

Nghiên cứu bào chế sản phẩm từ lá cây Ngũ thảo được sử dụng tại Bệnh viện Y học Cổ truyền Thừa Thiên Huế và đánh giá chất lượng sản phẩm

Lê Thị Minh Thảo^{1*}, Lê Thị Minh Nguyệt², Nguyễn Thiện Phước¹,
Nguyễn Việt Phương Nguyễn¹, Đoàn Thị Nhật Lệ¹, Nguyễn Thị Tân¹

(1) Khoa Y học cổ truyền, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

(2) Khoa Dược, trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Lá Ngũ thảo là một dược liệu có rất nhiều tác dụng chữa bệnh, đặc biệt là các bệnh lý về xương khớp. Bệnh viện Y học cổ truyền Thừa Thiên Huế đã sử dụng lá Ngũ thảo bó cho bệnh nhân có bệnh lý về khớp thu được kết quả điều trị tốt. Ngoài ra, bào chế sản phẩm kem sử dụng tiện lợi và tận dụng được một loại dược liệu quý, sẵn có của Việt Nam. Với mục tiêu xác định công thức, quy trình bào chế sản phẩm từ lá cây Ngũ thảo, xác định hàm lượng flavonoid tổng sản phẩm thu được và bước đầu khảo sát tác dụng chống viêm sản phẩm bào chế. **Phương pháp nghiên cứu:** Xây dựng công thức định hướng và khảo sát các tá dược. Xây dựng quy trình bào chế bằng phương pháp nhũ hóa. Đánh giá chất lượng sản phẩm bào chế bởi Trung tâm Kiểm nghiệm thuốc - mỹ phẩm - thực phẩm Thừa Thiên Huế. Định lượng flavonoid tổng theo phương pháp của Chang (2002). Khảo sát tác dụng chống viêm trên mô hình gây viêm carrageenan trên chuột thử nghiệm. **Kết quả:** Công thức kem với thành phần chính là cao đặc lá Ngũ thảo 5%; dầu oliu 10%; Glycerin 4%; Propylen glycol 15%; Ceteareth 20,4%; Cremophor RH40 7%; Nipagin 0,18%; Nipazol 0,02%; Menthol 0,05%. Sản phẩm kem mịn màng, đồng nhất, màu nâu đậm, mùi thơm nhẹ, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Hàm lượng flavonoid tổng của cao Ngũ thảo $13,18 \pm 0,207$, kem Ngũ thảo $12,96 \pm 0,163$ ($p > 0,05$). Sản phẩm bước đầu được đánh giá có hiệu quả chống viêm trên chuột thử nghiệm. **Kết luận:** Xây dựng được công thức kem hoàn chỉnh đạt tiêu chuẩn chất lượng, hàm lượng flavonoid tổng không mất đi nhiều sau quá trình bào chế.

Từ khóa: Ngũ thảo, hàm lượng flavonoid tổng, tiêu chuẩn chất lượng.

Abstract

Formulation of *Vitex negundo* L. (Verbenaceae) leaf used in Traditional Medicine Hospital of Thua Thien Hue and evaluation of the product quality

Le Thi Minh Thao^{1*}, Le Thi Minh Nguyet², Nguyen Thien Phuoc¹,
Nguyen Viet Phuong Nguyen¹, Doan Thi Nhat Le¹, Nguyen Thi Tan¹

(1) Faculty of Traditional medicine, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(2) Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Background: *Vitex negundo* L. leaves are a medicinal herb with many therapeutic effects, especially bone and joint diseases. At Traditional Medicine Hospital of Thua Thien Hue, method of using *Vitex negundo* L. leaves for patients who have joint diseases was shown to good treatment results. Besides, preparation of cream are convenient to use and take advantage of a precious and available medicinal herb of Vietnam. **Objectives:** To determine the formula, preparation process of products from the leaves of *Vitex negundo* L., determining the total flavonoid content of the product obtained and initial investigation of anti-inflammatory effects of prepared products. **Methods:** Building oriented formulas and investigating excipients. Development of a preparation process by emulsification method. Evaluation of the quality of prepared products by the Center for Drug - Cosmetic - Food Testing in Thua Thien Hue. Quantification of total flavonoids according to the method of Chang (2002). Investigation of anti-inflammatory effects based on carrageenan inflammation model in experimental rats. **Results:** Cream formula with the main ingredient was condensed glue of *Vitex negundo* L. 5%; Olive oil 10%; Glycerin 4%; Propylene glycol 15%; Ceteareth 20,4%; Cremophor RH40 7%; Nipagin 0.18%; Nipazol 0.02%; Menthol 0.05%. The cream product was smooth, homogeneous, dark brown in

