

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 ANH TRÚC

NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN HỆ TIỂU PHÂN NANO PLGA GIẢI
PHÓNG CÓ KIỂM SOÁT DIOSMIN VÀ HESPERIDIN

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Thành phố Hồ Chí Minh, năm 2026

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 ANH TRÚC

NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN HỆ TIỂU PHÂN NANO PLGA GIẢI
PHÓNG CÓ KIỂM SOÁT DIOSMIN VÀ HESPERIDIN

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Chuyên ngành: Hóa Hữu cơ

Mã lớp: 8440114

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. PGS.TS. HOÀNG THỊ KIM DUNG

2. TS. TÔN ANH KHOA

A purple ink signature of PGS.TS. Hoàng Thị Kim Dung.

A purple ink signature of TS. Tôn Anh Khoa.

Thành phố Hồ Chí Minh – 2026

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đề tài “Nghiên cứu phát triển hệ tiểu phân nano PLGA giải phóng có kiểm soát diosmin và hesperidin” trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.

TP.HCM, ngày 24 tháng 05 năm 2026



Phan Thị Anh Trúc

LỜI CẢM ƠN

Đối với tôi, luận văn này không chỉ đơn thuần là điều kiện để kết thúc một bậc học, mà còn là một bước ngoặt lớn gắn liền với những cột mốc quan trọng trong cuộc đời.

Lời tri ân sâu sắc, kính trọng và lớn lao nhất, tôi xin được gửi đến PGS.TS. Hoàng Thị Kim Dung và TS. Tôn Anh Khoa. Thầy cô không chỉ là người trực tiếp hướng dẫn, định hướng khoa học và chỉnh sửa từng nội dung trong luận văn, mà còn truyền cảm hứng, dạy tôi những bài học quý giá về tư duy nghiên cứu và tác phong làm việc nghiêm túc. Sự tận tâm và kiên nhẫn của thầy cô chính là động lực lớn nhất giúp tôi vượt qua những áp lực và khó khăn trong suốt quá trình thực hiện đề tài.

Tôi xin cảm ơn sự giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi của ban Lãnh đạo, phòng Đào tạo, các phòng chức năng của Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đối với tôi trong suốt quá trình học và thực hiện luận văn.

Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn chân thành và ấm áp đến các anh chị: TS. Huỳnh Thị Kim Chi, ThS. Nguyễn Thị Cẩm Thu, ThS. Nguyễn Hoàng Phúc và KS. Nguyễn Thị Hồng An. Trong suốt thời gian tôi học tập và làm việc tại phòng, các anh chị đã luôn hỗ trợ nhiệt tình. Em xin cảm ơn những lời khuyên chân thành và tấm lòng của các chị mỗi khi em đối mặt với thất bại hay bế tắc. Sự hiện diện và những lời động viên của các chị là điểm tựa tinh thần to lớn giúp em vững tin đi tiếp.

Em cũng muốn gửi lời cảm ơn đến ThS. Ngô Kim Khánh Huy. Không chỉ là người dẫn dắt em những bước đi đầu tiên, mà trong giai đoạn em gặp nhiều khó khăn và chông chênh nhất, những lời khuyên chân thành và sự an ủi của anh đã giúp em cảm thấy nhẹ lòng và vững tin hơn rất nhiều.

Tôi xin ghi nhận sự hỗ trợ nhiệt tình từ các bạn sinh viên tại phòng Hữu cơ Môi trường và phòng Công nghệ Vô cơ, Hóa lý – Viện Công nghệ Tiên tiến, đặc biệt là bạn Nguyễn Hồ Thúy An và Vũ Minh Khôi, các bạn đã cùng tôi thức trắng qua những đêm dài và những ngày làm việc miệt mài tại phòng thí nghiệm. Khoảng thời gian cao điểm suốt một tuần lễ ấy, dù đầy rẫy những áp lực và mệt mỏi, nhưng lại là những kỷ niệm vui vẻ và ý nghĩa nhất mà tôi may mắn có được trên hành trình này. Đồng thời, tôi xin trân trọng cảm ơn các anh/chị tại phòng Vi sinh – Viện Khoa học

Sự sống đã tạo điều kiện thuận lợi, hỗ trợ thiết bị máy móc để tôi hoàn thành các nội dung nghiên cứu. Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, mã số UDPTCN.01/24-26.

Lời cuối cùng, con xin gửi lời tri ân sâu sắc nhất đến gia đình. Con cảm ơn ba và chị hai đã luôn là chỗ dựa vững chắc, lo lắng và hy sinh thầm lặng để con yên tâm học tập. Và đặc biệt, con xin dành tặng thành quả nhỏ bé này đến mẹ. Cảm ơn mẹ đã sinh ra con, con tin rằng mẹ vẫn luôn dõi theo và mỉm cười với từng bước trưởng thành của con. Hy vọng con luôn giữ vững tâm và ý chí kiên cường để tiếp tục theo đuổi ước mơ, vươn mình ra biển lớn, gặp gỡ những người bạn, trải nghiệm những môi trường mới và chạm tay vào những tri thức mới. Con tin rằng trên mọi hành trình con đi, mẹ vẫn luôn dõi theo và tiếp thêm sức mạnh cho con.

Sau tất cả, tôi muốn dành một lời cảm ơn cho chính mình cũng như một lời nhắc nhở dành cho tôi vì đã đủ mạnh mẽ vượt qua những giai đoạn khó khăn nhất, đã kiên trì đến cùng và không bao giờ bỏ cuộc. Và cảm ơn những người bạn, những người thân yêu đã luôn ở bên cạnh tôi những năm tháng đó.

Mặc dù đã rất cố gắng, song luận văn khó tránh khỏi những thiếu sót. Tôi rất mong nhận được những ý kiến đóng góp quý báu của quý thầy cô và Hội đồng để đề tài được hoàn thiện hơn. Kính chúc quý thầy cô, gia đình, bạn bè và tất cả mọi người thật nhiều sức khỏe, bình an và luôn tìm thấy những điều ý nghĩa nhất trong cuộc sống.

Xin trân trọng cảm ơn!

Thành phố Hồ Chí Minh, năm 2026

PHAN THỊ ANH TRÚC

MỤC LỤC

Danh mục các ký hiệu, các chữ viết tắt	iv
Danh mục các bảng	vi
Danh mục các sơ đồ	vii
Danh mục các hình ảnh	viii
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	2
1.1. Đặt vấn đề	2
1.1.1. Bệnh giãn tĩnh mạch và tình hình chung hiện nay	2
1.1.2. Tính cấp thiết của đề tài	3
1.2. Giới thiệu về diosmin	5
1.2.1. Đặc điểm chung	5
1.2.2. Tình hình nghiên cứu về PLGA-diosmin	5
1.3. Giới thiệu về hesperidin	6
1.3.1. Đặc điểm chung	6
1.3.2. Tình hình nghiên cứu về PLGA-hesperidin	6
1.4. Giới thiệu chung về PLGA	7
1.4.1. Đặc điểm chung	7
1.4.2. Các hệ polymer mang thuốc nano	8
1.4.2.1. Hạt nano lai polymer-lipid	8
1.4.2.2. PLGA với hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD)	8
1.4.2.3. PLGA với chitosan	9
1.5. Mô hình MESP và phần mềm Spartan	9
1.5.1. Phần mềm Spartan	10
1.5.2. Nguyên lý khoa học của mô hình thể tĩnh điện phân tử (MESP)	10
1.5.3. Nguyên tắc phân màu / vùng trên bản đồ thể tĩnh điện	11
CHƯƠNG 2: THỰC NGHIỆM	12
2.1. Hóa chất, dụng cụ, thiết bị	12
2.1.1. Các hóa chất thực nghiệm	12
2.1.2. Dụng cụ và thiết bị	13

2.2. Đối tượng nghiên cứu.....	14
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	14
2.3.1. Phương pháp tổng hợp diosmin	14
2.3.2. Quá trình nghiên cứu và bào chế hệ tiểu phân PLGA chứa diosmin:hesperidin	15
2.3.2.1. Hệ D@PC	15
2.3.2.2. Hệ D@PHC.....	16
2.3.2.2. Hệ H@PHC.....	16
2.3.2.3. Phương pháp mô phỏng mô hình MESP	16
2.3.2.4. Hệ D-H@PHC	16
2.3.2.5. Hệ D-H@PHLC	18
2.3.3. Các khảo sát thực hiện	21
2.3.5. Phương pháp đánh giá tính chất, hình thái và một số đặc tính hóa lý của hệ nano mang thuốc	22
2.3.5.1. Định lượng đồng thời diosmin và hesperidin và xây dựng đường chuẩn	22
2.3.5.2. Phương pháp phân tích nhiệt quét vi sai (DSC)	24
2.3.5.3. Phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD)	24
2.3.5.4. Phương pháp quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR).....	25
2.3.5.5. Kính hiển vi điện tử quét (Scanning Electron Microscopy – SEM) .	25
2.3.5.6. Kỹ thuật tán xạ ánh sáng động (Dynamic Light Scattering - DLS) và tán xạ ánh sáng điện di (Electrophoretic Light Scattering - ELS)	25
2.3.6. Phương pháp đánh giá một số đặc tính của hệ dẫn truyền PHLC chứa diosmin và hesperidin	26
2.3.6.1. Phương pháp đánh giá độc tính bất thường	26
2.3.6.2. Phương pháp đánh giá khả năng giải phóng thuốc in vitro	27
2.3.6.3. Phương pháp đánh giá độ ổn định.....	28
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN	29
3.1. Kết quả khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình bào chế hệ dẫn truyền nano PLGA.....	29
3.1.1. Kết quả khả năng bao gói của diosmin	29
3.1.2. Kết quả khả năng bao gói của hesperidin	30

3.1.3. Kết quả mô phỏng mô hình MESP	32
3.1.3.1. MESP diosmin	32
3.1.3.2. MESP hesperidin	33
3.1.4. Khảo sát ảnh hưởng của lecithin đến khả năng đồng bao gói của diosmin và hesperidin	35
3.1.5. Kết quả bào chế của diosmin và hesperidin	36
3.2. Cơ chế hoạt động của hệ dẫn truyền thuốc	36
3.3. Kết quả đánh giá đặc tính lý hóa	38
3.3.1. Phân tích nhiệt quét vi sai (DSC)	38
3.3.2. Giảm nhiễu xạ tia X (XRD)	39
3.3.3. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR)	41
3.3.4. Hình thái bề mặt siêu phân (SEM)	42
3.4. Đánh giá sinh học và độ ổn định của hệ dẫn truyền	45
3.4.1. Đánh giá khả năng giải phóng thuốc <i>in vitro</i>	45
3.4.2. Đánh giá độc tính bất thường	48
3.4.3. Đánh giá độ ổn định	52
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	55
KẾT LUẬN	55
KIẾN NGHỊ	56
TÀI LIỆU THAM KHẢO	57
PHỤ LỤC	1

Danh mục các ký hiệu, các chữ viết tắt

Ký hiệu	Tiếng Anh	Tiếng Việt
AcOH	Acetic acid	
CS	Chitosan	
DSN	Diosmin	
D@PC		Hệ nano diosmin /PLGA/CS
D@PLC		Hệ nano diosmin /PLGA/lecithin/CS
D@PHC		Hệ nano diosmin /PLGA/HPCD/CS
D-H@PHC		Hệ nano diosmin-hesperidin /PLGA/HPCD/CS
D-H@PHLC		Hệ nano diosmin-hesperidin /PLGA/HPCD/LC/CS
PLGA	Poly (lactic-co-glycolic acid)	
LC	Lecithin	
DCM	Dichloromethane	
DMSO	Dimethyl sulfoxide	
EtOAc	Ethyl acetate	
MeOH	Methanol	
FT-IR	Fourier-transform infrared	Quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
HPD	Hesperidin	

H@PHC		Hệ nano hesperidin /PLGA/HPCD/CS
HPCD	Hydroxypropyl- β - cyclodextrin	
MESP	Molecular Electrostatic Potential	Thế tĩnh điện

Danh mục các bảng

Bảng 2.1. Các hóa chất sử dụng trong quá trình tổng hợp	12
Bảng 2.2. Công thức bào chế hệ hạt nano D-H@PHC.....	18
Bảng 2.3. Công thức bào chế hệ hạt nano D-H@PHLC	21
Bảng 2.4. Các thông số trong quá trình tổng hợp hệ phức hợp PLGA và HPCD của diosmin	21
Bảng 2.5. Khảo sát ảnh hưởng của khối lượng hesperidin đến hiệu suất bao gói EE%	22
Bảng 2.6. Khảo sát ảnh hưởng của lecithin đến hiệu suất đồng bao gói EE%	22
Bảng 3.1. Kết quả đo DLS và zeta của các hệ dẫn truyền diosmin.....	29
Bảng 3.2. Kết quả đo DLS và zeta của hệ dẫn truyền hesperidin	32
Bảng 3.3. Hiệu suất bao gói và đặc tính phân bố kích thước hạt của các hệ dẫn truyền mới so với hệ	36
Bảng 3.4. Hiệu suất bao gói và đặc tính phân bố kích thước hạt tại 2 nhiệt độ: 4°C và t ^o phòng	52
Bảng 3.5. Hiệu suất bao gói và đặc tính phân bố kích thước hạt tại điều kiện 25°C/60% độ ẩm tương đối và 40°C/75% độ ẩm tương đối	53

Danh mục các sơ đồ

Sơ đồ 2.1. Quy trình bào chế hệ D-H@PHC.....17
Sơ đồ 2.2. Quy trình bào chế hệ D-H@PHLC.....20

Danh mục các hình ảnh

Hình 1.1. Cấu trúc hóa học của diosmin.	5
Hình 1.2. Cấu trúc hóa học của hesperidin.....	6
Hình 1.3. Cấu trúc hóa học của PLGA.....	7
Hình 2.1. Đồ thị đường chuẩn của diosmin và hesperidin.	23
Hình 3.1. Biểu đồ khảo sát ảnh hưởng của khối lượng hesperidin đến hiệu suất bao gói EE%.....	30
Hình 3.2. Bản đồ bề mặt MESP của diosmin được tính toán bằng phần mềm Spartan sử dụng phương pháp HF ở mức 3-21G*.	32
Hình 3.3. Bản đồ bề mặt MESP của hesperidin được tính toán bằng phần mềm Spartan sử dụng phương pháp HF ở mức 3-21G*.	33
Hình 3.4. Biểu đồ khảo sát ảnh hưởng của khối lượng lecithin đến hiệu suất bao gói EE%.....	35
Hình 3.5. Giảm đồ phân tích nhiệt lượng vi sai quét (DSC) của các nguyên liệu tinh khiết và hệ hạt nano tổng hợp.	38
Hình 3.6. Giảm đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của các mẫu nghiên cứu.	39
Hình 3.7. Phổ FT-IR của D-H@PHC và D-H@PHLC.....	41
Hình 3.8. SEM của mẫu PHLC.	42
Hình 3.9. SEM của mẫu D-H@PHC.....	43
Hình 3.10. SEM của mẫu D-H@PHLC.	43
Hình 3.11. SEM của mẫu D-H@PHLC (sugar).	43
Hình 3.12. Đồ thị giải phóng tích lũy <i>in vitro</i> của diosmin và hesperidin từ hệ nano D-H@PHLC so với mẫu đối chứng daflon và hỗn hợp trộn vật lý 9:1 với pH 1.2. .	45
Hình 3.13. Đồ thị giải phóng tích lũy <i>in vitro</i> của diosmin và hesperidin từ hệ nano D-H@PHLC so với mẫu đối chứng Daflon và hỗn hợp trộn vật lý 9:1 với pH 7.4. .	47

MỞ ĐẦU

Diosmin và hesperidin là hai glycoside flavonoid điển hình được tìm thấy nhiều trong các loại quả thuộc chi Citrus, được ứng dụng rộng rãi trong điều trị suy giãn tĩnh mạch mạn tính và bệnh trĩ. Mặc dù sở hữu tiềm năng dược lý to lớn, ứng dụng lâm sàng của diosmin và hesperidin vẫn còn nhiều hạn chế do thách thức về mặt bào chế. Rào cản lớn nhất khiến các hoạt chất này chưa phát huy tối đa hiệu quả điều trị trên lâm sàng chính là đặc tính lý hóa kém ưu việt: cả diosmin và hesperidin đều thuộc nhóm có độ tan rất thấp trong nước và tính thấm qua màng sinh học kém (thuộc nhóm IV trong Hệ thống Phân loại Sinh dược học - BCS) [1].

Khi sử dụng qua đường uống ở dạng quy ước, các hoạt chất này dễ bị kết tụ, chuyển hóa nhanh qua gan bước một và bị đào thải phần lớn ra khỏi cơ thể trước khi kịp hấp thu, dẫn đến sinh khả dụng thực tế thấp (thường dưới 5%) [2]. Để đạt được nồng độ trị liệu, bệnh nhân thường phải sử dụng liều lượng cao, gây lãng phí dược chất và gia tăng nguy cơ tác dụng phụ. Do đó, việc tìm kiếm một hệ dẫn truyền thuốc mới nhằm cải thiện độ tan và nâng cao sinh khả dụng cho cả hai diosmin-hesperidin là một yêu cầu cấp thiết.

Trong những năm gần đây, công nghệ nano, đặc biệt là các hệ hạt nano polymer, đã mở ra một hướng đi đột phá. Trong đó, PLGA (Poly lactic-co-glycolic acid) nổi lên như một vật liệu mang lý tưởng nhờ tính tương thích sinh học cao, khả năng tự phân hủy sinh học an toàn và đã được FDA (Hoa Kỳ) chấp thuận sử dụng. Việc bao gói diosmin và hesperidin vào lõi polymer PLGA không chỉ giúp chuyển đổi trạng thái dược chất từ tinh thể sang vô định hình để tăng độ tan [1], mà còn bảo vệ hoạt chất khỏi môi trường khắc nghiệt của đường tiêu hóa, đồng thời kiểm soát quá trình giải phóng thuốc tại đích tác dụng [3].

Nhận thấy tiềm năng kết hợp giữa hoạt tính sinh học của diosmin và hesperidin kèm ưu điểm vượt trội của hệ dẫn truyền PLGA, đề tài "Nghiên cứu phát triển hệ tiểu phân nano PLGA giải phóng có kiểm soát diosmin và hesperidin" được thực hiện nhằm mục tiêu bào chế và đánh giá hệ tiểu phân nano PLGA đồng bao gói diosmin và hesperidin, hướng tới việc tối ưu hóa khả năng hấp thu và hiệu quả điều trị của chế phẩm qua đường uống.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Đặt vấn đề

1.1.1. Bệnh giãn tĩnh mạch và tình hình chung hiện nay

Bệnh giãn tĩnh mạch (Varicose veins - VVs), suy tĩnh mạch mạn tính (Chronic Venous Insufficiency - CVI) là tình trạng máu tĩnh mạch trở về tim theo một chiều bình thường bị gián đoạn và dòng máu chảy theo hai chiều. Các van mỏng, mềm dẻo thường có trong tất cả các tĩnh mạch ngoại vi thường ngăn chặn dòng máu chảy ngược; suy hoặc tổn thương van được cho là nguyên nhân gây suy tĩnh mạch. Các yếu tố dẫn đến suy bao gồm các yếu tố lối sống, tăng huyết áp tĩnh mạch trung tâm, huyết khối hoặc các biến thể di truyền về số lượng hoặc độ giòn của van. Khi van bị suy và tĩnh mạch suy yếu, điều này có thể dẫn đến tăng huyết áp tĩnh mạch cục bộ, ứ máu/phi đại tĩnh mạch, phù nề mô và thay đổi tưới máu mô. Những thay đổi này có thể khu trú hoặc ảnh hưởng đến toàn bộ chi. Tĩnh mạch giãn, tĩnh mạch nông ngoằn ngoèo giãn to rõ rệt, là biểu hiện có thể nhìn thấy bên ngoài của suy tĩnh mạch chi dưới nông. Bất kỳ tĩnh mạch nào cũng có thể bị ảnh hưởng, bao gồm tĩnh mạch hiển lớn/nhỏ, tĩnh mạch xuyên hoặc tĩnh mạch nhỏ. Tình trạng giãn tĩnh mạch có thể do tĩnh mạch không đủ chức năng hoặc do các mạch xuyên tĩnh mạch không đủ chức năng khiến các tĩnh mạch nông phải chịu áp lực cao từ hệ thống sâu [4]. Tác động của CVI vượt xa những lo ngại về thẩm mỹ. Nó là một gánh nặng kinh tế - xã hội đáng kể, phát sinh từ chi phí điều trị trực tiếp, chi phí gián tiếp do mất ngày làm việc, và sự suy giảm nghiêm trọng chất lượng cuộc sống của bệnh nhân [5]. Các triệu chứng như đau, nặng chân, phù, và chuột rút có thể ảnh hưởng sâu sắc đến các hoạt động hàng ngày [4]. Đáng báo động hơn, xu hướng già hóa dân số trên toàn cầu được dự báo sẽ làm gia tăng đáng kể tỷ lệ mắc CVI trong tương lai. Điều này đặt ra một thách thức lớn cho các hệ thống y tế, có nguy cơ dẫn đến sự gia tăng không bền vững về nguồn lực và chi phí cần thiết để quản lý và điều trị bệnh [5].

Bệnh suy tĩnh mạch mạn tính là một trong những vấn đề sức khỏe phổ biến nhất, ảnh hưởng đến một phần đáng kể dân số toàn cầu [4]. Các dữ liệu dịch tễ học cho thấy đây không phải là một tình trạng hiếm gặp mà là một gánh nặng y tế thực sự, với tỷ lệ hiện mắc dao động từ 10% đến 30% dân số thế giới [5]. Một số phân tích tổng hợp còn báo cáo một khoảng tỷ lệ rộng hơn, từ 2% đến 73%, phản ánh sự khác

biệt đáng kể về mặt địa lý, phương pháp chẩn đoán, và các quần thể được nghiên cứu. Bệnh lý này đặc biệt phổ biến ở các quốc gia phương Tây và các nước phát triển, nơi lối sống ít vận động và chế độ ăn uống có thể là các yếu tố góp phần [6]. Ước tính có khoảng một phần ba dân số trưởng thành bị ảnh hưởng bởi giãn tĩnh mạch ở các mức độ khác nhau [7], và tỷ lệ này tăng lên rõ rệt ở các nhóm tuổi cao hơn [8].

Một nghiên cứu tiên phong được thực hiện tại Bệnh viện Bình Dân khoảng một thập kỷ trước đã cho thấy tỷ lệ mắc bệnh lên tới 40.5% ở nhóm tuổi 40-50, một con số đáng báo động cho thấy CVI là một bệnh lý phổ biến tại Việt Nam [9]. Gần đây hơn, một nghiên cứu có mục tiêu trên 1,160 công nhân chế biến hải sản tại Hải Phòng đã đưa ra một kết quả gây sốc: tỷ lệ mắc CVI trong nhóm này là 51.9% [10]. Điều này có nghĩa là, trung bình cứ hai công nhân thì có một người có dấu hiệu của bệnh. Kết quả này nhấn mạnh một cách mạnh mẽ vai trò của yếu tố nghề nghiệp như một yếu tố nguy cơ hàng đầu, đặc biệt là các công việc đòi hỏi phải đứng hoặc ngồi trong thời gian dài.

Trên bình diện quốc tế, mối liên hệ giữa nghề nghiệp và CVI đã được chứng minh rõ ràng. Nhân viên y tế, bao gồm y tá và bác sĩ, là một trong những nhóm có nguy cơ cao nhất. Một phân tích tổng hợp cho thấy tỷ lệ mắc bệnh mạch máu mạn tính (CVD) trung bình ở nhân viên y tế là 58.5% và giãn tĩnh mạch là 22.1%, cao hơn đáng kể so với dân số chung. Các y tá, đặc biệt là y tá nữ làm việc nhiều giờ (> 55 giờ/tuần) hoặc làm ca đêm, có nguy cơ phát triển bệnh cao hơn [11]. Tương tự, các bác sĩ phẫu thuật, những người phải đứng bất động trong nhiều giờ liền, cũng phải đối mặt với nguy cơ gia tăng. Một nghiên cứu cho thấy 14.6% bác sĩ phẫu thuật có dấu hiệu của giãn tĩnh mạch, và tỷ lệ này tăng lên ở những người lớn tuổi (≥ 40 tuổi), béo phì, và có kinh nghiệm làm việc lâu năm [12].

Các dữ liệu này cung cấp bằng chứng thuyết phục cho thấy CVI đã trở thành một vấn đề sức khỏe nghề nghiệp nghiêm trọng tại Việt Nam. Nó đòi hỏi sự chú ý khẩn cấp từ các nhà hoạch định chính sách y tế và các chương trình can thiệp sớm tại nơi làm việc để giảm thiểu gánh nặng bệnh tật trong tương lai [9].

1.1.2. Tính cấp thiết của đề tài

Sự phối hợp giữa diosmin và hesperidin là liệu pháp kinh điển mang lại tác dụng hiệp đồng cao trong điều trị suy tĩnh mạch mạn tính (CVI). Tuy nhiên, rào cản

lớn nhất hạn chế hiệu quả lâm sàng của bộ đôi flavonoid này là đặc tính sinh dược học rất kém. Cả hai đều được xếp vào nhóm IV theo Hệ thống phân loại Dược phẩm Sinh học (BCS), đặc trưng bởi độ hòa tan trong nước cực thấp và khả năng thẩm thấu qua màng niêm mạc ruột kém [2] [13]. Hậu quả là sinh khả dụng đường uống của thuốc không ổn định, biến thiên lớn giữa các cá thể và đòi hỏi bệnh nhân phải tuân thủ sử dụng liều cao liên tục.

Để vượt qua rào cản này, việc ứng dụng các hệ tiểu phân nano polyme (PNPs) đang là một xu hướng tất yếu. Trong đó, poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) nổi bật là vật liệu polyme sinh học lý tưởng giúp bao gói hiệu quả các dược chất kỵ nước, bảo vệ chúng khỏi sự phân hủy tại môi trường axit dạ dày và tạo ra cơ chế giải phóng có kiểm soát kéo dài [14]. Dù vậy, các nghiên cứu hiện tại trên thế giới chủ yếu chỉ mới tập trung vào việc bao gói đơn lẻ diosmin hoặc hesperidin. Việc phát triển các hệ thống đơn lẻ này chưa khai thác được tối đa tác dụng hiệp đồng của hai dược chất tại cùng một thời điểm hấp thu. Đồng thời, lõi PLGA đơn thuần mới chỉ giải quyết được bài toán về độ hòa tan, nhưng chưa tối ưu được tính thấm qua màng tế bào, đòi hỏi cần có các chiến lược thiết kế lõi - vỏ đa lớp để cải thiện toàn diện sinh khả dụng.

Xuất phát từ những khoảng trống nghiên cứu nêu trên, việc thiết kế một hệ tiểu phân nano tiên tiến có khả năng đồng bao gói (co-encapsulation) cả diosmin và hesperidin trên nền tảng PLGA là thực sự cấp thiết. Nghiên cứu này không chỉ cung cấp một giải pháp bào chế công nghệ cao khắc phục nhược điểm dược động học của thuốc gốc, mà còn hứa hẹn nâng cao hiệu quả điều trị CVI, giảm liều dùng và tác dụng phụ cho người bệnh.

Từ những lý do đó, đề tài được tiến hành với các mục tiêu nghiên cứu cụ thể như sau:

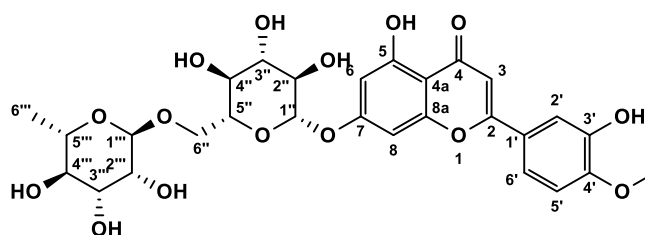
1. Bào chế và tối ưu hóa hai hệ tiểu phân nano D-H@PHC và D-H@PHLC thông qua phương pháp nhũ tương hóa bay hơi dung môi (hệ nhũ tương đơn dầu trong nước).
2. Khảo sát toàn diện đặc tính lý hóa, bao gồm: định lượng hoạt chất, đánh giá cấu trúc, hình thái bề mặt và các chỉ số vật lý của hệ nano thu được.

3. Đánh giá hiệu quả sinh học và độ ổn định, tập trung vào các chỉ tiêu về khả năng giải phóng diosmin và hesperidin từ hệ tiêu phân (*in vitro*), độc tính bất thường trên chuột (*in vivo*) và độ ổn định của hệ dẫn truyền theo thời gian.

Đặc biệt, nghiên cứu kết hợp phương pháp mô phỏng tin sinh học (*in silico*) để phân tích thể tĩnh điện (MESP) của diosmin và hesperidin bằng phần mềm Spartan, nhằm làm sáng tỏ cơ chế ở cấp độ phân tử.

1.2. Giới thiệu về diosmin

1.2.1. Đặc điểm chung



Hình 1.1. Cấu trúc hóa học của diosmin.

Diosmin là một dẫn xuất disaccharide, bao gồm phần aglycone là diosmetin liên kết với một nhóm đường rutinose (6-O-(alpha-L-rhamnopyranosyl)-beta-D-glucopyranosyl) tại vị trí C7 thông qua liên kết glycosidic [23].

Công thức phân tử: $C_{28}H_{32}O_{15}$

Khối lượng phân tử: 608.5 g/mol.

Đặc điểm cấu trúc: Khung cơ bản là 2-phenyl-1,4-benzopyrone (flavone). Sự hiện diện của liên kết đôi C2=C3 trong vòng C là yếu tố phân biệt quan trọng so với hesperidin, mang lại cấu trúc phẳng hơn và khả năng liên hợp electron mạnh hơn cho hệ thống vòng thơm [23].

1.2.2. Tình hình nghiên cứu về PLGA-diosmin

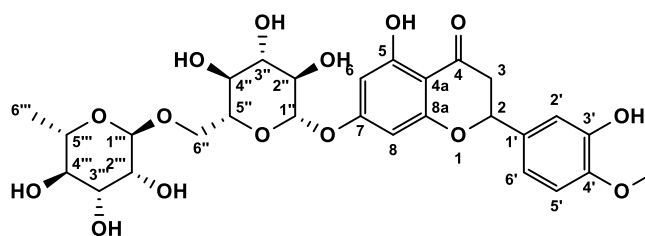
Một nghiên cứu đáng chú ý của Abd El Hady và cộng sự (2019) đã tập trung vào việc bào chế và đánh giá tiêu phân nano PLGA mang diosmin bằng phương pháp nhũ hóa bay hơi dung môi. Nghiên cứu này đã tiến hành tối ưu hóa các yếu tố công thức, trong đó tỷ lệ dược chất (diosmin) so với polyme (PLGA) là 1:15 (với lượng diosmin nạp vào là 20mg) cho hiệu suất bao gói cao nhất. Các tiêu phân nano thu được có hình cầu và kích thước nano. Ngoài ra, các nhà nghiên cứu còn tiến hành phủ một lớp chitosan lên bề mặt tiêu phân PLGA-diosmin với mục đích tăng cường khả năng lưu giữ tại dạ dày và cải thiện hoạt tính chống loét của diosmin. Các phân tích

đặc tính hóa bằng FTIR, DSC và XRD đã xác nhận sự bao gói thành công của diosmin vào trong matrix PLGA [19].

Một nghiên cứu khác của Anwer MK và cộng sự (2025) cũng đã tổng hợp tiểu phân nano PLGA-diosmin (được gọi là DNPs), có phủ chitosan, để đánh giá tác dụng chống viêm khớp trên mô hình thực nghiệm. Kết quả cho thấy các DNPs này có kích thước khoảng 223nm, hình cầu không đều và ở trạng thái vô định hình. Quan trọng hơn, DNPs đã thể hiện hiệu quả điều trị vượt trội so với việc sử dụng diosmin tự do trong mô hình viêm khớp [24].

1.3. Giới thiệu về hesperidin

1.3.1. Đặc điểm chung



Hình 1.2. Cấu trúc hóa học của hesperidin.

Hesperidin là một flavanone, nghĩa là liên kết giữa C2 và C3 trong vòng C là liên kết đơn (bão hòa). Cấu trúc này làm cho phân tử hesperidin linh hoạt hơn về mặt không gian (có tâm bất đối tại C2) [25].

Công thức phân tử: $C_{28}H_{34}O_{15}$

Khối lượng phân tử: 610.6 g/mol.

Đặc điểm cấu trúc: Aglycone là hesperetin gắn với đường rutinose tại C7.

1.3.2. Tình hình nghiên cứu về PLGA-hesperidin

Gần đây, một nghiên cứu của Saja và cộng sự (2019) về việc bào chế và đánh giá hạt nano hesperidin-PLGA-Poloxamer 407 nhằm khắc phục những hạn chế liên quan đến độ hấp thụ của hesperidin, một chất chống viêm, chống oxy hóa và chống ung thư đầy hứa hẹn nhưng có sinh khả dụng kém. Các phát hiện chính cho thấy, khả năng tương hợp máu trên hồng cầu người đã được xác nhận bằng các đánh giá độc tính tan máu và *in vitro*. Đánh giá về hoạt tính chống ung thư *in vitro* của nano hesperidin đối với tế bào MCF-7, hạt nano hesperidin có khả năng gây ngừng tăng trưởng tế bào, kích hoạt phân mảnh DNA và gây chết tế bào theo chương trình (apoptosis) thông qua các con đường phụ thuộc caspase-3 và p53. Kết quả này cho

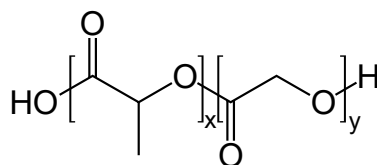
thấy hạt nano hesperidin đóng vai trò quan trọng trong việc tăng cường tác dụng chống ung thư của hesperidin, mở ra tiềm năng cho việc phát triển các chất hóa trị liệu mới [26].

Nghiên cứu của Zang và cộng sự (2021) đã phát triển một hệ thống phân phối thuốc mới dưới dạng tiểu phân nano mang hesperidin. Cụ thể, họ đã tổng hợp các tiểu phân nano sử dụng PLGA và chitosan (HPD-loaded PLGA-CS NP) để bao gói hesperidin. Ở đây, các hạt nano chitosan chứa hesperidin (HPD/NP) đã được phát triển để đưa hợp chất chống viêm HPD qua đường mũi đến phổi bị viêm. Trong ống nghiệm và trong cơ thể sống, HPD/NP thể hiện khả năng hấp thu tế bào tăng cường trong môi trường vi mô gây viêm so với HPD tự do. Nghiên cứu chứng minh rằng việc đưa HPD/NP qua đường mũi ức chế CSS và ALI/ARDS trong mô hình chuột mắc bệnh viêm phổi, và các chiến lược điều trị dựa trên hạt nano có tác dụng chống viêm có thể được sử dụng để giảm CSS và ALI ở những bệnh nhân bị tổn thương phổi do viêm [27].

Mặc dù các công bố trước đây chủ yếu tập trung ở việc vi bao từng hoạt chất đơn lẻ, chúng đã đặt nền móng quan trọng khẳng định sự tương thích của PLGA đối với diosmin và hesperidin. Đáng chú ý, chưa có tài liệu nào ghi nhận việc ứng dụng hệ dẫn thuốc nano để vận chuyển đồng thời cặp đôi hoạt chất này. Do đó, dựa trên những bằng chứng thực nghiệm đã có, đề tài này được thực hiện nhằm lấp đầy khoảng trống nghiên cứu thông qua việc chế tạo hệ tiểu phân nano PLGA chứa đồng thời diosmin và hesperidin.

1.4. Giới thiệu chung về PLGA

1.4.1. Đặc điểm chung



Hình 1.3. Cấu trúc hóa học của PLGA.

Poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) là một trong những polymer phân hủy sinh học và tương thích sinh học thành công nhất trong lĩnh vực y dược học hiện đại. Về mặt cấu trúc hóa học, PLGA là một copolymer aliphatic polyester mạch thẳng,

được tổng hợp thông qua quá trình đồng trùng hợp mở vòng của hai đơn phân là acid lactic và acid glycolic [3].

Khả năng tự tiêu hủy của PLGA trong cơ thể dựa trên bản chất nhạy cảm với nước của liên kết ester trong mạch polymer. Quá trình thoái hóa diễn ra theo cơ chế thủy phân cắt mạch, phá vỡ chuỗi polymer dài thành các đơn phân ban đầu là acid lactic và acid glycolic [3]. Hai sản phẩm thoái hóa này là các chất chuyển hóa nội sinh bình thường của cơ thể:

- Acid lactic tham gia vào chu trình Cori để tái tạo glucose.
- Acid glycolic tham gia vào chu trình Krebs.

Cuối cùng, cả hai đều được chuyển hóa hoàn toàn thành khí carbon dioxide (CO_2) và nước (H_2O) để đào thải ra ngoài qua đường hô hấp và bài tiết, hoàn toàn không gây độc tính tích lũy cho tế bào hay mô cơ quan [28].

1.4.2. Các hệ polymer mang thuốc nano

1.4.2.1. Hạt nano lai polymer-lipid

Marathe và cộng sự (2025) đánh giá hiệu quả của hệ hạt nano lai (LPHNs) cấu tạo từ lõi polymer và lớp vỏ phospholipid (như lecithin) trong việc phân phối thuốc qua đường uống. Thay vì dùng PLGA trần, việc ứng dụng cấu trúc hạt lai lipid-polymer (với lớp vỏ lecithin bao bọc lõi PLGA) giúp ngăn chặn sự rò rỉ dược chất kỵ nước, đồng thời tăng cường độ tương thích sinh học và khả năng bám dính niêm mạc ruột, từ đó tối ưu hóa sinh khả dụng đường uống [29].

Nhóm tác giả Yin (2019) nghiên cứu phát triển hệ hạt nano lai (PLNs) với cấu trúc lõi polymer và vỏ phospholipid (lecithin kết hợp muối mật) để vận chuyển Quercetin qua đường uống. Lớp màng lipid đơn lớp bao bọc bên ngoài đóng vai trò làm giảm sức căng bề mặt phân cách, giúp các hạt không bị kết tụ. Cấu trúc lai này không chỉ cải thiện đáng kể khả năng tải thuốc kỵ nước mà còn bảo vệ ma trận polymer khỏi môi trường khắc nghiệt của đường tiêu hóa, giúp sinh khả dụng đường uống của hoạt chất tăng vọt lên 375,12% so với hỗn dịch thông thường [30].

1.4.2.2. PLGA với hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD)

Ngoài ra, nhiều nghiên cứu đã chứng minh hiệu quả của HP- β -CD trong việc tăng cường tải lượng thuốc. Ví dụ, một nghiên cứu của Liu và cộng sự (2021) về hạt

nano 2-HP- β -CD/PLGA mang paclitaxel (PTX) đã cho thấy hiệu suất bao gói (EE) tăng khoảng 49.12% so với hạt nano PLGA không chứa HP- β -CD [31].

Tương tự, trong một nghiên cứu của Uslu và cộng sự (2014) sử dụng poly(ϵ -caprolactone) (PCL), một polyester phân hủy sinh học tương tự PLGA, các hạt nano PCL được phủ HP- β -CD đã cho thấy hiệu suất bao gói docetaxel (DOC) cao hơn đáng kể (đạt từ 46% đến 73%) so với các hạt nano PCL không được phủ [32].

