



Original Article

Toxicity Assessment and *in vivo* Anticancer Efficacy of Artemisinin–aspirin Co-loaded Liposomes

Huong Ha Thi Thanh¹, Huan Le Quang¹, Dang Thi Ngan^{2,*}

¹*Hoa Binh University, No 8, Bui Xuan Phai, Tu Liem, Hanoi, Vietnam*

²*VNU University of Medicine and Pharmacy, 144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam*

Received 29th October 2025

Revised 27th March 2026; Accepted 27th May 2026

Abstract: This study focuses on the development of an artemisinin–aspirin co-loaded liposome system aimed at enhancing anticancer efficacy while minimizing systemic toxicity. The liposomes were prepared using the thin-film hydration method combined with ultrasonication, resulting in an average particle size of 120–150 nm, with a narrow size distribution and high stability during storage. Acute and subacute toxicity tests in albino mice demonstrated that the formulation is safe, showing no adverse effects on behavior, liver or kidney functions, or fundamental physiological indices. In experimental cancer models, tumor volume decreased by 10–20% compared to the control group after 15–20 days of treatment. Following 25 days, the reduction reached 70–90%, with some subjects showing near-complete tumor regression. The mechanism of action is hypothesized to involve iron-dependent cell death (ferroptosis), inhibition of angiogenesis, and modulation of inflammatory responses, collectively suppressing tumor growth and metastasis. These preclinical results suggest that artemisinin–aspirin co-loaded liposomes hold significant potential as a novel drug delivery system to enhance the effectiveness of cancer therapies.

Keywords: Artemisinin; aspirin; liposome; angiogenesis inhibitors; anticancer activity.

* Corresponding author.

E-mail address: dangngan240494@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4855>

Đánh giá độc tính và tác dụng chống ung thư *in vivo* của liposome đồng tải artemisinin–aspirin

Hà Thị Thanh Hương¹, Lê Quang Huân¹, Đặng Thị Ngân^{2,*}

¹Trường Đại học Hoà Bình, 8 Bùi Xuân Phái, Từ Liêm, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 29 tháng 10 năm 2025

Chỉnh sửa ngày 27 tháng 3 năm 2026; Chấp nhận đăng ngày

2026

Tóm tắt: Nghiên cứu phát triển hệ liposome đồng tải artemisinin – aspirin nhằm tăng hiệu quả chống ung thư và giảm độc tính toàn thân. Liposome được tạo bằng phương pháp hydrat hóa màng mỏng kết hợp siêu âm, cho kích thước hạt trung bình khoảng 120–150 nm, phân bố hẹp và ổn định trong thời gian bảo quản. Các thử nghiệm độc tính cấp và bán trường diễn trên chuột trắng cho thấy sản phẩm an toàn, không gây ảnh hưởng đến hành vi, chức năng gan – thận và các chỉ số sinh lý cơ bản. Trong mô hình ung thư thực nghiệm, sau 15-20 ngày điều trị, thể tích khối u giảm 10–20% so với nhóm đối chứng, và sau 25 ngày giảm 70–90%, thậm chí một số chuột thử nghiệm gần như tiêu biến hoàn toàn khối u. Cơ chế tác dụng được giả định liên quan đến chết tế bào phụ thuộc sắt (ferroptosis), ức chế tân sinh mạch (angiogenesis) và phản ứng viêm, góp phần ngăn chặn sự phát triển và lan rộng của khối u. Các kết quả tiền lâm sàng cho thấy liposome đồng tải artemisinin–aspirin thể hiện tiềm năng đáng kể như một hệ dẫn thuốc mới, có thể hỗ trợ nâng cao hiệu quả của các liệu pháp điều trị ung thư.

Từ khoá: Artemisinin, aspirin, liposome, ức chế hình thành mạch máu, điều trị ung thư

1. Mở đầu

Ung thư tiếp tục là một trong những nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên toàn cầu, với gánh nặng y tế và chi phí điều trị ngày càng gia tăng. Theo ước tính của WHO, năm 2024 có khoảng 20 triệu ca mắc mới và gần 10 triệu ca tử vong do ung thư trên toàn thế giới [1]. Một trong những thách thức lớn nhất của điều trị ung thư hiện nay là độc tính toàn thân của thuốc hóa trị và tính chọn lọc kém, dẫn đến hiệu quả điều trị hạn chế và gây nhiều tác dụng không mong muốn nghiêm trọng trên mô lành. Do đó, các hệ dẫn thuốc thông minh như liposome đang được quan tâm nghiên cứu nhờ khả năng cải thiện

được động học, tăng tích lũy thuốc chọn lọc tại mô khối u thông qua hiệu ứng thẩm và giữ tăng cường (enhanced permeability and retention – EPR), đồng thời giảm thiểu độc tính trên các cơ quan khỏe mạnh [2, 3].

Artemisinin, một lacton sesquiterpen có nguồn gốc từ cây Thanh hao (*Artemisia annua*), ngoài tác dụng chống sốt rét đã được công nhận, gần đây đã được chứng minh có tiềm năng gây chết tế bào ung thư thông qua nhiều cơ chế, đặc biệt là ferroptosis – một dạng chết tế bào lập trình phụ thuộc sắt, kèm theo tăng sinh gốc oxy tự do (ROS) và phá vỡ cân bằng sắt nội bào [4, 5]. Các nghiên cứu tiền lâm sàng cho thấy artemisinin có hiệu quả trên nhiều dòng tế bào ung thư bao gồm

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: dangngan240494@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4855>

ung thư phổi, vú, gan và đại trực tràng. Tuy nhiên, artemisinin có độ tan kém trong nước ($< 20 \mu\text{g/mL}$), tính ổn định thấp và thời gian bán thải ngắn trong huyết tương (khoảng 2–3 giờ), dẫn đến sinh khả dụng thấp và hạn chế hiệu quả điều trị khi sử dụng dạng hoạt chất tự do.

