

# TÍNH TAN VÀ ĐỘC TÍNH TẾ BÀO CỦA SORAFENIB HYDROCHLORIDE VÀ REGORAFENIB HYDROCHLORIDE

## SOLUBILITY AND CYTOTOXICITY OF SORAFENIB HYDROCHLORIDE AND REGORAFENIB HYDROCHLORIDE

Phan Chi Uyên<sup>1\*</sup>, Nguyễn Thị Việt Hà<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật - Đại học Đà Nẵng

<sup>2</sup>Khoa Y-Dược - Đại học Đà Nẵng

\*Tác giả liên hệ: pcuyen@ute.udn.vn

(Nhận bài: 16/8/2021; Chấp nhận đăng: 25/11/2021)

**Tóm tắt** - Trong một nghiên cứu gần đây, sorafenib hydrochloride (Sor.HCl) và regorafenib hydrochloride (Reg.HCl) là hai muối hydrochloride của sorafenib (Sor) và Regorafenib (Reg) được tổng hợp với mục đích nâng cao tính tan của thuốc tự do, tuy nhiên độ tan của chúng mới chỉ được khảo sát trong môi trường nước. Vì vậy, trong nghiên cứu này, để khảo sát hoàn chỉnh hơn tính tan (gồm độ tan và tốc độ hòa tan) của Sor.HCl và Reg.HCl, tính tan của chúng được xác định trong môi trường mô phỏng dịch dạ dày pH 1,2 và dịch ruột non pH 6,8, sau đó so sánh với tính tan của Sor và Reg tự do. Ngoài ra, độc tính tế bào của hai loại muối này đối với dòng tế bào gây ung thư đại trực tràng CT-26 cũng được đánh giá. Kết quả cho thấy độ tan cũng như tốc độ hòa tan của hai muối được cải thiện đáng kể so với thuốc dạng tự do trong tất cả ba môi trường. Độc tính của các muối đối với tế bào gây ung thư cũng đã tăng lên khi so với thuốc ở dạng tự do.

**Từ khóa** - Sorafenib; Regorafenib; độ tan; tốc độ hòa tan; độ độc tính tế bào

### 1. Đặt vấn đề

Tính tan kém là một trong những vấn đề khó khăn lớn nhất trong việc phát triển dược phẩm. Trên thực tế, khoảng 40% các thành phần dược phẩm hoạt tính (API) được phê duyệt và 70-90% API tiềm năng có độ tan thấp trong nước [1]. Do đó, cải thiện tính tan của thuốc ít tan, gồm độ tan và tốc độ hòa tan, là rất quan trọng để phát huy hiệu quả chữa trị và tăng sinh khả dụng [2]. Nhiều phương pháp đã được sử dụng để tăng tính tan của một chất, trong đó có phương pháp tạo muối hoặc tạo cộng tinh (co-crystal). Một trong những lợi ích của hai phương pháp này là các tính chất dược lý nội tại của thuốc không bị thay đổi [3]. Thực vậy, việc cải thiện độ tan của thuốc ít tan bằng phương pháp tạo muối đã và đang được sử dụng rộng rãi trong ngành công nghiệp dược phẩm [4] như muối hydrochloride, sulfonate, sulfate, maleate, fumarate, ... Trong số các loại muối này, muối hydrochloride được sử dụng nhiều nhất trong lâm sàng vì độc tính thấp và khả năng sinh dược học cao [5].

Sorafenib (Sor) và Regorafenib (Reg) đã được sử dụng trong điều trị một loạt các loại bệnh ung thư [6]. Chúng ức chế sự phát triển của tế bào khối u, sự tăng sinh và sự phát sinh của khối u [7, 8]. Sor được Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) phê chuẩn trong điều trị cho

**Abstract** - In a recent study, sorafenib hydrochloride (Sor.HCl) and regorafenib hydrochloride (Reg.HCl), two hydrochloride salts of sorafenib, (Sor) and Regorafenib (Reg) were synthesized with the aim of increasing the solubility of free drugs. However, their solubility has only been investigated in the aqueous medium. Therefore, in this study, to investigate more completely the solubility (including solubility and dissolution rate) of Sor.HCl and Reg.HCl, their solubility was determined in simulated gastric juice (pH 1.2 solution) and simulated small intestine fluid (pH 6.8 solution), then compared to those of free Sor and Reg. In addition, the cytotoxicities of these two salts to colorectal carcinoma cell line CT-26 were also evaluated. The results showed that, the solubility as well as the dissolution rate of the two salts were significantly improved compared with those of the free drugs in all three media. The cytotoxicity of salts to cancer cells was also increased in comparison with the one of free drugs.

