

# Đánh giá tính hướng đích của phức hệ nano curcumin gắn axit folic tới tế bào biểu hiện thụ thể folate

Trần Thị Ngọc Huyền<sup>1</sup>, Bùi Thị Thu Hà<sup>1</sup>, Đỗ Đức Quang<sup>1</sup>, Lê Thị Thu Hương<sup>2</sup>, Phạm Thị Thu Hương<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ Enzym và Protein,  
Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

<sup>2</sup>Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

Ngày nhận bài 3/8/2020; ngày chuyển phản biện 7/8/2020; ngày nhận phản biện 15/9/2020; ngày chấp nhận đăng 21/9/2020

## Tóm tắt:

Nano Curcumin (n-Cur) là một phytopolyphenol được tách chiết ra từ củ nghệ (*Curcuma longa*), đã được chỉ ra là cách cải thiện tính tan và những hạn chế của curcumin (Cur), song lại không tạo được tính hướng đích đặc hiệu. Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả đã gắn thêm axit folic vào hệ n-Cur (n-Cur-FI) giúp cho Cur đạt được tính hướng đích đặc hiệu tới các tế bào biểu hiện thụ thể folate. Việc gắn thêm axit folic vào n-Cur được thực hiện thông qua thí nghiệm hướng đích (boyden chamber assay) của các tế bào biểu hiện cao thụ thể folate (tế bào viêm hoặc ung thư). Kết quả cho thấy, n-Cur-FI đã làm tăng khả năng hướng đích đặc hiệu tới tế bào viêm (RAW264.7 được cảm ứng bởi lypopolisaccharide) hoặc tế bào ung thư (Hela) biểu hiện cao thụ thể folate tương ứng là 70 hoặc 30 lần so với n-Cur thông thường. Trong khi tế bào không biểu hiện cao thụ thể folate (A549) không cho khả năng này. Dữ liệu phân tử này cho thấy dùng n-Cur-FI có thể cải thiện tình trạng viêm một cách đặc hiệu nhờ Cur hướng đích tới vùng viêm.

**Từ khóa:** hệ nano hướng đích thụ thể folate, nano curcumin, nano curcumin gắn axit folic.

**Chỉ số phân loại:** 3.4

## Đặt vấn đề

Cur là hợp chất sắc tố thuộc nhóm phytopolyphenol được tách chiết ra từ củ nghệ (*Curcuma longa*). Dựa vào cấu trúc trên vòng phenyl của Cur, nhóm methoxy có vai trò quan trọng cho tác dụng chữa trị bệnh. Cur được biết đến với tác dụng chống oxy hóa, chống viêm và chống lại khối u, được sử dụng làm dược phẩm trong thực phẩm chức năng, chất bổ sung và thuốc. Cur được các nhà khoa học khẳng định là có hiệu quả cao trong việc hỗ trợ điều trị một số bệnh lý về viêm loét dạ dày, viêm gan, viêm tá tràng, ung thư niêm mạc dạ dày, trực tràng... Tuy nhiên, do bị hạn chế về khả năng hòa tan trong các dung môi phân cực và dễ dàng bị phá hủy bởi các enzyme cũng như điều kiện pH axit trong dạ dày, Cur bị hạn chế rất nhiều trong hệ thống ống tiêu hóa [1-3].

Hiện nay, để giải quyết vấn đề Cur không tan trong nước, công nghệ vật liệu nano bao gói Cur đã được ứng dụng rộng rãi trong nước và trên thế giới [4-7]. Các nghiên cứu *in vitro* của A.K.T. Thulasidasan và cộng sự [1] đã chứng minh rằng, đóng gói Cur trong hạt nano PLGA (Poly(lactic-co-glycolic acid)) kết hợp với axit folic có thể làm tăng tiềm năng điều trị của Cur. Các sản phẩm này đã hạn chế được phần nào ảnh hưởng của các enzyme và pH acid trong dịch vị tới được tính của Cur; tuy nhiên, các nghiên cứu này vẫn chưa giải quyết được triệt để vấn đề đưa được lượng Cur

đến các tế bào gây viêm hoặc điểm đích một cách đặc hiệu.

