VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences

Journal homepage: https://js.vnu.edu.vn/MPS

Original Article

Optimization of a Novel Antioxidant Formulation Containing Phytosome of Standardized *Flos Styphnolobii japonici immaturus* Extract and Standardized Extracts of *Rhizoma Zingiberis*, *Herba Centellae asiaticae*, *Polyscias fruticosa* Using the D-Optimal Mixture Design

Dang Kim Thu[1,*], Nguyen Van Khanh[1], Nguyen Thi Thanh Binh[1], Vu Hai Yen[2], Nguyen Thanh Huyen[1], Tran Tuan Hiep[2]

[1]*VNU University of Medicine and Pharmacy, 144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam*

[2]*Phenikaa University, Nguyen Trac, Duong Noi, Hanoi, Vietnam*

Received 12th January 2026

Revised 23rd January 2026; Accepted 02nd February 2026

Abstract: Oxidative stress, resulting from an imbalance between the production and elimination of free radicals, contributes to the pathogenesis of numerous chronic diseases. This study aimed to optimize the mixing ratio of a quercetin – rich *Flos Styphnolobii japonici immaturus* phytosome, standardized ginger extract, standardized *Herba Centellae asiaticae* extract, and standardized *Polyscias fruticosa* extract to develop a herbal formulation with strong antioxidant activity. A total of 15 formulations were constructed and evaluated using D-optimal mixture design implemented in Design-Expert software. The quadratic model was the best fit for predicting *in vitro* DPPH free radical scavenging activity, whereas the linear model was most appropriate for total antioxidant capacity (TAC). The optimized formulation consisted of 50% quercetin – rich *Flos Styphnolobii japonici immaturus* phytosome, 17.66% standardized ginger extract, 22.34% standardized *Herba Centellae asiaticae* extract, and 10% standardized *Polyscias fruticosa* extract. Experimental validation showed strong antioxidant activity, with an IC_{50} value of 6.38 µg/ml in the DPPH assay and a TAC of 41.05 µmol AAE/g.

Keywords: Antioxidant activity; herbal formulation; D-optimal mixture design; DPPH; total antioxidant capacity.

* Corresponding author.
E-mail address: thudk.ump@vnu.edu.vn

https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4897

Tối ưu hoá công thức chống oxy hoá mới chứa phytosome cao hoè giàu quercetin và cao chuẩn hoá gừng, rau má, đinh lăng bằng phương pháp thiết kế hỗn hợp D-optimal

Đặng Kim Thu[1,*], Nguyễn Văn Khanh[1], Nguyễn Thị Thanh Bình[1], Vũ Hải Yến[2], Nguyễn Thanh Huyền[1], Trần Tuấn Hiệp[2]

[1]*Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam*

[2]*Trường Y Dược, Đại học Phenikaa, Nguyễn Trác, Dương Nội, Hà Nội, Việt Nam*

Nhận ngày 12 tháng 01 năm 2026
Chỉnh sửa ngày 23 tháng 01 năm 2026; Chấp nhận đăng ngày 02 tháng 02 năm 2026

Tóm tắt: Stress oxy hóa do mất cân bằng giữa quá trình sản sinh và loại bỏ gốc tự do được xem là một trong những cơ chế trung tâm trong bệnh sinh của nhiều bệnh mạn tính. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tối ưu hóa tỷ lệ phối trộn giữa phytosome cao hòe giàu quercetin, cao chuẩn hóa gừng, cao chuẩn hóa rau má và cao chuẩn hóa đinh lăng để tạo ra một hỗn hợp có hoạt tính chống oxy hoá mạnh. Tổng cộng 15 công thức được xây dựng và đánh giá bằng phần mềm Design-Expert. Kết quả phân tích cho thấy mô hình bậc hai là mô hình phù hợp nhất để mô tả khả năng dọn gốc tự do DPPH *in vitro*, trong khi mô hình tuyến tính là mô hình phù hợp nhất để mô tả tổng khả năng chống oxy hoá (TAC) của hỗn hợp. Công thức tối ưu được xác định gồm 50% phytosome cao hòe giàu quercetin, 17,66% cao chuẩn hóa gừng, 22,34% cao chuẩn hóa rau má, và 10% cao chuẩn hóa đinh lăng. Kết quả đánh giá thực nghiệm cho thấy công thức thể hiện hoạt tính chống oxy hóa mạnh, với giá trị IC_{50} trong thử nghiệm DPPH đạt 6,38 µg/ml và tổng khả năng chống oxy hóa (TAC) đạt 41,05 µmol AAE/g.

Từ khóa: Chống oxy hoá, công thức dược liệu, D-optimal; DPPH; tổng tác dụng chống oxy hoá.