**Key words** - Sorafenib; Regorafenib; solubility; dissolution rate, cytotoxicity

bệnh nhân ung thư thận giai đoạn cuối, ung thư gan giai đoạn cuối, ung thư tuyến giáp trạng giai đoạn cuối, ...; Còn Reg được phê chuẩn để điều trị khối u stromal đường tiêu hóa giai đoạn cuối và ung thư đại trực tràng di căn [9]. Hơn nữa, Reg cũng đã được khuyến nghị sử dụng như là thuốc chống ung thư dòng thứ hai đối với bệnh nhân ung thư gan giai đoạn cuối, kháng hoặc không thể dung nạp được Sor [10]. Tuy có nhiều tác dụng như vậy, nhưng hai loại thuốc uống này được phân vào hệ thống phân loại sinh học (BCS) nhóm II [11, 12], là những thuốc có khả năng thẩm thấu cao nhưng tính tan trong nước kém. Vì thế trong một nghiên cứu gần đây, hai muối Sor.HCl và Reg.HCl đã được điều chế, cấu trúc tinh thể của chúng đã được xác định [13], tuy nhiên tính tan của chúng chỉ mới được khảo sát trong môi trường nước và độc tính tế bào của chúng chưa được đánh giá.

Trong nghiên cứu này, độ tan và tốc độ hòa tan của Sor.HCl và Reg.HCl trong các dung dịch mô phỏng dịch dạ dày lúc đói pH 1,2 và dung dịch mô phỏng dịch ruột non pH 6,8 được đo lường, sau đó so sánh với Sor, Reg tự do và đồng thời so sánh với độ tan và tốc độ hòa tan của chúng trong môi trường nước. Ngoài ra, độc tính tế bào của hai muối trên đối với dòng tế bào gây ung thư đại trực tràng CT-26 cũng được đánh giá.

<sup>1</sup> The University of Danang - University of Technology and Education (Chiuuyen Phan)

<sup>2</sup> The University of Danang - School of Medicine and Pharmacy (Thi Viet Ha Nguyen)

## 2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Sorafenib (Sor) và Regorafenib (Reg), độ tinh khiết 99%, được mua từ công ty dược phẩm Eastchina Pharm. Co, Ltd., Zhejiang, Trung Quốc. Dung dịch HCl đặc, methanol được cung cấp bởi công ty Sigma-Aldrich Co., Ltd., Santa Clara, CA, USA và các hóa chất khác ở độ tinh khiết phân tích. Sorafenib hydrochloride và Regorafenib hydrochloride được tổng hợp từ Sor và Reg tự do theo quy trình đã được báo cáo [13]. Độ tinh khiết của hai muối được kiểm tra bằng phương pháp nhiễu xạ tia X trên máy Rigaku D/Max-2550PC với anot điện cực Cu ( $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ ) hoạt động ở 40 kV và 250 mA, phổ thu được có kết quả giống với phổ đã được báo cáo, do đó có thể kết luận độ tinh khiết của 2 muối là 100%.

Các tế bào gây ung thư đại trực tràng CT-26 (Colon Tumors – 26) được mua từ American Type Culture Collection (ATCC, Rockville MD) và đã thông qua các bài kiểm tra thông thường về phương pháp kiểm soát chất lượng dòng tế bào. Tế bào được nuôi dưỡng trong môi trường nuôi cấy tế bào DMEM chứa 10% huyết thanh ở 37°C trong tủ nuôi cấy tế bào.

Tất cả các thí nghiệm đều được thực hiện tại phòng thí nghiệm hóa sinh thuộc khoa Hóa, trường Đại học Zhejiang, tỉnh Chiết Giang, Trung Quốc.

### 2.2. Xác định độ tan và tốc độ hòa tan của Sor, Reg, Sor.HCl và Reg.HCl trong môi trường dung dịch nước pH 1,2 và 6,8

Sor và Reg là những thuốc không tan trong nước, do đó để tăng cường khả năng hòa tan của Sor và Reg, các môi trường đều được thêm chất hoạt động bề mặt 0,2% (Sodium lauryl sulfat - SLS). Để sự so sánh có ý nghĩa, thì tính tan của hai muối cũng được chuẩn bị trong các môi trường có mặt 0,2% SLS (trong các nội dung sau, tất cả dung dịch nước của các thí nghiệm về tính tan đã được thêm vào 0,2% SLS và để đơn giản cụm từ này không được nhắc đến).

#### 2.2.1. Xác định phương trình đường chuẩn

Để xác định phương trình đường chuẩn, đầu tiên dung dịch chuẩn gốc của Sor, Sor.HCl, Reg và Reg.HCl được chuẩn bị bằng cách cân trọng lượng chính xác của thuốc vào bình định mức, hòa tan và pha loãng đến thể tích. Sau đó, dùng pipet để lấy chính xác một thể tích của dung dịch gốc vào bình định mức, pha loãng và định mức đến vạch bằng dung dịch pH 1,2 hoặc 6,8 để chuẩn bị các chất chuẩn có nồng độ xác định. Độ hấp thụ quang của thuốc được đo ở  $\lambda_{\max}$  bằng cách quét phổ ở bước sóng 200–400 nm sử dụng máy quang phổ UV-Vis Thermo Scientific Evolution 300 (Thermo Scientific, Waltham, MA). Tất cả các giá trị được đo song song ba lần và tính toán kết quả trung bình. Phương trình đường chuẩn của Sor, Reg, Sor.HCl và Reg.HCl trong các môi trường khác nhau biểu diễn sự phụ thuộc độ hấp thụ tại bước sóng cực đại theo nồng độ.

