đến thời điểm hiện tại, đại dịch COVID-19 vẫn đang đe dọa nghiêm trọng đến nhân loại và kinh tế - xã hội toàn cầu. Theo thống kê của WHO, tính đến ngày 15/7/2021, trên toàn cầu đã có gần 190 triệu người nhiễm virus SARS-CoV-2, trong đó có hơn 4 triệu người đã tử vong. Đối diện với tốc độ lây lan nhanh chóng này, các chuyên gia nhận định việc ngăn chặn virus tấn công đến nhiều cộng đồng dân cư càng trở nên khó khăn. Chính vì vậy, rất nhiều nhà nghiên cứu đã nỗ lực tạo ra các loại vaccin và thuốc chống lại virus SARS-CoV-2. Một trong những chiến thuật được đề ra là sử dụng các loại thuốc kháng virus phổ rộng hiện có để điều trị COVID-19 [1-3]. Chẳng hạn, trong các thử nghiệm in vitro, remdesivir, favipiravir, lopinavir và hydroxychloroquine đều cho thấy có khả năng ngăn cản virus SARS-CoV-2 phát triển ở các nồng độ micromole khác nhau. Đặc biệt, remdesivir (hình 1) còn được đề nghị sử dụng để hỗ trợ điều trị các bệnh nhân nhiễm COVID-19 nặng [4].

Mặc dù vậy, với tình hình bùng nổ của đại dịch COVID-19, thế giới vẫn cần nhiều hơn các phương pháp truyền thống để chống lại

Hình 1. Remdesivir - một trong những giải pháp điều trị COVID-19.

virus SARS-CoV-2. Nhằm tạo thêm những biện pháp dự phòng, một số nhà khoa học đã nghiên cứu thử nghiệm trên các đối tượng vật

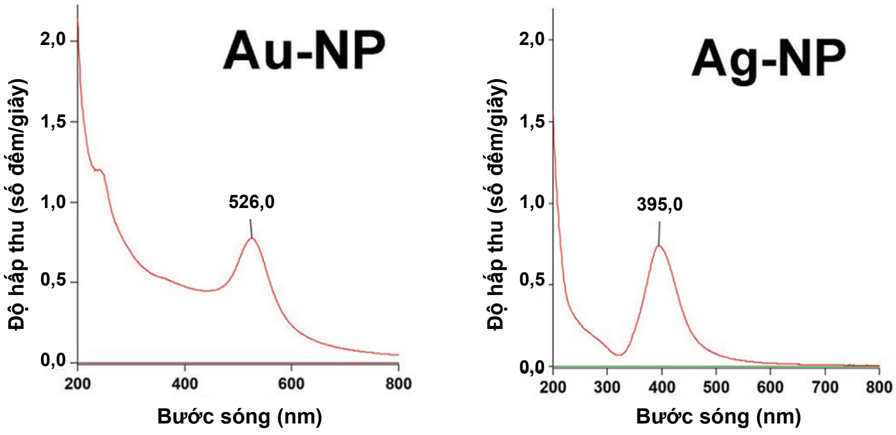
liệu khác, trong đó có các hạt nano kim loại. Từ lâu, nano kim loại đã được biết đến có khả năng tương tác với các glycoprotein trên bề mặt của virus, qua đó cản trở sự gắn kết và xâm nhập của virus vào tế bào chủ [5]. Ngoài ra, các hạt nano kim loại còn có thể phát huy hoạt tính kháng virus thông qua tương tác với bộ gen của virus [6]. Trong số các nano kim loại, hạt nano bạc, hạt nano ZnO và hạt nano vàng là những đối tượng thu hút sự chú ý của các nhà khoa học nhất vì khả năng kháng khuẩn nổi bật, chống lại nhiều loại vi khuẩn, nấm và virus [6-8]. Cụ thể, nano bạc có thể chống lại đồng thời các loại vi khuẩn gram dương và gram âm như Bacillus subtilis, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Vibrio cholera và Staphylococcus aureus kháng methicillin cũng như một loạt các loại virus như virus viêm gan B (HBV), virus herpes simplex loại 1 (HSV-1), virus HIV loại 1 và virus cúm [9]. Tương tự, nano ZnO cũng có thể ngăn cản sự phát triển và hình thành màng sinh học của tụ cầu vàng kháng methicillin, Streptococcus pneumoniae, Klebsiella pneumoniae và Pseudomonas aeruginosa. Dưới bức xạ tử ngoại, nano ZnO sẽ thể hiện hoạt tính quang xúc tác để sinh ra các tiểu phân oxy hóa hoạt động, cho phép tiêu diệt cả vi khuẩn và virus [10]. Gần đây, các ion Zn^{2+} còn được chứng minh có vai trò quan trọng trong hoạt động kháng virus, bao gồm ức chế enzyme polymerase RNA của virus SARS-CoV-2 và enzyme chuyển hóa angiotensin, vốn là một thụ thể để SARS-CoV-2 xâm nhập vào vật chủ [11]. Đối với nano vàng, vật liệu này thường được sử dụng làm chất mang trong liệu pháp quang động và trong các ứng dụng y sinh khác, cũng như cho thấy tiềm năng trong việc ức chế virus HIV-1 và vi khuẩn Mycobacterium tuberculosis [12, 13].

