

Quy trình chiết xuất cao ngũ vị tử giàu hợp chất lignan được xây dựng dựa trên ba tiêu chí đánh giá: Hàm lượng cao chiết được, hàm lượng lignan tổng số trong cao chiết và hiệu suất chiết lignan. Quy trình chiết xuất sử dụng dung môi là ethanol 80% và tinh chế, làm giàu lignan bằng dung môi ethyl acetat, đều là những dung môi thuộc nhóm 3 (theo quy định trong DDVN) - ít độc và có nguy cơ thấp đối với sức khỏe con người. Từ nguyên liệu là dược liệu ngũ vị tử có hàm lượng lignan tổng tính trên 3 thành phần schisandrin, gomisins B và schisandrin A đạt 0,59%, cao chiết ngũ vị tử thu được có hàm lượng lignan đạt 6,39%, tức là quy trình chiết xuất, tinh chế đã tăng hàm lượng lignan lên 10,8 lần, với hiệu suất chiết lignan đạt 77,3%. Kết quả nghiên cứu quy mô phòng thí nghiệm và nâng cấp lên quy mô 2 kg dược liệu/mẻ cho thấy quy trình chiết xuất, tinh chế cao ngũ vị tử giàu hợp chất lignan là ổn định, khả thi và có thể nâng cấp thành quy mô pilot. Cao chiết ngũ vị tử giàu hợp chất lignan thu được có tiềm năng sử dụng làm nguyên liệu đầu vào cho việc bào chế tạo sản phẩm hỗ trợ điều trị các bệnh về gan như viêm gan, xơ gan...

5. Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng được quy trình chiết xuất và tinh chế thu cao chiết giàu hợp chất lignan từ dược liệu ngũ vị tử Ngọc Linh thu hái tại Kon Tum, Việt Nam ở quy mô phòng thí nghiệm. Các điều kiện chiết xuất được lựa chọn bao gồm: sử dụng phương pháp chiết nóng ở 60°C, dung môi chiết là ethanol 80%, kích thước nguyên liệu 1 - 3 mm, chiết 2 lần với tỷ lệ nguyên liệu/dung môi là 1/8 và 1/5 (g/mL), thời gian chiết là 1 giờ/1 lần chiết. Quá trình tinh chế làm giàu hợp chất lignan được thực hiện bằng phương pháp chiết phân bố lỏng - lỏng với dung môi ethyl acetat với tỷ lệ 1/1 (v/v), chiết 3 lần. Ở quy mô phòng thí nghiệm 5 g dược liệu/mẻ, cao chiết sau tinh chế thu được có hàm lượng lignan đạt 6,39%, hiệu suất thu hồi lignan của cả quy trình đạt 84,47%. Ở quy mô 2 kg dược liệu/mẻ, cao chiết sau tinh chế thu được có hàm lượng lignan đạt 6,24%, hiệu suất thu hồi lignan của cả quy trình đạt 68,93%.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả chân thành cảm ơn Bộ Y tế - Viện Dược liệu đã tài trợ kinh phí để thực hiện nghiên cứu trong khuôn khổ đề tài cấp Bộ Y tế, đề tài "Nghiên cứu tạo sản phẩm hỗ trợ điều trị bệnh gan mạn tính từ ngũ vị tử (*Schisandra sphenanthera* Rehder et Wills.) thu hái tại Việt Nam".

Tài liệu tham khảo

1. Tạ Thành Văn (2018), Hóa sinh, NXB. Y học, Hà Nội, tr. 353-365.
2. Đỗ Tất Lợi (2004), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, NXB. Y học, Hà Nội, tr. 872-875.
3. Bộ Y tế (2017), Dược điển Việt Nam V, NXB. Y học.
4. Szopa A., Bamaš M., Ekiert H. (2019), Phytochemical studies and biological activity of three Chinese *Schisandra* species (*Schisandra sphenanthera*, *Schisandra henryi* and *Schisandra rubriflora*): current findings and future applications, *Phytochemistry Reviews*, 18, 109-128.
5. Lu L., Chen D. F. (2009), Review analysis of *Schisandra chinensis* and *Schisandra sphenanthera*, *Journal of Chromatography A*, 1216, 1980-1990.
6. Wan C. K., Tse A. K., Yu Z. L., Zhu G. Y., Wang H., Fong D. W. F. (2010), Inhibition of cytochrome P450 3A4 activity by schisandrol A and gomisins A isolated from *Fructus Schisandrae chinensis*, *Phytomedicine*, 17(8-9), 702-705.
7. Xu M., Dong Y., Wan S., Yan T., Cao J., Wu L., Bi K., Jia Y. (2016), Schisantherin B ameliorates Aβ1-42-induced cognitive decline via restoration of GLT-1 in a mouse model of Alzheimer's disease, *Physiology & Behavior*, 167, 265-273.
8. Nguyen Thi Ha Ly, Hoang Thi Tuyet, Nguyen Thi Lan Anh, Ta Thi Thao, Nguyen Thi Phuong, Nguyen Minh Khoi (2021), HPLC simultaneous determination of three lignans of *Schisandra sphenanthera* collected in Ngọc Linh mountain, Kon Tum province, Vietnam, *Journal of Medicinal Materials*, 26(5), 288-295.
9. Nguyễn Văn Hân, Đỗ Hữu Nghị (2017), Kỹ thuật chiết xuất dược liệu, *Giáo trình đào tạo dược sỹ đại học*.