Thụ thể folate alpha (FR $\alpha$ ) là một protein màng gắn với lysosyl-phosphatidylinositol. Các nhà khoa học đã tìm ra rằng FR $\alpha$  biểu hiện quá mức ở các tế bào viêm [8] hoặc khối u rắn như là ung thư biểu mô buồng trứng, phổi và vú [9-11], biểu hiện thấp và hạn chế trong các mô bình thường [12]. Sự biểu hiện quá mức của FR $\alpha$  có thể tạo điều kiện cho các tế bào ung thư tăng trưởng qua các cơ chế liên quan hoặc độc lập với lượng folate hấp thu [13-17].

Axit folic - một phối tử có ái lực cao của thụ thể folate, giữ lại các đặc tính liên kết của thụ thể khi được tạo dẫn xuất thông qua carboxyl. Với đặc tính kích thước nhỏ sẵn có, dễ tạo phản ứng, liên kết hóa học liên hợp đơn giản và hầu như không mang tính sinh miễn dịch của axit folic khiến nó trở thành một phối tử lý tưởng để phân phối thuốc đến các khối u hoặc vùng viêm. Việc nhắm mục tiêu thụ thể folate bằng cách sử dụng axit folic được coi như là một chiến lược đầy hứa hẹn cho điều trị viêm hoặc ung thư với nhiều loại thuốc đang được thử nghiệm lâm sàng [18-20]. Folate liên kết đặc biệt với axit folic tạo ra phức hợp thụ thể - phối tử nằm trên màng tế bào, nó được nội hóa thông qua con đường endosome. Khi pH của endosome đạt ngưỡng, folate sẽ tách ra khỏi thụ thể và thuốc được giải phóng [1]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đưa ra những minh chứng phân tử rõ ràng về hiệu quả của việc sử dụng axit folic (một phối tử đặc hiệu

\*Tác giả liên hệ: Email: pthuongibt@gmail.com

# Evaluation of the target effect of folic acid conjugated nano curcumin system on cells highly expressed folate receptors

Thi Ngoc Huyen Tran<sup>1</sup>, Thi Thu Ha Bui<sup>1</sup>, Duc Quang Do<sup>1</sup>,  
Thi Thu Huong Le<sup>2</sup>, Thi Thu Huong Pham<sup>1\*</sup>

Key Laboratory of Enzyme and Protein Technology,  
University of Science, Vietnam National University, Hanoi

<sup>2</sup>School of Medicine and Pharmacy, Vietnam National University, Hanoi

Received 3 August 2020; accepted 21 September 2020

## Abstract:

Nano curcumin (n-Cur) is a phytopolyphenol extracted from turmeric (*Curcuma longa*), which has been shown to improve the solubility and limitations of curcumin (Cur) but failed to produce target specificity. In this study, the authors proved that the addition of folic acid to the n-Cur (n-Cur-FI) helps Cur to achieve a specific target towards folate-receptor-expressing cells through the Boyden chamber assay of high folate receptors (inflammatory or cancer cells). Results showed that n-Cur-FI increased the ability to target specifically to inflammatory cells (RAW264.7 induced by lipopolysaccharide) or cancer cells (Hela) highly expressing folate receptors, up to 70 or 30 times more than conventional n-Cur, respectively. While the authors could not see this ability in A549 cells, which did not express high folate receptors. These molecular data indicated the potential of using n-Cur-FI to improve the blocking of inflammation by Cur targeting the inflammatory region specifically.

**Keywords:** nano curcumin, nano curcumin conjugates folic acid, nano curcumin specific targeting.

**Classification number:** 3.4

có ái lực mạnh với thụ thể folate), như một chất dẫn đường cho n-Cur có khả năng hướng đích tới các tế bào viêm hoặc tế bào ung thư biểu hiện cao thụ thể folate.

## Nguyên liệu, hóa chất và phương pháp

### Nguyên liệu

Nguyên liệu dùng trong nghiên cứu là 3 mẫu thử: Cur, n-Cur và n-Cur-FI được cung cấp bởi nhóm nghiên cứu của TS Lê Thị Thu Hường (Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội). Các dòng tế bào được sử dụng trong nghiên cứu này bao gồm: dòng đại thực bào chuột RAW264.7, dòng tế bào A549 và dòng tế bào ung thư cổ tử cung Hela được lưu trữ tại Phòng Công nghệ tế bào động vật, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

### Hóa chất

Môi trường Modified Eagle của Dulbecco (DMEM, PAN, Germany) có bổ sung 10% Fetal Bovine Serum (FBS, Corning), 100 µg/ml penicillin, dung dịch rửa HBSS (PAN, Germany); dung dịch Trypsin/EDTA (PAN, Germany); dung dịch dimethyl sulfoxide (DMSO). Kit CellTiter 96® Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (Promega, USA); kit tách RNA (Aurum Total RNA kit, Bio Rad, USA). Thiết bị: máy lắc tròn GFL; máy đo quang phổ UV-Vis LABOMED UV-2550, máy Nano drop one Thermo Fisher và các thiết bị chuẩn dùng trong nuôi cấy tế bào, hóa sinh và sinh học phân tử.

