

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Phan Thị Thủy

**NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG CHỐNG OXY
HÓA CỦA HỆ NANO TAXIFOLIN**

Chuyên ngành: Vật lý chất rắn

Mã số: 8 44 01 04

**LUẬN VĂN THẠC SĨ NGÀNH
VẬT LÝ CHẤT RẮN**

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

TS. Nguyễn Thanh Bình

Hà Nội – 2023

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tìm hiểu, đo đạc và nghiên cứu dưới sự hướng dẫn của TS. Nguyễn Thanh Bình. Vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất, không sao chép bất hợp pháp từ bất kỳ nguồn nào. Việc tham khảo các nguồn tài liệu đã được trích dẫn theo quy định. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực, nếu sai, tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm.

Hà Nội, ngày tháng năm 2023

Học viên cao học

Phan Thị Thủy

LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn đến TS. Nguyễn Thanh Bình đã dành cho tôi những định hướng khoa học hiệu quả, sự động viên và giúp đỡ tận tình trong suốt quá trình thực hiện luận văn này.

Tôi xin trân trọng cảm ơn sự giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi của cơ sở đào tạo là Học viện Khoa học và Công nghệ cùng Viện Vật Lý - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, cơ quan mà tôi công tác trong quá trình thực hiện luận văn.

Luận văn này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của Đề tài nghiên cứu khoa học công nghệ cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, mã số: KHCBVL.03/20-21. Công việc thực nghiệm được thực hiện tại Trung tâm Vật lý ứng dụng và Thiết bị khoa học, Viện Vật Lý.

Cuối cùng, tôi muốn gửi tới tất cả những người thân trong gia đình, đồng nghiệp và bạn bè lời cảm ơn chân thành nhất. Chính sự tin yêu mong đợi của mọi người đã tạo động lực cho tôi thực hiện thành công luận văn này.

Hà Nội, ngày tháng năm 2023

Học viên cao học

Phan Thị Thủy

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN	ii
DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT.....	v
DANH MỤC CÁC BẢNG.....	vii
DANH MỤC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ	viii
MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN.....	4
1.1. Tổng quan về hoạt chất Taxifolin và hoạt tính sinh học nổi bật của nó	4
1.1.1. Nguồn gốc	4
1.1.2. Cấu trúc hóa học.....	5
1.1.3. Mối quan hệ cấu trúc – hoạt tính.....	5
1.1.4. Các nghiên cứu trên thế giới về hoạt tính sinh học của Taxifolin.....	5
1.2. Một số phương pháp chế tạo nano Taxifolin	7
1.2.1. β -cyclodextrin và phương pháp tạo phức hợp với TAX	7
1.2.1.1. Cấu trúc của β -CD [19].....	7
1.2.1.2. Độc tính của β -CD	9
1.2.1.3. Đặc tính tạo phức của β -CD [19].....	9
1.2.1.4. Phương pháp điều chế nano từ β -CD bằng phương pháp phối trộn (nghiên).....	9
1.2.2. Hệ nano tự nhũ hóa (Self-nanoemulsifying drug delivery system-SNEDDS) [22].....	10
1.2.2.1. Khái niệm hệ nano tự nhũ hóa	10
1.2.2.2. Thành phần hệ nano tự nhũ hóa	11
1.3. Phương pháp đánh giá khả năng chống gốc tự do ABTS	12
CHƯƠNG 2: THỰC NGHIỆM	15
2.1. Tổng hợp hệ nhũ tương nano TAX.....	15
2.1.1. Hóa chất và dụng cụ thực nghiệm	15
2.1.2. Quy trình tổng hợp hệ nhũ tương nano	15
2.2. Tổng hợp chế tạo hệ phức nano TAX – β -CD.....	16
2.2.1. Hóa chất và dụng cụ thực nghiệm	16
2.2.2. Quy trình tổng hợp hệ phức nano rắn.....	16
2.3. Các phương pháp nghiên cứu khảo sát tính chất vật liệu	17
2.3.1. Phương pháp hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao (HR-TEM)	17
2.3.2. Phương pháp tán xạ ánh sáng động DLS [25].....	18
2.3.3. Phương pháp phổ hấp thụ tử ngoại – khả kiến (UV-Vis) [26].....	19
2.3.4. Xác định hàm lượng TAX trong các hệ nano.....	20
2.3.5. Khảo sát độ ổn định của các hệ nano trong nước cất	21

2.4. Đánh giá khả năng chống gốc tự do ABTS của các hệ nano.....	22
2.4.1. Pha dung dịch thuốc thử và mẫu đo hoạt tính	22
2.4.2. Tiến hành phản ứng xác định hoạt tính	23
2.4.3. Công thức tính	24
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	26
3.1. Khảo sát các đặc tính vật lý của các hệ nano.....	26
3.1.1. Kết quả đánh giá hình thái cấu trúc tiểu phân	26
3.1.2. Kết quả tính toán hàm lượng TAX trong các hệ nano	28
3.1.3. Kết quả độ ổn định của hệ nano trong nước cất.....	32
3.1.3.1. Nồng độ TAX suy giảm theo thời gian	32
3.1.3.2. Kích thước tiểu phân nano phân tán trong nước cất.....	33
3.2. Kết quả đánh giá khả năng chống gốc tự do ABTS của các hệ nano	35
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	40
CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN.....	42
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	43

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Ký hiệu	Tiếng Anh	Tiếng Việt
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt	
BHA	Butylated Hydroxyanisole	
BHT	Butylated Hydroxytoluene	
DLS	Dynamic Light Scattering	Tán xạ ánh sáng động
ET	Electron Transfer	Chuyển điện tử
G1, G2		Mẫu nhũ tương nano taxifolin, mẫu nano rắn TAX- β -CD tương ứng
G1-D10, G2-D10		Mẫu đo sự suy giảm nồng độ taxifolin theo thời gian khi phân tán trong nước cất của mẫu nhũ tương G1, của mẫu phức nano rắn G2 tương ứng
H1, H2		Hàm lượng taxifolin trong mẫu nhũ tương G1, của mẫu phức nano rắn G2 tương ứng
HAT	Hydrogen Atom Transfer	Chuyển nguyên tử Hydro
HLB	Hydrophilic-Lipophilic Balance	Sự cân bằng ưa nước-kỵ nước
HPLC-MS/MS	High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrum/Mass Spectrum	Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao – khối phổ
HR-TEM	High-resolution Transmission Electron Microscopy	Kính hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao
IC ₅₀	The half maximal inhibitory concentration	Nồng độ ức chế 50%
K ₂ S ₂ O ₈	Potassium peroxydisulfate	
KT1, KT2		Mẫu đo kích thước tiểu phân nano của mẫu nhũ tương G1, của mẫu phức nano rắn G2 tương ứng
KTTP		Kích thước tiểu phân
MDA	Malondialdehyde	

NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	
O/W	Oil in Water	Dầu trong nước
OH	Hydroxyl	
PDI	Polydispersity index	Hệ số đa phân tán
PEG	Polyethylene Glycol	
RSD	Relative Standard Deviation	Độ lệch chuẩn tương đối
SNEDDS	Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System	Hệ nano lỏng tự tạo nhũ tương
TAX	Taxifolin	
TBARS	Thiobarbituric acid reactive substances	Chất phản ứng axit thiobarbituric
Tween	Polysorbate	
UV-Vis	Ultra Violet-Visible spectroscopy	Quang phổ hấp thụ tử ngoại-khả kiến
α, β, γ -CD	α, β, γ -Cyclodextrin	
λ	Wavelength	Bước sóng

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1: Một số đặc tính của α , β , γ -CD	8
Bảng 3.1: Giá trị độ hấp thụ tại $\lambda=289$ nm ứng với dải nồng độ TAX của bột TAX 95%	30
Bảng 3.2: Giá trị hàm lượng TAX trong hai mẫu chế phẩm nano TAX	31
Bảng 3.3: Số liệu về độ hấp thụ và nồng độ TAX theo thời gian.....	32
Bảng 3.4: Kích thước hạt nano và chỉ số PDI khi phân tán trong nước cất của hai mẫu	33
Bảng 3.5: Giá trị tỉ lệ ức chế gốc ABTS* tương ứng với nồng độ các mẫu thử trong phản ứng chống gốc ABTS*	37

DANH MỤC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

Hình 1.1: Nguồn gốc từ tự nhiên của TAX [2]	4
Hình 1.2: Cấu trúc hóa học của TAX [2]	5
Hình 1.3: Những tác dụng sinh hóa quan trọng của hợp chất TAX.....	6
Hình 1.4: Cấu trúc hóa học (trái) và kích thước (phải) của β -CD.....	8
Hình 1.5: Sơ đồ hình thành nhũ tương nano bằng công thức SNEDDS [22]	11
Hình 2.1: Sơ đồ quy trình tổng hợp hệ nhũ tương nano TAX	16
Hình 2.2: Sơ đồ quy trình tổng hợp hệ nano rắn TAX – β -CD.....	17
Hình 2.3: Máy đo TEM JEM – 2100 của hãng JEOL, Nhật Bản.....	18
Hình 2.4: Máy đo Zetasizer S90 của hãng Malvern Instruments (trái) và nguyên tắc hoạt động của nó (phải).....	19
Hình 2.5: Sơ đồ nguyên lý hệ đo phổ hấp thụ UV-Vis 1 chùm tia UV-Vis AvaSpec-ULS2048x16 của hãng Avantes.....	20
Hình 2.6: Mẫu được chuẩn bị đo kích thước tiểu phân: KT1 (phải) và KT2 (trái) lần lượt của các mẫu nano G1, G2 khi phân tán trong nước cất.....	21
Hình 2.7: Phản ứng giữa gốc ABTS* và chất chống oxy hóa.....	22
Hình 2.8: Phổ hấp thụ UV-Vis của ABTS*	22
Hình 2.9: Dải nồng độ dung dịch của mẫu G1(A), G2 (B), Trolox (C) và bột DHQ (D) trước khi cho thuốc thử ABTS* phản ứng.....	23
Hình 2.10: Dãy nồng độ dung dịch của mẫu G1 (A), mẫu G2 (B), Trolox (C) và bột DHQ (D) khi cho thuốc thử ABTS* (mỗi nồng độ lặp lại 3 lần, n=3)	24
Hình 3.1: Ảnh HR-TEM của mẫu nhũ tương TAX dạng gel lỏng (G1) với các độ phóng đại khác nhau.....	26
Hình 3.2: Ảnh HR-TEM của mẫu phức nano TAX – β -CD (G2) dạng bột với các độ phóng đại khác nhau.....	27
Hình 3.3: Ảnh HR-TEM với độ phóng đại 200k lần (a) và vùng phóng đại trên đỉnh của ảnh (b).....	27

Hình 3.4: Ảnh HR-TEM của mẫu phức nano TAX – β -CD (G2) có hạt nano 60-70 nm	28
Hình 3.5: Phổ hấp thụ UV-Vis tại $\lambda=289$ nm của dãy nồng độ TAX trong mẫu bột TAX 95% theo bước sóng.....	29
Hình 3.6: Đường chuẩn tuyến tính của bột TAX 95%	29
Hình 3.7: Phổ hấp thụ UV-Vis tại $\lambda=289$ nm của hai mẫu nano G1, G2 khi pha loãng trong nước tại nồng độ dung dịch 205,8 $\mu\text{g/ml}$ (G1-D10, G2-D10).....	31
Hình 3.8: Nồng độ TAX trong hai mẫu G1, G2 thay đổi theo thời gian.....	33
Hình 3.9: Sự thay đổi kích thước tiểu phân nano phân tán trong nước cất của hai mẫu KT1, KT2 trong 72 giờ	34
Hình 3.10: Phổ hấp thụ UV-Vis tại $\lambda=734$ nm của các mẫu đo hoạt tính ức chế gốc tự do ABTS* theo bước sóng.....	37
Hình 3.11: Sự phụ thuộc tuyến tính giữa tỉ lệ ức chế gốc tự do (%) và nồng độ chất ức chế bột TAX 95% (A), mẫu G1 (B), mẫu G2 (C) và Trolox (D)	38

MỞ ĐẦU

Hiện nay với xu hướng trở về thiên nhiên, việc sử dụng các chế phẩm từ hợp chất tự nhiên ngày càng gia tăng, những chế phẩm này phù hợp với quy luật sinh lý của cơ thể con người mà rất ít những tác động có hại [1]. Các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học như curcumin, flavonoid,... được tìm thấy trong thực vật và một số loại thực phẩm. Cơ thể con người không thể tự tổng hợp tất cả các loại vitamin, khoáng chất, chất chống oxy hóa,... mà cần thông qua chế độ ăn uống, bổ sung từ thực phẩm để cân bằng dinh dưỡng, chống lại các gốc tự do. Vì vậy, các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học đang được các nhà nghiên cứu chuyên sâu xem xét để đánh giá tác động tới sức khỏe. Trong 20 năm trở lại đây, các hợp chất thiên nhiên này ngày được sử dụng rộng rãi và có hiệu quả trong sản xuất các thực phẩm chức năng (Functional Foods), chất bổ sung dinh dưỡng (Food Supplements) hay thực phẩm dạng thuốc (Nutraceuticals) là các sản phẩm được sử dụng với mục đích nâng cao sinh lực, nâng cao sức khỏe con người, chống oxy hóa, chống lão hóa, tăng cường miễn dịch, phòng và hỗ trợ điều trị bệnh tật, nâng cao tuổi thọ. Tuy nhiên, nhược điểm chính là sự kém tan trong nước của các thành phần hoạt tính trong các sản phẩm này, làm cho chúng khó được hấp thu vào cơ thể, sinh khả dụng thấp, dễ bị chuyển hóa trong hệ tiêu hóa, hiệu quả thấp nên không phát huy được được tính của các sản phẩm.

Taxifolin ((2*R*,3*R*)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-2,3-dihydrochromen-4-on), còn được gọi là dihydroquercetin, là một flavonoid thuộc phân nhóm euflavonoid, được tìm thấy trong các loại thực vật như trái cây cam quýt, củ hành tây, hạt cây ké sữa, vỏ thông, trong đó hoạt chất được tách chiết với hàm lượng cao từ cây tùng Siberia (*Larix sibirica*) [2]. Taxifolin (TAX) có hoạt tính dược lý rộng, bao gồm chống oxy hóa, bảo vệ mao mạch máu, chống viêm, bảo vệ dạ dày và gan, hạ lipid máu lợi tiểu; không gây đột biến tế bào, không thể hiện bất kỳ độc tính nào trong khi quercetin sở hữu các đặc tính gây đột biến và gây ung thư [2]. Tuy nhiên, cũng giống như các hợp chất tự nhiên khác, TAX tan kém trong nước (1,16 mg/ml), sinh khả dụng của TAX tinh khiết 99% theo đường uống chỉ đạt 0,49%, làm hạn chế đáng kể việc sử dụng nó trong thực hành lâm sàng [2]. Do đó, nhu cầu cấp bách là cần phát triển các phương pháp giúp làm tăng độ tan trong nước của TAX để nó có thể phát huy tối đa được tính vốn có của mình. Sự phát triển vượt trội của công nghệ nano trong thời gian gần đây đã tạo ra những bước tiến đáng kể trong tất cả các lĩnh vực khoa học công nghệ, kỹ thuật và đời sống. Trong hóa lý, người ta thường sử dụng các hệ mang dược

phẩm kích thước nano khác nhau cho chế tạo dưới dạng micelle, liposome, polymersome, phytosome, nhũ tương nano (nanoemulsion)...cho phép tăng độ phân tán của hợp chất tự nhiên trong nước, tăng sinh khả dụng của chúng [3].

Các nghiên cứu về phân tán mẫu nano TAX thể rắn với kích thước tiểu phân nằm trong khoảng 119 – 201 nm cho thấy rằng TAX thực tế được giải phóng hoàn toàn trong dung dịch nước với tốc độ giải phóng nhanh hơn 5 – 23 lần so với mẫu TAX ở dạng tự do (chỉ giải phóng được ~20 %), sự khác biệt này là do diện tích bề mặt tiếp xúc của TAX với môi trường nước ở mẫu nano lớn hơn rất nhiều so với mẫu ở dạng tự do có mức độ kết tập phân tử lớn. Nghiên cứu chỉ ra rằng, thời gian duy trì trạng thái phân tán có thể được kéo dài đáng kể (tối đa 3 giờ trở lên) với ~90% TAX được giải phóng bằng cách sử dụng các hệ nano vi nhũ tương với kích thước tiểu phân từ 10 – 20 nm. Do đó, việc bao gói TAX sử dụng hệ mang lỏng dạng vi nhũ tương (nanoemulsion) cũng như khi sử dụng hệ mang rắn ví dụ như β -cyclodextrin (β -CD) (dạng Glucose Oligomer) cho phép tăng sinh khả dụng qua đường uống của nó nhờ cấu trúc nano giúp cải thiện khả năng hòa tan trong dung dịch nước, và TAX có thể được giải phóng khỏi hệ mang (vỏ nhũ tương, hoặc khoang bên trong β -CD) trong vài giờ, điều này giúp kéo dài sự tích tụ của TAX trong máu [2].

Đặc tính quan trọng nhất của TAX có được trong việc bảo vệ tế bào là nhờ chủ yếu vào khả năng chống oxy hóa và trung hòa gốc tự do, vì vậy phép đo khả năng chống oxy hóa sẽ cung cấp thông tin hữu ích về hiệu quả sinh học của các chế phẩm nano. Theo các kết quả nghiên cứu đã công bố, mặc dù hoạt chất TAX đã được nghiên cứu rộng rãi trên thế giới nhưng việc chế tạo các cấu trúc nano và khảo sát hoạt tính chống oxy hóa của TAX chưa được nghiên cứu chuyên sâu tại Việt Nam, vì vậy lĩnh vực này vẫn đang thu hút sự quan tâm của các nhà nghiên cứu trong nước. Ngoài ra, với mục đích đánh giá hiệu quả của các phương pháp chế tạo nano, việc đo đạc, so sánh hoạt tính chống oxy hóa của các hệ nano TAX dạng rắn (sử dụng hệ mang β -CD) và hệ nano lỏng tự tạo nhũ tương (self-nanoemulsifying drug delivery system - SNEDDS) hy vọng sẽ đem lại nhiều thông tin hữu ích cho cả mục đích nghiên cứu và ứng dụng thực tế của các hợp chất tự nhiên nói chung cũng như của hoạt chất TAX nói riêng.

Dựa vào thực tế nghiên cứu, chúng tôi lựa chọn “**Nghiên cứu chế tạo và đánh giá khả năng chống oxy hóa của hệ nano Taxifolin**” làm đề tài cho luận văn.

Mục tiêu: Chế tạo hệ nano rắn và hệ vi nhũ tương nano của hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học là TAX, làm cơ sở và nguồn dữ liệu cần thiết góp phần trong việc chế tạo các hệ nano hợp chất tự nhiên khác. So sánh, đánh giá khả năng chống oxy hóa của các hệ nano đã chế tạo.

Nội dung luận văn gồm ba phần chính:

Chương 1: Tổng quan

Tổng quan lý thuyết về hoạt chất TAX. Tổng hợp tài liệu về một số hệ mang nano được sử dụng trong luận văn. Tổng quan về phương pháp đo khả năng chống oxy hóa ABTS.

Chương 2: Thực nghiệm

Trình bày phương pháp tổng hợp chế tạo các hệ nano (hệ TAX – β -CD và hệ nhũ tương nano TAX), các phương pháp thực nghiệm khảo sát tính chất vi mô, và khảo sát đặc tính chống gốc tự do ABTS* của các hệ nano chế tạo được.

Chương 3: Kết quả và thảo luận

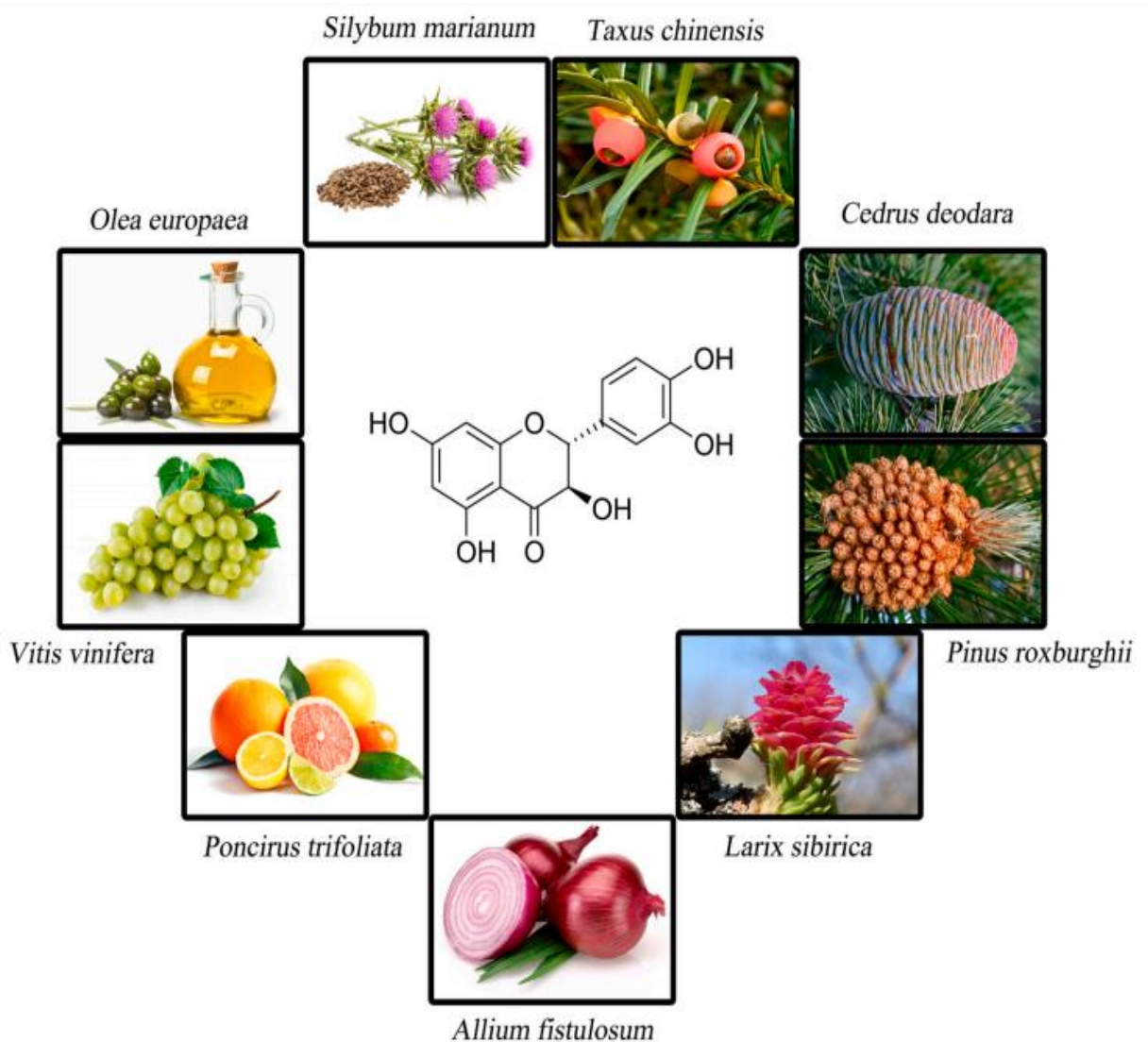
Phân tích, đánh giá chất lượng mẫu chế tạo khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến hình dạng, kích thước tiểu phân nano bằng kính hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao (High – Resolution Transmission Electron Microscopy – HR-TEM), kỹ thuật tán xạ ánh sáng động DLS (Dynamic Laser Scattering), phương pháp đo phổ hấp thụ UV-Vis đánh giá hoạt tính ức chế gốc tự do ABTS* của các hệ nano chế tạo, từ đó đánh giá khả năng hoàn thành mục tiêu đề ra của đề tài và cuối cùng là tóm tắt các kết quả thu được sau đó đưa ra nhận xét, kiến nghị và đề xuất hướng nghiên cứu tiếp theo.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về hoạt chất Taxifolin và hoạt tính sinh học nổi bật của nó

1.1.1. Nguồn gốc

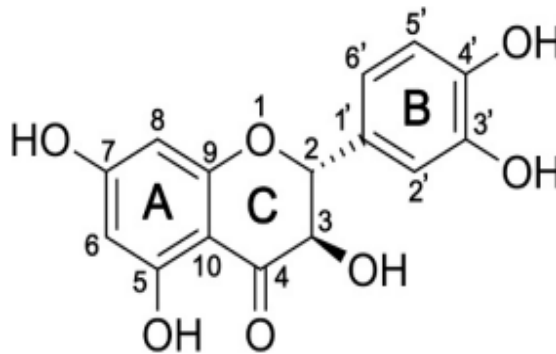
Taxifolin còn được gọi là dihydroquercetin, là một flavonoid thuộc phân nhóm euflavonoid. TAX được tìm thấy nhiều trong dầu ô liu, nho, trong trái cây họ cam quýt và hành tây. Cùng với đó, nó cũng được tìm thấy trong các loài cây lá kim như thông rừng lá Siberia, *Larix sibirica*, *Pinus roxburghii*, *Cedrus deodara* và ở cây thủy tùng Trung Quốc, *Taxus chinensis* var. *mairei*. Nó cũng thu được từ chiết xuất silymarin từ hạt cây kế sữa và trong giấm ủ trong gỗ anh đào [2].