Aspirin (acetylsalicylic acid), ngoài vai trò truyền thống là thuốc kháng viêm – giảm đau, ngày càng được khẳng định có tác dụng hóa dự phòng và hỗ trợ điều trị ung thư thông qua ức chế cyclooxygenase-2 (COX-2), điều hòa miễn dịch, giảm viêm mạn tính tại vi môi trường khối u và ức chế tân sinh mạch [6, 7]. Nhiều nghiên cứu dịch tễ học quy mô lớn đã chỉ ra rằng sử dụng aspirin lâu dài làm giảm nguy cơ mắc và tử vong do ung thư đại trực tràng, và FDA đã công nhận aspirin trong chiến lược dự phòng ung thư đại – trực tràng ở nhóm nguy cơ cao.

Việc phối hợp artemisinin và aspirin được kỳ vọng tạo ra tác dụng hiệp đồng chống ung thư thông qua ba cơ chế chính: i) Kích hoạt ferroptosis và tăng stress oxy hóa bởi artemisinin; ii) Ức chế COX-2, giảm viêm và điều hòa đáp ứng miễn dịch tại vi môi trường khối u bởi aspirin; và iii) Ức chế tân sinh mạch đồng thời từ cả hai hoạt chất, làm giảm nguồn cung cấp dinh dưỡng cho khối u. Tuy nhiên, việc đồng tải hai hoạt chất này vào cùng một hệ dẫn thuốc gặp thách thức lớn do sự khác biệt rõ rệt về tính chất lý hóa (artemisinin kỵ nước mạnh, aspirin có tính acid yếu và độ tan hạn chế). Do đó, liposome – với cấu trúc lưỡng tính đặc trưng – trở thành ứng viên tối ưu nhờ khả năng nạp hoạt chất các phân tử có độ phân cực khác nhau, tăng cường ổn định hóa học và nâng cao phân bố chọn lọc tại mô ung thư.

Các nghiên cứu trước đây đã chứng minh rằng hệ liposome mang artemisinin hoặc aspirin đơn độc đều cải thiện được hiệu quả chống ung thư so với dạng thuốc tự do [8, 9]. Tuy nhiên, theo hiểu biết của chúng tôi thông qua tra cứu hệ thống trên PubMed, Web of Science và Scopus (đến tháng 12/2024), chưa có công trình nào báo cáo đầy đủ về việc phát triển, tối ưu hóa và đánh giá tiền lâm sàng hệ liposome đồng tải artemisinin–aspirin, đặc biệt là nghiên cứu tích

hợp từ đặc tính bào chế, độ an toàn sinh học đến hiệu quả điều trị trên mô hình ung thư *in vivo*.

Trong bối cảnh đó, hệ liposome đồng tải artemisinin–aspirin đã được bào chế thành công trong các nghiên cứu trước bằng phương pháp hydrat hóa màng mỏng kết hợp siêu âm, cho thấy kích thước hạt phù hợp, khả năng bao gói hiệu quả và độ ổn định chấp nhận được trong điều kiện bảo quản và môi trường sinh lý. Tuy nhiên, dữ liệu về độ an toàn và hiệu quả chống ung thư *in vivo* của hệ dẫn thuốc này vẫn còn hạn chế.

Do đó, nghiên cứu này được thực hiện với các mục tiêu cụ thể như sau: i) Đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn của hệ liposome đồng tải artemisinin–aspirin trên mô hình động vật thực nghiệm;

ii) Khảo sát hiệu quả chống ung thư *in vivo* của hệ liposome này trên mô hình chuột mang khối u, bao gồm ung thư đại tràng (HCT116) và ung thư gan (HepG2), thông qua các chỉ số như kích thước khối u, tỷ lệ sống và các thông số sinh hóa – mô bệnh học.

Kết quả thu được kỳ vọng cung cấp cơ sở khoa học cho việc ứng dụng hệ dẫn thuốc liposome artemisinin–aspirin trong hỗ trợ điều trị ung thư, góp phần nâng cao hiệu quả điều trị và giảm thiểu độc tính toàn thân.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu, dung môi, hóa chất

Artemisinin ($\geq 98\%$, Sigma-Aldrich, Đức); aspirin (acid acetylsalicylic, $\geq 99\%$, Merck, Đức). Phosphatidyl choline (PC, L- α -lecithin từ đậu nành, $\geq 95\%$), cholesterol ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich), dung môi ethanol tuyệt đối (Merck), dung dịch đệm phosphate (PBS, pH 7.4). Dòng tế bào ung thư đại tràng (HCT116), dòng tế bào ung thư gan (HepG2), môi trường DMEM, huyết thanh FBS 10%, penicillin–streptomycin (100 U/mL), trypsin-EDTA (Gibco). Methanol, chloroform, dimethyl sulfoxide (DMSO, $\geq 99.9\%$), thuốc nhuộm MTT, DCFH-DA (phát hiện ROS), và các thuốc thử khác đạt cấp phân tích. Chuột nhắt trắng (BALB/c, 6–8 tuần tuổi, 20–25 g), được cung cấp bởi Trung tâm nghiên

cứ động vật thí nghiệm, nuôi trong điều kiện chuẩn (25 ± 2 °C, 12 h sáng/tối, thức ăn và nước uống tự do).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bào chế liposome

Hệ liposome được bào chế bằng phương pháp hydrat hóa màng mỏng (thin film hydration), cụ thể như sau:

- Cân chính xác phosphatidylcholine và cholesterol theo tỷ lệ mol 7:3, hòa tan hoàn toàn trong hỗn hợp dung môi ethanol-chloroform (tỷ lệ thể tích 2:1).

- Thêm artemisinin và aspirin vào dung dịch lipid với tỷ lệ khối lượng tổng lipid : tổng hoạt chất = 15 : 1 (khối lượng/khối lượng). Trong đó, tỷ lệ khối lượng giữa hai hoạt chất artemisinin : aspirin = 1 : 1 (có thể điều chỉnh theo mục tiêu nghiên cứu nếu cần nêu rõ).

- Loại bỏ dung môi bằng phương pháp bay hơi dưới áp suất giảm (sử dụng thiết bị cô quay chân không) ở nhiệt độ 40 °C, áp suất khoảng 100–150 mbar, cho đến khi hình thành lớp màng lipid mỏng, đồng nhất trên thành bình cầu.

- Hydrat hóa màng lipid bằng dung dịch đệm phosphate (PBS, pH 7,4) ở 45 °C, kết hợp lắc nhẹ để tạo hệ phân tán ban đầu.