1.4.2.3. PLGA với chitosan

Nhóm tác giả Alhakamy và cộng sự (2022) bào chế hệ hạt nano PLGA bọc chitosan để chứa thuốc kém tan dùng cho đường uống. Lớp phủ chitosan giúp khắc phục trực tiếp nhược điểm bề mặt mang điện âm và hiện tượng thuốc bị giải phóng ồ ạt của hạt PLGA trần. Nhờ đặc tính bám dính niêm mạc của chitosan, hệ hạt tương tác tốt hơn với lớp màng nhầy, nối lỏng các liên kết chặt của tế bào biểu mô ruột, từ đó kéo dài thời gian giải phóng và tăng mạnh sinh khả dụng của thuốc [33].

Nghiên cứu Lima và cộng sự (2018) bọc lớp chitosan bên ngoài ma trận PLGA để vận chuyển acid ferulic (một hợp chất có nguồn gốc tự nhiên) qua đường tiêu hóa. Việc bọc chitosan đã chuyển thể zeta của hạt nano sang điện tích dương, tạo lực hút tĩnh điện mạnh mẽ với lớp màng nhầy tích điện âm của niêm mạc ruột. Kết quả *in vitro* khẳng định lớp vỏ chitosan giúp hệ thống duy trì cấu trúc ổn định và làm tăng độ thấm thấu của hoạt chất qua màng tế bào ruột (mô hình Caco-2) lên mức 20%, vượt trội hơn hẳn so với thuốc tự do [34].

1.5. Mô hình MESP và phần mềm Spartan

Nghiên cứu này tập trung vào hai đối tượng chính: diosmin và hesperidin. Đây là hai glycoside flavonoid kinh điển, được sử dụng rộng rãi trong điều trị suy giãn tĩnh mạch mãn tính (CVI) và bệnh trĩ, thường dưới dạng phân đoạn flavonoid vi hạt tinh chế (MPFF) để tăng cường hấp thu [35]. Tuy nhiên, rào cản lớn nhất trong việc tối ưu hóa hiệu quả điều trị của chúng nằm ở các đặc tính hóa lý: độ tan thấp trong nước, tính thấm qua màng tế bào hạn chế và sự phức tạp trong hành vi phân bố pha [17]. Để giải quyết vấn đề này, việc sử dụng mô hình thế điện tĩnh phân tử (Molecular Electrostatic Potential - MESP) thông qua phần mềm Spartan như một phương pháp tiếp cận mạnh mẽ, cho phép các nhà nghiên cứu nhìn thấy sự phân bố điện tích bề mặt [36], từ đó dự đoán tính thân dầu/thân nước (lipophilicity/hydrophilicity) - yếu

tổ cốt lõi quyết định tính chất, phương pháp cũng như khả năng mang thuốc trong polymer.

1.5.1. Phần mềm Spartan

Spartan là một bộ phần mềm mô phỏng phân tử được thiết kế để cung cấp cho các nhà hóa học quyền truy cập vào các công cụ tính toán hiện đại thông qua một giao diện đồ họa thân thiện và trực quan [37]. Phần mềm này hỗ trợ đa dạng các phương pháp từ cơ học phân tử (Molecular Mechanics), bán thực nghiệm (Semi-empirical như PM6), đến các lý thuyết phi hàm mật độ (Density Functional Theory - DFT) và các phương pháp ab initio cao cấp [38]. Trong nghiên cứu dược liệu, Spartan cho phép các nhà khoa học tối ưu hóa hình học phân tử, tìm kiếm cấu hình năng lượng thấp nhất, và đặc biệt là tính toán các tính chất bề mặt như MESP để dự đoán khả năng hòa tan và tương tác thuốc-receptor [39].

1.5.2. Nguyên lý khoa học của mô hình thế tĩnh điện phân tử (MESP)

Thế tĩnh điện phân tử tại một điểm trong không gian xung quanh phân tử được định nghĩa là năng lượng tương tác giữa một ion dương đơn vị (+1) giả định đặt tại điểm đó và sự phân bố điện tích của toàn bộ phân tử (bao gồm cả hạt nhân và đám mây electron) [38]. Đây là một đại lượng vật lý thực tế, có thể đo lường và tính toán được, phản ánh trực tiếp sự phân bố mật độ electron. Để tạo ra một bản đồ MESP, phần mềm Spartan thực hiện một quy trình gồm hai giai đoạn chính nhằm đảm bảo tính chính xác về mặt vật lý và ý nghĩa hóa học.

Đầu tiên là bước định nghĩa tập hợp các điểm trong không gian nơi thế tĩnh điện sẽ được tính toán. Cách tiếp cận phổ biến nhất là chọn một bề mặt có mật độ electron cố định, thường là 0.002 au, vì bề mặt này tương ứng chặt chẽ với kích thước Van der Waals của phân tử và đại diện cho vùng mà các phân tử khác sẽ tiếp xúc đầu tiên khi tương tác [37].

Giai đoạn thứ hai là tính toán giá trị thế tĩnh điện tại từng điểm trên bề mặt đó và gán các màu sắc tương ứng theo một thang màu quy ước. Về mặt toán học, tiềm năng này chịu ảnh hưởng bởi định luật Coulomb, trong đó năng lượng tỷ lệ thuận với tích các điện tích và tỷ lệ nghịch với khoảng cách. Nếu một vùng trong phân tử giàu electron, nó sẽ hút ion dương thử, dẫn đến tiềm năng âm. Ngược lại, những vùng

nghèo electron (nơi hạt nhân ít bị che chắn) sẽ đẩy ion dương thừa, tạo ra tiềm năng dương [37].

1.5.3. Nguyên tắc phân màu / vùng trên bản đồ thế tĩnh điện

Mô phỏng thế tĩnh điện phân tử (Molecular Electrostatic Potential - MESP) được thực hiện trên nền tảng phần mềm Spartan'14 (Spartan '14 V1.1.0) nhằm mục đích trực quan hóa sự phân bố điện tích bề mặt (surface charge distribution) và dự đoán xu hướng tương tác ưa nước/ky nước của diosmin và hesperidin.

Về mặt bản chất, MESP là sự biểu diễn trực quan của phân bố điện tích không gian, được ánh xạ lên bề mặt đẳng mật độ điện tử (isodensity surface, mô hình CPK). Sự phân bố màu sắc trên bản đồ thế năng cung cấp thông tin quan trọng về khả năng tương tác liên phân tử dựa trên các quy ước nhiệt động học tiêu chuẩn [37]:

Vùng điện thế âm (màu đỏ): Khu vực tập trung mật độ electron cao (giàu electron). Về bản chất hóa học, đây là các tâm ưa nước (hydrophilic), đóng vai trò là tác nhân nhận liên kết hydro và dễ bị tấn công bởi các tác nhân ái điện tử (như nguyên tử oxy trong nhóm carbonyl, hydroxyl).

Vùng điện thế dương (màu xanh dương): Khu vực thiếu hụt mật độ electron (nghèo electron). Đây cũng là các vùng phân cực mạnh, ưa nước, đóng vai trò là tác nhân cho liên kết hydro (như nguyên tử hydro trong nhóm -OH).

Vùng điện thế trung hòa (màu xanh lá / vàng): Khu vực cân bằng về điện tích. Về bản chất hóa học, vùng này thể hiện tính không phân cực (non-polar), đặc trưng cho tính kỵ nước (hydrophobic) hay thân dầu (lipophilic) của phân tử.

Việc phân tích các vùng màu này cung cấp bằng chứng trực quan về cách phân tử sẽ tương tác với dung môi nước. Các phân tử có nhiều vùng đỏ đậm và xanh dương đậm trải dài trên bề mặt thường có xu hướng hình thành mạng lưới liên kết hydro bền vững với nước, dẫn đến tính ưa nước cao hơn [37].

CHƯƠNG 2: THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, dụng cụ, thiết bị

2.1.1. Các hóa chất thực nghiệm

Các hóa chất được mua từ các hãng: Fisher, Merck, Aldrich-Sigma, Xilong, GHTech, Spectrum™ và sử dụng trực tiếp không qua tinh chế lại **bảng 2.1**.

Bảng 2.1. Các hóa chất sử dụng trong quá trình tổng hợp

Hóa chất	Xuất xứ	Độ tinh khiết (%)
Acetic acid	Fisher – Mỹ	Độ sạch 99%
Diosmin	Tổng hợp	Độ sạch 99%
Diosmin	TRC-Canada	Độ sạch 99%
Hesperidin	Trung Quốc	Độ sạch 99%
Hesperidin	TRC-Canada	Độ sạch 99%
Lecithin	Thermo Scientific – Mỹ	Nhà sản xuất
Poly (lactic-co-glycolic acid) (38-54 kDa)	Trung Quốc	Độ sạch 90%
2-Hydroxypropyl-Beta-Cyclodextrin	Sigma Adrich – Mỹ	Nhà sản xuất
Chitosan (50-190 kDa)	Sigma Aldrich – Mỹ	Nhà sản xuất
Poly (vinyl alcohol) (31-50 kDa)	Thermo Scientific – Mỹ	Thủy phân 87.0-89.0%
D-Trehalose	Cool Chemistry - Trung Quốc	Độ sạch 99%
Dimethyl sufoxide	Fisher – Mỹ	Độ sạch 99,9%
Dichloromethane	Fisher – Mỹ	Độ sạch 99,8%
Dimethylformamide	Fisher – Mỹ	Độ sạch 99,8%
Ethyl acetate	Fisher – Mỹ	Độ sạch 99,8%

Methanol	Fisher – Mỹ	Độ sạch 99,8%
Polysorbate 80	Fisher – Mỹ	Độ sạch 99%
Sodium hydroxide	GHTech – Trung Quốc	Độ sạch 96%
Sodium chloride	Fisher – Mỹ	Độ sạch 99,5%
Potassium chloride	Fisher – Mỹ	Độ sạch 99,5%
Hydrochloric acid	Fisher – Mỹ	Độ sạch 99%
Dipotassium hydrogen phosphate	Xilong – Trung Quốc	Độ sạch 98%
Natri dihydrophosphat monohydrat	Thermo Scientific – Mỹ	Độ sạch 98%

2.1.2. Dụng cụ và thiết bị

Các dụng cụ và thiết bị được sử dụng trong quá trình tổng hợp hóa học được liệt kê trong *bảng 2.2*.

Bảng 0.1. Các dụng cụ và thiết bị sử dụng trong thực nghiệm

Dụng cụ	Thiết bị
Becher 50 mL	Máy khuấy từ Joanlab HF12
Thanh khuấy từ	Máy ly tâm Z 327 K/Hermle
Micropipet	Thiết bị siêu âm Sonics Model VCX 500
Giấy cân	Tủ vi khí hậu model KBF-S 240 (Binder GmbH, Đức)
Đầu lọc sắc ký 0.22 μm	Thiết bị FE - SEM S4800, Hitachi
Eppendorf 2mL, 5mL	Thiết bị sấy thăng hoa Eyela FDU-2110
Ống đông thủy tinh	Tủ đông sâu Panasonic VIP Series MDF-U33V
Ống ly tâm	Máy HPLC Agilent 1200 (Agilent Technologies, CA, USA), đầu dò DAD

Đầu típ	Máy Nano Partica SZ-100 - Horiba Scientific
Chai thủy tinh trung tính 250 mL	Thiết bị phân tích hồng ngoại Bruker Tensor 27

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: Hệ tiểu phân nano polymer PLGA có chứa hỗn hợp dược chất diosmin và hesperidin.

Phạm vi nghiên cứu: Nghiên cứu tập trung bào chế hệ nano bằng phương pháp nhũ tương hóa bay hơi dung môi và mô phỏng thế tĩnh điện (MESP) trên phần mềm Spartan. Đồng thời, hệ được đánh giá toàn diện về đặc tính lý hóa (cấu trúc, hình thái, giải phóng thuốc) cũng như hiệu quả sinh học (độ an toàn, sinh khả dụng và độ ổn định).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp tổng hợp diosmin

Phương pháp tổng hợp diosmin được tham khảo và tiến hành theo quy trình của Huỳnh Thị Kim Chi và cộng sự (2012) [40]. Quá trình tổng hợp được tiến hành trong bình cầu hai cổ dung tích 2L. Đầu tiên, 100 g (9.86 mmol) hesperidin được hòa tan vào 700 mL dung môi pyridine dưới điều kiện đun nóng và khuấy cơ, có trang bị hệ thống sinh hàn hồi lưu. Tiếp theo, 9.8 g (245 mmol) NaOH cùng 45.6 g (179.53 mmol) iodine lần lượt được bổ sung vào bình, tiếp tục gia nhiệt cho đến khi hỗn hợp đồng nhất hoàn toàn. Hệ phản ứng được duy trì ở khoảng nhiệt độ 90-105°C trong suốt 9-10 giờ. Khi kết thúc thời gian phản ứng, dung môi pyridine được thu hồi bằng phương pháp cô quay chân không. Phần cặn còn lại được đổ từ từ vào cốc chứa nước đá nhuyễn, tiến hành khuấy trộn mạnh và để lắng trước khi lọc thu phần kết tủa rắn. Cuối cùng, sản phẩm thô được tinh chế bằng cách đun hồi lưu trong dung môi alcohol và tiến hành lọc ở điều kiện nhiệt độ phòng.

Lấy cặn rắn xử lý với dung dịch sodium thiosulfate và 900 mL dung dịch NaOH 5%, lọc loại tạp bản không phải là flavone. Dùng acid sulfuric để điều chỉnh pH về 2-4 (quá trình này được tiến hành ở nhiệt độ thấp). Lọc lấy diosmin thô. Tinh chế bằng cách hòa tan vào DMF, cho thêm nước nóng vào hỗn hợp, lọc và rửa sản phẩm nhiều lần với nước. Sấy khô ở 80°C thu được sản phẩm tinh với hiệu suất phân

ứng là 76%. Sản phẩm được xác định bằng HPLC và được so sánh với diosmin chuẩn [40].

2.3.2. Quá trình nghiên cứu và bào chế hệ tiểu phân PLGA chứa diosmin:hesperidin

2.3.2.1. Hệ D@PC

Phương pháp bào chế hệ nano diosmin được tham khảo từ các kết quả nghiên cứu của Trần Thị Trà Mi [41]. Đề tài tiếp tục sử dụng bộ thông số kỹ thuật đã được thiết lập sẵn. Cụ thể, quy trình thực nghiệm được tiến hành theo các bước như sau:

Pha dầu: Hoà tan 4,5mg diosmin trong 5ml DMSO, tạo ra dung dịch trong suốt màu vàng, trong điều kiện có hỗ trợ siêu âm từ 10 đến 15 phút; Hoà tan 57mg PLGA trong 5ml EtOAc để thu được dung dịch PLGA, trong điều kiện có hỗ trợ siêu âm từ 10 đến 15 phút; Trộn lẫn dung dịch thu được ở trên, tạo thành dung dịch trong suốt và đồng nhất, quá trình hoà tan có sự hỗ trợ của siêu âm từ 10 đến 15 phút (**Bảng 2.4**).

Pha nước: Hoà tan PVA trong nước tạo thành nồng độ 5% (khối lượng/khối lượng), chitosan được hòa tan trong dung dịch axit axetic 1% (thể tích/thể tích) tạo dung dịch chitosan có nồng độ 0.5% (khối lượng/thể tích), trộn lẫn 2 ml dung dịch PVA và 6 ml dung dịch chitosan thu được ở trên, pha loãng với nước, tạo thành dung dịch trong suốt và đồng nhất với tổng thể tích 20ml trong điều kiện có khuấy ở tốc độ 10.000 vòng/phút để thu được PVA có nồng độ 0.5% (khối lượng/khối lượng) và chitosan có nồng độ 0.15% (khối lượng/thể tích) vào dung dịch thu được ở pha nước và khuấy để hòa tan với tốc độ 10.000 vòng/phút.

Tiếp đến nhỏ từng giọt pha dầu từ từ vào pha nước để tạo hệ nhũ tương, sau khi nhỏ xong đem hệ đi đồng hóa trong thời gian 5 phút, nhiệt độ 30 °C với biên độ 40%. Kết thúc quá trình đồng hóa, hệ được khuấy qua đêm trong 24 giờ ở tốc độ khuấy 700 vòng/phút để làm bay hơi etyl axetat; tiến hành ly tâm với tốc độ 12.000 vòng/phút, thời gian ly tâm 60 phút, thu hồi kết tủa, rửa kết tủa bằng nước cất trong nhiều lần; tái phân tán trong nước và làm lạnh khô và sấy thăng hoa thu hồi sản phẩm ở dạng bột.

2.3.2.2. Hệ D@PHC

Phương pháp bào chế hệ nano diosmin được tham khảo từ các kết quả nghiên cứu của Trần Thị Trà Mi [41]. Đề tài tiếp tục sử dụng bộ thông số kỹ thuật đã được thiết lập sẵn. Bổ sung 3 mg HPCD vào pha nước, giữ nguyên các thông số và các bước thực hiện.

2.3.2.2. Hệ H@PHC

Sau khi xác nhận tính lặp lại và độ tin cậy của quy trình nền tảng trên, bộ thông số kỹ thuật này tiếp tục được áp dụng nguyên trạng để khảo sát khả năng tạo hạt và bao gói đối với dược chất hesperidin. Thay vì dùng diosmin, nghiên cứu sử dụng hesperidin. Các thông số cũng như các bước thực hiện quy trình đều được giữ nguyên.

Tuy nhiên, trong quá trình thực nghiệm, nhận thấy có sự khác biệt về hiệu suất bao gói giữa hesperidin và diosmin. Để tối ưu hóa hệ nano, nghiên cứu đã tiến hành khảo sát sự ảnh hưởng của khối lượng dược chất hesperidin đầu vào (**Bảng 2.5**). Đồng thời, mô phỏng thế tĩnh điện phân tử (MESP) cũng được sử dụng để giải thích sự khác biệt về tính phân cực và khả năng tương tác của hai dược chất này. Từ đó làm cơ sở lựa chọn tỷ lệ phối hợp cả hai dược chất diosmin và hesperidin phù hợp để đồng bao gói trong cùng một hệ polymer với tỷ lệ sản phẩm là 9:1.

2.3.2.3. Phương pháp mô phỏng mô hình MESP

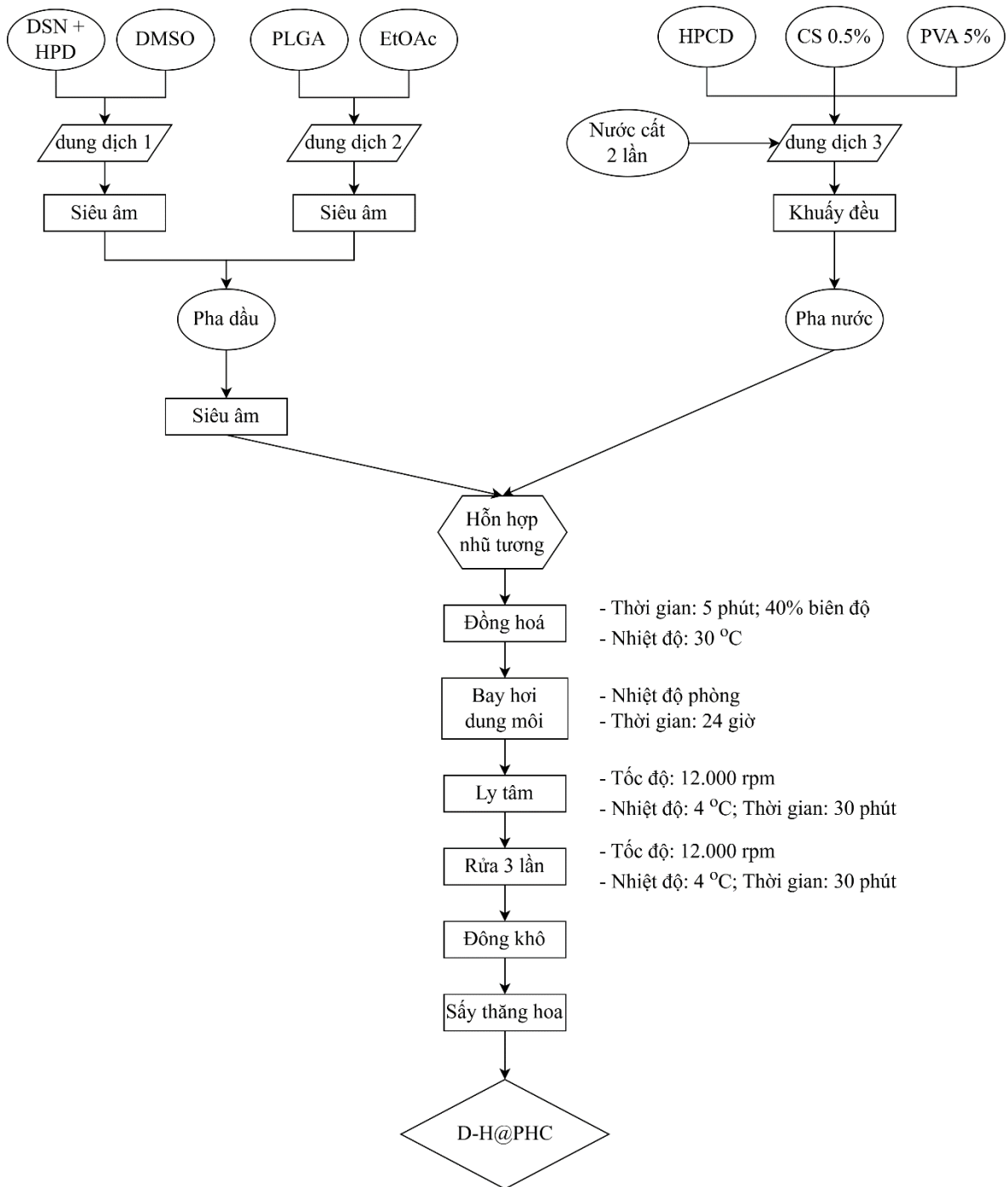
Quy trình chạy mô hình MESP:

- Mở file cấu trúc đã được tối ưu hóa (file đã chạy Equilibrium Geometry thành công). Vào Setup > Surfaces, nhấn Add và thiết lập Surface: density, Property: potential. Nhấn OK.
- Vào Setup > Calculations. Trong cửa sổ Calculations, chọn Calculate: Energy (chọn dòng Energy) with: Hartree-Fock và 3-21G* in Vacuum.
- Nhấn Submit và lưu file. Sau khi tính toán xong, mở file mới này lên, vào Display > Surfaces và tích vào ô vuông để hiển thị bản đồ.

2.3.2.4. Hệ D-H@PHC

Sau khi có kết quả từ mô phỏng mô hình MESP và hiểu rõ bản chất của dược chất, nghiên cứu tiến hành đồng bao gói bằng cách thay đổi tỷ lệ khối lượng của diosmin và hesperidin, cụ thể 80mg diosmin và 10mg hesperidin trong 5ml DMSO.

Toàn bộ các thành phần tá dược còn lại và thông số quy trình thiết bị đều được giữ cố định theo phương pháp nền tảng đã thiết lập.



Sơ đồ 2.1. Quy trình bào chế hệ D-H@PHC.

Thành phần cụ thể của công thức được trình bày tại **bảng 2.2** dưới đây:

Bảng 2.2. Công thức bào chế hệ hạt nano D-H@PHC

Pha dầu		Pha nước	
DSN (mg)	80 mg	HPCD (mg)	3 mg
HPD (mg)	10 mg	CS 0.5% (mL)	6 mL
PLGA (mg)	57 mg	PVA 5% (mL)	2 mL
EtOAc (mL)	5 mL	Nước cất (mL)	12 mL
DMSO (mL)	5 mL		

2.3.2.5. Hệ D-H@PHLC

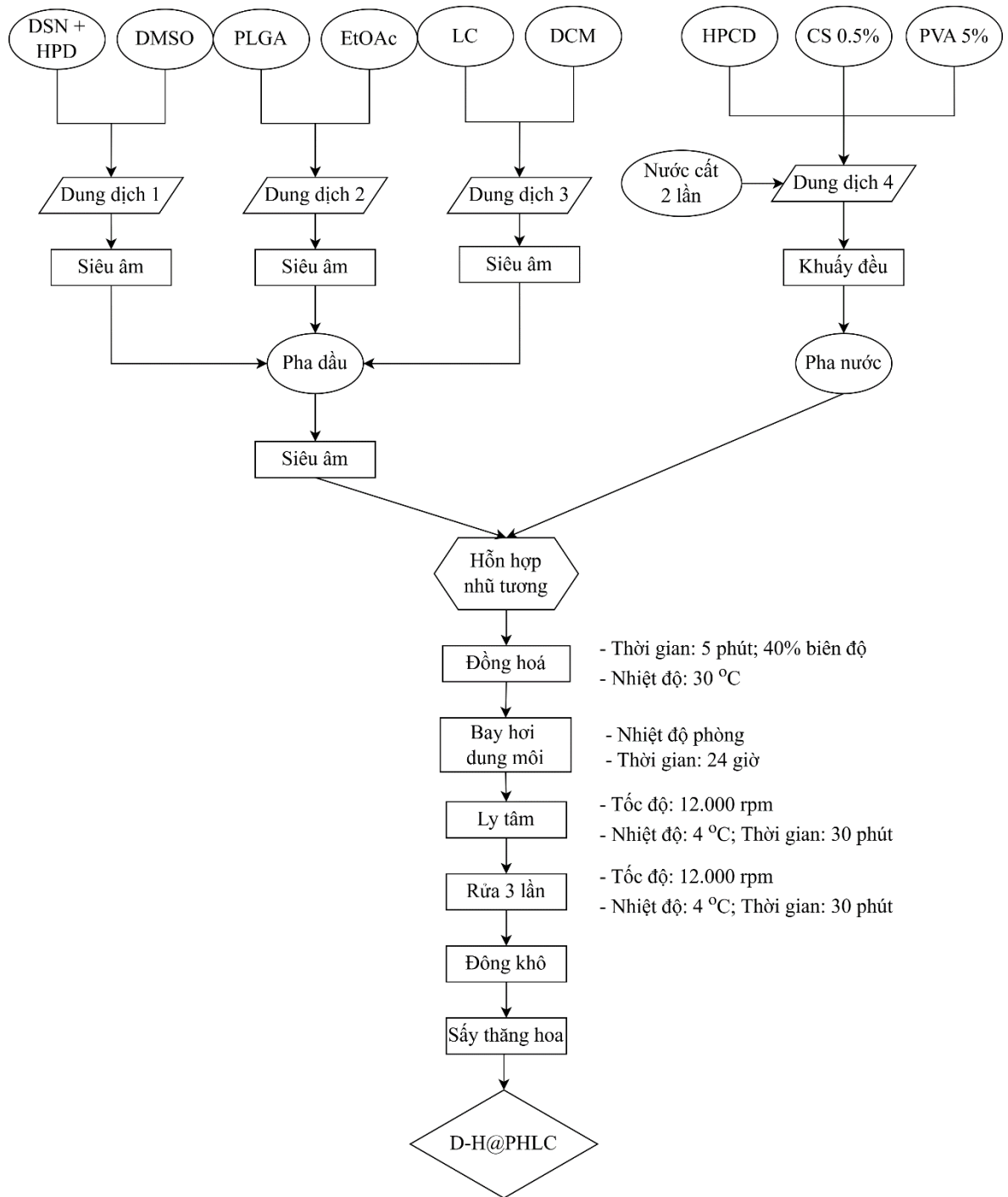
Mặc dù tỷ lệ phối hợp giữa diosmin và hesperidin đã được thiết lập, kết quả cho thấy hiệu suất đồng bao gói (EE%) của hệ vẫn chưa đạt mức kỳ vọng do hiện tượng thất thoát dược chất. Để khắc phục vấn đề này, chiến lược bổ sung lecithin nhằm tạo thêm một lớp màng rào cản lipid bao bọc lõi polymer đã được áp dụng [42]. Do đó, nghiên cứu tiến hành khảo sát sự ảnh hưởng của khối lượng lecithin (mg) (**Bảng 2.6**) thêm vào, nhằm xác định hàm lượng phù hợp nhất giúp tối đa hóa khả năng giữ thuốc của hệ nano. Quy trình hoàn chỉnh cụ thể như sau:

Pha dầu: Hoà tan 80mg diosmin và 10mg hesperidin trong 5ml DMSO, tạo ra dung dịch trong suốt màu vàng, trong điều kiện có hỗ trợ siêu âm từ 10 đến 15 phút; Hoà tan 57mg PLGA trong 5ml EtOAc để thu được dung dịch PLGA, trong điều kiện có hỗ trợ siêu âm từ 10 đến 15 phút; Hòa tan 10mg LC trong 2ml DCM để thu được dung dịch trong suốt; Trộn lẫn dung dịch thu được ở trên, tạo thành dung dịch trong suốt và đồng nhất, quá trình hoà tan có sự hỗ trợ của siêu âm từ 10 đến 15 phút.

Pha nước: Hoà tan PVA trong nước tạo thành nồng độ 5% (khối lượng/khối lượng), chitosan được hòa tan trong dung dịch axit axetic 1% (thể tích/thể tích) tạo dung dịch chitosan có nồng độ 0.5% (khối lượng/thể tích), trộn lẫn 2 ml dung dịch PVA và 6 ml dung dịch chitosan thu được ở trên, pha loãng với nước, tạo thành dung dịch trong suốt và đồng nhất với tổng thể tích 20ml trong điều kiện có khuấy ở tốc độ 10.000 vòng/phút để thu được PVA có nồng độ 0.5% (khối lượng/khối lượng) và

chitosan có nồng độ 0.15% (khối lượng/thể tích); bổ sung 3mg HPCD vào dung dịch thu được ở pha nước và khuấy để hòa tan với tốc độ 10.000 vòng/phút.

Tiếp đến nhỏ từng giọt pha dầu từ từ vào pha nước để tạo hệ nhũ tương, sau khi nhỏ xong đem hệ đi đồng hóa trong thời gian 5 phút, nhiệt độ 30 °C với biên độ 40%. Kết thúc quá trình đồng hóa, hệ được khuấy qua đêm trong 24 giờ ở tốc độ khuấy 700 vòng/phút để làm bay hơi etyl axetat và DCM; tiến hành ly tâm với tốc độ 12.000 vòng/phút, thời gian ly tâm 60 phút, thu hồi kết tủa, rửa kết tủa bằng nước cất trong nhiều lần; tái phân tán trong nước và làm lạnh khô và sấy thăng hoa thu hồi sản phẩm ở dạng bột.



Sơ đồ 2.2. Quy trình bào chế hệ D-H@PHLC.

Thành phần cụ thể của công thức được trình bày tại **bảng 2.3** dưới đây:

Bảng 2.3. Công thức bào chế hệ hạt nano D-H@PHLC

Pha dầu		Pha nước	
DSN (mg)	80 mg	HPCD (mg)	3 mg
HPD (mg)	10 mg	CS 0.5% (mL)	6 mL
PLGA (mg)	57 mg	PVA 5% (mL)	2 mL
LC (mg)	10 mg	Nước cất (mL)	12 mL
EtOAc (mL)	5 mL		
DMSO (mL)	5 mL		
DCM	2 mL		

2.3.3. Các khảo sát thực hiện

Dựa trên tỷ lệ công thức diosmin đã được nghiên cứu (**Bảng 2.4**), hệ nền tảng này tiếp tục được sử dụng để đánh giá độc lập khả năng tải hesperidin (**Bảng 2.5**). Quá trình tối ưu hóa từng bước này cung cấp cơ sở dữ liệu thực nghiệm trước khi tiến hành thực hiện hệ dẫn truyền nano lai đồng bao gói, cho phép vận chuyển đồng thời cả hai dược chất diosmin và hesperidin. Bên cạnh đó, nhằm nâng cao hiệu suất bao gói và hạn chế sự rò rỉ dược chất, nghiên cứu tiến hành khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng lecithin khi được bổ sung vào hệ mang (**Bảng 2.6**). Cụ thể các thông số khảo sát được thực hiện như sau:

Bảng 2.4. Các thông số trong quá trình tổng hợp hệ phức hợp PLGA và HPCD của diosmin

Code	Tỷ lệ PLGA/HPCD (%/%)	PLGA (mg)	HPCD (mg)
D@PC	100	60	0
D@PHC	95/5	57	3

Bảng 2.5. Khảo sát ảnh hưởng của khối lượng hesperidin đến hiệu suất bao gói EE%

Code	Tỷ lệ PLGA/HPCD (%/%)	PLGA (mg)	HPCD (mg)
H@PHC	95/5	57	3
Khảo sát khối lượng HPD (mg): 6-110mg			

Bảng 2.6. Khảo sát ảnh hưởng của lecithin đến hiệu suất đồng bao gói EE%

Code	LC (mg)	PLGA (mg)	HPCD (mg)
D-H@PHC	0	57	3
D-H@PHLC	10	57	3
D-H@PH20LC	20	57	3
D-H@PH30LC	30	57	3

2.3.5. Phương pháp đánh giá tính chất, hình thái và một số đặc tính hóa lý của hệ nano mang thuốc

2.3.5.1. Định lượng đồng thời diosmin và hesperidin và xây dựng đường chuẩn

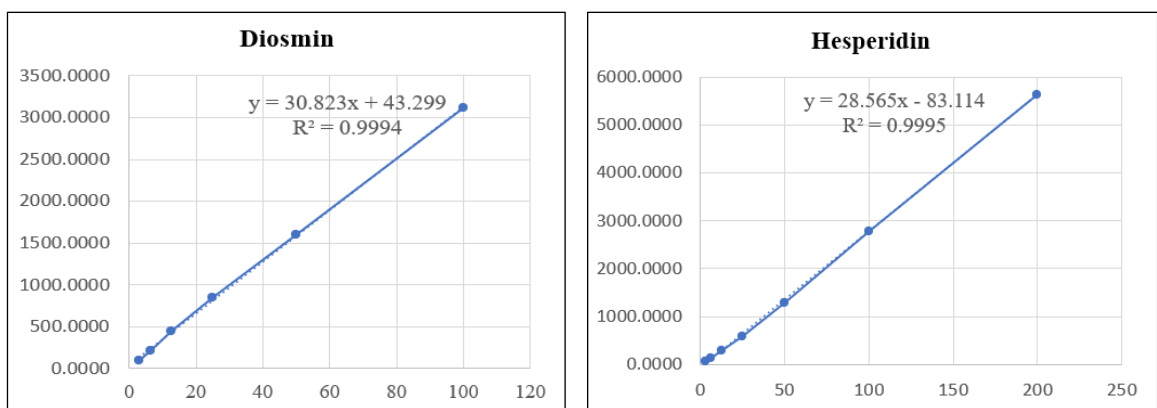
Phương pháp HPLC với detector UV là công cụ phân tích hiệu quả để định lượng đồng thời diosmin và hesperidin trong các mẫu nghiên cứu, từ nguyên liệu ban đầu, chế phẩm nano cho đến các mẫu thu được từ thí nghiệm giải phóng *in vitro* [43].

Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), sử dụng hệ máy HPLC Agilent 1200 (Agilent Technologies, CA, USA), đầu dò DAD ở bước sóng 345 nm đối với diosmin và 285 nm đối với hesperidin, dữ liệu được ghi nhận bởi phần mềm Agilent Chemstation 4.0. Sử dụng cột C18 pha đảo Zorbax SB-C18 (Agilent Technologies, CA, USA) với thông số cột 4.6 mm×250 mm, kích thước hạt 5 µm. Thực hiện phân tích ở 26°C, tốc độ dòng 0,8 mL/phút trong suốt quá trình chạy. Dung môi rửa giải

A: nước cất chứa 0,1% formic acid và B: 100% acetonitrile. Điều kiện chạy như sau [44]:

Thời gian (phút)	Dung môi A (%)	Dung môi B (%)
00	71	29
02	71	29
03	65	35
04	65	35
05	45	55
10	45	55

Để xây dựng đường chuẩn định lượng, dung dịch chuẩn gốc của diosmin và hesperidin được pha chế chính xác trong dung môi methanol để đạt nồng độ 100 $\mu\text{g/mL}$. Từ dung dịch gốc này, một dãy các dung dịch được chuẩn bị bằng cách pha loãng liên tiếp để tạo ra tối thiểu 6 điểm nồng độ khác nhau, nằm trong dải tuyến tính từ 100 ppm đến 3.125 $\mu\text{g/mL}$ cho mỗi chất. Đường chuẩn được thiết lập bằng cách biểu diễn sự phụ thuộc tuyến tính giữa diện tích peak sắc ký (peak area, trục tung) và nồng độ của hoạt chất (concentration, trục hoành). Phương trình hồi quy tuyến tính ($y = ax + b$) và hệ số xác định (R^2) được tính toán bằng phương pháp bình phương tối thiểu.



Hình 2.1. Đồ thị đường chuẩn của diosmin và hesperidin.

Hiệu suất bao thuốc (Encapsulation Efficiency - EE%) và hiệu suất tải thuốc (Drug loading - DL%): Đây là các thông số quan trọng để đánh giá hiệu quả của quá trình bao gói. EE% là tỷ lệ phần trăm lượng thuốc thực tế được bao gói so với tổng

lượng thuốc ban đầu được sử dụng. DL% là tỷ lệ phần trăm khối lượng thuốc so với tổng khối lượng của tiểu phân nano. Việc xác định các chỉ số này thường được thực hiện bằng cách định lượng lượng thuốc không được bao gói trong dịch nổi sau ly tâm, hoặc định lượng trực tiếp lượng thuốc sau khi phá vỡ cấu trúc tiểu phân. Các phương pháp định lượng phổ biến là sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

$$EE\% = \frac{m \text{ khối lượng thuốc được bao}}{m \text{ thuốc ban đầu}} \times 10$$

$$LD\% = \frac{m \text{ thuốc được tải}}{m \text{ hạt nano}} \times 100$$

2.3.5.2. Phương pháp phân tích nhiệt quét vi sai (DSC)

Kỹ thuật phân tích nhiệt quét vi sai (Differential scanning calorimetry) được sử dụng để xác định các đặc tính nhiệt của vật liệu như điểm nóng chảy (T_m), nhiệt độ thủy tinh hóa (T_g). Nó giúp đánh giá trạng thái vật lý của dược chất (tinh thể hay vô định hình) sau khi được bao gói và phát hiện các tương tác có thể xảy ra giữa dược chất và polyme [45].

Giản đồ nhiệt DSC được ghi nhận bằng máy phân tích nhiệt quét vi sai (model DSC-4, PerkinElmer Inc., Waltham, MA, Hoa Kỳ). Khoảng 5 mg mỗi mẫu được đóng kín riêng biệt trong các chén nhôm chuyên dụng. Quá trình gia nhiệt được thực hiện trong khoảng nhiệt độ từ 35°C đến 400°C với tốc độ gia nhiệt 10°C/phút, dưới dòng khí nitơ khô thổi liên tục với lưu lượng 20 mL/phút. Nhiệt độ của thiết bị được hiệu chuẩn sử dụng chuẩn Indium (độ tinh khiết 99,99%, điểm nóng chảy 156,6°C).