color, lightly scented, and met the basic standards. Total flavonoid content condensed glue of *Vitex negundo* L. was 13.18 ± 0.207 , cream of *Vitex negundo* L. was 12.96 ± 0.163 ($p > 0.05$). The product was preliminarily evaluated to have the anti-inflammation effect in mice. **Conclusions:** Building a complete cream formula that met quality standards, the total flavonoid content was not lost much after the preparation process.

Keywords: *Vitex negundo* L., the total flavonoid content, quality standards.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngũ thảo có tên khoa học là *Vitex negundo* L.. Cây Ngũ thảo có nơi còn gọi là Hoàng kinh, Chân chim, Mẫu kinh, Co rút kê, thuộc họ cỏ roi ngựa (Verbenaceae). Các nghiên cứu về thực nghiệm ở nước ngoài cho thấy Ngũ thảo có tác dụng kháng viêm, giảm đau, chống co giật, chống tăng sắc tố, kích thích miễn dịch, bảo vệ gan, chống muối, chống oxy hóa, kháng nấm, kháng khuẩn, trừ giun, trung hòa nọc rắn, chống dị ứng, hạ sốt [1], [2], [3], [4], [5].

Ở Việt Nam, đã có một vài nghiên cứu về thành phần hóa học, tác dụng dược lý của cây Ngũ thảo. Ví dụ như nghiên cứu về hàm lượng phenolic tổng, flavonoid tổng và tinh dầu trong các bộ phận Ngũ thảo thu hái tại Thừa Thiên Huế [6]. Năm 2016, tại Bệnh viện Y học cổ truyền Thừa Thiên Huế đã thực hiện phương pháp bó lá Ngũ thảo trên 30 bệnh nhân có bệnh lý về khớp cho thấy phương pháp này có hiệu quả giảm đau, giảm cứng khớp, giảm sưng, giảm hạn chế vận động khớp và chưa thấy trường hợp nào xuất hiện tác dụng phụ [7]. Nhằm đưa lá Ngũ thảo được trồng tại đây bào chế thành một sản phẩm có hiệu quả và tiện lợi khi sử dụng cho bệnh nhân cũng như tận dụng được một loại dược liệu quý, sẵn có của Việt Nam, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu “Nghiên cứu bào chế sản phẩm từ lá cây Ngũ thảo được sử dụng tại Bệnh viện Y học cổ truyền Thừa Thiên Huế và đánh giá chất lượng sản phẩm” với mục tiêu:

1. Xác định công thức và quy trình bào chế sản phẩm từ lá cây Ngũ thảo được sử dụng tại Bệnh viện Y học cổ truyền Thừa Thiên Huế.

2. Xác định hàm lượng flavonoid tổng của sản phẩm thu được.

3. Khảo sát tác dụng chống viêm trên mô hình chuột của sản phẩm bào chế.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Lá cây Ngũ thảo được thu hái tại Bệnh viện Y học cổ truyền Thừa Thiên Huế.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định công thức và quy trình bào chế sản phẩm từ lá cây Ngũ thảo

- Tiến hành điều chế dịch chiết lá cây Ngũ thảo bằng phương pháp ngâm kiệt với dung môi là cồn

70°, cô dịch chiết ở 60°C đến khi thu được cao đặc.

- Lựa chọn tỷ lệ hóa chất và tỷ lệ tá dược phù hợp để xây dựng công thức định hướng cho sản phẩm. Khảo sát các tá dược với các tỷ lệ khác nhau để tìm ra tá dược thích hợp.

- Xây dựng quy trình bào chế kem bằng phương pháp nhũ hóa.

2.2.2. Đánh giá chất lượng sản phẩm bào chế

Được đánh giá bởi Trung tâm Kiểm nghiệm thuốc - mỹ phẩm - thực phẩm Thừa Thiên Huế về chỉ tiêu cảm quan, chỉ tiêu kim loại nặng, chỉ tiêu vi sinh.