#### 2.2.2. Xác định độ tan

Để xác định độ tan của thuốc, một lượng bột thuốc rắn dư (Sor, Sor.HCl, Reg và Reg.HCl) riêng biệt được phân tán trong các lọ riêng biệt có nắp vặn chứa lần lượt 10 mL dung dịch pH 1,2 và dung dịch pH 6,8, khuấy ở tốc độ 100 vòng/phút, tại 37°C trong 24 giờ để thu được dung dịch bão hòa. Sau đó, các dung dịch bão hòa của Sor, Sor.HCl,

Reg và Reg.HCl được lọc qua bộ xi lanh có gắn đầu lọc Whatman's với kích thước lỗ 0,45  $\mu\text{m}$ . Các dung dịch này sau đó được pha loãng thích hợp và đo độ hấp thụ bằng phương pháp đo quang phổ tử ngoại-khả kiến (UV-Vis) tại bước sóng  $\lambda_{\max}$  cực đại tương ứng. Độ tan của các chất (tính theo đơn vị  $\text{mg mL}^{-1}$ ) được tính toán dựa trên các phương trình đường chuẩn. Thí nghiệm được thực hiện song song ba lần trong cùng điều kiện và tính toán giá trị trung bình.

#### 2.2.3. Xác định tốc độ hòa tan

Các cốc chứa 250 mL dung dịch pH 1,2 và pH 6,8 riêng biệt được gia nhiệt ở 37°C, khuấy với tốc độ 150 vòng/phút bằng máy khuấy từ điều nhiệt, sau đó một lượng dư các muối và thuốc tự do lần lượt được cho vào các dung dịch trên, và bắt đầu đo thời gian. Tại các điểm thời gian 1, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60, 90, 120, 180 và 240 phút, 3 mL dung dịch được hút ra bằng xi lanh, lọc bằng đầu lọc Whatman's như trên, và thay thế vào cốc 3 mL các dung dịch trắng tương ứng cũng đã được gia nhiệt ở 37°C. Nồng độ dung dịch của chúng sau khi lọc được đo độ hấp thụ tại  $\lambda_{\max}$ . Thí nghiệm được lặp lại ba lần và tính kết quả trung bình.

### 2.3. Đánh giá độc tính tế bào bằng thí nghiệm MTT

Độc tính tế bào của Sor, Sor.HCl, Reg và Reg.HCl đối với tế bào CT-26 được xác định bằng thí nghiệm MTT trong một đĩa 96 lỗ, cụ thể tiến hành như sau: Tế bào CT-26 được phân tán trong môi trường DMEM chứa 10% huyết thanh với tỉ lệ xác định được cấy trong các lỗ với mật độ khoảng 8000-9000 tế bào/lỗ với tổng thể tích là 200  $\mu\text{L}$ . Sau đó, đĩa được đặt trong tủ ấm, bão hòa hơi nước, chứa 5%  $\text{CO}_2$  ở 37°C. Sau 16 giờ, môi trường nuôi cấy được hút ra, rửa nhẹ tế bào bằng dung dịch đệm PBS, sau đó thêm vào 200  $\mu\text{L}$  môi trường nuôi cấy không có huyết thanh đóng vai trò mẫu chứng (control), các môi trường nuôi cấy không có huyết thanh chứa Sor, Sor.HCl, Reg, Reg.HCl và hỗn hợp Sor.HCl + Reg.HCl tỉ lệ 1:1 ở bốn giá trị nồng độ 0,25  $\mu\text{M}$ , 1  $\mu\text{M}$ , 5  $\mu\text{M}$  và 10  $\mu\text{M}$  là các mẫu thí nghiệm (experiment), và môi trường nước đóng vai trò là mẫu trắng (blank). Sau 4 giờ ủ trong tủ ấm, các dung dịch trên được hút ra, thay vào đó là dung dịch hỗn hợp gồm 90  $\mu\text{L}$  môi trường nuôi cấy không có huyết thanh và 10  $\mu\text{L}$  dung dịch MTT 5  $\text{mg/mL}$ . Sau khi ủ trong tủ ấm 2-3 giờ, các dung dịch MTT được loại bỏ, thêm vào 100  $\mu\text{L}$  DMSO và lắc trên máy lắc 10 phút. Độ hấp thụ của formazan được ghi lại ở bước sóng 570 nm bằng máy quang phổ (Bio-Rad Model 680). Tỉ lệ sống sót tương đối của tế bào (%) trong các mẫu phụ thuộc vào mẫu thí nghiệm, mẫu chứng và mẫu trắng theo công thức dưới đây [14]:

$$V\% = \frac{[A]_{\text{experiment}} - [A]_{\text{blank}}}{[A]_{\text{control}} - [A]_{\text{blank}}} \times 100\%$$

Trong đó, V% là phần trăm tỉ lệ sống sót của tế bào,  $[A]_{\text{experiment}}$  là độ hấp thụ của các mẫu thí nghiệm (là mẫu nuôi cấy tế bào đã được xử lý với thuốc),  $[A]_{\text{blank}}$  là độ hấp thụ của mẫu trắng và  $[A]_{\text{control}}$  là độ hấp thụ của mẫu chứng.