2.3.5.3. Phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD)

Kỹ thuật nhiễu xạ tia X bột (X-ray diffraction) cung cấp thông tin về cấu trúc tinh thể của vật liệu. Sự thay đổi hoặc biến mất các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của dược chất dạng tinh thể trong phổ XRD của tiểu phân nano cho thấy dược chất đã chuyển sang trạng thái vô định hình hoặc được phân tán ở kích thước rất nhỏ trong vật liệu polyme được sử dụng để bao gói hoặc chứa dược chất (matrix polyme) [46].

Giản đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của các mẫu nghiên cứu được ghi nhận bằng máy nhiễu xạ tia X (hãng Diano, Woburn, MA, Hoa Kỳ), vận hành ở điều kiện điện thế 45 kV, dòng điện 9 mA và góc nhiễu xạ 2 θ .

2.3.5.4. Phương pháp quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR)

Kỹ thuật quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (Fourier transform infrared spectroscopy) được sử dụng để xác định các nhóm chức hóa học đặc trưng của dược chất và polyme [47]. Bằng cách so sánh phổ FT-IR của tiểu phân nano với phổ của các thành phần riêng lẻ, có thể phát hiện các tương tác hóa học (nếu có) giữa dược chất và polyme, hoặc xác nhận sự hiện diện của dược chất trong tiểu phân [48].

Phổ FT-IR của các mẫu thử, sau khi được trộn đồng nhất với KBr và ép thành viên nén, được ghi nhận trong vùng số sóng $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ bằng máy quang phổ FT-IR (hãng Madison Instruments, Middleton, WI, Hoa Kỳ).

2.3.5.5. Kính hiển vi điện tử quét (Scanning Electron Microscopy – SEM)

Kính hiển vi điện tử quét (Scanning electron microscopy - SEM) và kính hiển vi điện tử truyền qua (Transmission electron microscopy - TEM) được sử dụng để quan sát trực tiếp hình dạng, cấu trúc bề mặt và kích thước của các tiểu phân nano. Kính hiển vi điện tử quét (SEM) là một kỹ thuật tạo ảnh bề mặt trong đó chùm tia điện tử tương tác với mẫu và tạo ra các tín hiệu khác nhau, phản ánh thành phần nguyên tử và hình thái bề mặt [48].

Hình thái và đặc điểm bề mặt của diosmin, hesperidin, cũng như các tiểu phân nano PLGA đông khô (bao gồm loại chưa bao và đã bao gói), được ghi nhận bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) (model JSM-6510 LV; hãng JEOL, Tokyo, Nhật Bản). Các mẫu được cố định lên đế kim loại (stub) bằng băng dính carbon hai mặt. Sau đó, mẫu được phủ một lớp vàng và quan sát dưới kính hiển vi SEM ở điện thế gia tốc 30 kV.

2.3.5.6. Kỹ thuật tán xạ ánh sáng động (Dynamic Light Scattering - DLS) và tán xạ ánh sáng điện di (Electrophoretic Light Scattering - ELS)

Đường kính thủy động lực học trung bình (Z-average), chỉ số đa phân tán (PDI) và thế zeta của hệ hạt nano được phân tích bằng hệ thống HORIBA SZ-100 (Horiba Scientific, Kyoto, Nhật Bản). Trong đó, kích thước hạt và PDI được xác định dựa trên kỹ thuật tán xạ ánh sáng động (Dynamic Light Scattering - DLS) [49] ở góc tán xạ 90° , trong khi thế zeta được đo lường thông qua kỹ thuật tán xạ ánh sáng điện di (Electrophoretic Light Scattering - ELS) [50].

Về quy trình chuẩn bị mẫu, bột hạt nano đông khô được hoàn nguyên trong nước siêu sạch (nước khử ion hai lần) và được pha loãng đến nồng độ thích hợp nhằm triệt tiêu hiện tượng đa tán xạ có thể gây sai lệch tín hiệu. Hỗn dịch mẫu sau đó được xử lý bằng bể siêu âm trong thời gian 60 phút để phá vỡ các khối kết tụ tự phát, đảm bảo thu được một quần thể hạt phân tán ở trạng thái đồng nhất dạng đơn phân tử.

2.3.6. Phương pháp đánh giá một số đặc tính của hệ dẫn truyền PHLC chứa diosmin và hesperidin

2.3.6.1. Phương pháp đánh giá độc tính bất thường

Nhằm kiểm soát sự hiện diện của các tạp chất nguy hại có thể phát sinh trong quá trình tổng hợp và đánh giá sơ bộ độ an toàn của hệ nano, thử nghiệm độc tính bất thường đã được triển khai. Toàn bộ thực nghiệm trên động vật được thiết kế dựa theo chỉ dẫn của Dược điển Việt Nam V (Phụ lục 13.5) và tuân thủ chặt chẽ các nguyên tắc đạo đức [51].

Đối tượng thử nghiệm: Chuột nhắt 4 - 5 tuần tuổi cả 2 giống, dòng *Swiss albino* thuần chủng, trọng lượng trung bình 20 ± 2 g. Nếu là chuột cái phải không có thai hoặc đang cho con bú, được chăn nuôi trong điều kiện bình thường. Được cung cấp từ Viện kiểm nghiệm thuốc thành phố Hồ Chí Minh. Chuột được nuôi ổn định 7 ngày trước khi tiến hành thử nghiệm. Có 3 mẫu như sau:

1. Diosmin : hesperidin (tỷ lệ 9:1, ký hiệu D:H (9:1)): Dạng bột mịn màu trắng ngà.
2. D-H@PLGA-HPCD-LC@CS (ký hiệu D-H@PHLC): Dạng bột mịn màu trắng ngà.
3. PLGA-HPCD-LC@CS (ký hiệu PHLC): Dạng bột mịn màu trắng.

Phương pháp thử nghiệm: Thực hiện theo hướng dẫn *Phụ lục 13.5* - Dược điển Việt Nam V. Độc tính bất thường của mẫu thử được xác định bằng cách theo dõi số chuột tử vong trong thời gian 48 giờ sau khi cho chuột một liều thuốc qua đường dùng theo quy định. Nghiên cứu được thực hiện tại Trung tâm Sâm và Dược liệu TP.HCM.

Tiến hành: Chuột sau khi được nuôi ổn định 7 ngày, sẽ được cho nhịn đói 12 giờ (qua đêm) trước khi thử nghiệm. Các mẫu thử nghiệm đều được pha với nước cất

với liều cho uống là 1 g/kg chuột và thể tích cho uống là 0,5 ml/chuột. Chuột được cho uống bằng kim cong đầu tù, đảm bảo đưa thuốc vào trong thực quản hoặc dạ dày.

Chuột được chia thành các lô thử nghiệm tương ứng cả đực và cái, như sau:

- Lô sinh lý (SL): Uống nước cất.
- Lô D-H@PHLC: Uống mẫu D-H@PHLC liều 1 g/kg.
- Lô DH: Uống mẫu D:H (9:1) liều 1 g/kg.
- Lô PHLC: Uống mẫu PHLC liều 1 g/kg.

Nếu không có hướng dẫn gì khác thì quan sát chuột 48 giờ sau khi dùng thuốc. Nếu không có chuột nào chết thì mẫu thử đạt yêu cầu. Nếu có chuột chết, làm lại thử nghiệm với 10 chuột khác, dùng chuột có cân nặng (19 ± 1) g. Sau 48 giờ, nếu không có chuột nào tử vong thì mẫu thử đạt yêu cầu.

Chuột còn sống được tiếp tục theo dõi sau 14 ngày uống để ghi nhận những triệu chứng bất thường (nếu có). Theo dõi và ghi nhận tình trạng chuột bình thường hay các triệu chứng quan trọng ở chuột không chết hoặc trước khi chết (gãi mõm liên tục, chạy hoảng loạn, ngã xiêu vẹo, co giật, run rẩy, tím tái ở các bộ phận cơ thể, tư thế nằm, đứng...) và số chuột tử vong (nếu có) trong vòng 48 giờ.

2.3.6.2. Phương pháp đánh giá khả năng giải phóng thuốc *in vitro*

Khảo sát giải phóng thuốc *in vitro* được thực hiện nhằm đánh giá động học phóng thích của diosmin và hesperidin từ hệ dẫn truyền nano, đồng thời đối chiếu trực tiếp với thuốc thương mại Daflon trong các môi trường giả lập cơ thể: dịch dạ dày nhân tạo (pH 1.2) và dịch đệm sinh lý (pH 7.4) [52].

Quy trình tiến hành: Cân một lượng mẫu chính xác (tương đương với một hàm lượng dược chất xác định) và phân tán vào 100 mL môi trường đệm tương ứng. Hệ thống được đặt trên máy khuấy từ, duy trì liên tục ở nhiệt độ sinh lý 37 ± 0.5 °C. Tại các mốc thời gian xác định (kéo dài đến 96 giờ), tiến hành lấy 2 mL dung dịch môi trường để phân tích. Ngay sau đó, bổ sung 2 mL dung dịch đệm mới (đã được làm ấm ở 37 °C) vào hệ thống nhằm duy trì thể tích không đổi và đảm bảo điều kiện sinh lý.

Phân tích và định lượng: Mẫu thu được được lọc qua màng lọc PTFE 0.22 µm (hoặc ly tâm tốc độ cao) nhằm loại bỏ hoàn toàn các hạt nano chưa giải phóng trước khi phân tích. Hàm lượng diosmin và hesperidin được định lượng bằng hệ thống

HPLC thông qua diện tích peak ghi nhận tại bước sóng $\lambda_{\max} = 345 \text{ nm}$ và 285 nm . Phần trăm dược chất giải phóng tích lũy theo thời gian được tính toán dựa trên phương trình đường chuẩn đã xây dựng.

2.3.6.3. Phương pháp đánh giá độ ổn định

Quy trình khảo sát độ ổn định của D-H@PHLC (có dùng chất bảo vệ phù hợp) sau làm lạnh khô/sấy thăng hoa diễn ra tại 2 nhiệt độ gồm 4°C và 33°C (nhiệt độ phòng). Đánh giá các thông số: kích thước hạt, hiệu quả bao thuốc, thế zeta tại từng thời điểm bảo quản. Hàm lượng thuốc còn lưu lại được phân tích bằng HPLC tại độ hấp thụ $\lambda_{\max}=345\text{nm}$ (cho diosmin) và $\lambda_{\max}=285\text{nm}$ (cho hesperidin) thông qua dãy đường chuẩn được tính toán phù hợp.

Ngoài ra, sử dụng tủ vi khí hậu model KBF-S 240 (Binder GmbH, Đức) để khảo sát độ ổn định của D-H@PHLC với điều kiện của tủ lão hóa: $25^{\circ}\text{C}/60\%$ độ ẩm tương đối và $40^{\circ}\text{C}/75\%$ độ ẩm tương đối. Do thời gian thực hiện luận văn có hạn nên độ ổn định sẽ được ghi nhận sau 2 tuần đối với điều kiện $40^{\circ}\text{C}/75\%$ và 1 tháng đối với điều kiện $25^{\circ}\text{C}/60\%$. Khảo sát độ ổn định của các thông số: kích thước hạt, hiệu quả bao thuốc, thế zeta. Hàm lượng thuốc còn lưu lại được phân tích bằng HPLC tại bước sóng $\lambda_{\max}=345\text{nm}$ (cho diosmin) và $\lambda_{\max}=285\text{nm}$ (cho hesperidin) thông qua dãy đường chuẩn được tính toán phù hợp.

Thêm vào đó, so sánh sự ảnh hưởng chất bảo vệ đối với hệ thuốc. Cụ thể, đường trehalose được lựa chọn để khảo sát. Độ ổn định sẽ được ghi nhận các thông số: kích thước hạt, hiệu quả bao thuốc, thế zeta sau thời gian tương ứng.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình bào chế hệ dẫn truyền nano PLGA

3.1.1. Kết quả khả năng bao gói của diosmin

Bảng 3.1. Kết quả đo DLS và zeta của các hệ dẫn truyền diosmin

	DSN tự do	D@PC	D@PHC
Kích thước (nm)	3690.95±191.7	228.00±15.83	223.00±5.72
PDI	0.718	0.309	0.388
Zeta (mV)	-3.35±0.21	19.10±7.35	35.95±1.34
EE%	-	51.46 ±1.601	68.88 ±2.590
LD%	-	10.70 ±0.3330	18.243 ±1.115

Kết quả DLS cho thấy diosmin tự do (DSN) khi phân tán trong nước tồn tại dưới dạng các khối kết tinh có kích thước khổng lồ lên tới 3690.95±191.7 nm (tương đương 3.7 μ m, kèm theo chỉ số PDI cực kỳ cao (0.718) và thế zeta gần như trung hòa (-3.35±0.21 mV). Khi được bao gói vào các hệ dẫn truyền polymer, kích thước hạt giảm xuống vùng nano (quanh ngưỡng 220-230 nm).

Hệ D@PHC (tương ứng tỷ lệ 95:5) có kích thước trung bình (233.00±5.72 nm) tương đương với hệ D@PC (228±15.83 nm). Tuy nhiên, độ lệch chuẩn của hệ D@PHC nhỏ hơn đáng kể (5.72 so với 15.83), chứng tỏ quá trình nhũ hóa và đóng rắn hình thành hạt diễn ra đồng đều và lặp lại tốt hơn. Chỉ số PDI của D@PHC (0.388) vẫn nằm trong giới hạn an toàn phân bố hẹp của hệ nano lai. Hệ D@PC được bọc chitosan cho thế zeta dương (19.1±7.35 mV). Tuy nhiên, khi có mặt phức lồng HPCD, hệ D@PHC đã có sự thay đổi lớn về điện tích bề mặt, đạt mức 35.95±1.34 mV, điều này chứng tỏ kích thước hạt nano đã ổn định hơn.

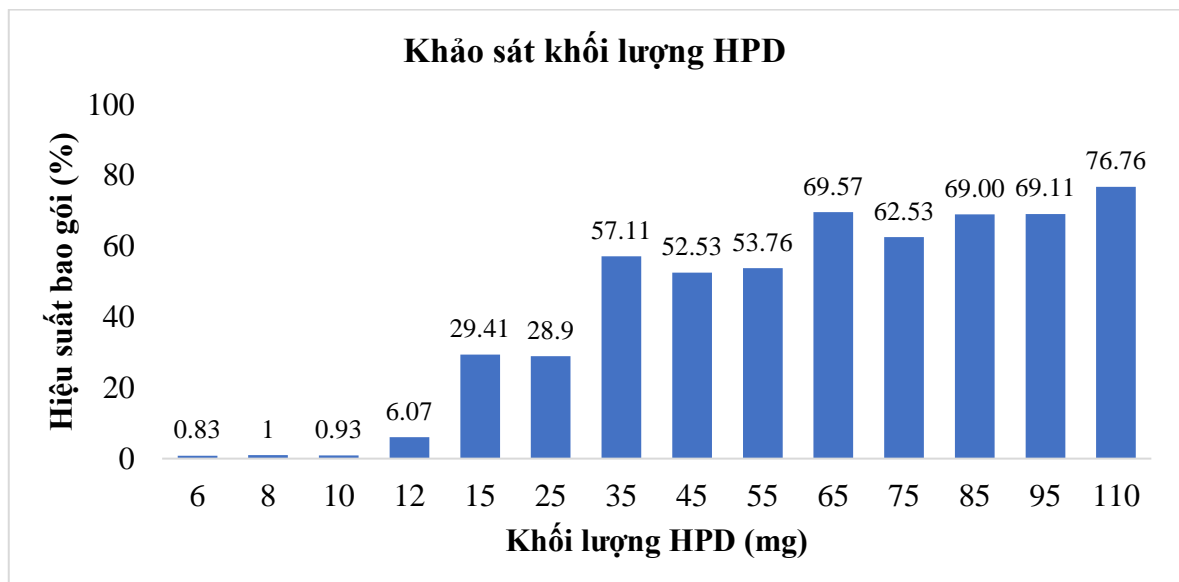
Việc bổ sung lớp vỏ chitosan (CS) là giúp hạt nano bám dính tốt hơn và lưu lại lâu hơn tại vị trí hấp thu trong cơ thể. Bên cạnh đó, khi có mặt CS sẽ làm bề mặt hạt nano mang điện tích dương. Vì màng tế bào và lớp niêm mạc của cơ thể vốn mang điện tích âm, các hạt nano dương này sẽ dễ dàng bị hút chặt vào bề mặt tế bào thông

qua tương tác tĩnh điện trái dấu. Khả năng bám dính sinh học này giúp hệ mang không bị đào thải nhanh, kéo dài thời gian giải phóng và tăng cường khả năng hấp thu dược chất [53].

Do bản chất siêu kỵ nước và ái lực cực kỳ cao với pha dầu của diosmin, hoạt chất này rất dễ đạt trạng thái bão hòa và có xu hướng tự tập hợp để tái kết tinh ngay bên trong lõi hữu cơ. Thông qua sự cải thiện rõ rệt về số liệu hiệu suất bao gói và cấu trúc vô định hình, vai trò của HPCD đã được làm nổi bật. Sự hiện diện của HPCD tạo ra các phức lồng cô lập từng phân tử diosmin, hình thành rào cản không gian bẻ gãy hoàn toàn động lực sinh mầm tinh thể. Cơ chế cách ly này đóng vai trò then chốt trong việc ức chế triệt để sự tái kết tinh của thuốc trong pha dầu, đảm bảo phân tán hoạt chất đồng đều ở mức độ phân tử trước khi màng polymer hình thành [54].

Tổng hợp dữ liệu từ các số liệu thực nghiệm: Hệ D@PHC (tỷ lệ P:H 95:5) không chỉ giải quyết triệt để bài toán tải thuốc (đạt EE% và LD% tốt), mà còn thể hiện đặc tính hóa lý tối ưu với kích thước hạt đạt chuẩn (223 nm) và độ ổn định keo tĩnh điện ($\zeta > 30$ mV). Do đó, hệ D@PHC (tỷ lệ 95:5) được chọn là công thức dẫn truyền chính thức được sử dụng làm đại diện để tiến hành các thử nghiệm khảo sát tiếp theo.

3.1.2. Kết quả khả năng bao gói của hesperidin



Hình 3.1. Biểu đồ khảo sát ảnh hưởng của khối lượng hesperidin đến hiệu suất bao gói EE%.

Dựa trên các kết quả tối ưu hóa hệ dẫn truyền PHC đã được xác định tại mục **3.1.1**, nghiên cứu tiên hành khảo sát khả năng bao gói hesperidin (HPD) với hệ chất mang PHC. Kết quả thực nghiệm trình bày tại **hình 3.1** (số liệu chi tiết xem tại **Phụ lục 2**) cho thấy một hiện tượng bất thường: Hiệu suất bao gói (EE%) đạt giá trị cực thấp, gần như không đáng kể ($< 1\%$) đối với các mức đầu vào 6-10 mg, và chỉ bắt đầu tăng nhẹ lên 6.07% ở mức 12 mg. Sự sụt giảm nghiêm trọng EE% ở vùng khối lượng đầu vào thấp này khác hoàn toàn so với dữ liệu tương ứng của diosmin (DSN) trong cùng hệ dẫn truyền, gợi ý một sự khác biệt cốt lõi về tính chất lý hóa giữa hai hoạt chất. Mặc dù là các đồng đẳng flavonoid chỉ khác biệt duy nhất bởi một liên kết đôi C=C trong cấu trúc, hiện tượng này cho thấy rằng hesperidin sở hữu tính ưa nước (hydrophilic) cao hơn diosmin.

Về mặt cơ chế, trong quy trình nano hóa nhũ tương (O/W), hesperidin ưa nước hơn sẽ có xu hướng khuếch tán mạnh từ pha dầu hữu cơ (pha phân tán) sang pha nước ngoại mang (pha liên tục). Giả sử, nếu lượng dược chất thoát ra này là một hằng số cố định do cân bằng bão hòa ở pha nước, thì ở khối lượng đầu vào tổng thấp, tỷ lệ dược chất thất thoát này chiếm ưu thế hơn so với lượng dược nhốt lại, dẫn đến EE% thấp. Kết luận này có tính tương đồng với báo cáo của Guangliang Liu và cộng sự (2022): Thuốc kỵ nước dễ được bao bọc trong PLGA hơn thuốc ưa nước. Thuốc ưa nước thường có hiệu quả tải thuốc thấp hơn vì các phân tử thuốc đi vào pha nước trước khi các chuỗi PLGA hình thành thành hạt [55]. Nhận định này đã được củng cố vững chắc thông qua việc mở rộng vùng khảo sát tăng dần khối lượng đầu vào **Hình 3.1** và đặc biệt là kết quả mô phỏng mô hình thế điện tĩnh phân tử (MESP) mục **3.1.3**. Phân tích MESP **Hình 3.1.3.2** đã xác nhận hesperidin sở hữu mật độ điện tích phân cực thân nước cao hơn hẳn so với diosmin. Do đó, kết hợp giữa dữ liệu thực nghiệm và bằng chứng mô phỏng, có đủ cơ sở khoa học để kết luận hesperidin có tính ưa nước cao hơn đáng kể so với diosmin.

Ở các lượng bao gói hesperidin lớn, giá trị EE% cũng tăng theo. Tuy nhiên, định hướng của nghiên cứu là đồng bao gói ở tỷ lệ 9:1 (diosmin : hesperidin), tức là lượng hesperidin đưa vào là rất nhỏ (khoảng 10 mg), điều này cho thấy hệ chất mang PHC có thể vẫn chưa là hệ chất mang phù hợp nếu mang hỗn hợp 2 loại flavonoid này.

Bảng 3.2. Kết quả đo DLS và zeta của hệ dẫn truyền hesperidin (khối lượng đầu vào: 10 mg)

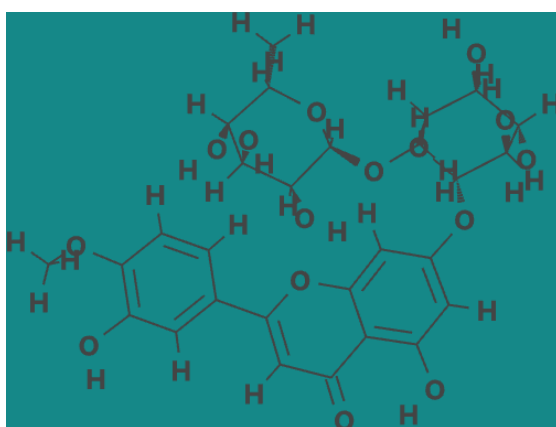
	HPD tự do	H@PHC
Kích thước (nm)	ND	200
PDI	ND	0.167
Zeta (mV)	0.4	41.9

ND: Vượt ngưỡng phát hiện của máy

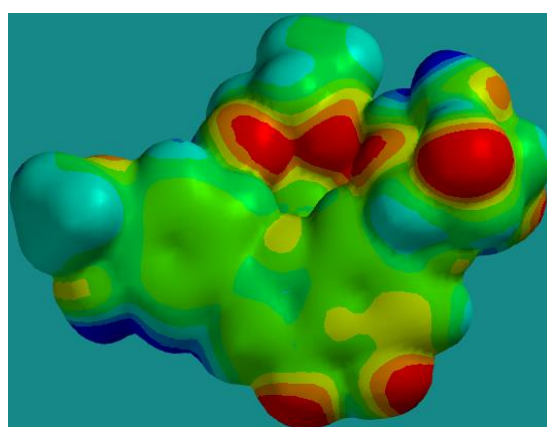
Hệ mang nano H@PHC đã được đánh giá thông qua kỹ thuật DLS, cho thấy sự phân bố kích thước có độ đồng nhất cao. Như được trình bày tại **Bảng 3.2**, công thức đạt đường kính thủy động trung bình lý tưởng là 200 nm với chỉ số đa phân tán (PDI) cực thấp, đạt 0.167, minh chứng cho dải phân bố kích thước hạt hẹp và hệ đơn phân tán. Đáng chú ý, thế zeta có sự dịch chuyển mạnh mẽ từ trạng thái gần như trung hòa (0.4 mV đối với HPD tự do) sang điện tích dương rất cao (+41.9 mV) ở hệ H@PHC. Điện tích dương này không chỉ khẳng định lớp vỏ ngoài chitosan đã được bao bọc thành công, mà còn tạo ra lực đẩy tĩnh điện đáng kể hạn chế hiện tượng keo tụ.

3.1.3. Kết quả mô phỏng mô hình MESP

3.1.3.1. MESP diosmin



Line model



MESP model

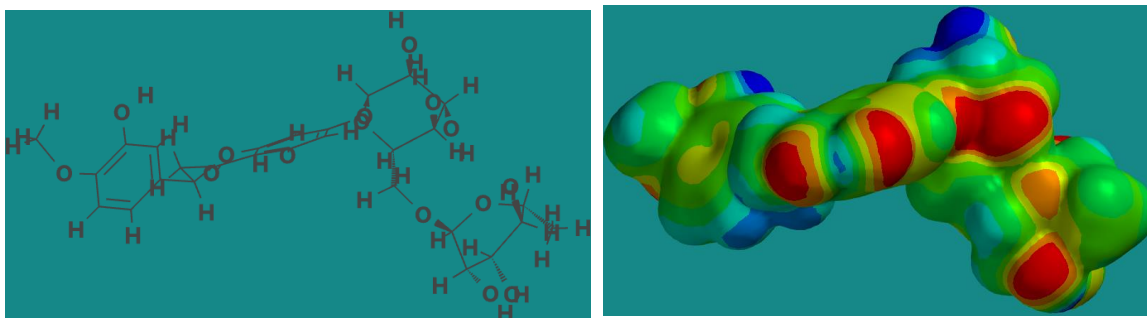
Hình 3.2. Bản đồ bề mặt MESP của diosmin được tính toán bằng phần mềm Spartan sử dụng phương pháp HF ở mức 3-21G*.

Vùng màu xanh lá - Vùng kỵ nước (ưa dầu): Một vùng màu xanh lá rất lớn, liền mạch và chiếm ưu thế, bao phủ gần như toàn bộ phần khung flavonoid (hai vòng thơm và vòng ở giữa). Màu xanh lá đại diện cho các vùng không phân cực, trung hòa về điện. Đây chính là bản chất kỵ nước (hydrophobic) hay ưa dầu (lipophilic) của phân tử. Vùng kỵ nước rộng lớn này giải thích tại sao diosmin có ái lực mạnh với các môi trường dầu như polymer PLGA và dung môi hữu cơ (pha dầu) trong quá trình bào chế. Diosmin thích ở lại trong pha dầu hơn là thoát ra ngoài.

Vùng màu đỏ - Vùng ưa nước (phân cực, giàu electron): Các vùng màu đỏ đậm nét, tập trung chủ yếu ở các nguyên tử oxy của phần đường (phần đuôi chìa ra) và nguyên tử oxy của nhóm C=O trên vòng trung tâm. Màu đỏ đại diện cho các vùng giàu electron, mang điện tích âm. Đây là những vùng rất phân cực và ưa nước (hydrophilic). Chúng có khả năng nhận liên kết hydro rất mạnh, do đó sẽ ưa nước.

Vùng màu xanh dương - Vùng ưa nước (phân cực, nghèo electron): Các vùng màu xanh dương nhỏ hơn, nằm ở các nguyên tử hydro của các nhóm -OH trên phần đường. Màu xanh dương đại diện cho các vùng nghèo electron, mang điện tích dương. Đây cũng là những vùng rất phân cực và ưa nước, có khả năng cho liên kết hydro.

3.1.3.2. MESP hesperidin



Line model

MESP model

Hình 3.3. Bản đồ bề mặt MESP của hesperidin được tính toán bằng phần mềm Spartan sử dụng phương pháp HF ở mức 3-21G*.

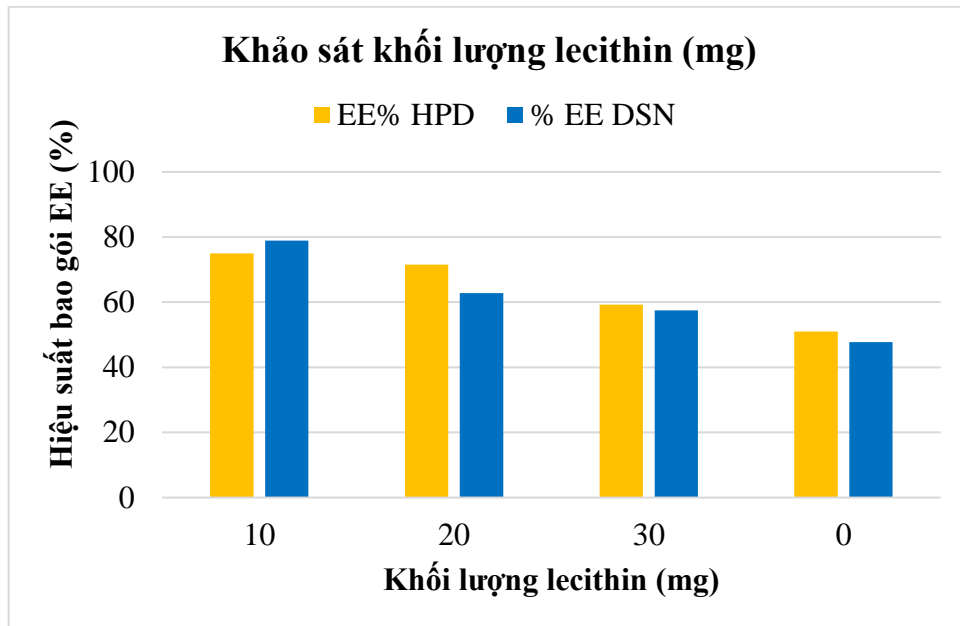
So với diosmin, các vùng màu đỏ (giàu electron, xung quanh các nguyên tử oxy) và xanh dương (nghèo electron, xung quanh hydro của nhóm -OH) trên bề mặt hesperidin trông đậm nét và lan tỏa hơn. Điều này cho thấy các nhóm chức phân cực (-OH, C=O, -O-) của hesperidin có ảnh hưởng mạnh mẽ hơn đến môi trường điện tích xung quanh nó. Sự vắng mặt của liên kết đôi trong vòng C làm cho cấu trúc này

linh động hơn, có thể cho phép các nhóm phân cực này bộc lộ ra ngoài và tương tác với dung môi nước một cách dễ dàng hơn. Bề mặt của hesperidin có nhiều điểm ưa nước hơn, làm cho nó có ái lực mạnh hơn với pha nước trong quá trình bào chế.

Vùng màu xanh lá (kỵ nước, không phân cực) trên hesperidin không tạo thành một cấu trúc phẳng và liền mạch như ở diosmin. Nó trông bị cắt nhau và chập vá bởi các vùng đỏ và vàng. Điều này là do cấu trúc gấp khúc và linh động hơn của khung flavanone. Nó không tạo ra được một bề mặt kỵ nước lớn và đồng nhất. Mặc dù vẫn có phần kỵ nước, nhưng nó không đủ mạnh để giữ phân tử hesperidin lại trong pha dầu một cách hiệu quả như diosmin.

Tóm lại, phân tích mô phỏng MESP cho thấy hesperidin sở hữu đặc tính thân nước cao hơn diosmin, dẫn đến nguy cơ rò rỉ dược chất đáng kể vào pha liên tục trong quá trình tạo hạt nếu chỉ dựa vào ma trận PLGA trần. Việc bổ sung lecithin vào công thức đóng vai trò tạo một màng mono layer lipid rào cản tại bề mặt tiếp xúc pha [42], nhằm cản trở sự khuếch tán của dược chất ra môi trường bên ngoài. Chiến lược thiết kế hệ mang đa thành phần này hy vọng sẽ cải thiện đột phá khả năng đồng bao gói, nâng cao tỷ lệ EE% và giảm thiểu thất thoát hoạt chất, qua đó giúp khẳng định tính tất yếu của việc phát triển các nền tảng lai thay vì sử dụng polymer PLGA đơn lẻ. Vì vậy, nghiên cứu quyết định kết hợp lecithin cùng PLGA và HPCD làm hệ mang thuốc để ngăn chặn sự rò rỉ của thuốc ra ngoài pha liên tục.

3.1.4. Khảo sát ảnh hưởng của lecithin đến khả năng đồng bao gói của diosmin và hesperidin



Hình 3.4. Biểu đồ khảo sát ảnh hưởng của khối lượng lecithin đến hiệu suất bao gói EE%.

Dựa trên nghiên cứu của Zhang và cộng sự (2015), cần một lượng lecithin 10-15% so với khối lượng polymer có trong công thức bào chế sẽ cho kết quả tốt nhất, nghiên cứu tiến hành khảo sát ảnh hưởng của khối lượng lecithin đến hiệu suất bao gói (EE%). Kết quả thực nghiệm trình bày tại **hình 3.4** (số liệu chi tiết xem tại **Phụ lục 4**) cho thấy khi không sử dụng lecithin (0 mg), hiệu suất bao gói (EE) khá thấp, chỉ đạt khoảng 50%. Tuy nhiên, khi bổ sung 10 mg lecithin, EE% đã tăng vọt và đạt mức cao nhất (EE đạt khoảng 75-79%). Nguyên nhân là do lecithin đã tạo thành một lớp màng bảo vệ bao quanh hạt, giúp khóa chặt thuốc ở bên trong và ngăn thuốc rò rỉ ra ngoài [42]. Ngược lại, khi tiếp tục tăng lượng lecithin lên 20 mg và 30 mg, hiệu suất bao gói lại có xu hướng giảm dần. Điều này xảy ra do lượng lipid bị dư thừa quá nhiều trong dung dịch sẽ hóa thành các hạt mỡ tự do, vô tình lôi kéo bớt dược chất ra khỏi lõi hạt nano làm thất thoát dược chất. Từ các kết quả trên, 10 mg lecithin là khối lượng tối ưu nhất để giữ thuốc, do đó thông số này được lựa chọn để tiến hành cho nghiên cứu tiếp theo.

3.1.5. Kết quả bào chế của diosmin và hesperidin

Bảng 3.3. Hiệu suất bao gói và đặc tính phân bố kích thước hạt của các hệ dẫn truyền

Hệ	D-H@PC		D-H@PHC		D-H@PHLC	
	D	H	D	H	D	H
EE%	43.83	33.22	47.79	50.98	70.00±37.50	74.15±7.01
DL%	50.07	4.74	36.90	4.92	55.07±6.24	6.70±1.11
Z-average (nm)	723.5		299.7		561.9±37.50	
PDI	0.433		0.357		0.335±0.04	
Zeta (mV)	30.8		61.8		55±10.61	

Bảng 3.3 cho thấy sự biến đổi có hệ thống về các đặc tính hóa lý của hệ mang nano sau khi bổ sung tuần tự các tá dược chức năng. Việc bổ sung HPCD (ở hệ D-H@PHC) đã làm tăng đáng kể hiệu suất bao gói (EE%) của hesperidin từ 33,22% lên 50,98%, qua đó khẳng định vai trò của sự hình thành phức hợp bao trong việc ngăn ngừa hiện tượng kết tinh thuốc. Đáng chú ý nhất, hệ thống đa lớp hoàn chỉnh (D-H@PHLC) cho thấy sự gia tăng vượt bậc về EE% đối với cả hai flavonoid (đạt mức ~70-74%). Khả năng giữ thuốc mạnh mẽ này là minh chứng rõ ràng cho hiệu quả của lớp lecithin trong việc ngăn chặn sự rò rỉ thuốc ra ngoài pha liên tục (pha nước).

Hơn nữa, sự gia tăng đáng kể về kích thước hạt trung bình (Z-average) từ 299,7 nm (hệ PHC) lên 561,9 nm (hệ PHLC) chính là bằng chứng vật lý cho thấy lớp vỏ lipid đã được bao bọc thành công. Mặc dù có sự gia tăng về kích thước, hệ mang cuối cùng vẫn duy trì được chỉ số đa phân tán (PDI) ổn định ở mức 0,335 và thể hiện thế zeta dương cao (+55 mV) giúp xác nhận sự hiện diện của lớp vỏ ngoài chitosan.

3.2. Cơ chế hoạt động của hệ dẫn truyền thuốc

Từ các kết quả mô phỏng và thực nghiệm trên, cơ chế của hệ dẫn truyền thuốc như sau. Đầu tiên, HPCD là một dẫn xuất của beta-cyclodextrin với cấu trúc hình nón cụt: mặt ngoài ưa nước và khoang rỗng bên trong kỵ nước [56]. Khi thêm HPCD vào pha nước ngoài trong quá trình nhũ hóa, HPCD có thể tương tác với thuốc tại giao

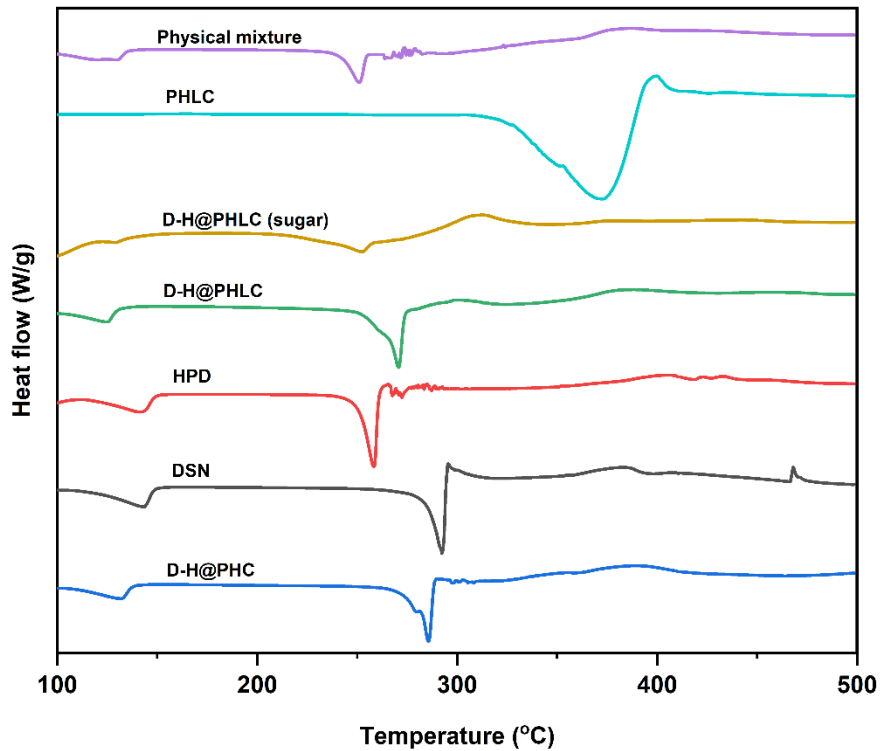
diện dầu-nước [57]. Tuy nhiên, cơ chế quan trọng hơn nằm ở khả năng tạo phức hợp lồng của HPCD, giúp tăng độ tan của dược chất và duy trì trạng thái phân tán phân tử [56]. Đặc biệt, sự hiện diện của HPCD tạo ra hàng rào không gian, ngăn cản các phân tử thuốc quy tụ và tái kết tinh trên bề mặt hạt nano trong quá trình bốc hơi dung môi, qua đó cải thiện độ ổn định vật lý của hệ tiểu phân [58].