2.2.3. Xác định hàm lượng flavonoid tổng của sản phẩm thu được [8]:

Xác định theo phương pháp của Chang và cộng sự (2002) có một vài hiệu chỉnh nhỏ, dựa trên nguyên tắc: flavonoid tạo phức màu vàng với dung dịch $AlCl_3$.

Mẫu thử: lấy 3 ml cao Ngũ thảo/kem Ngũ thảo (đã pha loãng với methanol) cho vào ống nghiệm sau đó thêm 1,5 ml $AlCl_3$ 2% và 1,5 ml nước cất, lắc đều rồi để ổn định ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Tiến hành đo hỗn hợp hấp thụ ở bước sóng 430 nm, sử dụng máy quang phổ kế (UV-VIS Jasco V-630, Japan). Mẫu trắng: tiến hành tương tự nhưng thay dung dịch $AlCl_3$ 2% bằng nước cất. Mỗi mẫu được tiến hành đo 3 lần.

$$\text{Hàm lượng flavonoid tổng (mg quercetin/g)} = \frac{C \times 10}{m} \cdot 10^{-3}$$

Trong đó:

C: hàm lượng quercetin xác định từ đường chuẩn
m: khối lượng mẫu

2.2.4. Khảo sát tác dụng chống viêm trên mô hình chuột của sản phẩm bào chế.

Dựa trên mô hình gây viêm carrageenan trên chuột thử nghiệm [9], [10], [11].

Chuột nhắt trắng chia thành 3 nhóm, mỗi nhóm 10 con:

+ Nhóm 1 (nhóm chứng âm): gây viêm và không điều trị gì cả.

+ Nhóm 2 (nhóm chứng dương): gây viêm và bôi 0,2 g/1 chân chuột sản phẩm đối chiếu (gel xoa Thiên Thọ Sơn).

+ Nhóm 3 (nhóm nghiên cứu): gây viêm và bôi 0,2g/1 chân chuột sản phẩm thử nghiệm (Kem Ngũ thảo).

- Chuột được bôi thuốc ngày 3 lần. Ngày thứ 1, sau khi bôi thuốc thử 1 giờ, làm sạch chân phải sau chuột bằng cồn 70°, gây viêm bằng cách tiêm 0,05ml dung

dịch carrageenan 1% (pha trong nước muối sinh lý) vào dưới da gan bàn chân phải sau. Đo thể tích chân chuột ở các thời điểm khác nhau, so sánh sản phẩm bào chế với mẫu chứng âm và mẫu bôi gel xoa Thiên Thọ Sơn.

3. KẾT QUẢ

3.1. Xác định công thức và quy trình bào chế sản phẩm từ lá cây Ngũ thảo

- Định danh nguyên liệu thu hái

Nguyên liệu thu hái được TS. Vũ Tiến Chính của Viện hàn lâm khoa học và công nghệ Việt Nam-Bảo tàng thiên nhiên Việt Nam giám định có tên khoa học là *Vitex negundo* L., thuộc họ Cỏ roi ngựa

(Verbenaceae).

- Điều chế dịch chiết và cao đặc lá cây Ngũ thảo: Ngâm kiệt 1,0 kg bột lá Ngũ thảo đã sấy khô ở độ mịn thích hợp với cồn 70°. Sau 48 giờ, xả dịch chiết từ từ và cô ở nồi chưng cách thủy ở 60° đến cao đặc, khối lượng cao đặc thu được là 190,5 g.

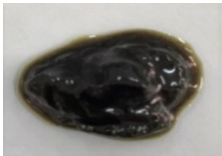
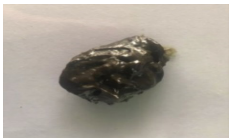
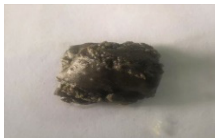
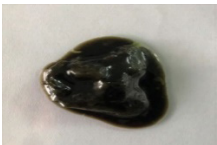
3.1.1. Xác định công thức

Công thức định hướng kem gồm có: Hoạt chất chính: cao đặc lá Ngũ thảo 5%; Tá dược thân dầu: Dầu oliu 10%; tá dược thân nước: Glycerin 4%, Propylen glycol 15%; tá dược bảo quản: Nipagin 0,18%, Nipazol 0,02%; tá dược khác: Menthol 0,05%. Hệ tá dược trên được gọi là hệ tá dược 1.