Hình 1.1: Nguồn gốc từ tự nhiên của TAX [2]

1.1.2. Cấu trúc hóa học

Cấu trúc cơ bản của TAX (hình 1.2) bao gồm hai nhóm phenyl (vòng A và vòng B) được nối với nhau thông qua mạch ba carbon (vòng C). Cấu trúc chứa nhóm 3-hydroxyl ở vòng C được nối với vòng B ở carbon-2. TAX là một pentahydroxyflavone chứa năm nhóm hydroxyl ở các vị trí 3-, 3'-, 4'-, 5- và 7. Tên IUPAC của TAX là (2R, 3R)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5, 7-trihydroxy-2,3 dihydrochromen-4-one. Trọng lượng phân tử của TAX là 304,25 g/mol với công thức phân tử $C_{15}H_{12}O_7$ [2].



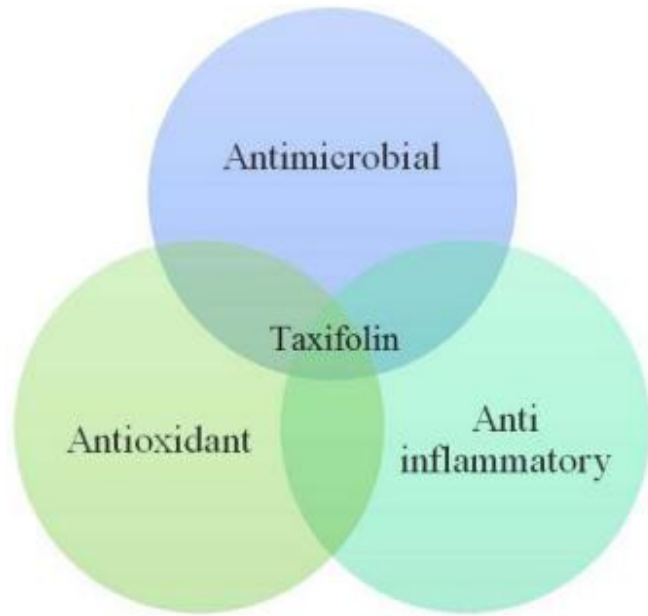
Hình 1.2: Cấu trúc hóa học của TAX [2]

1.1.3. Mối quan hệ cấu trúc – hoạt tính

TAX có các đặc điểm cấu trúc chung của nhóm hợp chất flavonoid, ngoài ra còn đặc điểm riêng góp phần vào việc tăng hoạt tính chống oxy hóa của nó đó là nhóm –OH ở vị trí B4'. Hoạt tính chống oxy hóa của một phân tử tăng lên khi số lượng nhóm hydroxyl gắn vào vòng thơm tăng lên. Salah và cộng sự đã chỉ ra rằng sự có mặt của nhóm 5 và 7-OH (hydroxyl) và nhóm chức 4-oxo trong vòng A và C chịu trách nhiệm cho tác dụng chống oxy hóa còn hai nhóm hydroxyl ở vị trí ortho trong vòng B làm tăng tính ổn định [4]. Sự có mặt của liên kết đôi C2-C3 rất quan trọng đối với hoạt tính ức chế của flavonoid. TAX thiếu liên kết đôi C2-C3 nên rất dễ bị bất hoạt do hình thành liên kết hydro mạnh với các đại phân tử.

1.1.4. Các nghiên cứu trên thế giới về hoạt tính sinh học của Taxifolin

Trong vòng hơn 50 năm trở lại đây, gần 600 công trình nghiên cứu (chủ yếu tiến hành tại Nga) về các tác dụng sinh hóa của TAX đã được công bố. Về cơ bản, có thể khái quát các tác dụng đó vào ba nhóm khả năng: khả năng chống oxy hóa (antioxidant), kháng viêm (anti-inflammatory) và kháng vi sinh (antimicrobial).



Hình 1.3: Những tác dụng sinh hóa quan trọng của hợp chất TAX

a) Khả năng chống oxy hóa

Đa số các hợp chất thuộc nhóm phenol, đặc biệt là các flavonoid đều có khả năng chống oxy hóa nhất định nhờ vào sự có mặt của các nhóm -OH liên kết với cấu trúc vòng thơm [5]. Là một hợp chất thuộc nhóm flavonoid, TAX cũng được chứng minh khả năng chống oxy hóa khả quan [6]. Nghiên cứu của Kolhir và các đồng sự về khả năng chống oxy hóa và bảo vệ mao mạch trên chuột trắng cho thấy TAX có hiệu quả hơn 3,4 lần ở liều 100 mg/kg và 4,9 lần ở liều 300 mg/kg so với quercetin [7]. Một nghiên cứu khác cho thấy TAX giúp làm giảm các tổn thương do stress oxy hóa trên tế bào vỏ não chuột, được giải thích theo cơ chế chống peroxy hóa lipid và bắt gốc tự do theo phương pháp DPPH [8]. Trong một bài nghiên cứu gần đây, TAX còn thể hiện khả năng ức chế quá trình chết rụng tế bào và sản sinh gốc tự do nội bào của tế bào biểu mô sắc tố võng mạc (ARPE-19) gây ra bởi tác nhân oxy hóa H_2O_2 [9].

b) Khả năng kháng viêm

Nghiên cứu của Gupta và cộng sự vào năm 1971 cho thấy TAX có hoạt tính kháng viêm khi làm giảm sự sưng phù trên chi trước của chuột trắng mắt đỏ albino [10]. Một nghiên cứu khác của Wang và cộng sự cho thấy TAX có tác dụng điều hòa sự kích hoạt của yếu tố nhân gây viêm NF- κ B giúp làm giảm 42% và 62% tổn thương do thiếu máu não cục bộ trên chuột thí nghiệm ở các liều tương ứng 0,1 và 1,0 μ g/kg [11]. Một

nghiên cứu gần đây vào năm 2018 còn chứng minh TAX có tính hiệu quả trong việc làm chậm quá trình loãng xương trên cả mô hình thí nghiệm *in vitro* và *in vivo* bằng cách ức chế NF- κ B và làm giảm biểu hiện của các gen liên quan tới quá trình hủy tế bào xương như TRAP, Cathepsin K, Mmp-9, C-Fos và RANK [12].

c) Khả năng kháng vi sinh

Hiện nay, tình trạng các vi khuẩn gây bệnh trở nên nhờn thuốc kháng sinh đang là một vấn đề nhức nhối của y học thế giới, đòi hỏi việc phát triển và đa dạng hóa những hợp chất kháng sinh mới. Nhóm các flavonoid nguồn gốc thực vật có khả năng kháng vi sinh thông qua cơ chế ức chế chức năng của màng tế bào, ngăn cản sự tổng hợp của các axit nucleic và làm tê liệt quá trình trao đổi chất của các vi sinh vật [13]. Một báo cáo vào năm 2015 cho thấy TAX ở các nồng độ khác nhau (0,5, 1,0, 2,0 và 5,0%) đều thể hiện đặc tính kháng vi sinh khi đánh giá trên các chủng vi khuẩn *E.coli* VL-163, tụ cầu khuẩn *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, trực khuẩn mủ xanh *Pseudomonas aeruginosa* 98 và *M.luteus* ATCC 10240 [14]. TAX cũng cho thấy tác dụng ức chế sự sinh sôi của chủng vi khuẩn gây sâu răng *S.sobrinus* với giá trị IC₅₀ ở 21,8 μ g/ml [15]. Ngoài ra, một nghiên cứu gần đây cho thấy TAX cũng có tác dụng ức chế sự sinh sôi của chủng trực khuẩn lao *M.tuberculosis* H37Rv với nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) < 12.5 μ g/ml [16].

1.2. Một số phương pháp chế tạo nano Taxifolin

Một số phương pháp giúp làm giảm kích thước tiểu phân và sinh khả dụng thông qua đường uống của các hợp chất có độ tan kém trong nước như TAX chẳng hạn như tạo phức với cyclodextrin [17], phương pháp sấy phun [17], nhũ tương nano [18]... Trong luận văn này, để làm tăng độ tan trong nước của dược chất, tôi sẽ sử dụng phương pháp tạo phức hợp giữa hoạt chất kém tan là TAX với β -CD tạo ra hệ phức nano rắn, đồng thời nano hóa TAX sử dụng hệ mang lỏng tự tạo vi nhũ tương (Self-nanoemulsifying drug delivery system - SNEDDS) với mục đích so sánh hệ nano nào đem lại lợi ích về đặc tính lý hóa, độ ổn định của hoạt chất trong hệ.

1.2.1. β -cyclodextrin và phương pháp tạo phức hợp với TAX

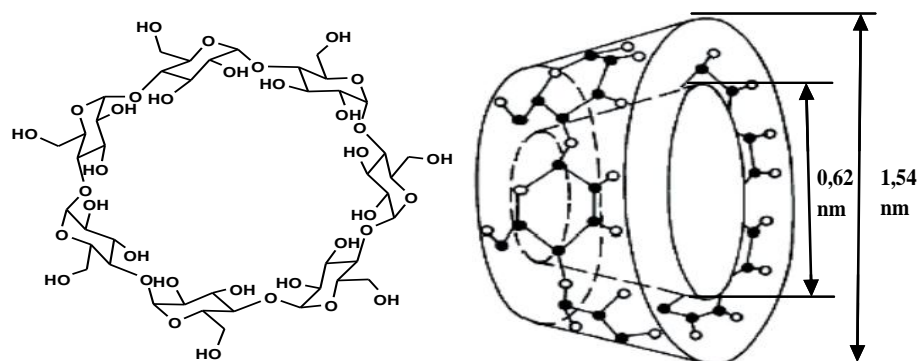
1.2.1.1. Cấu trúc của β -CD [19]

β -CD là một trong những cyclodextrin (CD) thuộc họ oligosaccharide mạch vòng với lỗ hồng trung tâm ưa chất béo và bề mặt ngoài ưa nước. Trong ngành công nghiệp

được phẩm và mỹ phẩm, các CD chủ yếu được sử dụng như tác nhân tạo phức nhằm tăng khả năng hòa tan trong nước của các loại thuốc hòa tan kém, tăng hoạt tính sinh dược học và tăng độ ổn định của chúng. Có ba loại CD tự nhiên là α , β , γ -CD lần lượt tương ứng với 6, 7, 8 đơn vị glucose, khác nhau về kích thước mạch vòng và độ hòa tan (bảng 1.1) [20]. Trong các loại CD tự nhiên, β -CD được sử dụng trên thực tế nhiều hơn bởi đặc tính cấu trúc, kích thước khoang và giá thành rẻ hơn. Phân tử β -CD chứa số lượng hydro cho và nhận tương đối lớn. β -CD được mô tả đầu tiên bởi Villiers vào năm 1891. Phân tử β -CD chứa bảy đơn vị α -D-glucopyranose được liên kết bằng liên kết α -1,4-glycoside (hình 1.4).

Bảng 1.1: Một số đặc tính của α , β , γ -CD

Loại CD	Đường kính khoang (Å)	Khối lượng phân tử (g/mol)	Độ hòa tan trong nước (g/100 mL)
α -CD	4,7-5,3	972	14,5
β -CD	6,0-6,5	1135	1,85
γ -CD	7,5-8,3	1297	23,2



Hình 1.4: Cấu trúc hóa học (trái) và kích thước (phải) của β -CD

Phân tử β -CD có hình dạng giống như hình nón cụt. Các nhóm chức hydroxyl (OH) định hướng ở mặt ngoài hình nón, trong đó những nhóm OH bậc một ở rìa hẹp của hình nón và những nhóm OH bậc hai ở rìa rộng hơn. Lỗ hổng trung tâm được bao bọc bởi khung carbon và nguyên tử oxy. Vị trí lỗ hổng hẹp của β -CD có các nhóm OH bậc

một và được gọi là mặt thứ nhất. Ngược lại, vị trí lỗ hồng rộng của β -CD mang các nhóm OH bậc hai và được gọi là mặt thứ hai.

Đường kính mặt ngoài của phân tử β -CD là 1,54 nm, đường kính lỗ hồng 0,60 – 0,65 nm (hình 1.4).

1.2.1.2. Độc tính của β -CD

Trên thực tế, sử dụng β -CD theo đường uống không gây ra độc hại nào. Các phân tử thuốc bao gói trong khoang nội phân tử của β -CD được giảm thiểu tối đa các độc tính trên cơ thể do chỉ sử dụng với liều lượng thấp nhất, đồng thời hạn chế tiếp xúc với màng sinh học do đó tránh được những kích ứng tại chỗ [21].

1.2.1.3. Đặc tính tạo phức của β -CD [19]

Đặc trưng đáng chú ý nhất của β -CD là có khả năng tạo thành phức chất ở trạng thái dung dịch và rắn với một phạm vi rộng của các chất ưa chất béo dạng rắn, lỏng, khí bằng hiện tượng tạo phức phân tử.

β -CD có khả năng bao các phân tử dược chất ít tan vào trong lỗ hồng của nó bởi vì các nhóm OH trên phân tử β -CD ở cả hai mặt sắp xếp ở mặt ngoài và mặt trong của lỗ hồng là môi trường kỵ nước, β -CD có thể bắt lấy các phân tử dược chất ít tan thích hợp vào lỗ hồng kỵ nước trong môi trường nước.

Trong các phức này, phân tử dược chất ít tan được giữ trong lỗ hồng của β -CD. Sự hình thành phức là sự phù hợp không gian giữa lỗ hồng của nó và phân tử dược chất ít tan.

Hoạt chất được giữ trong β -CD dẫn đến sự thay đổi các tính chất hóa lý và sinh học của nó, đặc biệt, các tính chất chịu ảnh hưởng nhiều hơn là tăng độ hòa tan trong nước của các dược chất không hòa tan tốt, sự ổn định của các dược chất không bền chống lại những tác động phân hủy của quá trình oxy hóa, ánh sáng và nhiệt tia cực tím, kiểm soát tính dễ bay hơi và thăng hoa, phân tách vật lý các hợp chất không tương thích, phân tách sắc ký, giảm mùi bằng cách giấu mùi, vị khó chịu và kiểm soát độ phóng thích của thuốc và hương vị.

1.2.1.4. Phương pháp điều chế nano từ β -CD bằng phương pháp phối trộn (nghiên)

Phương pháp nghiền trộn là quá trình phân chia nguyên liệu thành các tiểu phân có kích thước nhỏ. Trước khi nghiền, nguyên liệu được làm khô bằng các phương pháp phù hợp.

Dụng cụ nghiền trộn khá phong phú, trong quy mô phòng thí nghiệm thường dùng các loại cối là dụng cụ dùng để nghiền mịn dược chất. Về chất liệu có cối sứ để nghiền phần lớn các dược chất khô giòn; cối thủy tinh để nghiền các dược chất có màu, dễ bị oxy hóa; cối mã não để nghiền dược chất rắn cần có độ mịn cao; cối sắt, đồng dùng để nghiền khối dẻo. Về hình dáng, phần lớn cối có hình bát để dễ nghiền, xúc và vét dược chất ra khỏi cối. Khi nghiền trộn bằng cối chày cần chú ý chọn loại cối chày cho phù hợp với bản chất hóa học của dược chất và khối lượng, nghiền trộn đúng động tác: phá vỡ, giã nhỏ sau đó mới tiến hành nghiền mịn.

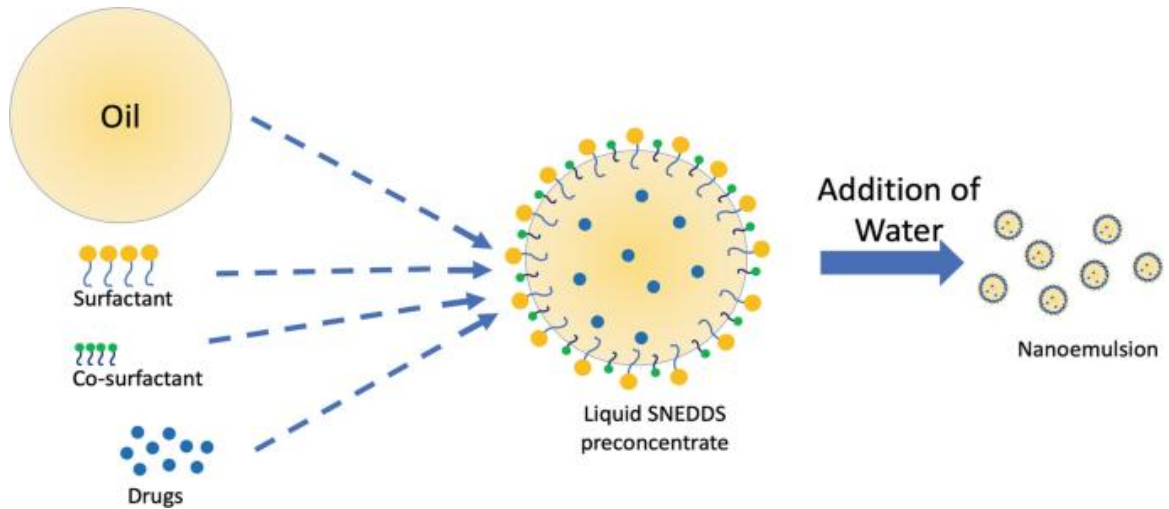
Để đảm bảo yêu cầu đồng nhất, người ta tiến hành trộn bột có khối lượng nhỏ, sau đó tăng dần. Quá trình trộn bột là quá trình phân tán tiểu phân giữa hai pha rắn nên khi tăng cường độ khuấy trộn có thể làm tăng độ khuếch tán. Thời gian trộn là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự đồng nhất của bột. Thời gian này phụ thuộc vào tính chất của từng loại bột, nhiều nghiên cứu cho thấy sau khi bột đã phân tán đồng nhất nếu kéo dài thời gian trộn sẽ làm ảnh hưởng đến chất lượng. Thiết bị và cách trộn có ảnh hưởng đến sự đồng nhất của bột. Do vậy trong sản xuất, người ta lựa chọn các loại máy trộn khác nhau theo dược chất, quy mô và tính chất của nguyên liệu được phối trộn.

1.2.2. Hệ nano tự nhũ hóa (Self-nanoemulsifying drug delivery system- SNEDDS) [22]

1.2.2.1. Khái niệm hệ nano tự nhũ hóa

Hệ nano tự nhũ hóa (self-nano emulsifying drug delivery system –SNEDDS) là dạng tiền nano nhũ tương hoặc dạng khan của nano nhũ tương, chứa hỗn hợp đồng nhất của dầu, chất hoạt động bề mặt, chất đồng hoạt động bề mặt và dược chất. Khi hòa trộn hệ tổ hợp này vào trong nước chúng sẽ tự hình thành các vi nhũ tương dạng dầu trong nước (O/W).

Khi đưa vào cơ thể bằng đường uống, SNEDDS tiếp xúc với dịch trong đường tiêu hóa, dưới tác động co bóp của dạ dày và nhu động ruột sẽ tự hình thành nhũ tương có kích thước giọt dầu cỡ nanomet.



Hình 1.5: Sơ đồ hình thành nhũ tương nano bằng công thức SNEDDS [22]

Việc chế tạo thành công hệ SNEDDS phụ thuộc vào sự hiểu biết thấu đáo về quá trình nhũ tương hóa nano cũng như các đặc tính hóa lý và sinh học của các thành phần được sử dụng để chế tạo SNEDDS. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiện tượng tự nhũ hóa nano là:

- + Bản chất hóa lý và nồng độ của pha dầu, chất hoạt động bề mặt và chất đồng nhũ hóa hoặc chất đồng hoạt động bề mặt hoặc chất hòa tan (nếu có);
- + Tỷ lệ các thành phần, đặc biệt là tỷ lệ dầu-chất hoạt động bề mặt;
- + Nhiệt độ và độ pH của pha nước nơi sẽ xảy ra quá trình nhũ hóa nano;
- + Các đặc tính hóa lý của thuốc, chẳng hạn như tính ưa nước/ưa dầu, pKa và sự phân cực.

1.2.2.2. Thành phần hệ nano tự nhũ hóa

a) Dược chất

Dược chất thuộc nhóm II và IV trong bảng phân loại sinh dược học, thường thân dầu, điểm nóng chảy thấp và liều thấp.

b) Pha dầu

Pha dầu là thành phần quan trọng trong công thức SNEDDs do các đặc tính hóa lý của dầu (thể tích phân tử, độ phân cực và độ nhớt) chi phối kích thước giọt nhũ tương nano, độ hòa tan và sinh dược học của nhũ tương nano.

Dầu được lựa chọn cần có khả năng hòa tan tối đa dược chất và tạo ra các giọt nano nhũ tương kích thước nhỏ. Các loại dầu có chuỗi hydrocarbon quá dài, như dầu thực vật (dầu đậu nành) hoặc chất béo trung tính chuỗi dài, rất khó để tự nhũ hóa, trong

khi các loại dầu có chiều dài chuỗi trung bình (triglyceride chuỗi trung bình) hoặc dầu có chuỗi ngắn như monoglycerid chuỗi trung bình và các este của acid béo (ethyl oleate), rất dễ tự nhũ hóa.

Các chất béo trung tính chuỗi dài có khả năng cải thiện vận chuyển thuốc qua hệ bạch huyết ở ruột (tránh chuyển hóa qua gan lần đầu). Monoglycerid chuỗi trung bình và di-glyceride hòa tan các thuốc kỵ nước tốt hơn và làm tăng tính thấm. Vì thế, khó có thể tìm được một loại dầu nào tối ưu được cả khả năng tự nhũ hóa và vận chuyển thuốc.

c) **Chất hoạt động bề mặt**

Thường sử dụng chất hoạt động bề mặt tan được trong nước. Nồng độ của chất hoạt động bề mặt trong SNEDDS có ảnh hưởng đáng kể đến kích thước giọt của nhũ tương nano.

Nhóm chất hoạt động bề mặt được sử dụng rộng rãi nhất là nhóm chất không ion hóa: polysorbate (Tween), sorbitan ester (span), polyoxyl (cremophor...), chất có giá trị HLB (hydrophilic lipophilic balance) từ 2-18, có thể sử dụng kết hợp với tá dược dầu để tạo vi nhũ tương.

Nhiều chất hoạt động bề mặt không ion hóa như cremophor EL, có khả năng tăng tính thấm và hấp thu các loại thuốc. Một số chất hoạt động bề mặt có thể gây kích ứng niêm mạc đường tiêu hóa và da ở nồng độ cao. Vì vậy trong xây dựng công thức nên lựa chọn sao cho nồng độ chất hoạt động bề mặt ở mức tối thiểu.

d) **Chất đồng nhũ tương, đồng hoạt động bề mặt và chất hòa tan**

Chất đồng nhũ tương, chất đồng hoạt động bề mặt hoặc chất hòa tan loại dược phẩm như propylene glycol, PEG, ethanol, glycerol thường được sử dụng trong SNEDDS nhằm các mục đích khác nhau, bao gồm:

Tăng lượng thuốc được đưa vào hệ SNEDDS;

Điều chỉnh thời gian tự nano hóa của SNEDDS;

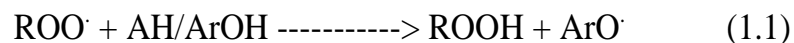
Điều chỉnh kích thước giọt của nhũ tương nano.

1.3. **Phương pháp đánh giá khả năng chống gốc tự do ABTS**

Hoạt tính chống oxy hóa là một trong những tiêu chí phổ biến và quan trọng nhất trong việc đánh giá sàng lọc thực phẩm và dược liệu giúp phòng và chữa bệnh. Các dạng oxy hoạt động, bao gồm các gốc tự do và các ion chứa oxy như hydroxyl / OH[•], peroxy / ROO[•], superoxide anion / O₂^{-•},... được sinh ra từ quá trình trao đổi chất có năng lượng cao và kém bền nên dễ dàng tấn công các đại phân tử như ADN, protein,...

gây biến dị, huỷ hoại tế bào, gây ung thư, các bệnh tim mạch, tiểu đường, béo phì... và gia tốc sự lão hoá của cơ thể [23]. Vì vậy, việc bổ sung các chất chống oxy hóa giúp kiểm soát hàm lượng gốc tự do mang lại nhiều lợi ích tốt cho cơ thể như bảo vệ sự toàn vẹn của tế bào, ngăn ngừa được một số tai biến, làm chậm quá trình lão hoá cơ thể, bảo vệ chức năng gan, hạn chế các tác nhân gây viêm, bảo vệ chức năng của hệ thần kinh, giảm thiểu các tác nhân gây ung thư và điều trị bệnh Alzheimer, Parkinson [23].

Cho đến nay, đã có rất nhiều phương pháp hóa phân tích được đưa ra với mục đích đánh giá khả năng chống oxy hóa của các mẫu hóa dược. Về cơ bản, có thể phân nhóm các phương pháp trên dựa theo khuynh hướng tập trung vào một trong hai cơ chế hoạt động của chất chống oxy hóa: cơ chế chuyển nguyên tử hydro (Hydrogen Atom Transfer – HAT) và cơ chế chuyển điện tử (Electron Transfer – ET). Cơ chế HAT có thể được biểu diễn bởi phản ứng:



theo đó một nguyên tử hydro của chất chống oxy hóa (thường là chất thuộc lớp phenol – ArOH) được chuyển sang gốc tự do không bền (thường là gốc peroxy $\text{ROO}\cdot$), tạo thành ROOH và gốc aryloxy $\text{ArO}\cdot$ bền hơn nhờ cấu trúc cộng hưởng. Trong phản ứng (1.1), AH đóng vai trò là các phân tử sinh học trong cơ thể được bảo vệ bởi phân tử chất chống oxy hóa ArOH khỏi sự tấn công của gốc tự do. Điều này có nghĩa một chất chống oxy hóa hiệu quả cần phải có tốc độ phản ứng với gốc tự do nhanh hơn so với các phân tử sinh học để có thể bảo vệ chúng khỏi quá trình oxy hóa. Thực tế, phần lớn các phương pháp dựa trên cơ chế HAT thường sử dụng phép đo động học (kinetic method) để theo dõi sự cạnh tranh của chất chống oxy hóa cần được nghiên cứu với chất chỉ thị nền trong việc phản ứng với gốc tự do peroxy được sinh ra từ sự phân hủy của một chất nguồn sinh gốc tự do, nổi tiếng nhất là phương pháp ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) được phát triển bởi Cao. G và các đồng sự vào năm 1993. Trong khi đó, các phương pháp dựa trên cơ chế ET lại đánh giá tổng khả năng nhường electron của chất chống oxy hóa để khử một chất chỉ thị (bao gồm gốc tự do, carbonyl hoặc ion kim loại). Một số phương pháp tiêu biểu dựa trên cơ chế ET gồm phương pháp đánh giá khả năng khử ion Fe^{3+} , phương pháp khử màu ABTS (ABTS decolorization assay), phương pháp Folin-Ciocalteu. Với sự đa dạng và ưu khuyết điểm đặc thù của từng phương pháp, hiện tại vẫn chưa có một phương pháp nào được coi là “tiêu chuẩn vàng” để đánh giá toàn diện khả năng chống oxy hóa của một mẫu hóa dược phẩm [23].