### Phương pháp

**Nuôi cấy tế bào:** các dòng tế bào được nuôi trong môi trường Modified Eagle của Dulbecco (DMEM, PAN, Germany) có bổ sung 10% Fetal Bovine Serum (FBS, Corning), 100 µg/ml penicillin. Các tế bào được nuôi ở điều kiện 37°C, 5% CO<sub>2</sub> và độ ẩm 95%.

**Đánh giá ảnh hưởng của các chất lên tốc độ sinh trưởng tế bào bằng kit Cell Titer:** tế bào RAW264.7 (2,0×10<sup>4</sup> tế bào/100 µl/giếng), A549 (1,0×10<sup>4</sup> tế bào/100 µl/giếng), Hela (1,0×10<sup>4</sup> tế bào/100 µl/giếng) được nuôi trong đĩa 96 giếng, ủ qua đêm ở 37°C và 5% CO<sub>2</sub>. Sau đó, các tế bào được ủ ở các nồng độ khác nhau với Cur (0; 2,5; 5; 10; 20; 40; 100 µg/ml), n-Cur (0; 2,5; 5; 10; 20; 40; 100 và 1.000 µg/ml), n-Cur-FI (0; 100; 2.000; 4.000; 6.000 và 8.000 µg/ml). Sau 24 h ủ với các chất, khả năng sinh trưởng của các dòng tế bào trong điều kiện có mặt của các phức hệ được đánh giá bằng Kit Celltiter (Promega, Mỹ). Đĩa 96 sẽ được lắc bằng máy lắc tròn GFL ở tốc độ 4.000 vòng/phút trong 10 phút tại nhiệt độ phòng, sau đó sẽ được đo ở bước sóng 535 nm bằng máy đo quang phổ UV-Vis LABOMED UV-2550. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả được tính theo công thức:

$$\%Tế bào sống = \frac{Ac}{Ao \times 100} \times 100\%$$

Trong đó:  $A_c$  là độ hấp thụ OD của mẫu được bổ sung chất;  $A_o$  là độ hấp thụ OD của mẫu không được bổ sung chất.

Giá trị nồng độ của các chất Cur, n-Cur và n-Cur-FI không gây chết tế bào được tính dựa vào đồ thị log (liều dùng) và % ức chế.

**Đánh giá khả năng hấp dẫn của các chất lên tế bào bằng thí nghiệm Boyden Chamber Assay:** nuôi tế bào RAW 264.7 ( $2,0 \times 10^5$  tế bào/transwell) và A549 ( $2,5 \times 10^4$  tế bào/transwell), Hela ( $2,5 \times 10^4$  tế bào/transwell) ở buồng phía trên transwell với môi trường nuôi cấy DMEM 4,5 mg/ml glucose bổ sung 4% FBS, 100  $\mu\text{g/ml}$  penicillin. Buồng phía dưới transwell được bổ sung thêm các chất với nồng độ Cur: 20  $\mu\text{g/ml}$ , n-Cur: 20  $\mu\text{g/ml}$ , n-Cur-FI: 200  $\mu\text{g/ml}$ . Sau 24 h ủ, tiến hành thu transwell, tế bào di chuyển xuống mặt dưới của đáy transwell được cố định lại bằng formaldehyde 4% trong 10 phút, sau đó được nhuộm bằng crystal violet. Các tế bào mặt trong của giếng nuôi được loại bỏ hoàn toàn bằng tấm bông để có thể nhận diện được các tế bào di chuyển xuống mặt dưới một cách rõ ràng nhất. Transwell được chụp ảnh và đếm dưới kính hiển vi soi ngược ở vật kính 10X. Tổng lượng tế bào di chuyển xuống mặt dưới ( $\Sigma$ ) được tính theo công thức:

$$\Sigma = \frac{a \times 30}{0,8}$$

Trong đó: a là tổng lượng tế bào đếm được trên 0,8  $\text{mm}^2$  vi trường, 30 là diện tích bề mặt transwell ( $\text{mm}^2$ ) [15]. Chúng tôi đã phân tích và tính toán lượng tế bào bị hấp dẫn bằng cả chương trình Microsoft Office Excel và phần mềm OriginPro để tạo biểu đồ cho lượng tế bào ở mỗi mẫu.