Xuất phát từ những nghiên cứu trên, nhóm nghiên cứu của GS Pan-Chyr Yang (Khoa Nội, Đại học Y khoa Quốc gia Đài Loan) đã đề nghị tổng hợp hệ vật liệu nanocomposite TPNT1 [14], dựa trên sự kết hợp của ba loại vật liệu nano: nano bạc (Ag-NP), nano ZnO (ZnO-NP) và nano vàng (Au-NP) nhằm cung cấp thêm một giải pháp hiệu quả để chống lại virus SARS-CoV-2.

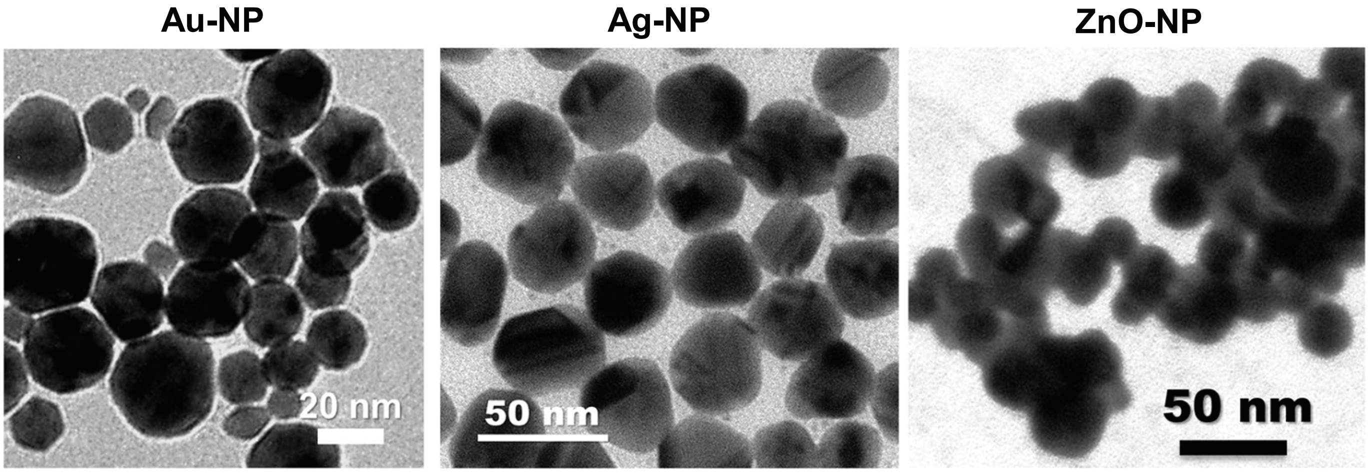
Quy trình tổng hợp hệ nanocomposite TPNT1