Tạp chí Dược liệu, tập 29, số 1/2024 (Trang 35 - 41)

BÀO CHẾ VÀ TIÊU CHUẨN HÓA CAO KHÔ TỪ BÀI THUỐC CỔ TRUYỀN ĐÀO HỒNG TỬ VẬT THANG BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẤY TẦNG SÔI

Nguyễn Hữu Thìn, Nguyễn Thị Minh Anh, Nguyễn Việt Cường, Đoàn Văn Viên, Võ Văn Lệnh*

Khoa Dược, Đại học Lạc Hồng

*Email: vanlenh@lhu.edu.vn

(Nhận bài ngày 02 tháng 8 năm 2023)

Tóm tắt

Bài thuốc Đào Hồng Tử Vật (ĐHTV) từ lâu được sử dụng dưới dạng thuốc sắc để thúc đẩy lưu thông máu, trị rối loạn kinh nguyệt, các bệnh tim mạch như tăng huyết áp, đau thắt ngực. Tuy nhiên, thuốc sắc có nhiều bất lợi như thời gian sắc lâu, khó sử dụng, khó bảo quản. Vì vậy, nghiên cứu này nhằm chiết xuất, tiêu chuẩn hóa cao khô từ bài thuốc để tạo nguồn nguyên liệu sản xuất các dạng bào chế hiện đại, thuận tiện cho người dân tiếp cận, sử dụng. Cao khô ĐHTV được điều chế bằng phương pháp: sấy tĩnh và sấy tầng sôi; chuẩn hóa dựa trên các chỉ tiêu chất lượng: cảm quan, độ ẩm, định tính, định lượng, phân bố kích thước hạt, tỷ số Hausner, chỉ số Carr, góc nghỉ. Phương pháp sấy tầng sôi cho những đặc tính vượt trội hơn so với sấy tĩnh như rút ngắn thời gian; cao khô có lưu tính, độ chảy tốt, phân bố cỡ hạt đồng đều, đạt chỉ tiêu định tính, định lượng.

Từ khóa: Đào Hồng Tử Vật Thang, Cao khô, Ferulic acid, HPLC, Phương pháp tạo hạt tầng sôi.

Summary
**Preparation and Standardization of Dry Extracts from Traditional Medicine
of Tao Hong Si Wu Tang by Fluidized Bed Drying Method**

Tao Hong Si Wu Tang (THSWT) is a famous traditional Chinese herbal medicine formula, that has long been employed clinically to promote blood circulation to relieve women's irregular menses disorder and is also used to treat such as hypertension and angina. The form of decoction is being used commonly, however, there are many disadvantages such as prolonged decoction time, difficulty in use, storage, and transportation. Therefore, this study aims to extract and standardize the dried extracts from this decoction to create raw materials for the production of modern dosage forms, making it convenient for people to access and use. Dry extracts from THSWT were prepared by two methods: oven drying and fluidized bed drying; and were standardized based on the quality criteria: appearance, humidity, qualitative and quantitative determination, particle-size distribution, Hausner ratio, Carr index, angle of repose. Fluidized bed drying method shows properties much superior to oven drying one such as shortening time and reducing the risk of unstable active ingredients due to long exposure to high temperature; dry powder has very good fluidity, good flowability, uniform particle size distribution, achievement of qualitative and quantitative targets.

Keywords: Tao Hong Si Wu Tang, Dry extracts, Ferulic acid, HPLC, Fluid bed drying method.

1. Đặt vấn đề

Đào Hồng Tứ Vật (ĐHTV) gồm các vị thuốc: Đào, hồng hoa, đương quy, xuyên khung, xích thược, địa hoàng; với các công dụng dưỡng huyết, hoạt huyết hóa ứ, điều kinh [1]. Các tác dụng dược lý của bài thuốc đã được chứng minh như cải thiện tình trạng vi tuần hoàn, giúp tăng lượng máu nuôi dưỡng các cơ quan đặc biệt là tim, não [2], chống suy nhược cơ thể [3]. Dạng thuốc sắc đang được sử dụng phổ biến, tuy nhiên có nhiều bất lợi như thời gian sắc lâu, khó sử dụng và bảo quản, không đảm bảo tính an toàn và hiệu quả. Các dạng bào chế hiện đại như viên nén, viên nang, thuốc cốm sẽ giải quyết những bất lợi trên; cao khô chuẩn hóa từ bài thuốc là nguyên liệu phù hợp cho các dạng bào chế này. Phương pháp tạo hạt tầng sôi giúp cải thiện được nhiều tính chất của hạt, được ứng dụng trong bào chế tân dược, tuy nhiên chưa có nhiều ứng dụng trong chiết xuất, bào chế đông dược. Do đó, nghiên cứu này với mục đích chiết xuất và tiêu chuẩn hóa cao khô từ bài thuốc ĐHTV theo phương pháp tạo hạt tầng sôi nhằm tạo nguyên liệu cung cấp cho việc sản xuất các dạng bào chế hiện đại, giúp tiện lợi trong việc tiếp cận và sử dụng của người dân, cũng như phục vụ công tác nghiên cứu, đánh giá hiệu quả của bài thuốc.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên vật liệu

Nguyên liệu: Các vị thuốc đương quy di thực, xuyên khung, xích thược, địa hoàng, đào, hồng hoa được cung cấp bởi Bệnh viện Y học cổ truyền và Phục hồi chức năng Bình Định. Tất cả dược liệu được kiểm tra chất lượng theo chuyên luận riêng trong Dược điển Việt Nam V [4]. Tá dược Avicel PH 102, Lactose được cung cấp bởi Công ty TNHH MTV Hóa Dược Sài Gòn.