**Đánh giá biểu hiện của thụ thể folate bằng kỹ thuật Reverse Transcriptase PCR:** tế bào RAW264.7 ( $2,5 \times 10^5$  tế bào/ml), tế bào A549 ( $1,0 \times 10^5$  tế bào/ml) được nuôi trên đĩa petri, ủ qua đêm trong DMEM glucose chứa 10% FBS, 100  $\mu\text{g/ml}$  penicillin. Sau 24 h, các tế bào được chuyển nuôi trong DMEM. RNA tổng số từ hai dòng tế bào được tách bằng kit Aurum Total RNA kit (Bio Rad, USA). Sau khi tách RNA tổng số, tiến hành tổng hợp cDNA bằng phản ứng sử dụng enzyme phiên mã ngược (Reverse Transcriptase) và kiểm tra chất lượng sản phẩm tạo cDNA thông qua phản ứng PCR với các cặp môi sau: Mỗi  $\beta$ -actin: Fw: 5'-CTGTCCCTGTATGCCTCTG-3', Rv: 5'-ATGTCACGCACGATTTCC-3' (sản phẩm 218 bp), mỗi mFOLR1: Fw: 5' CTGCATGGATGCCAAACACC 3', Rv: 5' GCACAGGGGAACATCAAGGA 3' trên trình tự tham chiếu NM\_001252554.1 (sản phẩm 298 bp) và mỗi hFOLR1: Fw: 5' GGAGGAAGAATGCCTGCTGT 3', Rv: 5' TTGCACAGAACAGTGGGTGT 3' trên trình tự tham chiếu NM\_016724.2 (sản phẩm 391 bp), được thiết kế bằng phần mềm Primer 3. Gen  $\beta$ -actin được thực hiện song song đảm bảo lượng RNA tổng số đưa vào mỗi mẫu là như nhau. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5% và được

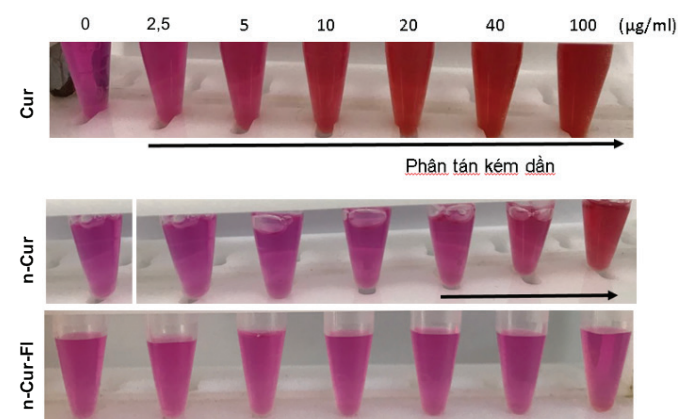
ghi lại hình ảnh.

**Xử lý số liệu:** các số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê theo phương pháp t-test student sử dụng phần mềm Excel và SigmaPlot 10 (Systat Software Inc, Mỹ). Số liệu được biểu diễn dưới dạng  $X \pm SD$ . Sự khác biệt có ý nghĩa khi  $p < 0,05$ .