- Hệ sau hydrat hóa được siêu âm bằng đầu dò (probe sonicator) trong 5 phút (công suất 100 W, chu kỳ 5 giây hoạt động/5 giây nghỉ) nhằm giảm kích thước tiểu phân và tạo hệ huyền phù liposome kích thước nano (dạng phân tán keo trong nước).

- Huyền phù liposome sau siêu âm được lọc qua màng lọc kích thước lỗ 0,22 μ m nhằm loại bỏ các tiểu phân có kích thước lớn và tạp cơ học, sau đó được bảo quản ở 4 °C cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2.2. Xác định kích thước và điện thế zeta

Kích thước trung bình, hệ số đa phân tán (PDI) và điện thế zeta của hệ liposome được xác định bằng phương pháp tán xạ ánh sáng động (Dynamic Light Scattering, DLS) và tán xạ ánh sáng điện di (Electrophoretic Light Scattering), sử dụng thiết bị Zetasizer (Malvern Instruments, UK). Mẫu liposome được pha loãng với dung

dịch PBS pH 7.4 đến nồng độ thích hợp để đảm bảo cường độ tán xạ trong vùng đo tối ưu. Các phép đo được tiến hành ở 25 °C, mỗi mẫu được đo ba lần độc lập, mỗi lần gồm tối thiểu 10 lần ghi nhận liên tiếp. Kích thước trung bình (Z-average), PDI và điện thế zeta được trích xuất trực tiếp từ phần mềm phân tích của thiết bị.

2.2.3. Quan sát hình thái liposome

Hình thái liposome được quan sát bằng kính hiển vi quang học có kết nối camera NiKon (Nhật Bản). Mẫu liposome được pha loãng với dung dịch PBS pH 7.4 đến nồng độ thích hợp để đảm bảo các tiểu phân phân tán đều, dễ quan sát hình thái. Dùng micropipette lấy khoảng 10 – 20 μ L mẫu phân tích nhỏ vào chính giữa lam kính. Đặt một cạnh của lamen tiếp xúc với mép giọt mẫu phân tích ở góc khoảng 45°. Hạ từ từ lamen xuống để tránh tạo bọt khí, quan sát dưới vật kính 100 \times (oil immersion) và thị kính 10 \times . Hình ảnh được ghi nhận bằng camera tích hợp và xử lý bằng phần mềm đi kèm NIS-Elements.

2.2.4. Đánh giá độc tính hệ liposome chứa artemisinin và aspirin

Để đánh giá hiệu quả gây độc tế bào của mẫu nghiên cứu, các mẫu liposome chứa artemisinin và aspirin được thử nghiệm trên hai dòng tế bào ung thư là HCT116 (đại tràng) và HepG2 (gan) bằng phép thử MTT. Nguyên lý của thử nghiệm MTT dựa trên khả năng của các enzyme reductasetrong ty thể (mitochondria) của tế bào sống để khử muối tetrazolium 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) thành tinh thể formazan có màu tím. Tinh thể formazan này tích lũy bên trong tế bào. Các tinh thể formazan được hoà tan trong DMSO. Độ hấp thụ quang (absorbance) của dung dịch được đo bằng máy quang phổ (spectrophotometer) tại bước sóng 570 nm. Độ hấp thụ quang tỷ lệ thuận với số lượng tế bào sống trong mẫu.

2.2.5. Xác định độc tính cấp và bán trường diễn

Thử nghiệm độc tính cấp được tiến hành nhằm đánh giá độ an toàn ban đầu của mẫu nghiên cứu trên chuột nhắt trắng (Mus musculus). Chuột được tiêm dưới da mẫu nghiên

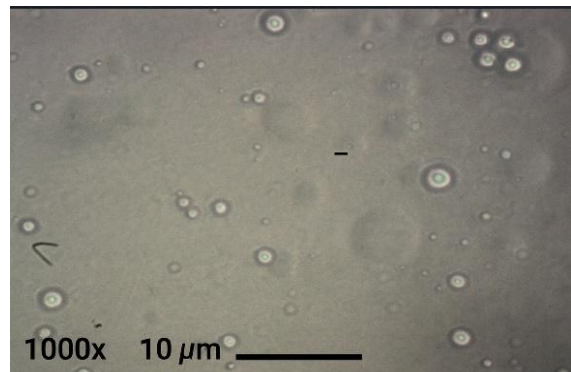
cứu với các liều tăng dần (từ 10 mg/kg đến 100 mg/kg thể trọng) để xác định liều tối đa dung nạp (MTD). Các cá thể được theo dõi liên tục trong 14 ngày nhằm ghi nhận các thay đổi về hành vi, thể trạng, ăn uống, cân nặng và tỷ lệ tử vong.

Thử nghiệm độc tính bán trường diễn được tiến hành trên chuột nhắt trắng (*Mus musculus*) có khối lượng trung bình 18–20 g, chia thành 10 lô, mỗi lô gồm 10 con. Chuột được tiêm dưới da mẫu nghiên cứu với hai mức liều tính theo khối lượng cơ thể: liều thấp 5 mg hoạt chất/kg/ngày và liều cao 10 mg hoạt chất/kg/ngày. Mẫu nghiên cứu được pha ở nồng độ 1 mg/mL (tổng hoạt chất) nhằm đảm bảo thể tích tiêm phù hợp. Với nồng độ này, thể tích tiêm trung bình tương ứng cho chuột 20 g là 0,1 mL/chuột/ngày (liều thấp) và 0,2 mL/chuột/ngày (liều cao). Nhóm đối chứng được tiêm dưới da nước cất vô trùng với thể tích tương đương. Tiêm được thực hiện liên tục trong 28 ngày. Trong suốt quá trình thử nghiệm, các chỉ tiêu về thể trạng, hành vi, cân nặng, cùng các xét nghiệm sinh hóa huyết thanh và mô học gan – thận được theo dõi định kỳ nhằm đánh giá độc tính bán trường diễn của mẫu nghiên cứu.