Dược liệu chuẩn, chất chuẩn: Đương quy di thực, Xuyên khung, Xích thược, Địa hoàng, Đào, Hồng hoa được cấp bởi Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương; acid ferulic hàm lượng 99,6%, SKS QT355 010521 được cung cấp bởi Viện Kiểm nghiệm thuốc thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Dung môi, hóa chất

Cloroform, ethyl acetat, ethanol (AR grade, Việt Nam); aceton, acid sulfuric, methanol, *n*-hexan (AR grade, Trung Quốc). Dung môi HPLC: Acetonitril, acid phosphoric (HPLC grade, Merck-Hoa Kỳ).

2.3. Trang thiết bị, dụng cụ nghiên cứu

Hệ thống HPLC-PDA (Agilent - Mỹ), cột phân tích Phenomenex Gemini C₁₈ (250 x 4,6 mm, 5 μm), máy sấy và tạo hạt tầng sôi FBDG-5 (T&T - Việt Nam), máy đo quang phổ UV-Vis EVO 300 PC (ThermoFisher - Mỹ), máy sàng rây AS200 (Retsch - Đức), máy đo tỷ trọng hạt PT-TD200 (Pharmatest - Đức), motor đa năng UAM (Pharmatest - Đức), cân sấy ẩm MB45 (Ohaus - Mỹ).

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Chiết xuất cao lỏng từ bài thuốc ĐHTV:

Thành phần bài thuốc gồm: Đào (*Semen Pruni*) 9 g, hồng hoa (*Flos Carthami tinctorii*) 6 g, đương quy di thực (*Radix Angelicae acutilobae*) 9 g, xuyên khung (*Rhizoma Ligustici wallichii*) 6 g, xích thược (*Radix Paeoniae*) 9 g, địa hoàng (*Radix Rehmanniae glutinosae*) 12 g [5].

Cân các vị thuốc tương ứng 100 thang thuốc (5100 g), ngâm với nước cất tỷ lệ 1:8 (kl/tt) trong 20 phút, sắc trong 30 phút (nồi chiết 300 L có cánh khuấy); lọc lấy dịch chiết; dược liệu được sắc thêm lần 2 với nước cất tỷ lệ 1:6 (kl/tt) trong 30 phút [5]; lọc và gom dịch chiết; cô dịch chiết trên bếp cách thủy ở nhiệt độ 75°C đến khi thu được cao có độ ẩm khoảng 50%.

2.4.2. Điều chế cao khô ĐHTV:

Khảo sát tá dược tạo cao khô

Cao dược liệu khi sấy khô thường có lưu tính kém, tính kết dính và khả năng hút ẩm cao nên khó sử dụng để bào chế các dạng thuốc cốm, viên nang hoặc viên nén; do đó, cần sử dụng các tá dược hỗ trợ để điều chế cao khô giúp cải thiện được các tính chất trên. Các tá dược hút như lactose, Avicel PH 102 được sử dụng để khảo sát khả năng tạo cao khô từ cao lỏng ĐHTV với tỷ lệ theo Bảng 1.

Bảng 1. Khảo sát loại và tỷ lệ tá dược điều chế cao khô ĐHTV

Công thức	Tỷ lệ cao ^(*) - tá dược (tổng 10 g)	
	cao - Lactose	cao - Avicel PH102
1	1:1	-
2	-	1:1
3	-	2:1
4	-	2:1,5

(*) cao được quy về hàm lượng nguyên trạng tương ứng độ ẩm 0%.

Điều chế cao khô bằng phương pháp sấy tĩnh và sấy tầng sôi

Sau khi chọn loại và lượng tá dược tạo được cao khô tốt nhất, nâng cỡ lô sản xuất cao khô lên cỡ lô tương ứng 1 kg cao đặc. Cao khô được điều chế theo 2 phương pháp sấy tĩnh và sấy tầng sôi, so sánh các tiêu chuẩn chất lượng để chọn phương pháp tốt hơn.

Phương pháp sấy tĩnh: Tương ứng với lượng cao lỏng tiến hành cân loại và lượng tá dược đã chọn. Trộn đều tá dược với cao, trải khối nhào ra khay inox với độ dày 1-1,5 cm, sấy trong tủ sấy tĩnh ở 75°C. Kiểm độ ẩm cao sau mỗi 30 phút, sấy đến khi cao đạt độ ẩm $\leq 5\%$. Cao khô được xay và rây qua rây 500 mesh.

Phương pháp sấy tầng sôi: Chuyển tá dược mang vào máy sấy tầng sôi. Cài đặt các thông số sấy: góc súng phun 90°, nhiệt độ 70°C, tốc độ bơm dịch phun 100 ml/phút, áp suất đầu phun 1 bar, độ mở đầu kim 2 bar, tần suất giữ lọc 2 phút/lần - lần 10 cái. Cao khô thu được tiến hành rây qua rây 500 mesh.