Tiếp theo, lecithin tự sắp xếp tại giao diện giữa pha dầu (PLGA) và pha nước. Đuôi kỵ nước của nó hướng vào trong lõi PLGA, đầu ưa nước hướng ra ngoài. Lớp lipid này hoạt động như một rào cản vật lý bán thấm, ngăn cản sự khuếch tán ngược của diosmin/hesperidin từ lõi ra môi trường nước trong quá trình đóng rắn hạt. Điều này giúp giữ lại lượng thuốc tối đa bên trong hạt [42]. Việc thêm lecithin vào pha dầu kết hợp với HPCD trong pha nước tạo ra cơ chế tác động kép: Lecithin hình thành hàng rào kỵ nước ngăn thuốc thân nước rò rỉ [59], trong khi HPCD ổn định thuốc kỵ nước tại bề mặt, ngăn cản sự tái kết tinh. Cấu trúc lai này sẽ tối đa hóa hiệu suất bao gói cho cả diosmin và hesperidin.

Cuối cùng, để hoàn thiện hệ dẫn truyền, chitosan được bổ sung để tạo thành lớp vỏ ngoài cùng. Do bề mặt lõi PLGA-lecithin mang điện tích âm, còn chitosan mang điện tích dương, chúng sẽ tự động hút nhau thông qua tương tác tĩnh điện và bám chặt lại thành cấu trúc lõi-vỏ. Lớp vỏ chitosan này mang lại hai lợi ích quan trọng. Thứ nhất, nó làm cho toàn bộ bề mặt hạt nano mang điện tích dương (thể hiện qua kết quả đo thế zeta), giúp các hạt đẩy nhau và không bị vón cục trong dung dịch. Thứ hai, khi đi vào cơ thể, màng biểu mô và niêm mạc vốn dĩ mang điện tích âm. Nhờ lớp vỏ dương này, hạt nano sẽ dễ dàng bám dính vào bề mặt niêm mạc, lưu lại lâu hơn tại vị trí hấp thu, từ đó giúp diosmin và hesperidin dễ dàng thấm qua thành tế bào để đi vào máu [53].

3.3. Kết quả đánh giá đặc tính lý hóa

3.3.1. Phân tích nhiệt quét vi sai (DSC)



Hình 3.5. Biểu đồ phân tích nhiệt lượng vi sai quét (DSC) của các nguyên liệu tinh khiết và hệ hạt nano tổng hợp.

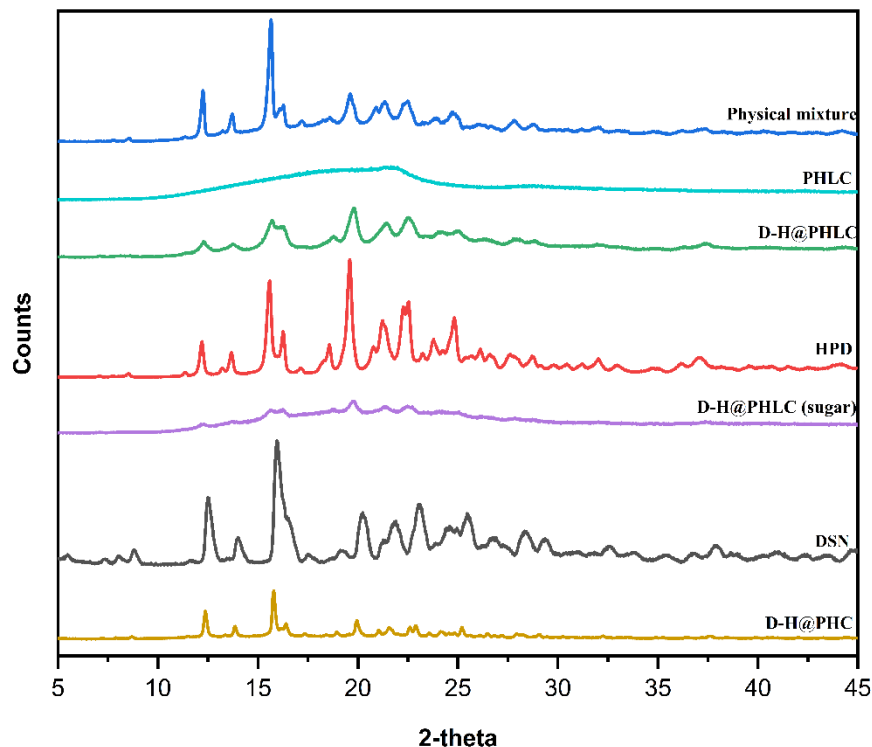
Phân tích nhiệt lượng kế quét vi sai (DSC) được thực hiện nhằm làm sáng tỏ trạng thái vật lý của dược chất và các tương tác hóa lý vi mô bên trong hệ dẫn truyền nano. Tính chất tinh thể của diosmin (DSN) và hesperidin (HPD) nguyên liệu được thể hiện qua các đỉnh nóng chảy sắc nét lần lượt tại 290°C và 250°C. Các mũi tín hiệu sắc nhọn cường độ cao này là minh chứng điển hình cho mạng lưới tinh thể bền vững, đây cũng chính là rào cản năng lượng giải thích cho tính siêu kỵ nước và độ hòa tan cực kỳ kém của hai flavonoid này [60]. Hỗn hợp vật lý ghi nhận sự xuất hiện trở lại của các mũi thu nhiệt đặc trưng tương ứng với điểm nóng chảy của DSN và HPD (quanh 250°C và 280°C). Tín hiệu này khẳng định rằng việc trộn lẫn cơ học đơn thuần không làm thay đổi trạng thái nhiệt động học hay gây ra bất kỳ tương tác hóa học nào làm phá vỡ cấu trúc tinh thể của dược chất.

Đối với hệ mang nano trống (PHLC), biểu đồ không ghi nhận bất kỳ mũi nóng chảy nào trong vùng nhiệt độ 200 - 300°C. Thay vào đó là một vùng biến đổi nhiệt rộng bắt đầu từ 300°C đến 400°C, sự đứt gãy chuỗi polymer phân cắt liên kết este

của PLGA, sự phân hủy nhiệt các liên kết glycosidic của khung chitosan/HPCD, cũng như quá trình oxy hóa chuỗi acid béo của lecithin. Sự hiện diện của mũi phân hủy nhiệt đặc trưng này tái khẳng định rằng hệ PHLC không phải là một hỗn hợp vật lý đơn thuần, mà là một cấu trúc ma trận polymer-lipid vững chắc. Các nhóm hydroxyl (-OH) dồi dào trên cấu trúc phân tử DSN và HPD đã tạo thành các liên kết hydro và tương tác tĩnh điện mạnh mẽ với các nhóm carbonyl (C=O) của PLGA và nhóm amine (-NH₂) của chitosan.

Ở các công thức nano không sử dụng chất bảo vệ đông khô đường trehalose (D-H@PHLC và D-H@PHC), các đỉnh nóng chảy vẫn xuất hiện, cho thấy có thể trong quá trình sấy thăng hoa đã phá vỡ một phần cấu trúc hạt, dẫn đến sự rò rỉ và tái kết tinh của dược chất. Tuy nhiên, sự đột phá được ghi nhận ở công thức tối ưu có bổ sung đường trehalose (D-H@PHLC sugar). Tại đây, các peak nóng chảy của DSN và HPD đã bị triệt tiêu hoàn toàn. Đường nền phẳng lý ở dải nhiệt độ này là minh chứng nhiệt động học tuyệt đối cho thấy dược chất đã không còn trạng thái mạng lưới tinh thể, phân tán ở cấp độ phân tử và bị giam giữ hoàn toàn dưới dạng phân tán rắn vô định hình bên trong lõi kỵ nước của ma trận PHLC.

3.3.2. Giải đồ nhiễu xạ tia X (XRD)



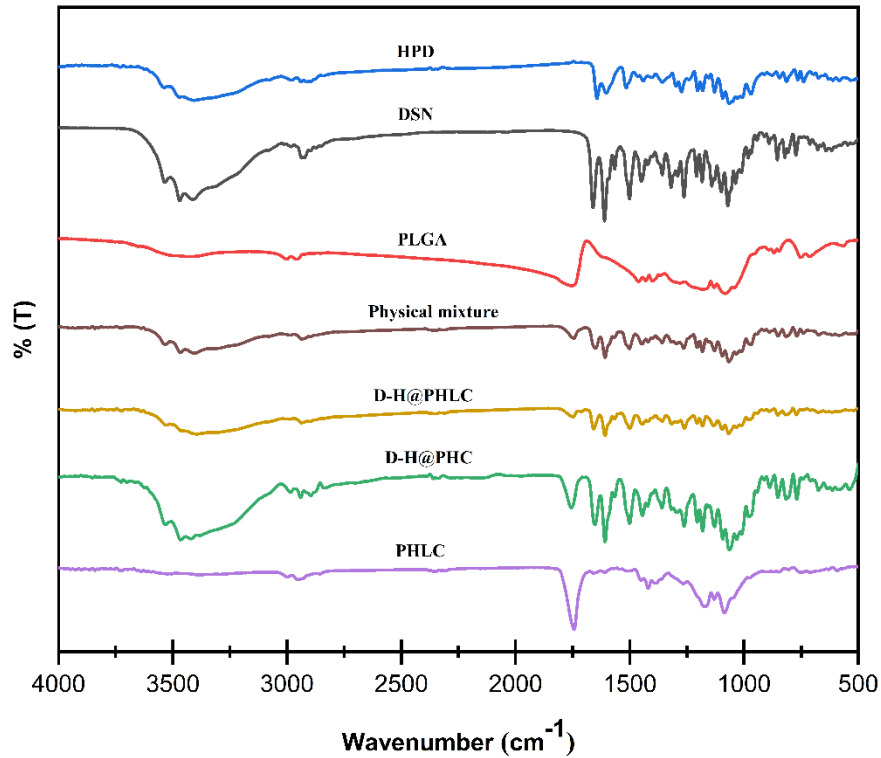
Hình 3.6. Giải đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của các mẫu nghiên cứu.

Để xác minh trạng thái phân tán vật lý của hoạt chất bên trong hệ thống hạt mang, kỹ thuật nhiễu xạ tia X (XRD) đã được áp dụng. Giảm độ nhiễu xạ của các nguyên liệu tinh khiết, ma trận polymer PLGA và hệ hạt đồng bao gói được trình bày trong **hình 3.6**.

Kết quả phân tích cho thấy, nguyên liệu diosmin và hesperidin ban đầu thể hiện bản chất kết tinh rất cao, được minh chứng qua hàng loạt các đỉnh nhiễu xạ cực kỳ sắc nét và có cường độ mạnh tại các góc 2θ (2-theta) đặc trưng. Cụ thể, diosmin xuất hiện các đỉnh chính tại 12.5° , 15.3° , 21.8° , và 25.1° , trong khi hesperidin bộc lộ các đỉnh tinh thể điển hình tại 13.8° , 16.2° , 22.5° , và 24.8° . Trong khi đó, hệ mang trống PHLC chỉ hiển thị một đường cong dạng phân tán rộng, xác nhận cấu trúc vô định hình của ma trận polymer-lipid. Đối với hỗn hợp vật lý (physical mixture), giảm độ là sự xếp chồng tuyến tính của các mũi nhiễu xạ tinh thể DSN và HPD trên nền polymer, chứng tỏ việc phối trộn cơ học đơn thuần không làm thay đổi mạng tinh thể gốc.

Đáng chú ý, ở các hệ không có tá dược bảo vệ (D-H@PHC và D-H@PHLC), mặc dù cường độ đã suy giảm, các mũi nhiễu xạ gốc của DSN và HPD vẫn tồn tại, phản ánh hiện tượng tái kết tinh bề mặt, cho thấy có thể trong quá trình sấy thăng hoa đã phá vỡ một phần cấu trúc hạt, dẫn đến sự rò rỉ này. Ngược lại, đối với hệ bột đồng khô có trehalose (D-H@PHLC sugar), toàn bộ tín hiệu tinh thể của dược chất đã bị triệt tiêu hoàn toàn, giảm độ đồng nhất với đường cong vô định hình của hệ mang trống. Thay vào đó, giảm độ của hệ hạt mang thuốc gần như đồng nhất với giảm độ của hệ polymer, chỉ duy trì hình thái quãng rộng vô định hình. Sự triệt tiêu các tín hiệu tinh thể này cho thấy: trong quá trình hình thành hạt nano, cấu trúc mạng tinh thể bền vững của các flavonoid đã bị phá vỡ. Các phân tử diosmin và hesperidin không còn tồn tại ở trạng thái tập hợp tinh thể riêng rẽ, mà đã được phân tán đồng nhất ở cấp độ phân tử và chuyển đổi sang trạng thái vô định hình bên trong ma trận PLGA.

3.3.3. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR)



Hình 3.7. Phổ FT-IR của D-H@PHC và D-H@PHLC.

Phổ đồ FT-IR **Hình 3.7** của hai dược chất tự do diosmin (DSN) và hesperidin (HPD) thể hiện các dải hấp thụ đặc trưng cực kỳ sắc nét. Nổi bật nhất là mũi dao động kéo dãn (stretching vibration) của nhóm carbonyl (C=O) thuộc cấu trúc vòng flavonoid tại vùng $1650 - 1600 \text{ cm}^{-1}$, cùng với dải hấp thụ rộng của nhóm hydroxyl (-OH) ở vùng $3500 - 3200 \text{ cm}^{-1}$. Đối với polymer PLGA nguyên bản và hệ mang trống PHLC, tín hiệu đặc trưng và cường độ mạnh nhất xuất hiện tại khoảng 1755 cm^{-1} , tương ứng với dao động kéo dãn của nhóm carbonyl (C=O) trong liên kết este của PLGA.

Ở hỗn hợp vật lý (physical mixture), phổ đồ đơn thuần là sự xếp chồng của các đỉnh hấp thụ của dược chất và polymer mà không có sự dịch chuyển đáng kể nào, chứng tỏ việc phối trộn cơ học không tạo ra liên kết hóa học mới.

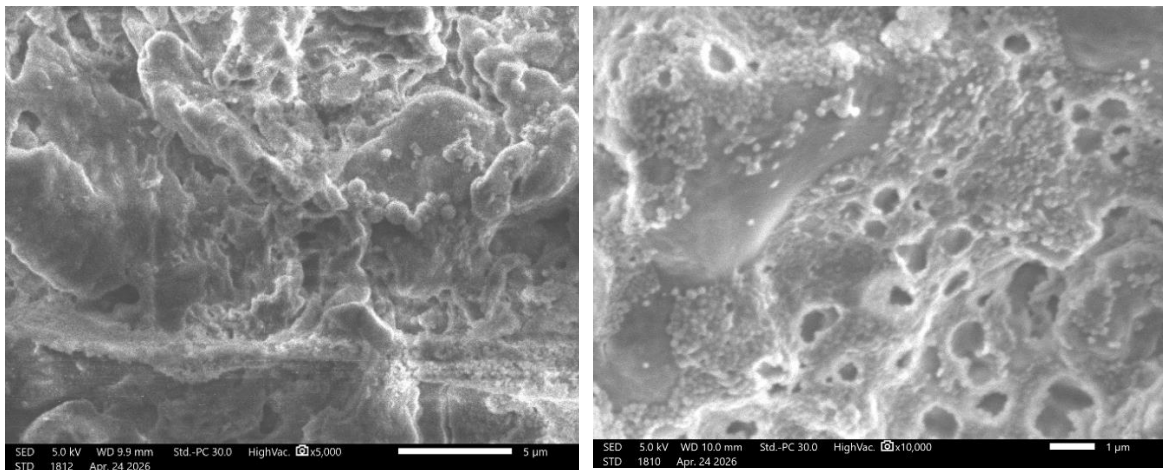
Tuy nhiên, sự thay đổi sâu sắc về mặt quang phổ đã xảy ra ở các hệ nano đồng gói (D-H@PHC và D-H@PHLC). Thứ nhất, các mũi dao động C=O sắc nhọn của DSN và HPD (vùng 1650 cm^{-1}) và phổ vùng dầu vân tay ($1500 - 1000 \text{ cm}^{-1}$) đã bị che lấp hoặc suy giảm cường độ đáng kể. Sự suy giảm này là bằng chứng quang

phổ xác thực cho thấy dược chất đã bị khóa sâu bên trong lõi polymer, bị lớp vỏ polymer-lipid cản trở tín hiệu hồng ngoại.

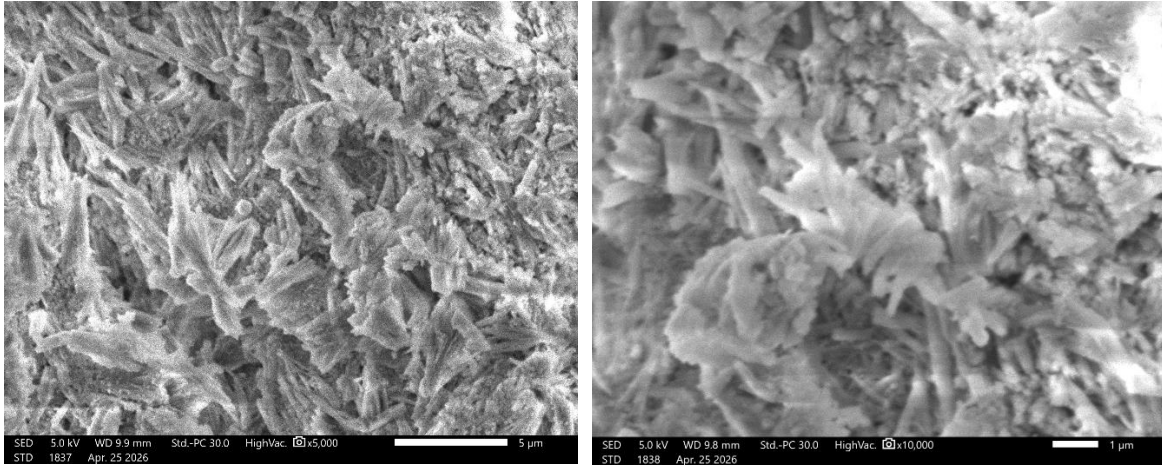
Thứ hai, và quan trọng nhất, dải dao động của nhóm -OH và -NH (tại vùng $3500 - 3200 \text{ cm}^{-1}$) ở các hệ mang thuốc trở nên mở rộng (broadened) và tù hơn rất nhiều so với hệ trống và hỗn hợp vật lý. Ngoài ra, đỉnh dao động kéo dài đặc trưng của nhóm carbonyl (C=O) thuộc liên kết este của PLGA nguyên liệu được ghi nhận ở 1756.83 cm^{-1} . Tuy nhiên, trong cấu trúc của hệ nano đồng bao gói (D-H@PHLC), mũi hấp thụ này đã dịch chuyển rõ rệt về phía vùng có số sóng thấp hơn, đạt mức 1749.12 cm^{-1} . Sự dịch chuyển này là bằng chứng cho sự hình thành liên kết hydro. Cụ thể, các nhóm hydroxyl (-OH) dồi dào trên DSN và HPD đã đóng vai trò là chất cho/nhận proton, tương tác mạnh mẽ với nhóm carbonyl (C=O) của PLGA và nhóm amine/hydroxyl của chitosan/HPCD.

Tóm lại, dữ liệu FT-IR hoàn toàn đồng thuận với kết quả phân tích nhiệt DSC bên trên, khẳng định rằng DSN và HPD không chỉ bị giam giữ vật lý mà còn tương tác hóa học chặt chẽ với hệ tá dược thông qua mạng lưới liên kết hydro. Tương tác liên phân tử mạnh mẽ này chính là động lực nhiệt động học ngăn cản sự tái kết tinh của thuốc, duy trì trạng thái vô định hình ổn định cao của hệ dẫn truyền.

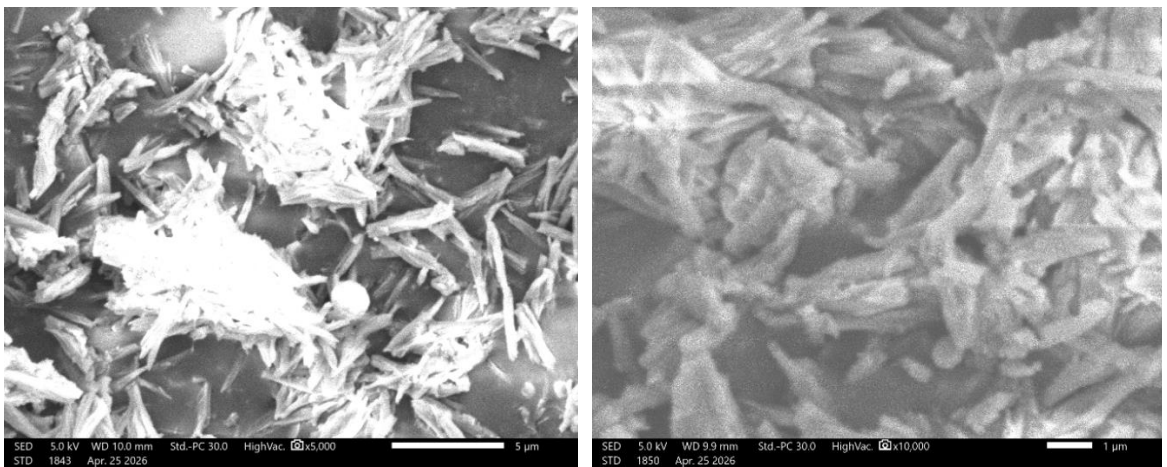
3.3.4. Hình thái bề mặt tiểu phân (SEM)



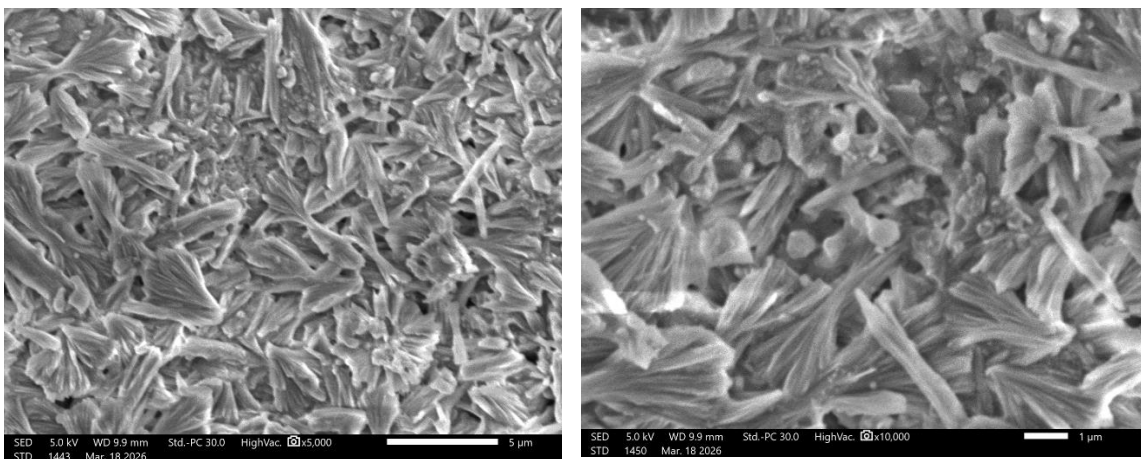
Hình 3.8. SEM của mẫu PHLC.



Hình 3.9. SEM của mẫu D-H@PHC.



Hình 3.10. SEM của mẫu D-H@PHLC.



Hình 3.11. SEM của mẫu D-H@PHLC (sugar).

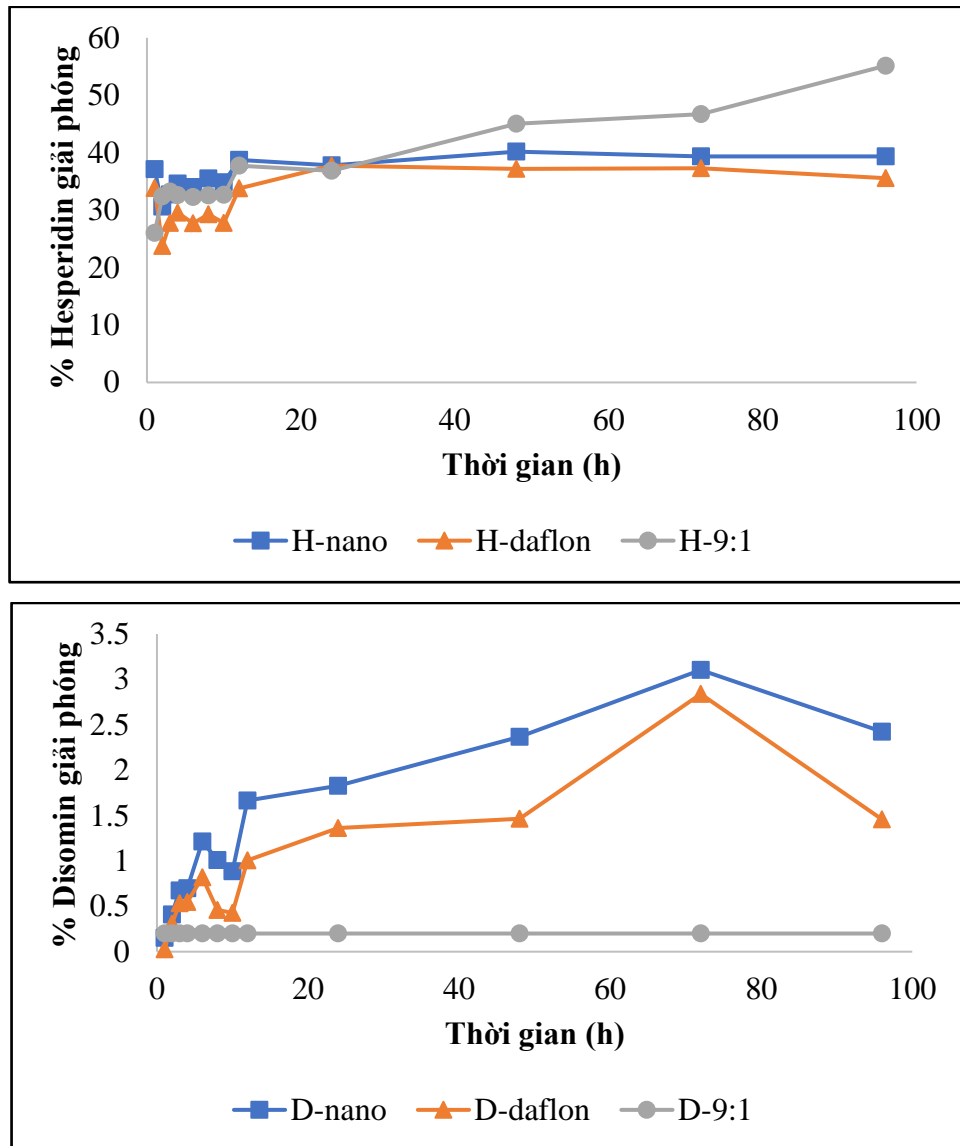
Hình 3.8 cho thấy hệ PHLC có bề mặt xốp và các hạt có xu hướng dính vào nhau cho thấy cấu trúc hạt đã bị sụp đổ và dung hợp thành khối liên tục. Hiện tượng này chứng minh sự hiện diện của lớp lipid (lecithin) đã làm giảm nhiệt độ thủy tinh hóa bề mặt [61], kết hợp với đặc tính tạo màng của chitosan, khiến các hạt nano dễ

dàng bị chảy và kết dính. Để chứng minh giả thuyết màng lipid (lecithin) là nguyên nhân gây hạ nhiệt độ thủy tinh hóa và làm chảy dung hợp cấu trúc hạt, nghiên cứu đã tiến hành so sánh mẫu D-H@PHC đã loại bỏ hoàn toàn lecithin. Ở **Hình 3.9** kết quả SEM cho thấy, khi không có hợp chất lipid này, cấu trúc tinh thể dạng thanh của diosmin hiển thị sắc nét, rời rạc, và cấu trúc không hề bị bọc bởi một lớp màng nào. Điều này khẳng định vai trò của lecithin trong việc làm mềm hóa hệ vỏ polymer. Còn **Hình 3.10** mẫu D-H@PHLC (mẫu tải thuốc, không chất bảo vệ) quan sát thấy rõ các cấu trúc dạng thanh/sợi dài. Đây là hình thái tinh thể đặc trưng của dược chất diosmin, có thể được giải thích thông qua cơ chế phân tách pha do ẩm. Việc bản chất nhạy cảm với độ ẩm của hệ polymer nên, khi tiếp xúc với môi trường đã dẫn đến hiện tượng hóa dẻo ma trận vô định hình. Sự gia tăng độ linh động của các chuỗi polyme làm suy giảm rào cản cản trở không gian, tạo điều kiện thuận lợi cho dược chất khuếch tán từ lõi ra bề mặt. Tại bề mặt, các phân tử flavonoid kỵ nước nhanh chóng tập hợp và tái kết tinh thành các cấu trúc hình kim. Ở mẫu này, các hạt dạng thanh vẫn còn ranh giới khá rõ, tương đối tách rời nhau. **Hình 3.11** cho thấy, ở mẫu D-H@PHLC có phối trộn đường trehalose cấu trúc dạng thanh của diosmin bị bao phủ bởi một lớp màng đặc, dính chặt vào nhau tạo thành các mảng lớn. Nguyên nhân là do đường trehalose có tính hút ẩm cao, khi lưu mẫu đã hút ẩm và chảy nhão, dính bết các hạt nano lại với nhau thành khối.

Từ những hạn chế về hiện tượng kết tụ của mẫu bột đông khô, việc quét SEM trực tiếp trên khối bột rắn không phản ánh đúng kích thước và hình thái thực tế của các tiểu phân nano đơn lẻ (do cấu trúc bột dễ bị đóng tảng hoặc vỡ nát bề mặt). Để khắc phục triệt để tình trạng này và giải quyết vấn đề mẫu bị lưu ẩm do điều kiện môi trường, nghiên cứu đề xuất định hướng sau này sẽ xử lý mẫu SEM theo phương pháp drop-casting (nhỏ 1 giọt dung dịch hạt nano đã pha siêu loãng lên phiến kính/nhôm rồi để khô tự nhiên trong tủ hút hoặc bình hút ẩm) và thay thế trehalose bằng các tá dược toi xốp, không hút ẩm như SiO₂.

3.4. Đánh giá sinh học và độ ổn định của hệ dẫn truyền

3.4.1. Đánh giá khả năng giải phóng thuốc *in vitro*



Hình 3.12. Đồ thị giải phóng tích lũy *in vitro* của diosmin và hesperidin từ hệ nano D-H@PHLC so với mẫu đối chứng daflon và hỗn hợp trộn vật lý 9:1 với pH 1.2.

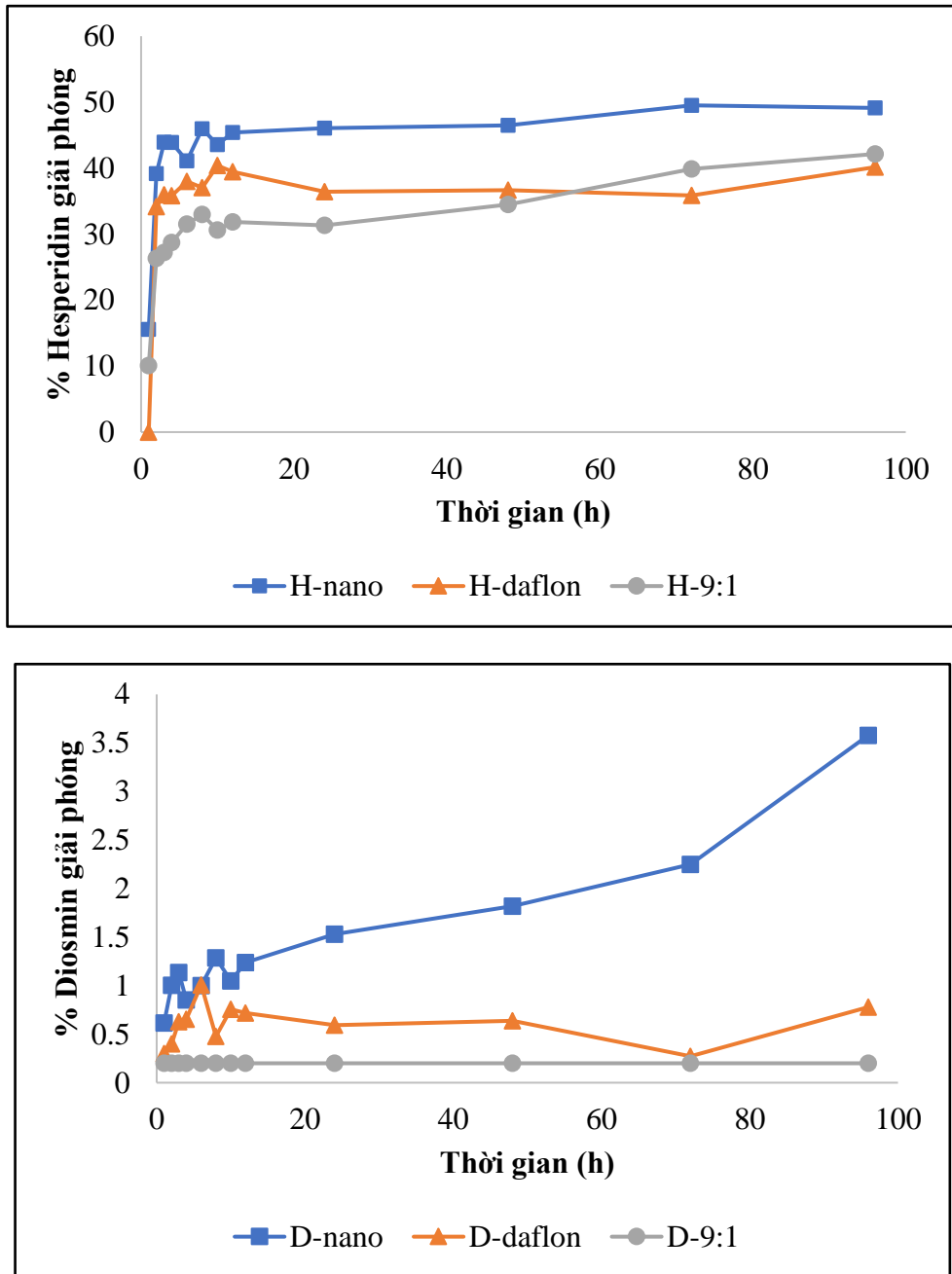
Đồ thị giải phóng ở pH 1.2 (số liệu cụ thể **phụ lục 4, 5**), hesperidin thể hiện tốc độ hòa tan tương đối tốt. Ở hệ nano, hiện tượng giải phóng được ghi nhận trong 24 giờ đầu (đạt khoảng 37%), sau đó duy trì trạng thái nhả chậm ổn định quanh mức 40% cho đến cuối chu kỳ. Đáng chú ý, mẫu hỗn hợp trộn vật lý (9:1) có xu hướng nhả thuốc chậm hơn ở giai đoạn đầu nhưng lại tăng vọt ở mốc 96h (lên tới 55%). Điều này có thể được lý giải do hesperidin hòa tan tốt trong nước sau thời gian dài tiếp xúc với môi trường, hòa tan các tinh thể hesperidin, trong khi hệ nano vẫn giữ được tính ổn định của khung polymer giúp kiểm soát tốc độ nhả.

Đồ thị giải phóng của diosmin phản ánh đúng bản chất siêu kém tan (hydrophobic) của hoạt chất. Điểm đáng chú ý nhất là cả hệ nano và Daflon đều có chung một xu hướng: tỷ lệ giải phóng tăng dần, đạt đỉnh ở mốc 72 giờ, sau đó sụt giảm ở mốc 96 giờ. Hiện tượng này hoàn toàn phù hợp với quá trình tái kết tinh trong môi trường thể tích giới hạn.

Cụ thể, ở các mốc thời gian đầu, thuốc được giải phóng liên tục làm nồng độ diosmin trong môi trường đệm tăng lên, vượt qua ngưỡng hòa tan thông thường để đạt trạng thái quá bão hòa tại mốc 72 giờ. Sang mốc 96 giờ, các phân tử diosmin tự do bắt đầu kết tụ lại, tạo mầm và kết tinh thành các hạt rắn lắng xuống đáy hệ. Việc hút mẫu ly tâm chỉ thu thập phần dịch trong, dẫn đến sự sụt giảm nồng độ được ghi nhận trên hệ thống HPLC. Cả dạng thô (daflon) và hạt vi phân (D-H@PHLC) đều phải tuân theo giới hạn hòa tan của cùng một môi trường đệm, do đó hình dáng đồ thị biểu diễn là tương đồng nhau.

Tuy nhiên, điểm khác biệt của hệ nano nằm ở khả năng ức chế kết tinh. Dù tuân theo cùng một xu hướng, đường biểu diễn của nano luôn nằm cao hơn có ý nghĩa so với Daflon. Tại mốc 72h, hệ nano đẩy nồng độ diosmin lên mức cao nhất (~3.1%), so với Daflon (~2.8%). Đặc biệt tại mốc 96h, khi hiện tượng kết tủa xảy ra, Daflon sụt giảm mạnh (chỉ còn ~1.4%), trong khi hệ nano vẫn duy trì được mức ~2.4%. Điều này chứng minh thuốc D-H@PHLC và hạt kích thước nano không chỉ giúp tăng tốc độ hòa tan mà còn ngăn cản sự hình thành mạng tinh thể, giúp diosmin duy trì ở trạng thái hòa tan lâu hơn.

Đồng thời, việc mẫu trộn vật lý (9:1) ghi nhận tỷ lệ giải phóng cực kỳ thấp (dưới ngưỡng định lượng HPLC) là bằng chứng khẳng định: nếu không có công nghệ bào chế vi hạt (như Daflon) hoặc hệ màng bọc polymer (hệ nano), hỗn hợp diosmin thô gần như không thể tự giải phóng vào môi trường dịch sinh lý.



Hình 3.13. Đồ thị giải phóng tích lũy *in vitro* của diosmin và hesperidin từ hệ nano D-H@PHLC so với mẫu đối chứng Daflon và hỗn hợp trộn vật lý 9:1 với pH 7.4.

Biểu đồ giải phóng với pH 7.4 (số liệu cụ thể **phụ lục 6, 7**) của hesperidin cho thấy tốc độ hòa tan tương đối nhanh. Đối với hệ nano, hiện tượng giải phóng bùng phát được ghi nhận trong khoảng 12 giờ đầu, sau đó tiệm cận và duy trì ổn định ở mức ~50% cho đến cuối chu kỳ (96 giờ). Tỷ lệ này cao hơn hẳn so với dạng bào chế thương mại Daflon (~40%) và hỗn hợp trộn vật lý 9:1 (~42%).