3. Kết quả nghiên cứu

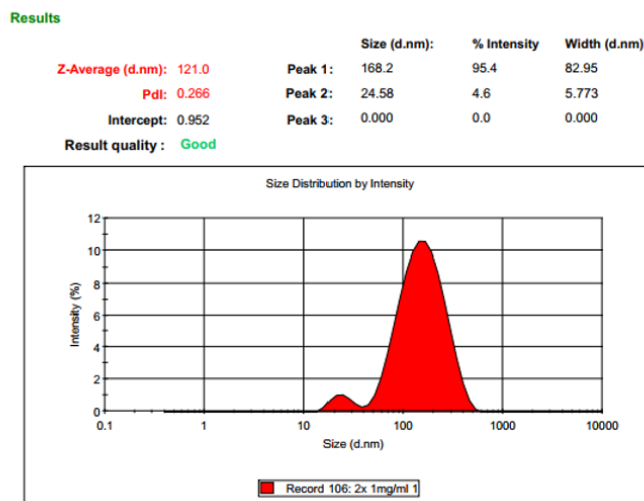
3.1. Xác định kích thước liposome

Cấu trúc liposome được quan sát có dạng hình cầu, màng kép rõ ràng, kích thước trung bình dưới 200 nm, phân bố đồng đều, ổn định trong dung dịch (Hình 1). Sự kết hợp giữa hai hoạt chất mang đặc tính dược học đa dạng trong cùng hệ liposome giúp tăng độ tan, kéo dài thời gian lưu hành, tăng khả năng thâm qua mô khối u và hiệp đồng tác dụng chống ung thư.



Hình 1. Ảnh chụp mẫu liposome chứa artemisinin và aspirin bằng kính hiển vi.

Kết quả xác định kích thước hạt liposome artemisinin–aspirin (Hình 2).



Hình 2. Phân bố kích thước hạt liposome artemisinin–aspirin được xác định bằng DLS.

Phân bố kích thước của hệ liposome được phân tích bằng phương pháp tán xạ ánh sáng

động (DLS). Kết quả cho thấy Z-average khoảng 121 nm với hệ số đa phân tán (PDI) là 0,266, cho

thấy tính đồng nhất tương đối tốt. Phổ cường độ ghi nhận hai đỉnh: đỉnh chính tại ~168 nm chiếm 95,4% cường độ, phản ánh quần thể liposome chủ đạo; đỉnh thứ hai nhỏ tại ~24,6 nm chiếm 4,6% cường độ, có thể là các cấu trúc micelle hoặc phân tử phospholipid chưa tự lắp ráp hoàn toàn.

Hiệu suất nạp (encapsulation efficiency, EE%) của các hoạt chất trong hệ liposome được đánh giá gián tiếp thông qua phương pháp tách pha kết hợp định lượng bằng quang phổ UV-Vis. Kết quả cho thấy hệ liposome đạt hiệu suất nạp cao đối với cả hai hoạt chất, trong đó EE% của artemisinin đạt $84,6 \pm 2,3\%$ và của aspirin đạt $82,1 \pm 1,8\%$.

Hàm lượng hoạt chất trong liposome (drug loading, DL%) tương ứng đạt $7,8 \pm 0,5\%$ (w/w) đối với artemisinin và $6,9 \pm 0,4\%$ (w/w) đối với aspirin. Kết quả này cho thấy khả năng mang tải hiệu quả của hệ liposome, phù hợp với đặc tính lưỡng cực của màng phospholipid, cho phép đồng thời bao gói các hoạt chất có độ phân cực khác nhau.

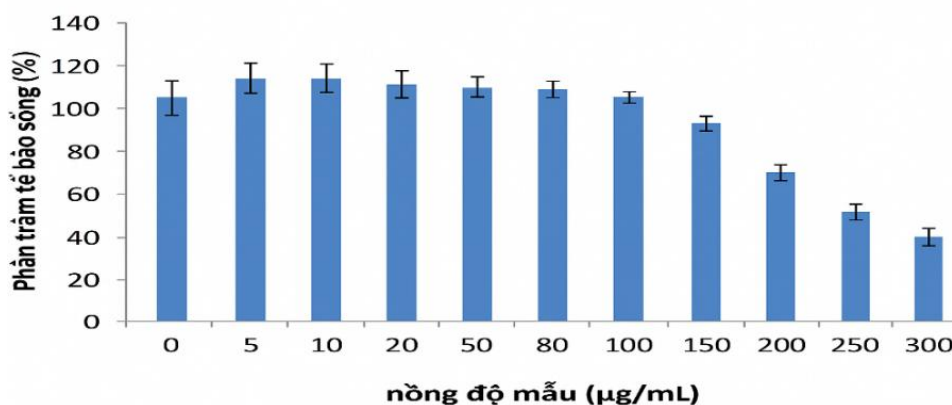
Hiệu suất nạp cao (>80%) cùng với phân bố kích thước nano đồng đều (<200 nm) góp phần

tăng tính ổn định của hệ, hạn chế giải phóng sớm hoạt chất và tạo tiền đề cho khả năng kéo dài thời gian lưu hành cũng như tăng tích lũy thụ động tại mô khối u thông qua hiệu ứng tăng tính thấm và giữ lại (EPR).

Các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần độc lập và cho kết quả tương đối đồng nhất.

3.2. Xác định độc tính hệ liposome chứa artemisinin và aspirin

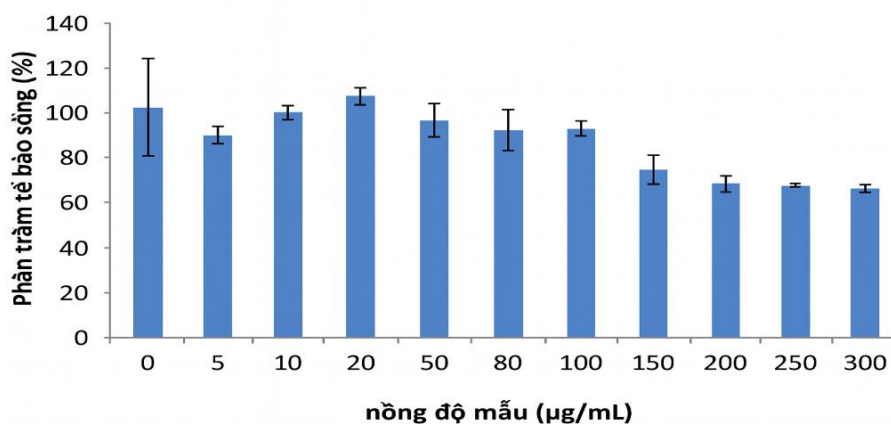
Để đánh giá hiệu quả gây độc tế bào của mẫu nghiên cứu, các mẫu liposome chứa artemisinin và aspirin được thử nghiệm trên hai dòng tế bào ung thư là HCT116 (đại tràng) và HepG2 (gan) bằng phép thử MTT. Dải nồng độ hoạt chất khảo sát từ 0 đến 300 $\mu\text{g/mL}$ (cụ thể: 0, 5, 10, 20, 50, 80, 100, 150, 200, 250, 300 $\mu\text{g/mL}$). Các thí nghiệm được thực hiện 3 lần độc lập (n=3). Kết quả định lượng được biểu diễn dưới dạng biểu đồ liều – đáp ứng, cho thấy mối tương quan giữa nồng độ hoạt chất và tỷ lệ sống sót của tế bào.