### Kết quả và bàn luận

#### Ảnh hưởng của nồng độ các chất hệ n-Cur gắn axit folic tới khả năng sinh trưởng của tế bào

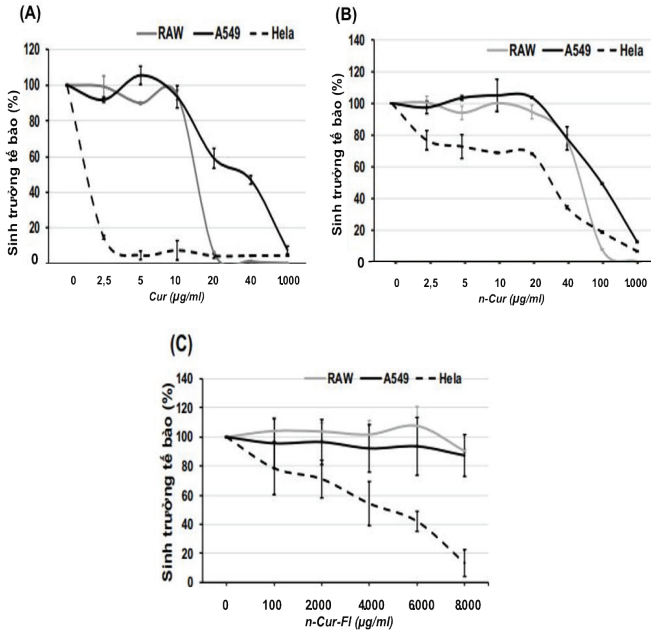
Như đã đề cập ở trên, Cur bị hạn chế về khả năng hòa tan trong các dung môi phân cực, dễ bị phân hủy trong ruột nên hiệu suất hấp thụ kém [1-3]. Do đó để đánh giá liệu việc gắn thêm axit folic có làm mất tính tan trong môi trường sinh học của chất hệ n-Cur, chúng tôi đã tiến hành thí nghiệm hòa các chất Cur, n-Cur và n-Cur-FI trong môi trường nuôi cấy tế bào DMEM ở cùng dải nồng độ 0; 2,5; 5; 10; 20; 40; 100  $\mu\text{g/ml}$ . Kết quả cho thấy, việc gắn axit folic vào n-Cur không những không ảnh hưởng tới khả năng tan của n-Cur mà còn làm tính tan của n-Cur được tăng lên rất nhiều. Trong khi Cur có độ phân tán kém dần ở các nồng độ cao (từ 10; 20; 40; 100  $\mu\text{g/ml}$ ) thì các chất hệ n-Cur có độ phân tán tốt hơn. Với n-Cur, độ phân tán bị giảm xảy ra ở nồng độ 100  $\mu\text{g/ml}$ , trong khi với n-Cur-FI thì không thấy xuất hiện tủa ở nồng độ này, không thấy hiện tượng kém tan hay sự khác biệt giữa các nồng độ khác nhau (hình 1). Điều này cho thấy việc gắn axit folic vào hệ n-Cur còn giúp làm tăng tính tan của n-Cur trong môi trường nuôi cấy.



Hình 1. Mức độ phân tán của các dạng Cur, n-Cur và n-Cur-FI trong môi trường nuôi cấy DMEM.

Bên cạnh đó, để thử nghiệm liệu nồng độ các chất hệ n-Cur có gây độc cho tế bào hay không, chúng tôi đã kiểm tra tác động của các chất ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng của tế bào RAW264.7, A549 và Hela bằng Kit CellTiter. Kết quả cho thấy, số lượng tế bào của RAW264.7 và A549 trong các mẫu được ủ bằng Cur bắt đầu giảm ở nồng độ cao hơn 10  $\mu\text{g/ml}$ , riêng đối với tế bào Hela là 2,5  $\mu\text{g/ml}$  (hình 2A). Trong khi đó, các mẫu được ủ với hệ n-Cur và n-Cur-FI

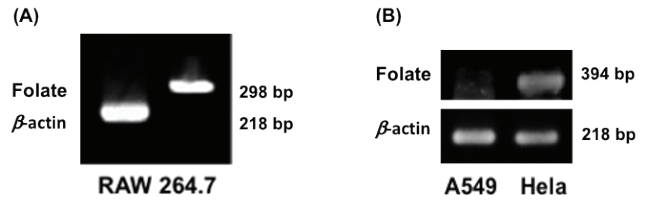
thì khả năng sống của tế bào RAW264.7 và A549 ổn định ở các nồng độ cao hơn lần lượt là 35  $\mu\text{g/ml}$  và trên 6.000  $\mu\text{g/ml}$ , đồng thời n-Cur và n-Cur-FI cũng cải thiện ảnh hưởng của Cur lên tế bào Hela (hình 2B, 2C). Từ đó có thể thấy, việc nano hóa các sản phẩm Cur làm giảm khả năng gây độc cho các tế bào, đặc biệt là n-Cur gắn thêm axit folic.



**Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ các chất lên khả năng sinh trưởng của các dòng tế bào.** (A) Ảnh hưởng của Cur (0; 2,5; 5; 10; 20; 40; 100  $\mu\text{g/ml}$ ) ; (B) Ảnh hưởng của n-Cur (0; 2,5; 5; 10; 20; 40; 100 và 1.000  $\mu\text{g/ml}$ ) ; (C) Ảnh hưởng của n-Cur-FI (0; 100; 2.000; 4.000; 6.000; 8.000  $\mu\text{g/ml}$ ) lên khả năng sinh trưởng của các dòng tế bào RAW264.7 ( $2 \times 10^5$  tế bào/ml), tế bào A549 ( $1 \times 10^5$  tế bào/ml) và Hela ( $1 \times 10^5$  tế bào/ml) trong các giếng của đĩa 96 giếng sau 24 h. Lượng tế bào sống sau 24 h được xác định bằng cách bổ sung 60  $\mu\text{l}$  dung dịch Cell Titer vào từng giếng. Dữ liệu được cung cấp dưới dạng giá trị trung bình  $\pm$  SD ( $n=3$ ).