Sự giải phóng nhanh của hesperidin xuất phát từ hai nguyên nhân cốt lõi. Xét về mặt cấu trúc, hesperidin có ái lực với nước (hydrophilic) tốt hơn so với diosmin

Hôn mê	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F
Tỷ lệ tử vong	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F

Ghi chú: C = Chứng, DH = Mẫu DH, N = Bình thường, ↑ = Tăng, ↓ = Giảm, N.F = Không phát hiện

Bảng 3.6. Hành vi của chuột đực/cái sau khi cho uống mẫu D-H@PHLC

Chỉ tiêu	Kết quả							
	30 phút		4 giờ		24 giờ		48 giờ	
	C	D	C	D	C	D	C	D
Lông và da	N	N	N	N	N	N	N	N
Mắt	N	N	N	N	N	N	N	N
Tiết nước bọt	N	N	N	N	N	N	N	N
Hô hấp	N	N	N	N	N	N	N	N
Nước tiểu	N	N	N	N	N	N	N	N
Phân	N	N	N	N	N	N	N	N
Vận động và hành vi	N	N	N	N	N	N	N	N
Ngủ	N	N	N	N	N	N	N	N
Niêm mạc	N	N	N	N	N	N	N	N
Co giật và run rẩy	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F
Ngứa miệng	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F
Hôn mê	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F
Tỷ lệ tử vong	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F	N.F

Ghi chú: C = Chứng, D = Mẫu D-H@PHLC, N = Bình thường, ↑ = Tăng, ↓ = Giảm, N.F = Không phát hiện

Kết quả từ **Bảng 3.4, 3.5** và **3.6** cho thấy sau khi cho chuột uống các mẫu thử PHLC, DH và D-H@PHLC ở liều 1 g/kg, không ghi nhận bất kỳ biểu hiện bất thường nào về lâm sàng trong suốt thời gian theo dõi 48 giờ. Các chỉ tiêu về lông, da, mắt, hô hấp, bài tiết, vận động và hành vi đều ở trạng thái bình thường. Đồng thời, không xuất hiện các dấu hiệu ngộ độc cấp như co giật, run rẩy, hôn mê và không có trường hợp tử vong nào được ghi nhận. Những kết quả này cho thấy các mẫu thử không gây độc tính theo đường uống ở liều khảo sát.

Bảng 3.7. Cân nặng chuột đực theo dõi trong 2 tuần

Lô (n=5)	Ngày 1	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7	Ngày 10	Ngày 14
SL	21,27 ± 0,81	25,71 ± 1,24	24,97 ± 1,32	27,17 ± 0,73	28,50 ± 0,86	29,91 ± 0,96
D-H@PHLC	21,03 ± 1,45	25,02 ± 1,51	23,66 ± 1,20	27,98 ± 1,31	31,26 ± 1,35	33,89 ± 1,64
D:H (9:1)	20,84 ± 0,81	26,00 ± 1,90	25,81 ± 2,18	27,27 ± 2,70	29,23 ± 2,36	32,64 ± 2,50
PHLC	20,77 ± 1,10	24,42 ± 2,08	23,86 ± 2,34	26,93 ± 2,27	27,47 ± 2,29	29,80 ± 2,62

Bảng 3.8. Cân nặng chuột cái theo dõi trong 2 tuần

Lô (n=5)	Ngày 1	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 7	Ngày 10	Ngày 14
SL	19,95 ± 1,27	23,41 ± 1,38	24,82 ± 1,19	25,66 ± 1,02	27,55 ± 1,07	28,53 ± 1,10
D-H@PHLC	19,31 ± 0,86	23,19 ± 2,74	20,62 ± 2,33	24,26 ± 2,44	25,46 ± 2,77	27,43 ± 3,48
D:H (9:1)	19,13 ± 1,99	22,86 ± 1,99	20,48 ± 1,72	23,66 ± 1,94	25,49 ± 2,17	26,06 ± 2,53
PHLC	17,81 ± 0,55	21,79 ± 0,98	19,89 ± 0,57	23,17 ± 0,95	25,49 ± 1,49	27,74 ± 2,68

Bên cạnh đó, kết quả theo dõi cân nặng từ **Bảng 3.7** và **3.8** của chuột trong 14 ngày cho thấy xu hướng tăng ổn định ở tất cả các lô thử nghiệm, tương tự như lô sinh lý. Không ghi nhận sự sụt giảm cân hoặc biến động bất thường về trọng lượng cơ thể giữa các nhóm. Điều này chứng tỏ các mẫu thử không ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng và chuyển hóa của chuột thử nghiệm.

Các mẫu thử PHLC, DH và D-H@PHLC không gây độc tính bất thường trên chuột nhắt trắng khi sử dụng đường uống ở liều 1 g/kg. Không ghi nhận tử vong, biểu hiện lâm sàng bất thường hoặc ảnh hưởng đến sự phát triển trọng lượng của chuột trong thời gian theo dõi.

3.4.3. Đánh giá độ ổn định

Nghiên cứu đã tiến hành đánh giá độ ổn định hóa lý của hệ nano D-H@PHLC dạng bột sấy thăng hoa trong hai điều kiện: không sử dụng và có sử dụng đường trehalose làm tá dược bảo vệ. Dữ liệu thực nghiệm cho thấy, mẫu không chứa chất bảo vệ gặp khó khăn lớn trong việc tái phân tán, gây cản trở trực tiếp đến quá trình đo lường kích thước hạt qua thiết bị DLS. Nhằm khắc phục hạn chế này, trehalose đã được bổ sung vào công thức với kỳ vọng duy trì cấu trúc hạt. Tuy nhiên, kết quả theo dõi độ ổn định theo thời gian lại bộc lộ nhược điểm đáng kể của loại đường này. Dưới các điều kiện lưu trữ khác nhau, tính hút ẩm cao của trehalose đã dẫn đến sự phá vỡ cấu trúc bảo vệ, gây rò rỉ dược chất và làm suy giảm nhanh chóng các đặc tính hóa lý của hạt nano. Đến tháng lưu mẫu thứ hai, hiện tượng keo tụ diễn ra mạnh mẽ khiến kích thước hạt vượt quá giới hạn đo lường của thiết bị DLS, dẫn đến không thể ghi nhận kết quả. Từ những rào cản vật lý này, nghiên cứu quyết định chuyển hướng thay thế trehalose bằng hệ chất mang gồm colloidal silicon dioxide (SiO₂) và tinh bột để khắc phục nhược điểm hút ẩm và tối ưu khả năng tái phân tán.

Bảng 3.9. Hiệu suất bao gói và đặc tính phân bố kích thước hạt D-H@PHLC (đường trehalose) tại 2 nhiệt độ: 4°C và t^o_{phòng}

Điều kiện: 4°C	0 tháng		1 tháng		2 tháng	
	D	H	D	H	D	H
EE%	70.00±37.50	74.15±7.01	69.92	60.51	31.19	24.22
DL%	55.07±6.24	6.70±1.11	36.75	3.96	16.39	1.59
Z-average (nm)	550.7		2135.6		-	
PDI	0.273		0.713		-	
Zeta (mV)	39.9		64.1		-	
Điều kiện: t ^o _{phòng}	0 tháng		1 tháng		2 tháng	
	D	H	D	H	D	H
EE%	70.00±37.50	74.15±7.01	51.73	44.06	36.53	33.26

DL%	55.07±6.24	6.70±1.11	27.18	2.89	19.19	2.18
Z-average (nm)	550.7		5783.6		-	
PDI	0.273		2.244		-	
Zeta (mV)	39.9		6.1		-	

Bảng 3.10. Hiệu suất bao gói và đặc tính phân bố kích thước hạt tại điều kiện 25°C/60% độ ẩm tương đối và 40°C/75% độ ẩm tương đối

Điều kiện: 25°C/60%	0 tháng		1 tháng		2 tháng	
	D	H	D	H	D	H
EE%	70.00±37.50	74.15±7.01	31.19	24.22	-	-
DL%	55.07±6.24	6.70±1.11	16.39	1.59	-	-
Z-average (nm)	550.7		1139.3		-	
PDI	0.273		0.702		-	
Zeta (mV)	39.9		0.3		-	
Điều kiện: 40°C/75% RH	0 tháng		2 tuần		-	
	D	H	D	H	D	H
EE%	70.00±37.50	74.15±7.01	36.53	33.26	-	-
DL%	55.07±6.24	6.70±1.11	19.19	2.18	-	-
Z-average (nm)	550.7		6056.1		-	
PDI	0.273		0.661		-	
Zeta (mV)	39.9		38.1		-	

Từ các kết quả khảo sát độ ổn định, có thể nhận thấy hệ phân tán nano D-H@PHLC sử dụng tá dược bảo vệ bằng đường trehalose thể hiện sự nhạy cảm đáng kể với điều kiện nhiệt độ và độ ẩm môi trường. Về mặt cơ chế, sự hiện diện của lớp đệm lipid lecithin trong cấu trúc vỏ đã tác động đến mạng lưới polymer, làm giảm nhiệt độ chuyển hóa thủy tinh (T_g) của PLGA. Trong điều kiện khí hậu nhiệt đới nóng ẩm đặc trưng tại Việt Nam, đặc tính háo nước mạnh của đường khiến mẫu dễ dàng hấp thụ hơi ẩm từ không khí. Các phân tử nước xâm nhập sẽ đóng vai trò như một chất hóa dẻo làm sụt giảm giá trị T_g của toàn bộ cấu trúc hạt.

Khi nhiệt độ bảo quản vượt qua ngưỡng T_g đã bị suy giảm này, màng polymer sẽ chuyển từ trạng thái thủy tinh cứng nhắc sang trạng thái mềm dẻo. Sự gia tăng tính linh động phân tử này dẫn đến hiện tượng sụp đổ cấu trúc, khiến các hạt nano mất đi tính toàn vẹn, dễ dàng kết tụ và gây rò rỉ dược chất. Do đó, để tối ưu hóa khả năng bảo quản dài hạn, việc thay thế đường bằng một vật liệu bên ngoài vô cơ, trơ về mặt nhiệt học và có khả năng kháng ẩm như nano silica (SiO_2) sẽ phù hợp hơn.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã thực hiện thành công việc bào chế và đánh giá hệ dẫn truyền nano lai polymer-lipid đồng bao gói hai dược chất kỵ nước diosmin và hesperidin. Từ các kết quả thực nghiệm và phân tích hóa lý, đề tài rút ra các kết luận trọng tâm sau:

- Về tối ưu hóa hệ dẫn truyền: Nghiên cứu đã xây dựng thành công hệ nano lai phức hợp D-H@PHLC. Sự kết hợp mang tính hiệp đồng của phức lồng HPCD (tăng ái lực lõi) và lớp màng rào cản lecithin đã giải quyết triệt để bài toán rò rỉ dược chất, giúp đẩy hiệu suất bao gói (EE%) của cả diosmin và hesperidin lên mức tối ưu (tương ứng đạt 70.00% và 74.15%). Việc áo lớp vỏ chitosan thành công đảo chiều điện tích bề mặt sang dương mạnh (55 ± 10.61 mV), đảm bảo hệ phân tán có độ ổn định nhiệt động học.
- Về bản chất hóa lý của dược chất: Thông qua khảo sát động học phân bố khối lượng và đối chiếu với mô phỏng điện thế tĩnh điện phân tử (MESF), nghiên cứu đã chứng minh hesperidin sở hữu tính thân nước cao hơn diosmin. Sự khác biệt về mật độ phân cực này là yếu tố chính chi phối khả năng bao gói ở vùng nồng độ thấp.
- Về đặc tính cấu trúc và trạng thái rắn: Các phân tích chuyên sâu (XRD, DSC, FT-IR) cung cấp bằng chứng vật lý và hóa học về cấu trúc của dược chất. Diosmin và hesperidin không bị giam giữ cơ học đơn thuần, mà đã được phân tán ở cấp độ phân tử vào sâu bên trong mạng lưới polymer thông qua hệ thống liên kết hydro nội/ngoại phân tử. Đặc biệt, dưới vai trò bảo vệ của trehalose, cấu trúc tinh thể công kênh gốc của thuốc đã bị phá vỡ hoàn toàn, chuyển sang trạng thái vô định hình ổn định, giúp khắc phục nhược điểm sinh khả dụng kém của dạng nguyên liệu tự do.
- Về khả năng giải phóng *in vitro*: Hệ nano D-H@PHLC đã cải thiện giải phóng của hỗn hợp diosmin/hesperidin (9:1) so với dạng thô và thuốc thương mại daflon. Cấu trúc vi hạt giúp hesperidin phân cực giải phóng nhanh và ổn định (~50% sau 96 giờ). Đặc biệt, màng polymer đã ức chế hoàn toàn hiện tượng kết tinh của thành phần kỵ nước diosmin, thiết lập cơ chế giải phóng kéo dài

liên tục. Tỷ lệ hòa tan của diosmin đạt ~3.57%, cao gấp 5 lần Daflon (~0.78%) và vượt trội so với mẫu trộn vật lý (~0.2%), qua đó khẳng định ưu điểm của công nghệ nano trong việc phá vỡ rào cản sinh khả dụng của nhóm thuốc kém tan.

KIẾN NGHỊ

Mặc dù đề tài đã đạt được các mục tiêu đề ra về mặt hóa lý và bào chế cơ bản, để hoàn thiện và đưa sản phẩm tiến gần hơn đến khả năng ứng dụng thực tiễn, các nghiên cứu tiếp theo cần tập trung vào các định hướng sau:

1. Cải tiến và tối ưu hóa công thức bào chế: Mặc dù hệ dẫn truyền nano D-H@PHLC bước đầu đã cho thấy những kết quả khả quan về mặt hóa lý, cấu trúc của hệ thống vẫn cần được hoàn thiện hơn nữa. Do đó, định hướng nghiên cứu trước mắt cần tập trung vào việc tinh chỉnh tỷ lệ phối hợp của các thành phần tạo màng lai (PLGA, lecithin, chitosan, HPCD) và khảo sát sâu hơn ảnh hưởng của các thông số quy trình (thời gian siêu âm, tốc độ đồng hóa, nồng độ chất diện hoạt). Việc cải thiện công thức ở quy mô phòng thí nghiệm là tiền đề bắt buộc nhằm nâng cao tối đa hiệu suất bao gói và độ ổn định nhiệt động học, trước khi tiến hành các đánh giá nâng cấp quy mô (scale-up) trong tương lai.
2. Ứng dụng Hóa tin học và Mô phỏng phân tử (*in silico* studies): Triển khai các phương pháp tính toán mô phỏng (như Molecular Docking và Molecular Dynamics - MD) thông qua các công cụ Hóa tin học (Cheminformatics) mã nguồn mở bằng Python để nghiên cứu cơ chế tương tác ở cấp độ nguyên tử. Việc xây dựng mô hình không gian 3D nhằm đánh giá năng lượng liên kết của phức lồng HPCD-Dược chất, cũng như quỹ đạo di chuyển của mạng lưới liên kết hydro giữa lõi PLGA và vỏ chitosan sẽ cung cấp minh chứng lý thuyết định lượng vững chắc. Các dữ liệu mô phỏng máy tính này khi được đối chiếu chéo với kết quả thực nghiệm hóa lý (FT-IR, DSC) sẽ giúp giải mã bản chất nhiệt động học của hệ thống, tối ưu hóa quá trình thiết kế hệ dẫn truyền thuốc bằng máy tính (CADD) trước khi tiến hành thực nghiệm lô mẻ mới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Freag M.S., Elnaggar Y.S.R., và Abdallah O.Y. (2013). Lyophilized phytosomal nanocarriers as platforms for enhanced diosmin delivery: optimization and ex vivo permeation. *Int J Nanomedicine*, **8**, 2385–2397.
2. Zingale E., Rizzo S., Bonaccorso A. và cộng sự. (2022). Optimization of lipid nanoparticles by response surface methodology to improve the ocular delivery of diosmin: characterization and in-vitro anti-inflammatory assessment. *Pharmaceutics*, **14**(9), 1961.
3. Makadia H.K. và Siegel S.J. (2011). Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. *Polymers (Basel)*, **3**(3), 1377–1397.
4. DePopas E. và Brown M. (2018). Varicose Veins and Lower Extremity Venous Insufficiency. *Semin Intervent Radiol*, **35**(1), 56–61.
5. He Q.F., Cai J.Y., Cheng M. và cộng sự. (2025). Global prevalence and risk factors of varicose veins among health care workers: a systematic review and meta-analysis. *BMC Nurs*, **24**, 550.
6. Aslam M.R., Muhammad Asif H., Ahmad K. và cộng sự. (2022). Global impact and contributing factors in varicose vein disease development. *SAGE Open Med*, **10**, 20503121221118992.
7. Centre (UK) N.C.G. (2013). Introduction. *Varicose Veins in the Legs: The Diagnosis and Management of Varicose Veins*. National Institute for Health and Care Excellence (NICE).
8. Antani M.R. và Dattilo J.B. (2025). *Varicose Veins*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
9. News V. Báo VietnamNet. VietNamNet News, <<https://vietnamnet.vn/en/as-vietnams-population-ages-cvi-cases-increase-E152520.html>>, accessed: 01/10/2025.
10. (2025). (PDF) Prevalence and associated factors of chronic venous insufficiency among seafood processing workers in Hai Phong, Vietnam. *ResearchGate*.
11. Benn S., Moore Z., Patton D. và cộng sự. (2023). What is the prevalence of chronic venous disease among health care workers? A scoping review. *Int Wound J*, **20**(9), 3821–3839.
12. Qari T.A., Almatrafi K.N., Khateb F.R. và cộng sự. Prevalence of Varicose Veins Among Surgeons: A Cross-Sectional Study. *Cureus*, **16**(8), e67687.
13. Bessarabov V., Lisovyi V., Lyzhniuk V. và cộng sự. (2025). Development and characterisation of polymeric solid dispersed systems of hesperidin, obtained by centrifugal fibre formation. *Heliyon*, **11**(4).
14. Lv Y., Li W., Liao W. và cộng sự. (2024). Nano-drug delivery systems based on natural products. *International Journal of Nanomedicine*, 541–569.
15. Huwait E. và Mobashir M. (2022). Potential and therapeutic roles of diosmin in human diseases. *Biomedicines*, **10**(5), 1076.
16. Ulloa J.H. (2019). Micronized purified flavonoid fraction (MPFF) for patients suffering from chronic venous disease: a review of new evidence. *Advances in Therapy*, **36**(Suppl 1), 20–25.

17. Russo R., Chandradhara D., và De Tommasi N. (2018). Comparative bioavailability of two diosmin formulations after oral administration to healthy volunteers. *Molecules*, **23**(9), 2174.
18. Thakkar A. và Bhattacharya S. (2025). Advancing Structure-Property Insights of Poly (Lactic-co-Glycolic Acids): A Mini Review on the Biodegradable Polymers Applications in Drug Delivery. *Journal of Macromolecular Science, Part B*, 1–15.
19. Abd El Hady W.E., Mohamed E.A., Soliman O.A.E.-A. và cộng sự. (2019). In vitro–in vivo evaluation of chitosan-PLGA nanoparticles for potentiated gastric retention and anti-ulcer activity of diosmin. *Int J Nanomedicine*, **14**, 7191–7213.
20. Luo N., Ma L., Ma N. và cộng sự. (2024). Hesperidin PLGA nanoparticles potentiate the efficacy of aPD-1 in treating triple negative breast cancer by regulating CCL2 and ADPN expression in cancer-associated adipocytes. *International Immunopharmacology*, **140**, 112759.
21. Mostafa M.M., Amin M.M., Zakaria M.Y. và cộng sự. (2023). Chitosan surface-modified PLGA nanoparticles loaded with cranberry powder extract as a potential oral delivery platform for targeting colon cancer cells. *Pharmaceutics*, **15**(2), 606.
22. Lyseng-Williamson K.A. và Perry C.M. (2003). Micronised purified flavonoid fraction: a review of its use in chronic venous insufficiency, venous ulcers and haemorrhoids. *Drugs*, **63**(1), 71–100.
23. National Center for Biotechnology Information Diosmin (PubChem CID 5281613). PubChem Database, <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281613>>, accessed: 03/02/2026.
24. Mehmood H., Saleem A., Akhtar M.F. và cộng sự. (2025). Amelioration of Freund’s adjuvant-induced polyarthritis by Diosmin-loaded nanoparticles in Wistar rats; a mechanistic study. *Inflammopharmacology*, 1–19.
25. National Center for Biotechnology Information Hesperidine (PubChem CID 53477767). PubChem Database, <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/53477767>>, accessed: 03/02/2026.
26. Ali S.H., Sulaiman G.M., Al-Halbosiy M.M. và cộng sự. (2019). Fabrication of hesperidin nanoparticles loaded by poly lactic co-Glycolic acid for improved therapeutic efficiency and cytotoxicity. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, **47**(1), 378–394.
27. Jin H., Zhao Z., Lan Q. và cộng sự. (2021). Nasal delivery of hesperidin/chitosan nanoparticles suppresses cytokine storm syndrome in a mouse model of acute lung injury. *Frontiers in pharmacology*, **11**, 592238.
28. Danhier F., Ansorena E., Silva J.M. và cộng sự. (2012). PLGA-based nanoparticles: an overview of biomedical applications. *J Control Release*, **161**(2), 505–522.
29. Marathe M.N.N., Wankhede M.T.M., Nagmoti M.D.S. và cộng sự. (2025). Lipid–Polymer Hybrid Nanocarriers for Enhanced Solubility and Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs. *JOURNAL OF ADVANCE AND FUTURE RESEARCH*, **3**(11), 66-72-66–72.

30. Yin J., Hou Y., Song X. và cộng sự. (2019). Cholate-modified polymer-lipid hybrid nanoparticles for oral delivery of quercetin to potentiate the antileukemic effect. *International journal of nanomedicine*, 4045–4057.
31. Zheng K., Huang Z., Huang J. và cộng sự. (2021). Effect of a 2-HP- β -cyclodextrin formulation on the biological transport and delivery of chemotherapeutic PLGA nanoparticles. *Drug Design, Development and Therapy*, 2605–2618.
32. Varan C. và Bilensoy E. (2014). Development of implantable hydroxypropyl- β -cyclodextrin coated polycaprolactone nanoparticles for the controlled delivery of docetaxel to solid tumors. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, **80(1)**, 9–15.
33. Anwer M.K., Ali E.A., Iqbal M. và cộng sự. (2022). Development of chitosan-coated PLGA-based nanoparticles for improved oral olaparib delivery: in vitro characterization, and in vivo pharmacokinetic studies. *Processes*, **10(7)**, 1329.
34. Lima I.A. de, Khalil N.M., Tominaga T.T. và cộng sự. (2018). Mucoadhesive chitosan-coated PLGA nanoparticles for oral delivery of ferulic acid. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, **46(sup2)**, 993–1002.
35. Bush R., Comerota A., Meissner M. và cộng sự. (2017). Recommendations for the medical management of chronic venous disease: The role of Micronized Purified Flavanoid Fraction (MPFF). *Phlebology*, **32(1_suppl)**, 3–19.
36. Murray J.S. và Politzer P. (2011). The electrostatic potential: an overview. *WIREs Computational Molecular Science*, **1(2)**, 153–163.
37. (2002), *Getting started with Spartan*, Wavefunction, Irvine, CA.
38. Atalay V.E. và Asar S. (2024). Determination of the inhibition effect of hesperetin and its derivatives on *Candida glabrata* by molecular docking method. *The European Chemistry and Biotechnology Journal*, **(1)**, 27–38.
39. Wang Y., Li C., Li Z. và cộng sự. (2024). Computational Chemistry Strategies to Investigate the Antioxidant Activity of Flavonoids—An Overview. *Molecules*, **29(11)**, 2627.
40. Huỳnh T.K.C., Lý T.U., và Hoàng T.K.D. (2012). Nghiên cứu bán tổng hợp diosmin và diosmetin từ hesperidin. *Tạp chí Khoa học*, **50(4A)**.
41. Trần Thị Trà Mi (2024), *Nghiên cứu tổng hợp các hệ nano PLGA, PLGA-HPCD VÀ PLGA-Lecithin mang diosmin*, Khóa luận tốt nghiệp Đại học, Tôn Đức Thắng, TP. Hồ Chí Minh.
42. Zhang L., Chan J.M., Gu F.X. và cộng sự. (2008). Self-Assembled Lipid-Polymer Hybrid Nanoparticles: A Robust Drug Delivery Platform. *ACS Nano*, **2(8)**, 1696–1702.
43. Szymański M., Młynarek D., Szymański A. và cộng sự. (2016). Simultaneous determination of diosmin and hesperidin in pharmaceuticals by RPLC using ionic liquids as mobile phase modifiers. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, **15(1)**, 141.
44. Hà V.L. và Hạnh N.Đ. (2023). Xây Dựng Quy Trình Định Lượng Đồng Thời Diosmin VÀ Quercetin Trong Microemulgel DQE Bằng Phương Pháp HPLC-UV. *VMJ*, **524(2)**.
45. Chadha R. và Bhandari S. (2014). Drug–excipient compatibility screening—role of thermoanalytical and spectroscopic techniques. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, **87**, 82–97.

46. Vasconcelos T., Sarmiento B., và Costa P. (2007). Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. *Drug discovery today*, **12(23–24)**, 1068–1075.
47. Skoog D.A., Holler F.J., và Crouch S.R. (1998), *Principles of instrumental analysis*, Saunders college publishing Philadelphia.
48. Crucho C.I. và Barros M.T. (2017). Polymeric nanoparticles: A study on the preparation variables and characterization methods. *Materials Science and Engineering: C*, **80**, 771–784.
49. Bhattacharjee S. (2016). DLS and zeta potential—what they are and what they are not?. *Journal of controlled release*, **235**, 337–351.
50. Clogston J.D. và Patri A.K. (2010). Zeta potential measurement. *Characterization of nanoparticles intended for drug delivery*. Springer, 63–70.
51. Bộ Y Tế L.H.D. (2018), *THỬ ĐỘC TÍNH BẤT THƯỜNG (Phụ lục 13.5) - Dược Điển Việt Nam 5*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
52. Freag M.S., Elnaggar Y.S., và Abdallah O.Y. (2013). Development of novel polymer-stabilized diosmin nanosuspensions: In vitro appraisal and ex vivo permeation. *International journal of pharmaceutics*, **454(1)**, 462–471.
53. M. Ways T.M., Lau W.M., và Khutoryanskiy V.V. (2018). Chitosan and its derivatives for application in mucoadhesive drug delivery systems. *Polymers*, **10(3)**, 267.
54. Jansook P., Ogawa N., và Loftsson T. (2018). Cyclodextrins: structure, physicochemical properties and pharmaceutical applications. *International journal of pharmaceutics*, **535(1–2)**, 272–284.
55. Liu G. và McEnnis K. (2022). Glass Transition Temperature of PLGA Particles and the Influence on Drug Delivery Applications. *Polymers*, **14(5)**, 993.
56. Loftsson T. và Brewster M.E. (2010). Pharmaceutical applications of cyclodextrins: basic science and product development. *Journal of pharmacy and pharmacology*, **62(11)**, 1607–1621.
57. Daoud-Mahammed S., Ringard-Lefebvre C., Razzouq N. và cộng sự. (2007). Spontaneous association of hydrophobized dextran and poly-beta-cyclodextrin into nanoassemblies. Formation and interaction with a hydrophobic drug. *J Colloid Interface Sci*, **307(1)**, 83–93.
58. Tommasini S., Raneri D., Ficarra R. và cộng sự. (2004). Improvement in solubility and dissolution rate of flavonoids by complexation with β -cyclodextrin. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, **35(2)**, 379–387.
59. Zhang L., Chan J.M., Gu F.X. và cộng sự. (2008). Self-assembled lipid– polymer hybrid nanoparticles: a robust drug delivery platform. *ACS nano*, **2(8)**, 1696–1702.
60. Wdowiak K., Rosiak N., Tykarska E. và cộng sự. (2022). Amorphous inclusion complexes: molecular interactions of hesperidin and hesperetin with HP-B-CD and their biological effects. *International journal of molecular sciences*, **23(7)**, 4000.
61. Liu G. và McEnnis K. (2022). Glass Transition Temperature of PLGA Particles and the Influence on Drug Delivery Applications. *Polymers (Basel)*, **14(5)**, 993.

PHỤ LỤC

P-H	80:20	90:10	95:5	100:0
EE%	42.21±0.317	60.220 ±0.779	68.88 ±2.590	51.46 ±1.601
LD%	11.873 ±0.089	11.782 ±0.152	18.243 ±1.115	10.70 ±0.333
Kích thước (nm)	278 ±1	225 ±8.20	223.35 ±5.72	228.4 ±15.83
PDI	0.829	0.603	0.388	0.309

Phụ lục 1. Kết quả khảo sát tỉ lệ PLGA:HPCD đối với khả năng mang - tải DSN và kích thước hạt nano tạo ra.

P-H (95:5)	Khảo sát khối lượng HPD						
Khối lượng	6	8	10	12	15	25	35
EE%	0.83	1.00	0.93	6.07	29.41	28.90	57.11
Khối lượng	45	55	65	75	85	95	110
EE%	52.53	53.76	69.57	62.53	69.00	69.11	76.76

Phụ lục 2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của khối lượng hesperidin đến hiệu suất bao gói EE%.

Khối lượng lecithin (mg)	EE%	
	D	H
0	47.79	50.98
10	78.85	74.96
20	62.81	71.57
30	57.58	59.26

Phụ lục 3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của khối lượng lecithin đến hiệu suất bao gói EE%.

STT	EE%		DL%	
	D	H	D	H
1	85.03	82.53	57.68	7.31
2	68.96	69.54	47.80	7.62
3	68.51	57.77	62.13	6.50
4	77.43	72.46	52.91	7.05
5	78.80	70.52	64.89	8.50
6	66.24	77.00	47.49	5.33
7	73.97	60.61	54.81	5.45
8	74.29	69.30	52.80	5.84

Phụ lục 4. Kết quả định lượng diosmin và hesperidin của hệ nano D-H@PHLC.

Time	H-nano	SD	H-daflon	SD	H-9:1	SD
1	37.1277	7.39886	33.8337	6.66212	26.0383	11.5105
2	30.5818	11.8783	23.7247	0.25807	32.4104	7.37559
3	32.7389	8.64229	27.7583	0.73393	33.2011	9.59448
4	34.62	8.80651	29.5491	0.90594	32.5849	8.89082
6	33.9876	10.8563	27.7206	0.2573	32.2879	6.99777
8	35.5038	10.9369	29.2568	2.25289	32.5514	5.14877
10	34.8624	12.8341	27.7701	5.25576	32.6438	7.72184
12	38.7682	8.79745	33.7893	2.46066	37.7583	17.1782
24	37.8172	2.91688	37.7464	4.12145	36.8383	6.113

48	40.1835	5.87048	37.165	3.77582	45.0283	10.3696
72	39.3474	3.79781	37.3091	1.97996	46.7316	3.54182
96	39.3416	6.83195	35.5666	2.80132	55.1547	15.3011

Phụ lục 5. Số liệu giải phóng tích lũy *in vitro* của hesperidin từ hệ nano so với mẫu đối chứng Daflon và hỗn hợp trộn vật lý với pH 1.2.

Time	D-nano	SD	D-daflon	SD	D-9:1	SD
1	0.15291	0.61487	0.02608	0.54098	0.2	0
2	0.41124	0.48118	0.30618	0.49155	0.2	0
3	0.6738	0.24723	0.53343	0.28263	0.2	0
4	0.69864	0.54429	0.54707	0.56275	0.2	0
6	1.21305	0.60669	0.81809	0.72799	0.2	0
8	1.00952	1.07941	0.46053	0.69081	0.2	0
10	0.88714	1.68738	0.42689	1.52132	0.2	0
12	1.66705	0.99672	1.00561	1.36415	0.2	0
24	1.82617	0.72195	1.36287	1.03428	0.2	0
48	2.36594	0.74354	1.46573	0.83135	0.2	0
72	3.10339	1.23325	2.83871	1.61911	0.2	0
96	2.42341	1.67772	1.45769	0.18387	0.2	0

Phụ lục 6. Số liệu giải phóng tích lũy *in vitro* của diosmin từ hệ nano so với mẫu đối chứng Daflon và hỗn hợp trộn vật lý với pH 1.2.

Time	H-nano	SD	H-daflon	SD	H-9:1	SD
1	15.5694	15.1255	0	0	10.0719	14.2438
2	39.1775	4.41516	34.1573	7.73708	26.3468	12.9179
3	43.9288	3.485	35.9716	5.95331	27.2021	14.3283
4	43.8963	3.72505	35.8047	8.4439	28.7243	9.57248
6	41.126	4.95773	37.976	7.68082	31.506	12.9138
8	45.9552	2.0704	37.038	8.44664	32.9905	17.9639
10	43.5505	1.52935	40.3971	8.51729	30.6084	16.6611
12	45.3954	5.30862	39.458	10.4752	31.8655	12.4927
24	46.0491	1.30747	36.4497	2.96109	31.3261	12.663
48	46.4692	2.3499	36.6755	2.37006	34.4961	10.5689

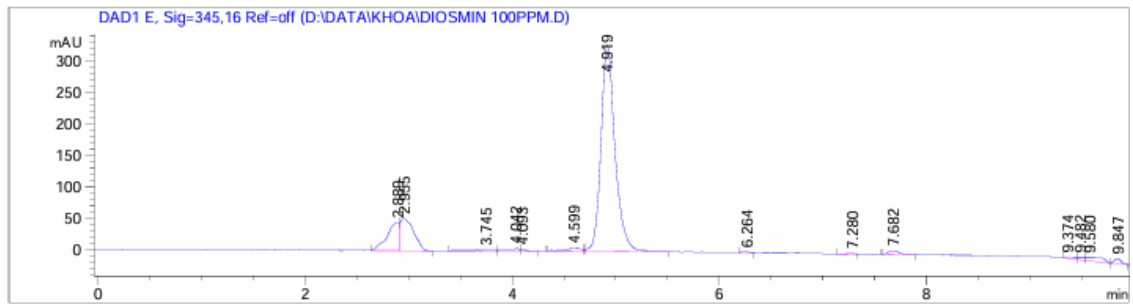
72	49.5236	7.24537	35.8664	1.03014	39.8868	13.2619
96	49.1192	4.85244	40.1457	7.38581	42.1574	13.49

Phụ lục 7. Số liệu giải phóng tích lũy *in vitro* của hesperidin từ hệ nano so với mẫu đối chứng Daflon và hỗn hợp trộn vật lý với pH 7.4.

Time	D-nano	SD	D-daflon	SD	D-9:1	SD
1	0.6163	0.54728	0.30144	0.34848	0.2	0
2	1.00327	0.44624	0.40154	0.4491	0.2	0
3	1.13614	0.37298	0.6264	0.36514	0.2	0
4	0.85115	0.25222	0.65439	0.70399	0.2	0
6	1.00121	0.0866	1.00764	0.31459	0.2	0
8	1.28492	0.39715	0.47561	0.44273	0.2	0
10	1.04736	0.31158	0.75561	0.4974	0.2	0
12	1.23624	0.17957	0.71797	0.42107	0.2	0
24	1.52921	0.3445	0.59187	0.74769	0.2	0
48	1.81797	0.11748	0.63755	0.79282	0.2	0
72	2.24922	0.70709	0.27223	0.25817	0.2	0
96	3.57816	0.70552	0.78014	0.33863	0.2	0

Phụ lục 8. Số liệu giải phóng tích lũy *in vitro* của diosmin từ hệ nano so với mẫu đối chứng Daflon và hỗn hợp trộn vật lý với pH 7.4.

Data File D:\DATA\KHOA\DIOSMIN 100PPM.D
 Sample Name: diosmin 100ppm



 Area Percent Report

Sorted By : Signal
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

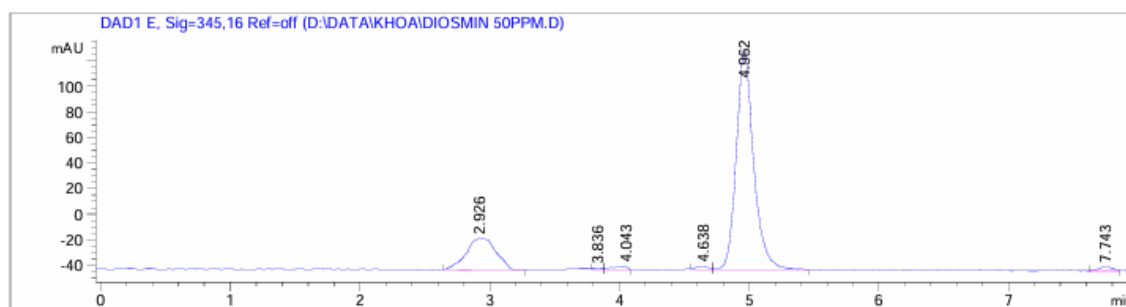
Signal 1: DAD1 A, Sig=240,16 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	0.372	VV	0.0641	5.71019	1.14685	0.1312
2	0.887	VV	0.0784	8.11812	1.34457	0.1865
3	1.327	VV	0.0773	5.99772	1.00984	0.1378
4	1.545	BV	0.0658	5.21449	1.27187	0.1198
5	2.100	BB	0.1204	12.56189	1.45966	0.2886
6	2.306	BV	0.0859	7.48708	1.06613	0.1720
7	2.437	VB	0.0474	5.03149	1.41747	0.1156
8	2.520	BV	0.0664	15.94032	3.68829	0.3662
9	2.586	VV	0.0501	24.98821	6.61723	0.5741
10	2.958	VB	0.2665	1398.87402	64.63731	32.1405
11	3.768	BV	0.1819	482.59464	31.65123	11.0881
12	4.011	VV	0.1237	555.48364	67.74150	12.7628
13	4.199	VV	0.0674	42.97413	9.05627	0.9874
14	4.278	VB	0.0831	39.74002	6.17731	0.9131
15	4.578	BV	0.1142	21.66778	2.29291	0.4978
16	4.918	VV	0.1469	946.28540	96.07706	21.7419
17	5.268	VV	0.0531	6.29358	1.78600	0.1446
18	5.415	BV	0.0535	5.36938	1.51018	0.1234
19	5.887	VB	0.0732	6.49943	1.12835	0.1493

Phụ lục 9. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng diosmin.

Data File D:\DATA\KHOA\DIOSMIN 50PPM.D

Sample Name: diosmin 50ppm



 Area Percent Report

Sorted By : Signal
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: DAD1 A, Sig=240,16 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	0.713	VB	0.0704	5.05158	1.00868	0.1403
2	2.411	BV	0.0710	20.09196	4.11031	0.5582
3	2.474	VV	0.0623	31.02651	7.19015	0.8619
4	2.577	VV	0.0911	92.65482	12.70693	2.5740
5	2.979	VB	0.2964	1557.17639	69.23250	43.2584
6	3.786	BV	0.1609	405.54041	31.77377	11.2659
7	3.856	VV	0.0586	104.70956	26.20208	2.9088
8	4.014	VV	0.1308	683.89319	79.17464	18.9986
9	4.248	VV	0.0599	41.86506	9.40561	1.1630
10	4.323	VV	0.0591	27.39409	6.25444	0.7610
11	4.407	VB	0.0678	12.77770	2.87816	0.3550
12	4.639	VV	0.0815	8.43996	1.27000	0.2345
13	4.962	VV	0.1392	603.56134	64.45632	16.7669
14	5.310	VV	0.0747	5.52988	1.09908	0.1536

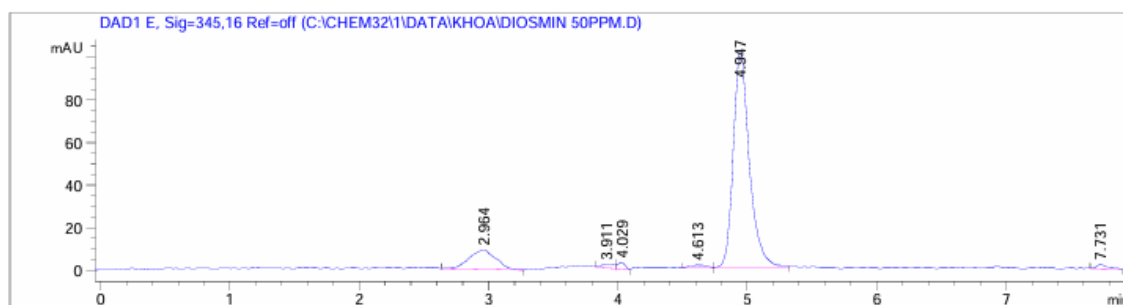
Totals : 3599.71245 316.76266

Signal 2: DAD1 B, Sig=254,16 Ref=off

Phụ lục 10. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng diosmin.