Hình 3. Ảnh hưởng của mẫu nghiên cứu lên khả năng sống sót của tế bào ung thư đại tràng HCT116 trong thí nghiệm MTT.

Biểu đồ cho thấy ở nồng độ thấp (0–50 $\mu\text{g/mL}$), tỷ lệ sống sót duy trì ~100%, cho thấy mẫu nghiên cứu chưa gây độc tế bào đáng kể. Khi nồng độ hoạt chất tăng lên 50–100 $\mu\text{g/mL}$, tỷ lệ sống giảm nhẹ xuống ~90%, đánh dấu giai đoạn khởi đầu của tác dụng độc tế bào. Trong khoảng 100–300 $\mu\text{g/mL}$, tỷ lệ sống giảm dần từ

~90% xuống 50%, hình thành đường cong sigmoid điển hình với sai số lặp lại thấp. Giá trị IC_{50} mẫu nghiên cứu ước tính khoảng 200–220 $\mu\text{g/mL}$, phản ánh hoạt tính chống ung thư trung bình trên dòng tế bào HCT116, nằm trong khoảng IC_{50} (10–300 $\mu\text{g/mL}$).



Hình 4. Ảnh hưởng của mẫu nghiên cứu lên khả năng sống sót của tế bào ung thư gan HepG2 trong thí nghiệm MTT.

Biểu đồ Hình 4 cho thấy mẫu nghiên cứu có IC_{50} khoảng 200–220 µg/mL trên tế bào ung thư đại tràng HCT116 (tỷ lệ sống còn ~50% ở 300 µg/mL), trong khi trên tế bào ung thư gan HepG2, tỷ lệ sống vẫn đạt ~70% ở cùng nồng độ hoạt chất, tương ứng $IC_{50} > 300$ µg/mL. Điều này chứng tỏ Artemisinin thể hiện hoạt tính chống ung thư chọn lọc, hiệu quả cao hơn trên HCT116 khoảng 1,5–2 lần so với HepG2. Sự khác biệt này có thể do HCT116 chứa hàm lượng sắt nội bào cao hơn, mức biểu hiện GPx4 thấp hơn và nhạy cảm hơn với stress oxy hóa, phù hợp với cơ chế gây độc phụ thuộc sắt và ROS đặc trưng của Artemisinin.

3.3. Xác định độc tính cấp và bán trường diễn

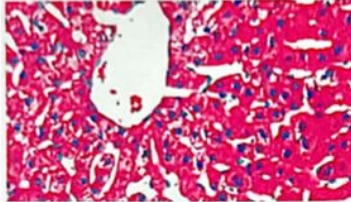
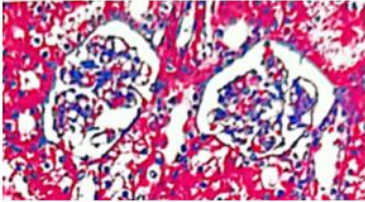
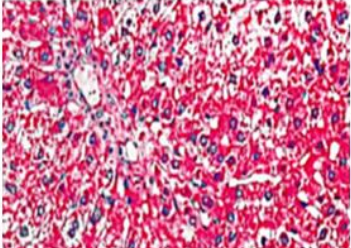
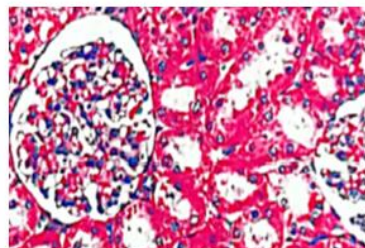
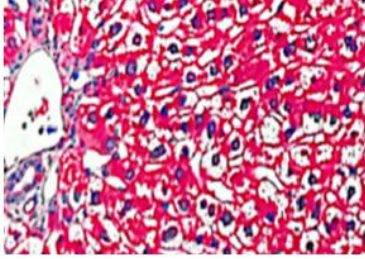
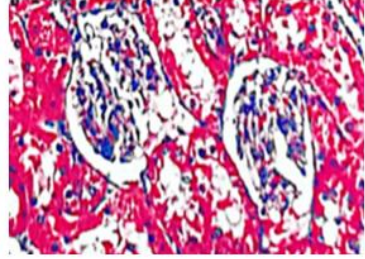
Kết quả cho thấy mẫu nghiên cứu có độc tính cấp thấp, không ghi nhận tử vong hoặc biểu hiện bất thường rõ rệt ở liều cao nhất đã thử (100 mg/kg). Chuột duy trì hoạt động và tăng cân bình thường trong suốt thời gian theo dõi. Căn cứ vào kết quả này, liều 5 mg/kg và 10 mg/kg được lựa chọn làm liều thử nghiệm cho nghiên cứu độc tính bán trường diễn.

Kết quả theo dõi thể trạng và tình trạng chung của chuột trước, trong và sau khi thử

nghiệm cho thấy: các cá thể đều khỏe mạnh, không ghi nhận biểu hiện bất thường, không có hiện tượng chết hoặc thay đổi hành vi, ăn uống, cân nặng. Điều này chứng tỏ mẫu nghiên cứu không gây độc tính cấp và độc tính bán trường diễn ở liều đã sử dụng. Sau khi kết thúc giai đoạn thử nghiệm độc tính bán trường diễn, tiến hành lấy mẫu mô gan và mô thận của thỏ để kiểm tra biến đổi mô học. Các tiêu bản được nhuộm H&E và quan sát dưới kính hiển vi. Hình 4 thể hiện hình thái mô gan và mô thận của các nhóm thí nghiệm.