Trong luận văn này, chúng tôi sử dụng phương pháp ABTS đánh giá hoạt tính chống oxy hóa dựa trên sự khử gốc tự do cation 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS^{*}) có đỉnh hấp thụ UV-Vis đặc trưng ở bước sóng 734 nm. Để sinh ra dạng gốc tự do cation thì hợp chất ABTS cần được ủ với một chất oxy hóa mạnh như MnO₂ hoặc K₂S₂O₈ [24]. Khả năng chống oxy hóa của mẫu được chất được tính bằng sự sụt giảm tín hiệu quang của ABTS^{*} sau một khoảng thời gian cố định (khoảng 5 phút) và so sánh với nồng độ chất chuẩn Trolox cho kết quả tương đương. Phương pháp này có nhược điểm là sử dụng gốc tự do tổng hợp, không có trong cơ thể sống. Tuy nhiên, việc đánh giá tác dụng ức chế gốc tự do ABTS được thực hiện đơn giản, nhanh, cho kết quả ổn định, chi phí thấp, ngoài ra, còn có ưu điểm là áp dụng được với cả chất chống oxy hóa ưa nước và kỵ nước. Vì vậy, chúng thường được dùng để sàng lọc tác dụng ức chế gốc tự do của các mẫu, từ đó định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo.

CHƯƠNG 2: THỰC NGHIỆM

2.1. Tổng hợp hệ nhũ tương nano TAX

2.1.1. Hóa chất và dụng cụ thực nghiệm

Dung môi: ethanol 99,5%, nước cất.

Hóa chất: bột TAX (hàm lượng TAX $\geq 95\%$, tên thương mại: flavitol) được chiết xuất từ cây tùng Siberia (*Larix Sibirica*) có xuất xứ từ nước Nga, polyethylene glycol 400 (PEG 400), polysorbate 80 (Tween 80) được cung cấp bởi hãng Sigma-Aldrich, lecithin đậu tương 99% loại dược phẩm của Parul Trading Co., Ấn Độ.

Dụng cụ thiết bị: Cân phân tích, cốc thủy tinh, pipet, máy khuấy từ, nhiệt kế thủy ngân.

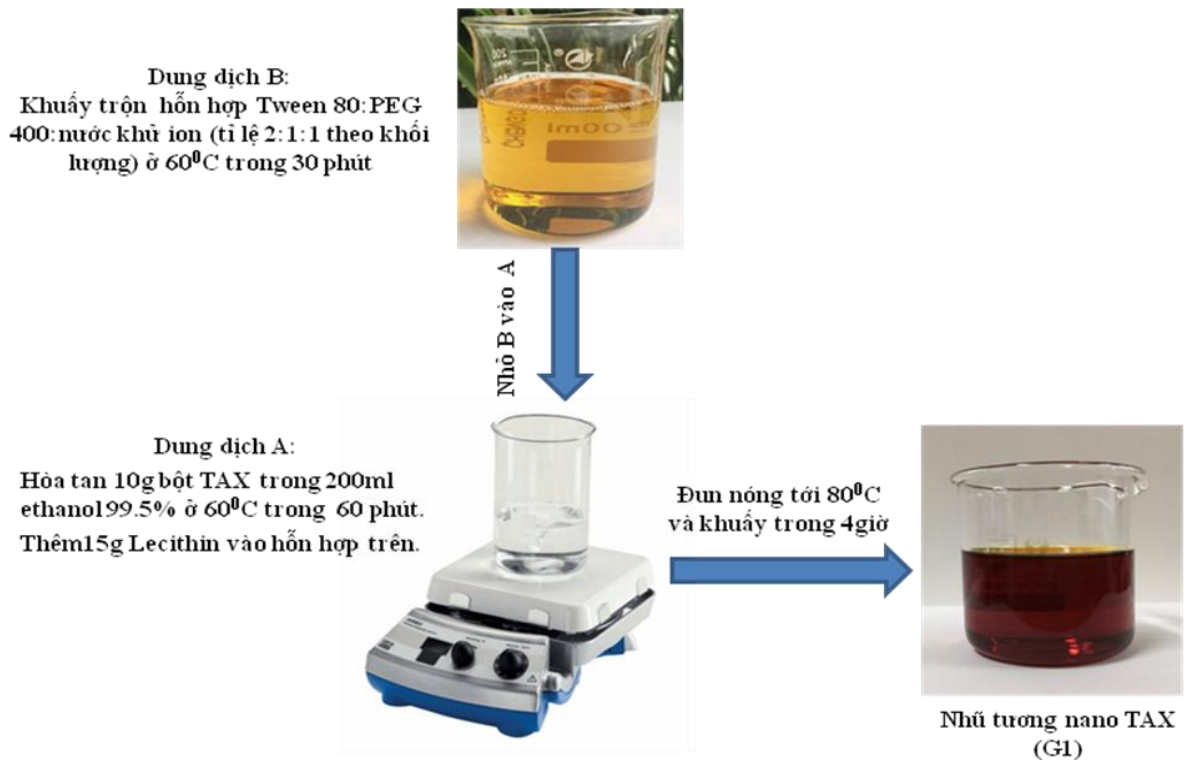
2.1.2. Quy trình tổng hợp hệ nhũ tương nano

Hệ truyền dẫn thuốc tự tạo nhũ tương nano chứa hoạt chất TAX (taxifolin loaded self-nanoemulsifying drug delivery systems - SNEDDS) được tạo nên bằng cách hòa tan TAX trong cồn tuyệt đối, tiếp theo sử dụng các chất hoạt động bề mặt là lecithin đậu tương, PEG 400 và Tween 80. Quy trình tạo hệ nhũ tương nano TAX được tiến hành theo ba bước (hình 2.1)

Bước 1: lấy 10 g bột TAX 95% hòa tan trong 200 ml ethanol 99,5%, đun trong cốc 500 ml, gia nhiệt 60°C , khuấy đều 400-500 rpm trên máy khuấy từ trong 60 phút đến khi tan hết. Tiếp theo bổ sung 15g lecithin đậu tương vào dung dịch trên, khuấy đều trong 60 phút, hỗn hợp được tiếp tục rung siêu âm trong 60 phút, thu được dung dịch A.

Bước 2: pha 85 g hỗn hợp gồm Tween 80:PEG 400:nước cất với tỉ lệ 2:1:1 theo khối lượng trong cốc 200ml, gia nhiệt lên 60°C khuấy đều 400-500 rpm trên máy khuấy từ trong 30 phút tạo hệ đồng nhất, thu được dung dịch B.

Bước 3: nhỏ giọt từ từ dung dịch B vào dung dịch A, gia nhiệt từ từ lên 80°C (tốc độ nâng nhiệt $2^{\circ}\text{C}/\text{phút}$), khi đạt nhiệt độ tiếp tục khuấy trong 4 giờ cho đến khi tạo thành hệ đồng nhất dạng gel màu nâu. Trong suốt quá trình chế tạo, hệ SNEDDS của hỗn hợp sẽ được đánh giá trực quan theo các mốc thời gian mỗi 30 phút một lần bằng cách pha loãng với nước tinh khiết cho tới khi quan sát thấy dung dịch trong suốt, quá trình chế tạo kết thúc, sản phẩm thu được kí hiệu là G1.



Hình 2.1: Sơ đồ quy trình tổng hợp hệ nhũ tương nano TAX

2.2. Tổng hợp chế tạo hệ phức nano TAX – β -CD

2.2.1. Hóa chất và dụng cụ thực nghiệm

Mẫu phân tích: β -CD (hãng Sigma) có độ sạch 97%; bột TAX (hàm lượng TAX \geq 95%, tên thương mại: flavitol) của Nga.

Dung môi: ethanol 99,5%, nước cất.

Dụng cụ thiết bị: Cân phân tích, máy trộn, tủ sấy nhiệt.

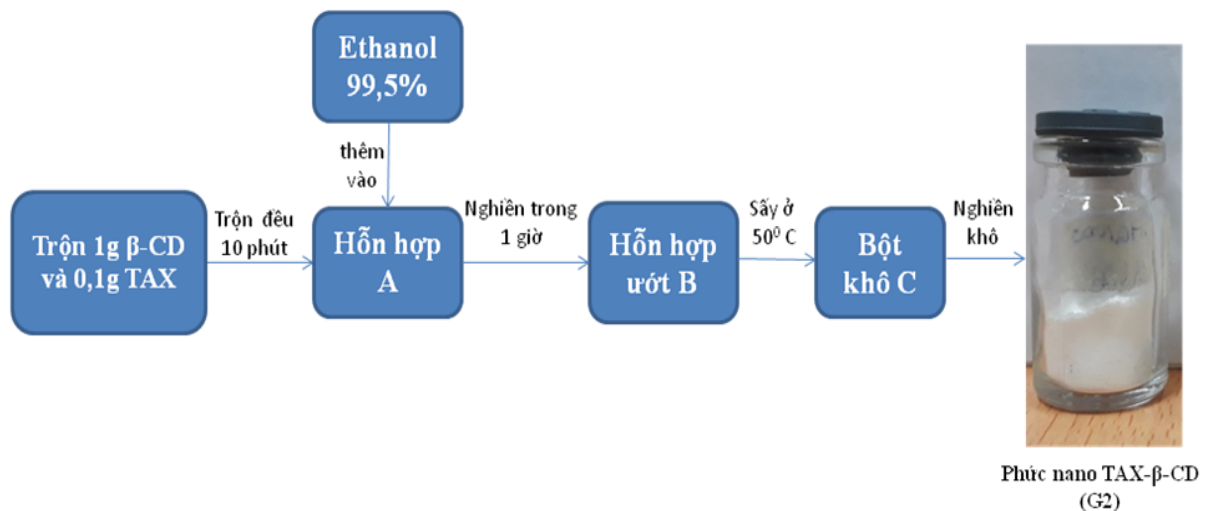
2.2.2. Quy trình tổng hợp hệ phức nano rắn

Hệ nano rắn sử dụng β -CD làm vỏ bao hoạt chất TAX được tiến hành theo ba bước:

Bước 1: cân 1g β -CD và 0,1g bột TAX (β -CD: bột TAX với tỉ lệ 10:1 theo khối lượng) trộn đều trong máy trộn trong thời gian 10 phút, thu được hỗn hợp A.

Bước 2: bổ sung ethanol 99,5% vào hỗn hợp A và nghiền trong 1 giờ bằng cối mã nã, thu được hỗn hợp dạng ướt B.

Bước 3: làm khô hỗn hợp B bằng tủ sấy ở nhiệt độ 50⁰C, thu được bột khô C. Nghiền khô lại C bằng cối mã nã để tạo được bột mịn. Sản phẩm thu được kí hiệu là G2 được bảo quản ở nhiệt độ phòng.



Hình 2.2: Sơ đồ quy trình tổng hợp hệ nano rắn TAX – β-CD

2.3. Các phương pháp nghiên cứu khảo sát tính chất vật liệu

Đặc điểm hình thái học của các mẫu sau quá trình tổng hợp được khảo sát bởi các phép đo sau: phép đo hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao (HR-TEM) dùng để kiểm tra hình thái cấu trúc vật liệu, phương pháp đo DLS xác định kích thước tiểu phân (KTTP) trung bình, độ đồng nhất của phân bố KTTP được biểu diễn bằng hệ số đa phân tán (polydispersity index - PDI), phép đo phổ hấp thụ tử ngoại – khả kiến (UV-Vis) dùng để xác định hàm lượng hoạt chất DHQ có trong các mẫu chế tạo, độ ổn định của hoạt chất trong hệ và đánh giá hoạt tính ức chế gốc tự do ABTS* mà hai hệ nano mang lại.

2.3.1. Phương pháp hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao (HR-TEM) [19]

Đặc điểm hình dạng, kích thước của các tiểu phân nano trong hai hệ đã tổng hợp được xác định bằng cách đo HR-TEM (high-resolution transmission electron microscopy - kính hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao) JEM-2100 của hãng JEOL, Nhật Bản (hình 2.3) được đặt tại Viện Khoa học vật liệu – Viện hàn lâm khoa học và công nghệ Việt Nam. Mẫu G1 được hòa tan trong nước, sau đó sấy khô bề mặt rồi được nhỏ trên lưới đồng. Mẫu G2 được hòa tan trong ethanol 99,5%, sau đó rung siêu âm trước khi được đặt lên lưới đồng.

HR-TEM là một thiết bị nghiên cứu vi cấu trúc vật rắn, sử dụng chùm điện tử có năng lượng cao chiếu xuyên qua mẫu vật rắn mỏng và sử dụng các thấu kính từ để tạo ảnh với độ phóng đại lớn (có thể tới hàng triệu lần), ảnh có thể tạo ra trên màn huỳnh quang, trên film quang học, hay ghi nhận bằng các máy chụp kỹ thuật số.

Ưu điểm: Tạo ra ảnh cấu trúc vật rắn với độ tương phản, độ phân giải cao, cung cấp đồng thời hình ảnh và thông tin nhiễu xạ của mẫu vật. HR-TEM cho ảnh thật của cấu trúc bên trong vật rắn nên đem lại nhiều thông tin hơn, đồng thời rất dễ dàng tạo ra các hình ảnh này ở độ phân giải tới cấp độ nguyên tử.

Nhược điểm: Giá thành của nó rất cao, đồng thời đòi hỏi các điều kiện làm việc như chân không cao, sự ổn định về điện và nhiều phụ kiện đi kèm.



Hình 2.3: Máy đo TEM JEM – 2100 của hãng JEOL, Nhật Bản

2.3.2. Phương pháp tán xạ ánh sáng động DLS [25]

KTTP là một trong những thông số cơ bản nhất của tiểu phân nano, là yếu tố xác định chính khả năng phân bố và lưu giữ của các tiểu phân nano ở cơ quan đích. Phương pháp tán xạ ánh sáng động (dynamic light scattering – DLS) là phương pháp phổ biến nhất được sử dụng để xác định KTTP với kết quả thu được của phép đo thường là KTTP trung bình của các lần đo lặp lại.

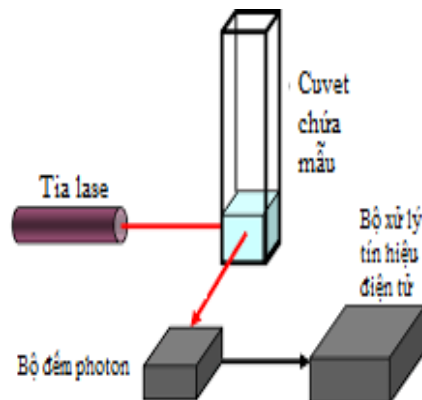
Nguyên tắc của phương pháp DLS là đo sự chuyển động Brown của các tiểu phân nano trong hỗn dịch và thể hiện mối liên quan đến vận tốc chuyển động của chúng thông qua hệ số khuếch tán D . Hệ số khuếch tán D phụ thuộc vào KTTP của các tiểu phân nano được thể hiện qua phương trình Stokes-Einstein như sau:

$$D = kT / 3\pi\eta d \quad (2.1)$$

Trong đó: D : Hệ số khuếch tán, k : Hằng số Boltzmann, T : Nhiệt độ, η : Độ nhớt môi trường phân tán, d : đường kính trung bình các hạt nano trong mẫu khảo sát

KTTP được định nghĩa là kích thước của một hạt hình cầu khuếch tán tương tự như các tiểu phân nano cần xác định kích thước. Ngoài KTTP trung bình, phép đo này còn đưa ra kết quả về độ đồng nhất của phân bố KTTP. Độ đồng nhất được biểu diễn bằng hệ số đa phân tán PDI. Giá trị PDI nằm trong khoảng 0,1 đến 0,25 chứng tỏ sự phân bố hẹp của KTTP, trong khi giá trị PDI lớn hơn 0,5 sẽ thể hiện một sự phân bố rộng của KTTP.

Thiết bị thường được sử dụng để đo KTTP của các tiểu phân nano là thiết bị Zetasizer của hãng Malvern và phân bố kích thước theo cường độ (Intensity Size Distributions) là kết quả chính thu được từ phương pháp đo DLS. Các thông số cần thiết đối với phép đo này đó là độ nhớt và chỉ số khúc xạ của môi trường phân tán. Trong luận văn này sử dụng máy đo Zetasizer Nano S90 của hãng Malvern Instruments, Vương quốc Anh được đặt tại Viện Vật Lý, Viện Hàn lâm khoa học và công nghệ Việt Nam.



Hình 2.4: Máy đo Zetasizer S90 của hãng Malvern Instruments (trái) và nguyên tắc hoạt động của nó (phải)

2.3.3. Phương pháp phổ hấp thụ tử ngoại – khả kiến (UV-Vis) [26]

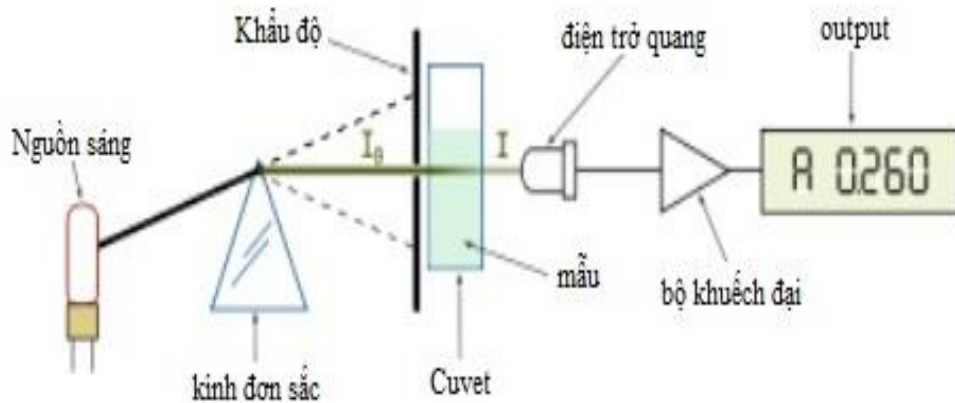
Phổ hấp thụ tử ngoại khả kiến UV-Vis là một phương pháp hữu ích trong việc nghiên cứu tính chất quang của vật liệu, dựa trên khả năng hấp thụ một cách chọn lọc bước sóng của vật liệu để xác định tính chất của chúng. Phổ hấp thụ biểu diễn sự phụ thuộc của hệ số hấp thụ α của vật liệu vào bước sóng ánh sáng tới. Nguyên lý cơ bản của phép đo UV-Vis là chiếu một chùm ánh sáng đơn sắc có cường độ I_0 vào môi trường chứa vật liệu có bề dày l (cm), nồng độ vật liệu trong môi trường C (mol/l). Khi đó chùm tia này sẽ bị môi trường hấp thụ một phần và truyền qua một phần, bằng cách

đo tín hiệu cường độ ánh sáng truyền qua I nhờ hệ thống detector và phân tích tín hiệu sẽ cho ra dạng phổ là đường phụ thuộc của hệ số hấp thụ vào bước sóng tới I_0 . Cường độ I của chùm tia truyền qua môi trường tuân theo định luật Lambert-Beer:

$$A = \epsilon l C \quad (2.2)$$

Trong đó A là độ hấp thụ quang của vật liệu hay còn gọi là mật độ quang được tính bằng $\ln(I_0/I)$, l là độ dày truyền quang (cm), C là nồng độ của mẫu (mol/l), ϵ là hằng số tỉ lệ hay độ hấp thụ quang riêng của từng mẫu được tính theo l/mol.cm, đại lượng I/I_0 gọi là độ truyền qua T.

Trong luận văn này, phổ UV-Vis được ghi lại trên thiết bị UV-Vis AvaSpec-ULS2048x16 của hãng Avantes của Viện Vật Lý.



Hình 2.5: Sơ đồ nguyên lý hệ đo phổ hấp thụ UV-Vis 1 chùm tia UV-Vis AvaSpec-ULS2048x16 của hãng Avantes

2.3.4. Xác định hàm lượng TAX trong các hệ nano

Xây dựng đường chuẩn của bột TAX 95%: cân chính xác khoảng 10g bột TAX 95% hòa tan và vừa đủ bằng nước cất vào bình định mức 100 ml, khuấy từ cho tới khi tan hết, thu được dung dịch gốc. Từ dung dịch gốc, tôi tiến hành pha loãng 5; 10; 12,5; 20; 25; 50 lần bằng nước cất thu được dãy dung dịch các nồng độ. Phương pháp đo phổ hấp thụ UV-Vis giúp xác định độ hấp thụ tại bước sóng đặc trưng của hoạt chất TAX ở 289 nm bằng máy đo quang phổ UV-Vis AvaSpec-ULS2048x16 của hãng Avantes (dải đo từ 200 – 1150 nm).

Hàm lượng TAX trong hai mẫu nano chế tạo được xác định theo công thức:

$$H\% (kl/kl) = \frac{(A-b) \times D \times V}{a \times 10^6 \times m} \times 100 \quad (2.3)$$

Trong đó: A: độ hấp thụ của mẫu nano tại $\lambda=289$ nm

a, b: hệ số trong đường chuẩn tuyến tính của bột TAX 95%

D: độ pha loãng nồng độ dung dịch

V: thể tích pha dung dịch ban đầu

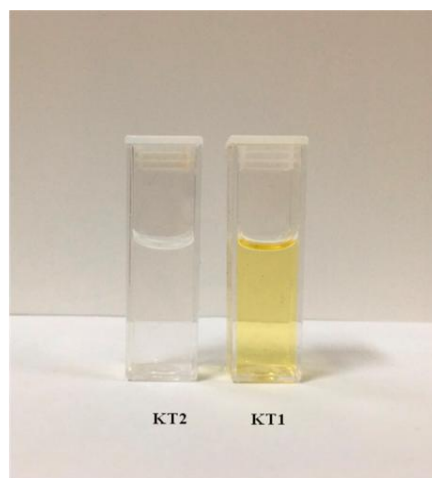
m: khối lượng cân mẫu chế phẩm nano ban đầu

Cân chính xác khoảng 100 mg mỗi mẫu nano G1 và G2 hòa tan và vừa đủ bằng nước cất vào hai bình định mức 50 ml ghi tên từng mẫu, khuấy từ cho tới khi dung dịch đồng nhất, thu được dung dịch gốc. Từ mỗi dung dịch gốc đem pha loãng 10 lần, lần lượt thu được dung dịch khảo sát G1-D10, G2-D10 đem đo UV-Vis để xác định độ hấp thụ tại bước sóng đặc trưng của TAX ở 289 nm. Thay số liệu đo được vào công thức (2.3) sẽ tính toán được hàm lượng TAX trong từng mẫu nano G1, G2; đo ba lần (n=3) và lấy giá trị trung bình.

2.3.5. Khảo sát độ ổn định của các hệ nano trong nước cất

Khảo sát độ ổn định của hai hệ nano chế tạo được: bằng cách theo dõi sự thay đổi cường độ hấp thụ của hai dung dịch có nồng độ là G1-D10 và G2-D10 tại bước sóng 289 nm theo thời gian bằng máy đo quang phổ UV-Vis và khảo sát kích thước các tiểu phân nano khi phân tán trong nước cất. Mục đích của các phép đo này là đánh giá sự tách pha trong các hệ nano.

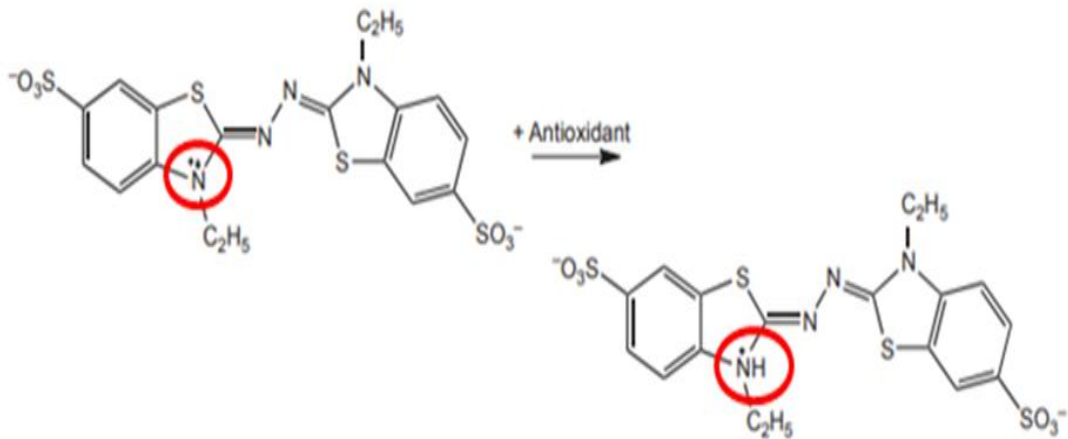
Đối với phép đo kích thước tiểu phân, pha loãng hỗn hợp mẫu G1, G2 bằng nước cất (tỉ lệ 1:200) cho đến khi dung dịch đồng nhất rồi cho vào cuvet polystyrene (loại dùng một lần) được kí hiệu lần lượt là KT1, KT2 (hình 2.6). Các nghiên cứu kích thước tiểu phân được tiến hành ở nhiệt độ 25⁰C. Tất cả các phép đo được thực hiện với độ nhớt là 0,8872 cP, chỉ số khúc xạ của nước là 1,330, mỗi phép đo được đo 3 lần đã được cài đặt trước trong phần mềm đo.