1. Mở đầu

Stress oxy hóa, phát sinh do sự tích luỹ quá mức các gốc tự do chứa oxy và nitơ (reactive oxygen species - ROS, reactive nitrogen species - RNS) được xem là yếu tố then chốt trong cơ chế bệnh sinh của nhiều bệnh mạn tính, đặc biệt là bệnh tim mạch, chuyển hoá và thoái hoá thần kinh [1, 2]. Trong điều kiện sinh lý, cơ thể luôn duy trì trạng thái cân bằng giữa quá trình hình thành ROS/RNS và hệ thống chống oxy hoá nội sinh. Khi sự cân bằng này bị phá vỡ, các gốc tự do gia tăng sẽ gây tổn thương các phân tử sinh học như lipid, protein và ADN, dẫn đến rối loạn chức năng và chết tế bào, từ đó thúc đẩy quá trình tiến tiển của nhiều bệnh lý nghiêm trọng [3]. Các chất chống oxy hóa có khả năng trung hòa gốc tự do đóng vai trò quan trọng trong bảo vệ cơ thể trước stress oxy hóa. Đặc biệt, các chất chống oxy hóa tự nhiên từ dược liệu ngày càng được quan tâm do tính an toàn và khả năng tác động đa đích [4]. Tuy nhiên, hiệu quả chống oxy hoá của các chế phẩm có nguồn gốc từ dược liệu phụ thuộc lớn vào thành phần, tỷ lệ kết hợp cũng như sự tương tác giữa các hợp chất có hoạt tính, trong

* Tác giả liên hệ.
Địa chỉ email: thudk.ump@vnu.edu.vn

https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4897

khi nhiều công thức phối hợp dược liệu hiện nay chưa được tối ưu một cách hệ thống.

Thiết kế hỗn hợp D-optimal (D-optimal mixture design) là phương pháp thiết kế thí nghiệm hiện đại, cho phép tối ưu hóa công thức đa thành phần thông qua tính toán tối ưu về thông tin [5]. Nguyên tắc của thiết kế D-optimal là lựa chọn tập hợp các thí nghiệm sao cho độ chính xác dự đoán của mô hình được tối đa hóa, bằng cách tối đa định thức ma trận thông tin. Ưu điểm nổi bật của thiết kế D-optimal là số lượng thí nghiệm ít hơn so với các thiết kế cổ điển, giúp giảm chi phí và thời gian mà vẫn đảm bảo độ tin cậy [6, 7]. Xuất phát từ những cơ sở trên, nghiên cứu này được tiến hành nhằm ứng dụng thiết kế hỗn hợp D-optimal để tối ưu hóa công thức chế phẩm chống oxy hóa mới chứa phytosome cao hòe giàu quercetin cùng cao chuẩn hóa gừng, rau má và đinh lăng. Kết quả nghiên cứu sẽ xác định được tỷ lệ phối trộn tối ưu của các thành phần nhằm đạt hoạt tính chống oxy hóa cao nhất.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là phytosome cao hoè giàu quercetin (hàm lượng quercetin 26,05 ± 0,34%, hàm lượng quercetin trong cao hoè đạt 92,22 ± 1,21%) từ nụ hoa hoè (*Flos Styphnolobii japonici immaturus*); cao chuẩn hoá gừng từ thân rễ gừng (*Rhizoma Zingiberis*) (hàm lượng 6-gingerol 8,23 ± 0,19%); cao chuẩn hoá rau má từ rau má (*Herba Centellae asiaticae*) (hàm lượng tổng madecassosid và asiaticosid đạt 56,54 ± 1,47%) và cao chuẩn hoá đinh lăng từ lá đinh lăng (*Polyscias fruticose* (L.) Hams) (hàm lượng acid oleanolic 1,66 ± 0,06%) được phối trộn theo các tỷ lệ khác nhau.

Chuẩn bị mẫu thử: trong thử nghiệm tác dụng dọn gốc tự do DPPH và tổng tác dụng chống oxy hoá, mẫu thử là hỗn hợp cao chuẩn hoá được hoà tan trong DMSO để tạo dung dịch gốc nồng độ 50 mg/ml. Từ dung dịch gốc pha loãng thành các nồng độ thấp hơn bằng MeOH.

2.2. Hoá chất, thiết bị nghiên cứu

i) Hoá chất nghiên cứu

DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Sigma Aldrich, Mỹ); quercetin (PHR 1488, Sigma Aldrich, Mỹ); ammonium molybdate tetrahydrate (Sigma, Singapore); acid ascorbic (Wako, Nhật Bản); methanol (Meck, Đức);

ii) Thiết bị nghiên cứu

Cân phân tích AY 220 (Shimadzu AY 220, Nhật); hệ thống ELISA bao gồm máy đọc khay vi tinh thể (Biotek, Mỹ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thiết kế hỗn hợp D-optimal

Trong thiết kế D-optimal, các thành phần rằng buộc theo công thức tổng quát sau:

$\sum Xj = 100\ \%$ và $Lj \leq Xj \leq Uj$

Trong đó: Xj là thành phần độc lập; Lj: giới hạn dưới; Uj: giới hạn trên.

Bốn biến khảo sát trong nghiên cứu và giới hạn tỷ lệ được xác định dựa vào nghiên cứu thực nghiệm ước tính như sau: Phytosome cao hòe (A): 20 - 50%; cao chuẩn hoá gừng (B): 10 - 40%; cao chuẩn hoá rau má (C): 15 - 40%; cao chuẩn hoá đinh lăng (D): 10 - 25%. Ma trận thiết kế gồm 15 công thức phối trộn được tạo ra bằng phần mềm Design Expert phiên bản 9.0.3.1 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, Mỹ).

2.2.2. Đánh giá khả năng dọn gốc tự do DPPH

Nguyên tắc: DPPH (*1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl*) là một gốc tự do bền, dung dịch có màu tím, bước sóng cực đại hấp thụ ở bước sóng 517 nm. Các chất có khả năng chống oxy hóa khi cho vào dung dịch DPPH cho sản phẩm khử 1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazin có màu vàng, hấp thụ ánh sáng ở bước sóng 517 nm [8].