2.4.3. Đánh giá các tiêu chuẩn chất lượng của cao khô ĐHTV:

Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng acid ferulic trong cao khô

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC với đầu dò PDA, cột sắc ký Phenomenex Gemini C₁₈ (250 x 4,5 mm, 5 μ m), pha động acetonitril - acid phosphoric 0,2% (13,5 : 86,5), nhiệt độ cột 30°C, thể tích tiêm mẫu 50 μ l, tốc độ dòng 1,0 ml/phút, phát hiện ở bước sóng 320 nm.

Dung dịch đối chiếu gốc: Cân chính xác 3,8 mg acid ferulic đối chiếu vào bình định mức 200 ml. Thêm khoảng 100 ml pha động, siêu âm 10 phút, để nguội, thêm pha động đến vạch, lắc đều.

Dung dịch đối chiếu: Lấy chính xác 5 ml dung dịch đối chiếu gốc cho vào bình định mức 50 ml, thêm pha động đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 μ m. Dung dịch acid ferulic đối chiếu có nồng độ khoảng 1,9 μ g/mL.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g cao khô ĐHTV cho vào bình định mức 50 ml, thêm

Quy trình khảo sát: Thêm tá dược theo tỷ lệ tương ứng với mỗi công thức và trộn đều, làm khô cao trong vòng 4 giờ trong tủ sấy ở nhiệt độ 75°C. Cao khô được đánh giá các tiêu chí như tính bột dính, tính vón, độ ẩm. Chọn loại và lượng tá dược tạo được cao khô dễ cạo, dễ nghiền, bột cao tơi, không vón, độ ẩm thấp đồng thời ưu tiên công thức tải được lượng cao nhiều hơn.

30 ml pha động, siêu âm 10 phút, để nguội, thêm pha động tới vạch, lắc đều, lọc qua giấy lọc xếp nếp, bỏ khoảng 10 - 20 ml dịch lọc đầu, dịch lọc thu được lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

Quy trình phân tích được thẩm định các yêu cầu theo tiêu chuẩn ICH Q2R1 [6].

Độ đặc hiệu: Tiến hành sắc ký các mẫu dung dịch đối chiếu, dung dịch thử, dung dịch thử thêm đối chiếu, dung dịch placebo (cao gồm tá dược và các dược liệu trừ xuyên khung), dung dịch mẫu trắng: acetonitril - acid phosphoric 0,2% (13,5:85,5). Ghi nhận sắc ký đồ của các mẫu dung dịch khảo sát.

Tính tương thích hệ thống: Tiến hành sắc ký 6 lần dung dịch đối chiếu có nồng độ khoảng 1,9 μ g/mL. Ghi nhận các thông số sắc ký của 6 lần tiêm trên.

Tính tuyến tính: Chuẩn bị 6 dung dịch đối chiếu có nồng độ acid ferulic khác nhau (từ 0,63-5,08 μ g/mL) bằng cách pha loãng dung dịch đối chiếu gốc trong bình định mức 50 ml với dung môi pha động. Tiến hành sắc ký và ghi nhận diện tích pic thu được.

Độ lặp lại: Tiến hành sắc ký 06 mẫu dung dịch thử theo điều kiện đã mô tả.

Độ chính xác trung gian: Tiến hành sắc ký 06 mẫu dung dịch thử khác theo điều kiện đã mô tả bởi một kiểm nghiệm viên khác ở một ngày khác ngày thực hiện thẩm định độ lặp lại.

Độ đúng: Chuẩn bị các mẫu thẩm định độ đúng bằng cách thêm chất đối chiếu acid ferulic vào mẫu placebo cao khô ĐHTV không chứa dược liệu Xuyên khung ở 3 mức nồng độ 80, 100 và 120% so với nồng độ định lượng, mỗi mức nồng độ thực hiện 3 mẫu riêng biệt. Tiến hành sắc ký và ghi nhận diện tích pic thu được. Tính toán tỷ lệ hồi phục của các mẫu.

Cảm quan: Màu sắc, mùi vị, tính chất; **Độ ẩm:** Mất khối lượng do làm khô theo ĐDVN V-PL 9.6;

Định tính: Sắc ký lớp mỏng với dược liệu chuẩn đương quy, xuyên khung, địa hoàng, xích thực, đào, hồng hoa theo chuyên luận của Dược điển Việt Nam V.

Lưu tính: Phân bố kích thước hạt, góc chảy, chỉ số Carr, tỷ số Hausner theo USP44-NF39 [7].

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Chiết xuất cao lỏng từ bài thuốc

Sau khi sắc 100 thang thuốc thu được 2050,2

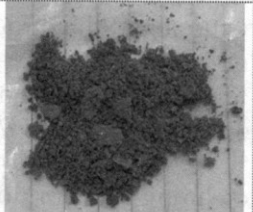
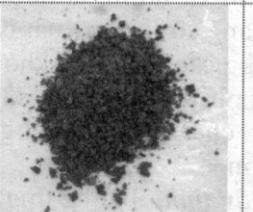
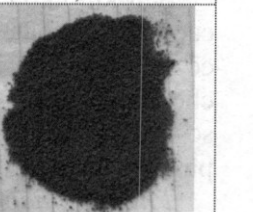
g cao lỏng có độ ẩm 55,5%, tương ứng với hiệu suất chiết là 19,3%.

