

NGHIÊN CỨU SỰ PHÂN BỐ CỦA VÀNG NANO/CARBOXYMETHYL CHITOSAN CHẾ TẠO BẰNG BỨC XẠ γ -Co-60 SAU KHI TIÊM TĨNH MẠCH Ở CHUỘT

Đỗ Thị Phượng Linh^{1,2}, Nguyễn Trọng Nghĩa³, Lê Quang Luân^{3,✉}

¹Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Thành phố Hồ Chí Minh

²Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh

³Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh

✉ Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: lequangluan@gmail.com

Ngày nhận bài: 22.8.2018

Ngày nhận đăng: 28.9.2018

TÓM TẮT

Chế phẩm vàng nano (AuNP) có kích thước khoảng 7 nm được chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ tia gamma dung dịch hydrogen tetrachloroaurate (1 mM) sử dụng carboxymethyl chitosan (CMC) 0,5% làm chất ổn định. Các đặc trưng quang học và kích thước hạt của chế phẩm được xác định bằng phương pháp đo phổ UV-Vis và ảnh chụp bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (Transmission Electron Microscopy - TEM). Động học phân bố của AuNP trong cơ thể chuột theo thời gian được xác định bằng phương pháp tiêm tĩnh mạch đuôi với liều 1 mg AuNP. Kết quả phân tích huyết học và các chỉ số sinh hóa máu ở các lô chuột được tiêm AuNP cho thấy hoàn toàn không có sự khác biệt so với lô đối chứng. Hàm lượng vàng trong các mẫu được xác định bằng phương pháp phân tích kích hoạt neutron k_0 (k_0 -NAA) cho thấy sau 1 giờ tiêm, AuNP tập trung chủ yếu ở gan (64,92%), trong máu (31,33%) và một hàm lượng nhỏ ở phổi (2,16%) và thận (1,60%). Tuy nhiên sau 6 giờ tiêm thì lượng AuNP không còn trong máu mà tập trung nhiều trong gan với 88,85%, ở phổi là 8,55% và ở thận là 2,10%. Sau 12 giờ, hàm lượng AuNP trong gan đã giảm nhẹ xuống còn 83,86% nhưng không thay đổi đáng kể trong phổi và thận. Kết quả nhận được trong nghiên cứu đã cho thấy sự phân bố hàm lượng AuNP cũng như khả năng lưu của AuNP trong các mô trong cơ thể chuột. Điều đó cho thấy khả năng phát triển ứng dụng của AuNP chế tạo bằng bức xạ tia gamma trong kỹ thuật chụp X-quang để chẩn đoán hoặc làm chất chống oxy hóa bảo vệ gan.

Từ khóa: AuNP, carboxymethyl chitosan, phân bố in vivo, tia gamma, UV-Vis vàng nano

MỞ ĐẦU

Công nghệ nano, đặc biệt là các hạt nano hiện đang nhận được sự quan tâm rất lớn bởi những ứng dụng vô cùng hữu ích của chúng trong sử dụng để vận chuyển thuốc chính xác và đặc hiệu (Caruthers *et al.*, 2007; De Jong, Borm, 2008), ứng dụng trong chuẩn đoán *in vitro*, làm nguyên liệu chế tạo vật liệu sinh học mới và ứng dụng trong điều trị, phục hồi mô cấy ghép (Jain *et al.*, 2012). Hơn thế nữa, công nghệ nano còn cho thấy tiềm năng để phát triển các phương pháp chẩn đoán có độ nhạy cao và điều trị khối u một cách chính xác (De Jong, Borm, 2008).

Trong số các vật liệu nano thì vàng nano được xem là ứng viên hàng đầu bởi có thể dễ dàng chế tạo và điều chỉnh kích thước của chúng như mong muốn từ 0,8 - 200 nm. Ngoài ra, kích thước của hạt vàng nano có thể dễ dàng điều chỉnh để chúng có chức

năng khác nhau và có hoạt tính sinh học tốt (Asal, 1994). Trong lĩnh vực công nghệ sinh học, vàng nano được sử dụng chủ yếu như là một marker sinh học, là tác nhân quang nhiệt trong nhiệt kế, hay nhân tố biểu hiện gen và phát hiện DNA (Huber *et al.*, 2004; Xia *et al.*, 2007; Abdelhalim, 2011). Vàng nano cũng được sử dụng chuyển gen vào tế bào dưới tác dụng của dòng điện (Niidome *et al.*, 2004; Kawano *et al.*, 2006). Hainfeld và cộng sự (2004) đã chụp được ảnh hiện hình của mạch máu bằng X-quang do sự hiện diện của vàng nano trong máu. Vàng nano được xem là một ứng viên tiềm năng trong việc tầm soát và điều trị ung thư với tác dụng như là hệ thống vận chuyển hướng đích, do ái lực của nano vàng với tế bào ung thư là cao hơn 600 lần so với tế bào thường (Wojnicki *et al.*, 2013). Một số nghiên cứu gần đây còn cho thấy nano vàng cũng có khả năng ức chế cũng như tiêu diệt trực tiếp các tế