Cách tiến hành: Thí nghiệm được tiến hành theo nghiên cứu của Kumar [8]. Hỗn hợp phản ứng gồm: 20 µl dung dịch mẫu thử/ chất đối chứng/MeOH và 180 µl dung dịch DPPH 0,1 mM. Trộn đều hỗn hợp rồi ủ 30 phút trong bóng tối ở nhiệt độ phòng. Quercetin được sử dụng là đối chứng dương, thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Dung dịch sau khi phản ứng đem đo độ hấp thụ

ở bước sóng 517 nm. Phần trăm dọn gốc tự do DPPH (I%) được tính theo công thức:

$$I\% = \frac{ODtr - ODth}{ODtr} \times 100\%$$

Trong đó: I (%): phần trăm dọn gốc tự do DPPH; OD_{tr}: Độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch mẫu trắng; OD_{th}: Độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch mẫu thử/mẫu đối chứng.

IC_{50} là nồng độ của mẫu thử/mẫu đối chứng có khả năng dọn 50% gốc tự do DPPH, được xác định bằng phần mềm GraphPad Prim 9.0.

2.2.3. Đánh giá tổng khả năng chống oxy hóa

Nguyên tắc: Tổng khả năng chống oxy hóa (TAC) được xác định theo phương pháp phosphomolybden [9] dựa trên khả năng khử Mo (VI) thành Mo (V) của các chất chống oxy hoá và hình thành phức hợp màu xanh có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 695 nm.

Cách tiến hành: Hỗn hợp phản ứng gồm: 200 µl dung dịch thuốc thử (0,6 M H_2SO_4, 28 mM NaH_2PO_4 và 4 mM $(NH_4)_6Mo_7O_{24}\cdot 4H_2O$) và 20 µl mẫu thử/chất đối chứng ở nồng độ xác định, đậy kín ủ ở 95°C trong 90 phút, sau đó làm nguội ở nhiệt độ phòng. Dung dịch sau phản ứng đem đo độ hấp thụ tại bước sóng 695 nm. Dung dịch acid ascorbic (25 - 200 µg/ml) được dùng để dựng đường chuẩn. Hàm lượng chất chống oxy hoá được quy tương đương lượng acid ascorbic trên mỗi gam (µmol AAE/g).

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý bằng phương pháp thống kê y sinh học, sử dụng phần mềm SPSS 22.0 và Excel 2023. Kết quả được biểu diễn dưới dạng M ± SE (M: giá trị trung bình, SE: sai số chuẩn) hoặc M ± khoảng tin cậy 95%. Nồng độ có tác dụng ức chế 50% (IC_{50}) được tính bằng phương pháp hồi quy phi tuyến tính trên phần mềm GraphPad Prim 9.0

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả thiết kế công thức

Kết quả tiến hành thực nghiệm theo ma trận thiết kế D-optimal của 15 công thức phối trộn (Bảng 1) được sử dụng để xây dựng mô hình hồi quy cho hai biến phản hồi. Kết quả phân tích phương sai (ANOVA) của các biến phản hồi được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 1. Thiết kế tỷ lệ phối trộn các thành phần phytosome cao hoè giàu quercetin, cao chuẩn hoá gừng, cao chuẩn hoá rau má, cao chuẩn hoá đinh lăng và kết quả thực nghiệm

Công thức phối trộn	A (%)	B (%)	C (%)	D (%)	Kết quả thực nghiệm	
					DPPH *in vitro* IC_{50} (µg/ml)	TAC (µmol AAE/g)
F1	29	19	35	17	8,03 ± 0,09	38,30 ± 1,68
F2	34	39	17	10	6,68 ± 0,15	41,90 ± 1,80
F3	20	15	40	25	10,81 ± 0,32	35,25 ± 2,02
F4	50	18	22	10	5,69 ± 0,11	43,83 ± 2,93
F5	41	26	15	18	5,98 ± 0,17	41,95 ± 3,79
F6	20	35	28	17	9,58 ± 0,27	37,65 ± 1,11
F7	41	10	24	25	6,35 ± 0,26	40,01 ± 1,64
F8	29	30	16	25	7,71 ± 0,34	39,21 ± 2,79
F9	32	31	26	12	7,13 ± 0,41	40,82 ± 2,87
F10	31	20	24	25	7,65 ± 0,22	38,53 ± 3,96
F11	24	26	40	10	8,87 ± 0,35	36,12 ± 1,29
F12	20	40	15	25	9,41 ± 0,35	37,75 ± 2,76
F13	39	10	35	17	6,64 ± 0,43	40,66 ± 1,01
F14	50	10	15	25	5,36 ± 0,27	42,25 ± 1,09
F15	39	21	30	10	6,30 ± 0,17	41,35 ± 3,55

Kết quả Bảng 2 cho thấy, mô hình hồi quy bậc hai (quadratic) để mô tả mối liên hệ giữa các công thức phối trộn và hoạt tính dọn gốc tự do DPPH có ý nghĩa thống kê cao (F = 564,7; p < 0,001), và mức độ phù hợp, khả năng dự đoán tốt (R^2 = 0,9972 và R^2 dự đoán = 0,9843). Các thành phần hỗn hợp tuyến tính (A, B, C, D) thể hiện ảnh hưởng đáng kể nhất đến khả năng dọn gốc tự do DPPH, với giá trị F đạt 1624,91. Ngoài ra, các tương tác giữa A–B, A–C, A–D, B-C cho thấy ảnh hưởng đáng kể đến biến phản hồi (p < 0,05; F lớn). Trong khi đó các tương tác B-D và C-D không ảnh hưởng đáng kể đến biến phản hồi (p > 0,05).