Data File C:\CHEM32\1\DATA\KHOA\DIOSMIN 50PPM.D

Sample Name: diosmin 50ppm



 Area Percent Report

Sorted By : Signal
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: DAD1 A, Sig=240,16 Ref=off

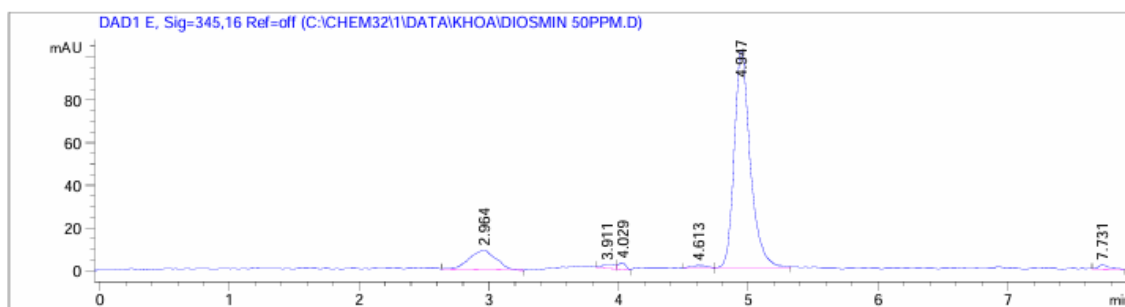
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	0.745	BV	0.3693	129.92682	4.17192	3.9056
2	0.810	VV	0.0548	15.94380	3.97323	0.4793
3	0.884	VV	0.0602	13.65416	3.30320	0.4104
4	1.003	VB	0.1078	13.82079	1.58384	0.4155
5	1.263	VV	0.0629	5.54616	1.27028	0.1667
6	2.983	BB	0.2451	1306.23816	69.56721	39.2654
7	3.706	BV	0.1456	274.10791	27.19857	8.2397
8	3.795	VV	0.0970	201.34641	28.30861	6.0525
9	4.002	VV	0.1418	825.23907	91.01305	24.8066
10	4.158	VV	0.0483	50.31553	14.56869	1.5125
11	4.311	VB	0.1673	93.72317	6.77743	2.8173
12	4.656	VB	0.0766	6.18037	1.11543	0.1858
13	4.947	VV	0.1271	358.33560	42.20311	10.7715
14	5.666	VV	0.0657	5.73926	1.12139	0.1725
15	6.031	VB	0.0618	5.17827	1.04487	0.1557
16	6.863	VV	0.0615	5.43061	1.27939	0.1632
17	6.933	VV	0.1084	15.96533	1.81934	0.4799

Totals : 3326.69141 300.31954

Phụ lục 11. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng diosmin.

Data File C:\CHEM32\1\DATA\KHOA\DIOSMIN 50PPM.D

Sample Name: diosmin 50ppm



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: DAD1 A, Sig=240,16 Ref=off

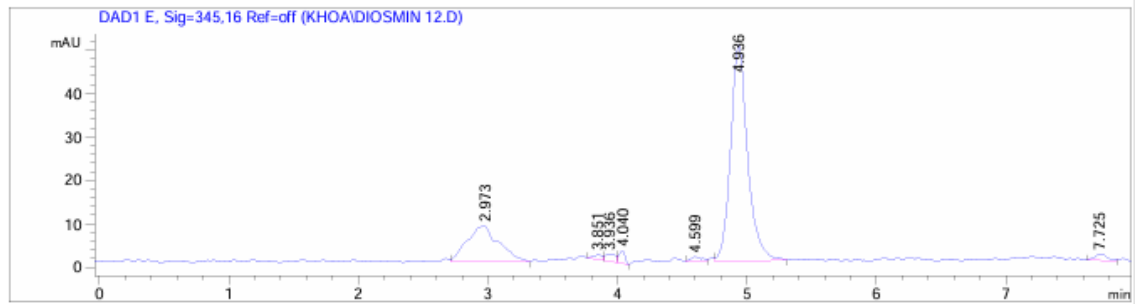
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	0.745	BV	0.3693	129.92682	4.17192	3.9056
2	0.810	VV	0.0548	15.94380	3.97323	0.4793
3	0.884	VV	0.0602	13.65416	3.30320	0.4104
4	1.003	VB	0.1078	13.82079	1.58384	0.4155
5	1.263	VV	0.0629	5.54616	1.27028	0.1667
6	2.983	BB	0.2451	1306.23816	69.56721	39.2654
7	3.706	BV	0.1456	274.10791	27.19857	8.2397
8	3.795	VV	0.0970	201.34641	28.30861	6.0525
9	4.002	VV	0.1418	825.23907	91.01305	24.8066
10	4.158	VV	0.0483	50.31553	14.56869	1.5125
11	4.311	VB	0.1673	93.72317	6.77743	2.8173
12	4.656	VB	0.0766	6.18037	1.11543	0.1858
13	4.947	VV	0.1271	358.33560	42.20311	10.7715
14	5.666	VV	0.0657	5.73926	1.12139	0.1725
15	6.031	VB	0.0618	5.17827	1.04487	0.1557
16	6.863	VV	0.0615	5.43061	1.27939	0.1632
17	6.933	VV	0.1084	15.96533	1.81934	0.4799

Totals : 3326.69141 300.31954

Phụ lục 12. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng diosmin.

Data File D:\DATA\KHOA\DIOSMIN 12.D

Sample Name: diosmin 12.5ppm



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

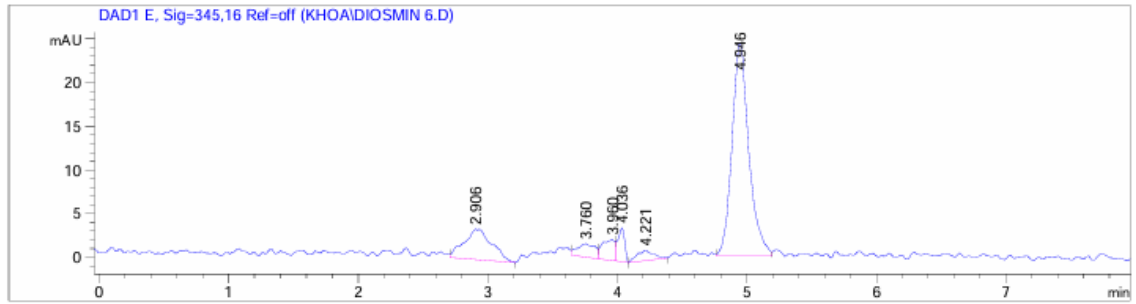
Signal 1: DAD1 A, Sig=240,16 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	0.486	BB	0.0814	7.35525	1.23630	0.2279
2	0.768	BV	0.0570	5.72067	1.48347	0.1772
3	0.905	VV	0.0648	5.39739	1.10810	0.1672
4	1.725	VV	0.0647	5.96738	1.37300	0.1849
5	1.851	VV	0.0545	5.51166	1.38214	0.1708
6	1.976	VB	0.0660	6.93299	1.34887	0.2148
7	2.552	BV	0.0492	9.69733	3.21838	0.3005
8	2.689	VV	0.0745	85.56750	15.96559	2.6512
9	2.986	VB	0.2526	1491.39648	74.16891	46.2083
10	3.779	BV	0.1670	484.75330	37.94776	15.0192
11	3.867	VV	0.0505	80.78356	24.50106	2.5029
12	4.008	VV	0.1228	742.97906	91.40165	23.0199
13	4.221	VV	0.0584	41.97079	9.71087	1.3004
14	4.336	VB	0.1094	27.14121	3.25221	0.8409
15	4.935	VB	0.1346	189.78262	21.16229	5.8801
16	6.318	BV	0.1102	11.98344	1.66078	0.3713
17	6.634	VV	0.0603	5.67769	1.37087	0.1759
18	6.833	BV	0.0906	10.64489	1.58078	0.3298
19	6.982	VV	0.0715	8.29023	1.52305	0.2569

Totals : 3227.55345 295.39610

Phụ lục 13. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng diosmin.

Data File D:\DATA\KHOA\DIOSMIN 6.D
 Sample Name: diosmin 6.25ppm



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

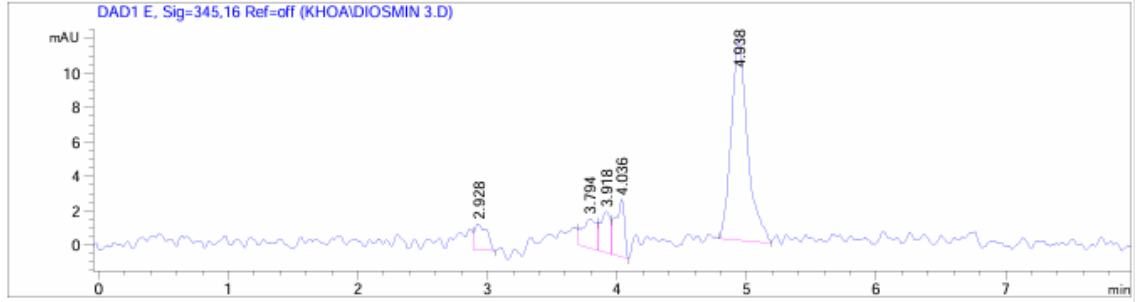
Signal 1: DAD1 A, Sig=240,16 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	0.756	VB	0.0702	6.84788	1.37286	0.2378
2	0.938	BB	0.0782	8.36255	1.62121	0.2904
3	1.113	BB	0.0904	11.08719	1.56979	0.3850
4	1.748	BV	0.0738	5.82849	1.06512	0.2024
5	2.410	VB	0.0697	9.69960	1.95956	0.3368
6	2.595	BV	0.0707	44.74191	8.89754	1.5535
7	2.654	VV	0.0465	41.53275	13.28141	1.4421
8	2.946	VB	0.2925	1542.80762	69.09133	53.5691
9	3.765	BV	0.1724	426.86737	35.46462	14.8216
10	3.857	VV	0.0570	92.79575	23.01690	3.2220
11	4.011	VV	0.1098	567.57367	82.98754	19.7072
12	4.146	VB	0.0541	20.23135	5.35594	0.7025
13	4.945	BV	0.1260	96.62615	10.84171	3.3550
14	5.195	VB	0.0627	5.03118	1.15660	0.1747

Totals : 2880.03346 257.68215

Phụ lục 14. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng diosmin.

Data File D:\DATA\KHOA\DIOSMIN 3.D
 Sample Name: diosmin 3.125ppm



=====
 Area Percent Report
 =====

Sorted By : Signal
 Multiplier: : 1.0000
 Dilution: : 1.0000
 Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: DAD1 A, Sig=240,16 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	0.670	VV	0.0778	7.91056	1.32192	0.2230
2	2.392	BV	0.0876	28.32547	4.49141	0.7984
3	2.488	VV	0.0705	46.64722	9.98552	1.3148
4	2.625	VV	0.0979	139.02991	17.64430	3.9187
5	2.960	VB	0.3020	1633.65503	71.66286	46.0458
6	3.773	BV	0.1603	525.32574	41.88869	14.8067
7	3.862	VV	0.0603	128.82521	31.09868	3.6310
8	4.013	VV	0.1165	709.17383	93.53362	19.9886
9	4.161	VV	0.0627	80.85633	17.88777	2.2790
10	4.245	VV	0.0829	89.64938	13.62698	2.5268
11	4.393	VV	0.0919	50.43757	7.36647	1.4216
12	4.480	VB	0.0685	13.34649	2.85670	0.3762
13	4.593	BV	0.0598	5.21854	1.22211	0.1471
14	4.929	BV	0.1249	52.48412	5.52247	1.4793
15	5.973	BV	0.0594	5.80216	1.26869	0.1635
16	6.090	VV	0.0668	5.89345	1.16954	0.1661
17	6.901	VV	0.0588	6.60452	1.51708	0.1862
18	6.988	VV	0.0575	5.79839	1.42542	0.1634
19	7.067	VB	0.0605	5.99672	1.44238	0.1690
20	7.652	BV	0.0688	6.91225	1.32604	0.1948

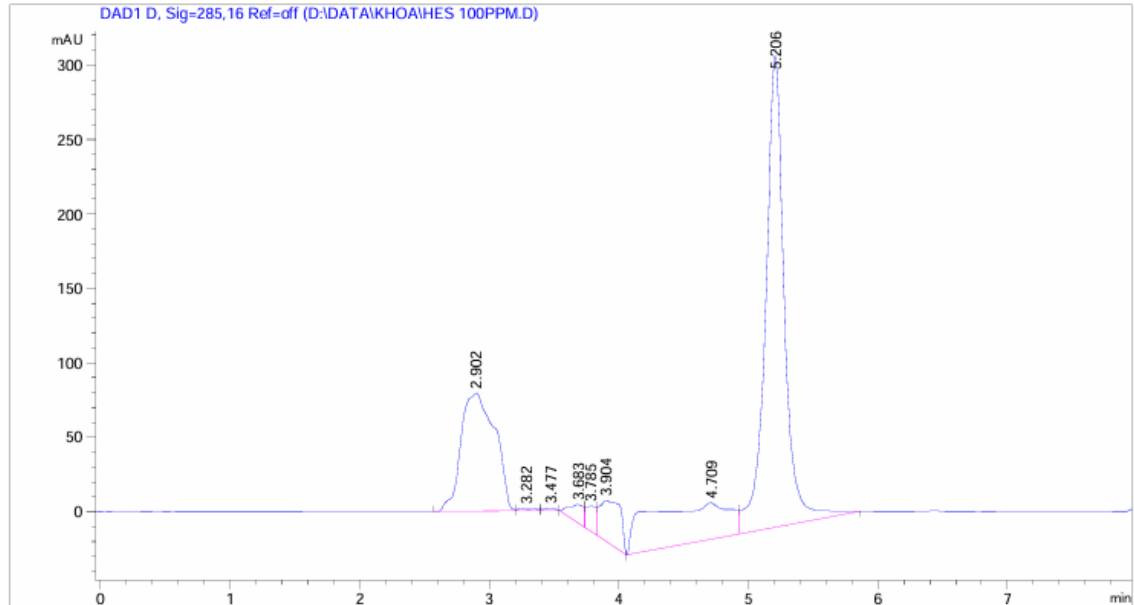
Totals : 3547.89288 328.25862

Phụ lục 15. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng diosmin.

Data File D:\DATA\KHOA\HES 100PPM.D
 Sample Name: HES 100PPM

```

=====
Acq. Operator   : KHOA
Acq. Instrument : HPLC 1200                Location : Vial 1
Injection Date  : 28/2/2025 2:15:01 PM
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\DATA\DSN_50PPM.D\HESPERIDIN_DIOSMIN.M
Last changed    : 28/2/2025 2:05:38 PM by KHOA
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\DSN_50PPM.D\HESPERIDIN_DIOSMIN.M
Last changed    : 16/9/2024 9:29:18 AM by THU
  
```



=====
 Area Percent Report
 =====

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: DAD1 D, Sig=285,16 Ref=off

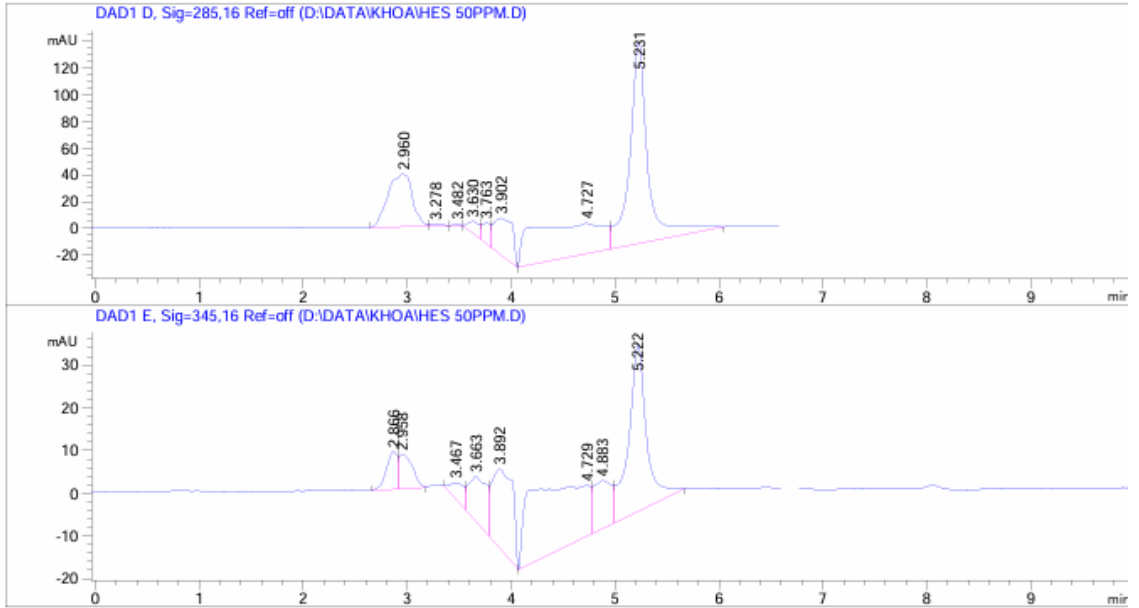
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
--------	---------------	------	-------------	--------------	--------------	--------

Phụ lục 16. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng hesperidin.

Data File D:\DATA\KHOA\HES 50PPM.D
 Sample Name: HES 50PPM

```

=====
Acq. Operator   : KHOA
Acq. Instrument : HPLC 1200                      Location : Vial 1
Injection Date  : 28/2/2025 2:57:41 PM
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\DATA\DSN_50PPM.D\BENZIMIDAZOLE.M
Last changed    : 28/2/2025 2:59:19 PM by KHOA
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\DSN_50PPM.D\HESPERIDIN_DIOSMIN.M
Last changed    : 28/2/2025 2:49:48 PM by KHOA
                  (modified after loading)
=====
  
```



=====
 Area Percent Report
 =====

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: DAD1 D, Sig=285,16 Ref=off

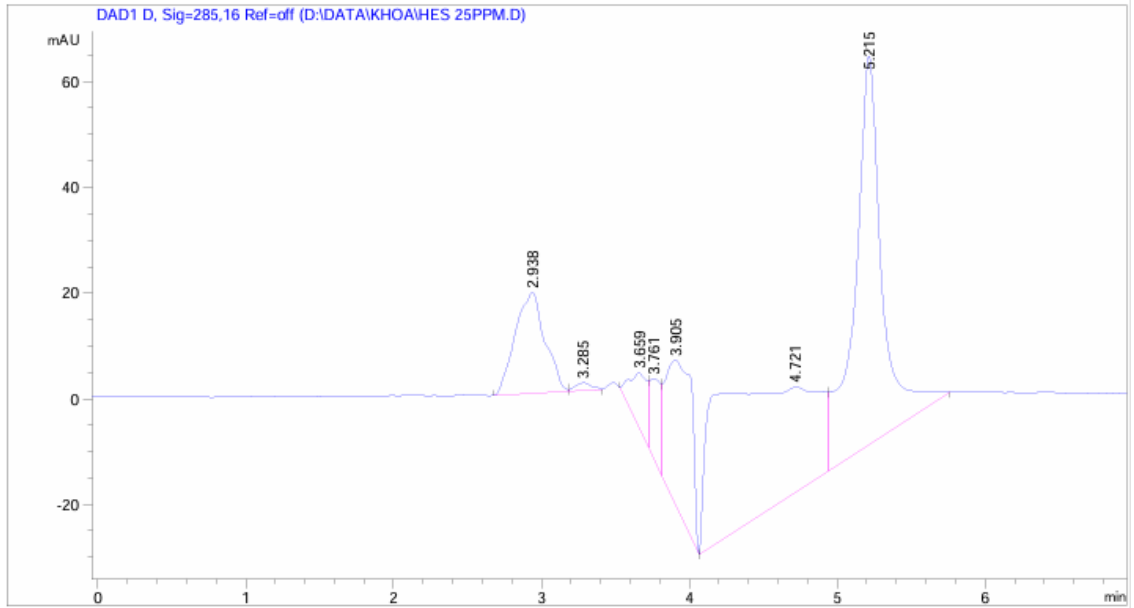
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	2.960	BV	0.2273	639.61133	39.42300	15.1772
2	3.278	VB	0.1104	10.36439	1.36780	0.2459
3	3.482	BB	0.0700	4.86797	1.18268	0.1155

Phụ lục 17. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng hesperidin.

Data File D:\DATA\KHOA\HES 25PPM.D
 Sample Name: HES 25PPM

```

=====
Acq. Operator   : KHOA
Acq. Instrument : HPLC 1200                Location : Vial 1
Injection Date  : 28/2/2025 3:09:31 PM
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\DATA\DSN_50PPM.D\HESPERIDIN_DIOSMIN.M
Last changed    : 28/2/2025 3:07:43 PM by KHOA
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\DSN_50PPM.D\HESPERIDIN_DIOSMIN.M
Last changed    : 28/2/2025 2:49:48 PM by KHOA
                  (modified after loading)
=====
  
```



=====
 Area Percent Report
 =====

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: DAD1 D, Sig=285,16 Ref=off

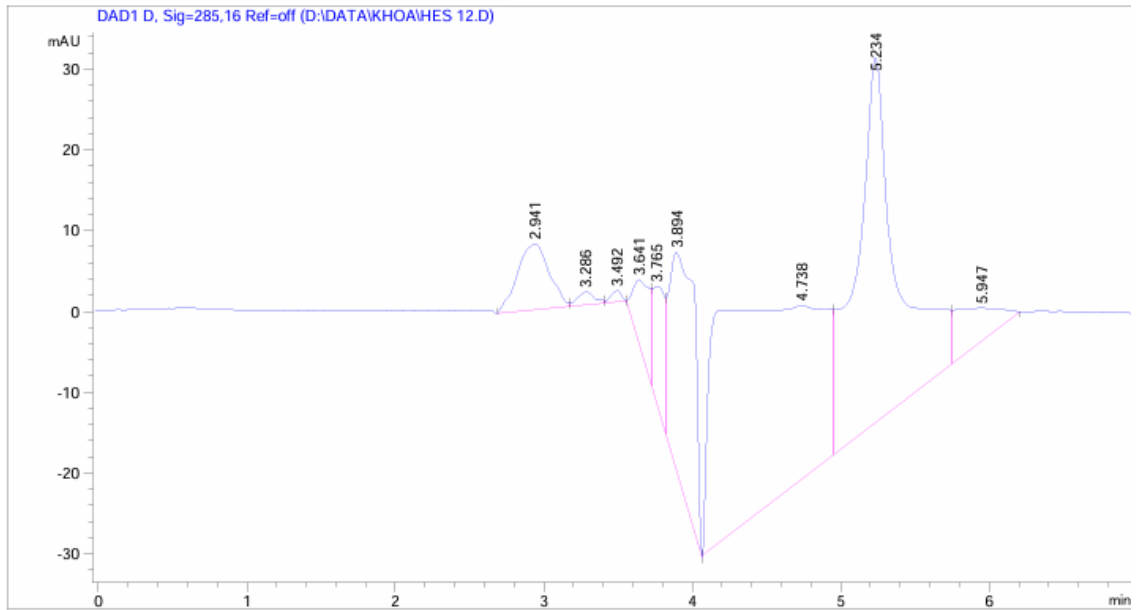
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	2.938					
2	3.285					
3	3.659					
4	3.761					
5	3.905					
6	4.721					
7	6.215					

Phụ lục 18. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng hesperidin.

Data File D:\DATA\KHOA\HES 12.D
 Sample Name: HES 12.5PPM

```

=====
Acq. Operator   : KHOA
Acq. Instrument : HPLC 1200                Location : Vial 1
Injection Date  : 28/2/2025 3:20:38 PM
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\DATA\DSN_50PPM.D\HESPERIDIN_DIOSMIN.M
Last changed    : 28/2/2025 3:19:33 PM by KHOA
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\DSN_50PPM.D\HESPERIDIN_DIOSMIN.M
Last changed    : 28/2/2025 2:49:48 PM by KHOA
                  (modified after loading)
=====
  
```



=====
 Area Percent Report
 =====

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: DAD1 D, Sig=285,16 Ref=off

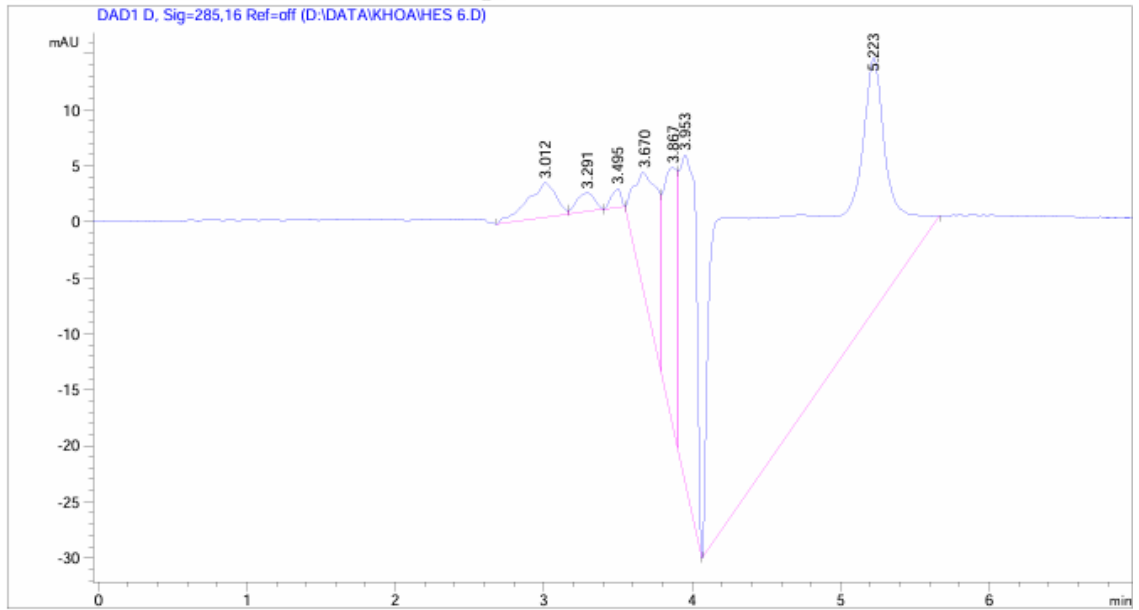
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
---	-----	----	-----	-----	-----	-----

Phụ lục 19. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng hesperidin.

Data File D:\DATA\KHOA\HES 6.D
 Sample Name: HES 6.25PPM

```

=====
Acq. Operator   : KHOA
Acq. Instrument : HPLC 1200                Location : Vial 1
Injection Date  : 28/2/2025 3:33:39 PM
Acq. Method     : C:\CHEM32\1\DATA\DSN_50PPM.D\HESPERIDIN_DIOSMIN.M
Last changed    : 28/2/2025 3:30:39 PM by KHOA
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\CHEM32\1\DATA\DSN_50PPM.D\HESPERIDIN_DIOSMIN.M
Last changed    : 28/2/2025 2:49:48 PM by KHOA
                  (modified after loading)
=====
  
```



=====
 Area Percent Report
 =====

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: DAD1 D, Sig=285,16 Ref=off

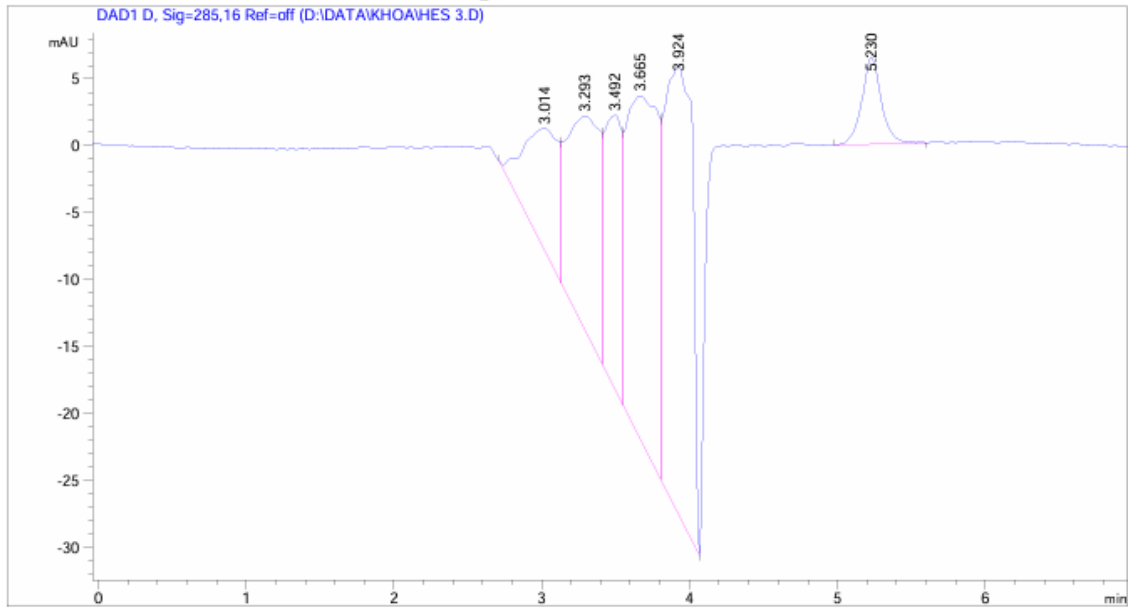
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	3.012	BV	0.1896	41.29335	3.05596	1.9662
2	3.291	VB	0.1376	13.81123	1.61754	0.6576
3	3.495	BB	0.0786	7.39526	1.64054	0.3521

Phụ lục 20. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng hesperidin.

Data File D:\DATA\KHOA\HES 3.D
 Sample Name: HES 3.125PPM

```

=====
Acq. Operator   : KHOA
Acq. Instrument : HPLC 1200                Location : Vial 1
Injection Date  : 28/2/2025 3:45:21 PM
Acq. Method    : C:\CHEM32\1\DATA\DSN_50PPM.D\HESPERIDIN_DIOSMIN.M
Last changed   : 28/2/2025 3:43:41 PM by KHOA
                (modified after loading)
Analysis Method: C:\CHEM32\1\DATA\DSN_50PPM.D\HESPERIDIN_DIOSMIN.M
Last changed   : 28/2/2025 2:49:48 PM by KHOA
                (modified after loading)
  
```



=====
 Area Percent Report
 =====

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: DAD1 D, Sig=285,16 Ref=off

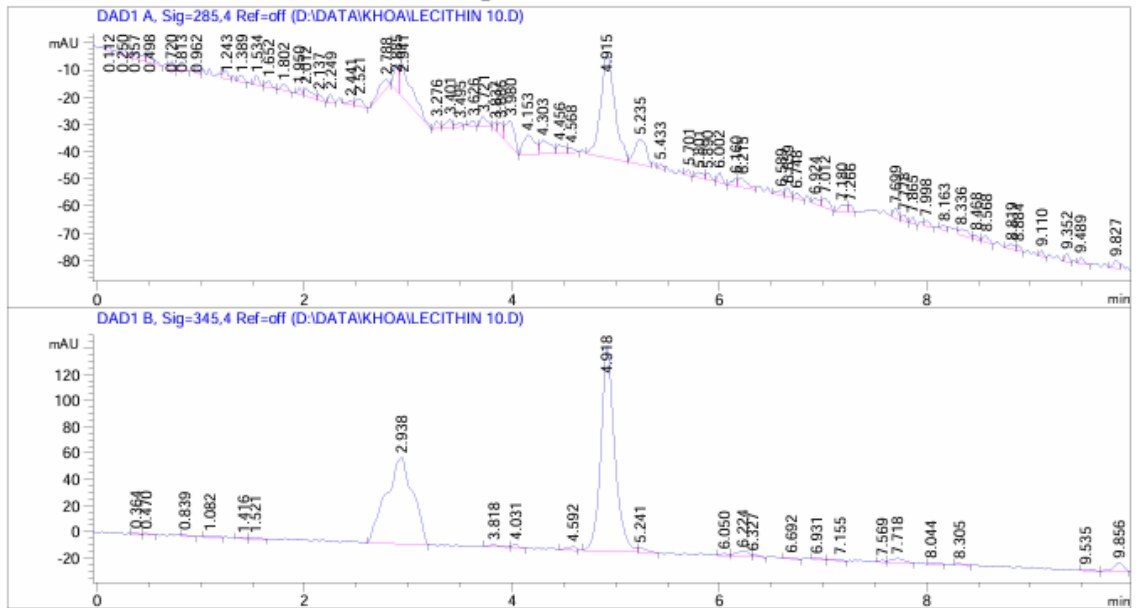
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	3.014	BV	0.2255	145.75119	8.97451	10.1050
2	3.293	VV	0.2206	244.37376	15.96250	16.9425
3	3.492	VV	0.1206	165.21957	20.36678	11.4547

Phụ lục 21. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng hesperidin.

Data File D:\DATA\KHOA\LECITHIN 10.D
 Sample Name: LECITHIN 10

```

=====
Acq. Operator   : KHOA
Acq. Instrument : HPLC 1200
Injection Date  : 25/11/2025 11:59:11 AM
Acq. Method    : D:\DIOS_KHOA.M
Last changed   : 25/11/2025 11:40:44 AM by THU
                  (modified after loading)
Analysis Method: D:\DIOS_KHOA.M
Last changed   : 25/11/2025 12:12:14 PM by KHOA
                  (modified after loading)
    
```



Area Percent Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Multiplier:    : 1.0000
Dilution:      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=285,4 Ref=off

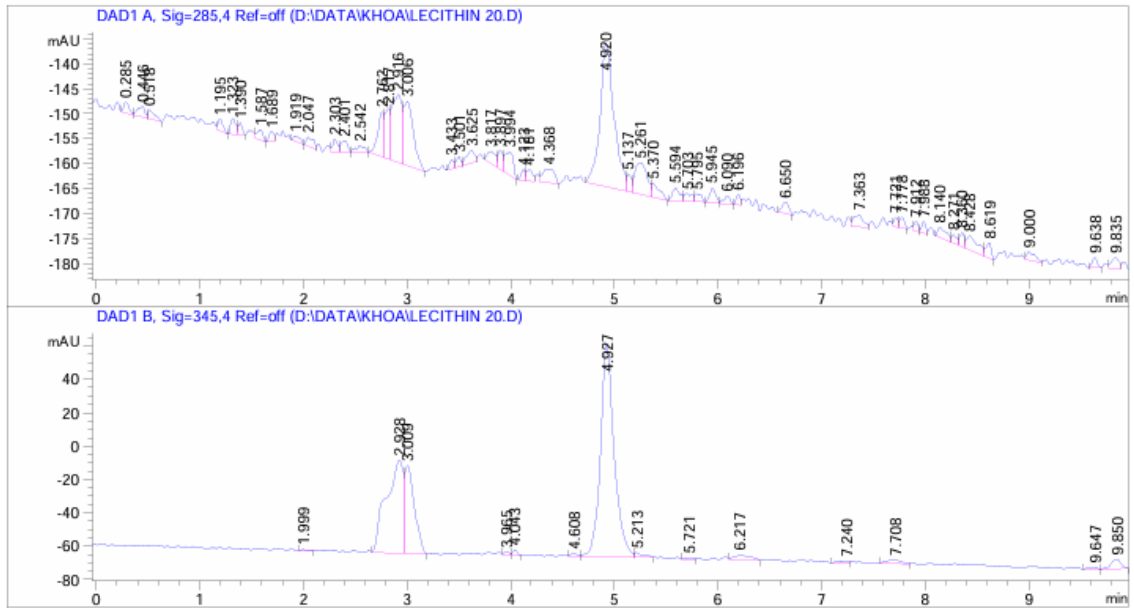
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	0.112	VV	0.0411	5.28086	2.12000	0.4219
2	0.250	BV	0.0535	10.22607	2.62304	0.8170
3	0.357	VV	0.0820	16.44310	2.46014	1.3136

Phụ lục 22. Sắc ký đồ HPLC khảo sát ảnh hưởng của lecithin đến công thức hạt nano.