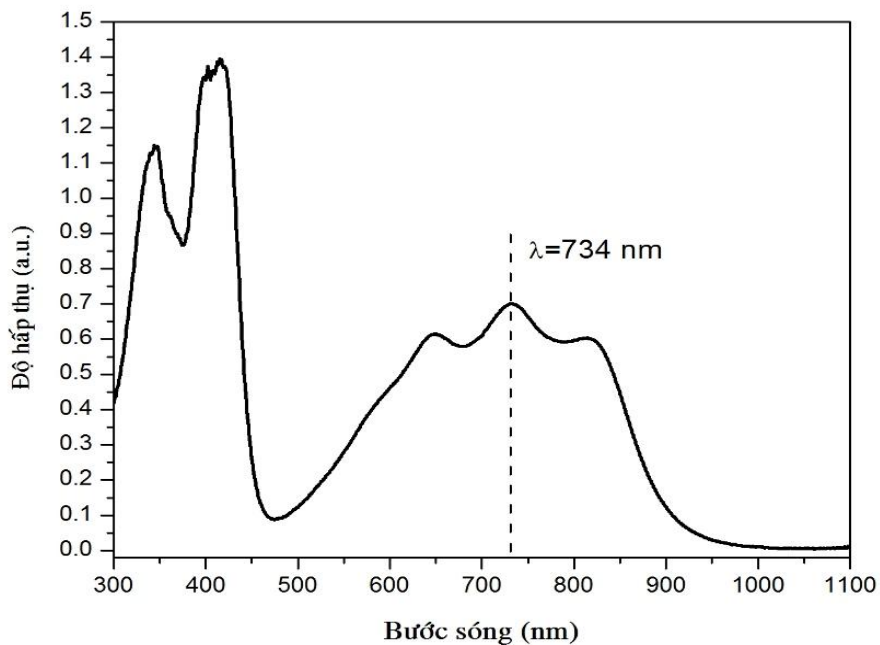
Hình 2.6: Mẫu được chuẩn bị đo kích thước tiểu phân: KT1 (phải) và KT2 (trái) lần lượt của các mẫu nano G1, G2 khi phân tán trong nước cất

2.4. Đánh giá khả năng chống gốc tự do ABTS của các hệ nano

Xác định khả năng chống gốc tự do ABTS là phương pháp dựa trên khả năng làm giảm độ hấp thụ của gốc tự do cation ABTS* bởi các hoạt chất có hoạt tính chống oxy hóa ở bước sóng 734 nm. Cường độ màu của ABTS* tỷ lệ nghịch với nồng độ chất chống oxy hóa và thời gian phản ứng.



Hình 2.7: Phản ứng giữa gốc ABTS* và chất chống oxy hóa



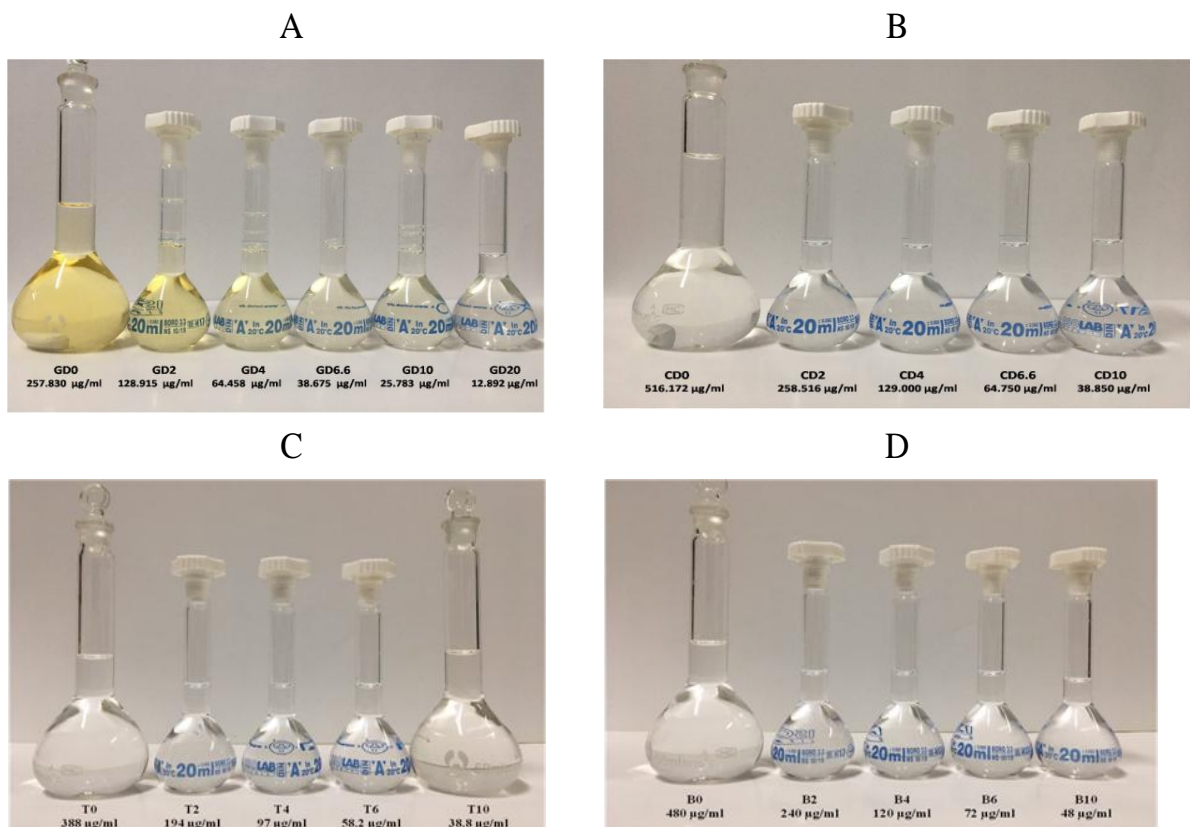
Hình 2.8: Phổ hấp thụ UV-Vis của ABTS*

2.4.1. Pha dung dịch thuốc thử và mẫu đo hoạt tính

Pha dung dịch thuốc thử: lấy 5 ml dung dịch ABTS có nồng độ 7 mM cho phản ứng với 5 ml dung dịch K₂S₂O₈ nồng độ 2,45 mM (tỉ lệ 1:1 theo thể tích), phản ứng diễn ra

trong bóng tối trong 12-16 giờ ở nhiệt độ phòng, thu được dung dịch hoạt hóa ABTS* (dung dịch Stock). Pha loãng dung dịch Stock bằng nước cất đạt đến độ hấp thụ $0,7 \pm 0,02$ ở bước sóng 734 nm [27, 28, 29]

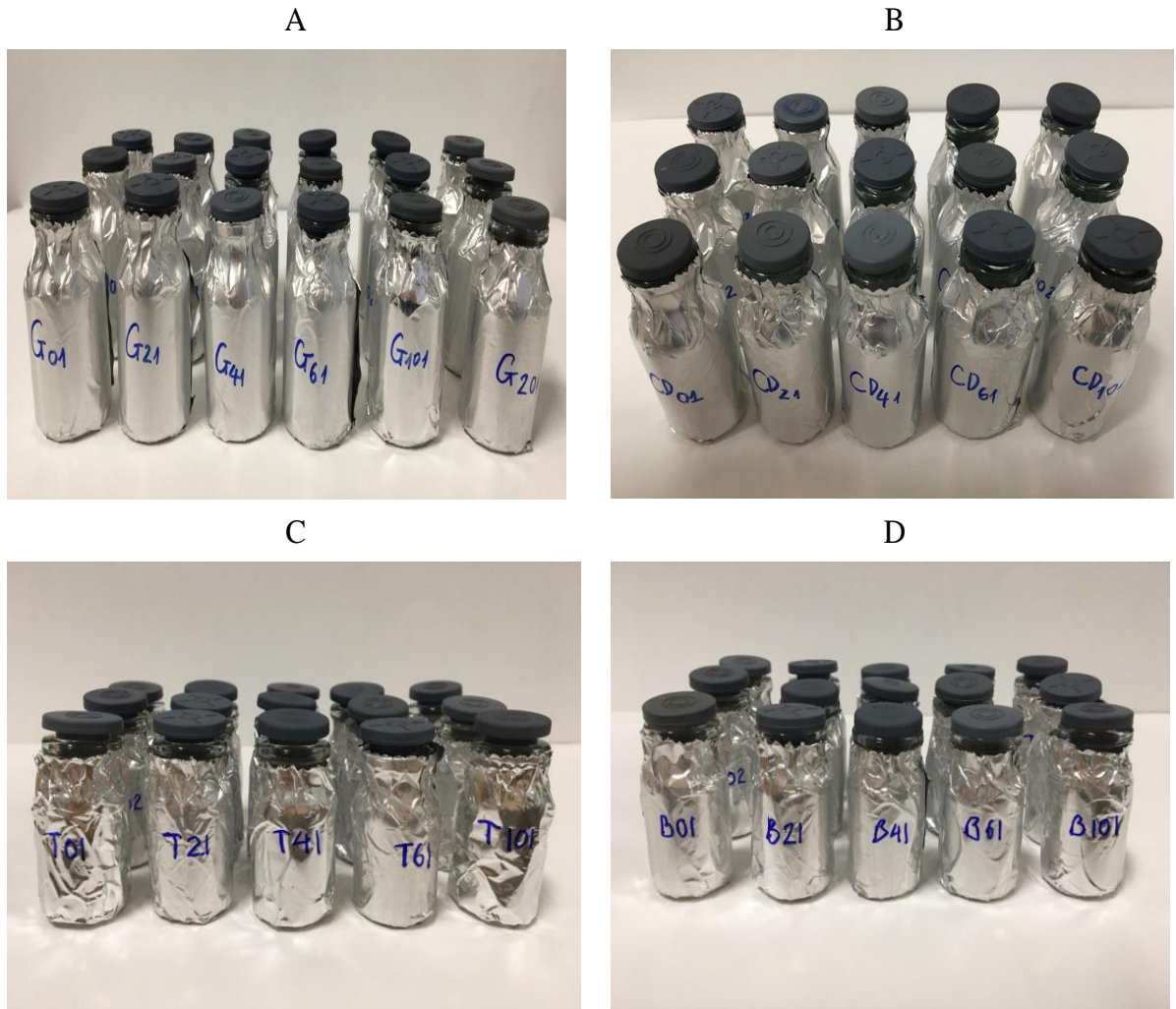
Pha dung dịch mẫu đo: Tiến hành cân và tạo thành các dãy nồng độ mẫu đo nằm trong giới hạn đo của máy đo UV-Vis để khảo sát đối với mẫu đối chứng dương Trolox (38,8-388 $\mu\text{g/ml}$) là một chất tương tự tan trong nước của vitamin E được thương mại hóa bởi Sigma-Aldrich, mẫu nano G1 (12,8-257,8 $\mu\text{g/ml}$), G2 (38,8-516,1 $\mu\text{g/ml}$), bột DHQ (48-480 $\mu\text{g/ml}$) như trong hình 2.9



Hình 2.9: Dải nồng độ dung dịch của mẫu G1(A), G2 (B), Trolox (C) và bột DHQ (D) trước khi cho thuốc thử ABTS* phản ứng

2.4.2. Tiến hành phản ứng xác định hoạt tính

Lấy 20 μL chất chuẩn/mẫu thử/mẫu blank cho phản ứng với 2ml thuốc thử ABTS*, lắc đều và ủ ở nhiệt độ phòng trong bóng tối 5 phút, đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 734nm (hình 2.9). Mẫu blank được thay bằng 20 μL nước cất.



Hình 2.10: Dãy nồng độ dung dịch của mẫu G1 (A), mẫu G2 (B), Trolox (C) và bột DHQ (D) khi cho thuốc thử ABTS* (mỗi nồng độ lặp lại 3 lần, n=3)

2.4.3. Công thức tính

Hoạt tính chống oxy hóa được xác định theo công thức:

$$\% \text{ ỨC CHẾ GỐC TỰ DO} = \left(1 - \frac{A_{734}^{\text{sample}}}{A_{734}^{\text{blank}}} \right) \times 100 \quad [30] \quad (2.4)$$

Trong đó:

A_{734}^{sample} : độ hấp thụ quang của mẫu chuẩn/ mẫu thử sau khi phản ứng với ABTS* tại bước sóng 734 nm

A_{734}^{blank} : Độ hấp thụ quang của mẫu nước cất sau khi phản ứng với ABTS* tại bước sóng 734 nm

Từ giá trị % ức chế gốc tự do và nồng độ mẫu dựng được đường hồi quy tuyến tính có dạng $y=ax+b$ với y là % ức chế gốc tự do, x là nồng độ chất chuẩn/thử ($\mu\text{g/ml}$), từ

đó tính được giá trị IC_{50} (khả năng ức chế được 50% gốc ABTS* của mẫu). Giá trị IC_{50} càng thấp tương ứng với hoạt tính chống oxy hóa của mẫu thử càng cao và ngược lại.

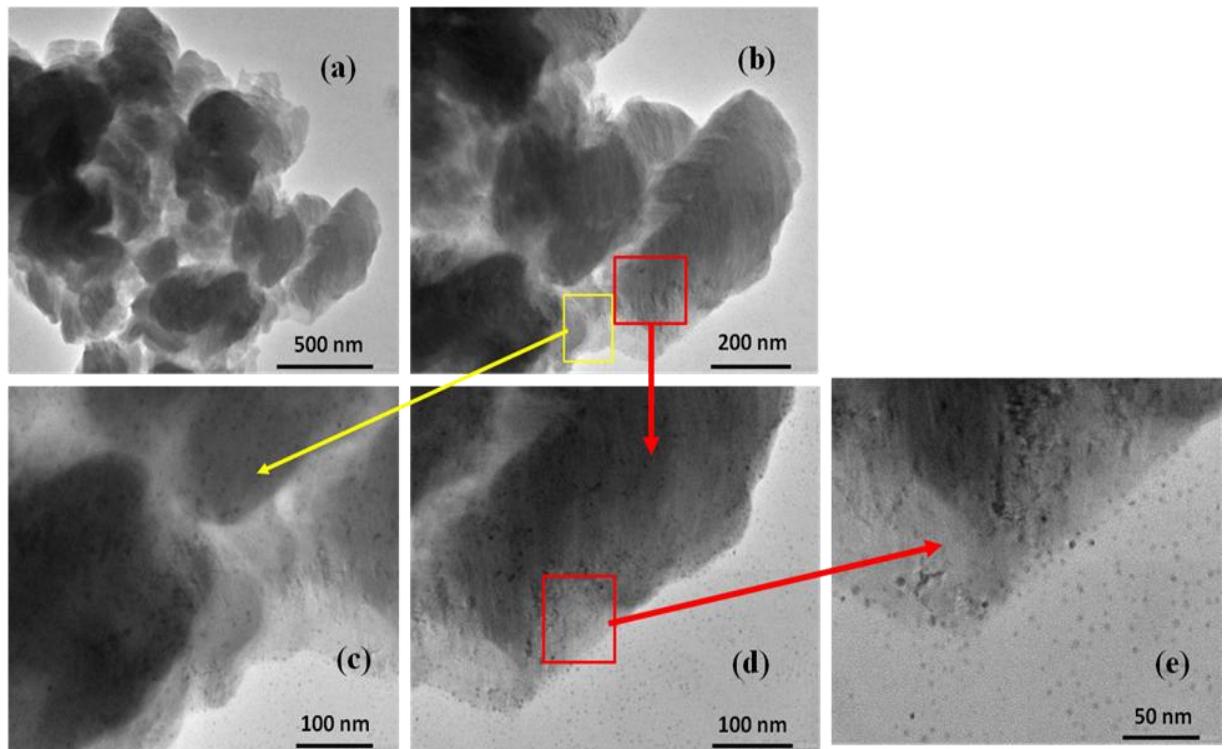
Mỗi nồng độ thí nghiệm được lặp lại 3 lần, kết quả thể hiện trong luận văn là trung bình của 3 lần lặp lại.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

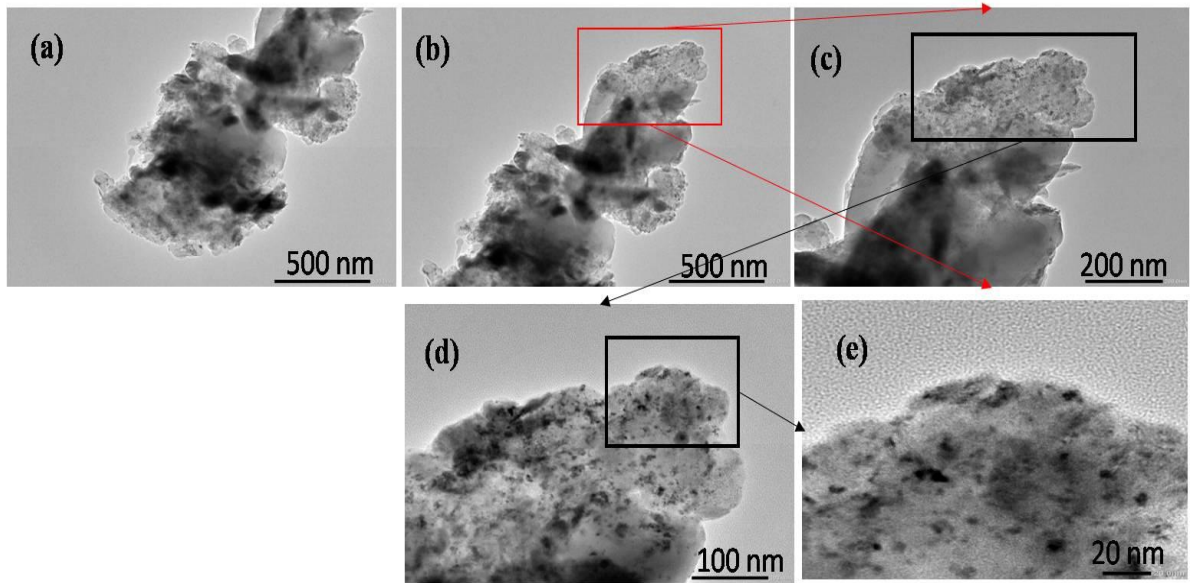
3.1. Khảo sát các đặc tính vật lý của các hệ nano

3.1.1. Kết quả đánh giá hình thái cấu trúc tiêu phân

Cả mẫu G1 và mẫu G2 đã được chúng tôi đem đi chụp ảnh kính hiển vi điện tử truyền qua để khảo sát hình thái bề mặt, kích thước tiêu phân cũng như cấu tạo tinh thể của vật liệu chế tạo được. Hình 3.1 là ảnh HR-TEM của mẫu dạng gel lỏng chế tạo được bằng phương pháp SNEDDS với các độ phóng đại tăng dần từ hình (a) tới hình (e). Các vùng phóng đại được biểu diễn bằng các ô màu đỏ và vàng giống như trong hình (b), (c), (d), (e). Từ hình (a), (b) ta thấy xuất hiện một loại hạt vô định hình kích thước tương đối lớn, có khả năng là màng nhầy, điều này chúng tôi nghĩ tới việc xử lý mẫu trước khi đo làm thành phần tá được kết dính tạo thành lớp màng nhầy. Khi phóng đại vùng phía trên của đám hạt này ta có thể thấy có các hạt nano hình cầu với kích thước rất nhỏ khoảng 5-10 nm nằm phân bố khá đều trên và bên ngoài các hạt vô định hình trên.

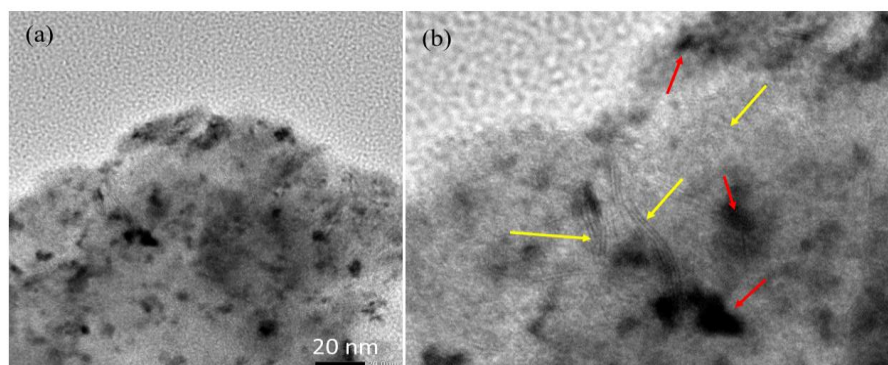


Hình 3.1: Ảnh HR-TEM của mẫu nhũ tương TAX dạng gel lỏng (G1) với các độ phóng đại khác nhau



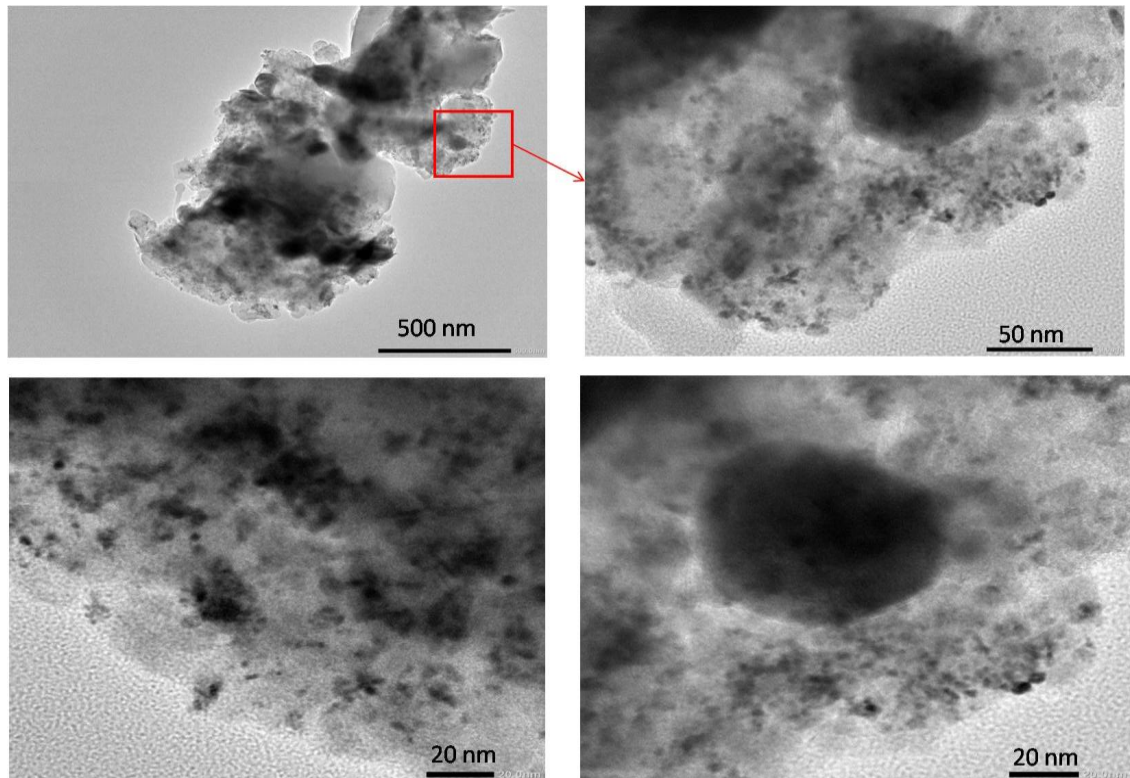
Hình 3.2: Ảnh HR-TEM của mẫu phức nano TAX – β -CD (G2) dạng bột với các độ phóng đại khác nhau

Hình 3.2 là ảnh HR-TEM của mẫu G2 - mẫu phức nano TAX – β -CD dạng bột chế tạo được bằng phương pháp nghiền trộn với các độ phóng đại tăng dần từ hình (a) tới hình (e). Các vùng phóng đại được biểu diễn bằng các ô màu đỏ và đen giống như trong hình (b), (c), (d). Từ hình (a) và (b) với độ phóng đại 25000 lần ta có thể thấy một đám với kích thước chiều dài khoảng 2 μ m với độ truyền qua khá tốt. Khi phóng đại vùng phía trên của đám hạt này ta có thể thấy có các hạt nano với kích thước rất nhỏ nằm phân bố khá đều trên một vùng cấu trúc vô định hình. Kết quả này thấy rõ ràng hơn trong hình (e) với độ phóng đại lên đến 200K lần. Các hạt này đo được với kích thước vào khoảng 2~10 nm.