Hệ nanocomposite TPNT1 được GS Pan-Chyr Yang và các cộng sự tổng hợp dưới dạng dung dịch huyền phù chứa đồng thời Au-NP (1 ppm), Ag-NP (5 ppm), ZnO-NP (60 ppm) và ClO_2 (42,5 ppm) trong dung môi nước với thế zeta +32,81 mV. Quá trình tổng hợp được chia làm 3 quy trình, mỗi quy trình dùng để tổng hợp riêng biệt từng loại vật liệu nano. Cụ thể, để tổng hợp Au-NP, 2,25 ml dung dịch $HAuCl_4$ 0,2 M và 360 mg acid citric được cho vào bình cầu 2 cổ, trộn đều và đun ở 130°C trong 20 phút nhằm thực hiện phản ứng khử hình thành các hạt nano vàng và khí HCl. Khí HCl được dẫn vào bình thu hồi chứa 10 ml nước, còn phần Au-NP được phân tán vào 450 ml nước cất và đun ở 70°C trong 10 phút để thu được dung dịch keo chứa 100 ppm hạt nano vàng. Trong một quy trình tương tự, 15 ml dung dịch $AgNO_3$ 0,37 M và 4961 mg acid citric được hòa vào bình cầu 2 cổ, đun ở 150°C trong 35 phút để hình thành các hạt nano bạc và khí NO_2. Sau đó, 5100 ml dung dịch chứa 4026 mg acid citric và 423 mg NaOH được thêm vào dung dịch sản phẩm, rồi đun ở 70°C trong 60 phút để thu được dung dịch keo chứa 100 ppm hạt nano bạc.

Đối với nano ZnO, 8 ml dung dịch $ZnCl_2$ 2 M cũng được khử bởi acid



Hình 2. Phổ hấp thu UV-khả kiến của hai mẫu Au-NP và Ag-NP.



Hình 3. Ảnh kính hiển vi điện tử truyền qua của các thành phần Au-NP, Ag-NP và ZnO-NP trong TPNT1.

citric trong bình cầu 2 cổ ở 150°C trong 2 phút, tạo ra nano Zn và khí HCl. Tuy nhiên các hạt nano Zn vừa được sinh ra đã nhanh chóng bị oxy hóa trong không khí để hình thành các hạt nano ZnO. Khi đó, 1050 ml dung dịch chứa 2688 mg acid citric được thêm vào để phân tán các hạt nano nhằm thu được dung dịch keo chứa 250 ppm ZnO-NP. Cuối cùng, hệ nanocomposite TPNT1 được tổng hợp bằng cách trộn toàn bộ các dung dịch keo trên (2,5 ml dung dịch Au - NP 100 ppm, 2,5 ml dung dịch Ag-NP 100 ppm và 12 ml dung dịch ZnO-NP 250 ppm) cùng với 12,5 ml dung dịch chứa ClO_2 170 ppm và 22,5 ml nước cất.

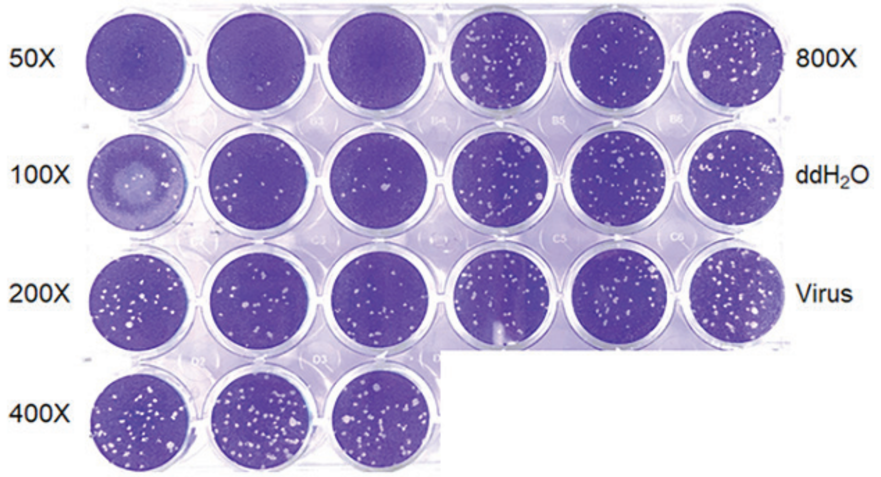
Đặc tính hóa lý của các thành phần trong sản phẩm TPNT1 này được nhóm tác giả đánh giá lần lượt thông qua phổ hấp thu UV-khả kiến và kính hiển vi điện tử truyền qua. Theo đó, hình 2 thể hiện mũi hấp thu UV-khả kiến của các mẫu Au-NP và Ag-NP, định vị lần lượt tại 526,0 và 395,0 nm, vốn đặc trưng cho bước sóng hấp thu của các hạt nano vàng và bạc.