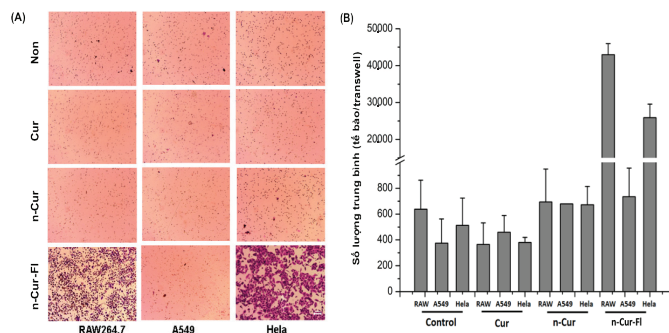
**Đánh giá tính hướng đích của hệ n-Cur-FI tới tế bào có biểu hiện thụ thể folate**

Như đã đề cập ở trên, axit folic là một tác nhân có ái lực mạnh với thụ thể folate trên bề mặt tế bào ung thư, viêm loét...[8]. Do đó, để đánh giá tính hướng đích của hệ n-Cur-FI tới tế bào biểu hiện thụ thể folate, chúng tôi xét biểu hiện folate ở mức độ mRNA trên dòng tế bào RAW264.7, A549 và tế bào Hela. Kết quả RT-PCR cho thấy sự xuất hiện các băng sản phẩm ở khoảng 298 bp đối với tế bào RAW264.7 (hình 3A) và ở khoảng 391 bp đối với tế bào Hela đúng như tính toán trước đó, chứng tỏ sự biểu hiện mạnh mRNA folate trên các dòng tế bào này. Trong khi gần như không thu được tín hiệu băng sản phẩm PCR ở dòng A549 (hình 3B). Điều này cho thấy việc dùng dòng RAW264.7 và Hela biểu hiện mạnh thụ thể folate để chứng tỏ khả năng hướng đích tới thụ thể folate của n-Cur-FI là lựa chọn hợp lý; tế bào A549 biểu hiện rất thấp hoặc hầu như không biểu hiện thụ thể này sẽ được dùng làm đối chứng âm trong thí nghiệm đánh giá khả năng hướng đích của n-Cur-FI.



**Hình 3. Mức độ biểu hiện mRNA thụ thể folate trên các dòng tế bào: RAW264.7 (A), A549 và tế bào Hela (B).** RNA tổng số được tách từ các tế bào RAW264.7, A549, tế bào Hela và được chuyển hoá thành cDNA, mức độ biểu hiện mRNA folate được kiểm tra bằng RT-PCR; beta actin được sử dụng làm nội chuẩn ở mỗi loại mẫu.

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy, không xuất hiện lượng tế bào đáng kể ở mặt dưới của giếng nuôi (transwell) trên cả 3 dòng tế bào thử nghiệm khi ủ với Cur, n-Cur hay không ủ với chất nào (Non) (hình 4A). Tuy nhiên đã có sự khác biệt lớn xảy ra đối với dòng tế bào biểu hiện thụ thể folate là RAW264.7 và Hela: có sự tập trung rất nhiều tế bào ở mặt dưới của giếng nuôi trong sự có mặt của n-Cur-FI, trong khi không thấy hiện tượng này trên mẫu có dòng tế bào A549 (hình 4A). n-Cur-FI đã tạo ra sự hướng hoá hấp dẫn các tế bào RAW264.7 và Hela lên tới tương ứng 70 và 30 lần so với dùng riêng n-Cur (hình 4B). Số lượng tế bào hướng đích vượt trội này có được là do sự có mặt của thụ thể folate trên bề mặt tế bào RAW264.7 và tế bào Hela đã hướng hoá tới vùng có axit folic trên các phân tử n-Cur-FI. Tế bào thiếu hụt thụ thể folate là A549 không có khả năng này trong điều kiện có n-Cur-FI hay không, đồng thời n-Cur hay Cur thông thường cũng không có khả năng hấp dẫn tế bào có thụ thể folate (RAW264.7 và Hela).