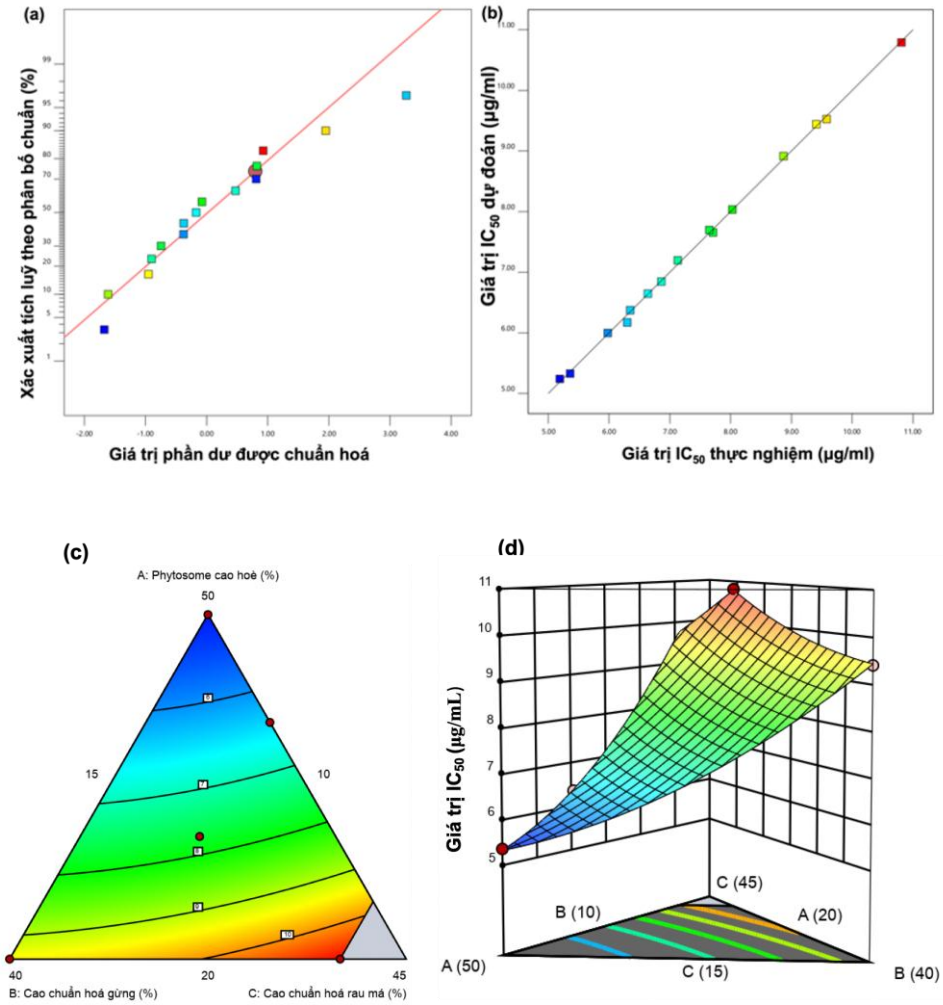
Đối với biến phản hồi TAC, mô hình tuyến tính (linear) để mô tả mối quan hệ giữa các công thức phối trộn và tổng tác dụng chống oxy hoá có ý nghĩa thống kê, mức độ độ phù hợp cao và đáng tin cậy (R^2 = 0,9420 và R^2 dự đoán = 0,9074). Ảnh hưởng của các thành phần A, B, C và D tới chỉ tiêu tổng tác dụng chống oxy hoá TAC được tuân theo mô hình hồi quy tuyến tính với giá trị p < 0,0001. Ngoài ra, mô hình này cũng phản ánh không có sự tương tác giữa các thành phần ảnh hưởng tới tổng tác dụng chống oxy hoá TAC.

Bảng 2. Kết quả bảng ANOVA cho các biến phản hồi

Nguồn biến thiên	Tổng bình phương	Bậc tự do	Bình phương trung bình	Giá trị F	Giá trị p
Biến phản hồi tác dụng dọn gốc tự do DPPH					
Mô hình	37,37	9	4,15	564,74	< 0,0001
Hỗn hợp tuyến tính	35,84	3	11,95	1624,91	< 0,0001
Tương tác giữa A và B	0,4267	1	0,4267	58,04	0,0006
Tương tác giữa A và C	0,7807	1	0,7807	106,19	0,0001
Tương tác giữa A và D	0,1304	1	0,1304	17,74	0,0084
Tương tác giữa B và C	0,0696	1	0,0696	9,47	0,0276
Tương tác giữa B và D	0,0100	1	0,0100	1,36	0,2961
Tương tác giữa C và D	0,0000	1	0,0000	0,0017	0,9690
Phần dư	0,0368	5	0,0074		
Tổng biến thiên đã hiệu chỉnh	37,40	14			
Phương trình dự đoán	5,13 x A + 9,33 x B + 11,33 x C + 11,24 x D – 5,33 x AB – 8,55 x AC – 8,28 x AD – 3,01 x BC – 2,36 x BD – 0,0875 x CD				
	R^2 = 0,9972; R^2 dự đoán = 0,9843				
Biến phản hồi tổng tác dụng chống oxy hoá (TAC)					
Mô hình	78,88	3	26,29	76,72	< 0,0001
Hỗn hợp tuyến tính	78,88	3	26,29	76,72	< 0,0001
Phần dư	3,77	11	0,3427		
Tổng biến thiên đã hiệu chỉnh	82,65	14			
Phương trình dự đoán	47,12 x A + 39,65 x B + 34,76 x C + 33,99 x D				
	R^2 = 0,9420; R^2 dự đoán = 0,9074				