3.2. Điều chế cao khô ĐHTV

Khảo sát tá dược tạo cao khô

Kết quả khảo sát loại, tỷ lệ tá dược điều chế cao khô được thể hiện ở **Bảng 2**.

Bảng 2. Kết quả khảo sát loại và tỷ lệ tá dược điều chế cao khô ĐHTV

Chỉ tiêu	CT1	CT2	CT3	CT4
Khả năng cạo sau sấy	Khó	Đễ	Đễ	Đễ
Khả năng tạo hạt (nghiên)	Khó	Rất dễ	Hơi khó	Rất dễ
Cảm quan cao	Vón thành cục, kết dính	Khô, tơi, không kết dính	Khô, hơi vón, hơi dính	Khô, tơi, không kết dính
Độ ẩm	7,04%	4,63%	3,81%	1,59%
Hình ảnh				

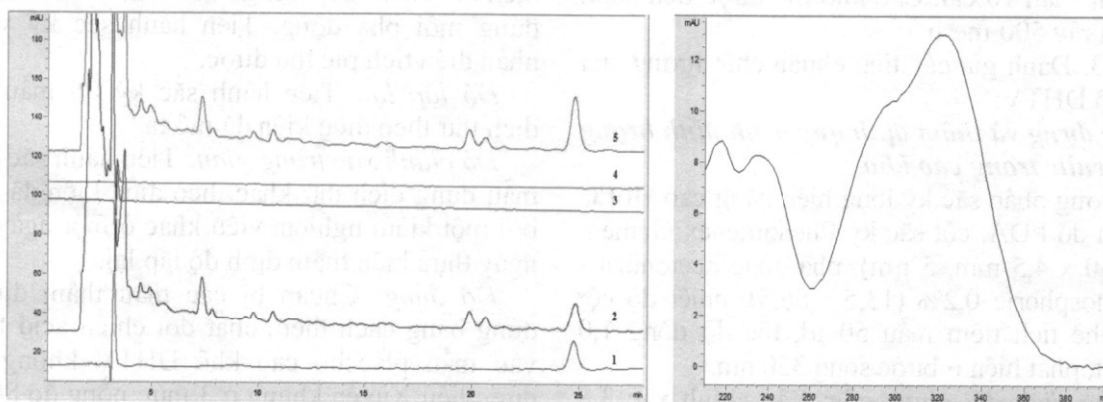
Cùng tỷ lệ, khả năng hút của Avicel (CT2) tốt hơn so với lactose (CT1), cao tạo thành sau khi sấy tơi, dễ cạo, độ ẩm thấp; do đó chọn Avicel PH102 để tiếp tục khảo sát tỷ lệ điều chế cao khô. Tăng tỷ lệ cao lên 2 lần (CT3) tuy tăng được lượng cao tải, cao khô tạo thành dễ cạo, dễ nghiền nhưng bị vón nhanh. Tỷ lệ **cao-Avicel 2:1,5** (CT4) cho thấy cao tạo thành dễ cạo, dễ nghiền, tơi, ít hút ẩm; do đó chọn tỷ lệ này để nâng cỡ lô bằng phương pháp sấy tĩnh và phương pháp sấy tầng sôi.

3.3. Đánh giá các tiêu chuẩn chất lượng của cao khô ĐHTV

Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng acid ferulic trong cao khô ĐHTV

Tính tương thích hệ thống

Kết quả thẩm định cho thấy thời gian lưu và diện tích pic của acid ferulic ở 6 lần sắc ký khác nhau có RSD < 2% và có hệ số đối xứng, số đĩa lý thuyết đạt yêu cầu. Vậy quy trình định lượng đạt tính tương thích hệ thống (**Bảng 3**).



Hình 1. Sắc ký đồ Dung dịch đối chiếu (1), Dung dịch thử (2), Dung dịch placebo (3), Dung dịch mẫu trắng (4), Dung dịch thử thêm đối chiếu (5) và phổ UV của acid ferulic.

Bảng 3. Kết quả thẩm định tính tương thích hệ thống

Lần tiêm	tR (phút)	S (mAu.s)	As (0,8-1,5)	N (≥ 2000)
1	24,723	427,200	0,949	16718
2	24,664	423,638	0,914	16644
3	24,718	417,436	0,945	16718
4	24,617	414,854	0,953	16554
5	24,710	419,382	0,879	16460

Lần tiêm	tR (phút)	S (mAu.s)	As (0,8-1,5)	N (≥ 2000)
6	24,742	419,720	0,896	16995
TB	24,696	420,372	Đạt	Đạt
RSD (%)	0,19	1,05		

Độ đặc hiệu

Kết quả cho thấy (**Hình 1**) trên sắc ký đồ *dung dịch thử* cho pic có thời gian lưu (24,696 phút) và phổ UV tương ứng với pic acid ferulic trên sắc ký đồ *dung dịch đối chiếu*. Sắc ký đồ của *dung dịch placebo* và *dung dịch mẫu trắng* không có pic cùng thời gian lưu với pic acid ferulic. Sắc ký đồ của *dung dịch thử thêm đối chiếu* cho pic có thời gian lưu tương tự với pic của *dung dịch đối chiếu* và *dung dịch thử* nhưng có diện tích pic lớn hơn (892,762 mAu*s). Vậy quy trình định lượng có tính đặc hiệu.