Bảng 1. Xây dựng công thức kem

Công thức (CT)	Cao đặc lá Ngũ thảo (%)	Hệ tá dược 1 (%)	Tá dược nhũ hóa (%)					Nước cất (%)
			Cetareth 20	Candelilla wax	Xanthan gum	Glycerin cocoate	Cremophor RH40	
CT1	5	29,25	1	-	-	-	-	64,75
CT2	5	29,25	2	-	-	-	-	63,75
CT3	5	29,25	3	-	-	-	-	62,75
CT4	5	29,25	4	-	-	-	-	61,75
CT5	5	29,25	-	2	-	-	-	63,75
CT6	5	29,25	-	5	-	-	-	60,75
CT7	5	29,25	-	8	-	-	-	57,75
CT8	5	29,25	-	10	-	-	-	55,75
CT9	5	29,25	-	-	0,1	-	-	65,65
CT10	5	29,25	-	-	0,5	-	-	65,25
CT11	5	29,25	-	-	1	-	-	64,75
CT12	5	29,25	-	-	1,5	-	-	64,25
CT13	5	29,25	-	-	-	2	-	63,75
CT14	5	29,25	-	-	-	4	-	61,75
CT15	5	29,25	-	-	-	6	-	59,75
CT16	5	29,25	-	-	-	8	-	57,75
CT17	5	29,25	-	-	-	-	5	60,75
CT18	5	29,25	-	-	-	-	7	58,75
CT19	5	29,25	-	-	-	-	10	55,75
CT20	5	29,25	-	-	-	-	15	50,75
CT21	5	29,25	4	-	0,5	-	-	61,25
CT22	5	29,25	4	-	1	-	-	60,75
CT23	5	29,25	4	-	1,5	-	-	60,25
CT24	5	29,25	4	-	-	-	5	56,75
CT25	5	29,25	4	-	-	-	7	54,75
CT26	5	29,25	4	-	-	-	10	51,75

Bảng 2. Khảo sát các tá dược nhũ hóa đơn lẻ

CT	CT1	CT2	CT3	CT4
	Kem lỏng, không đồng nhất, tách pha sau 7 ngày			Kem lỏng, đồng nhất, không tách pha
				
CT	CT5	CT6	CT7	CT8
	Kem đặc, khó bôi, không mịn. Sau 24 giờ bị vón cục			
				
CT	CT9	CT10	CT11	CT12
	Kem đặc, không đồng nhất, tách pha		Kem sệt, không đồng nhất, tách pha sau 24 giờ	Kem sệt, có dấu hiệu tách pha nhẹ, ít bám tốt trên da
				
CT	CT13	CT14	CT15	CT16
	Kem lỏng, không đồng nhất, biến đổi thể chất, tách pha sau 24 giờ			
				
CT	CT17	CT18	CT19	CT20
	Kem sệt, cảm giác nhờn khi bôi. Sau 1 tháng có tách pha	Kem sệt, đồng nhất, bám dính tốt lên da, cảm giác hơi nhờn rít	Kem đặc, không đồng nhất, tách pha	
				

Nhận xét bảng 2: Khi sử dụng tá dược nhũ hóa Cetareth 20 nồng độ 1-3% thì kem tạo thành không đồng nhất và bị tách pha sau 7 ngày, với nồng độ 4% kem tạo thành lỏng, đồng nhất và không tách pha. Chọn CT4 này để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

Khảo sát tá dược nhũ hóa Candelilla wax, Glycerin cocoate các nồng độ thì sản phẩm thu được không đạt yêu cầu. Vì vậy, không sử dụng các tá dược này để nghiên cứu tiếp.

Khảo sát tá dược Xanthan gum thì ở nồng độ 0,1% và 0,5% kem tạo thành lỏng, không đồng nhất và tách pha; với nồng độ 1% Xanthan gum thì kem tạo thành sệt, không đồng nhất và tách pha sau 24 giờ; ở nồng độ 1,5% thì kem sệt, có dấu hiệu tách

pha nhẹ và kém mịn trên da.