Data File D:\DATA\KHOA\LECITHIN 20.D
 Sample Name: LECITHIN 20

```

=====
Acq. Operator   : KHOA
Acq. Instrument : HPLC 1200                      Location : Vial 1
Injection Date  : 25/11/2025 12:22:43 PM
Acq. Method     : D:\DIOS_KHOA.M
Last changed    : 25/11/2025 12:12:14 PM by KHOA
                  (modified after loading)
Analysis Method : D:\DIOS_KHOA.M
Last changed    : 25/11/2025 12:35:45 PM by KHOA
                  (modified after loading)
    
```



Area Percent Report

```

=====
Sorted By      :      Signal
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=285,4 Ref=off

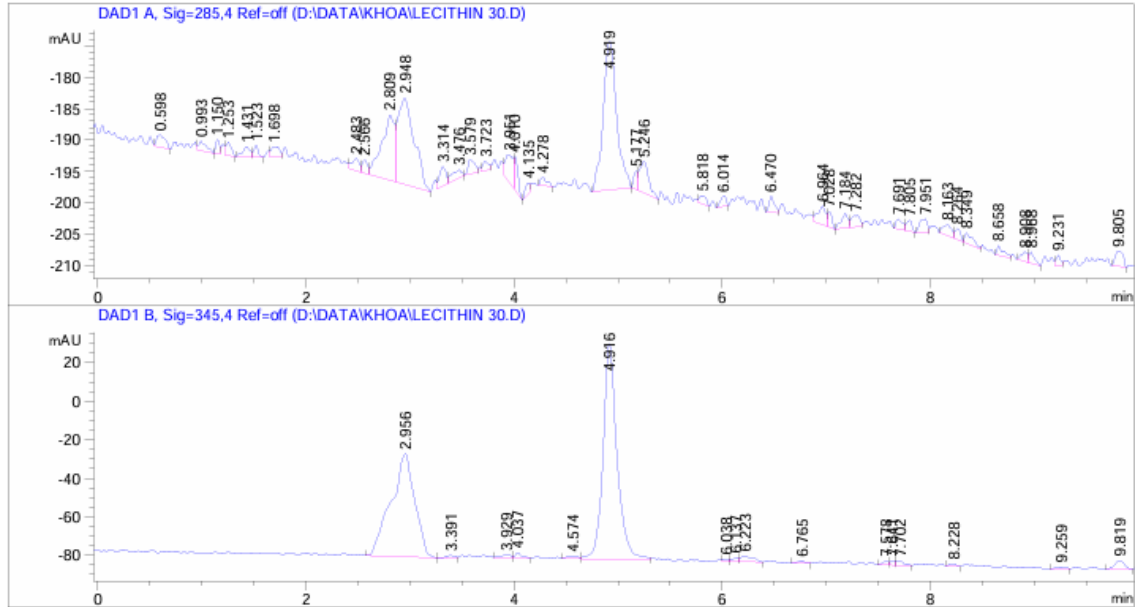
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
--------	---------------	------	-------------	--------------	--------------	--------

Phụ lục 23. Sắc ký đồ HPLC khảo sát ảnh hưởng của lecithin đến công thức hạt nano.

Data File D:\DATA\KHOA\LECITHIN 30.D
 Sample Name: LECITHIN 30

```

=====
Acq. Operator   : KHOA
Acq. Instrument : HPLC 1200                      Location : Vial 1
Injection Date  : 25/11/2025 12:38:58 PM
Acq. Method     : D:\DIOS_KHOA.M
Last changed    : 25/11/2025 12:35:45 PM by KHOA
                  (modified after loading)
Analysis Method : D:\DIOS_KHOA.M
Last changed    : 12/9/2025 2:48:33 PM by TRUC
=====
  
```



Area Percent Report

```

=====
Sorted By      :      Signal
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
=====
  
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=285,4 Ref=off

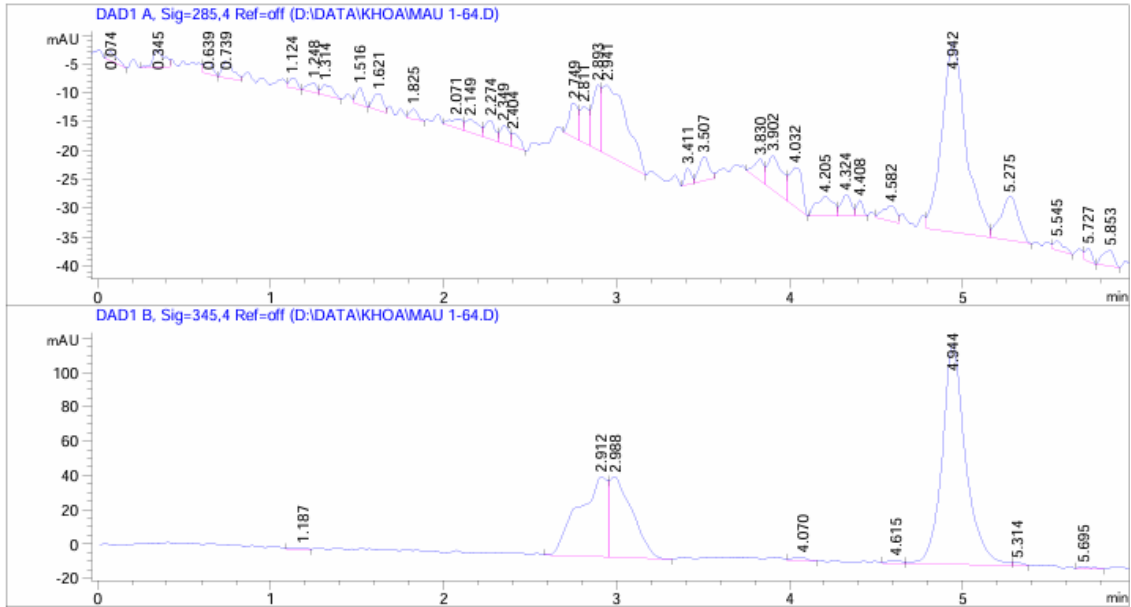
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	0.598	MP	0.0821	11.59479	1.05625	1.4500

Phụ lục 24. Sắc ký đồ HPLC khảo sát ảnh hưởng của lecithin đến công thức hạt nano.

Data File D:\DATA\KHOA\MAU 1-64.D
 Sample Name: mau 1-64

```

=====
Acq. Operator   : KHOA
Acq. Instrument : HPLC 1200
Injection Date  : 9/1/2026 2:37:59 PM
Acq. Method    : D:\DIOS_KHOA.M
Last changed   : 9/1/2026 2:37:10 PM by KHOA
                  (modified after loading)
Analysis Method: D:\DIOS_KHOA.M
Last changed   : 12/9/2025 2:48:33 PM by TRUC
    
```



Area Percent Report

```

=====
Sorted By      :      Signal
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=285,4 Ref=off

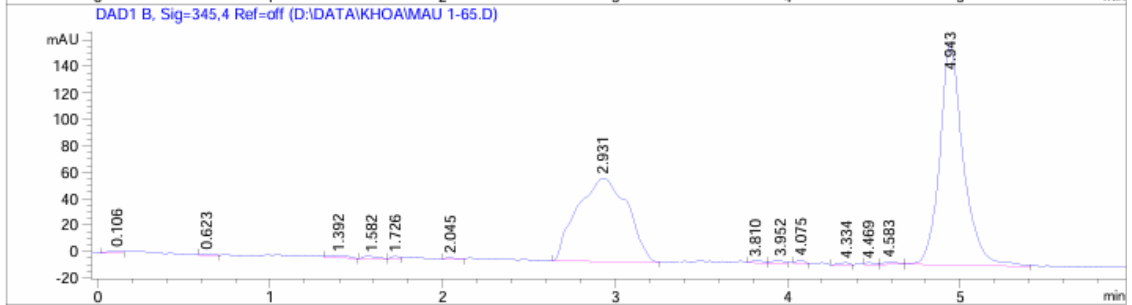
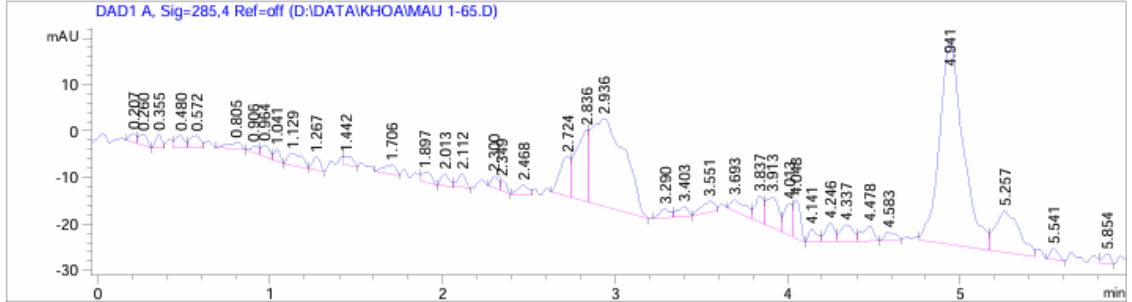
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	0.074	RR	0.0556	6.15635	1.57354	0.6843

Phụ lục 25. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng diosmin và hesperidin.

Data File D:\DATA\KHOA\MAU 1-65.D
 Sample Name: mau 1-65

```

=====
Acq. Operator   : KHOA
Acq. Instrument : HPLC 1200
Injection Date  : 9/1/2026 2:48:08 PM
Acq. Method    : D:\DIOS_KHOA.M
Last changed   : 9/1/2026 2:47:02 PM by KHOA
                (modified after loading)
Analysis Method : D:\DIOS_KHOA.M
Last changed   : 12/9/2025 2:48:33 PM by TRUC
    
```



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier:    : 1.0000
Dilution:      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=285,4 Ref=off

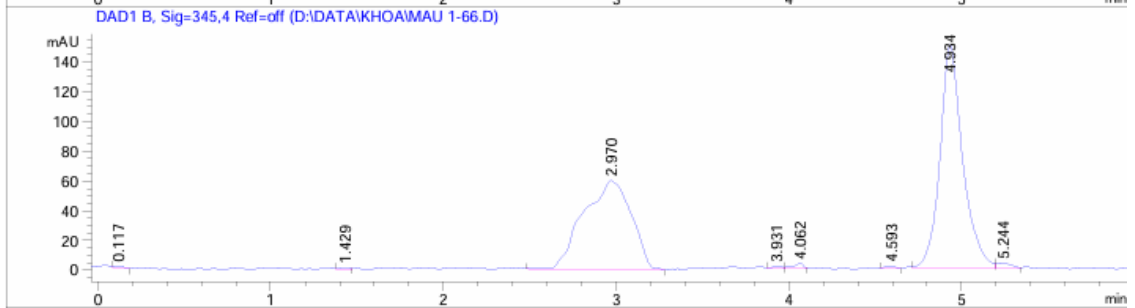
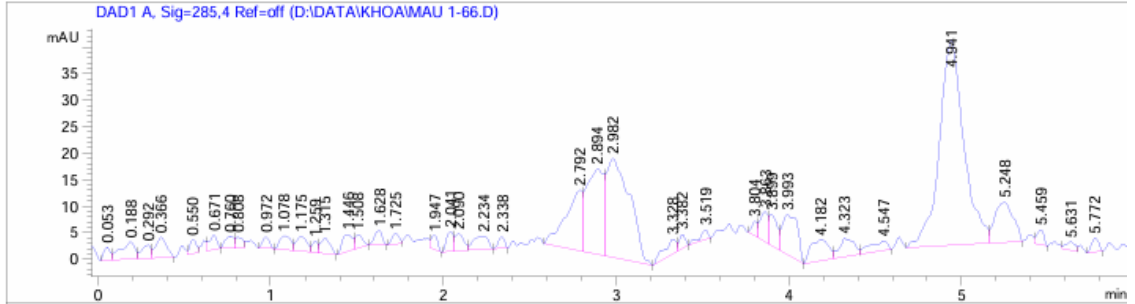
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	0.207	BV	0.0457	5.25086	1.81539	0.4236

Phụ lục 26. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng diosmin và hesperidin.

Data File D:\DATA\KHOA\MAU 1-66.D
 Sample Name: mau 1-66

```

=====
Acq. Operator   : KHOA
Acq. Instrument : HPLC 1200                Location : Vial 1
Injection Date  : 9/1/2026 2:17:46 PM
Acq. Method     : D:\DIOS_KHOA.M
Last changed    : 9/1/2026 2:16:40 PM by KHOA
                  (modified after loading)
Analysis Method : D:\DIOS_KHOA.M
Last changed    : 12/9/2025 2:48:33 PM by TRUC
    
```



Area Percent Report

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=285,4 Ref=off

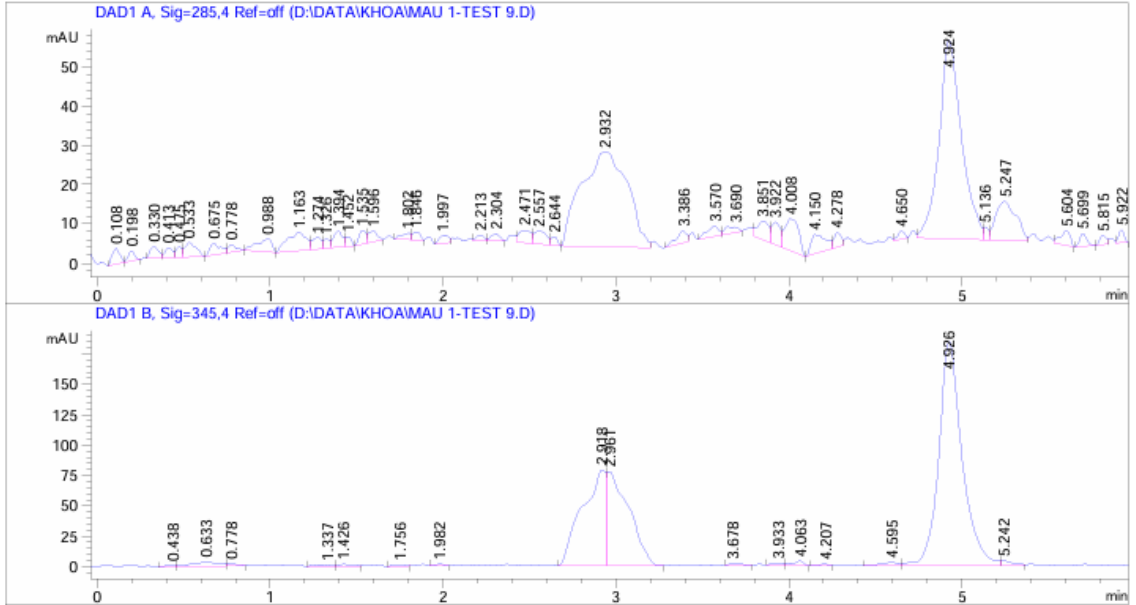
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	0.053	BV	0.0430	6.46150	2.42924	0.5362

Phụ lục 27. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng diosmin và hesperidin.

Data File D:\DATA\KHOA\MAU 1-TEST 9.D
 Sample Name: mau 1-test 9

```

=====
Acq. Operator   : KHOA
Acq. Instrument : HPLC 1200
Injection Date  : 9/1/2026 2:07:38 PM
Acq. Method    : D:\DIOS_KHOA.M
Last changed   : 9/1/2026 2:07:09 PM by KHOA
                  (modified after loading)
Analysis Method : D:\DIOS_KHOA.M
Last changed   : 12/9/2025 2:48:33 PM by TRUC
    
```



Area Percent Report

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier:    :      1.0000
Dilution:      :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
    
```

Signal 1: DAD1 A, Sig=285,4 Ref=off

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	0.108	BV	0.0420	12.25329	3.97218	0.8440

Phụ lục 28. Dữ liệu xây dựng đường chuẩn và kết quả định lượng diosmin và hesperidin.

Measurement Results

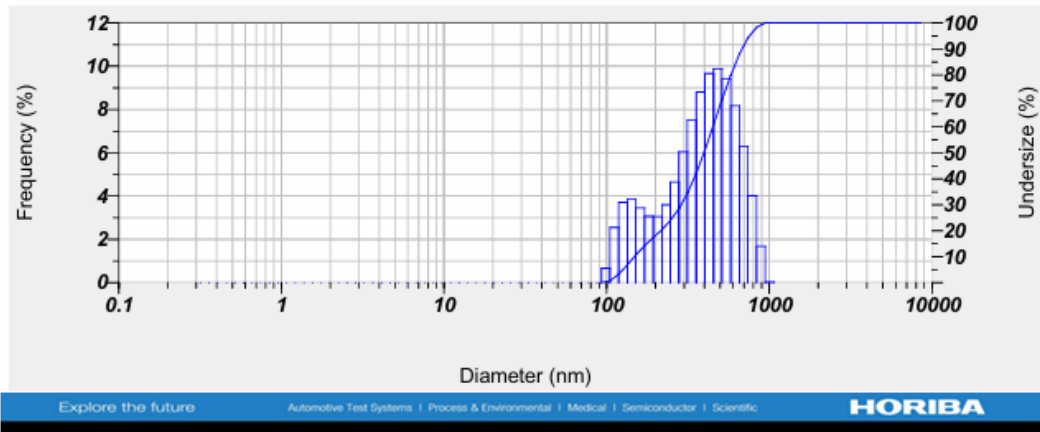
Date : Tuesday, March 10, 2026 5:10:28 PM
 Measurement Type : Particle Size
 Sample Name : D-H@PLGA-HPCD-LC@CS (3)
 Material : Organic: D-H@PLGA-HPCD-LC@CS
 Source : Ms. Hoang Thi Kim Dung
 Lot Number : 10.03.2026
 Test or Assay Number : 03
 Sample Preparation : None
 Dispersion Medium Information : H2O
 Dispersion Procedure : None
 Dispersion Procedure Verification : Transparent
 Remarks 1 : Ngày gửi mẫu: 09/03/2026
 Remarks 2 : Storage: 25oC
 Remarks 3 : NSX:
 Scattering Angle : 90
 Temperature of the Holder : 25.1 °C
 Particle Refractive Index : 1.600 - 0.000i
 Dispersion Medium Name : Water
 Dispersion Medium RI : 1.333
 Dispersion Medium Viscosity : 0.893 mPa·s
 Transmission Intensity before Meas. : 20655
 Transmission Intensity after Meas. : 20742
 Measurement Gate Time : ---
 Distribution Form : Standard
 Distribution Form(Dispersity) : Polydisperse
 Representation of Result : Scattering Light Intensity
 Count Rate : 1236 kCPS
 ACF Intercept : 0.986

Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	0.18	145.7 nm	26.9 nm	142.0 nm
2	0.82	466.7 nm	165.3 nm	482.5 nm
3	---	--- nm	--- nm	--- nm
Total	1.00	409.3 nm	194.1 nm	482.5 nm

Cumulant Operations

Z-Average : 533.5 nm
 PI : 0.366



Phụ lục 29. Size của mẫu nano D-H@PHLC.

Measurement Results

202603101716018.nzt

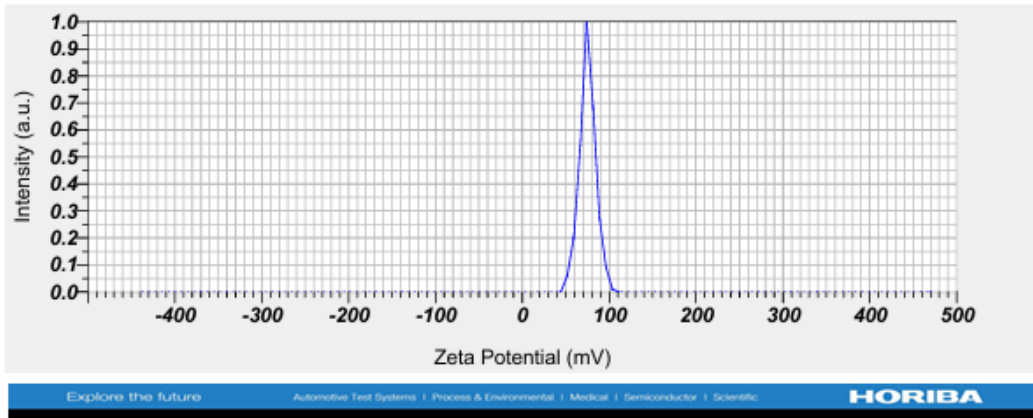
Measurement Results

ID# : 202603101716018
 Date : Tuesday, March 10, 2026 5:16:00 PM
 Measurement Type : Zeta Potential
 Sample Name : D-H@PLGA-HPCD-LC@CS (3)
 Material : Organic: D-H@PLGA-HPCD-LC@CS
 Source : Ms. Hoang Thi Kim Dung
 Lot Number : 10.03.2026
 Test or Assay Number : 03
 Sample Preparation : None
 Dispersion Medium Information : H2O
 Dispersion Procedure : None
 Dispersion Procedure Verification : Translucent sample
 Remarks 1 : MFD: 09/03/2026
 Remarks 2 : Storage: 25oC
 Remarks 3 : Batch:
 Temperature of the Holder : 25.0 °C
 Dispersion Medium Name : Water
 Dispersion Medium RI : 1.333
 Dispersion Medium Viscosity : 0.895 mPa-s
 Conductivity : 0.240 mS/cm
 Electrode Voltage : 3.4 V

Calculation Results

Peak No.	Zeta Potential	Electrophoretic Mobility
1	75.2 mV	0.000583 cm ² /Vs
2	-- mV	-- cm ² /Vs
3	-- mV	-- cm ² /Vs

Zeta Potential (Mean) : 75.2 mV
 Electrophoretic Mobility Mean : 0.000583 cm²/Vs



Phụ lục 30. Zeta của mẫu nano D-H@PHLC.

Measurement Results

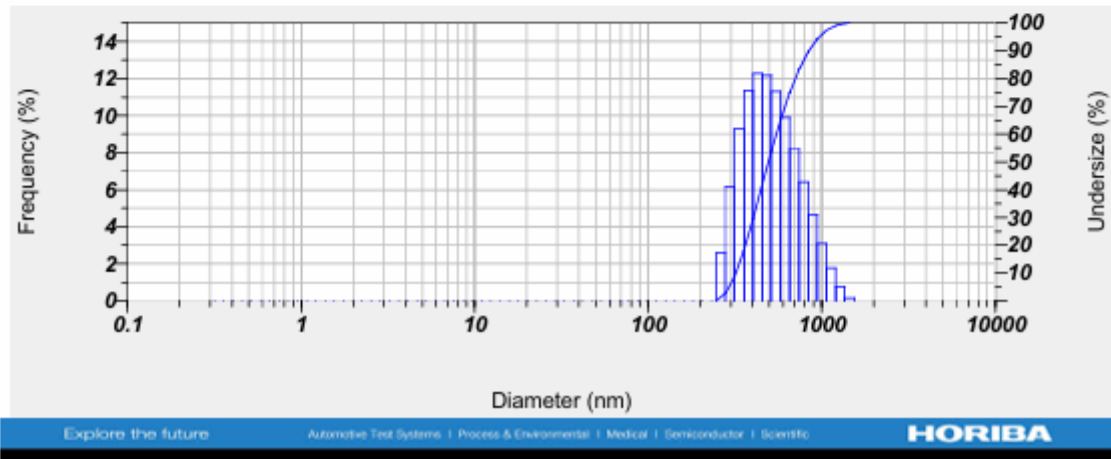
Date : Tuesday, March 10, 2026 4:53:47 PM
 Measurement Type : Particle Size
 Sample Name : D-H@PLGA-HPCD-LC@CS (2)
 Material : Organic: D-H@PLGA-HPCD-LC@CS
 Source : Ms. Hoang Thi Kim Dung
 Lot Number : 10.03.2026
 Test or Assay Number : 03
 Sample Preparation : None
 Dispersion Medium Information : H2O
 Dispersion Procedure : None
 Dispersion Procedure Verification : Transparent
 Remarks 1 : Ngày gửi mẫu: 09/03/2026
 Remarks 2 : Storage: 25oC
 Remarks 3 : NSX:
 Scattering Angle : 90
 Temperature of the Holder : 25.0 °C
 Particle Refractive Index : 1.600 - 0.000i
 Dispersion Medium Name : Water
 Dispersion Medium RI : 1.333
 Dispersion Medium Viscosity : 0.894 mPa·s
 Transmission Intensity before Meas. : 16961
 Transmission Intensity after Meas. : 16790
 Measurement Gate Time : ---
 Distribution Form : Standard
 Distribution Form(Dispersity) : Polydisperse
 Representation of Result : Scattering Light Intensity
 Count Rate : 2234 kCPS
 ACF Intercept : 0.986

Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	544.8 nm	211.9 nm	429.5 nm
2	---	--- nm	--- nm	--- nm
3	---	--- nm	--- nm	--- nm
Total	1.00	544.8 nm	211.9 nm	429.5 nm

Cumulant Operations

Z-Average : 636.2 nm
 PI : 0.624



Phụ lục 31. Size của mẫu nano D-H@PHLC.

Measurement Results

202603101702014.nzt

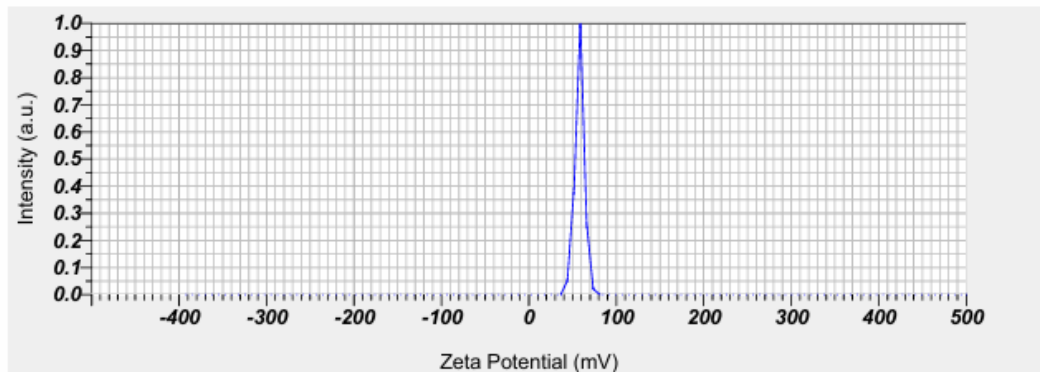
Measurement Results

ID# : 202603101702014
 Date : Tuesday, March 10, 2026 5:02:08 PM
 Measurement Type : Zeta Potential
 Sample Name : D-H@PLGA-HPCD-LC@CS (2)
 Material : Organic: D-H@PLGA-HPCD-LC@CS
 Source : Ms. Hoang Thi Kim Dung
 Lot Number : 10.03.2026
 Test or Assay Number : 03
 Sample Preparation : None
 Dispersion Medium Information : H2O
 Dispersion Procedure : None
 Dispersion Procedure Verification : Translucent sample
 Remarks 1 : MFD: 09/03/2026
 Remarks 2 : Storage: 25oC
 Remarks 3 : Batch:
 Temperature of the Holder : 25.1 °C
 Dispersion Medium Name : Water
 Dispersion Medium RI : 1.333
 Dispersion Medium Viscosity : 0.893 mPa-s
 Conductivity : 0.231 mS/cm
 Electrode Voltage : 3.4 V

Calculation Results

Peak No.	Zeta Potential	Electrophoretic Mobility
1	57.9 mV	0.000449 cm ² /Vs
2	-- mV	-- cm ² /Vs
3	-- mV	-- cm ² /Vs

Zeta Potential (Mean) : 57.9 mV
 Electrophoretic Mobility Mean : 0.000449 cm²/Vs



Phụ lục 32. Zeta của mẫu nano D-H@PHLC.

2020 129 150000 1.NSZ

Measurement Results

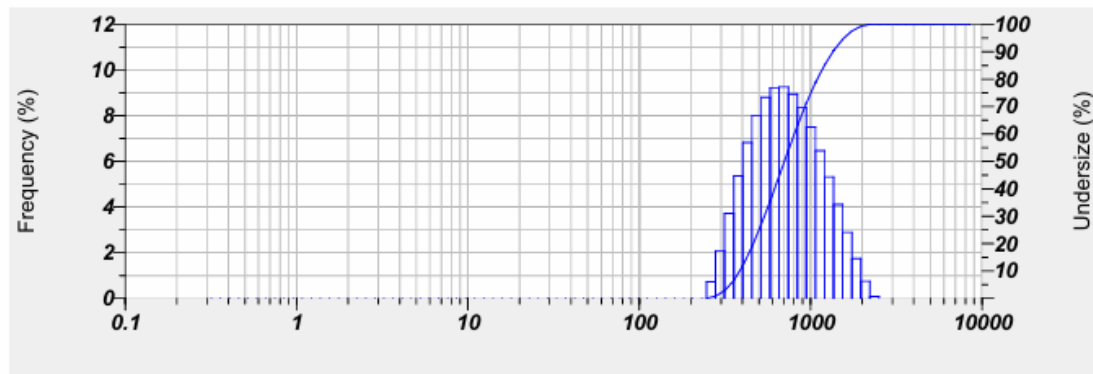
Date : Thursday, January 29, 2026 7:06:59 PM
 Measurement Type : Particle Size
 Sample Name : Test sample
 Material : Organic: Diosmin, Hesperidin. PLG
 Source : Ms. Huynh Thi Kim Chi
 Lot Number : 29.01.2026
 Test or Assay Number : 03
 Sample Preparation : None
 Dispersion Medium Information : H2O
 Dispersion Procedure : None
 Dispersion Procedure Verification : Transparent
 Remarks 1 : Ngày gửi mẫu: 29/01/2026
 Remarks 2 : Storage: 25oC
 Remarks 3 : NSX:
 Scattering Angle : 90
 Temperature of the Holder : 25.1 °C
 Particle Refractive Index : 1.460 - 0.000i
 Dispersion Medium Name : Water
 Dispersion Medium RI : 1.333
 Dispersion Medium Viscosity : 0.893 mPa·s
 Transmission Intensity before Meas. : 13997
 Transmission Intensity after Meas. : 13991
 Measurement Gate Time : ---
 Distribution Form : Standard
 Distribution Form(Dispersity) : Polydisperse
 Representation of Result : Scattering Light Intensity
 Count Rate : 1653 kCPS
 ACF Intercept : 0.983

Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	795.5 nm	383.1 nm	695.8 nm
2	---	--- nm	--- nm	--- nm
3	---	--- nm	--- nm	--- nm
Total	1.00	795.5 nm	383.1 nm	695.8 nm

Cumulant Operations

Z-Average : 550.7 nm
 PI : 0.273



Phụ lục 33. Size của mẫu nano D-H@PHLC.

Measurement Results

202601291919003.nzt

Measurement Results

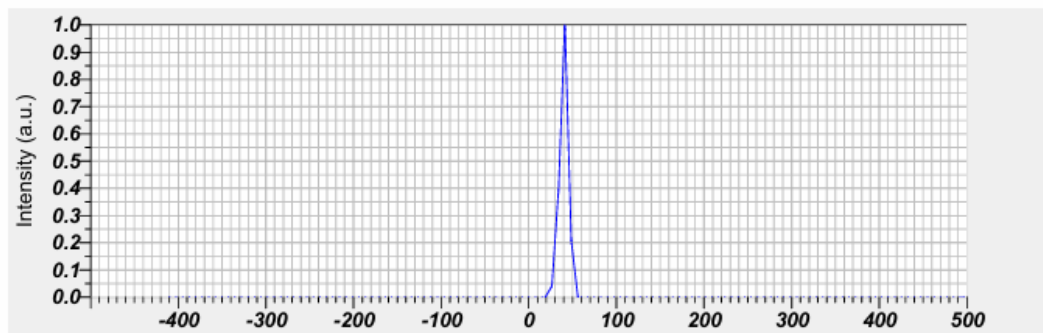
ID# : 202601291919003
 Date : Thursday, January 29, 2026 7:19:45 PM
 Measurement Type : Zeta Potential
 Sample Name : Test sample
 Material : Organic: Diosmin, Hesperidin, PLG
 Source : Ms. Huynh Thi Kim Chi
 Lot Number : 29.01.2026
 Test or Assay Number : 03
 Sample Preparation : None
 Dispersion Medium Information : H2O
 Dispersion Procedure : None
 Dispersion Procedure Verification : Translucent sample
 Remarks 1 : MFD:29/01/2026
 Remarks 2 : Storage: 25oC
 Remarks 3 : Batch:
 Temperature of the Holder : 25.2 °C
 Dispersion Medium Name : Water
 Dispersion Medium RI : 1.333
 Dispersion Medium Viscosity : 0.891 mPa-s
 Conductivity : 0.313 mS/cm
 Electrode Voltage : 3.3 V

Calculation Results

Peak No.	Zeta Potential	Electrophoretic Mobility
1	39.9 mV	0.000310 cm ² /Vs
2	--- mV	--- cm ² /Vs
3	--- mV	--- cm ² /Vs

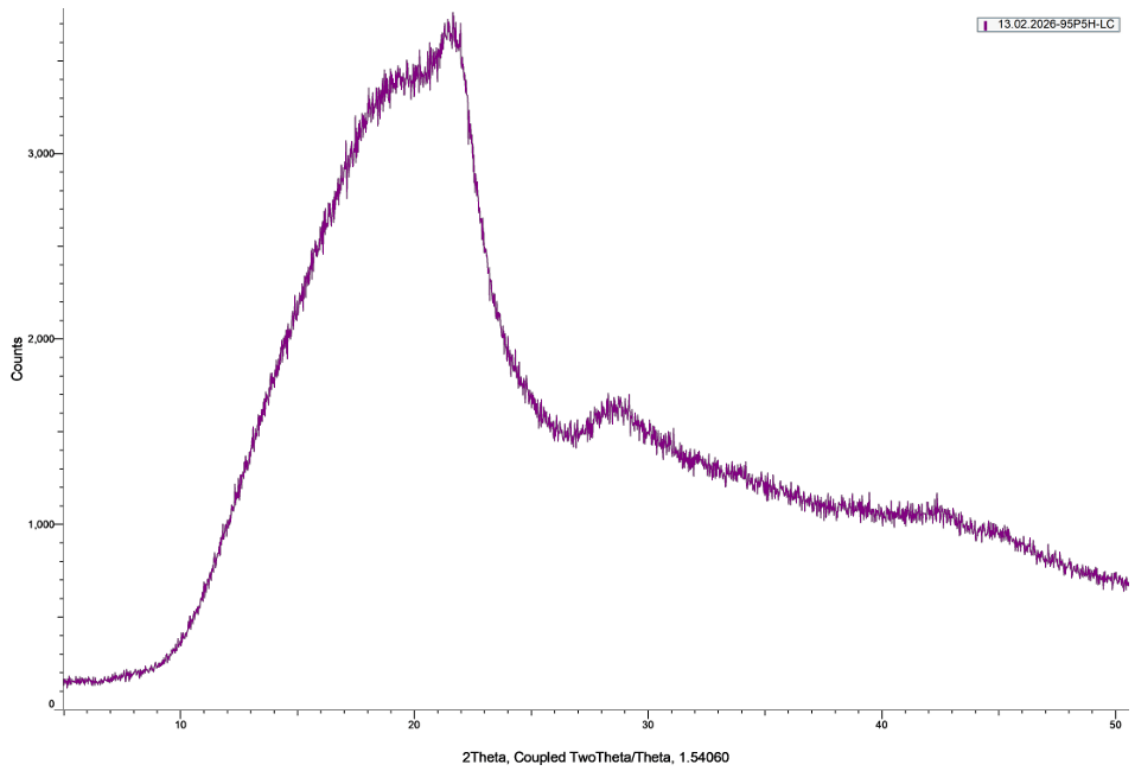
Zeta Potential (Mean) : 39.9 mV

Electrophoretic Mobility Mean : 0.000310 cm²/Vs

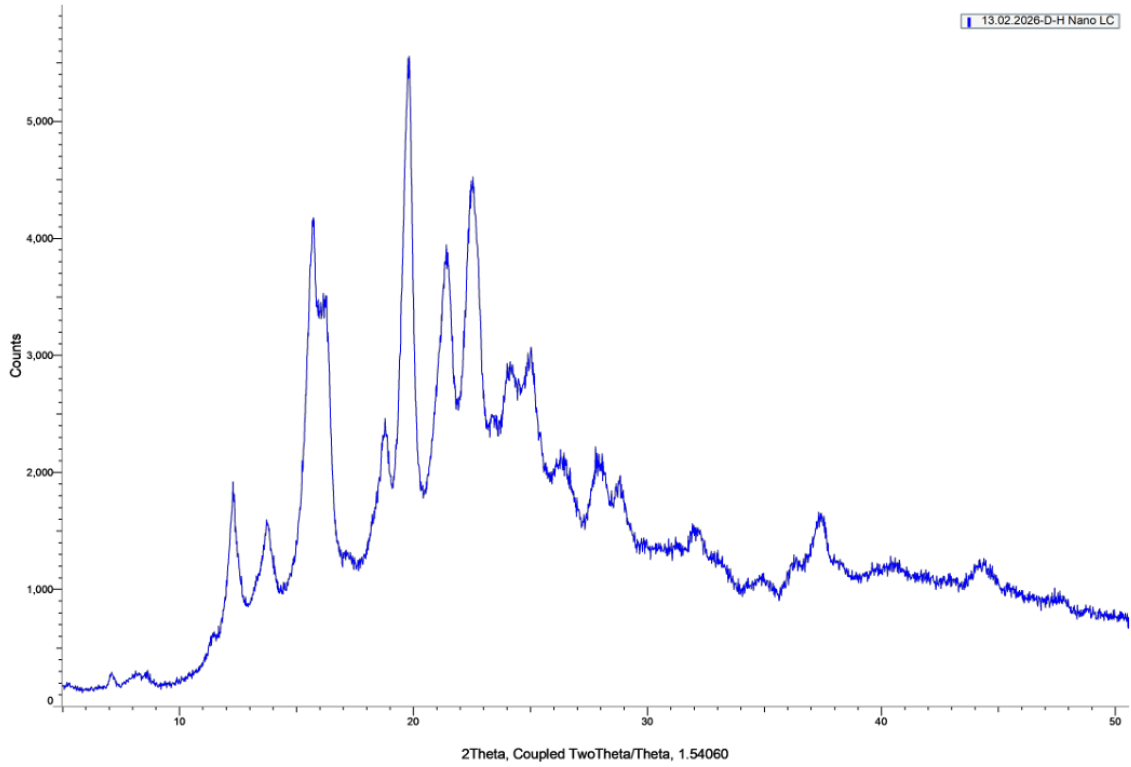


Phụ lục 34. Zeta của mẫu nano D-H@PHLC.

13.02.2026-95P5H-LC (Coupled TwoTheta/Theta)

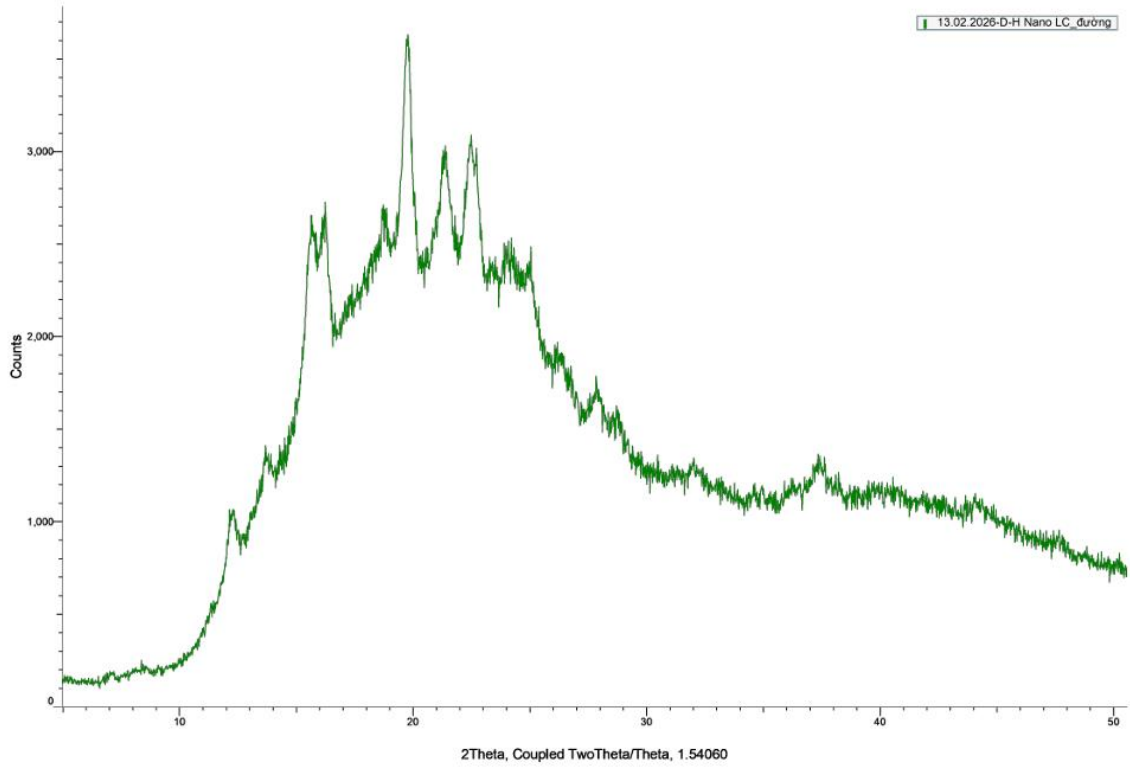


Phụ lục 35. Giảm đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của các mẫu nghiên cứu.