Do Sor, Reg, Sor.HCl và Reg.HCl hầu như không tan trong nước, nên để thực hiện thí nghiệm này, chúng được tăng tính tan bằng cách hòa tan trong dung môi DMSO trước, sau đó pha loãng bằng dung dịch nuôi cấy tế bào sao cho hàm lượng DMSO không vượt quá 0,1%.

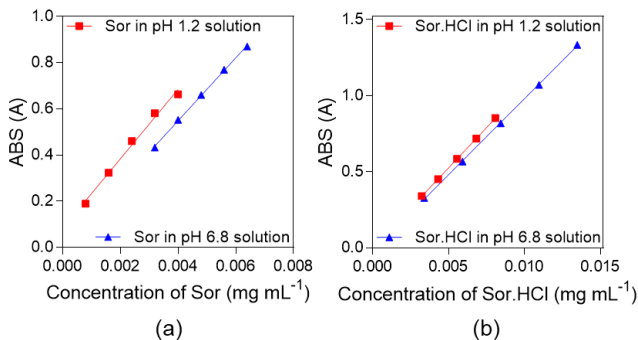
Số liệu được xử lý, vẽ đồ thị và tính toán nồng độ ức chế một nửa ( $\text{IC}_{50}$ ) trên phần mềm GraphPad Prism 6.

### 3. Kết quả nghiên cứu

#### 3.1. Độ tan và tốc độ hòa tan của Sor, Reg, Sor.HCl và Reg.HCl trong môi trường dung dịch nước pH 1,2 và 6,8

##### 3.1.1. Phương trình đường chuẩn

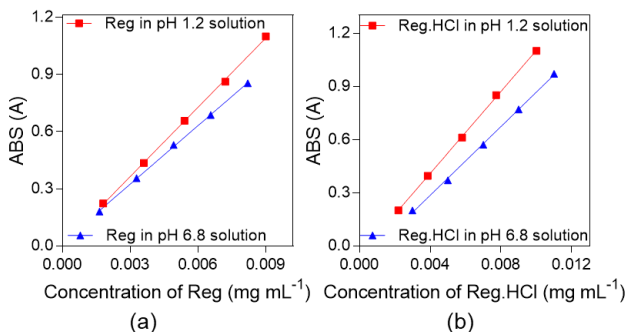
Phương trình đường chuẩn của Sor trong môi trường dung dịch nước pH 1,2 và pH 6,8 với độ hấp thụ ánh sáng tại 266 nm lần lượt là  $Y = 143,3 \cdot X + 0,093$ ;  $R^2 = 0,9991$  và  $Y = 136,4 \cdot X + 0,003$ ;  $R^2 = 0,9990$  (Hình 1a).



**Hình 1.** Phương trình đường chuẩn của (a) Sor tự do và (b) Sor.HCl trong môi trường dung dịch nước pH 1,2 và pH 6,8

Độ hấp thụ ánh sáng trong phương trình đường chuẩn của Sor.HCl trong hai môi trường trên cũng được đo tại 266 nm. Các đường chuẩn lần lượt như sau  $Y = 105,2 \cdot X - 0,002$ ;  $R^2 = 0,9999$  và  $Y = 100,0 \cdot X - 0,017$ ;  $R^2 = 0,9998$  (Hình 1b).

Đối với Reg trong dung dịch pH 1,2 thì độ hấp thụ được đo tại bước sóng 262 nm, còn trong dung dịch pH 6,8 thì bước sóng cực đại là 259 nm. Các phương trình đường chuẩn lần lượt là:  $Y = 121,2 \cdot X + 0,001$  và  $Y = 102,3 \cdot X + 0,018$ , với các hệ số tương quan  $R^2$  đều bằng 0,9995 (Hình 2a).



**Hình 2.** Phương trình đường chuẩn của (a) Reg tự do và (b) Reg.HCl trong môi trường dung dịch nước pH 1,2 và pH 6,8

Tương tự, bước sóng hấp thụ cực đại của Reg.HCl trong dung dịch pH 1,2 là 262 nm, và trong dung dịch pH 6,8 là 260 nm. Phương trình đường chuẩn của Reg.HCl trong hai môi trường trên lần lượt là:  $Y = 115,6 \cdot X - 0,054$ ;  $Y = 97,0 \cdot X - 0,103$  và hệ số tương quan  $R^2$  lần lượt là 0,9997 và 0,9990 (Hình 2b).