**Hình 4. Khả năng hướng đích tới dòng tế bào biểu hiện mạnh thụ thể folate.** (A) Ảnh tế bào tập trung mặt dưới của màng giếng nuôi (transwell) tiếp xúc với Cur, n-Cur hoặc n-Cur-FI; (B) Số lượng tế bào hướng đích đếm được (tế bào/transwell).

Rất nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, thụ thể folate là đích để trị liệu một số ung thư. Một số công bố khác về hệ mang thuốc gắn axit folic cũng đã cho thấy khả năng hướng đích đặc hiệu tới tế bào biểu hiện thụ thể folate [18-20]. Sự kết hợp của hạt nano gắn với axit folic giúp tăng cường tiềm năng hóa trị liệu của Cur đối với paclitaxel (một loại thuốc hóa trị được sử dụng để điều trị một số loại ung thư),

làm giảm đáng kể sự phát triển của khối u *in vivo* với việc giảm chuyển vị vào nhân của các nhân tố phiên mã NF- $\kappa$ B và AP-1 [1]. Các hạt nano PLGA-PEG gắn với axit folic của Cur thể hiện hoạt tính chống ung thư được tăng cường nhờ phân phối đặc hiệu điểm đích [21]. Phức hợp nano từ dịch triết lá cây *Withania somnifera* (i-Ex) nhắm mục tiêu thụ thể folate tiêu diệt một cách chọn lọc các tế bào ung thư. Trái ngược với i-Ex, phức hệ nano i-Ex hướng đích thụ thể folate (FRi-ExNC) cho thấy có sự hấp thu tế bào cao gấp 3 lần bởi các tế bào ung thư được làm giàu thụ thể folate này trong điều kiện *in vitro*. Các thử nghiệm khối u *in vivo* cũng cho thấy khả năng hỗ trợ ức chế khối u mạnh hơn của FRi-ExNC (chứng tỏ phức hệ này có vai trò là ứng cử viên mang thuốc tự nhiên hiệu quả và an toàn trong điều trị ung thư) [22]. Bên cạnh đó, các hạt nano PLGA kết hợp với axit folic làm tăng đáng kể tính thấm của paclitaxel hấp dẫn tế bào Caco-2 biểu hiện thụ thể folate [18]. Có thể thấy kết quả của chúng tôi hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu đã công bố về việc gắn thêm axit folic vào phức hệ bao gói thuốc đem lại hiệu quả hướng đích cao hơn nhiều lần khi không có mặt thành phần này.

## Kết luận

Nghiên cứu này là bằng chứng phân tử xác đáng cho thấy, lần đầu tiên, phức hệ n-Cur khi được gắn thêm axit folic không chỉ giúp làm tăng tính hoà tan của n-Cur mà còn có tác dụng làm tăng tới 70 và 30 lần trong việc hướng đích tới các tế bào viêm biểu hiện cao thụ thể folate là RAW264.7 và tế bào ung thư Hela so với n-Cur thông thường. Điều này mở ra triển vọng sử dụng n-Cur gắn axit folic có tính hướng đích đặc hiệu cao, đặc biệt trên các đối tượng tế bào viêm như viêm loét dạ dày và một số tế bào ung thư khác.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] A.K.T. Thulasidasan, et al. (2017), "Folic acid conjugation improves the bioavailability and chemosensitizing efficacy of Cur-encapsulated PLGA-PEG nanoparticles towards paclitaxel chemotherapy", *Oncotarget*, **8**, pp.107374-107389.

[2] A. Sarkar, R. De, and A.K. Mukhopadhyay (2016), "Cur as a potential therapeutic candidate for *Helicobacter pylori* associated diseases", *World J. Gastroenterol.*, **22(9)**, pp.2736-2748.

[3] S.A. Rajasekaran (2011), "Therapeutic potential of Cur in gastrointestinal diseases", *World J. Gastronintest Pathophysiol*, **2(1)**, pp.1-14.

[4] Anindita Mukerjee, I.K.V. Jamboor (2009), "Formulation, characterization and evaluation of Cur-loaded PLGA nanospheres for cancer therapy", *Anticancer Res.*, **29**, pp.3867-3875.

[5] N.S. Rejinold, et al. (2011), "Biocompatible, biodegradable and thermo-sensitive chitosan-g-poly (N-isopropylacrylamide) nanocarrier for Cur drug delivery", *Int. J. Biolog.*, **49**, pp.161-172.