Khi sử dụng tá dược nhũ hóa Cremophor RH40 ở nồng độ 5%, kem tạo thành sệt nhưng có cảm giác nhờn khi bôi và tách pha sau 1 tháng. Ở nồng độ 10%, 15% kem tạo thành đặc, không đồng nhất và bị tách pha. Ở nồng độ 7% thì kem tạo thành đồng nhất, bám dính tốt trên da nhưng có cảm giác hơi nhờn rít, nên chọn CT18 để tiến hành nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 3. Khảo sát phối hợp các tá dược nhũ hóa

CT	CT21	CT22	CT23
Kem đặc, không đồng nhất, khó dàn trải, tách pha sau 24 giờ			
			
CT	CT24	CT25	CT26
Kem mịn màng, đồng nhất, sau 1 tháng có dấu hiệu đặc lại, bám dính không tốt trên da	Kem mịn màng, đồng nhất, không có dấu hiệu tách pha hay biến đổi thể chất, bám dính tốt trên da	Kem mịn màng, đồng nhất, không có dấu hiệu tách pha, bám dính không tốt trên da	
			

Nhận xét bảng 3: Khi sử dụng hỗn hợp tá dược Cetareth 20 4% và Xanthan gum 0,5-1,5% thì kem tạo thành không đạt yêu cầu.

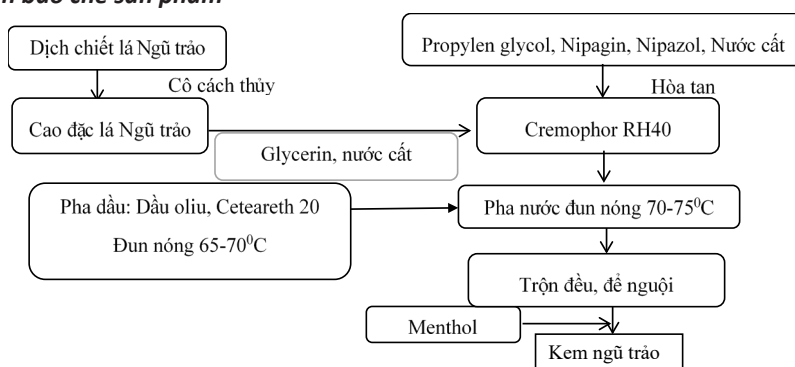
Khi sử dụng hỗn hợp Cetareth 20 4% và tăng dần nồng độ Cremophor RH40 từ 5-10% thì chỉ có Cremophor RH40 7% là kem tạo thành mịn màng, đồng nhất, không có dấu hiệu tách pha hay biến đổi thể chất, bám dính tốt trên da. Với nồng độ 10% thì kem bám dính không tốt trên da, ở nồng độ 5% thì sau 1 tháng có dấu hiệu đặc lại, bám dính không tốt. Vì vậy, chọn phối hợp 4% Cetareth 20 và 7% Cremophor RH40 thì thể chất sản phẩm đạt yêu cầu.

Sau quá trình khảo sát, công thức kem từ lá cây Ngũ trảo được tạo thành như sau:

Cao đặc lá Ngũ trảo.....	5 %
Dầu oliu.....	10 %
Glycerin.....	4 %
Propylen glycol.....	15 %
Cetareth 20	4 %
Cremophor RH40	7 %
Nipagin.....	0,18 %
Nipazol	0,02 %
Menthol	0,05 %
Nước cất	về 100 %



3.1.2. Quy trình bào chế sản phẩm



Sơ đồ 1. Quy trình bào chế kem từ lá cây Ngũ thảo bằng phương pháp nhũ hóa

Kem từ lá cây Ngũ thảo được tạo thành như sau:

Hòa tan Propylen glycol, Nipagin, Nipazol và nước cất; cao đặc lá Ngũ thảo hòa trong Glycerin và nước cất; cho Cremophor RH40 vào hỗn hợp trên để tạo thành pha nước, khuấy đến khi đồng nhất; đun nóng ở 70-75°C. Hỗn hợp pha dầu (Dầu oliu, Cetareth 20) đun đến 65-70°C.

Cho từ từ pha dầu vào pha nước và khuấy trộn đều. Để nguội và cho methol vào, sản phẩm hoàn chỉnh được tạo thành.

3.2. Đánh giá chất lượng sản phẩm bào chế

Sản phẩm được gửi kiểm nghiệm Trung tâm kiểm nghiệm thuốc-mỹ phẩm-thực phẩm Thừa Thiên Huế có kết quả như sau:

- Chỉ tiêu cảm quan: Kem mềm, mịn màng, đồng nhất, không lợn cợn, không có lẫn tạp chất cơ học,

màu nâu đậm, mùi thơm nhẹ, dễ chịu.