Như vậy, các giá trị hệ số tương quan  $R^2$  đều lớn hơn 0,999 thể hiện sự tương quan chặt chẽ giữa độ hấp thụ quang và nồng độ trong khoảng nồng độ xác định, và có thể được sử dụng để tính toán các giá trị có liên quan.

##### 3.1.2. Xác định độ tan

Độ tan và khả năng thẩm thấu qua đường ruột là hai giá trị quan trọng để đánh giá sinh khả dụng của thuốc đường

uống. Trong thí nghiệm này, độ tan của Sor, Sor.HCl, Reg và Reg.HCl trong các môi trường dung dịch nước pH 1,2 và pH 6,8 được xác định ở 37°C.

Độ tan của Sor, Sor.HCl, Reg và Reg.HCl trong các môi trường được thể hiện ở Bảng 1.

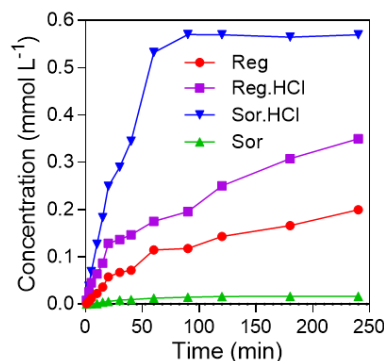
**Bảng 1.** Độ tan của các chất trong các môi trường được tính theo đơn vị  $mg mL^{-1}$

Môi trường	Nước [13]	Dung dịch pH 1,2	Dung dịch pH 6,8
Sor	0,001	0,015	0,006
Sor.HCl	0,071	0,119	0,058
Reg	0,001	0,041	0,002
Reg.HCl	0,073	0,085	0,047

##### 3.1.3. Tốc độ hòa tan

Dựa vào sự cải thiện đáng kể về độ tan, tốc độ hòa tan của Sor, Sor.HCl, Reg và Reg.HCl cũng đã được đánh giá trong môi trường dung dịch nước pH 1,2 và pH 6,8.

Tốc độ hòa tan của bốn chất trong môi trường dung dịch nước pH 1,2 và pH 6,8 là gián đồ phụ thuộc giữa nồng độ thu được tại các điểm thời gian, thể hiện lần lượt ở Hình 3 và Hình 4.



**Hình 3.** Tốc độ hòa tan của Sor, Sor.HCl, Reg và Reg.HCl trong môi trường dung dịch nước pH 1,2

### 3.2. Đánh giá độc tính tế bào

Sor và Reg có cấu tạo và tính chất tương tự nhau, chúng là những thuốc trị ung thư theo cùng cơ chế. Ngoài ra, Reg còn được sử dụng để điều trị ung thư gan giai đoạn cuối trong trường hợp bệnh nhân kháng hoặc không dung nạp thuốc Sor. Vì vậy, trong nghiên cứu này, ngoài việc đánh giá độc tính tế bào của Sor, Reg, Sor.HCl và Reg.HCl, nhóm tác giả đồng thời cũng đánh giá và so sánh độc tính tế bào của hỗn hợp Sor.HCl + Reg.HCl (theo tỉ lệ 1:1 về nồng độ) có cùng nồng độ tổng của thuốc, để khảo sát khả năng ức chế sự phát triển và tiêu diệt tế bào ung thư của từng thuốc riêng lẻ và hỗn hợp hai loại thuốc.

##### 3.2.1. Độc tính tế bào của Sor.HCl

Độc tính tế bào của Sor.HCl và hỗn hợp Sor.HCl + Reg.HCl được phân tích theo liều lượng từ 0,25  $\mu M$  đến 10  $\mu M$  trong vòng 04 giờ, kết quả được so sánh với Sor tự do. Hình 5 cho thấy, Sor có khả năng ức chế tế bào ung thư CT-26 kém hơn nhiều so với Sor.HCl và hỗn hợp Sor.HCl + Reg.HCl.

##### 3.2.2. Độc tính tế bào của Reg.HCl

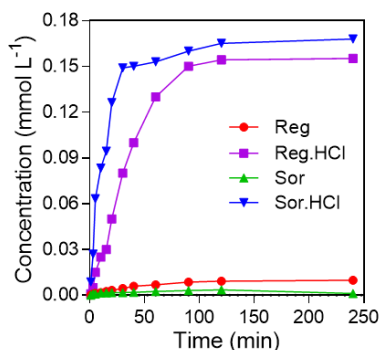
Tương tự, độc tính tế bào của Reg, Reg.HCl và hỗn hợp Sor.HCl + Reg.HCl cũng được thực hiện bằng thí nghiệm

MTT với tế bào CT-26. Độc tính các chất theo nồng độ (từ 0,25  $\mu\text{M}$  đến 10  $\mu\text{M}$ ) được thể hiện ở Hình 6. Kết quả cho thấy cả ba loại đều có khả năng ức chế sự phát triển và tiêu diệt tế bào ung thư.