Bảng 3. Kết quả tối ưu hoá công thức phối trộn các thành phần trong công thức

STT	Phytosome cao hoè (%)	Cao chuẩn hoá gừng (%)	Cao chuẩn hoá rau má (%)	Cao chuẩn hoá đinh lăng (%)	IC_{50} (dự đoán)	TAC (dự đoán)	Chỉ số mức độ tối ưu tổng thể
1	50	17,66	22,34	10	5,24	43,83	0,995
2	50	18,65	15	16,35	5,28	43,83	0,992
3	50	10	30	10	5,30	43,00	0,941
4	50	10	15	25	5,33	42,74	0,923
5	42,50	32,50	15	10	5,90	43,82	0,910



Hình 1. Đồ thị chẩn đoán và đồ thị phản hồi cho tác dụng dọn gốc tự do DPPH *in vitro* theo các thành phần phối trộn.

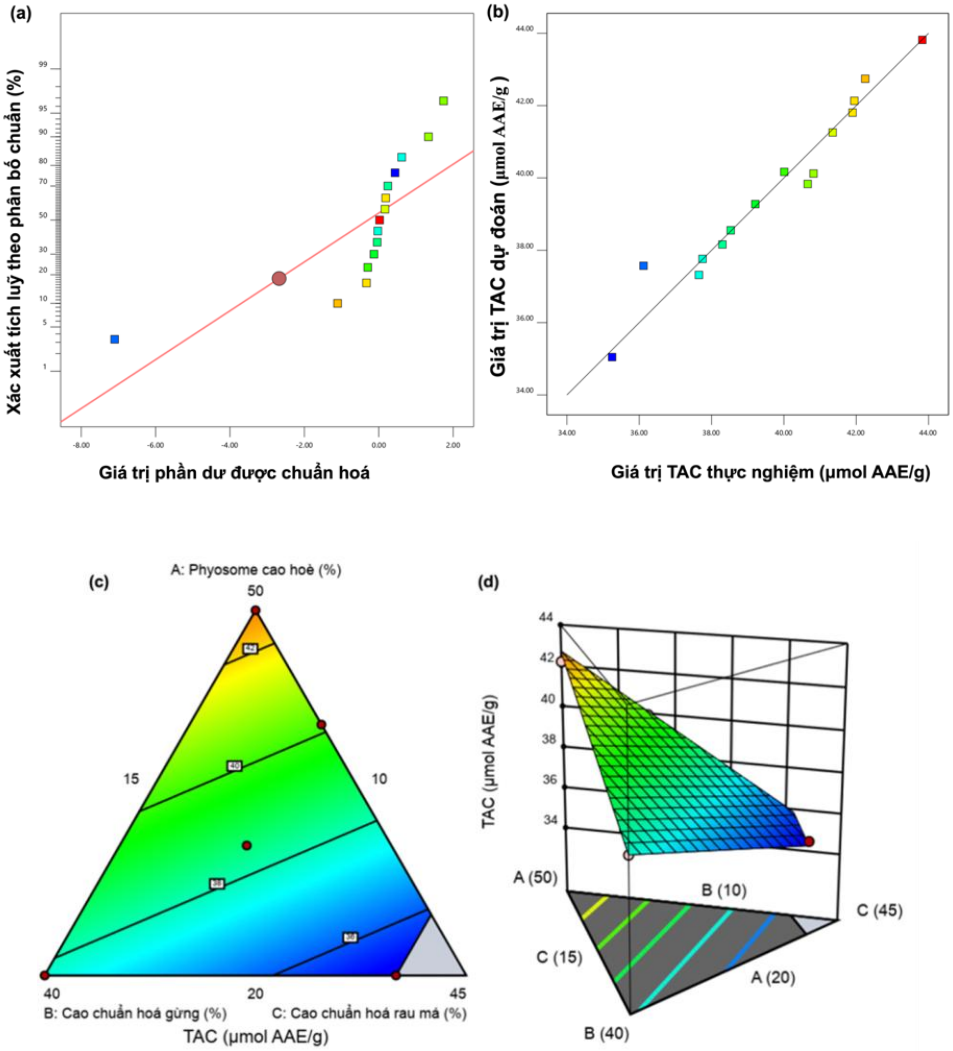
Ghi chú: (a) biểu đồ xác suất chuẩn của phần dư: (b) biểu đồ so sánh giữa giá trị thực nghiệm và giá trị dự đoán; (c) biểu đồ đồng mức; (d) biểu đồ bề mặt 3 chiều thể hiện ảnh hưởng của các thành phần phối trộn đến đáp ứng DPPH; A: phytosome cao hoè giàu quercetin; B: cao chuẩn hoá gừng; C: cao chuẩn hoá rau má; D: cao chuẩn hoá đinh lăng (cố định mức giả định 25%).

Kết quả kiểm định mô hình với biến phản hồi là tác dụng dọn gốc tự do DPPH *in vitro* được trình bày ở Hình 1.