- Chỉ tiêu kim loại nặng: đạt tiêu chuẩn về giới hạn kim loại thủy ngân ≤ 1 ppm (0,022), asen ≤ 5 ppm (0,063), chì ≤ 20 ppm (0,190).

- Chỉ tiêu vi sinh: không phát hiện *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas aeruginosa*, đạt tiêu chí giới hạn tổng số vi khuẩn hiếu khí, tổng số bào tử nấm men, nấm mốc.

3.3. Xác định hàm lượng flavonoid tổng của sản phẩm thu được

Cao Ngũ thảo có hàm lượng flavonoid tổng (TFC) là $13,18 \pm 0,207$ và trong kem Ngũ thảo là $12,96 \pm 0,163$. So với cao ban đầu thì hàm lượng flavonoid tổng trong sản phẩm kem Ngũ thảo khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.4. Khảo sát tác dụng chống viêm trên mô hình chuột của sản phẩm bào chế

Bảng 4. Tác dụng chống viêm cấp của kem Ngũ thảo trên mô hình gây phù chân chuột

Nhóm	n	Độ phù (%)					
		Sau 1 giờ	Sau 2 giờ	Sau 4 giờ	Sau 6 giờ	Sau 24 giờ	Sau 48 giờ
Nhóm 1: không bôi gì cả	10	$15 \pm 5,27$	$35 \pm 5,27$	$65 \pm 7,07$	$48 \pm 4,22$	$33 \pm 4,83$	$12 \pm 4,22$
Nhóm 2: gel xoa Thiên Thọ Sơn bôi 0,2 g/1 chân	10	$11 \pm 3,16$ $p_{2-1} > 0,05$	$16 \pm 5,16$ $p_{2-1} < 0,05$	$45 \pm 5,27$ $p_{2-1} < 0,05$	$30 \pm 6,67$ $p_{2-1} < 0,05$	$19 \pm 7,38$ $p_{2-1} < 0,05$	$2 \pm 4,22$ $p_{2-1} < 0,05$
Nhóm 3: kem Ngũ thảo bôi 0,2 g/1 chân	10	$11 \pm 3,16$ $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$	$19 \pm 3,16$ $p_{3-1} < 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$	$42 \pm 4,22$ $p_{3-1} < 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$	$31 \pm 5,68$ $p_{3-1} < 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$	$16 \pm 8,43$ $p_{3-1} < 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$	$2 \pm 4,22$ $p_{3-1} < 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$

Nhận xét bảng 4: Mức độ tăng thể tích chân chuột tại cả 3 nhóm đều tăng dần từ 1 giờ đến 4 giờ sau gây viêm, sau đó giảm dần. Nhóm bôi gel xoa Thiên Thọ Sơn và kem Ngũ thảo đều có mức độ tăng thể tích chân chuột thấp hơn rõ rệt so với nhóm chứng âm (sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$) tại các thời điểm sau 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 24 giờ và 48 giờ; riêng thời điểm sau 1 giờ thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (với $p > 0,05$). Nhóm bôi kem Ngũ thảo có thay đổi mức độ tăng thể tích chân chuột, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nhóm bôi gel xoa Thiên Thọ Sơn (với $p > 0,05$).

4. BÀN LUẬN

Nguyên liệu chúng tôi thu hái tại Bệnh viện Y học cổ truyền Thừa Thiên Huế. Nguyên liệu được TS. Vũ Tiến Chính của Viện hàn lâm khoa học và công nghệ Việt Nam - Bảo tàng thiên nhiên Việt Nam giám định có tên khoa học là *Vitex negundo* L., thuộc họ Cỏ roi ngựa (Verbenaceae) chứng tỏ chúng tôi đã sử dụng đúng nguyên liệu để thực hiện đề tài.