#### 4. Bàn luận

##### 4.1. Độ tan của Sor, Reg, Sor.HCl và Reg.HCl trong môi trường dung dịch nước pH 1,2 và 6,8

Bảng 1 liệt kê độ tan của Sor, Sor.HCl, Reg và Reg.HCl trong các môi trường nước, môi trường dung dịch nước pH 1,2 và pH 6,8. Các số liệu cho thấy, độ tan của các muối tăng đáng kể so với thuốc tự do trong cả ba môi trường. Hơn nữa, Sor và Reg là những thuốc có tính base yếu [13], do đó trong môi trường có tính acid càng mạnh thì khả năng hòa tan càng tốt và ngược lại. Vì vậy, độ tan của các chất trong môi trường pH 1,2 là cao nhất, sau đó giảm trong môi trường pH 6,8, và độ tan thấp nhất là ở trong môi trường nước.



**Hình 4.** Tốc độ hòa tan của Sor, Sor.HCl, Reg và Reg.HCl trong môi trường dung dịch nước pH 6,8

Trong môi trường pH 1,2, tuy độ tan dạng tự do của Sor bé hơn Reg nhưng độ tan dạng muối của Sor.HCl lại lớn hơn Reg.HCl. Do đó độ tan dạng muối của Reg chỉ tăng gấp đôi so với dạng tự do, còn dạng muối của Sor tăng gần tám lần so với dạng tự do. Trong nước, Sor và Reg tự do hầu như không tan, tuy nhiên Sor.HCl và Reg.HCl có độ tan xấp xỉ nhau và khoảng 0,072  $\text{mg mL}^{-1}$  (điều này được giải thích có thể do cấu trúc tương tự nhau nên độ tan cũng gần như nhau [13]), như vậy độ tan của hai muối trong nước tăng gần 72 lần so với hai thuốc dạng tự do. Độ tan của các muối trong môi trường pH 6,8 cũng thể hiện sự cải thiện đáng kể, Sor.HCl làm tăng độ tan của Sor lên gần 10 lần, còn Reg.HCl có độ tan tăng gần 25 lần. Độ tan của Sor.HCl trong môi trường pH 6,8 xấp xỉ độ tan của sorafenib tosylate trong môi trường pH 6, với độ tan tương ứng là 0,058  $\text{mg mL}^{-1}$  và 0,060  $\text{mg mL}^{-1}$  [15].

##### 4.2. Độc tính tế bào của Sor, Reg, Sor.HCl và Reg.HCl trong môi trường dung dịch nước pH 1,2 và 6,8

Trong Hình 3 và Hình 4, Sor.HCl và Reg.HCl thể hiện tốc độ hòa tan cao hơn đáng kể so với Sor và Reg trong cả hai môi trường. Đồ thị cho thấy, quá trình hòa tan các chất xảy ra rất nhanh trong giai đoạn đầu, sau đó chậm lại và gần như dừng hẳn sau khoảng 90 phút hòa tan. Sau 120 phút, hầu hết các dung dịch đạt đến trạng thái cân bằng.

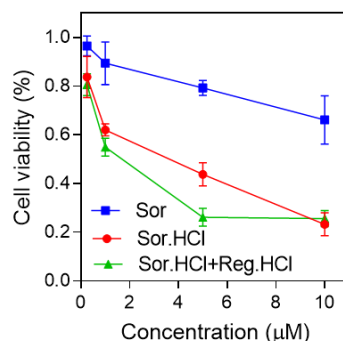
Trong môi trường pH 1,2, tốc độ hòa tan của Sor.HCl nhanh hơn nhiều lần so với tốc độ hòa tan của Sor, và có xu hướng tương tự như trong môi trường dung dịch nước pH 6,8, quá trình hòa tan xảy ra nhanh ở giai đoạn đầu và

đạt đến trạng thái cân bằng sau 90 phút hòa tan. Ngược lại, Reg.HCl không thể hiện rõ sự cải thiện về tốc độ hòa tan, đồ thị hòa tan của Reg và Reg.HCl gần giống nhau, quá trình hòa tan xảy ra chậm, tăng đều, và sau 240 phút, dung dịch vẫn chưa đạt đến trạng thái cân bằng.

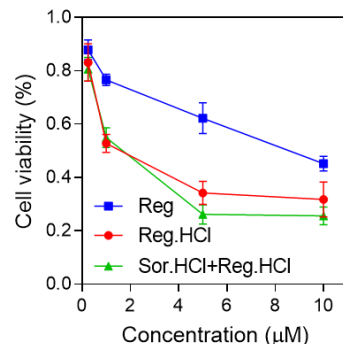
Trong môi trường dung dịch nước pH 6,8, đồ thị của quá trình hòa tan các chất cho thấy, sự cải thiện về tốc độ hòa tan đáng kể của dạng muối so với dạng tự do. Hình 3 cho thấy, Sor.HCl hòa tan nhanh hơn rõ rệt so với Reg.HCl ở 90 phút đầu tiên, sau đó dung dịch có xu hướng đạt trạng thái cân bằng.