Tính tuyến tính

Kết quả thẩm định tính tuyến tính cho thấy phương trình hồi quy của acid ferulic có sự tương quan giữa nồng độ và diện tích pic với Significance F là $8,30037^{-9}$, hệ số tương quan R^2 là 0,9998. Hệ số b trong phương trình không có ý nghĩa thống kê với p-value là $0,26 > 0,05$; hệ số a

trong phương trình có ý nghĩa thống kê với p-value là $8,30037^{-9} < 0,05$. Vậy phương trình hồi quy của acid ferulic là: $y = 120,74x$.

Độ lặp lại

Kết quả cho thấy RSD% của giá trị hàm lượng acid ferulic khi tiến hành sắc ký 06 mẫu thử riêng biệt là 1,354% (**Bảng 4, kiểm nghiệm viên 1**). Quy trình định lượng đạt yêu cầu về độ lặp lại.

Độ chính xác trung gian

Kết quả cho thấy RSD% của giá trị hàm lượng acid ferulic khi tiến hành sắc ký 06 mẫu thử riêng biệt là 1,022%. Sử dụng phép kiểm thống kê student so sánh giá trị trung bình hàm lượng acid ferulic có trong cao khô của hai kiểm nghiệm viên cho thấy kết quả khác nhau không có ý nghĩa thống kê (p-value = 0,102) (**Bảng 4**). Quy trình định lượng đạt yêu cầu về độ chính xác trung gian.

Bảng 4. Kết quả thẩm định độ lặp lại và độ chính xác trung gian

Kiểm nghiệm viên 1			Kiểm nghiệm viên 2		
Ngày thực hiện: 14/04/2023			Ngày thực hiện: 16/04/2023		
Khối lượng cao khô ĐHTV (mg)	Diện tích pic (mAU.s)	Hàm lượng acid ferulic (μ g)	Khối lượng cao khô ĐHTV (mg)	Diện tích pic (mAU.s)	Hàm lượng acid ferulic (μ g)
1,0012	436,429	101,80	1,0010	430,194	100,36
1,0007	443,048	103,39	1,0008	431,159	100,61
1,0004	426,437	99,54	1,0001	429,333	100,25
1,0013	440,321	102,69	1,0010	431,377	100,64
1,0002	431,700	100,79	1,0000	434,752	101,53
1,0013	434,016	101,22	1,0005	421,657	98,42
TB		101,57	TB		100,30
RSD (%)		1,354	RSD (%)		1,022
Kết quả của cả 2 kiểm nghiệm viên			Hàm lượng trung bình (μ g/g) 100,94	RSD (%) 1,32	

Độ đúng

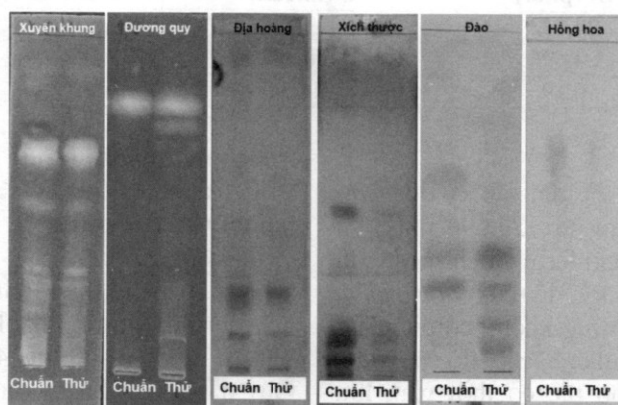
Tỷ lệ hồi phục của các mẫu đều nằm trong khoảng

98 - 102% và RSD nhỏ hơn 2% (**Bảng 5**). Quy trình định lượng acid ferulic đạt yêu cầu về độ đúng.

Bảng 5. Kết quả thẩm định độ đúng

Mức nồng độ	Nồng độ acid ferulic thêm vào (μ g/mL)	Diện tích pic (mAu.s)	Nồng độ acid ferulic tìm thấy (μ g/mL)	Tỷ lệ phục hồi (%)	TB (%)	RSD (%)
80%	1,52	339,25	1,54	100,88	100,1	1,4
	1,52	339,36	1,54	100,91		
	1,52	331,36	1,50	98,53		
100%	1,90	415,87	1,88	98,93	100,1	1,1
	1,90	421,17	1,91	100,19		
	1,90	425,32	1,93	101,18		
120%	2,29	502,24	2,28	99,56	100,5	0,8
	2,29	507,57	2,30	100,62		
	2,29	510,52	2,31	101,2		

Định tính



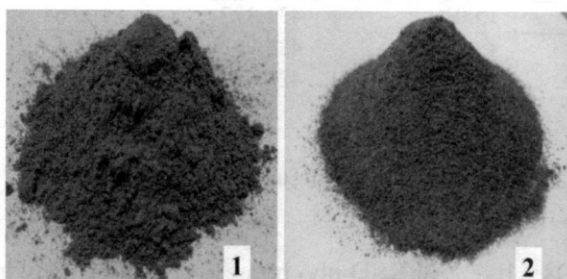
Hình 2. Sắc ký lớp mỏng phép thử định tính cao khô ĐHTV

Kết quả sắc ký lớp mỏng cho thấy sắc ký đồ của mẫu cao khô ĐHTV (Thử) đều có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của lần lượt 6 dược liệu đối chiếu (Chuẩn).