bào ung thư (Geetha, *et al.*, 2013, Priya, Iyer, 2015). Mặt khác, chiếu xạ là phương pháp khá hữu hiệu để chế tạo các hạt nano kim loại, đặc biệt là vàng nano (Misra *et al.*, 2012; Duy *et al.*, 2014; Luan *et al.*, 2014), bởi lẽ phương pháp này có những ưu điểm nổi bật so với những phương pháp khác do phản ứng được tiến hành ở điều kiện thường; hiệu suất tạo vàng nano cao; sản phẩm tạo ra có độ tinh khiết cao do không sử dụng chất khử; kích thước hạt có thể điều chỉnh thông qua điều chỉnh nồng độ Au^{3+} và liều chiếu xạ (Anh *et al.*, 2010; Duy *et al.*, 2013); và dễ dàng phát triển sản xuất ở quy mô lớn và đáp ứng được tiêu chí sản xuất sạch (Hien *et al.*, 2012). Nghiên cứu được tiến hành này đánh giá ảnh hưởng của chế phẩm nano vàng/carboxymethyl chitosan chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ đến các chỉ số huyết học và sinh hóa máu ở chuột sau khi tiêm vào tĩnh mạch đồng thời nhằm khảo sát động học phân bố *in vivo* của hạt vàng nano trong các cơ quan ở chuột theo thời gian sau khi tiêm.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Muối vàng hydrogen tetrachloroaurate (III) trihydrate ($HAuCl_4 \cdot 3H_2O$) sử dụng trong nghiên cứu là của hãng Merck (Đức). Chất ổn định carboxymethyl chitosan (CMC, Mw ~ 30.000 kDa) do Koyou Chemical Industrial Co. Ltd, Nhật Bản cung cấp. Giống chuột nhắt trắng Swiss được cung cấp bởi Viện Pasteur Tp. Hồ Chí Minh.

Chế tạo chế phẩm vàng nano/CMC bằng phương pháp chiếu xạ

Dung dịch chiếu xạ có nồng độ Au^{3+} là 1 mM ổn định trong CMC 0,5% được tạo ra từ các dung dịch gốc (stock) chứa 10 mM Au^{3+} và 2% CMC, sau đó điều chỉnh đến pH 8 bằng NH_4OH 2,5%. Tiến hành chiếu xạ hỗn hợp trên ở liều 8 kGy bằng nguồn xạ gamma STSVCo-60/B với suất liều 1,3 kGy/giờ tại Trung tâm Nghiên cứu và triển khai công nghệ bức xạ, Tp. HCM.

Xác định đặc trưng của vàng nano

Dung dịch vàng nano được pha loãng trong nước khử ion sao cho nồng độ Au^{3+} đạt 0,1 mM và tiến hành phân tích bằng máy đo quang phổ UV-Vis (U-2401PC, Shimadzu, Nhật Bản) để xác định phổ tử ngoại của chế phẩm. Kích thước và phân bố kích thước hạt vàng nano sau khi chiếu xạ được xác định

bằng phương pháp chụp ảnh hiển vi điện tử truyền qua (TEM: Transmission Electron Microscope) model JEM1010 (JEOL, Nhật Bản) theo phương pháp của Aryal *et al.* (2007). Kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) là một trong những công cụ hiệu quả và có độ tin cậy cao trong việc xác định kích thước của hạt vàng. Thiết bị hoạt động trên nguyên tắc giống thấu kính quang học, chỉ khác là sử dụng chùm điện tử năng lượng cao thay cho bước sóng ánh sáng nên có bước sóng rất ngắn và sử dụng các thấu kính điện tử thay cho thấu kính quang học. Ảnh của kính hiển vi điện tử truyền qua cho phép quan sát được hình dạng và xác định được kích thước của các hạt nano.