Hình 3.3: Ảnh HR-TEM với độ phóng đại 200k lần (a) và vùng phóng đại trên đỉnh của ảnh (b)

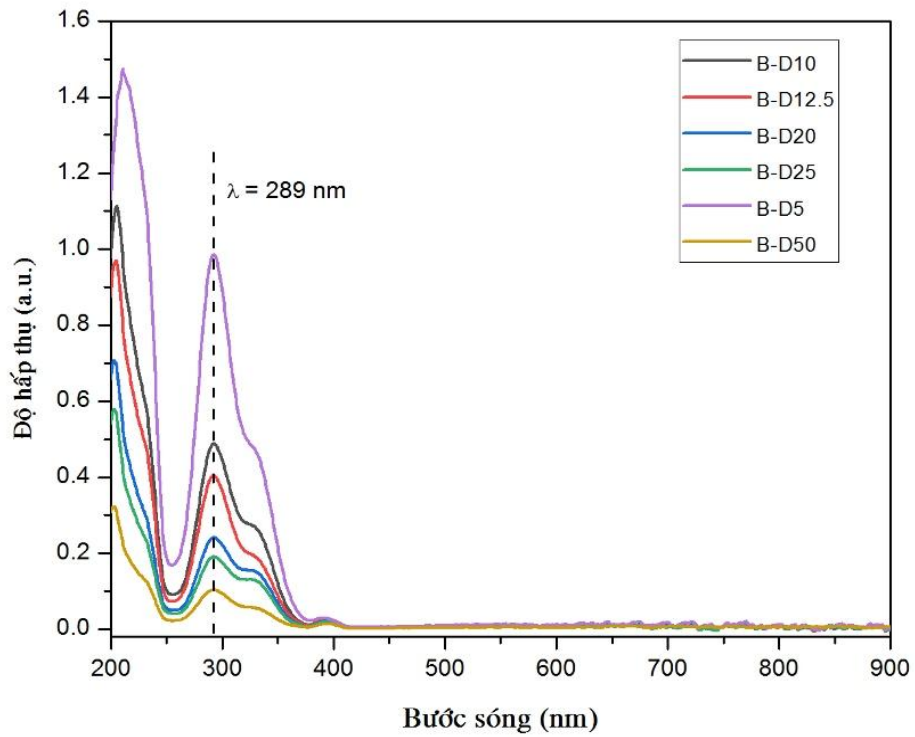
Để làm rõ hơn về cấu trúc tinh thể và kích thước của các hạt như đã thảo luận ở trên, chúng tôi đã phóng đại vùng đỉnh của ảnh HR-TEM với độ phóng đại 200k lần. Có thể thấy rằng các hạt phân bố với kích thước từ 2~10 nm nằm rải rác trên một vùng có cấu trúc vô định hình như các mũi tên màu đỏ trên hình 3.3(b). Hơn nữa, khi phóng đại ảnh TEM ta có thể thấy các đường vân được cho là của cấu trúc 2D với độ dày nhỏ hơn 5 nm như được chỉ ra bởi các mũi tên màu vàng trên hình 3.3(b). Bên cạnh đó cũng xuất hiện các hạt nano có kích thước 60-70 nm (hình 3.4).



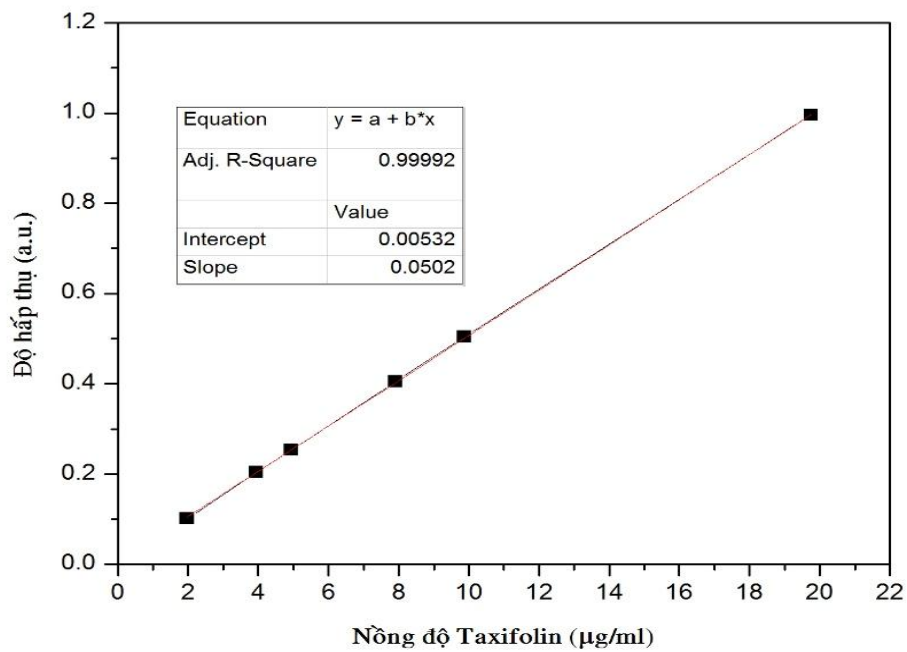
Hình 3.4: Ảnh HR-TEM của mẫu phức nano TAX – β -CD (G2) có hạt nano 60-70 nm

3.1.2. Kết quả tính toán hàm lượng TAX trong các hệ nano

Phép đo quang phổ UV-Vis xác định độ hấp thụ của dải nồng độ dung dịch của bột TAX 95% tại bước sóng 289 nm được liệt kê chi tiết trong bảng 3.1, hình 3.5 và hình 3.6:



Hình 3.5: Phổ hấp thụ UV-Vis tại $\lambda=289$ nm của dãy nồng độ TAX trong mẫu bột TAX 95% theo bước sóng



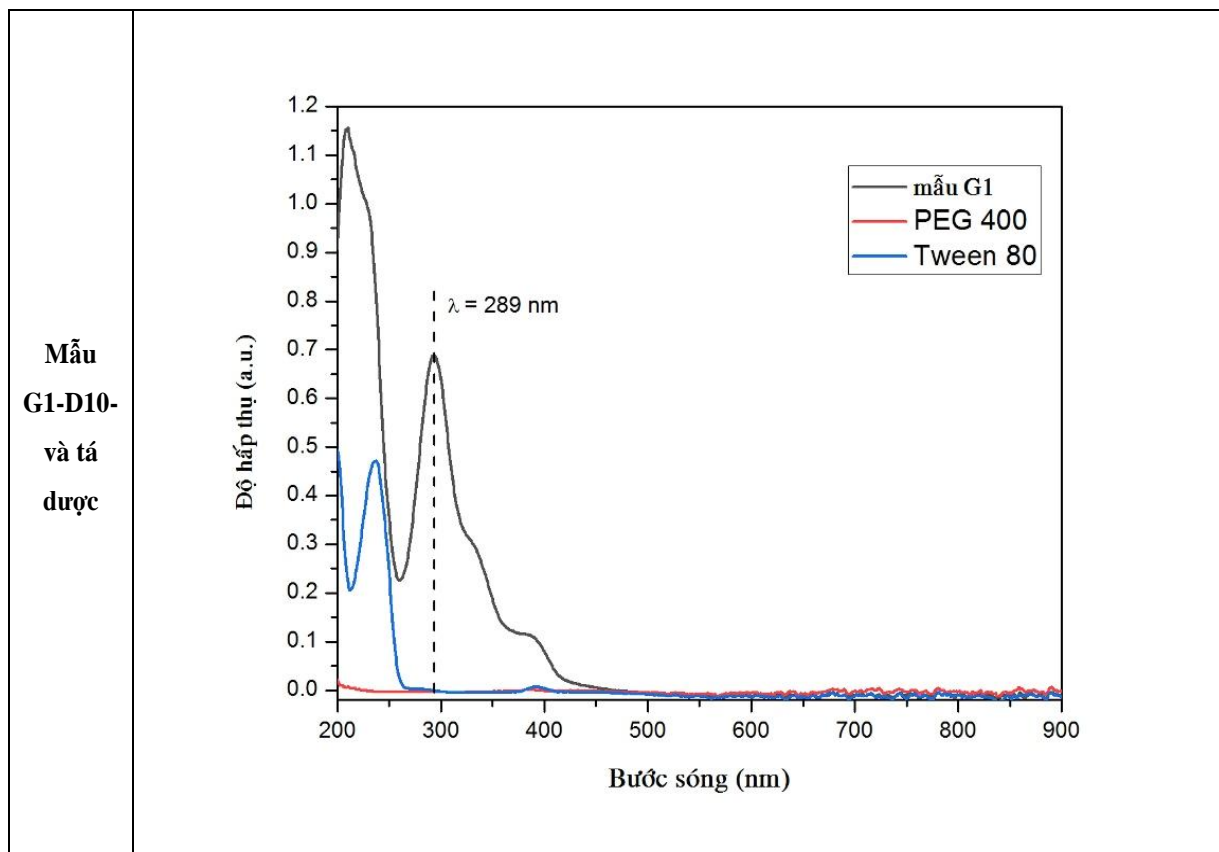
Hình 3.6: Đường chuẩn tuyến tính của bột TAX 95%

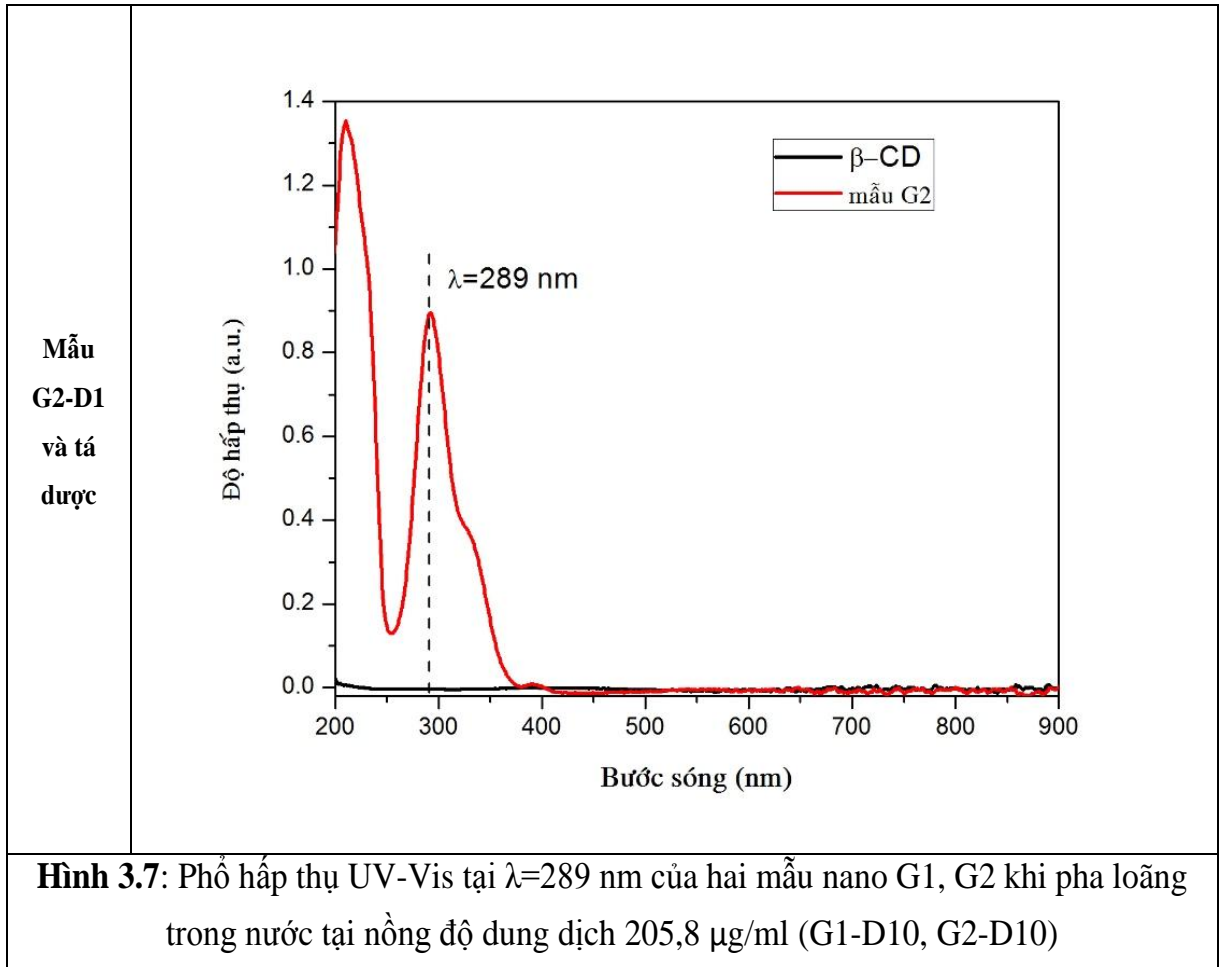
Bảng 3.1: Giá trị độ hấp thụ tại $\lambda=289$ nm ứng với dải nồng độ TAX của bột TAX 95%

Độ pha loãng (lần)	Nồng độ TAX ($\mu\text{g/ml}$)	Độ hấp thụ
5	19,760	0,995
10	9,880	0,504
12,5	7,904	0,405
20	4,940	0,253
25	3,952	0,204
50	1,976	0,101

Độ hấp thụ tại bước sóng 289 nm phụ thuộc tuyến tính theo dãy nồng độ TAX có phương trình $y=0,0502x+0,0053$ ($R^2=0,9999$).

Trong lần thí nghiệm thứ nhất: dung dịch khảo sát G1-D10, G2-D10 sau khi đem đo quang phổ UV-Vis thu được giá trị độ hấp thụ tại bước sóng 289 nm lần lượt là $A_1=0,987$ và $A_2=0,893$. Các tá dược như PEG 400, Tween 80 trong mẫu G1 và β -CD trong mẫu G2 không làm ảnh hưởng tới giá trị đỉnh hấp thụ của TAX trong hai mẫu chế tạo (hình 3.7).





Thay các giá trị $a=0,0502$, $b=0,0053$, $m=0,1029$, $D=10$, $V=50$, $A1=0,987$ và $A2=0,893$ vào công thức (2.3) lần lượt tính toán được hàm lượng TAX kí hiệu H1, H2 có trong mẫu G1, G2 tương ứng là:

$$H1(kl/kl) = \frac{(0,987 - 0,0053) \times 10 \times 50}{0,0502 \times 10^6 \times 0,1029} \times 100 = 9,502\%$$

$$H2(kl/kl) = \frac{(0,893 - 0,0053) \times 10 \times 50}{0,0502 \times 10^6 \times 0,1029} \times 100 = 8,592\%$$

Tương tự cho hai lần thí nghiệm sau, kết quả hàm lượng TAX trong hai chế phẩm nano trung bình sau ba lần đo được thể hiện trong bảng 3.2:

Bảng 3.2: Giá trị hàm lượng TAX trong hai mẫu chế phẩm nano TAX

Số lần đo	Hàm lượng TAX (%) có trong hai mẫu	
	Mẫu G1	Mẫu G2
1	9,502	8,592
2	9,521	8,621

3	9,473	8,612
Hàm lượng TAX trung bình (%)	9,498 ± 0,254 (chỉ số RSD=0,254)	8,608 ± 0,172 (chỉ số RSD=0,172)

(Chỉ số RSD (Relative Standard Deviation) của hai mẫu đều < 5% cho biết kết quả đo đạt chỉ tiêu về độ lặp lại)

3.1.3. Kết quả độ ổn định của hệ nano trong nước cất

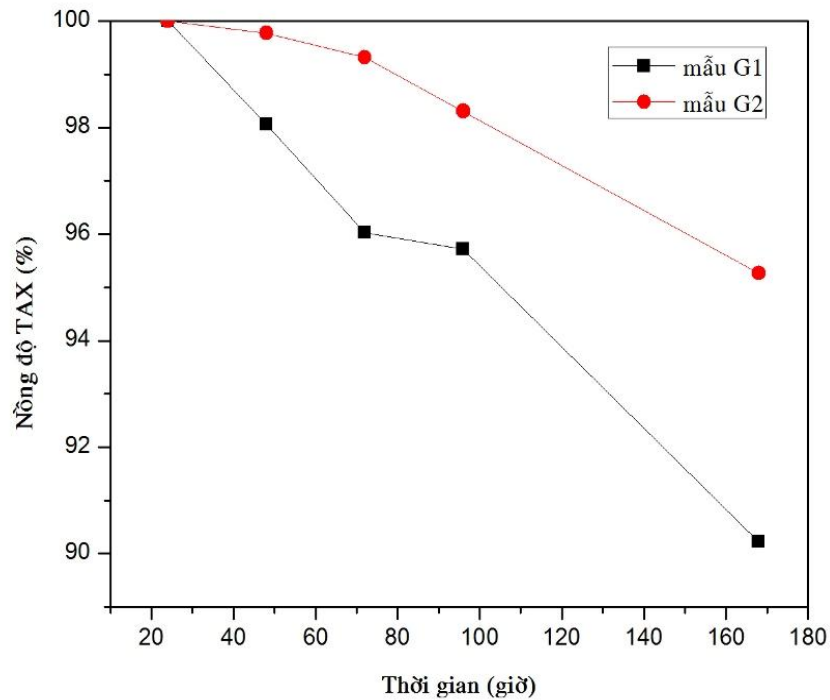
3.1.3.1. Nồng độ TAX suy giảm theo thời gian

Hai dung dịch G1-D10 và G2-D10 của lần lượt hai mẫu G1 và G2 được khảo sát độ ổn định bằng máy đo quang phổ UV-Vis trong 168 giờ đều thể hiện hấp thụ đặc trưng của TAX ở bước sóng 289 nm, cường độ hấp thụ giảm dần tương ứng với nồng độ TAX suy giảm theo thời gian (bảng 3.3) được tính từ phương trình đường chuẩn bột TAX 95% (hình 3.6).

Bảng 3.3: Số liệu về độ hấp thụ và nồng độ TAX theo thời gian

Thời gian (giờ)	Mẫu G1		Nồng độ TAX (%)	Mẫu G2		Nồng độ TAX (%)
	Độ hấp thụ	Nồng độ TAX (µg/ml)		Độ hấp thụ	Nồng độ TAX (µg/ml)	
24	0,987	19,556	100	0,893	17,683	100
48	0,968	19,177	98,062	0,891	17,643	99,774
72	0,948	18,779	96,027	0,887	17,563	99,321
96	0,945	18,719	95,720	0,878	17,384	98,309
168	0,891	17,643	90,218	0,851	16,846	95,267

Đồ thị biểu diễn sự suy giảm nồng độ TAX theo thời gian ở hình 3.8, nồng độ TAX trong mẫu G1 suy giảm nhanh hơn so với mẫu G2. Trong 72 giờ, tỉ lệ suy giảm nồng độ TAX không đáng kể, vẫn còn trên 96% TAX ở mẫu G1, và 99% đối với mẫu G2. Tôi kéo dài thời gian khảo sát lên 168 giờ và kết quả nhận được cho thấy nồng độ TAX ở hai mẫu suy giảm rất ít so với thời điểm khảo sát ban đầu, còn khoảng 90-95% TAX trong lần lượt hai mẫu G1, G2.



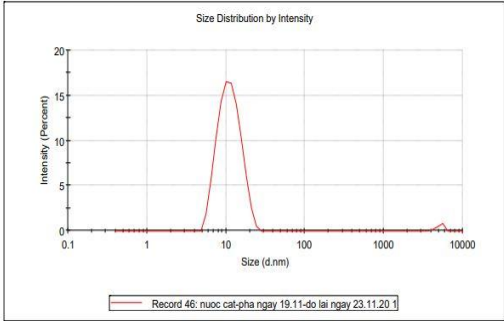
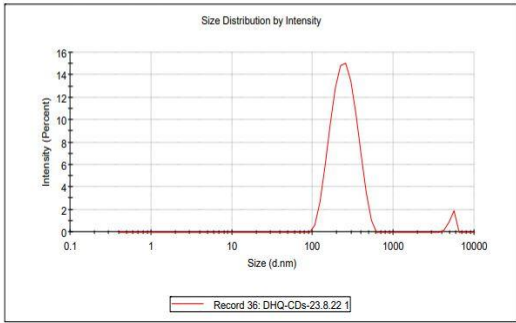
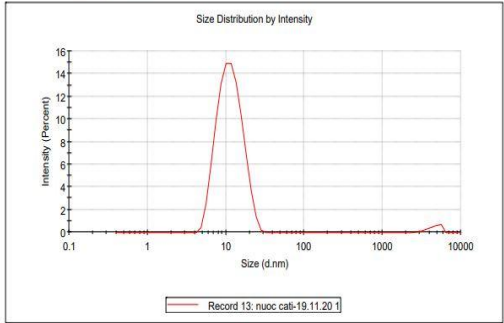
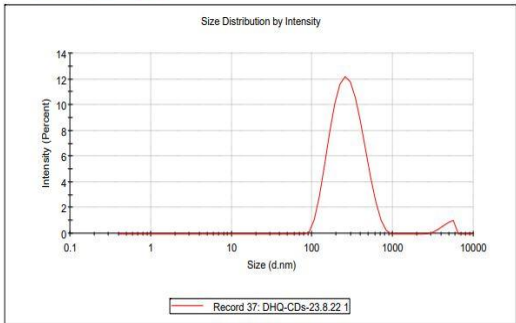
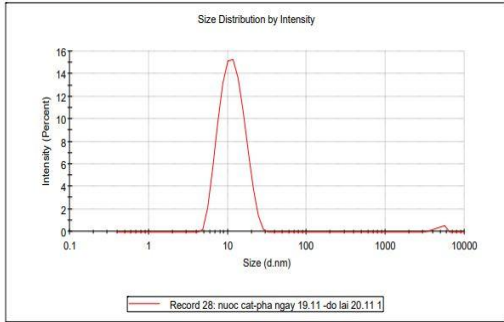
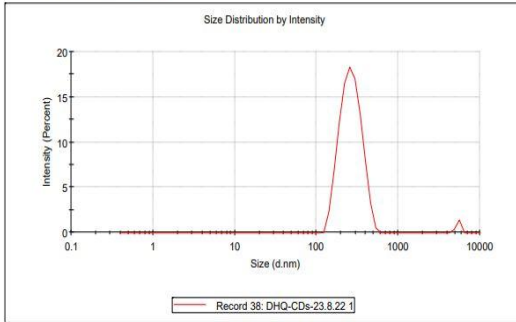
Hình 3.8: Nồng độ TAX trong hai mẫu G1, G2 thay đổi theo thời gian

3.1.3.2. Kích thước tiểu phân nano phân tán trong nước cất

Khảo sát hai mẫu dung dịch KT1 và KT2 trong 72 giờ để đánh giá khả năng phân tán hạt nano trong nước cất của hai mẫu chế tạo G1, G2 bằng máy đo kích thước hạt sử dụng phương pháp tán xạ laser động DLS, kết quả kích thước tiểu phân nano thu được trong bảng là giá trị trung bình của ba lần đo.