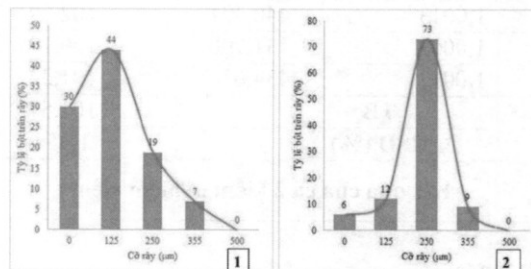
Tóm tắt tiêu chuẩn chất lượng cao khô ĐHTV:

Bảng 6. Kết quả tiêu chuẩn chất lượng cao khô thu được từ hai phương pháp điều chế

Chỉ tiêu chất lượng	Sấy tĩnh	Sấy tầng sôi
Cảm quan	Hạt màu nâu, toí, rất mịn, đồng nhất, không bị tách lớp, có mùi vị dược liệu đặc trưng	Hạt màu nâu, đồng nhất, không bị tách lớp, có mùi vị dược liệu đặc trưng
Mất khối lượng do làm khô	2,98%	2,03%
Định tính	Đúng	Đúng
Định lượng (acid ferulic)	90,26 $\mu\text{g/g}$	97,26 $\mu\text{g/g}$
Phân bố kích thước hạt	Hạt rất mịn, không đồng nhất, phân phối không theo hình chuông hẹp	Hạt tập trung khá đồng nhất, chủ yếu ở rây 250, phân phối theo kiểu hình chuông hẹp
Tỷ số Hausner	1,54 (rất kém)	1,24 (khá tốt)
Chỉ số Carr	35,20 (rất kém)	19,28 (khá tốt)
Góc nghỉ	46° (chảy kém)	32° (chảy tốt)
Thời gian sấy	12 giờ	2,5 giờ



Hình 2. Cảm quan cao khô phương pháp sấy tĩnh (1) và sấy tầng sôi (2)



Hình 3. Phân bố kích thước hạt cao khô phương pháp sấy tĩnh (1) và sấy tầng sôi (2)

Cao khô từ phương pháp sấy tầng sôi cho thấy các tính chất ưu việt hơn nhiều so với sấy tĩnh như rút ngắn thời gian, giảm nguy cơ hoạt chất không ổn định do tiếp xúc lâu với nhiệt độ cao; cao khô tạo ra có lưu tính rất tốt, toí, chảy tốt, phân bố kích thước hạt đồng nhất, kiểu hình chuông hẹp; đạt các chỉ tiêu định tính, định lượng.

4. Bàn luận

Trong quá trình khảo sát loại tá dược điều chế cao khô, cho thấy Avicel PH102 là tá dược tạo

cao khô tốt hơn lactose, sử dụng lượng ít nhưng cải thiện được nhiều tính chất của cao khô. Trong cao khô ĐHTV, acid ferulic được chọn làm chất chỉ điểm cho phép kiểm định lượng vì đây là chất chỉ điểm trong dương quy và xuyên khung được quy định định lượng trong Dược điển Việt Nam V; có nhiều nghiên cứu chứng minh có tác dụng chống oxy hóa mạnh, ức chế các enzym gây độc tế bào và được coi là phương pháp điều trị tiềm năng cho các bệnh Alzheimer, ung thư. Quá trình

chiết xuất và điều chế cao khô có sử dụng nhiệt độ tuy nhiên không làm ảnh hưởng đến hàm lượng acid ferulic trong cao. Phương pháp phun sấy tầng sôi thể hiện sự ưu việt hơn so với phương pháp điều chế cao khô bằng tủ sấy tĩnh như quy trình sử dụng nhiệt độ không quá cao, sự lan tỏa nhiệt đồng đều giúp cao khô tạo thành trong thời gian ngắn với độ ẩm thấp, hiệu suất cao; cao khô thu được có độ trơn chảy và khả năng chịu nén tốt, phân bố kích thước hạt phù hợp để dập viên hoặc đóng nang.

5. Kết luận

Avicel PH102 được chọn để điều chế cao khô ĐHTV với tỷ lệ cao-tá được 2:1,5; phương pháp

sấy tầng sôi cho thấy ưu điểm rõ rệt hơn phương pháp sấy tĩnh. Quy trình định lượng acid ferulic trong cao khô ĐHTV bằng HPLC được thẩm định và đạt tính tương thích hệ thống, tính tuyến tính, độ đặc hiệu, độ đúng, độ lặp lại, độ chính xác trung gian theo tiêu chuẩn ICH. Cao khô ĐHTV được đánh giá các chỉ tiêu chất lượng như tính chất, độ ẩm, định tính, định lượng, phân bố kích thước hạt, tỷ số Hausner, chỉ số Carr; kết quả phù hợp sử dụng cho bào chế dạng cốm, viên nang hoặc viên nén.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi trường Đại học Lạc Hồng thông qua đề tài cơ sở mã số LHU-RF-MP-22-07-05.