Tiêm tĩnh mạch chuột

Chuột nhắt trắng đực dòng Swiss được nuôi đến 8 tuần tuổi, khỏe mạnh và có trọng lượng trung bình khoảng 30 g/con được chia thành 5 lô thí nghiệm, mỗi lô 20 con tương ứng tại các thời điểm tiêm: 0, 1, 3, 6 và 12 giờ tiêm. Trong mỗi lô chuột được chia thành 2 nhóm gồm 15 con được tiêm mỗi con 0,5 ml dung dịch 5 mM AuNP (~1 mg/con) và 5 con đối chứng không tiêm AuNP.

Phân tích các chỉ số huyết học

Thu nhận và phân tích máu chuột ở các thời điểm 0, 1, 3, 6 và 12 giờ sau khi tiêm AuNP (bảo quản trong các ống có chứa heparin để hỗ trợ chống đông). Các phân tích được thực hiện bằng máy phân tích huyết học tự động 18 thông số Celltac α (Nihon Kohden, Nhật Bản). Các chỉ số huyết học được phân tích bao gồm bạch cầu tổng số (WBC), hồng cầu tổng số (RBC), dung tích hồng cầu (HCT), thể tích trung bình một hồng cầu (MCV), nồng độ hemoglobin (HGB), tiểu cầu (PLT), bạch cầu lympho (Lympho), Mono bào (Mono), số lượng bạch cầu hạt (GR), số lượng hemoglobin trung bình trong một hồng cầu (MCH) và nồng độ hemoglobin trung bình trong một hồng cầu (MCHC).

Phân tích các chỉ số sinh hóa máu

Mẫu máu được thu và bảo quản tương tự như phân tích huyết học. Sau đó, ly tâm mẫu máu 5000 vòng trong 10 phút để thu huyết thanh. Các phân tích được thực hiện bằng máy sinh hóa tự động Biosystem A15 (Bi). Các chỉ số sinh hóa máu được phân tích bao gồm: đường huyết (Glu), creatine (CR), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), protein tổng số (TP), urê máu (URE) và chỉ số albumin (ALB).

Xử lý và phân tích hàm lượng vàng trong các mô cơ quan

Tại thời điểm 0, 1, 3, 6 và 12 giờ sau khi tiêm AuNP, tiến hành thu nhận gan, thận, phổi và máu của chuột thí nghiệm. Các mẫu mô được sấy khô ở 150°C trong 5 giờ. Sau đó, hàm lượng vàng trong các mẫu mô được xác định bằng phương pháp phân tích kích hoạt neutron k_0 (k_0 -NAA) trên lò phản ứng hạt nhân tại Viện nghiên cứu Hạt nhân Đà Lạt. Số liệu được phân tích thống kê T-test sử dụng phần mềm SAS 9.3 với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

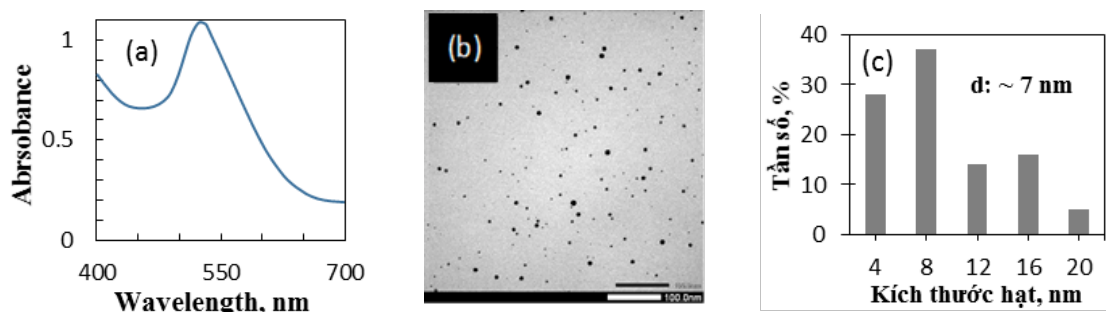
Xác định đặc trưng của chế phẩm vàng nano/CMC

Kết quả từ phổ UV-Vis (Hình 1A) cho thấy, đỉnh hấp thụ (λ_{max}) của chế phẩm vàng nano (được chế tạo từ dung dịch 1 mM Au^{3+}) ở khoảng bước sóng 524 nm. Ngoài ra, việc không có sự hấp thụ ở bước sóng trên 600 nm cũng cho thấy rằng vàng nano đã có sự phân tán tốt trong dung dịch.

Trong nghiên cứu này, hình ảnh TEM cho thấy kích thước hạt vàng nano tương đối đồng đều, các hạt có dạng hình cầu và sự phân bố kích thước hạt là tương đối hẹp (Hình 1b, c). Thêm vào đó, kích thước hạt vàng nano trong chế phẩm được xác định là khoảng 7 nm, bằng cách tính trung bình đường kính của 300 hạt từ nhiều ảnh TEM khác nhau (Hình 1c).