Bảng 3.4: Kích thước hạt nano và chỉ số PDI khi phân tán trong nước cất của hai mẫu

Thời gian (giờ)	Mẫu khảo sát			
	KT1		KT2	
	d (nm)	PDI	d (nm)	PDI
24	10,86	0,178	245,1	0,297
48	10,89	0,175	249,8	0,249
72	10,93	0,157	256,6	0,288

Thời gian (giờ)	Mẫu KT1	Mẫu KT2																																
24	<p>Results</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Size (d.nm):</th> <th>% Intensity:</th> <th>St Dev (d.n...)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Z-Average (d.nm): 10.86</td> <td>Peak 1: 11.52</td> <td>98.5</td> <td>3.689</td> </tr> <tr> <td>Pdl: 0.178</td> <td>Peak 2: 5126</td> <td>1.5</td> <td>525.4</td> </tr> <tr> <td>Intercept: 0.955</td> <td>Peak 3: 0.000</td> <td>0.0</td> <td>0.000</td> </tr> </tbody> </table> <p>Result quality: Good</p>  <p>Record 46: nước cat-pha ngày 19.11-đo lại ngày 23.11.20 1</p>		Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)	Z-Average (d.nm): 10.86	Peak 1: 11.52	98.5	3.689	Pdl: 0.178	Peak 2: 5126	1.5	525.4	Intercept: 0.955	Peak 3: 0.000	0.0	0.000	<p>Results</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Size (d.nm):</th> <th>% Intensity:</th> <th>St Dev (d.n...)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Z-Average (d.nm): 245.1</td> <td>Peak 1: 256.1</td> <td>97.0</td> <td>88.25</td> </tr> <tr> <td>Pdl: 0.297</td> <td>Peak 2: 5247</td> <td>3.0</td> <td>444.3</td> </tr> <tr> <td>Intercept: 0.957</td> <td>Peak 3: 0.000</td> <td>0.0</td> <td>0.000</td> </tr> </tbody> </table> <p>Result quality: Good</p>  <p>Record 36: DHQ-CDs-23.8.22 1</p>		Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)	Z-Average (d.nm): 245.1	Peak 1: 256.1	97.0	88.25	Pdl: 0.297	Peak 2: 5247	3.0	444.3	Intercept: 0.957	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)																															
Z-Average (d.nm): 10.86	Peak 1: 11.52	98.5	3.689																															
Pdl: 0.178	Peak 2: 5126	1.5	525.4																															
Intercept: 0.955	Peak 3: 0.000	0.0	0.000																															
	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)																															
Z-Average (d.nm): 245.1	Peak 1: 256.1	97.0	88.25																															
Pdl: 0.297	Peak 2: 5247	3.0	444.3																															
Intercept: 0.957	Peak 3: 0.000	0.0	0.000																															
48	<p>Results</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Size (d.nm):</th> <th>% Intensity:</th> <th>St Dev (d.n...)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Z-Average (d.nm): 10.89</td> <td>Peak 1: 11.82</td> <td>97.7</td> <td>4.187</td> </tr> <tr> <td>Pdl: 0.175</td> <td>Peak 2: 4603</td> <td>2.3</td> <td>826.4</td> </tr> <tr> <td>Intercept: 0.955</td> <td>Peak 3: 0.000</td> <td>0.0</td> <td>0.000</td> </tr> </tbody> </table> <p>Result quality: Good</p>  <p>Record 13: nước cat-19.11.20 1</p>		Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)	Z-Average (d.nm): 10.89	Peak 1: 11.82	97.7	4.187	Pdl: 0.175	Peak 2: 4603	2.3	826.4	Intercept: 0.955	Peak 3: 0.000	0.0	0.000	<p>Results</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Size (d.nm):</th> <th>% Intensity:</th> <th>St Dev (d.n...)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Z-Average (d.nm): 249.8</td> <td>Peak 1: 293.3</td> <td>96.9</td> <td>129.8</td> </tr> <tr> <td>Pdl: 0.249</td> <td>Peak 2: 4695</td> <td>3.1</td> <td>782.8</td> </tr> <tr> <td>Intercept: 0.958</td> <td>Peak 3: 0.000</td> <td>0.0</td> <td>0.000</td> </tr> </tbody> </table> <p>Result quality: Good</p>  <p>Record 37: DHQ-CDs-23.8.22 1</p>		Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)	Z-Average (d.nm): 249.8	Peak 1: 293.3	96.9	129.8	Pdl: 0.249	Peak 2: 4695	3.1	782.8	Intercept: 0.958	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)																															
Z-Average (d.nm): 10.89	Peak 1: 11.82	97.7	4.187																															
Pdl: 0.175	Peak 2: 4603	2.3	826.4																															
Intercept: 0.955	Peak 3: 0.000	0.0	0.000																															
	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)																															
Z-Average (d.nm): 249.8	Peak 1: 293.3	96.9	129.8																															
Pdl: 0.249	Peak 2: 4695	3.1	782.8																															
Intercept: 0.958	Peak 3: 0.000	0.0	0.000																															
72	<p>Results</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Size (d.nm):</th> <th>% Intensity:</th> <th>St Dev (d.n...)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Z-Average (d.nm): 10.93</td> <td>Peak 1: 11.96</td> <td>98.6</td> <td>4.188</td> </tr> <tr> <td>Pdl: 0.157</td> <td>Peak 2: 4831</td> <td>1.4</td> <td>709.5</td> </tr> <tr> <td>Intercept: 0.955</td> <td>Peak 3: 0.000</td> <td>0.0</td> <td>0.000</td> </tr> </tbody> </table> <p>Result quality: Good</p>  <p>Record 28: nước cat-pha ngày 19.11 -đo lại 20.11 1</p>		Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)	Z-Average (d.nm): 10.93	Peak 1: 11.96	98.6	4.188	Pdl: 0.157	Peak 2: 4831	1.4	709.5	Intercept: 0.955	Peak 3: 0.000	0.0	0.000	<p>Results</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Size (d.nm):</th> <th>% Intensity:</th> <th>St Dev (d.n...)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Z-Average (d.nm): 256.6</td> <td>Peak 1: 270.3</td> <td>98.2</td> <td>78.16</td> </tr> <tr> <td>Pdl: 0.288</td> <td>Peak 2: 5399</td> <td>1.8</td> <td>309.7</td> </tr> <tr> <td>Intercept: 0.962</td> <td>Peak 3: 0.000</td> <td>0.0</td> <td>0.000</td> </tr> </tbody> </table> <p>Result quality: Good</p>  <p>Record 38: DHQ-CDs-23.8.22 1</p>		Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)	Z-Average (d.nm): 256.6	Peak 1: 270.3	98.2	78.16	Pdl: 0.288	Peak 2: 5399	1.8	309.7	Intercept: 0.962	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)																															
Z-Average (d.nm): 10.93	Peak 1: 11.96	98.6	4.188																															
Pdl: 0.157	Peak 2: 4831	1.4	709.5																															
Intercept: 0.955	Peak 3: 0.000	0.0	0.000																															
	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...)																															
Z-Average (d.nm): 256.6	Peak 1: 270.3	98.2	78.16																															
Pdl: 0.288	Peak 2: 5399	1.8	309.7																															
Intercept: 0.962	Peak 3: 0.000	0.0	0.000																															

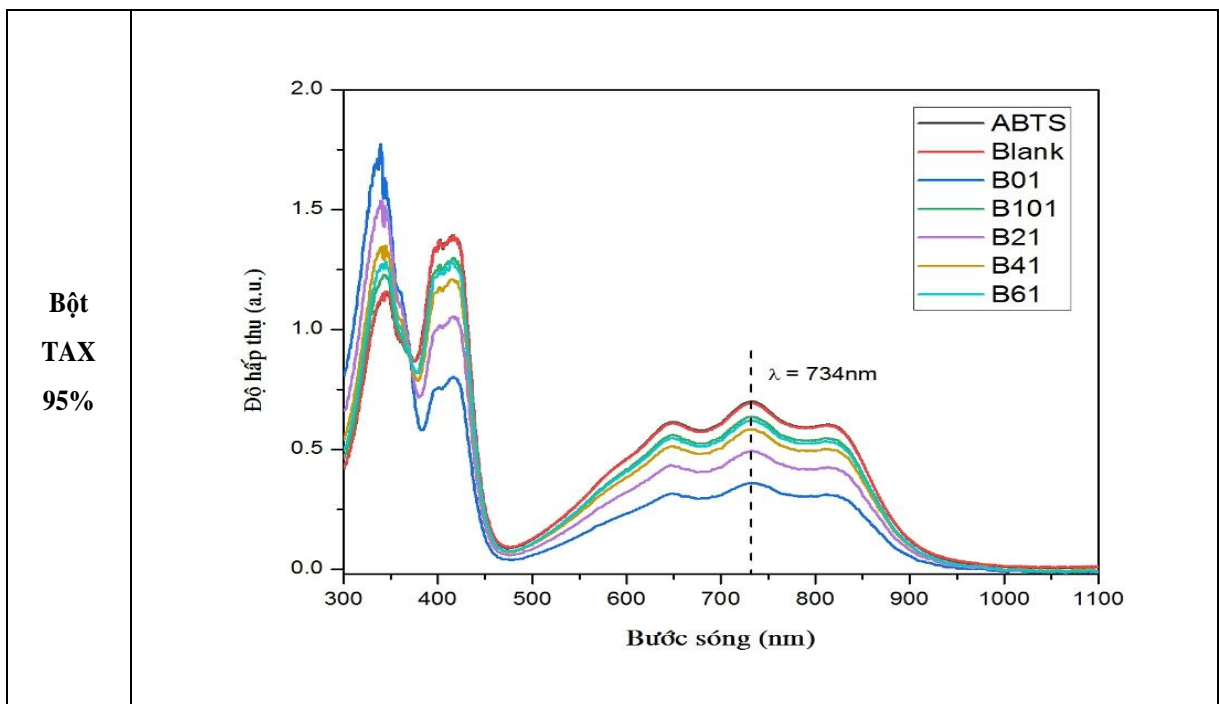
Hình 3.9: Sự thay đổi kích thước tiểu phân nano phân tán trong nước cất của hai mẫu KT1, KT2 trong 72 giờ

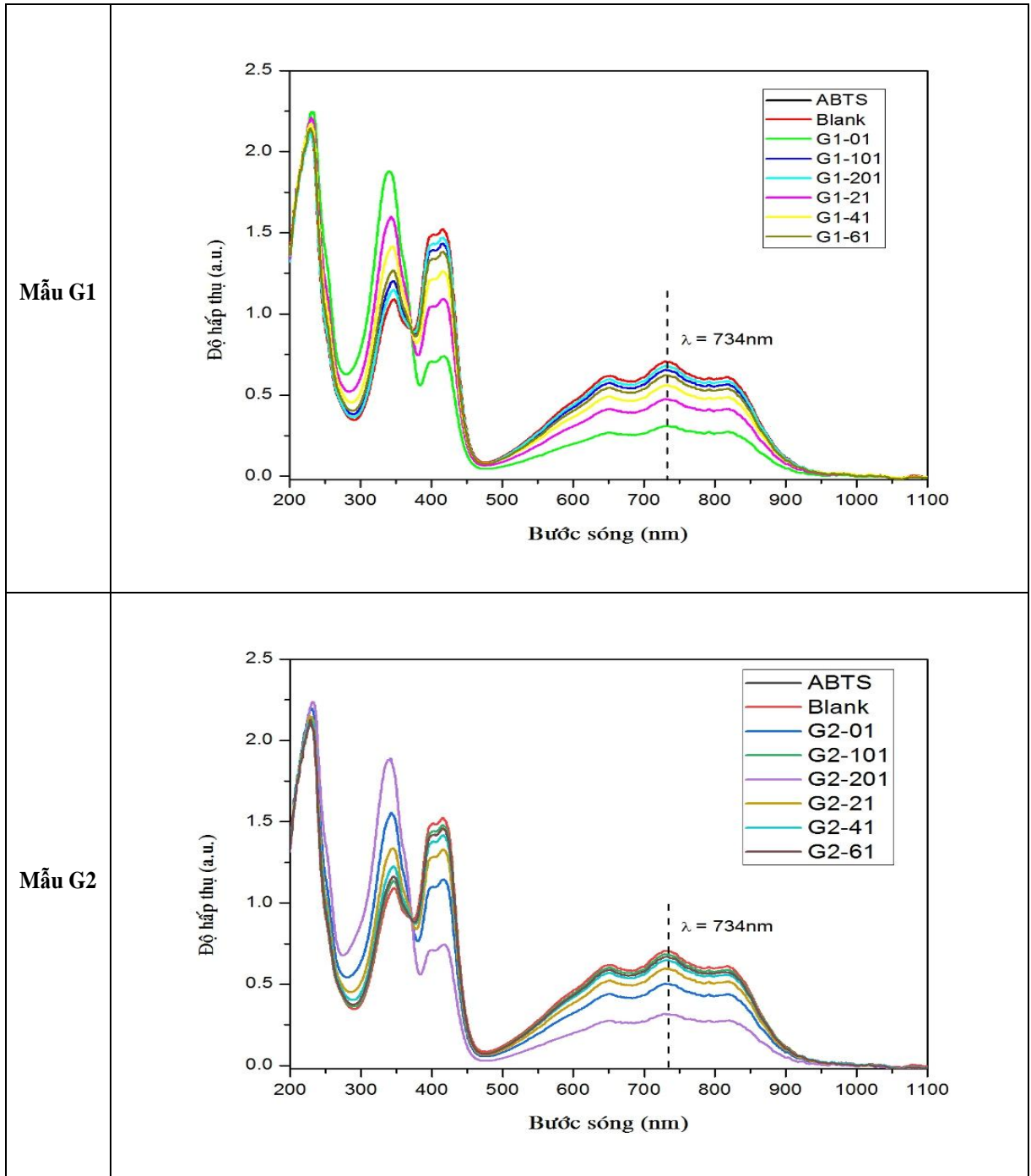
Như vậy, hai mẫu chế tạo G1, G2 sau khi được phân tán trong nước cất kí hiệu lần lượt là KT1, KT2 có các tiểu phân nano có kích thước khác nhau. Kích thước tiểu phân

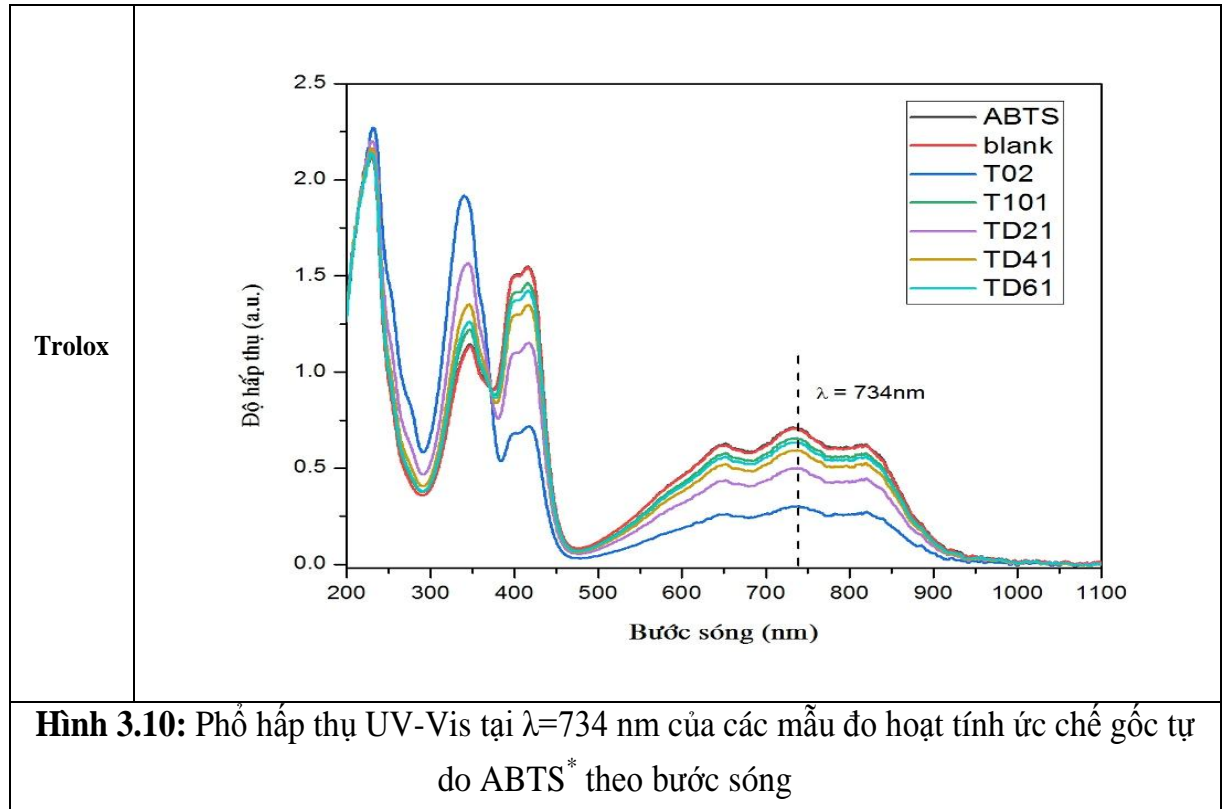
nano trong mẫu G1 khoảng 10 nm, trong khi đó trong mẫu G2, kích thước cỡ 245 nm, gấp gần 25 lần so với mẫu G1. Trong vòng 72 giờ khảo sát, kích thước tiểu phân nano trong hai mẫu đều thay đổi không đáng kể, cho thấy sự ổn định khi phân tán chúng trong nước cất. Kết quả này chứng tỏ hệ nano đã chế tạo ổn định theo thời gian.

3.2. Kết quả đánh giá khả năng chống gốc tự do ABTS của các hệ nano

Sau 5 phút phản ứng giữa gốc tự do ABTS* và dãy nồng độ chất chuẩn Trolox/bột TAX/mẫu G1/mẫu G2, màu xanh của gốc ABTS* giảm dần từ nồng độ các chất thử cao tới thấp. Sự thay đổi màu của các mẫu đo sau khi phản ứng được ghi nhận bằng quang phổ hấp thụ UV-Vis tại bước sóng đặc trưng 734 nm của gốc ABTS* (hình 3.10). Tỷ lệ ức chế gốc tự do ABTS* phụ thuộc tuyến tính với nồng độ các chất chuẩn/chất thử được biểu diễn trong hình 3.11. Từ phương trình hồi quy, tôi tính toán được giá trị IC_{50} của từng mẫu được liệt kê trong bảng 3.5.

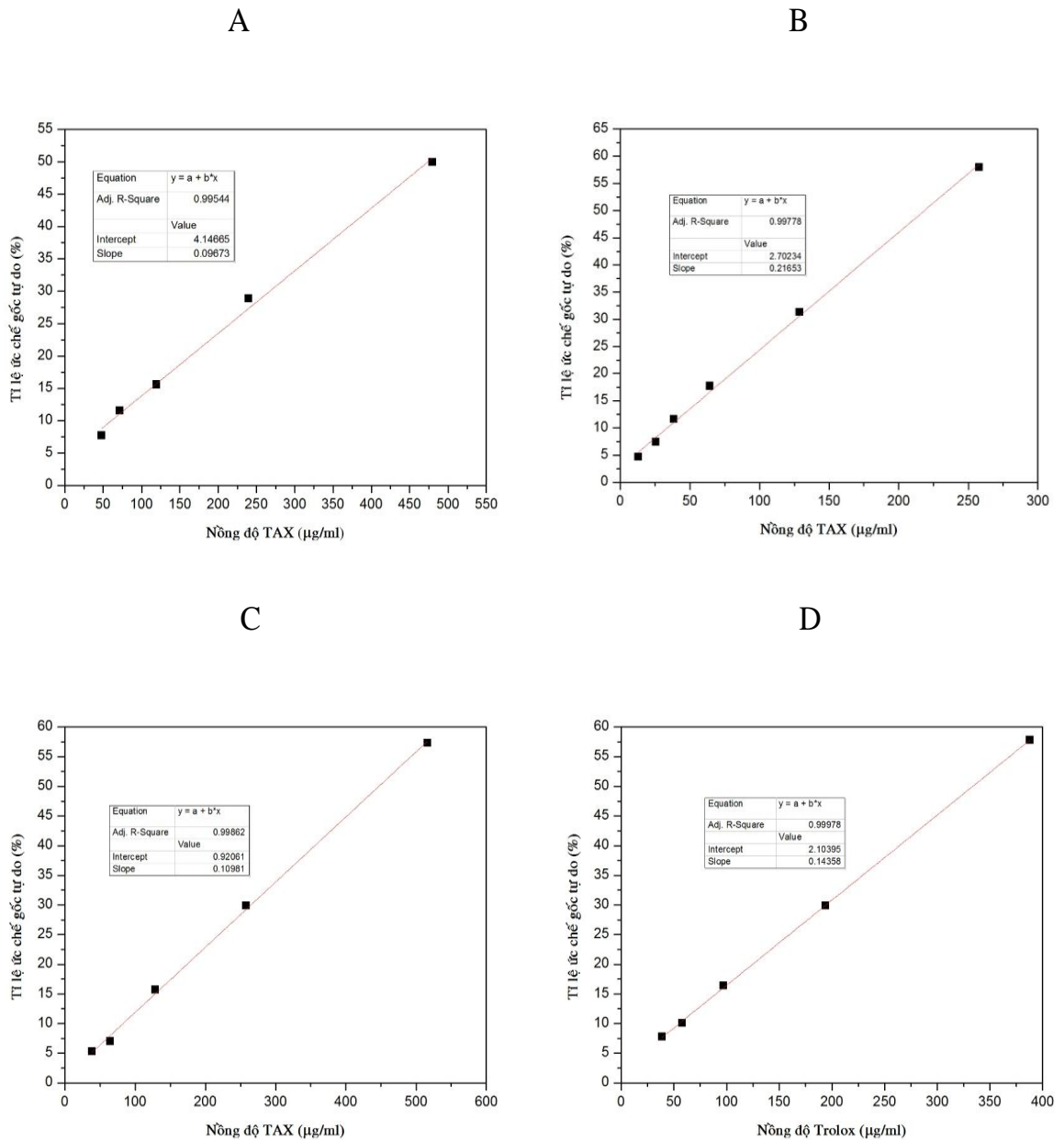






Bảng 3.5: Giá trị tỉ lệ ức chế gốc ABTS* tương ứng với nồng độ các mẫu thử trong phản ứng chống gốc ABTS*

Mẫu thử				Tỉ lệ ức chế gốc tự do ABTS* (%)			
Bột TAX 95%	Mẫu G1	Mẫu G2	Trolox	Bột TAX 95%	Mẫu G1	Mẫu G2	Trolox
48	12,9	38,8	38,8	7,692	4,690	5,306	7,754
72	25,8	64,7	58,2	11,563	7,390	7,011	10,118
120	38,7	129	97	15,578	11,606	15,727	16,407
240	64,4	258,5	194	28,834	17,717	29,891	29,835
480	128,9	516,2	388	49,927	31,265	57,271	57,825
	257,8				57,982		
Phương trình hồi quy $y=ax+b$				$y=0,096x+4,146$ ($R^2=0,9964$)	$y=0,216x+2,702$ ($R^2=0,9978$)	$y=0,109x+0,920$ ($R^2=0,998$)	$y=0,143x+2,103$ ($R^2=0,9998$)
Giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)				474,034	218,465	446,989	333,538



Hình 3.11: Sự phụ thuộc tuyến tính giữa tỉ lệ ức chế gốc tự do (%) và nồng độ chất ức chế bột TAX 95% (A), mẫu G1 (B), mẫu G2 (C) và Trolox (D)

Giá trị IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) về khả năng ức chế gốc tự do ABTS* của bột TAX 95%, mẫu G1, mẫu G2 lần lượt là 474,034; 218,465 và 446,989 cho thấy mẫu G1 (nhũ tương nano TAX) có hoạt tính ức chế gốc tự do mạnh hơn so với bột TAX tự do, mẫu G2 (mẫu nano rắn TAX – β -CD) và cả chất đối chứng Trolox. Trong khi đó, hoạt tính ức chế gốc tự do của mẫu bột TAX tự do và mẫu G2 tương đương nhau và không ức chế mạnh như chất đối chứng Trolox (có $IC_{50}=331 \mu\text{g/ml}$).

Hoạt tính chống oxy hóa, ức chế gốc tự do mạnh của TAX được tách chiết từ các loại thực vật khác nhau đã được nhiều nhóm nghiên cứu trên thế giới khẳng định. Nhóm nghiên cứu Trung Quốc, Zhou và cộng sự [31] sử dụng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao – khối phổ (high performance liquid chromatography-mass spectrum/mass spectrum (HPLC-MS/MS) để xác định hàm lượng TAX (92,07%) được tách chiết từ *Larix olgensis* Henry var. Korean Nakai (phân bố nhiều ở miền Bắc Trung Quốc). TAX thu được thể hiện hoạt tính chống gốc tự do ABTS* mạnh hơn chất đối chứng dương là butylated hydroxytoluene (BHT) với giá trị EC₅₀ (μg/ml) lần lượt là 7,49 ± 1,11; 12,38 ± 2,63. Giá trị EC₅₀ là nồng độ hiệu quả cần thiết để đạt được 50% khả năng ức chế gốc tự do. Một nhóm nghiên cứu khác cho thấy hoạt tính ức chế gốc tự do ABTS* của TAX so với chất đối chứng dương butylated hydroxyanisole (BHA) với giá trị IC₅₀ (g/ml) lần lượt là 0,83 và 12,30 [31]. Dựa trên mối quan hệ cấu trúc- hoạt tính, nhóm tác giả đã chứng minh rằng hoạt tính chống oxy hóa/chống gốc tự do phụ thuộc vào sự có mặt của các nhóm -OH. Cùng với đó, sự gia tăng số lượng nhóm -OH và đặc biệt là ở vị trí para của vòng thơm giúp làm tăng hoạt tính. Bên cạnh đó, nhóm nghiên cứu Trung Quốc, Li và các đồng nghiệp đã báo cáo hoạt tính ức chế một số gốc tự do đáng kể của TAX [31]. Trong đó, hoạt tính ức chế gốc ABTS* của TAX so với chất chuẩn Trolox có giá trị IC₅₀ (μg/ml) tương ứng là 4,6 và 11,4. Một nghiên cứu khác cho thấy hoạt tính ức chế một số gốc tự do khác nhau, trong đó giá trị IC₅₀ (μg/ml) để ức chế 50% gốc ABTS* là 66,37 [31].

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

Luận văn “Nghiên cứu chế tạo và đánh giá khả năng chống oxy hóa của hệ nano *Taxifolin*” được thực hiện tại Viện Khoa học vật liệu và Viện Vật lý – Viện Hàn lâm khoa học và công nghệ Việt Nam. Các kết quả chính đạt được trong luận văn được trình bày ngắn gọn như sau:

- Hệ nhũ tương nano TAX và hệ nano rắn phức hợp TAX – β -CD đã được chế tạo thành công bằng phương pháp tự nhũ hóa SNEDDS và phương pháp nghiền trộn.
- Hàm lượng hoạt chất TAX trong mẫu nhũ tương nano, mẫu nano phức hợp lần lượt là 9,498% và 8,608%.
- Hoạt chất TAX trong cả hai hệ nano đều ổn định khi phân tán vào trong nước cất.
- Kích thước tiểu phân trung bình trong mẫu nhũ tương nano TAX, mẫu nano phức hợp TAX – β -CD khi phân tán trong nước cất lần lượt khoảng 10 nm, 250 nm với chỉ số PDI nằm trong khoảng 0,1 – 0,2.
- Bột TAX 95%, nhũ tương nano TAX và mẫu nano phức hợp TAX – β -CD đều thể hiện hoạt tính ức chế gốc tự do ABTS* với giá trị IC_{50} (μ g/ml) lần lượt là 474,034; 218,465; 446,989. Nhũ tương nano TAX thể hiện hoạt tính ức chế gốc tự do ABTS* tốt hơn cả so với chất đối chứng dương Trolox (IC_{50} = 333,538 μ g/ml), trong khi đó, khả năng ức chế gốc tự do của bột TAX 95% và mẫu nano phức hợp TAX – β -CD tương đương nhau.

KIẾN NGHỊ

Qua các kết quả thu được trong luận văn, chúng tôi kiến nghị một số điểm cần phải phát triển tiếp như sau:

Các hệ nano chế tạo được phân tán trong nước cất cho thấy sự ổn định của các tiểu phân nano. Đường tiêu hóa là đường dùng thuốc phổ biến nhất do nó tiện dùng và gần với sinh hoạt tự nhiên của người sử dụng. Tuy nhiên, nó lại có bậc pH rất thay đổi (pH 1-8) nên ảnh hưởng tới hoạt độ của dược chất trong các chế phẩm. Do đó, chúng tôi cần tiếp tục khảo sát độ ổn định *in vitro* của hoạt chất (nồng độ, kích thước tiểu phân nano) trong các dung dịch đệm có pH khác nhau từ axit, trung tính tới bazơ để làm dữ liệu nghiên cứu độ ổn định cho các hoạt chất tự nhiên khác.

Trong luận văn này, chúng tôi đã khảo sát hoạt tính ức chế gốc tự do ABTS*, chúng tôi sẽ tiếp tục khảo sát hoạt tính này trên một số gốc tự do khác.

CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN

Lê Thị Thu Hương, Phan Thị Thủy, Nguyễn Thị Mai Hương, Lê Thị Hương, Nguyễn Thanh Bình, Nguyễn Trọng Tĩnh, Galina Melnikova, Chizhik Sergey Antonovich, 2019, Chế tạo và đánh giá khả năng chống oxy hóa của hợp chất flavonoid dạng nano, Hội nghị Vật lý chất rắn và khoa học vật liệu toàn quốc – SPMS 2019 (Quy Nhơn, Bình Định), Kỷ yếu Hội nghị, trang 425.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Xu hướng sử dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm – Công nghệ bào chế bộ dược, mỹ phẩm dùng cho da nhạy cảm từ cây Dương cam cúc, tài liệu chương trình báo cáo phân tích xu hướng công nghệ (09/2016), Trung tâm Thông tin và Thống kê Khoa học và Công nghệ, Tp.Hồ Chí Minh.
- [2] S. V. Orlova, V. V. Tatarinov, E. A. Nikitina, A. V. Sheremeta, V. S. Ivlev, V. G. Vasil'ev, K. V. Paliy, and S. V. Goryainov, 2022, Bioavailability and Safety of Dihydroquercetin (Review), *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 55, 1133-1137.
- [3] R.A. Petros, and J.M. DeSimone, 2010, Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications, *Nat Rev Drug Discov.*, 9(8), 615-27.
- [4] N. Salah, N. J. Miller, G. Paganga, L. Tijburg, G. P. Bolwell, C. Rice-Evans, 1995, Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants, *Archives of biochemistry and biophysics*, 322(2), 339-346.
- [5] Sunil, C. and B. Xu, 2019, An insight into the health-promoting effects of taxifolin (dihydroquercetin), *Phytochemistry* 166.
- [6] Kurth, E.F. and F.L. Chan, 1951, Dihydroquercetin as an antioxidant, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 28(10), 433-436.
- [7] Kolhir, V.K., et al., 1996, Antioxidant Activity of a Dihydroquercetin Isolated from *Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr. Wood, *Phytotherapy Research*, 10(6), 478-482.
- [8] Dok-Go, H., et al., 2003, Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin, (+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*, *Brain Research*, 965(1), 130-136.
- [9] Xie, X., et al., 2017, Taxifolin protects RPE cells against oxidative stress-induced apoptosis, *Molecular vision*, 23, 520-528.
- [10] Gupta, M.B., et al., 1971, Anti-inflammatory activity of taxifolin, *Japanese Journal of Pharmacology*, 21(3), 377-382.
- [11] Wang, Y.-H., et al., 2006, Taxifolin ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury in rats through its anti-oxidative effect and modulation of NF-kappa B activation, *Journal of Biomedical Science*, 13(1), 127-141.
- [12] Cai, C., et al., 2018, Effects of Taxifolin on Osteoclastogenesis *in vitro* and *in vivo*, *Frontiers in Pharmacology*, volume 9.
- [13] Cushnie, T.P.T. and A.J. Lamb, 2005, Antimicrobial activity of flavonoids, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343-356.

- [14] Artem'eva, O.A., D.A. Pereselkova, and Y.P. Fomichev, 2015, Dihydroquercetin, the bioactive substance, to be used against pathogenic microorganisms as an alternative to antibiotics, *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*, 50, 513-519.
- [15] Kuspradini, H., T. Mitsunaga, and H. Ohashi, 2009, Antimicrobial activity against *Streptococcus sobrinus* and glucosyltransferase inhibitory activity of taxifolin and some flavanonol rhamnosides from kempas (*Koompassia malaccensis*) extracts, *Journal of Wood Science*, 55(4), 308-313.
- [16] Kozhikkadan Davis, C., et al., 2018, Taxifolin as dual inhibitor of Mtb DNA gyrase and isoleucyl-tRNA synthetase: *in silico* molecular docking, dynamics simulation and *in vitro* assays, *In Silico Pharmacology*, 6(1).
- [17] Vanrun Raj Vemula, Venkateshwarlu Lagishetty, Srikanth Lingala, 2010, Solubility enhancement techniques, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, volume 5, issue 1, 41-51.
- [18] N. H. Shah, M. T. Carvajal, C. I. Patel, M. H. Infeld, and A. W. Malick, 1994, Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) with polyglycolized glycerides for improving *in vitro* dissolution and oral absorption of lipophilic drugs, *International Journal of Pharmaceutics*, 106, 15-23.
- [19] Trần Thị Hồng Ngân, 2010, Nghiên cứu và ứng dụng β -cyclodextrin làm chất mang thuốc ketoprofen, Luận văn thạc sĩ hóa học, Đại học Cần Thơ.
- [20] Rajeswari Challa, Alka Ahuja, Javed Ali, and R.K. Khar, 2005, Cyclodextrins in drug delivery: An updated review, *AAPS PharmSciTech*, 6 (2), 329-357.
- [21] Phùng Đức Truyền (2009), Tổng hợp hydroxyalkyl β cyclodextrin ứng dụng trong bào chế một số dạng thuốc, Đại học y dược thành phố Hồ Chí Minh, Hồ Chí Minh.
- [22] Abhijit A. Date, Neha Desai, Rahul Dixit, and Mangal Nagarsenker, 2010, Self-nanoemulsifying drug delivery systems: formulation insights, applications and advances, *Nanomedicine*, 5(10), 1595-1616.
- [23] Prior R.L., Wu X, Schaich K., 2005, Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 4290–4302.
- [24] Amorati, R. and L. Valgimigli, 2014, Advantages and limitations of common testing methods for antioxidants, *Free radical research*, 49, 1-38.
- [25] Các phương pháp đánh giá tiêu phân nano về đặc tính lý hóa và tác dụng sinh học, Công nghệ nano và ứng dụng trong sản xuất thuốc, Bộ môn Công nghiệp Dược, Đại học Dược Hà Nội.

- [26] Nguyễn Đức Toàn, 2022, Nghiên cứu chế tạo và khảo sát tính chất của vật liệu nano WO_3 và WO_3 -Au cho ứng dụng quang xúc tác vùng ánh sáng nhìn thấy, Luận văn thạc sĩ vật lý chất rắn, Học viện khoa học và công nghệ Hà Nội.
- [27] Fevzi Topal, Meryem Nar, Hulya Gocer, 2015, Antioxidant activity of taxifolin: an activity–structure relationship, Informa healthcare.
- [28] Deepshikha Gupta, 2015, Methods for determination of antioxidant capacity: a review, International journal of pharmaceutical sciences and research, 6(2), 546-566.
- [29] Nguyễn Trọng Tuân, Phạm Thị Sánh, 2020, Hoạt tính kháng oxy hóa của cao chiết ethanol thân rễ Ngải tím (*Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker), Ngải trắng (*Curcuma aromatica* Salisb.), Gừng gió (*Zingiber zerumbet* Sm.), Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 62 (5).
- [30] Xiu-Li Zhang and et al, 2014, Evaluation on antioxidant effect of Xanthohumol by different antioxidant capacity analytical methods, Journal of Chemistry.
- [31] Shweta Jaina and Ankur Vaidya, 2023, Comprehensive review on pharmacological effects and mechanism of actions of taxifolin: A bioactive flavonoid, Pharmacological Research – Modern Chinese Medicine, volume 7.

CHẾ TẠO VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG CHỐNG OXY HÓA CỦA HỢP CHẤT FLAVONOID DẠNG NANO

Lê Thị Thu Hương^{*1}, Phan Thị Thủy¹, Nguyễn Thị Mai Hương¹, Lê Thị Hương¹, Nguyễn Thanh Bình¹, Nguyễn Trọng Tĩnh¹, Galina Melnikova², Chizhik Sergey Antonovich²

¹Viện Vật lý ứng dụng và Thiết bị khoa học, Viện Hàn lâm khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Viện trao đổi nhiệt Luikov, Viện Hàn lâm khoa học Quốc gia Belarus – Brovki str., 15, 220072, Minsk, Belarus.

*Email: huonglyk3@gmail.com

Tóm tắt

Một số hợp chất flavonoid như quercetin, taxifolin được biết tới như thảo dược tự nhiên quý giá, có khả năng chống oxy hóa mạnh, giảm mỡ máu, ổn định huyết áp, hỗ trợ tim mạch. Tuy nhiên, phần lớn các hợp chất này thường khó tan trong nước, hạn chế việc hấp thu, do vậy việc chế tạo các hợp chất ở dạng nano sẽ khắc phục được nhược điểm của chúng. Báo cáo trình bày kết quả nghiên cứu chế tạo vật liệu nano dạng gel lỏng của hợp chất flavonoid tự nhiên chiết xuất từ cây Larix Sibirica. Tính chất của hệ nano được nghiên cứu bằng phép đo phổ hấp thụ UV-VIS, kích thước tiểu phân nano phân tán trong nước được đo bằng phương pháp tán xạ laser DLS, hoạt tính chống oxy hóa (antioxidant activity) được đánh giá thông qua khả năng bắt gốc tự do 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Kết quả nghiên cứu cho thấy các tiểu phân flavonoid dạng gel chế tạo được có kích thước cỡ 10nm, có khả năng phân tán trong nước được cải thiện đáng kể. Kết quả nghiên cứu mở ra triển vọng ứng dụng hấp dẫn của hợp chất này.

Từ khóa: Flavonoid, antioxidant, DPPH.

GIỚI THIỆU

Larix Sibirica (Larix larch) là một loài thuộc chi Larix, giống cây lá kim, có chiều cao trung bình từ 40-50 m, là một cây chịu sương giá có nguồn gốc từ phía tây nước Nga. Larix Sibirica có giá trị trong công nghiệp và mỹ nghệ bởi chất lượng gỗ của chúng [5]. Hiện nay, loài cây này còn gây sự chú ý bởi quá trình tách chiết, phân lập tạo ra dược chất thuộc nhóm flavonoid, là một trong những hợp chất được đặc biệt quan tâm bởi các kết quả nghiên cứu cho thấy chúng có tác dụng to lớn đối với sức khỏe con người, nổi bật là khả năng chống oxy hóa, điều hòa quá trình chuyển hóa, chống lão hóa, làm bền thành mạch máu, làm giảm lượng cholesterol trong máu....Hiện nay, các chứng minh khoa học cho thấy sự gia tăng gốc tự do trong tế bào gây nên các vấn đề bệnh tật như: xơ vữa động mạch, tiểu đường, ung thư....

Trong nghiên cứu phát triển thuốc, khó khăn lớn nhất là các dược chất thường hòa tan kém trong nước, làm hạn chế hấp phụ, sinh khả dụng thấp. Để đảm bảo tối đa hiệu quả thì phải nâng cao độ tan của dược chất. Các kỹ thuật được sử dụng như phân tán rắn, đồng kết tủa, đồng bay

hoi, kết hợp polymer, hấp phụ bề mặt, tạo phức... để làm tăng độ tan của dược chất [3,6,8].

Dựa trên kinh nghiệm nano hóa curcumin, chúng tôi tiến hành chế tạo flavonoid dạng bột có nguồn gốc tự nhiên, chiết xuất từ cây Larix Sibirica sang dạng nano. Với mục đích làm gia tăng khả năng phân tán các tiểu phân flavonoid trong nước ở mức nano mét nâng cao sinh khả dụng của chúng, trong nghiên cứu này chúng tôi tiếp tục sử dụng một số polymer thân nước, chất hoạt động bề mặt, hệ dung môi thích hợp để tiến hành phân tán các tiểu phân flavonoid ở kích thước nano, tiếp đến quá trình vi bọc để bảo vệ cấu trúc nano khỏi bị phá vỡ khi phân tán vào dung môi nước. Hệ nano flavonoid có khả năng tồn tại dưới dạng gel bền vững. Từ các kết quả đo phổ UV-VIS, kích thước tiểu phân nano, khả năng chống oxy hóa thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH cho thấy nano flavonoid dạng gel chế tạo giữ được cấu trúc hóa học, dược tính, hứa hẹn mở ra triển vọng trong thực tiễn.

THỰC NGHIỆM

Chế tạo hệ nano flavonoid:

Hóa chất: Flavonoid 95% chiết xuất từ cây Larix Sibirica; nước khử ion; các hóa chất Soybean Lecithin 99%, Polyethylene Glycol (PEG 400), Ethanol 99.5⁰ và Polysorbate 80 nguồn gốc từ Sigma-Aldrich.

Chế tạo hệ nano flavonoid theo 3 bước như sau [1]: Bước 1: Lấy 8g flavonoid pha trong 200ml Ethanol đun trong cốc 500ml, gia nhiệt 60⁰C, khuấy đều trên máy khuấy từ trong 60 phút. Tiếp theo bổ sung 15g Soybean Lecithin vào khuấy đều trong 60 phút, hỗn hợp được tiếp tục rung siêu âm trong 60 phút, ta được dung dịch A. Bước 2: Pha 85ml Polysorbate: PEG: Nước theo tỉ lệ 2:1:1, gia nhiệt lên 60⁰C khuấy đều trên máy khuấy từ trong 30 phút cho tan đều vào nhau tạo hệ đồng nhất, ta có dung dịch B. Bước 3: Cho nhỏ giọt từ từ dung dịch B vào dung dịch A, gia nhiệt từ từ lên 80⁰C (tốc độ nâng nhiệt 2⁰/phút), khi đạt nhiệt độ tiếp tục khuấy trong 4 giờ cho đến khi tạo thành hệ đồng nhất dạng gel.

Phương pháp phân tích:

Phổ hấp thụ của dung dịch nano flavonoid trong nước được đo đạc trên thiết bị Carry 50 UV-VIS có độ phân giải 1nm. Mẫu đo được pha loãng trong ethanol với nồng độ phù hợp trước khi tiến hành đo phổ hấp thụ UV-VIS.

Kích thước các tiểu phân nano flavonoid được đánh giá bởi phương pháp tán xạ laser (Dynamic Light Scattering – DLS) trên thiết bị Zetasizer Nano S90.

Hoạt tính chống oxy hóa (antioxidant) được đánh giá thông qua khả năng bắt gốc tự do 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Về nguyên tắc, các chất kháng oxy hóa sẽ trung hòa gốc DPPH bằng cách cho hydrogen, làm giảm độ hấp thụ bước sóng cực đại (517nm) và màu của dung dịch phản ứng nhạt dần, chuyển từ màu tím sang màu vàng nhạt. Giá trị mật độ quang OD càng thấp chứng tỏ khả năng bắt gốc tự do DPPH càng cao [7]. Quy trình tiến hành như sau: Pha dung dịch DPPH 0.169mM (66.5mg/L). Bổ sung 2ml DPPH vào mỗi ống nghiệm đã chứa nano flavonoid với nồng độ khác nhau: 9, 18, 27, 36 và 45µg/ml. Ủ 30 phút trong điều kiện không có ánh sáng, sau đó tiến hành đo mật độ quang tại bước sóng 517nm. Chứng dương trong thí nghiệm là acid ascorbic nồng độ 0.19mM (33,46µg/ml) là nồng độ tại đó acid ascorbic bắt 50% gốc DPPH được khảo sát tại điều kiện của phòng thí nghiệm của chúng

tôi. Đối chứng control gồm 2ml DPPH và 100µl EtOH 99.5⁰.

Tỉ lệ phần trăm hoạt tính kháng oxy hóa xác định theo công thức sau:

Tỉ lệ % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH= $[(OD_c - OD_m)/OD_c] \times 100$

Trong đó: OD_m là giá trị mật độ quang OD của mẫu; OD_c là giá trị mật độ quang OD của mẫu control.

Từ tỉ lệ % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH, chúng tôi xây dựng phương trình tương quan tuyến tính, từ đó chúng tôi xác định giá trị IC₅₀ (là nồng độ tại đó bắt 50% gốc tự do DPPH) để làm cơ sở so sánh khả năng oxy hóa của mẫu. Mẫu có giá trị IC₅₀ càng thấp thì hoạt tính kháng oxy hóa càng cao. Thông kê phân tích số liệu: Kết quả được phân tích thống kê bằng phân tích ANOVA và đồ thị được vẽ trong phần mềm Excel [10].

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Khảo sát phổ UV_VIS của hệ nano flavonoid

Trong hình 1a, 1b là ảnh của cây Larix Sibirica và flavonoid dạng bột được dùng làm nguyên liệu. Flavonoid chúng tôi dùng có màu trắng hoặc trắng ngà, vị đắng, mịn, khả năng hòa tan trong nước khá kém.

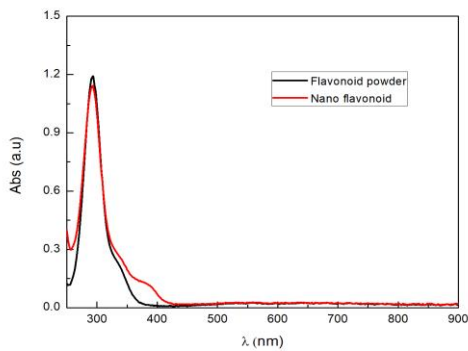
Mẫu nano flavonoid của chúng tôi sau quá trình nano hóa có dạng gel sánh, màu vàng hổ phách (Hình 1c). Khi pha loãng mẫu trong nước cho dung dịch nano flavonoid màu vàng chanh, trong suốt, khả năng phân tán trong nước của nano flavonoid được tăng lên đáng kể so với dạng flavonoid dạng bột (Hình 1d).



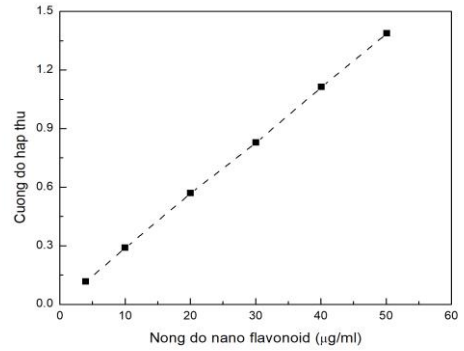


Hình 1: Cây Larix Sibirica (1a), flavonoid dạng bột (1b), flavonoid dạng nano (1c) và khả năng phân tán trong nước của mẫu flavonoid dạng bột và dạng gel nano (1d)

Mẫu flavonoid dạng bột và gel nano flavonoid được pha loãng bằng dung môi cồn ethanol trước khi đo phổ hấp thụ UV-VIS. Sự phụ thuộc của cường độ hấp thụ các mẫu trong hình 2 đều thu được đỉnh hấp thụ tại 289 nm, là đỉnh đặc trưng cho hợp chất flavonoid chiết xuất từ cây Larix Sibirica. Kết quả này cho thấy các phân tử flavonoid sau khi được nano hóa thì đặc tính hóa học của hợp chất được giữ, không có sự xuất hiện các đỉnh lạ hay không có ảnh hưởng của dung môi, tá dược trong quy trình thực nghiệm. Chúng tôi cũng xây dựng được đường phụ thuộc của cường độ đỉnh hấp thụ của hợp chất flavonoid theo nồng độ, từ đó có thể tính toán được nồng độ được chất sau khi làm (như hình 3).



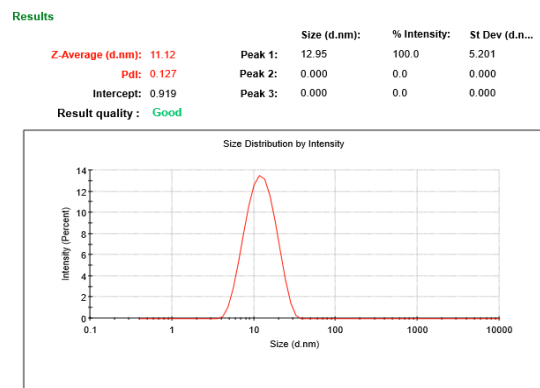
Hình 2: Phổ hấp thụ của mẫu Flavonoid dạng bột và Nano flavonoid



Hình 3: Sự phụ thuộc cường độ hấp thụ tại 289nm theo nồng độ dung dịch nano flavonoid

Kết quả đo kích thước tiểu phân nano flavonoid

Kích thước tiểu phân nano phân tán trong nước được đo trên hệ Zetasize Malvern S90 cho thấy cấu trúc nano flavonoid đã được chế tạo thành công. Kết quả đo này là hoàn toàn phù hợp với kết quả quan sát được từ ảnh quang học với độ trong suốt của dung dịch pha trong nước (Hình 1d). Kích thước các tiểu phân nano flavonoid đo được là 12.95 nm (Hình 4) trong khi nguyên liệu bột flavonoid (dihydroquercetin) có độ tinh khiết cao (98%) thường có kích thước gần 177µm (tương ứng với 80 mesh).



Hình 4: Kích thước tiểu phân nano flavonoid phân tán trong nước

Khả năng chống oxy hóa của nano flavonoid

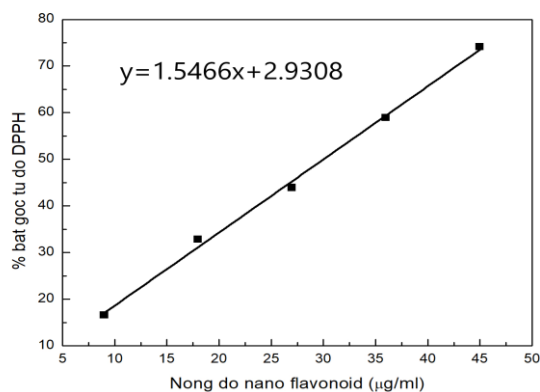
Đánh giá hoạt tính chống oxy hóa thông qua khả năng bắt gốc tự do DPPH là phương pháp đơn giản, dễ thực hiện, được các nhóm nghiên cứu sử dụng phổ biến. DPPH là tinh thể màu tím sẫm, tan tốt trong cồn nhưng khó tan trong nước, bao gồm các phân tử gốc tự do, dễ nhận một điện tử hoặc gốc hydro từ chất khác. Chất này có dải hấp thụ với đỉnh cực đại tại bước sóng 517nm và

đỉnh này giảm dần hoặc biến mất khi có mặt của chất có khả năng chống oxy hóa, bắt gốc tự do. Khi trong dung dịch DPPH tồn tại chất có khả năng bắt gốc tự do thì gốc DPPH tự do sẽ nhận điện tử và chuyển thành gốc DPPH-H, gốc này làm cho dung dịch từ màu tím sẫm chuyển dần sang màu vàng [8].

Để xác định khả năng bắt gốc tự do DPPH, mẫu nano flavonoid được pha loãng thành dãy nồng độ: 9, 18, 27, 36 và 45 μ g/ml. Chứng dương sử dụng là acid ascorbic nồng độ 33.46 μ g/ml. Lấy 2ml DPPH và 100 μ l EtOH 99.5⁰ tạo mẫu control. Mỗi nồng độ được lặp lại 3 lần. Kết quả ghi nhận về tỉ lệ % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của mẫu được minh họa trong bảng 1 và hình 5 dưới đây.

Bảng 1. Tỉ lệ % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH của nano flavonoid

Nồng độ (μ g/ml)	% bắt gốc tự do DPPH
9	16.58
18	32.85
27	43.91
36	58.93
45	74.13
Acid ascorbic (33.46 μ g/ml)	51.69



Hình 5: Sự phụ thuộc giữa tỉ lệ % bắt gốc tự do DPPH theo nồng độ dung dịch nano flavonoid.

Như vậy, theo sự tăng dần của nồng độ thì tỉ lệ % bắt gốc tự do DPPH của mẫu nano flavonoid tăng lên. Điều đó chứng tỏ, khả năng

kháng oxy hóa của mẫu tăng tỉ lệ thuận theo chiều nồng độ.

Phương trình hồi quy tuyến tính thể hiện mối tương quan giữa tỉ lệ % bắt gốc tự do DPPH và nồng độ mẫu nano flavonoid, có dạng $y = 1.5466x + 2.9308$, $R^2 = 0.9972$. Từ phương trình hồi quy trên, giá trị IC_{50} của nano flavonoid là 0.1mM (30.425 μ g/ml).

KẾT LUẬN

Sản phẩm nano flavonoid dạng gel đã được chế tạo thành công với kích thước 12.95nm có khả năng phân tán tốt trong nước, giữ được đặc trưng hóa học của hợp chất. Khả năng chống oxy hóa thông qua việc đánh giá khả năng phản ứng, bắt gốc tự do DPPH cho thấy hiệu quả của mẫu sản phẩm tốt hơn so với acid ascorbic. Điều này hứa hẹn cho nhiều nghiên cứu khoa học sắp tới trong việc cải thiện sức khỏe, thúc đẩy những khai thác dược chất tự nhiên trong công nghệ nano sinh học.

Lời cảm ơn

Công trình này được thực hiện với sự hỗ trợ về tài chính của đề tài Hợp tác quốc tế cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, mã số: QTBY01.06/18-19.

Tài liệu tham khảo

- Phan Thị Thủy, Nguyễn Thị Mai Hương, Lê Thị Thu Hương, Nguyễn Trọng Tĩnh, Nguyễn Thanh Bình, *Nghiên cứu chế tạo nano curcumin dạng gel từ tinh nghệ vàng Việt Nam*, Hội nghị Vật lý chất rắn và khoa học vật liệu toán quốc –SPMS 2017.
- Nguyễn Thị Hằng, Nguyễn Thị Thanh Tâm, Mai Hữu Phương, *Khả năng bắt gốc tự do DPPH và năng lực khử của Nam sâm bò ở Cần Giò, thành phố Hồ Chí Minh*, Tạp chí Khoa học ĐHSP TPHCM, số 12 (90), 2016.
- Lê Quan Nghiệm, *Sinh dược học và các hệ thống trị liệu mới*, NXB Y học, Hồ Chí Minh, trang 50-54, 148-174.