Tài liệu tham khảo

1. Ji H. R., Park K. S., Woo H. L., Lee M. J., Yoon J. G., Lee H. J., Hwang D. S., Lee C. H., Jang J. B., & Lee, J. M. (2020), Herbal medicine (Taohong Siwu Tang) for the treatment of primary dysmenorrhea: a systematic review and meta-analysis, *Explore*, 16 (5), 297-303.
2. Wu C. J., Chen J. T., Yen T. L., Jayakumar T., Chou D. S., Hsiao G., Sheu J. R. (2010), Neuroprotection by the traditional Chinese medicine, Tao-Hong-Si-Wu-Tang, against middle cerebral artery occlusion-induced cerebral ischemia in rats, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011.
3. Li S. S., Chen Z. C., & PE C. Z. (2013), Effect of tao-hong-si-wu-tang, a traditional Chinese herbal medicine formula, on physical fatigue in mice, *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 10 (1), 60-65.
4. Bộ Y tế (2017), Dược điển Việt Nam V tập 2, NXB Y học Hà Nội. 1379.
5. Xi S., Shi M., Jiang X., Minuk G. Y., Cheng Y., Peng Y., Gong Y., Xu Y., Wang X., Yang J., Yue L., Wang Y. (2016). The effects of Tao-Hong-Si-Wu on hepatic necroinflammatory activity and fibrosis in a murine model of chronic liver disease, *Journal of ethnopharmacology*, 180, 28-36.
6. ICH (2005), *Validation of analytical procedures: Text and methodology. Q2R1*.
7. The United States Pharmacopeial Convention, Inc, Rockville, MD (2021), *USP44-NF39, United State, Pharmacopoeia 44 - National Formulary 39*.

Tạp chí Dược liệu, tập 29, số 1/2024 (Trang 41 - 47)

TÁC DỤNG KHÁNG VIÊM CỦA CAO CHIẾT CỎ TỪ THÂN RỄ LOÀI THIÊN NIÊN KIẾN

Nguyễn Thị Thu Hương*, Nguyễn Thị Ngọc Yến, Trần Thị Được

Khoa Dược, Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

*Email: huongsam@hotmail.com

(Nhận bài ngày 18 tháng 8 năm 2023)

Tóm tắt

Homalomena cochinchinensis Engl. (thiên niên kiện Nam Bộ) là loài thiên niên kiện hiếm ở Việt Nam và chưa có nhiều nghiên cứu về thành phần hóa học cũng như tác dụng dược lý. Mục tiêu của nghiên cứu này là chứng minh tác dụng kháng viêm của cao chiết ethanol 45% từ thân rễ *H. cochinchinensis* trên thực nghiệm *in vitro* sử dụng dòng đại thực bào RAW 264.7 và trên thực nghiệm gây phù chân chuột bởi carrageenan. Kết quả cho thấy cao chiết *H. cochinchinensis* ở đây nồng độ từ 12,5 µg/mL đến 100 µg/mL thể hiện hoạt tính ức chế sản sinh nitric oxid trên tế bào được cảm ứng bởi lipopolysaccharid theo cách phụ thuộc vào nồng độ với IC₅₀ là 55,34 µg/mL. Cao chiết *H. cochinchinensis* liều uống 680 mg/kg (tương đương 2,5 g dược liệu/kg) có tác dụng giảm viêm chân chuột trên thực nghiệm gây phù bàn chân chuột bằng carrageenan tương tự thuốc đối chiếu celecoxib (25 mg/kg). Kết quả về tác dụng kháng viêm trên thực nghiệm của thân rễ *H. cochinchinensis* sẽ là tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng tiếp theo.

Từ khóa: *Homalomena cochinchinensis* Engl. (thiên niên kiện Nam Bộ), Tác dụng kháng viêm, Dòng đại thực bào RAW 264.7, Thực nghiệm carrageenan.

Summary

Anti-Inflammatory Effects of Ethanol Extract from *Homalomena cochinchinensis* Rhizome

Homalomena cochinchinensis Engl. is a rare *Homalomena* species in Vietnam and up to now, there are very few studies on its phytochemistry as well as bioactivities of this plant. In the present study, the anti-inflammatory effect of 45% ethanol extract from *H. cochinchinensis* rhizome was investigated by using lipopolysaccharide (LPS)-induced nitric oxide (NO) production in macrophage cell line RAW 264.7 and a carrageenan-induced paw edema test in mice. The results revealed that *H. cochinchinensis* extract at concentrations of 12.5 µg/mL up to 100 µg/mL suppressed LPS-induced nitric oxide production in RAW 264.7 cells in a concentration-dependent manner with IC₅₀ value of 55.34 µg/mL. Furthermore, the extract at an oral dose of 680 mg/kg (equivalent to 2.5 g/kg of raw materials) attenuated mouse paw inflammation after carrageenan injection as the same as a reference drug, celecoxib (25 mg/kg). The results of the anti-inflammatory effect of *H. cochinchinensis* rhizome could be the premise basic for further applied research.

Keywords: *Homalomena cochinchinensis* Engl., Anti-inflammatory effect, Macrophage cell line RAW 264.7, Carrageenan-induced paw edema test.