Ảnh hưởng của vàng nano đến các chỉ số sinh hóa máu và huyết học ở chuột

Để đánh giá ảnh hưởng của vàng nano đối với các chỉ số huyết học ở chuột, nghiên cứu đã tiến hành phân tích các thông số như bạch cầu tổng số (WBC), hồng cầu tổng số (RBC), dung tích hồng cầu (HCT), thể tích trung bình một hồng cầu (MCV), nồng độ hemoglobin (HGB), tiểu cầu (PLT), bạch cầu lympho (Lympho), Mono bào (Mono), số lượng bạch cầu hạt (GR), số lượng hemoglobin trung bình trong một hồng cầu (MCH) và nồng độ hemoglobin trung bình trong một hồng cầu (MCHC) (Chen *et al.*, 2009; Simpson *et al.*, 2013) sau khi tiêm vào tĩnh mạch chuột.



Hình 1. Đặc trưng cấu trúc của chế phẩm vàng nano (ổn định bằng CMC 0,5%) được chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ. (a): phổ UV-Vis của dung dịch chứa 1 mM Au^{3+} , (b): ảnh TEM và (c): đồ thị phân bố kích thước hạt nano vàng.

Sau khi tiêm tĩnh mạch vàng nano 1, 3, 6 và 12 giờ, các chỉ số huyết học của lô chuột được tiêm không cho thấy có sự khác biệt thống kê so với đối chứng (bảng 1). Điều này cho thấy, vàng nano không có ảnh hưởng đến huyết học của chuột khi tiêm trực tiếp vào tĩnh mạch.

Phân tích các chỉ số như đường huyết (Glu), creatine (CR), men aspartate aminotransferase (AST), men alanine aminotransferase (ALT), protein tổng số (TP), urê máu (URE) và chỉ số albumin (ALB) được tiến hành nhằm đánh giá mức độ ảnh hưởng của vàng nano đối với sinh hóa máu ở chuột. Kết quả từ bảng 2 cũng cho

thấy, hàm lượng GLU, CR, AST, ALT, TP, URE và ALB ở chuột được tiêm vàng nano không có sự khác biệt thống kê so với lô đối chứng không tiêm.

Từ các kết quả thu được từ các bảng 1 và 2, có thể thấy rằng các chỉ số sinh hóa máu cũng như huyết học ở chuột được tiêm vàng nano không có sự khác biệt so với lô đối chứng. Kết quả này cũng cho thấy việc tiêm vàng nano với liều ~ 1 mg/con (trọng lượng khoảng 30 g/con) không gây ảnh hưởng đến các chỉ số hồng cầu, bạch cầu và không gây ảnh hưởng đến chức năng gan, thận thông qua một số chỉ số sinh hóa máu.

Nghiên cứu đánh giá độc học của vàng nano sau khi tiêm tĩnh mạch ở chuột này được xem là một nghiên cứu rất quan trọng, làm cơ sở tin tưởng cho các ứng dụng của vàng nano trong lĩnh vực y học như diệt trực tiếp tế bào ung thư (Geetha, *et al.*, 2013, Priya, Iyer, 2015), tầm soát và điều trị khối u

(Paciotti *et al.*, 2004; Caruthers *et al.*, 2007), biểu hiện gen và phát hiện DNA (Huber *et al.*, 2004; Abdelhalim, 2011) hay làm chất cản quang dùng trong kỹ thuật X-quang (Hainfeld *et al.*, 2006). Kết quả thí nghiệm của chúng tôi cũng xác định tính an toàn ở chuột của vàng nano sau khi tiêm tĩnh mạch.

Bảng 1. Chỉ số huyết học của chuột sau khi tiêm tĩnh mạch 0,5 ml AuNP có nồng độ 5 mM.