Biểu đồ xác suất chuẩn phần dư (Hình 1a) cho thấy các điểm dữ liệu phân bố đồng đều quanh đường chéo, không có điểm ngoại lai rõ rệt điều đó cho thấy phần dư tuân theo phân phối chuẩn và mô hình đáp ứng tốt các giả định thống kê. Phân tích biểu đồ so sánh giữa giá trị thực nghiệm và giá trị dự đoán (Hình 1b) cho thấy các điểm phân bố gần sát trên đường chéo, phản ánh mức độ tương đồng cao giữa giá trị dự đoán của mô hình và dữ liệu thực nghiệm, qua đó khẳng định khả năng dự báo chính xác của mô hình đối với tác dụng dọn gốc tự do DPPH.

Phân tích biểu đồ đồng mức (Hình 1c) và biểu đồ bề mặt ba chiều (Hình 1d) cho thấy ảnh hưởng rõ rệt của tỷ lệ từng thành phần trong hỗn hợp đến tác dụng dọn gốc tự do DPPH, thể hiện thông qua giá trị IC_{50}. Cụ thể, khi tăng tỷ lệ

phytosome cao hòe giàu quercetin lên khoảng 45 - 50%, giá trị IC_{50} giảm đáng kể, đạt mức thấp nhất khoảng 5,36 µg/ml. Ngược lại, khi tăng tỷ lệ cao chuẩn hoá gừng hoặc cao chuẩn hoá rau má lên khoảng 40-45% làm tăng giá trị IC_{50} (khoảng 10,81 µg/ml), trong đó cao chuẩn hoá gừng thể hiện xu hướng làm tăng IC_{50} rõ rệt hơn. Kết quả của nghiên cứu này phù hợp với xu hướng được báo cáo trong các tài liệu trước đó. Theo các nghiên cứu quercetin cho hiệu quả IC_{50} DPPH dao động quanh mức 2,9 – 4,0 µg/ml [10, 11]. Trong khi đó, gừng và rau má cho hiệu quả IC_{50} lần lượt là khoảng 12,9 µg/ml và 44,4 µg/ml [12, 13]. Như vậy, phytosome cao hòe giàu quercetin là thành phần quyết định chính đến hiệu quả chống oxy hóa và nên được ưu tiên trong công thức để đạt hiệu quả tối ưu.



Hình 2. Đồ thị chẩn đoán và đồ thị phản hồi theo tổng tác dụng chống oxy hoá TAC theo các thành phần phối trộn.

Ghi chú: (a) biểu đồ xác suất chuẩn của phần dư: (b) biểu đồ so sánh giữa giá trị thực nghiệm và giá trị dự đoán; (c) biểu đồ đồng mức; (d) biểu đồ bề mặt 3 chiều thể hiện ảnh hưởng của các thành phần phối trộn đến đáp ứng TAC; A: phytosome cao hoè; B: cao chuẩn hoá gừng; C: cao chuẩn hoá rau má; D: cao chuẩn hoá đinh lăng (cố định mức giả định 25%).

Kết quả kiểm định giả định mô hình với biến phản hồi tổng tác dụng chống oxy hoá (TAC) được trình bày ở Hình 2.

Biểu đồ chuẩn hóa phần dư (Hình 2a) và biểu đồ so sánh giữa giá trị thực nghiệm và giá trị dự đoán (Hình 2b) cho thấy mô hình hồi quy tuyến tính phù hợp, phân phối phần dư hợp lý, không có sai số hệ thống rõ rệt. Những kết quả này cho thấy mô hình đáp ứng các giả định của hồi quy tuyến tính, qua đó khẳng định khả năng dự báo chính xác của mô hình đối với tổng tác dụng chống oxy hoá.

Phân tích biểu đồ đồng mức (Hình 2c) và biểu đồ bề mặt ba chiều (Hình 2d) cho thấy khi tỷ lệ phytosome cao hòe giàu quercetin (A) tăng, TAC cũng tăng, đạt tối đa khoảng 42 µmol AAE/g tại A = 50%. Ngược lại, cao chuẩn hoá rau má (C) làm giảm TAC khi tỷ lệ tăng, thấp nhất khoảng 35,25 µmol AAE/g khi C chiếm ưu thế. Cao chuẩn hoá gừng (B) có ảnh hưởng trung gian, hỗ trợ tăng TAC khi kết hợp với A ở mức cao. Điều này gợi ý rằng phytosome cao hòe giàu quercetin là yếu tố quyết định chính tới tổng tác dụng chống oxy hoá của hỗn hợp khảo sát, qua đó cung cấp cơ sở khoa học cho việc ưu tiên thành phần này trong công thức.

3.2. Kết quả tối ưu hoá công thức

Việc xác định tỷ lệ phối trộn tối ưu thực hiện dựa trên khả năng dọn gốc tự do DPPH *in vitro* với giá trị IC_{50} được đặt mục tiêu thấp nhất, và tổng tác dụng chống oxy hoá TAC được thiết lập cho giá trị cao nhất. Kết quả tối ưu hoá các tỷ lệ được trình bày ở Bảng 3.

Trong số 5 công thức phần mềm chỉ ra, công thức 1 chứa 50% phytosome cao hòe giàu quercetin, 17,66% cao chuẩn hoá gừng, 22,34% cao chuẩn hoá rau má và 10% cao chuẩn hoá đinh lăng cho chỉ số tối ưu tổng thể cao nhất (0,995). Thông qua mô hình, tác dụng chống oxy hóa dự đoán cao nhất với IC_{50} đạt 5,24 µg/ml và TAC đạt 43,83 µmol AAE/g.