##### 4.3. Độc tính tế bào của Sor, Reg, Sor.HCl và Reg.HCl

Độc tính tế bào của Sor.HCl và hỗn hợp Sor.HCl + Reg.HCl mạnh hơn so với Sor tự do. Đối với Sor, khi nồng độ dung dịch lên đến 10  $\mu\text{M}$ , tỉ lệ tồn tại của các tế bào ung thư vẫn trên 50%, chứng tỏ khả năng ức chế sự phát triển và tiêu diệt tế bào ung thư của Sor ở nồng độ này chưa thể hiện rõ rệt, hoặc có thể do khoảng thời gian 4 giờ chưa đủ để Sor có thể phát huy tác dụng tối ưu. Độc tính tế bào của Sor.HCl đối với dòng tế bào CT-26 thể hiện sự cải thiện đáng kể so với Sor tự do, tuy nhiên đồ thị vẫn chưa đạt đến trạng thái cân bằng khi nồng độ thuốc tăng lên đến 10  $\mu\text{M}$ . Đồ thị thể hiện độc tính của hỗn hợp Sor.HCl + Reg.HCl cho thấy, độc tính tế bào tăng nhanh khi nồng độ tăng từ 0,25  $\mu\text{M}$  đến 5  $\mu\text{M}$ , sau đó khi nồng độ tăng lên từ 5  $\mu\text{M}$  đến 10  $\mu\text{M}$  độc tính tế bào đối với tế bào ung thư CT-26 hầu như không thay đổi. Các giá trị nồng độ ức chế một nửa  $\text{IC}_{50}$  của Sor, Sor.HCl và hỗn hợp Sor.HCl + Reg.HCl tỉ lệ 1:1 tính toán được lần lượt là 835,6; 89,0 và 10,9  $\mu\text{M}$ .



**Hình 5.** Độc tính tế bào của Sor.HCl khi so sánh với Sor tự do và hỗn hợp Sor.HCl + Reg.HCl



**Hình 6.** Độc tính tế bào của Reg.HCl khi so sánh với Reg tự do và hỗn hợp Sor.HCl + Reg.HCl

Tương tự, kết quả nghiên cứu độc tính tế bào của Reg cũng thấp hơn nhiều so với Reg.HCl hay hỗn hợp Sor.HCl + Reg.HCl tỉ lệ 1:1. Đồ thị thể hiện độc tính của Reg.HCl

đối với tế bào CT-26 khi so với hỗn hợp Sor.HCl + Reg.HCl cũng tăng nhanh khi nồng độ tăng từ 0,25  $\mu\text{M}$  đến 5  $\mu\text{M}$ , và từ 5  $\mu\text{M}$  đến 10  $\mu\text{M}$  độc tính tế bào hầu như không thay đổi. Tuy nhiên, đồ thị cho thấy độc tính tế bào của Reg.HCl yếu hơn hỗn hợp Sor.HCl + Reg.HCl. Các giá trị  $\text{IC}_{50}$  của Reg và Reg.HCl tính toán thu được là 391,7 và 8,0  $\mu\text{M}$ . Như vậy,  $\text{IC}_{50}$  của Reg.HCl có giá trị bé hơn so với hỗn hợp Sor.HCl + Reg.HCl (8,0  $\mu\text{M}$  và 10,9  $\mu\text{M}$ ), hay Reg.HCl có độc tính tế bào đối với tế bào CT-26 mạnh hơn hỗn hợp Sor.HCl + Reg.HCl.

Từ hai kết quả trên cho thấy, Reg.HCl có độc tính tế bào đối với tế bào gây ung thư đại trực tràng là tốt nhất với giá trị  $\text{IC}_{50}$  bé nhất, điều này cũng phù hợp với tác dụng chữa trị chính của Reg là được phê chuẩn để chữa trị các bệnh ung thư đường ruột [16]. Hỗn hợp Sor.HCl + Reg.HCl cũng thể hiện khả năng ức chế tế bào ung thư cao khi  $\text{IC}_{50}$  xấp xỉ Reg.HCl. Riêng Sor hay Reg tự do thì thể hiện khả năng ức chế tế bào ung thư kém hơn.