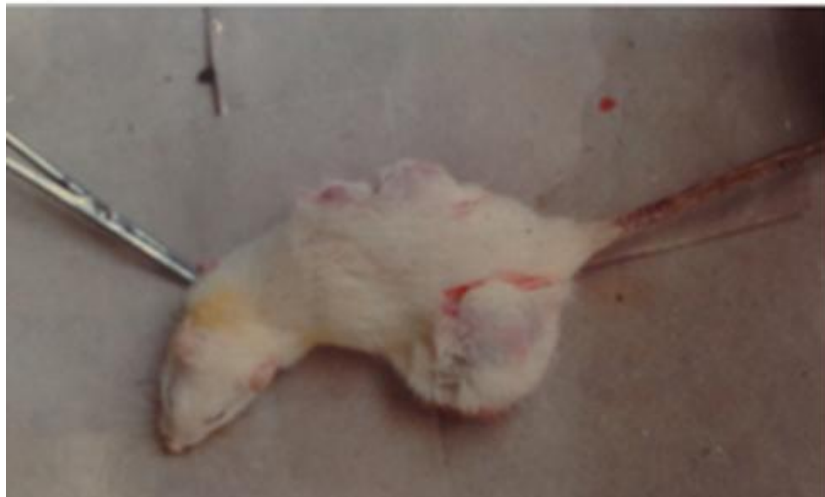
Kết quả trên Hình 5 cho thấy, cấu trúc mô gan ở cả ba nhóm đều bình thường, các tế bào gan được sắp xếp thành dãy tỏa tia quanh tĩnh mạch trung tâm, không xuất hiện các dấu hiệu hoại tử, thoái hóa hạt, thâm nhiễm tế bào viêm hay sung huyết. Điều này cho thấy mẫu nghiên cứu không gây tổn thương mô học ở gan sau thời gian thử nghiệm.

Đối với mô thận, cấu trúc cầu thận và ống thận của thỏ ở tất cả các nhóm đều nguyên vẹn, không biến dạng, không quan sát thấy hiện tượng phù, viêm, hoại tử hay xơ hóa. Khoảng gian mạch và ống thận không giãn, không xuất huyết hoặc thâm nhiễm tế bào viêm. Kết quả này chứng tỏ mẫu nghiên cứu không gây độc tính trên thận trong quá trình thử nghiệm bán trường diễn.

| | Hình ảnh mô gan | Hình ảnh mô thận |
|--------------|--|---|
| Lô đối chứng |  |  |
| Liều thứ 1 |  |  |
| Liều thứ 2 |  |  |

Hình 5. Hình ảnh mô gan và mô thận của thỏ sau thử nghiệm độc tính bán trường diễn.

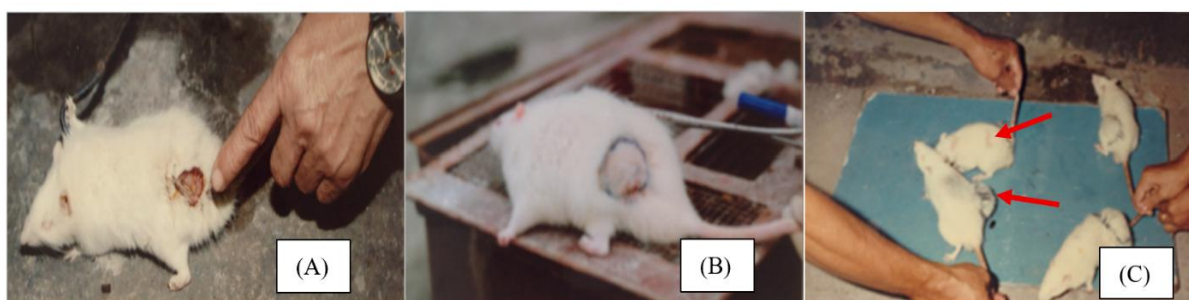
3.4. Kết quả khả năng suy giảm khối u thực nghiệm



Hình 6. Ảnh chụp khối u đã tạo trên chuột thí nghiệm.

Tạo khối u thực nghiệm: chuột dòng Swiss (4–6 con/lô) được tiêm dưới da 1 mL dung dịch methylcholanthrene pha trong dầu ôliu (nồng độ 0,1 mg/mL) để gây tạo khối u thực nghiệm. Sau một thời gian theo dõi, các khối u phát triển rõ rệt tại vị trí tiêm. Sinh thiết mô khối u và nhuộm Hematoxylin cho thấy sự hiện diện của các tế bào nhân to, nhân quái, nhân chia – đặc trưng của tế bào ung thư, khẳng định mô hình gây u thành công (Hình 6).

Kết quả xác định tác dụng tiêu u của mẫu nghiên cứu: các chuột mang khối u được tiêm trực tiếp vào khối u hoặc tiêm tĩnh mạch 1 mL mẫu nghiên cứu (được bào chế từ L- α -phosphatidylcholine và cholesterol có nguồn gốc từ lòng đỏ trứng gà). Sau tiêm, khối u được theo dõi định kỳ về kích thước, hình dạng và tốc độ tiêu biến. Kết quả ghi nhận sự thu nhỏ rõ rệt và tiêu biến hoàn toàn của khối u sau một thời gian điều trị, trong khi ở nhóm đối chứng, khối u vẫn phát triển liên tục (Hình 7).



Hình 7. Ảnh chụp sự tiêu u khi sử dụng mẫu nghiên cứu: Sau 15 ngày (A), sau 20 ngày (B) và khối u gần như tan biến sau 25 ngày (C).

Chú giải: Khối u ở giai đoạn tăng trưởng ban đầu sau khi gây ung thư. Hình (A) sau 15 ngày tiêm mẫu nghiên cứu bắt đầu tác dụng khối u giảm nhẹ khoảng 10-20% so với đối chứng. Hình (B) cho thấy sự tiến bộ rõ: mẫu nghiên cứu ức chế sự tăng sinh, dẫn đến giảm kích thước và giảm mạch máu nuôi dưỡng (angiogenesis inhibition). Hình (C), so sánh trực quan: Đối chứng có khối u phát triển mạnh (~200-300% kích thước ban đầu), trong khi nhóm tiêm giảm ~70-90% hoặc gần như biến mất (vùng được thể hiện bằng mũi tên đỏ nhấn mạnh hiệu quả chống ung thư: mẫu nghiên cứu làm chậm tăng trưởng, giảm thể tích khối u, và cải thiện tình trạng tổng quát của chuột).