[6] M.Y. Murali, J. Meena, C. Subhash, Chauhan (2010), "Poly (beta-cyclodextrin)/Cur self-assembly: a novel approach to improve Cur delivery

and its therapeutic efficacy in prostate cancer cells", *Macromol. Biosci.*, **10**, pp.1141-1151.

[7] D. Sun, et al. (2010), "A novel nanoparticle drug delivery system: the anti-inflammatory activity of Curcumin is enhanced when encapsulated in Exosomes", *Molecular Therapy*, **18(9)**, pp.1606-1614.

[8] P.S. Low, W.A. Henne, and D.D. Doorneweerd (2008), "Discovery and development of Folic-Acid-Based receptor targeting for imaging and therapy of cancer and inflammatory diseases", *Acc. Chem. Res.*, **41(1)**, pp.120-129.

[9] G. Toffoli, et al. (1997), "Overexpression of folate binding protein in ovarian cancers", *Int. J. Cancer*, **74**, pp.193-198.

[10] Huan Shi, et al. (2015), "A current review of folate receptor alpha as a potential tumor target in non-small-cell lung cancer", *Drug. Des. Devel. Ther.*, **9**, pp.4989-4996.

[11] L.S.F. Boogerd, et al. (2016), "Concordance of folate receptor-alpha expression between biopsy, primary tumor and metastasis in breast cancer and lung cancer patients", *Oncotarget*, **7(14)**, pp.17442-17454.

[12] L.E. Kelemen (2006), "The role of folate receptor alpha in cancer development, progression and treatment: cause, consequence or innocent bystander?", *Int. J. Cancer*, **119**, pp.243-250.

[13] D.J. O'Shannessy, et al. (2012), "Folate receptor alpha (FRA) expression in breast cancer: identification of a new molecular subtype and association with triple negative disease", *Springerplus*, **1**, p.22.

[14] M.K.Y. Siu, et al. (2012), "Paradoxical impact of two folate receptors, FRalpha and RFC, in ovarian cancer: effect on cell proliferation, invasion and clinical outcome". *PLoS One*, **7**, pp.e47201.

[15] G.L. Zwicke, G.A. Mansoori, and C.J. Jeffery (2012), "Utilizing the folate receptor for active targeting of cancer nanotherapeutics", *Nano Reviews*, **3(1)**, pp.1-11.

[16] Kukowska-Latallo, et al. (2005), "Nanoparticle targeting of anticancer drug improves therapeutic response in animal model of human epithelial cancer", *Cancer Research*, **65(12)**, pp.5317-5324.

[17] M. Fernández, F. Javida, and V. Chudasama (2018), "Advances in targeting the folate receptor in the treatment/imaging of cancers". *Chem. Sci.*, **9**, pp.790-810.

[18] E. Roger, et al. (2012), "Folic acid functionalized nanoparticles for enhanced oral drug delivery", *Molecular Pharmaceutics*, **9(7)**, pp.2103-2110.

[19] Jianian Chen, Shaoshun Li, Qi Shen, Huijuan He, Yi Zhang (2011), "Enhanced cellular uptake of folic acid-conjugated PLGA-PEG nanoparticles loaded with vincristine sulfate in human breast cancer", *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, **37(11)**, pp.1339-1346.

[20] Sang Joon Lee, Yong-Ho Shim, Jong-Suk Oh, Young-Il Jeong, In-Kyu Park, and Hyun Chul Lee (2015), "Folic-acid-conjugated pullulan/poly (DL-lactide-co-glycolide) graft copolymer nanoparticles for folate-receptor-mediated drug delivery", *Nanoscale Res. Lett.*, **10**, p.43.

[21] J.J. Pillai, A.K.T. Thulasidasan, R.J. Anto, N.C. Devika, N. Ashwanikumar and G.S.V. Kumar (2015), "Cur entrapped folic acid conjugated PLGA-PEG nanoparticles exhibit enhanced anticancer activity by site specific delivery", *RSC Adv.*, **5**, pp.25518-25524.

[22] Yue Yu, Jia Wang, S.C. Kaul, Renu Wadhwa and Eijiro Miyako (2019), "Folic acid receptor-mediated targeting enhances the cytotoxicity, efficacy, and selectivity of *Withania somnifera* leaf extract: *In vitro* and *in vivo*", *Evidence Front. Oncol.*, **9**, p.602.