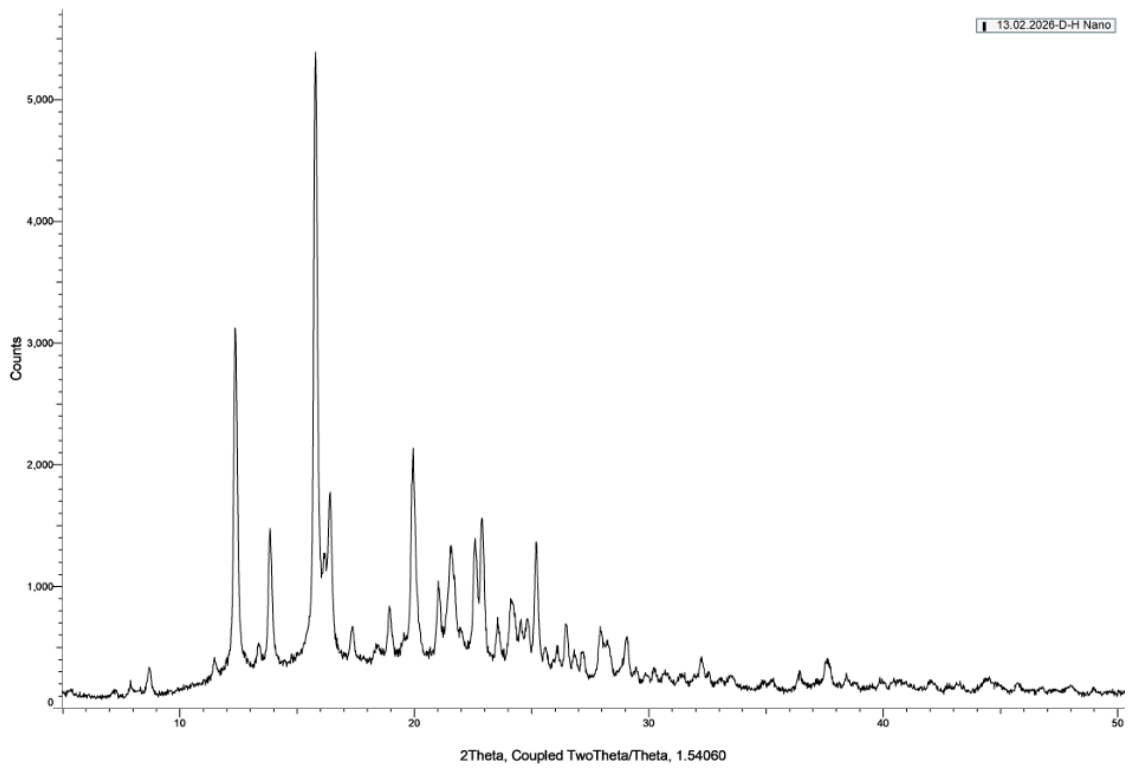
Phụ lục 36. Giảm đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của các mẫu nghiên cứu.

13.02.2026-D-H Nano LC_đường (Coupled TwoTheta/Theta)



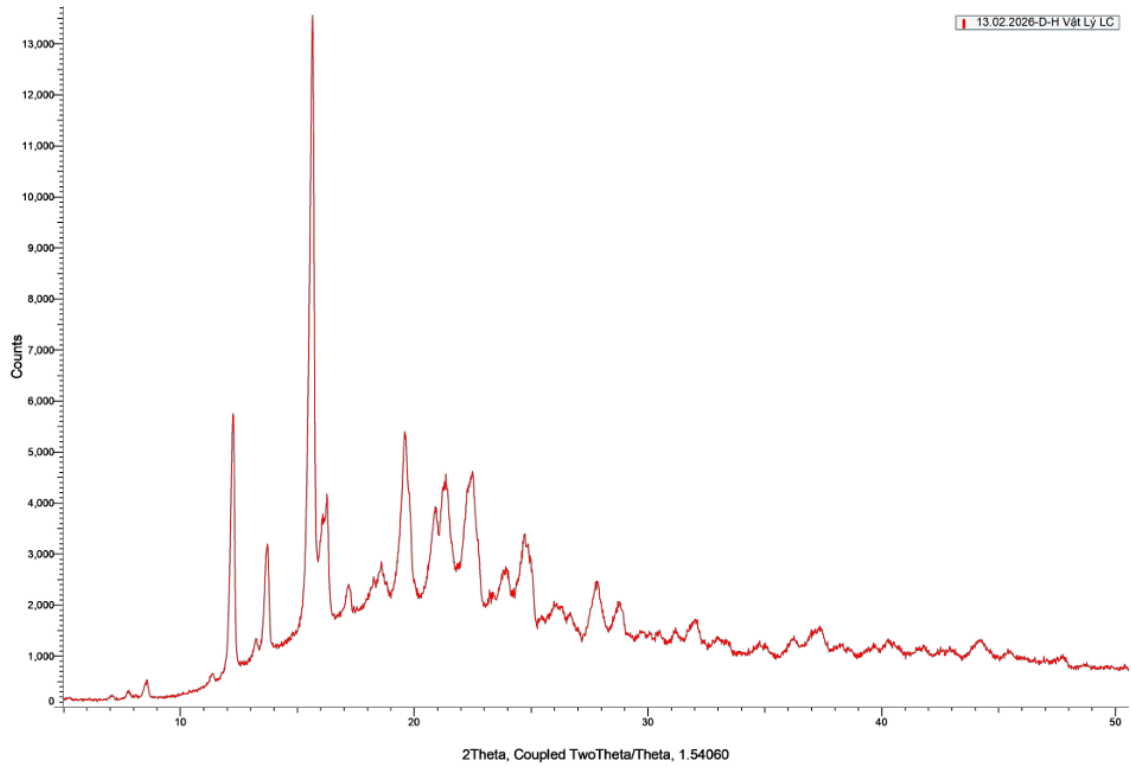
Phụ lục 37. Giảm đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của các mẫu nghiên cứu.

13.02.2026-D-H Nano (Coupled TwoTheta/Theta)



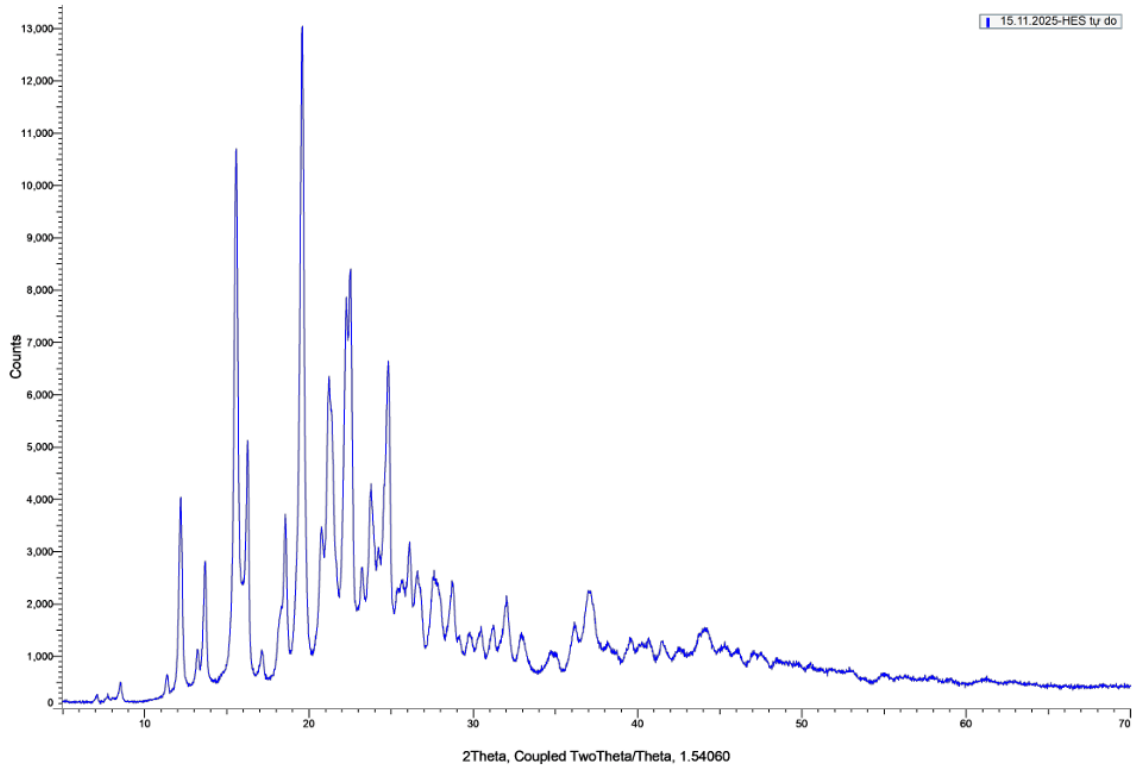
Phụ lục 38. Giảm đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của các mẫu nghiên cứu.

13.02.2026-D-H Vật Lý LC (Coupled TwoTheta/Theta)

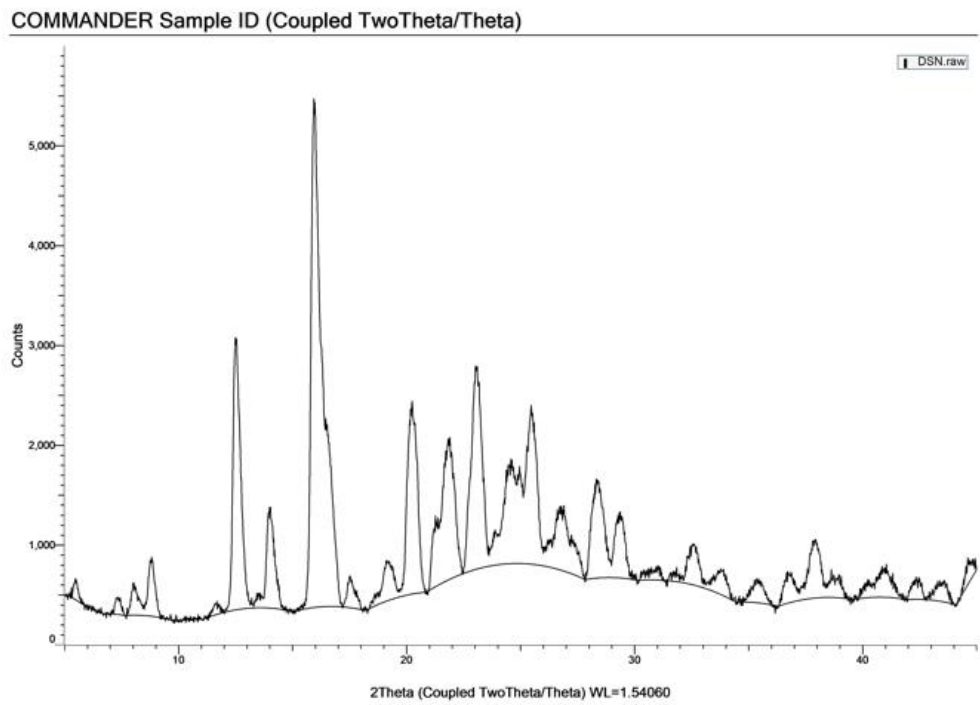


Phụ lục 39. Giảm đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của các mẫu nghiên cứu.

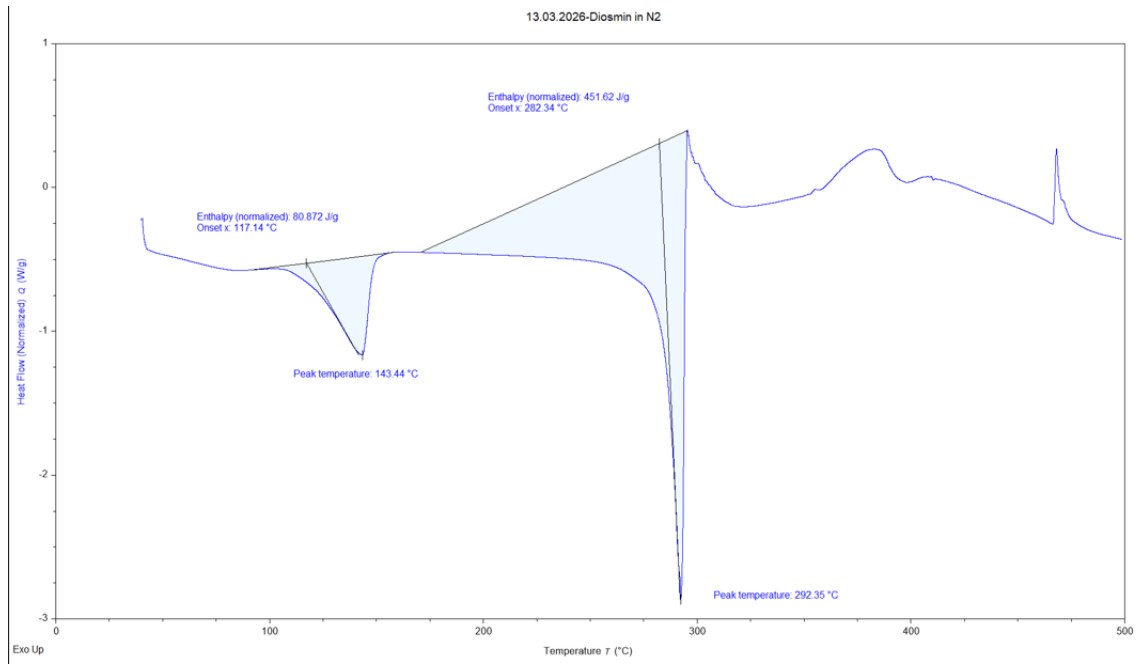
15.11.2025-HES tự do (Coupled TwoTheta/Theta)



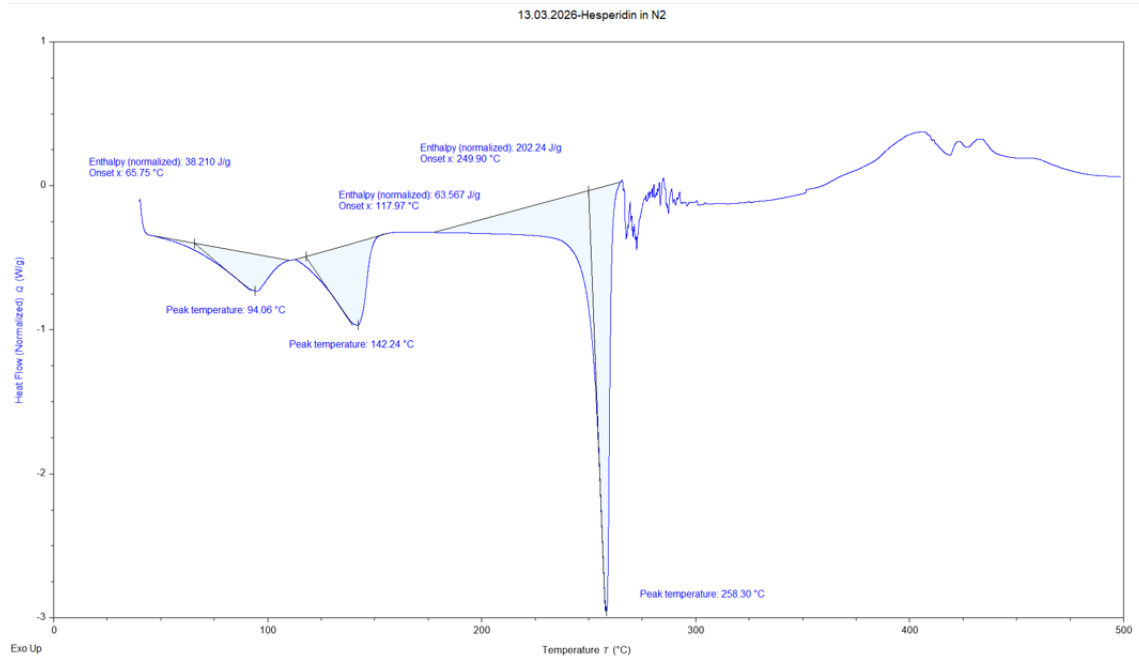
Phụ lục 40. Giảm đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của các mẫu nghiên cứu.



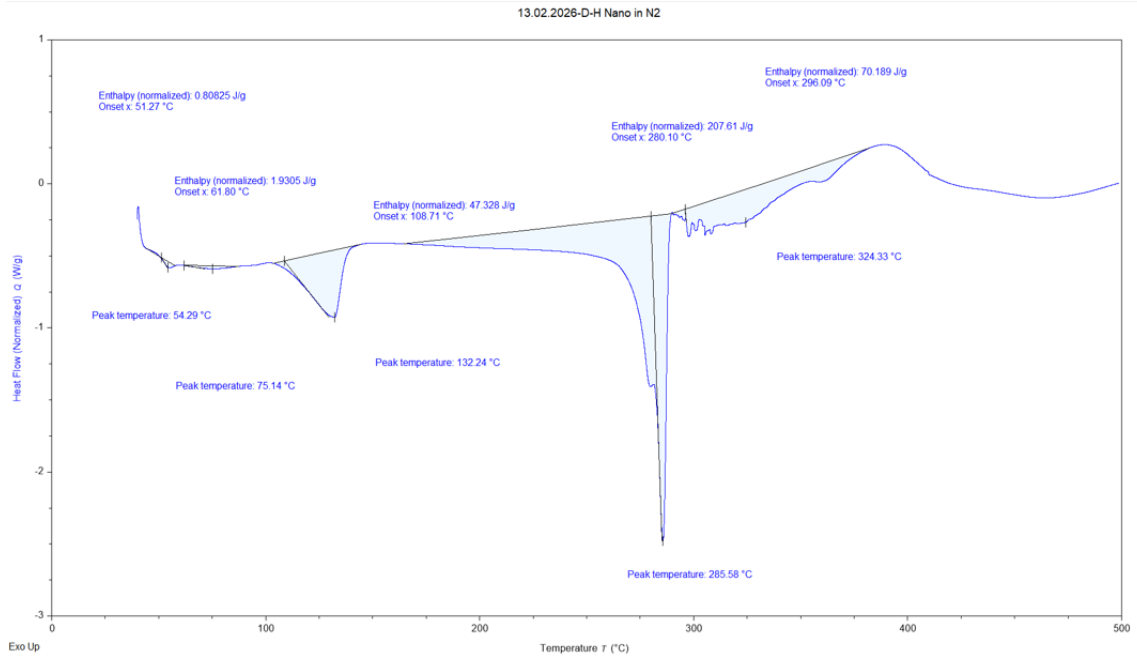
Phụ lục 41. Giảm đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của các mẫu nghiên cứu.



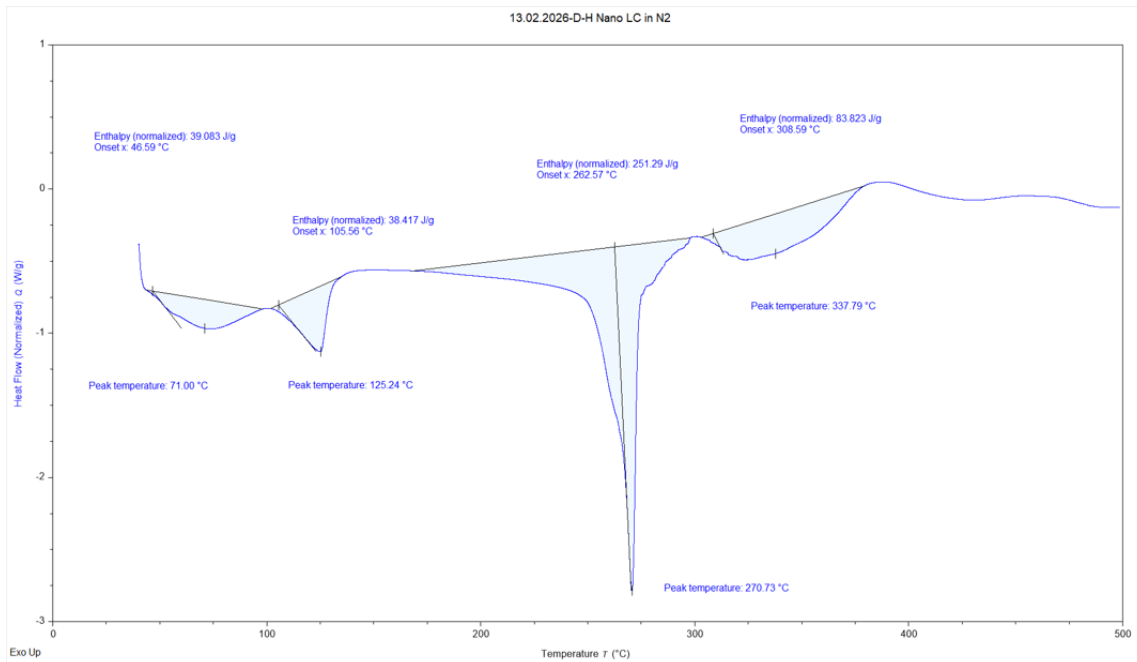
Phụ lục 42. Giảm đồ phân tích nhiệt lượng vi sai (DSC) của các mẫu nghiên cứu.



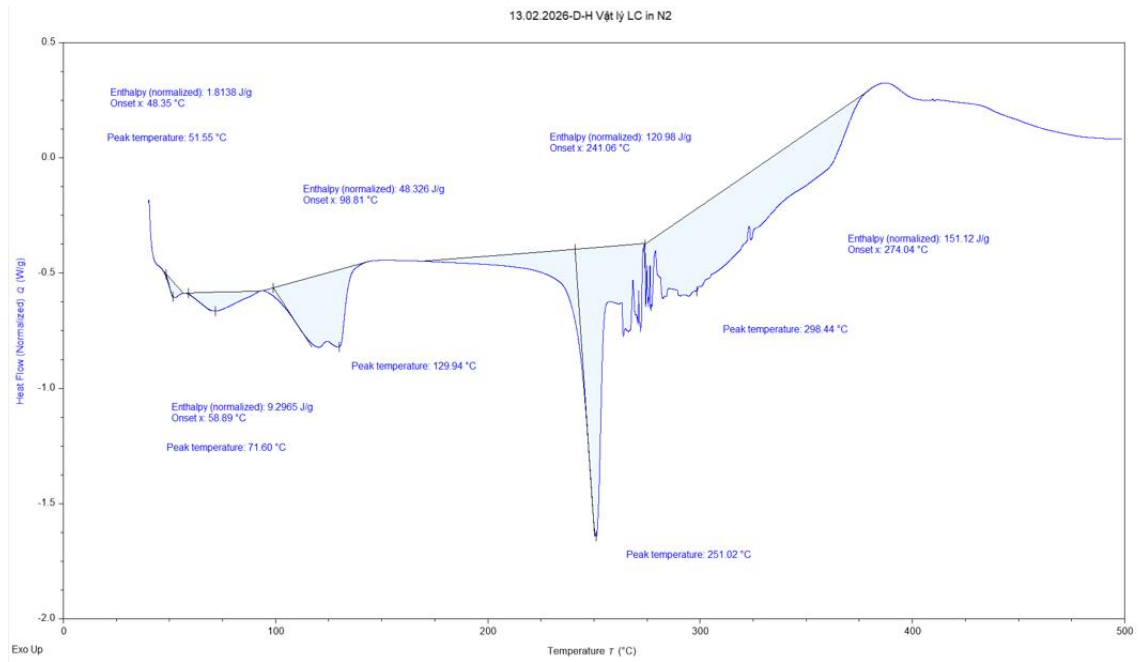
Phụ lục 43. Giảm đồ phân tích nhiệt lượng vi sai (DSC) của các mẫu nghiên cứu.



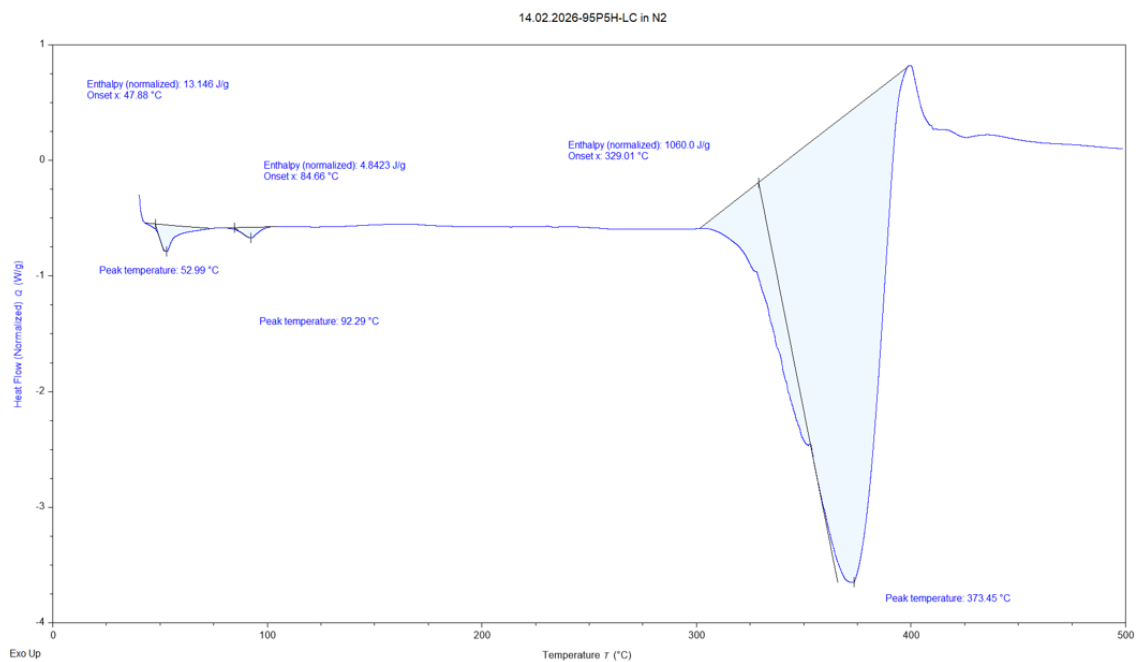
Phụ lục 44. Giải đồ phân tích nhiệt lượng vi sai (DSC) của các mẫu nghiên cứu.



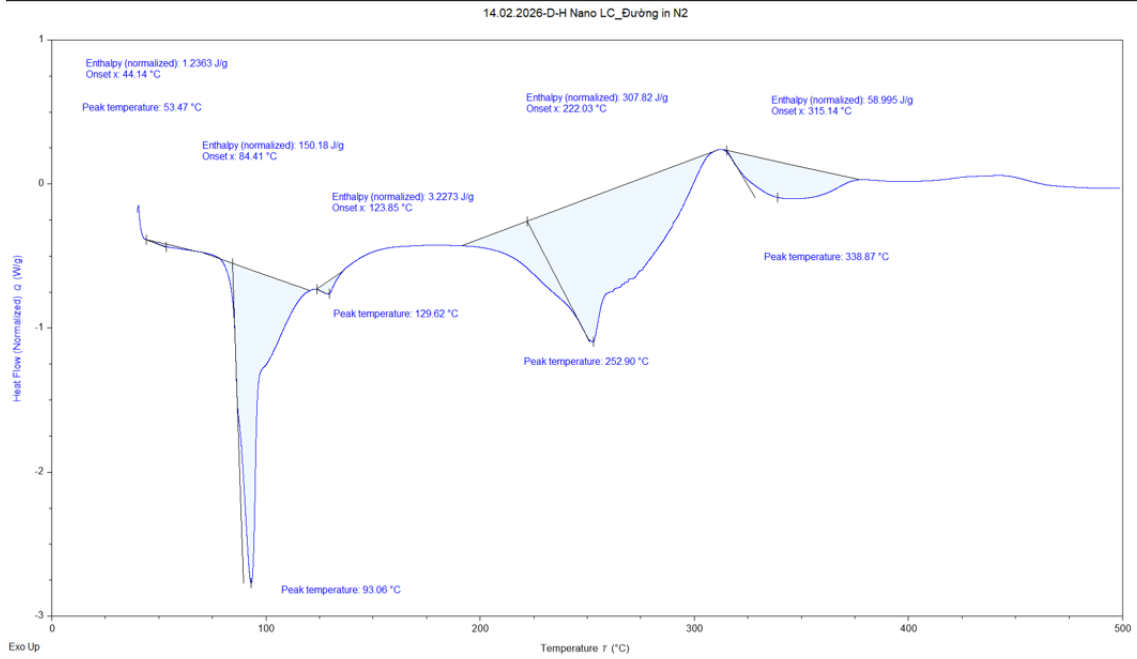
Phụ lục 45. Giải đồ phân tích nhiệt lượng vi sai (DSC) của các mẫu nghiên cứu.



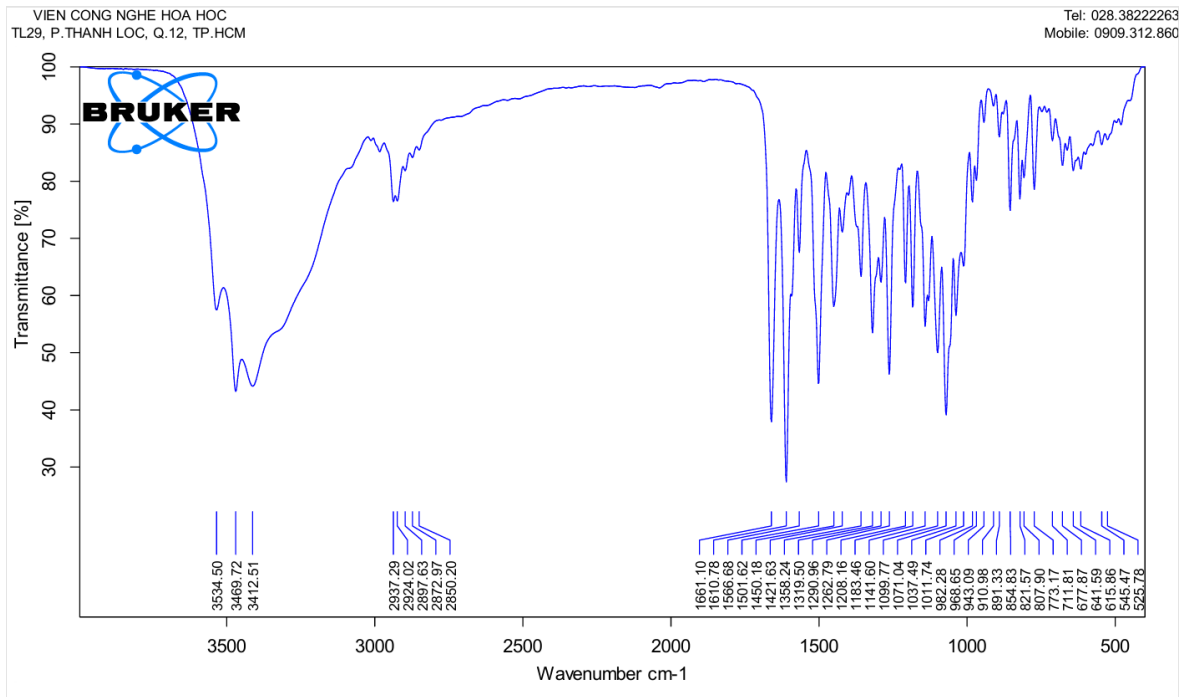
Phụ lục 46. Biểu đồ phân tích nhiệt lượng vi sai (DSC) của các mẫu nghiên cứu.



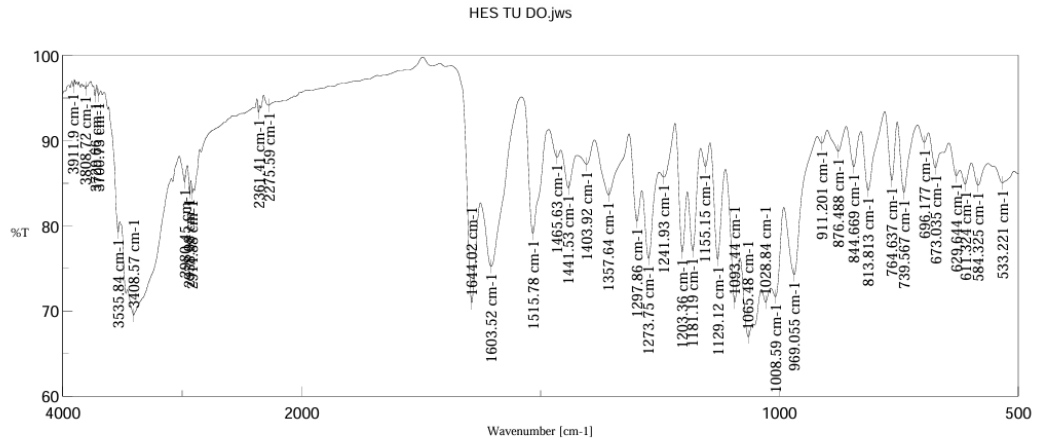
Phụ lục 47. Biểu đồ phân tích nhiệt lượng vi sai (DSC) của các mẫu nghiên cứu.



Phụ lục 48. Giảm đồ phân tích nhiệt lượng vi sai (DSC) của các mẫu nghiên cứu.

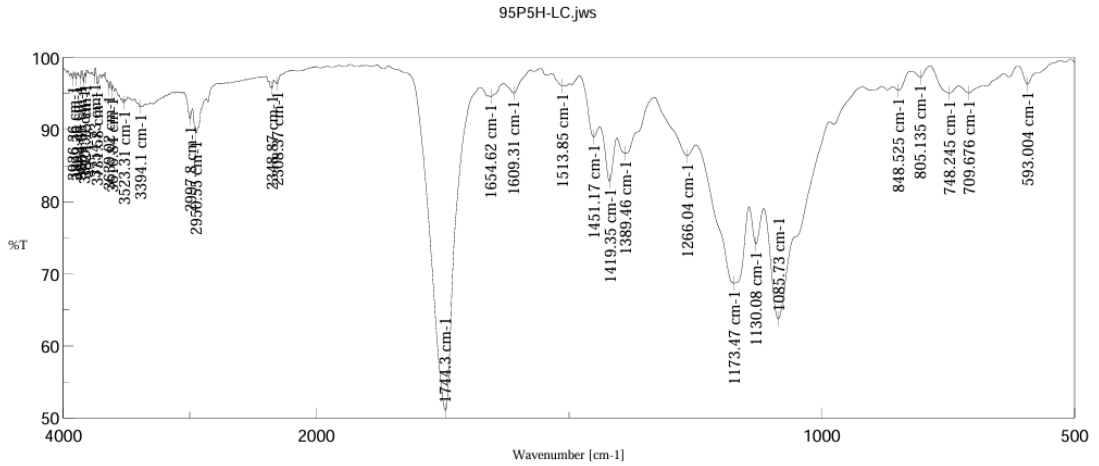


Phụ lục 49. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR) của các mẫu nghiên cứu.



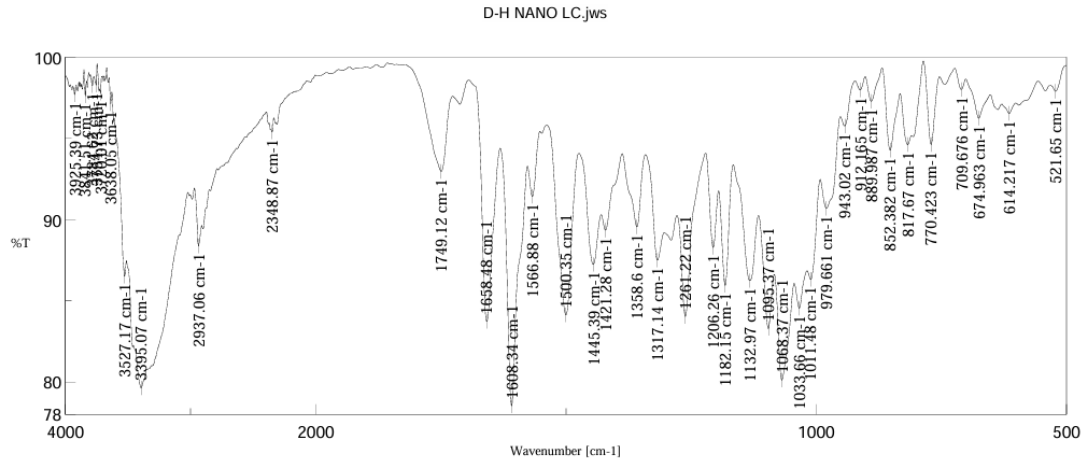
[Comments]		[Measurement Information]		
Sample name		Model Name	FT/R-4700typeA	HES TU DOjws
Comment		Serial Number	C019561788	
User		Accessory	ATR PRO ONE	
Division		Accessory S/N	A056361809	
Company	TRUONG DHCN THANH HOA	Incident angle	45 deg	
		Measurement Date	10/17/2025 8:53 AM	
[Detailed Information]				
Creation date	10/17/2025 8:54 AM	Light Source	Standard	
Data array type	Linear data array	Detector	TGS	
Horizontal axis	Wavenumber [cm-1]	Accumulation	16	
Vertical axis	%T	Resolution	4 cm-1	
Start	499.473 cm-1	Zero Filling	On	
End	4000.6 cm-1	Apodization	Cosine	
Data interval	0.964233 cm-1	Gain	Auto (8)	
Data points	3632	Aperture	7.1 mm	
		Scanning Speed	Auto (2 mm/sec)	
		Filter	Auto (30000 Hz)	

Phụ lục 50. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR) của các mẫu nghiên cứu.



[Comments]		[Measurement Information]		95P5H-LC.jws
Sample name		Model Name	FT/IR-4700typeA	
Comment		Serial Number	C019561788	
User		Accessory	ATR PRO ONE	
Division		Accessory S/N	A056361809	
Company	TRUONG DHCN THANH HOA	Incident angle	45 deg	
		Measurement Date	2/3/2026 3:13 PM	
[Detailed Information]				
Creation date	2/3/2026 3:14 PM	Light Source	Standard	
Data array type	Linear data array	Detector	TGS	
Horizontal axis	Wavenumber [cm-1]	Accumulation	16	
Vertical axis	%T	Resolution	4 cm-1	
Start	499.473 cm-1	Zero Filling	On	
End	4000.6 cm-1	Apodization	Cosine	
Data interval	0.964233 cm-1	Gain	Auto (8)	
Data points	3632	Aperture	7.1 mm	
		Scanning Speed	Auto (2 mm/sec)	
		Filter	Auto (30000 Hz)	

Phụ lục 51. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR) của các mẫu nghiên cứu.



[Comments]		[Measurement Information]		D-H NANO LC.jws	
Sample name		Model Name	FT/IR-4700typeA		
Comment		Serial Number	C019561788		
User		Accessory	ATR PRO ONE		
Division		Accessory S/N	A056361809		
Company	TRUONG DHCN THANH HOA	Incident angle	45 deg		
[Detailed Information]		Measurement Date	2/3/2026 3:11 PM		
Creation date	2/3/2026 3:12 PM	Light Source	Standard		
Data array type	Linear data array	Detector	TGS		
Horizontal axis	Wavenumber [cm-1]	Accumulation	16		
Vertical axis	%T	Resolution	4 cm-1		
Start	499.473 cm-1	Zero Filling	On		
End	4000.6 cm-1	Apodization	Cosine		
Data interval	0.964233 cm-1	Gain	Auto (8)		
Data points	3632	Aperture	7.1 mm		
		Scanning Speed	Auto (2 mm/sec)		
		Filter	Auto (30000 Hz)		

Phụ lục 52. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR) của các mẫu nghiên cứu.