Như vậy, mẫu nghiên cứu thể hiện tác dụng ức chế sự phát triển và làm tiêu biến khối u rõ rệt so với nhóm đối chứng, chứng minh hiệu quả chống ung thư mạnh trên mô hình chuột trắng. Cơ chế tác dụng có thể liên quan đến quá trình ferroptosis và giảm phản ứng viêm, với hiệu quả được ghi nhận tăng dần theo thời gian.

4. Bàn luận

Kết quả nghiên cứu đã khẳng định tiềm năng ứng dụng của liposome chứa artemisinin và aspirin như một hệ dẫn thuốc hướng đích trong điều trị ung thư, nhờ các ưu điểm nổi bật về độ ổn định, tính chọn lọc và hiệu quả sinh học.

Dữ liệu DLS (Hình 2) cho thấy hệ liposome đạt kích thước trung bình Z-average 121 nm – nằm trong phạm vi tối ưu cho cơ chế thẩm và lưu giữ tăng cường (EPR). Giá trị PDI = 0,266 phản ánh độ đồng nhất kích thước tốt. Phân bố theo cường độ cho thấy quần thể hạt chính khoảng 168 nm chiếm 95,4%, trong khi đỉnh phụ 24,6 nm (4,6%) có thể liên quan đến tàn dư phospholipid hoặc các cấu trúc nano nhỏ còn sót lại trong quá trình tạo liposome. Nhìn chung, kích thước trong khoảng 100–200 nm và PDI thấp khẳng định tính ổn định keo và khả năng phân bố sinh học thuận lợi của hệ liposome – phù hợp với các báo cáo cho rằng liposome <200 nm cho hiệu quả tích lũy khối u cao hơn [10].

Việc phối hợp artemisinin và aspirin trong cùng hệ liposome có ý nghĩa quan trọng vì giúp cải thiện tính ổn định của chế phẩm, đồng thời tạo hiệu ứng hiệp đồng trong chống ung thư. Artemisinin kích hoạt ferroptosis thông qua phân hủy cầu endoperoxide phụ thuộc sắt, tạo ROS và ức chế GPx4; trong khi aspirin ức chế viêm và tân sinh mạch – hai yếu tố quan trọng thúc đẩy tiến triển khối u. Sự phối hợp này phù hợp với nghiên cứu của Nikolova et al., vốn cho thấy liposome chứa artemisinin tăng tính chọn lọc với tế bào ung thư [11], và các báo cáo của Chen et al. chỉ ra rằng kết hợp artemisinin với tác nhân chống viêm có thể tăng cường hiệu quả thông qua điều hòa vi môi trường khối u [4, 12].

Kết quả độc tính tế bào *in vitro* cho thấy mẫu liposome thể hiện tính chọn lọc nhất định, với IC_{50} khoảng 200–220 $\mu\text{g/mL}$ trên dòng HCT116 (ung thư đại tràng) và cao hơn trên HepG2 (ung thư gan). Khả năng nhạy cảm cao hơn của HCT116 có thể liên quan đến nồng độ sắt nội bào lớn hơn, khiến tế bào dễ bị ferroptosis hơn – phù hợp với mô tả của Efferth & Kaina về vai trò của artemisinin trong phân hủy endoperoxide, ức chế GPx4 và tích lũy lipid peroxide [5]. Tuy nhiên, mức IC_{50} trung bình cho thấy cần tối ưu hóa thêm công thức, ví dụ phát triển liposome nhạy pH, liposome gắn ligand hướng đích hoặc tăng khả năng tải thuốc nhằm giảm liều cần thiết và tăng hiệu quả.

Đối với độc tính *in vivo*, mẫu nghiên cứu cho thấy mức độ an toàn cao: không phát hiện tổn thương mô học gan – thận sau 28 ngày dùng thuốc. Điều này phù hợp với Gordi & Lepist, khi artemisinin đường uống có độ an toàn tốt nhưng có thể gây độc tính thần kinh nếu dùng liều cao đường tiêm [13]. Việc đóng gói trong liposome giúp giảm nồng độ thuốc tự do trong tuần hoàn, kéo dài thời gian lưu hành và hạn chế độc tính – tương đồng với các nghiên cứu trước đây về artemisinin dạng liposome [10].

Hiệu quả ức chế khối u trên mô hình chuột Swiss gây u bằng methylcholanthrene đặc biệt ấn tượng, với sự tiêu biến gần hoàn toàn khối u sau 25 ngày điều trị, trong khi nhóm đối chứng khối u phát triển mạnh. Kết quả này phù hợp với các báo cáo cho thấy liposome artemisinin có thể

giảm thể tích khối u 80–90% trong mô hình ung thư thực nghiệm [14]. Cơ chế có thể liên quan đến tương tác kép: artemisinin kích hoạt ferroptosis, aspirin ức chế viêm – angiogenesis, từ đó hạn chế nuôi dưỡng khối u. Tuy nhiên, mô hình methylcholanthrene chỉ phản ánh một số khía cạnh của sinh ung thư, do đó cần đánh giá thêm trên mô hình xenograft hoặc PDX để dự đoán tốt hơn tính khả thi lâm sàng [15].

Tổng thể, các kết quả cho thấy liposome chứa artemisinin – aspirin là hệ dẫn thuốc đầy triển vọng, vừa tăng hiệu quả điều trị ung thư, vừa giảm độc tính hệ thống. Các nghiên cứu tương lai nên tập trung vào phân tích dược động học, cơ chế tương tác nội bào, mở rộng thử nghiệm trên mô hình người và tối ưu hóa các biến thể liposome PEGyl hóa hoặc gắn ligand hướng đích. Điều này mở ra hướng phát triển nền tảng nano sử dụng artemisinin – aspirin trong điều trị các ung thư rắn, đặc biệt là ung thư đại tràng và gan [16].