3.3. Kết quả đánh giá tác dụng chống oxy hoá thực nghiệm của công thức tối ưu

Kết quả tác dụng dọn gốc tự do DPPH *in vitro* của công thức tối ưu được trình bảy ở bảng 4. Kết quả cho thấy, chứng dương quercetin thể hiện khả năng dọn gốc tự do DPPH *in vitro* phụ thuộc vào nồng độ, giá trị IC_{50} là 2,97 µg/ml với khoảng tin cậy 95% của IC_{50} là 2,65 - 3,33 µg/ml. Công thức tối ưu thể hiện khả năng dọn gốc tự do DPPH *in vitro* mạnh, phụ thuộc vào nồng độ, giá trị IC_{50} là 6,38 µg/ml với khoảng tin cậy 95% của IC_{50} là 5,96 - 6,87 µg/ml.

Tổng tác dụng chống oxy hoá của công thức tối ưu được xác định dựa vào đường chuẩn acid ascorbic với phương trình hồi quy tuyến tính $y = 0,0035x + 0,0461$ ($R^2 = 0,9997$). Kết quả trình bày ở Bảng 5 cho thấy công thức tối ưu có tổng tác dụng chống oxy hoá TAC là 41,05 ± 0,95 µmol AAE/g. Điều đáng chú ý là kết quả thực nghiệm sát với giá trị dự đoán từ mô hình tối ưu D-optimal, qua đó khẳng định tính chính xác và khả năng dự báo tốt của mô hình.

Như vậy, hoạt tính chống oxy hoá của công thức phối trộn được cải thiện rõ rệt thông qua đánh giá tác dụng dọn gốc tự do DPPH và khả năng chống oxy hoá tổng. Điều này có thể liên quan đến sự phối hợp cảu các nhóm hợp chất có hoạt tính sinh học trong từng dược liệu riêng lẻ như polyphenol, flavonoid và saponin có trong từng dược liệu. Kết quả thu được phù hợp với các nghiên cứu đã công bố cho thấy sự phối hợp giữa các nguồn polyphenol có thể làm tăng hiệu quả chống oxy hóa gấp nhiều lần so với sử dụng đơn lẻ từng hợp chất. Bên cạnh đó, việc chuẩn hoá các cao chiết theo các chất có hoạt tính sinh học cũng có thể góp phần làm tăng hiệu quả chống oxy hoá. Một số nghiên cứu trước đây cũng cho rằng việc phối hợp các nguồn polyphenol từ thực vật giúp tăng hiệu quả chống oxy hóa nhờ cơ chế cộng hưởng, tạo nên tác dụng cộng gộp [14-16]. Kết quả tối ưu hóa cho thấy việc phối trộn hợp lý các dược liệu giúp khai thác tối đa tiềm năng từng thành phần, qua đó lựa chọn được công thức có hoạt tính cao nhất làm tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo và đánh giá cơ chế tác dụng sâu hơn. Các kết quả này cũng gợi ý tiềm năng ứng dụng của công thức trong các lĩnh vực như thực phẩm bảo vệ sức khoẻ, mỹ phẩm, trong đó hoạt tính chống oxy hoá đóng vai trò quan trọng.

Bảng 4. Kết quả tác dụng dọn gốc tự do DPPH *in vitro* của công thức phối trộn 1

Mẫu	Nồng độ (µg/ml)	% ức chế DPPH	IC_{50} (µg/ml) (Khoảng tin cậy 95% của IC_{50})
Hỗn hợp cao chuẩn hoá (M-STD)	5	41,27 ± 0,99	6,38 (5,96 – 6,87)
	10	64,94 ± 1,60	
	25	83,67 ± 2,10	
	50	94,26 ± 1,66	
	100	96,46 ± 1,34	
Quercetin	0,5	8,90 ± 0,91	2,97 (2,65 – 3,33)
	1	16,78 ± 1,05	
	3	47,35 ± 1,21	
	5	77,05 ± 1,30	
	10	94,54 ± 2,10	
	25	98,87 ± 0,69	

Bảng 5. Tổng tác dụng chống oxy hoá của công thức phối trộn 1

Mẫu	OD_{695}	TAC (µmol AAE/g)
Hỗn hợp cao chuẩn hoá (M-STD)	0,2924	39,96
	0,3023	41,56
	0,3028	41,64
Trung bình		41,05 ± 0,95

4. Kết luận

Nghiên cứu đã ứng dụng thành công thiết kế hỗn hợp D-optimal để tối ưu hoá công thức phối trộn chứa phytosome cao hoè giàu quercetin, cao chuẩn hoá gừng, cao chuẩn hoá rau mà và cao chuẩn hoá đinh lăng. Công thức tối ưu chứa 50% phytosome cao hòe giàu quercetin, 17,66% cao chuẩn hóa gừng, 22,34% cao chuẩn hóa rau má và 10% cao chuẩn hóa đinh lăng thể hiện hoạt tính chống oxy hoá mạnh với tác dụng dọn gốc tự do DPPH phụ thuộc vào nồng độ, giá trị IC_{50} là 6,38 (5,96 - 6,87) và tổng tác dụng chống oxy hoá cao, giá trị TAC là 41,05 µmol AAE/g. Những kết quả này bước đầu khẳng định tiềm năng ứng dụng của công thức tối ưu trong phát triển sản phẩm từ dược liệu nhằm hỗ trợ điều trị các bệnh mạn tính liên quan tới stress oxy hoá.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi nhiệm vụ Khoa học QG.22.76 của Đại học Quốc gia Hà Nội.