## 5. Kết luận

Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả đã khảo sát độ tan và tốc độ hòa tan của hai muối Sor.HCl và Reg.HCl trong hai môi trường dung dịch nước pH 1,2 và pH 6,8, so sánh với Sor, Reg tự do và với độ tan, tốc độ hòa tan của chúng trong môi trường nước. Kết quả cho thấy, độ tan của hai muối này cải thiện đáng kể so với độ tan hai thuốc tự do. Đặc biệt, trong môi trường dung dịch nước pH 1,2, độ tan và tốc độ hòa tan của hai muối và thuốc tự do đều cao hơn hẳn so với môi trường nước và môi trường dung dịch nước pH 6,8. Độc tính tế bào của Sor.HCl và Reg.HCl đối với dòng tế bào gây ung thư đại trực tràng CT-26 cũng mạnh hơn so với Sor và Reg tự do. Như vậy, Sor.HCl và Reg.HCl là những loại thuốc mới có tiềm năng hơn trong điều trị ung thư, so với Sor hay Reg tự do; cần được tiếp tục thực hiện các nghiên cứu trên động vật.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ - Đại học Đà Nẵng trong đề tài có mã số B2020-DN06-22.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] G. Poovi, N. Damodharan, "Lipid nanoparticles: A challenging approach for oral delivery of BCS Class-II drugs", *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(2), Springeropen, 2018, 191-205.
- [2] K. Suresh, M.K.C. Mannava, A. Nangia, "Cocrystals and alloys of nitazoxanide: enhanced pharmacokinetics", *Chemical Communications*, 52(22), Royal Society of Chemistry, 2016, 4223-4226.
- [3] L. Rajput, "Stable Crystalline Salts of Haloperidol: A Highly Water-Soluble Mesylate Salt", *Crystal Growth & Design*, 14(10), American Chemical Society, 2014, 5196-5205.
- [4] X. Zhou, X. Hu, S. Wu, J. Ye, M. Sun, J. Gu, J. Zhu, Z. Zhang, "Structures and physicochemical properties of vortioxetine salts", *Acta Crystallogr B Struct Eng Mater*, 72(5), IUCr, 2016, 723-732.
- [5] J. Guillory, "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" Edited by P. Heinrich Stahl and Camile G. Wermuth. *Journal of Medicinal Chemistry*, 46, VHC, Verlag Helvetica Chimica Acta, Zürich, Switzerland, and Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002, 1277-1277.
- [6] S. Almarzooqi, A.S. Alfazari, A. Albawardi, D. Saraswathiamma, H. Abdul-Kader, S. Shaban, A. Souid, "Modulation of Cardiomyocyte and Hepatocyte Bioenergetics by Biguanides", *Journal of Clinical Toxicology*, 4, Longdom, 2014, 1-6.
- [7] C.H. Takimoto, A. Awada, "Safety and anti-tumor activity of sorafenib (Nexavar) in combination with other anti-cancer agents: a review of clinical trials", *Cancer Chemother Pharmacol*, 61(4), Springer, 2008, 535-548.
- [8] R. Iyer, A. Fetterly G Fau - Lugade, Y. Lugade A Fau - Thanavala, Y. Thanavala, "Sorafenib: a clinical and pharmacologic review", *Expert Opin Pharmacother*, 11(11), Taylor and Francis Online, 2010, 1943-1955.
- [9] M.Y. Sun, S.X. Wu, X.B. Zhou, J.M. Gu, X.R. Hu, "Comparison of the crystal structures of the potent anticancer and anti-angiogenic agent regorafenib and its monohydrate", *Acta Crystallogr C Struct Chem*, 72(4), IUCr, 2016, 291-296.
- [10] Z. Liu, Y. Lin, J. Zhang, Y. Zhang, Y. Li, Z. Liu, Q. Li, M. Luo, R. Liang, J. Ye, "Molecular targeted and immune checkpoint therapy for advanced hepatocellular carcinoma", *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 38(1), BMC Part of Springer Nature, 2019, 447-459.
- [11] V. Giglio, M. Viale, V. Bertone, I. Maric, R. Vaccarone, G.A.-O.X. Vecchio, "Cyclodextrin polymers as nanocarriers for sorafenib", *Invest New Drugs*, 36(3), Springer, 2018, 370-379.
- [12] E. Sawicki, J.H. Schellens, J.H. Beijnen, B. Nuijen, "Inventory of oral anticancer agents: Pharmaceutical formulation aspects with focus on the solid dispersion technique", *Anti-tumor treatment*, 50, Cancer Treat Rev, 2016, 247-263.
- [13] C.U. Phan, J. Shen, J. Liu, J. Mao, X. Hu, G. Tang, "Isomorphous Crystals Formed by the Similar Supramolecular Motifs in Sorafenib Hydrochloride and Regorafenib Hydrochloride Salts", *Crystals*, 9(12), MPDI, 2019, 649-662.
- [14] X. Hu, M. Sun, Y. Li, G. Tang, "Evaluation of molecular chaperone drug function: Regorafenib and beta-cyclodextrins", *Colloids Surf B Biointerfaces*, 153, Elsevier, 2017, 61-68.
- [15] X.Q. Wang, J.M. Fan, Y.O. Liu, B. Zhao, Z.R. Jia, Q. Zhang, "Bioavailability and pharmacokinetics of sorafenib suspension, nanoparticles and nanomatrix for oral administration to rat", *International Journal of Pharmaceutics*, 419(1-2), Elsevier, 2011, 339-346.
- [16] M.Y. Sun, S.X. Wu, X.B. Zhou, J.M. Gu, X.R. Hu, "Comparison of the crystal structures of the potent anticancer and anti-angiogenic agent regorafenib and its monohydrate", *Acta Crystallogr C Struct Chem*, 72(4), IUCr, 2016, 291-296.