5. Kết luận

Nghiên cứu khẳng định hệ liposome đồng tải artemisinin–aspirin đạt độ an toàn sinh học cao khi không gây độc tính cấp và bán trường diễn, đồng thời bảo tồn nguyên vẹn cấu trúc mô học gan, thận trên động vật thực nghiệm. Về hiệu quả điều trị, hệ liposome thể hiện khả năng ức chế khối u vượt trội trên mô hình *in vivo* với thể tích khối u giảm mạnh từ 70–90% sau 25 ngày điều trị. Kết quả này bước đầu chứng minh sự hiệp đồng hiệu quả giữa cơ chế gây chết tế bào phụ thuộc sắt, ức chế tân sinh mạch, và phản ứng viêm góp phần ngăn chặn sự phát triển và lan rộng của khối u trên chuột. Những kết quả này cho thấy tiềm năng ứng dụng của hệ liposome như một nền tảng dẫn thuốc trong điều trị ung thư, tuy nhiên cần tiếp tục nghiên cứu để tối ưu hóa và đánh giá sâu hơn về tính khả thi lâm sàng.

Tài liệu tham khảo

- [1] R. L. Siegel, T. B. Kratzer, A. N. Giaquinto, H. Sung, A. Jemal, Cancer statistics, 2025, CA Cancer

- J Clin, Vol. 75, No. 1, 2025,
<https://doi.org/10.3322/caac.21871>.
- [2] T. M. Allen, P. R. Cullis, Liposomal Drug Delivery Systems: from Concept to Clinical Applications, *Advanced Drug Delivery Reviews*, Vol. 65, No. 1, 2013, pp. 36-48,
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.037>.
- [3] Y. Barenholz, Doxil- The first FDA Approved Nano Drug: Lessons Learned, *J Control Release*, Vol. 160, No. 2, 2012, pp. 117-34,
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.03.020>.
- [4] G. Q. Chen, F. A. Benthani, J. Wu, D. Liang, Z. X. Bian, X. Jiang, Artemisinin Compounds Sensitize Cancer Cells to Ferroptosis by Regulating Iron Homeostasis, *Cell Death Differ*, Vol. 27, No. 1, 2020, pp. 242-254,
<https://doi.org/10.1038/s41418-019-0352-3>.
- [5] T. Efferth, B. Kaina, Toxicity of the Antimalarial Artemisinin and its Derivatives, *Crit Rev Toxicol*, Vol. 40, No. 5, 2010, pp. 405-421,
<https://doi.org/10.3109/10408441003610571>.
- [6] C. A. Pope, R. T. Burnett, M. J. Thun, E. E. Calle, D. Krewski, K. Ito, G. D. Thurston, Lung Cancer, Cardiopulmonary Mortality, and Long-Term Exposure to Fine Particulate Air Pollution, *Jama*, Vol. 287, No. 9, 2002, pp. 1132-41,
<https://doi.org/10.1001/jama.287.9.1132>.
- [7] L. A. G. Rodríguez, M. M. Pérez, P. Vora et al, Appropriateness of Initial Dose of Non-Vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants in Patients with Non-valvular Atrial Fibrillation in the UK, *BMJ Open*, Vol. 9, No. 10, 2019,
<https://doi.org/10.1136/bmjopen-2019-031341>.
- [8] U. E. Laila, Z. L. Zhao, H. Liu, Z. X. Xu, Aspirin in Cancer Therapy: Pharmacology and Nanotechnology Advances, *Int J Nanomedicine*, Vol. 20, 2025, pp. 2327-2365,
<https://doi.org/10.2147/ijn.s505636>.
- [9] R. Zhang, M. R. Slilic, A. Schaber, O. Wasel, J. L. Freeman, M. S. Sepulveda, The Impact of Artificial Intelligence and Blockchain on the Accounting Profession, *IEEE Access*, Vol. 8, 2020, pp. 110461-110477,
<https://doi.org/10.1109/ACCESS.2020.3000505>.
- [10] Y. Augustin, H. M. Staines, S. Krishna, Artemisinins as a Novel Anti-cancer Therapy: Targeting A Global Cancer Pandemic Through Drug Repurposing, *Pharmacol Ther*, Vol. 216, 2020, pp. 107706,
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107706>.
- [11] M. P. Nikolova, E. M. Kumar, M. S. Chavali, Updates on Responsive Drug Delivery Based on Liposome Vehicles for Cancer Treatment, *Pharmaceutics*, Vol. 14, No. 10, 2022, pp. 2195,
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14102195>.
- [12] H. Chen, Q. Qi, N. Wu, Y. Wang, Q. Feng, R. Jin, L. Jiang, Aspirin Promotes RSL3-induced Ferroptosis by Suppressing mTOR/SREBP, 1/SCD1-Mediated Lipogenesis in PIK3CA-Mutant Colorectal Cancer, *Redox Biol*, Vol. 55, 2022, pp. 102426,
<https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102426>.
- [13] T. Gordi, E. I. Lepist, Artemisinin Derivatives: Toxic for Laboratory Animals, Safe for Humans?, *Toxicol Lett*, Vol 147, No 2, 2004, pp. 99-107,
<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2003.12.009>.
- [14] W. Liu, D. Qiao, J. Chen, Y. Gao, K. Okuda, Y. Shimada, L. Yao, Aspirin Impedes Non-small Cell Lung Cancer Development Via Fine-tuning the CD36 Localization Regulated by GPIHBP1, *Transl Lung Cancer Res*, Vol. 14, No. 2, 2025 pp. 491-512,
<https://doi.org/10.21037/tlcr-2024-1174>.
- [15] D. Cui, C. Zhang, L. Zhang, Natural Anti-cancer Products: Insights from Herbal Medicine, *Chinese Medicine*, Vol. 20, 2025, pp. 82,
<https://doi.org/10.1186/s13020-025-01124-y>.
- [16] C. Xu, H. Zhang, L. Mu, X. Yang, Artemisinins as Anticancer Drugs: Novel Therapeutic Approaches, Molecular Mechanisms, and Clinical Trials, *Front, Pharmacol*, Vol. 11, 2020, pp. 529881,
<https://doi.org/10.3389/fphar.2020.529881>.