Ảnh kính hiển vi điện tử truyền qua (hình 3) cho thấy các hạt Au-NP, Ag-NP và ZnO-NP đều có dạng hình cầu với đường kính lần lượt là 20-40, 10-40 và 25-35 nm. Nhờ kích thước này, hệ dung dịch keo TPNT1 chứa các thành phần Au-NP, Ag-NP và ZnO-NP không có dấu hiệu kết tụ, đảm bảo độ đồng nhất của dung dịch, nhờ đó tỏ ra phù hợp cho các khảo sát kháng virus tiếp theo trong nghiên cứu.

Đặc tính kháng virus SARS-CoV-2 của nanocomposite TPNT1

Để khảo sát đặc tính kháng virus SARS-CoV-2, nhóm nghiên cứu của GS Pan-Chyr Yang sử dụng thí nghiệm giảm đám hoại tử. Các thí nghiệm này được thực hiện 3 lần trong 24 đĩa nuôi cấy. Virus SARS-CoV-2 (dao động từ 100-200 đơn vị hình thành đám hoại tử) được ủ với dung dịch TPNT1 ở các nồng độ pha loãng khác nhau tại 37°C trong vòng 1 giờ trước khi cho các tế bào Vero E6 vào. Sau đó, hỗn hợp virus và TPNT1 được tách ra và các tế bào còn lại được ngâm trong môi trường chứa 1% methylcellulose trong 5-7 ngày. Các tế bào này tiếp tục được xử lý với formaldehyde 10% qua đêm rồi được nhuộm với phẩm nhuộm crystal violet. Sau đó các đám hoại tử sẽ được đếm và thống kê. Hình 4 thể hiện kết quả của thí nghiệm giảm đám hoại tử, cho thấy có sự suy giảm rất đáng kể về số lượng đám hoại tử khi sử dụng dung dịch TPNT1 đã pha loãng 100 lần (tương ứng với nồng độ 0,01 ppm Au-NP, 0,05 ppm Ag-NP, 0,6 ppm ZnO-NP và 0,425 ppm ClO_2). Khi nồng độ TPNT1 càng cao, mức độ kháng SARS-CoV-2 càng mạnh hơn. Ngược lại, khi sử dụng TPNT1 có nồng độ càng thấp, đặc biệt khi chỉ sử dụng H_2O hoặc chỉ hiện diện virus, số lượng đám hoại tử có dấu hiệu tăng trưởng mạnh. Điều này khẳng định đặc tính kháng SARS-CoV-2 của TPNT1. Khi đó, giá trị nồng độ ức chế tối đa một nửa lượng virus SARS-CoV-2 đạt được khi sử dụng TPNT1 ở mức độ pha loãng 143 lần.

Những kết quả này cho thấy tiềm năng ứng dụng của hệ



Hình 4. Kết quả thí nghiệm giảm đám hoại tử với các dung dịch TPNT1 ở các nồng độ pha loãng khác nhau.

nanocomposite TPNT1 trong cuộc chiến chống lại sự lây lan của SARS-CoV-2. Theo nhóm nghiên cứu, do TPNT1 có hiệu quả cao nhất khi được ủ trước với virus, hoạt tính kháng SARS-CoV-2 của TPNT1 có thể là do sự hình thành liên kết giữa các hạt nano kim loại với các tiểu phân mang lưu huỳnh của glycoprotein trên bề mặt virus. Nhờ vậy, sự hiện diện của các thành phần nano kim loại cho phép ức chế sự gắn kết giữa các protein hình gai của SARS-CoV-2 với thụ thể ACE2 của tế bào vật chủ, từ đó can thiệp vào sự hình thành hợp bào. Ngoài ra, sự hiện diện của ClO_2 với hoạt tính oxy hóa trong TPNT1 cũng là một tác nhân có thể tạo ra thiệt hại trên bề mặt virus, từ đó gia tăng thêm hiệu quả của quá trình kháng SARS-CoV-2. Chính vì vậy, GS Pan-Chyr Yang và các cộng sự tin rằng TPNT1 hoàn toàn có thể là giải pháp phòng chống SARS-CoV-2 mới thông qua việc kết hợp hệ nanocomposite này với các sản phẩm súc miệng, xịt mũi hoặc thậm chí sử dụng trong các quá trình điều trị lâm sàng ✍