4. Md.Nur Alam, Nusrat Jahan Bristi, Md. Rafiquzzaman, *Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity*, Saudi Pharmaceutical Journal (2013) 21, 143-152.
5. Eli Topaloglu, Nurgul Ay, Some mechanical properties of Siberian larch (*Larix Sibirica*) wood, Research Gate, 2010, pp. 1361-1366.
6. Varur Raj Vemula, Venkates Lagishetty, Srikanth Lingala, Solubility enhanced techniques, International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and research 5 (1), 2010, pp. 41-51.
7. Brand- Williams, W., Cuvelier, M. E.& Berset, C. (1995), *Use of free radical method to evaluate antioxidant activity*, LWT, Vol. 28, pp. 25-30.
8. Fevzi Topal, Meryem Nar et. al., *Antioxidant activity of taxifolin: an activity-structure relationship*, J. Enzyme Inhib Medi Chem, 2016, 31(4), pp. 674-683.
9. Anita Elaine Weidmann, *Dihydroquercetin: More than just an impurity?*, European Journal of Pharmacology 684 (2012), pp. 19-26.
10. ThS. Huỳnh Kim Liên, *Thông kê hóa học và tin học trong hóa học*, Trường Đại học Cần Thơ, 2006.

Hà Nội, ngày 28 tháng 1 năm 2023

Số: 45/QĐ-HVKHCN

QUYẾT ĐỊNH
Về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ

GIÁM ĐỐC
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Căn cứ Quyết định số 303/QĐ-VHL ngày 01/3/2023 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế Tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 15/2014/TT-BGDĐT ngày 15/5/2014 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 775/QĐ-HVKHCN ngày 21/11/2016 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1502/QĐ-HVKHCN ngày 18/11/2019 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận học viên cao học trúng tuyển đợt 2 năm 2019;

Căn cứ Quyết định số 400/QĐ-HVKHCN ngày 04/04/2022 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận đề tài và cử người hướng dẫn luận văn thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 847/QĐ-HVKHCN ngày 16/5/2022 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc gia hạn thời gian học tập lần 1 cho học viên Phan Thị Thủy;

Xét đề nghị của Trưởng khoa Vật lý, Trường phòng Đào tạo.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ cho học viên Phan Thị Thủy với đề tài: “Nghiên cứu chế tạo và đánh giá khả năng chống oxy hóa của hệ nano Taxifolin”.

Chuyên ngành: Vật lý chất rắn, Mã số: 8 44 01 04

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận văn kèm theo Quyết định này.

Điều 2. Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận văn thạc sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ. Quyết định này có hiệu lực trong thời hạn tối đa 60 ngày làm việc kể từ ngày ký.

Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

Điều 3. Trường phòng Tổ chức – Hành chính và Truyền thông, Trường phòng Đào tạo, Trường phòng Kế toán, Trưởng khoa Vật lý, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và học viên cao học có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /.

Nơi nhận:

- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ học viên;
- Lưu: VT, ĐT, HK.14.

GIÁM ĐỐC



GS.TS. Vũ Đình Lâm

DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

(Kèm theo Quyết định số 450/QĐ-HVKHCN ngày 28/4/2023
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)



Cho luận văn của học viên: Phan Thị Thủy

Tên đề tài: “Nghiên cứu chế tạo và đánh giá khả năng chống oxy hóa của hệ nano Taxifolin”.

Chuyên ngành: Vật lý chất rắn

Mã số: 8 44 01 04

Người hướng dẫn: TS. Nguyễn Thanh Bình, Viện Vật lý,

Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong đơn
1.	PGS.TS. Nguyễn Thanh Bình	Vật lý chất rắn	Viện Vật lý, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Nghiêm Thị Hà Liên	Vật lý chất rắn	Viện Vật lý, Viện Hàn lâm KHCNVN	Phản biện
3.	PGS.TS. Nguyễn Quang Tùng	Công nghệ hóa học	Trường ĐH Công nghiệp Hà Nội, Bộ Công thương	Phản biện
4.	TS. Nguyễn Thanh Hường	Khoa học vật liệu	Viện Khoa học vật liệu, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên Thư ký
5.	PGS.TS. Lê Hải Đăng	Hóa học	Trường ĐH Sư phạm Hà Nội, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Ủy viên

Hội đồng gồm 05 thành viên./.

KI
HỌC V

độc H
văn th
của h

học v
thành

đồng

1. Đ
2. C
3. T
4. H
5. P

Hà Nội, ngày 15 tháng 5 năm 2023

BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Thực hiện Quyết định số: 450/QĐ-HVKHCN ngày 28/4/2023 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ của học viên Phan Thị Thủy

Tên đề tài: “Nghiên cứu chế tạo và đánh giá khả năng chống oxy hóa của hệ nano Taxifolin”.

Ngành/Chuyên ngành: Vật lý chất rắn

Mã số: 8 44 01 04

Hôm nay, ngày 15 / 5 /2023 Hội đồng đã họp tại P.1707 - Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN vào lúc 8h30, Hội đồng gồm 5 thành viên:

TT	Họ và tên	Chức danh
1.	PGS.TS. Nguyễn Thanh Bình	Chủ tịch Hội đồng
2.	TS. Nguyễn Thanh Hường	Thư ký Hội đồng
3.	PGS.TS. Nghiêm Thị Hà Liên	Phản biện 1
4.	PGS.TS. Nguyễn Quang Tùng	Phản biện 2
5.	PGS.TS. Lê Hải Đăng	Ủy viên Hội đồng

Thành viên vắng mặt: (Phản biện hoặc ủy viên, đã có bản nhận xét đồng ý cho phép học viên được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ)

NỘI DUNG LÀM VIỆC

- Đại diện cơ sở đào tạo đọc quyết định thành lập Hội đồng đánh giá luận văn
- Chủ tịch Hội đồng, điều khiển phiên họp
- Thư ký HĐ, đọc lí lịch khoa học và bảng điểm của học viên
- Học viên trình bày luận văn trước Hội đồng
- Phản biện 1, đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi

... Về cao cấp của G2 với B. Dextran không màu, trongichi. sp. từ P. như
...בוד. hai cho màu nâu đỏ?

... Tại sao cách thulor hai xác định bằng MS và tại sao cách thulor do
... bằng DLS hai cách thulor cho bằng TEM?

... Taxifolin phân bố chủ yếu ở đâu trong 2 cấu trúc nhận được thì
... phân tán trong nước?

Tại các thời gian bán phần này taraxelin trong mẫu C1...
Là lớn hơn trong 5.1, 3, 4 lần

6. Phản biện 2, đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi

Cấp ý của P.B.2
Kết quả của phân tích và kết luận
Thuyết minh cách viết các thuật ngữ như nước sữa nước hay có chất / không
Cần hỏi
Mục đích khảo sát độ vật liệu taraxelin và khảo sát
độ lớn gì? Tổng học B1

7. Các thành viên HĐ và những người tham dự nêu câu hỏi

P.G.S. Lê Hải Đăng: ... nên bổ sung các dữ liệu gốc của phép
đo... kết luận kết luận nghiên cứu...
TS Nguyễn Thanh Hoàng: ... cấp lại phần format của
luận văn (ngữ pháp, hình vẽ, đồ vẽ...)
P.G.S. Nguyễn Thanh Bình: Cần chỉ rõ công thức 2, 4, lấy
b. đầu... đồ... các kết quả đo UV-Vis... để từ đó có ý nghĩa
thực tiễn và chuyển ngành vật lý chất rắn vào công việc
nghiên cứu các tính chất vật lý của nguyên tử...

8. Học viên trả lời

P.B.1: ... H.E. vì như tương có mẫu đó này do sản phẩm tạo
thành có các dạng / phức
Kịch thước đo bằng P.B.1. kết quả của máy này là 2 phép đo hạt nano 2-10nm
Taraxelin phân tán trong môi trường dầu, chất kết dính và tích phân tán trong
nước, vì tạo ra dạng rời như hình ảnh cầu bên ngoài là các phân tử trong
Mẫu C12 được báo bằng B101a C1 có các trục phức tạp hơn chất học C1.
P.B.2: ... Mục đích khảo sát tổng học nhằm xác định thời
gian nhà máy cuối mẫu chế tạo

9. Hội đồng họp kín và cho điểm

- Hội đồng bầu ban kiểm phiếu gồm 3 thành viên:

Trưởng ban: PGS.TS. Lê Hải Đăng

Ủy viên: PGS. TS. Nguyễn Thị Hà Liên

Ủy viên: TS. Nguyễn Thanh Hoàng

- Kết quả kiểm phiếu như sau:

Số phiếu phát ra: 05

Số phiếu thu về: 05

Tổng số điểm: 41,2

Điểm trung bình: 8,24

Điểm thưởng công trình công bố: 0

Tổng điểm đánh giá luận văn và thưởng công trình công bố:

- Kết luận của Hội đồng:

+ Luận văn ... *đạt yêu cầu* (đạt/không đạt yêu cầu)

+ Luận văn không trùng lặp về nội dung và tên đề tài với các công bố trước đó

10. Chủ tịch Hội đồng, công bố kết quả, yêu cầu học viên chỉnh sửa luận văn với các nội dung sau:

Học viên cần chỉnh sửa luận văn theo ý kiến của hội đồng

Buổi họp đã kết thúc vào 10 giờ 30 phút ngày 15/ 5 /2023

Hà Nội, ngày 15 tháng 5 năm 2023

THƯ KÝ HỘI ĐỒNG

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

Huong
Nguyễn Thanh Hương

NH
Nguyễn Thanh Bình

XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO
KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC



Trung
Nguyễn Thị Trung



BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người phản biện: Nghiêm Thị Hà Liên

Học hàm, học vị: PGS. TS.

Chuyên ngành: Vật lý chất rắn

Cơ quan công tác: Viện Vật Lý – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Họ và tên học viên: Phan Thị Thủy

Tên đề tài: Nghiên cứu chế tạo và đánh giá khả năng chống oxy hóa của hệ nano Taxifolin.

Chuyên ngành: Vật Lý chất rắn

Mã số: 8 44 01 04

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:

Dihydroquercetin (Taxifolin) là một phân tử polyphenols, được biết đến là một hợp chất flavonoids, không độc tính trong thực phẩm nguồn gốc thực vật có hoạt tính chống oxi hóa cao do nhiều nhóm OH rất dễ dàng nhường điện tử nhờ vậy nó có khả năng làm sạch các gốc tự do. Chúng còn được chứng minh có thể thâm thấu vào thành mạch máu, hoặc ức chế chu kỳ tế bào và hoạt động như một chất chuyển giao hóa học. Tuy nhiên, do Taxifolin kém tan trong nước và dễ phản ứng vì vậy phân tử này nhanh chóng mất hoạt tính trong hệ tiêu hóa làm chúng giảm hoạt tính trước khi được hấp thụ vào cơ thể. Vì vậy, việc nano hóa và bảo vệ phân tử Taxifolin bằng lớp vỏ bọc nhằm bảo toàn hoạt tính giúp giảm lượng dùng hay tăng hiệu quả sử dụng là việc làm đang thu hút được nhiều nhà nghiên cứu. Do vậy đề tài luận văn ***nghiên cứu chế tạo và đánh giá khả năng chống oxi hóa của hệ nano Taxifolin*** là việc làm có tính cấp thiết, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao.

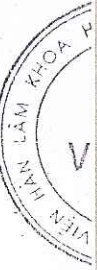
2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo

Đề tài không trùng lặp với các các luận văn đã công bố trong và ngoài nước. Tài liệu tham khảo gồm 27 tài liệu được trích dẫn rõ ràng, trung thực.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo:

Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu và phù hợp với chuyên ngành Vật lý chất rắn với mã số đào tạo 8 44 01 04.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:



Đề tài đặt vấn đề nano hóa và bảo vệ hoạt tính của phân tử Taxifolin nhằm tăng hiệu quả được học viên thực hiện: từ nghiên cứu chế tạo, sau đó đánh giá hoạt tính sinh học, độ ổn định của phân tử Taxifolin.

Việc nano hóa hệ đã được thực hiện bằng hai kỹ thuật đó là nhũ hóa sử dụng Lecithin PEG-400 và tween 80 và nghiền trộn với hợp chất beta Dextrin để có hai sản phẩm dạng gel (G1) và dạng bột rắn (G2), với tỷ lệ Taxifolin: nguyên liệu bảo vệ theo tỷ lệ 1:10.

Các phương pháp nghiên cứu TEM để đánh giá đặc trưng hình dạng kích thước của hệ nano được sử dụng phù hợp, hiện đại và đáng tin cậy. Phương pháp UV-Vis được dùng để định lượng hàm lượng Taxifolin. Kích thước thủy động học, phân bố kích thước sản phẩm cũng được đánh giá bằng phương pháp DLS. Hoạt tính chống oxy hóa của Taxifolin được khảo sát thông qua tương tác với phân tử gốc tự do là ABTS* (2,2',-azino-bis(3-ethybenzothiazoline-6 sulfonic acid) diamonium salt) và được so sánh với Trolox. Độ ổn định của hệ hạt sau phân tán trong nước cũng được khảo sát theo thời gian.

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

- Học viên đã tổng hợp được hệ Taxifolin/ Lecithin+tween 80+PEG-400 dạng gel (G1) và dạng bột Taxifolin/beta-Dextrin(G2) với hàm lượng ban đầu của Taxifolin là 10%.

-Kết quả đo TEM cho thấy hình dạng và kích thước nano của cả 2 sản phẩm, phân bố kích thước xác định bằng DLS cho thấy G1 sau hòa tan trong nước cho kích thước trung bình khoảng 11 nm còn G2 khi phân tán vào nước có kích thước trung bình khoảng 250 nm. Hàm lượng của Taxifolin được xác định trong G1 vào khoảng 9.5% và trong G2 vào khoảng 8.6%. Hoạt tính chống oxy hóa của Taxifoline trong hệ G1 và G2 cho thấy có thể so sánh với Taxifolin tự do và trolox. Kết quả cho thấy sản phẩm G2 có hoạt tính chống oxi hóa tốt hơn sản phẩm G1. Thời gian bán phân hủy của Taxifolin trong G2, G1 cũng được khảo sát cho thấy G2 bền hơn G1 tới 3.7 lần.

6. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung và hình thức:

Luận văn được viết ngắn gọn trong 3 chương trong 39 trang.

Chương 1: Tổng quan:

Phần đầu của tổng quan giới thiệu về hợp chất flavonoids nguồn gốc và hoạt tính sinh học các phân tử này, học viên viết quá sơ sài. Tiếp theo học viên muốn giới thiệu về phân tử và hoạt tính sinh học Taxifolin. Nội dung trùng lặp nhiều nên cần được viết gọn lại. Mục 1.3 Tiêu đề không khớp với nội dung nên đặt lại là Một số kỹ thuật nano hóa Taxifolin hiện nay.

Ngoài ra phần này có lỗi trình bày giữa hình và text làm cho người đọc khó theo dõi. Ví dụ trong hình 1.2, trong text và chú giải trên hình ta có thể thấy 7 phân tử flavonoids, thực tế trên hình có 5 phân tử, và không chỉ rõ cấu trúc nào là phân tử nào. Chú giải Hình 1.5: Liên quan cấu trúc-tác dụng trong khả năng chống gốc tự do của flavonoid, cần được viết lại cho chính xác. Nên thống nhất cách gọi tên phân tử Taxifolin trong phần tổng quan và phần kết quả thảo luận (DHQ).

Chương 2: Thực nghiệm

Chương 3: Kết quả thảo luận.

Học viên sử dụng phép đo phổ UV-VIS trong xác định nồng độ và khả năng dập gốc tự do cũng như theo dõi độ ổn định của các sản phẩm rất nhiều. Tuy nhiên không thấy được một hình ảnh nào về phổ của tiền chất cũng như sản phẩm. Học viên cần bổ sung phổ hấp thụ để tăng tính thuyết phục trong biện giải.

Luận văn mắc một số lỗi trong trình bày, dùng từ thiếu chính xác, văn phong chưa mang tính khoa học; nhầm giữa độ phóng đại và độ phân giải; hình quá nhỏ; hình không cùng trang, chú giải hình và bảng thiếu chính xác; kiến nghị không dựa trên các kết quả đã thực hiện...

7. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?

Bài báo được đăng trong hội nghị Vật lý chất rắn và khoa học vật liệu Toàn quốc – SPMS 2019, có đối tượng, phương pháp nghiên cứu tương đồng với đối tượng và phương pháp nghiên cứu trong luận văn.

Các kết quả chưa được viết báo cáo khoa học, tuy nhiên các kết quả thu được trong luận văn hoàn toàn có thể viết được báo cáo khoa học.

8. Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ được hay không?):

Luận văn hoàn toàn đáp ứng yêu cầu đối với một luận văn thạc sĩ và có thể được đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ.

Hà Nội, ngày tháng năm 2023

Xác nhận của cơ quan công tác

TRƯỞNG PHÒNG QUẢN LÝ TỔNG HỢP



Võ Thị Luân Yên

Người phản biện
(Ký, ghi rõ họ tên)

Nghiêm Thị Hà Liên

Lưu ý:

- Nhận xét được làm thành: 02 bản, có chữ ký của người nhận xét và xác nhận của cơ quan công tác (nếu đang công tác) và gửi về phòng Đào tạo 02 ngày trước buổi bảo vệ.
- Địa chỉ liên hệ: phòng Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội. ĐT: 024.33899977

BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người phản biện: Nguyễn Quang Tùng

Học hàm, học vị: PGS. TS

Chuyên ngành: Công nghệ-hóa học

Cơ quan công tác: Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội, Bộ công thương

Họ và tên học viên: Phan Thị Thủy

Tên đề tài: Nghiên cứu chế tạo và đánh giá khả năng chống oxy hóa của hệ nano Taxifolin

Chuyên ngành: Vật Lý chất rắn

Mã số: 8 44 01 04

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:

Taxiflorin còn được gọi là dihydroquercetin (DHQ) là một flavonoid, được tìm thấy trong các thực vật như cam, quýt, hành tây. Taxiflorin có nhiều hoạt tính quý báu như: chống oxy hóa, bảo vệ mao mạch máu, chống viêm, bảo vệ gan và dạ dày,... và quan trọng nhất của Taxiflorin là không gây độc tế bào. Hạn chế của Taxiflorin là kém tan trong nước, nên khó hấp thu vào cơ thể, nên sinh khả dụng của nó thấp, do đó không phát huy được hết tác dụng dược tính của nó.

Làm thế nào để độ tan của Taxiflorin trong nước tăng lên, qua đó Taxiflorin phát huy được triệt để dược tính của nó? Công nghệ nano và phân tán DHQ thể rắn đạt tới kích thước nano từ đó có thể phát huy được hiệu quả về dược tính của DHQ, đặc biệt là khả năng chống oxy hóa của nó là việc làm có ý nghĩa khoa học, có tính cấp thiết, thời sự và thực tiễn.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Không có sự trùng lặp của đề tài này so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước. 27 tài liệu tham khảo đã được trích dẫn trung thực, rõ ràng và đầy đủ

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo:

Tên đề tài phù hợp với nội dung nghiên cứu và phù hợp với chuyên ngành cũng như mã số đào tạo.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

Hình thái học của vật liệu chế tạo được khảo sát bằng các phương pháp hiển vi điện tử truyền qua (TEM), tán xạ ánh sáng động (DLS), xác định nồng độ DHQ bằng UV-Vis, ... Đánh giá khả năng chống oxy hóa thông qua năng lực khử gốc ABTS* của hệ nano.



Các phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để thực hiện luận án là hiện đại và phù hợp.

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

Đã chế tạo được hệ nhũ tương nano, hệ rắn β -CD/DHQ bằng phương pháp nhũ hóa và phương pháp nghiền trộn và khảo sát hình thái cấu trúc của nó. Kết quả cho thấy kích thước trung bình của các hạt trong mẫu nhũ tương nano là 10nm, trong mẫu rắn β -CD/DHQ là 250nm.

Đã khảo sát độ ổn định của hệ nhũ tương nano, hệ rắn β -CD/DHQ trong nước cất. Kết quả cho thấy cả 2 hệ này đều ổn định theo thời gian, trong đó hệ rắn β -CD/DHQ ổn định hơn hệ nhũ tương khi phân tán trong nước cất. Đã chứng minh được cả hai hệ đều phân hủy theo phương trình động học bậc 1, với thời gian bán rã của hệ rắn β -CD/DHQ là 3428 giờ, còn hệ nhũ tương là 929 giờ.

Đã khảo sát hoạt tính ức chế gốc tự do ABTS*, cho thấy hệ nhũ tương nano chứa DHQ thể hiện hoạt tính ức chế gốc tự do ABTS* tốt hơn chất đối chứng Trolox, hệ rắn β -CD/DHQ và bột DHQ.

6. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung và hình thức:

Luận văn còn một số hạn chế và thiếu sót cần bổ sung và chỉnh sửa:

+ Cần thống nhất cách dùng thuật ngữ: *Thân nước hay ưa nước, nước cất hay nước khử ion, ...*

+ Phần mở đầu quá dài, chưa nêu bật được nội dung công nghiên cứu.

+ Phần kết luận nên viết gọn theo hướng làm nổi bật được các kết quả nghiên cứu của luận văn.

+ Bổ sung phần thực nghiệm về việc khảo sát động học của quá trình phân hủy DHQ trong môi trường nước.

7. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?

Kết quả nghiên cứu của luận văn có thể viết được bài báo đăng trên các tạp chí khoa học chuyên ngành hoặc trên các hội thảo khoa học.

8. Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ được hay không?):

Nội dung nghiên cứu của luận văn hoàn toàn đáp ứng được yêu cầu đối với một luận văn thạc sĩ. Luận văn của CHV Phan Thị Thủy có thể được đưa ra hội đồng để bảo vệ và nhận học vị Thạc sĩ vật lý chất rắn.

Hà Nội, ngày 12 tháng 5 năm 2023

TRƯỜNG ĐHCN HÀ NỘI

Xác nhận ông Nguyễn Quang Tùng hiện
là viên chức do nhà trường quản lý

TL. HIỆU TRƯỞNG
TRƯỞNG PHÒNG TC-HC



Nguyễn Văn Thiện

Người phản biện
(Ký, ghi rõ họ tên)

Nguyễn Quang Tùng

**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA LUẬN VĂN THEO
KẾT LUẬN CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ**

Học viện Khoa học và Công nghệ đã có Quyết định số 450/QĐ-HVKHCN ngày 28 tháng 04 năm 2023 về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ cho học viên Phan Thị Thủy, sinh ngày 13/05/1994, tại Hà Nội,

Đề tài: Nghiên cứu chế tạo và đánh giá khả năng chống oxy hóa của hệ nano Taxifolin

Chuyên ngành: Vật lý chất rắn, Mã số: 8 44 01 04

Ngày 15 tháng 05 năm 2023, Học viện Khoa học và Công nghệ đã tổ chức cho học viên bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ. Theo Biên bản của Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ, học viên phải bổ sung và sửa chữa các điểm sau đây:

Số TT	Nội dung cũ	Nội dung đã chỉnh sửa
1.	Phần “Mở đầu” (trang 1): viết dài.	<ul style="list-style-type: none">- Đã trình bày ngắn gọn lại phần “Mở đầu”.- Đã thống nhất tên viết tắt TAX (taxifolin) xuyên suốt luận văn.
2.	Phần “Tổng quan”: <ul style="list-style-type: none">- Khái quát cây Tùng Siberia (<i>Larix Sibirica</i>), Flavonoid, Dihydroquercetin- Xu hướng nghiên cứu và ứng dụng của các HCTN bằng công nghệ nano hiện nay	<ul style="list-style-type: none">- Chỉ Tổng quan về hoạt chất Taxifolin (nguồn gốc, cấu trúc hóa học, tình hình nghiên cứu về taxifolin)- Đổi tên đề mục “Xu hướng nghiên cứu...hiện nay” thành “Một số phương pháp chế tạo nano Taxifolin”
3.	Phần “Kết quả và thảo luận”: <ul style="list-style-type: none">- Kết quả tính toán hàm lượng DHQ: sử dụng pp quang phổ UV-Vis chưa có phổ tiền chất.- Kết quả đo khả năng chống oxy hóa thông qua năng lực khử gốc ABTS của hệ nano: sử dụng pp quang phổ UV-Vis chưa có phổ tiền chất	<ul style="list-style-type: none">- Đổi tên “Kết quả tính toán hàm lượng DHQ” thành “Kết quả tính toán hàm lượng TAX trong các hệ nano”: đã thêm phổ hấp thụ UV-Vis của nguyên liệu bột TAX 95% (hình 3.5), mẫu nhũ tương TAX (G1) và tá dược của nó (hình 3.7); mẫu phức nano TAX-β-CD (hình 3.7)- Đổi tên “Kết quả đo khả năng chống oxy hóa thông qua



		năng lực khử gốc ABTS của hệ nano” thành “Kết quả đánh giá khả năng chống gốc tự do ABTS của các hệ nano”: đã thêm phổ hấp thụ UV-Vis của gốc ABTS (hình 2.8), của các mẫu đo (bột TAX 95%, mẫu nhũ tương nano, mẫu phức nano TAX- β -CD, Trolox) hoạt tính ức chế gốc ABTS (hình 3.10)
4.	- Bảng, hình vẽ nhỏ	- Đã trình bày lại sơ đồ, bảng, hình vẽ to, rõ ràng
5.	Phần “Kết luận và kiến nghị”: viết dài	- Đã gạch đầu dòng, tóm tắt lại những ý chính
6.	Phần “Tài liệu tham khảo”: 27 trích dẫn	- Thay đổi thành 31 trích dẫn

Học viên chân thành cảm ơn quý thầy, cô trong Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ đã góp ý và tạo cơ hội cho học viên hoàn thiện luận văn của mình.


Xin trân trọng cảm ơn!


Hà Nội, ngày 12 tháng 06 năm 2023


CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN

HỌC VIÊN


Nguyễn Thanh Bình


Nguyễn Thanh Bình


Phan Thị Thủy

XÁC NHẬN CỦA HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC


Nguyễn Thị Trung