Nghiệm thức	WBC, 10 ³ /μl	RBC, 10 ⁶ /μl	HCT, %	MCV, fL	HGB, g/dL	PLT, 10 ³ /μl	MCH, Pg	MCHC, g/dL	Lymph, %	Mono, %	GR, %
Đối chứng	3,57 ± 0,24	8,46 ± 0,78	44,02 ± 4,88	52,05 ± 3,67	12,83 ± 2,0	459,5 ± 92,67	15,2 ± 2,15	29,67 ± 5,93	71,5 ± 5,77	16,8 ± 6,29	11,7 ± 0,99
Sau 1 giờ	3,77 ± 0,17	8,8 ± 1,06	42,6 ± 3,06	48,73 ± 3,23	13,2 ± 0,59	452 ± 56,68	15,2 ± 1,92	31,07 ± 1,76	71,87 ± 16,21	15,63 ± 8,49	12,5 ± 7,72
	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Đối chứng	4,93 ± 0,53	7,52 ± 0,26	37,47 ± 0,57	49,93 ± 2,45	12,53 ± 1,13	362 ± 84,1	16,7 ± 2,03	33,43 ± 2,56	70,67 ± 4,54	17,57 ± 2,38	11,77 ± 3,14
Sau 3 giờ	5,8 ± 1,22	7,63 ± 0,14	37,8 ± 3,81	49,6 ± 5,7	12,47 ± 0,26	504,33 ± 37,19	16,33 ± 0,53	33,37 ± 3,77	71,03 ± 7,46	17,93 ± 4,81	11,03 ± 4,2
	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Đối chứng	7,2 ± 1,07	7,56 ± 0,37	35,4 ± 3,35	46,7 ± 2,22	11,3 ± 1,92	351,33 ± 133,18	14,93 ± 2,05	31,87 ± 3,91	71,07 ± 0,68	17,07 ± 1,85	11,87 ± 2,44
Sau 6 giờ	7,8 ± 1,64	7,04 ± 0,35	34,1 ± 1,07	48,5 ± 1,30	10,6 ± 0,57	381,33 ± 68,67	15,1 ± 0,5	31,07 ± 0,69	73,47 ± 2,74	14,6 ± 1,12	11,93 ± 1,64
	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Đối chứng	8,18 ± 1,85	7,13 ± 0,69	33,8 ± 1,56	47,68 ± 3,19	11,65 ± 0,53	538,17 ± 51,08	16,57 ± 1,02	34,47 ± 0,12	72 ± 2,68	16,83 ± 3,84	11,17 ± 1,6
Sau 12 giờ	7,03 ± 1,43	7,12 ± 0,84	35,17 ± 5,52	49,11 ± 2,13	11,03 ± 0,74	516 ± 120,01	15,6 ± 1,04	31,93 ± 3,54	73,57 ± 0,41	14,5 ± 7,38	11,83 ± 6,95
	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

NS: Không có sự khác biệt thống kê (T-test) với P > 0,05.

Bảng 2. Các chỉ số sinh hóa máu của chuột sau khi tiêm tĩnh mạch 0,5 ml AuNP có nồng độ 5 mM.

Nghiệm thức	GLU, mg/dl	AST, U/l	ALT, U/l	Ure, mg/dl	CR, mg/dl	ALB, g/dl	TP, g/dl
Đối chứng	337,43 ± 7,4	233,46 ± 17,87	45,69 ± 12,37	29 ± 3,25	0,56 ± 0,06	17,88 ± 0,71	45,99 ± 4,38
Sau 1 giờ	635,51 ± 42,81	245,07 ± 30,03	47,57 ± 8,94	26,54 ± 2,85	0,53 ± 0,09	19,44 ± 0,92	45,72 ± 8,94
	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Đối chứng	334,2 ± 4,27	260,25 ± 13,01	44,79 ± 10,84	28,46 ± 5,53	0,52 ± 0,01	17,88 ± 0,71	42,3 ± 0,5
Sau 3 giờ	595 ± 26,23	267,39 ± 18,65	47,33 ± 16,47	26,23 ± 7,23	0,41 ± 0,09	16,35 ± 1,09	39,65 ± 5,06
	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Đối chứng	336,08 ± 14,31	233,46 ± 17,87	45,69 ± 12,37	29 ± 3,25	0,56 ± 0,06	17,88 ± 0,71	45,99 ± 4,38
Sau 6 giờ	532,55 ± 33,28	348,85 ± 88,76	61,63 ± 22,11	24,48 ± 3,72	0,46 ± 0,15	19,06 ± 0,49	37,55 ± 2,67
	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Đối chứng	328,45 ± 13,15	241,44 ± 17,07	32,05 ± 2,8	24,92 ± 3,66	0,48 ± 0,01	18,16 ± 1,81	46,03 ± 3,39
Sau 12 giờ	449,39 ± 43,61	252,45 ± 2,49	35,58 ± 2,36	21,16 ± 4	0,44 ± 0,03	18,42 ± 0,18	46,92 ± 1,48
	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

NS: Không có sự khác biệt thống kê (T-test) với P > 0,05.