Tài liệu tham khảo

[1] V. P. Reddy, Oxidative Stress in Health and Disease, Biomedicines, Vol. 11, No. 11, 2023, https://doi.org/10.3390/biomedicines11112925.

[2] R. H. G. Rarison, V. L. Truong, B. H. Yoon, J. W. Park, W. S. Jeong, Antioxidant and Anti-Inflammatory Mechanisms of Lipophilic Fractions from *Polyscias Fruticosa* Leaves Based on Network Pharmacology, *In Silico*, and *In Vitro* Approaches, Foods, Vol. 12, No. 19, 2023, https://doi.org/10.3390/ foods12193643.

[3] H. J. Forman, H. Zhang, Targeting Oxidative Stress in Disease: Promise and Limitations of Antioxidant Therapy, Nature Reviews Drug Discovery, Vol. 20, No. 9, 2021, pp. 689-709, https://doi.org/10.1038/s41573-021-00233-1.

[4] P. Ballester, B. Cerdá, R. Arcusa, A.M. García-Muñoz, J. Marhuenda, P. Zafrilla, Antioxidant Activity in Extracts from Zingiberaceae Family: Cardamom, Turmeric, and Ginger, Molecules, Vol. 28, No. 10, 2023, https://doi.org/10.3390/molecules28104024.

[5] P. B. Farrah, S. A. G Siti, S. Rosnah, The Use of D-Optimal Mixture Design in Optimising Okara Soap Formulation for Stratum Corneum Application, Scientific World Journal, 2014, http://dx.doi.org/10.1155/2014/173979.

[6] N. Kumar, Shishu, D-Optimal Experimental Approach for Designing Topical Microemulsion of Itraconazole: Characterization and Evaluation of Antifungal Efficacy Against a Standardized Tinea Pedis Infection Model in Wistar rats, Eur J Pharm Sci, Vol. 67, 2015, pp. 97-112, https://doi.org/10.1016/j.ejps.2014.10.014.

[7] N. I. Zen, S. S. A. Gani, R. Shamsudin, H. R. F. Masoumi, The Use of D-Optimal Mixture Design in Optimizing Development of Okara Tablet Formulation as a Dietary Supplement, Scientific World Journal, Vol. 2015, No. 1, 2025, http://dx.doi.org/10.1155/2015/684319.

[8] S. S. Kumar, A. Patra, Evaluation of Phenolic Composition, Antioxidant, Anti-inflammatory and Anticancer Activities of *Polygonatum Verticillatum (L.),* J Integr Med, Vol. 16, No. 4, 2018, pp. 273-282, https://doi.org/10.1016/j.joim.2018.04.005.

[9] P. Prieto, M. Pineda, M. Aguilar, Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E, Anal Biochem, Vol. 269, No. 2, 1999, pp. 337-341, https://doi.org/10.1006/abio.1999.4019.

[10] A. Zuo, Y. Yu, J. Li, B. Xu, X. Yu, Y. Qui, S. Cao, Study on the Relation of Structure and Antioxidant Activity of Isorhamnetin, Quercetin, Phloretin, Silybin and Phloretin Isonicotinyl Hydrazone, Free Radicals and Antioxidants, Vol. 1, No, 4, 2011, pp. 39-47, https://doi.org/10.5530/ax.2011.4.7.

[11] M. Kalinowska, H. Lewandowska, M. Pruszyński, Co(II) Complex of Quercetin–Spectral, Anti-/Pro-Oxidant and Cytotoxic Activity in HaCaT Cell Lines. Applied Sciences, Vol. 11, No. 19, 2021, https://doi.org/10.3390/app11199244.

[12] B. T. Tung, D. K. Thu, N. T. K. Thu, N. T. Hai, Antioxidant and Acetylcholinesterase Inhibitory Activities of Ginger Root *(Zingiber officinale Roscoe)* Extract, J Complement Integr Med, Vol. 14, No. 4, 2017, https://doi.org/10.1515/jcim-2016-0116.

[13] M. Rahman, S. Hossain, A. Rahaman, Antioxidant Activity o*f Centella asiatica (Linn.)* Urban: Impact of Extraction Solvent Polarit, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, Vol. 1, No. 6, 2013, pp. 27-32.

[14] G. Squeo, D. D. Angelis, R. Leardi, C. Summo, F. Caponio, Background, Applications and Issues of the Experimental Designs for Mixture in the Food Sector, Foods, Vol. 10, No. 5, 2021, https://doi.org/10.3390/foods10051128.

[15] L. J. R. Lawless, A. C. Drichoutis, R. M. Nayga, Identifying Product Attributes and Consumer Attitudes that Impact Willingness to Pay for a Nutraceutical-Rich Juice Product, Journal of Sensory Studies, Vol. 30, No. 2, 2015, pp. 156-168, https://doi.org/10.1111/joss.12148.

[16] N. P. Seeram, M. Aviram, Y. Zhang, Comparison of Antioxidant Potency of Commonly Consumed Polyphenol-Rich Beverages in the United States, J Agric Food Chem, Vol. 56, No. 4, 2008, pp. 1415-1422, https://doi.org/10.1021/jf073035s.