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] L. Dong, S. Hu, J. Ga (2020), "Discovering drugs to treat coronavirus disease 2019 (COVID-19)", *Drug Discov. Ter.*, **14**, pp.58-60.

[2] K.U.K. Kupferschmidt (2020), "Megatrial outshines other drug studies", *Science*, **369**, pp.124-125.

[3] T.Y. Hu, M. Frieman, J. Wolfram (2020), "Insights from nanomedicine into chloroquine efcacy against COVID-19", *Nat. Nanotechnol.*, **15**, pp.247-249.

[4] J. Grein, N. Ohmagari, D. Shin, G. Diaz, E. Asperges, A. Castagna, T. Feldt (2020), "Compassionate use of Remdesivir for patients with severe Covid-19", *N. Engl. J. Med.*, **382**, pp.2327-2336.

[5] H.H. Lara, N.V. Ayala-Nunez, L. Ixtepan-Turrent, C. Rodriguez-Padilla (2010), "Mode of antiviral action of silver nanoparticles against HIV-1", *J. Nanobiotechnol.*, **8**, p.1.

[6] S. Galdiero, A. Falanga, M. Vitiello, M. Cantisani, V. Marra, M. Galdiero (2011), "Silver nanoparticles as potential antiviral agents", *Molecules*, **16**, pp.8894-8918.

[7] C.S. Yah, G.S. Simate (2015), "Nanoparticles as potential new generation broad spectrum antimicrobial agents", *Daru J. Fac. Pharm. Tehran Univ. Med. Sci.*, **23**, p.43.

[8] M. Rai, A.P. Ingle, S. Birla, A. Yadav, C.A. Santos (2016), "Strategic role of selected noble metal nanoparticles in medicine", *Crit. Rev. Microbiol.*, **42**, pp.696-719.

[9] B.L. Ouay, F. Stellacci (2015), "Antibacterial activity of silver nanoparticles: a surface science insight", *Nano Today*, **10**, pp.339-354.

[10] J. Bogdan, J. Zarzynska, J. Plawinska-Czarnak (2015), "Comparison of infectious agents susceptibility to photocatalytic efects of nanosized titanium and zinc oxides: a practical approach", *Nanoscale Res. Lett.*, **10**, p.1023.

[11] A.V. Skalny, L. Rink, O.P. Ajsuvakova, M. Aschner, V.A. Gritsenko, S.I. Alekseenko, A.A. Svistunov, D. Petrakis, D.A. Spandidos, J. Aaseth, A. Tsatsakis, A.A. Tinkov (2020), "Zinc and respiratory tract infections: perspectives for COVID19", *Int. J. Mol. Med.*, **46**, pp.17-26.

[12] J.C. Giford, Jamee Bresee, Carly Jo Carter, Guankui Wang, Roberta J. Melander, Christian Melander, Daniel L. Feldheim (2014), "Tiol-modifed gold nanoparticles for the inhibition of Mycobacterium smegmatis", *Chem. Commun.*, **50**, pp.15860-15863.

[13] V. Cagno, P. Andreozzi, M. D'Alicarnasso, P.J. Silva, M. Mueller, M. Galloux, R.L. Goffic, S.T. Jones, F. Stellacci (2018), "Broad-spectrum non-toxic antiviral nanoparticles with a virucidal inhibition mechanism", *Nat. Mater.*, **17**, pp.195-203.

[14] S.Y. Chang, K.Y. Huang, T.L. Chao, H.C. Kao, Y.H. Pang, L. Lu, C.L. Chiu, H.C. Huang, T.J.R. Cheng, J.M. Fang, P.C. Yang (2021), "Nanoparticle composite TPNT1 is efective against SARS-CoV-2 and infuenza viruses", *Sci. Rep.*, **11**, p.8692.