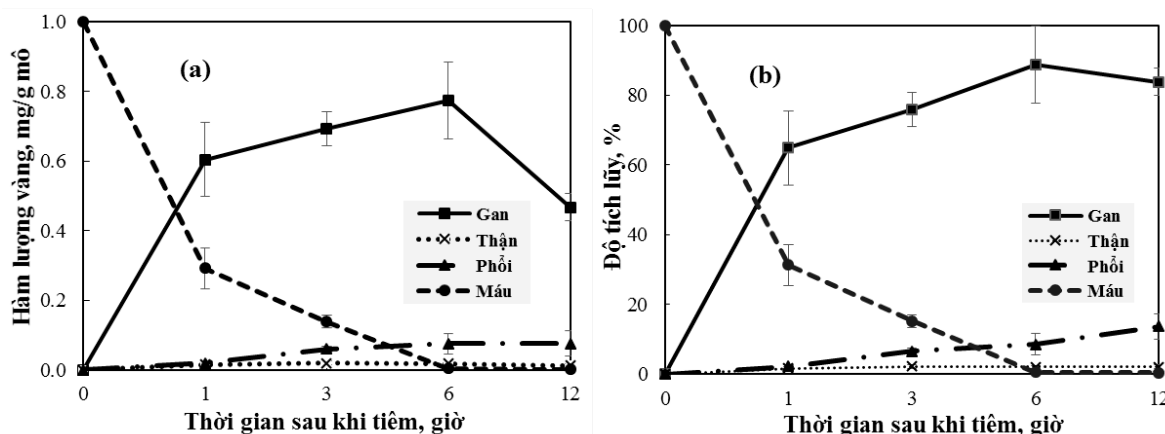
Động học phân bố của vàng nano

Để nghiên cứu sự phân bố của vàng nano trong các mô cơ quan sau khi tiêm, phương pháp phân tích kích hoạt neutron k_0 (k_0 -NAA) đã được tiến hành để xác định hàm lượng trên nhiều mô cơ quan khác nhau như gan, phổi, thận và máu.

Các kết quả phân tích cho thấy vàng nano đã đi vào hệ tuần hoàn và phân bố chủ yếu ở gan sau 6 giờ tiêm (Hình 2). Trong đó, hàm lượng vàng trong máu giảm dần theo thời gian kể từ lúc tiêm. Sau 6 giờ, lượng vàng nano trong máu chuột gần như biến mất. Tại thời điểm 12 giờ sau tiêm, mẫu máu đã không còn phát hiện vàng. Kết quả từ hình 2 còn cho thấy trong các cơ quan như gan, thận và phổi đã có những sự thay đổi đáng kể hàm lượng vàng tích lũy. Sau 6 giờ tiêm, hàm lượng vàng xác định được trong thận và phổi lần lượt là 0,015 và 0,02 mg/g (chiếm tỷ lệ tương ứng là 1,60% và 2,16% lượng vàng tiêm vào). Ngoài ra, kết quả còn cho thấy vàng tập trung tích lũy trong gan với hàm lượng là 0,775 mg/g và chiếm đến 88,85% lượng vàng được tiêm vào, cao hơn rất

nhiều hàm lượng trong mô thận và phổi. Tuy nhiên vào thời điểm 12 giờ sau tiêm, hàm lượng vàng trong mô gan và phổi có xu hướng giảm xuống.

Như vậy, vàng nano với kích thước khoảng 7 nm, được chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ γ -Co-60, không gây độc ở liều 33,3 mg/kg trọng lượng đối với chuột nhắt. Dựa vào phương pháp theo dõi hành vi của động vật thí nghiệm, các kết quả phân tích hình thái mô, các chỉ số sinh hóa máu, huyết học và các phân tích mô bệnh học, Lasagna-Reeves và cộng sự (2010) cũng đã chứng minh rằng việc vàng nano tích lũy ở các mô cơ quan khác nhau sau khi tiêm lặp lại nhiều lần (với liều từ 0,32-3,2 mg/kg trọng lượng) không gây tử vong hay có bất cứ dấu hiệu trúng độc nào đối với động vật thí nghiệm. Các hạt vàng nano với kích thước khác nhau (5-70 nm) cũng đã được chứng minh là không gây hại đối với tế bào da người (Wang *et al.*, 2008). Do đó, chế phẩm vàng nano/carboxymethyl chitosan có tiềm năng để sử dụng như là một chất cản quang trong kỹ thuật X-quang, đặc biệt là cho máu và gan.