Từ 1,0 kg bột lá Ngũ thảo sau khi nghiền kiệt với cồn 70° thu được dịch chiết, cô cao thu được cao đặc 190,5g. Công thức chúng tôi xây dựng hướng đến thành phần có nguồn gốc thiên nhiên, chúng tôi chọn pha dầu của sản phẩm là dầu oliu. Ngoài tá dược thân dầu, chúng tôi chọn lựa tá dược thân nước là Glycerin 4%, Propylen glycol 15%, nước cất. Chọn Nipagin 0,18%, Nipazol 0,02% làm tá dược bảo quản và Menthol tạo mùi thơm dễ chịu và cảm giác mát lạnh khi bôi trên da; các tá dược này giúp duy trì độ ổn định của kem trong quá trình vận chuyển và bảo quản, tạo mùi hương tăng tính hấp dẫn của sản phẩm.

Chất nhũ hóa là một thành phần đóng vai trò rất quan trọng trong một chế phẩm nhũ tương. Trong đa số các trường hợp, để giúp cho nhũ tương hình thành và có độ bền nhất định thường cần đến những chất trung gian đặc biệt được gọi là chất nhũ hóa (chất nhũ tương) [12].

Kết quả khảo sát các tá dược đơn lẻ Cetareth 20 (1 - 4%), Candelilla wax (2 - 10%), Xanthan gum (0,1 - 1,5%), Glycerin cocoate (2 - 8%), Cremophor RH40 (5 - 15%) cho thấy kem tạo thành không đạt yêu cầu, kem dễ bị tách pha, vón cục hay có sự biến đổi về mặt thể chất, nên cần có sự phối hợp các tá dược nhũ hóa khác nhau để tìm ra hệ nhũ tương thích hợp.

Khi phối hợp tá dược Cetareth 20 4% và Cremophor RH40 (5 - 10%) thì chỉ có Cremophor RH40 7% là kem vẫn mịn màng, đồng nhất, không có dấu hiệu tách pha hay biến đổi thể chất, bám dính tốt trên da. Cetareth 20 là có nguồn gốc từ dầu dừa, có khả năng tương thích với hầu hết các loại dầu và hoạt chất, vừa giúp ổn định kem vừa giúp các chất phân tán đồng đều với nhau; Cremophor RH40 có nguồn gốc từ dầu thầu dầu, nó giúp kem có độ cứng, tránh tình trạng khó chịu, nhờn rít khi sử dụng các thành phần dầu trên da, do đó mang lại cảm giác mịn màng, khô thoáng khi sử dụng. Vì vậy, chúng tôi chọn công thức là sự phối hợp của hai tá dược này là Cetareth 20 4 % và Cremophor RH40 7%, cả hai

tá dược đều có nguồn gốc từ thiên nhiên.

Kem từ lá cây Ngũ thảo được bào chế theo phương pháp nhũ hóa, kết hợp pha dầu và pha nước tạo sản phẩm kem đặc, mịn màng, đồng nhất. Quy trình đơn giản, dễ thực hiện.

Sản phẩm được gửi kiểm nghiệm ở Trung tâm kiểm nghiệm thuốc-mỹ phẩm-thực phẩm Thừa Thiên Huế được đánh giá đạt các tiêu chí về mặt cảm quan, đồng thời đáp ứng yêu cầu giới hạn kim loại nặng, vi sinh.

Hàm lượng flavonoid tổng trong cao Ngũ thảo của nghiên cứu này là $13,18 \pm 0,207$ (mg QE/g), so với nghiên cứu của Đoàn Thị Ái Nghĩa (2019) xác định theo phương pháp của Talari Samatha trong lá Ngũ thảo thu hái vào tháng 7 là $152,99 \pm 2,59$ (mg QE/g) [6], nghiên cứu của Saklani S. và cộng sự (2017) giá trị flavonoid tổng trong dịch chiết ethanol từ lá ngũ thảo (*Vitex negundo*) là $63,11 \pm 0,31$ [13], trong khi đó nghiên cứu của Hemlata Singh và cộng sự (2015) thì giá trị flavonoid tổng trong lá Ngũ thảo là $27,32 \pm 0,205$ thu hái ở một trường đại học ở Ấn Độ bằng phương pháp so màu nhôm clorua [14]. Như vậy, kết quả cho thấy có sự khác biệt về giá trị flavonoid tổng, cụ thể là trong nghiên cứu này giá trị thấp hơn ba nghiên cứu trên. Sự khác nhau này có thể là do mô hình nghiên cứu, điều kiện sống của mẫu cây ngũ thảo cũng như thời gian thu hái khác nhau.