Hình 2. Hàm lượng vàng (a) và độ tích lũy (b) của AuNP ($d \sim 7$ nm) trong các mô cơ quan khác nhau của chuột nhắt Swiss sau khi tiêm tĩnh mạch.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã chế tạo thành công vàng nano với kích thước khoảng 7 nm bằng phương pháp chiếu xạ tia γ -Co-60 sử dụng carboxymethyl chitosan làm chất ổn định. Sau khi tiêm tĩnh mạch, vàng nano tập trung chủ yếu ở gan với hàm lượng tối đa lên tới 0,775 mg/g (chiếm 88,85% lượng vàng tiêm vào) và hoàn toàn không gây độc cho chuột ở liều tiêm là 33,3 mg vàng/kg thể trọng. Điều đó cho thấy chế phẩm vàng nano/carboxymethyl chitosan

chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ có tiềm năng để sử dụng như là một chất cản quang trong kỹ thuật X-quang, đặc biệt là cho máu và gan. Chế phẩm này hứa hẹn với tiềm năng ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như y dược, mỹ phẩm.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin cảm ơn Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh đã tài trợ kinh phí và tạo điều kiện để nghiên cứu được hoàn thành.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abdelhalim MAK (2011) The effects of size and period of administration of gold nanoparticles on rheological parameters of blood plasma of rats over a wide range of shear rates: *in vivo*. *Lipids Health Dis* 10: 191.
- Anh NT, Phu DV, Duy NN, Du BD, Hien NQ (2010) Synthesis of alginate stabilized gold nanoparticles by γ -irradiation with controllable size using different Au^{3+} concentration and seed particles enlargement. *Rad Phys Chem* 79: 405–408.
- Aryal S, Remant BKC, Khil MS, Dharmaraj N, Kim HY (2007) Radical scavenger for the stabilization of gold nanoparticles. *Materials Letters* 61: 4225–4230.
- Asal DJ (1994) Immunocytochemistry: A practical approach: Edited by Beesley JE, *Trends Cell Biol* 4: 268.
- Caruthers SD, Wickline SA, Lanza GM (2007) Nanotechnological applications in medicine. *Curr Opin Biotechnol* 18: 26–30.
- Chen YS, Hung YC, Liao I, Huang GS (2009) Assessment of the *in vivo* toxicity of gold nanoparticles. *Nanoscale Res Lett* 4: 858–64.
- De Jong WH, Borm PJ (2008) Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. *Int J Nanomed* 3: 133–149.
- Duy LN, Phu DV, Quoc LA, Hien NQ (2014) Electron beam/ γ -ray irradiation synthesis of gold nanoparticles and investigation of antioxidant activity. *Adv Nat Sci: Nanosci Nanotechnol* 5: 045002.
- Duy NN, Du DX, Phu DV, Quoc LA, Duc BD, Hien NQ (2013) Synthesis of gold nanoparticles with seed enlargement size by γ -irradiation and investigation of antioxidant activity. *Coll Surf A: Physico Chem Eng Asp* 436: 633–638.
- Geetha R, Ashokkumar T, Tamilselvan S, Govindaraju K, Sadiq M, Singaravelu G (2013) Green synthesis of gold nanoparticles and their anticancer activity. *Cancer Nano* 4: 91–98.
- Hainfeld JF, Slatkin DN and Smilowitz HM (2004) The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice. *Phys Med Biol* 49: 309–315.
- Hainfeld JF, Slatkin DN, Smilowitz HM, Focella TM (2006) Gold nanoparticles: a new X-ray contrast agent. *Br J Radiol* 79: 248–253.
- Hien NQ, Phu DV, Duy NN, Quoc LA (2012) Radiation synthesis and characterization of hyaluronan capped gold nanoparticles. *Carbohydr Polym* 89:537–541.
- Huber M, Wei T, Muller UR, Lefebvre PA, Marla SSBand Bao YP (2004) Gold nanoparticle probe-based gene expression analysis with unamplified total human RNA. *Nucleic Acids Res* 32: 137.
- Jain S, Hirst DG, O'sullivan JM (2012) Gold nanoparticles as novel agents for cancer therapy. *Br J Radiol* 85: 101–113.
- Kawano T, Yamagata M, Takahashi H, Niidome Y, Yamada S, Katayama Y, Niidome T (2006) Stabilizing of plasmid DNA *in vivo* by PEG-modified cationic gold nanoparticles and the gene expression assisted with electrical pulses. *J Control Release* 111: 382–389.
- Lasagna-Reeves C, Gonzalez-Romero D, Barria MA, Olmedo I, Clos A, Sadagopa Ramanujam VM, Urayama A, Vergara L, Kogan MJ, Soto C (2010) Bioaccumulation and toxicity of gold nanoparticles after repeated administration in mice. *Biochem Biophys Res Com* 393: 649–655.
- Luan LQ, Linh DTP, Uyen NHP, Phu DV and Hien NQ (2014) Biodistribution of gold nanoparticles synthesized by γ -irradiation after intravenous administration in mice. *Adv Nat Sci: Nanosci Nanotechnol* 5: 025009.
- Misra N, Biswal J, Gupta A, Sainis JK, Sabharwal S (2012) Gamma radiation induced synthesis of gold nanoparticles in aqueous polyvinyl pyrrolidone solution and its application for hydrogen peroxide estimation. *Radiat Phys Chem* 81: 195–200.
- Niidome T, Nakashima K, Takahashi H and Niidome Y (2004) Preparation of primary amine-modified gold nanoparticles and their transfection ability into cultivated cells. *Chem Commun (Camb)* 17: 1978–1979.
- Oberdorster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R, Kreyling W, Cox C (2004) Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. *Inhal Toxicol* 16: 437–445.
- Paciotti GF, Myer L, Weinreich D, Goia D, Pavel N, McLaughlin RE, Tamarkin L (2004) Colloidal Gold: A Novel Nanoparticle Vector for Tumor Directed Drug Delivery. *Drug Deliv* 11: 169–183.
- Priya MRK, Iyer RP (2015) Anticancer studies of the synthesized gold nanoparticles against MCF 7 breast cancer cell lines. *Appl Nanosci* 5: 443–448.
- Simpson CA, Salleng KJ, Cliffel DE, Feldheim DL (2013) *In vivo* toxicity, biodistribution, and clearance of glutathione-coated gold nanoparticles. *Nanomed* 9: 257–263.
- Wang S, Lu W, Tovmachenko O, Rai US, Yu H, Ray PC (2008) Challenge in Understanding Size and Shape Dependent Toxicity of Gold Nanomaterials in Human Skin Keratinocytes. *Chem Phys Lett* 463: 145–149.
- Wojnicki M, Luty-B|ocho M, Bednarski M, Dudek M, Knutelska J, Sapa J, Zygmunt M, Nowak G, Fitzner K (2013) Tissue distribution of gold nanoparticles after single intravenous administration in mice. *Pharmacol Rep* 65: 1033–1038.
- Xia D, Luob X, Ninga Q, Lud Q, Yaod K, Liud Z (2007) The detection of HBV DNA with gold nanoparticle gene probes. *J Nanjing Med Uni* 21: 207–212.