So với cao ban đầu thì hàm lượng flavonoid trong sản phẩm sau khi đã bào chế không khác biệt nhiều, có thể nói rằng quá trình bào chế không mất đi nhiều giá trị flavonoid, đảm bảo chất lượng của sản phẩm. Khảo sát tác dụng chống viêm trên chuột thử nghiệm bằng gây viêm carrageenan cho kết quả sản phẩm bước đầu có hiệu quả giảm sưng viêm so với nhóm không điều trị.

5. KẾT LUẬN

Xây dựng được công thức và quy trình bào chế sản phẩm từ lá cây Ngũ thảo, sản phẩm đạt tiêu chuẩn cơ sở về mặt cảm quan, kim loại nặng và vi sinh; đảm bảo về mặt chất lượng khi hàm lượng flavonoid tổng không mất đi nhiều trong quá trình bào chế. Sản phẩm có tác dụng chống viêm trên mô hình chuột thử nghiệm.

Sản phẩm bào chế theo phương pháp đơn giản, tá dược có nguồn gốc thiên nhiên, là cơ sở cho các nghiên cứu sâu hơn sau này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dharmasiri M.G., Jayakody J.R.A.C., Galhena G., Liyanage SSP, Ratnasooriya W.D. Anti-inflammatory and analgesic activities of mature fresh leaves of *Vitex negundo*.

Journal of Ethnopharmacology. 2003;87:199-206.

2. Kambhan Venkateswarlu. *Vitex negundo*: Medicinal Values, Biological Activities, Toxicity Studies

and Phytopharmacological Actions. International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research. 2012;2(2):126-33.

3. Magdum PLac. *Vitex negundo* Linn.: Ethnobotany, Phytochemistry and Pharmacology – A Review. Ijapbc. 2012;1(1):111-20.

4. Sahar K. N., Singh V. Antifilarial activity of ethyl acetate extract of *Vitex negundo* leaves in vitro. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2013;6(9):689-92.

5. Tandon VR. Medicinal uses and biological activities of *Vitex negundo*. Natural Product Radiance. 2005;4(3):162-5.

6. Nghĩa ĐTÁ, Lâm HX. Hàm lượng phenolic tổng, flavoid tổng và tinh dầu trong các bộ phận cây Ngũ trảo (*Vitex negundo* L., họ Verbenaceae) thu hái tại Thừa Thiên Huế. Tạp chí Y Dược học, Số Đặc biệt tháng 11/2019. 2019:121-6.

7. Thám NV, Nhân PTT, Giao T. Đánh giá kết quả của phương pháp bó lá ngũ trảo hỗ trợ trong bệnh lý về khớp tại bệnh viện Y học cổ truyền Thừa Thiên Huế năm 2016. Đề tài cấp cơ sở bệnh viện Y học cổ truyền Thừa Thiên Huế. 2016.

8. Chia-chi chang, Ming-hua yang, Hwei-mei wen, Jiing-chuan chern. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. Journal of Food and Drug Analysis. 2002;10(3):178-82.

9. Lam ĐT. Nghiên cứu tính an toàn, tác dụng chống viêm, giảm đau của cao xoa bách xà trên thực nghiệm và lâm sàng bệnh viêm khớp dạng thấp: Trường Đại học Y Hà Nội; 2017.

10. Mitul Patel, Murugananthan, Shivalinge Gowda K P. In Vivo Animal Models in Preclinical Evaluation of Anti-Inflammatory Activity- A Review. International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences. 2012;1(2):01-5.

11. Son HL, Hoang NV, Minh TV. Anti – inflammatory effect of cream containing calendula officinalis leaf extract on carrageenan – induced mice paw edema model. National institute of medical material. 2013.

12. Bộ Y tế. Bào chế và sinh dược học tập 2: Nhà xuất bản giáo dục Hà Nội; 2007.

13. Saklani S, Mishra AP, Chandra H, Atanassova MS, Stankovic M, Sati B, et al. Comparative Evaluation of Polyphenol Contents and Antioxidant Activities between Ethanol Extracts of *Vitex negundo* and *Vitex trifolia* L. Leaves by Different Methods. Plants (Basel). 2017;6(4).

14. Hemlata Singh, Anupma dixit, R. A. Sharma, Archana Sharma. Comparative evaluation of total phenolic content, total flavonoid content and DPPH free radical scavenging activity of different plant parts of *Vitex negundo* L. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2015;7(2):144-7.