STUDY ON THE ORGAN DISTRIBUTION OF GOLD NANOPARTICLES SYNTHESIZED BY γ -IRRADIATION USING CARBOXYMETHYL CHITOSAN STABILIZER AFTER INTRAVENOUS ADMINISTRATION IN MICE

Do Thi Phuong Linh^{1,2}, Nguyen Trong Nghia³, Le Quang Luan³

¹*Institute of Malariology, Parasitology and Entomology in Ho Chi Minh City*

²*Nong Lam University, Ho Chi Minh City*

³*Biotechnology Center of Ho Chi Minh City*

SUMMARY

Gold nanoparticles (AuNPs) with an average particle size of about 7 nm and concentration of 1 mM were synthesized by gamma rays irradiation method using 0.5% carboxymethyl chitosan (CMC) as a stabilizer. The characteristics of AuNPs were verified using UV-vis spectrum and TEM (Transmission Electron Microscope) images. The synthesized AuNPs were intravenously injected into tail of mice with a dose of 1 mg AuNPs per mouse for investigation of the *in vivo* distribution of AuNPs at different times. The analytical results showed that there was no significant difference in the blood haematological and serum biochemical indexes between the mice administrated with AuNPs and the control group. The gold content in the samples determined by k_0 -neutron activation analysis (k_0 -NAA) method indicated that after injection 1 h, AuNPs were mainly accumulated in liver (64.92%), blood (31.33%) and a small amount in lungs (2.16%) and kidneys (1.60%). After 6 hrs post-injection, the content of AuNPs was almost not determined in the blood, but its accumulation was increased in livers with 88.85%, lungs with 8.55% and kidneys with 2.10%. After 12 hrs of intravenous administration, the content of AuNPs was found to be slightly reduced by 83.86% in liver, but it was almost unchanged in lungs and kidneys. The results obtained in this study clearly indicated the distribution and the retention time of AuNPs in the mice. The AuNPs synthesized by gamma rays irradiation may potentially be developed for application as an X-ray contrast agent in diagnosis and as antioxidant agent for liver protection.

Keywords: AuNPs, carboxymethyl chitosan, *in vivo* distribution, Gamma irradiation, UV-Vis, gold nanoparticles