

Bào chế gel vi nhũ tương từ cao khô Rau đắng đất [*Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC., Molluginaceae]

Nguyễn Thị Kim Liên¹, Lê Xuân Trường², Trần Văn Thành^{2*}

¹Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Trường Đại học Y dược TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 18/10/2018; ngày chuyển phản biện 24/10/2018; ngày nhận phản biện 25/11/2018; ngày chấp nhận đăng 19/12/2018

Tóm tắt:

Rau đắng đất [*Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC, Molluginaceae] với thành phần flavonoid có khả năng ức chế vi sinh vật, được xem như một nguồn nguyên liệu kháng sinh thực vật đầy hứa hẹn để bào chế thuốc kháng khuẩn dùng ngoài. Gel vi nhũ tương điều chế từ Rau đắng đất (RĐĐ) giúp phân phối một lượng hoạt chất lớn hơn lên bề mặt da. Cao khô RĐĐ được tinh chế bằng ethanol 90% và tiến hành khảo sát hoạt tính kháng khuẩn trên 4 loại vi khuẩn *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* và *Staphylococcus aureus*, từ đó xây dựng công thức để tạo gel kháng khuẩn. Thành phần công thức được xác định từ vùng tạo vi nhũ tương trên giản đồ pha ba cấu tử xây dựng từ isopropyl myristat (IPM), tween 20, span 80 và nước. Ba công thức vi nhũ tương RĐĐ được điều chế và đánh giá về cảm quan, pH, phân bố kích thước giọt và độ bền pha. Các tá dược tạo gel khác nhau được khảo sát để tạo gel bôi da phù hợp. Kết quả điều chế được vi nhũ tương RĐĐ có pH 4,527, kích thước hạt trung bình 14 nm và bền sau 6 chu kỳ sốc nhiệt. Gel vi nhũ tương RĐĐ đạt các chỉ tiêu vật lý và thể hiện khả năng kháng khuẩn *in vitro* khi thử nghiệm trên *P. aeruginosa*.

Từ khóa: flavonoid, gel vi nhũ tương, *Glinus oppositifolius*, kháng khuẩn, Rau đắng đất.

Chỉ số phân loại: 3.4

Đặt vấn đề

Làn da khỏe mạnh là hàng rào hữu hiệu bảo vệ cơ thể trước các tác nhân có hại của môi trường như hóa chất, các tia bức xạ, vi sinh vật... Tuy nhiên, khi da bị tấn công và tổn thương, chức năng bảo vệ này bị suy giảm. Nhiễm khuẩn da là một trong những nguyên nhân chính gây ra các bệnh về da và là tiền đề cho những bệnh lý liên quan. Để xử trí tình trạng nhiễm trùng da có thể thoa các thuốc mỡ chứa kháng sinh tác dụng tại chỗ lên các mụn mủ để làm khô dần mụn. Tuy nhiên, việc sử dụng kháng sinh dùng ngoài luôn tồn tại khả năng gây mẫn cảm và tạo thuận lợi cho phát triển vi khuẩn kháng thuốc nên không thể dùng điều trị kéo dài.

RĐĐ là một loài cỏ dại phổ biến ở vùng nhiệt đới châu Á. Theo y học cổ truyền, cây RĐĐ có tác dụng lợi tiểu, nhuận gan, hạ nhiệt; dịch chiết từ RĐĐ trị ngứa và bệnh ngoài da. Nhiều công trình nghiên cứu trong và ngoài nước đã chứng minh dược liệu này có tác dụng kháng khuẩn và kháng nấm rất tốt, ngoài ra còn có tác dụng kháng viêm và kích thích tái sinh mô [1-3]. Từ đó cho thấy, RĐĐ là một nguồn nguyên liệu tốt để bào chế một dạng thuốc kháng khuẩn dùng ngoài, bảo vệ tối đa cho hàng rào quan trọng nhất của cơ thể. Tuy nhiên, tính thân nước cao của flavonoid gây khó khăn trong việc bào chế do dễ bị rửa trôi và khó bám lâu trên bề mặt da. Do đó, cần có một dạng bào chế phù hợp với hoạt chất này.

Trong số các dạng thuốc dùng cho da, vi nhũ tương thể hiện nhiều ưu điểm như bền về mặt nhiệt động, dễ điều chế và nâng cấp cỡ lô; có khả năng làm tăng sinh khả dụng của thuốc do giảm bớt tính đối kháng của lớp sừng và giúp phân phối một lượng hoạt chất lớn hơn lên bề mặt da so với các dạng khác như dung dịch, lotion hoặc kem [4]. Gel hóa vi nhũ tương làm tăng khả năng bám dính và kéo dài thời gian lưu của thuốc trên da. Nghiên cứu này được thực hiện với mục đích tạo ra một chế phẩm gel vi nhũ tương từ cao khô RĐĐ cho hiệu quả kháng khuẩn tốt để có thể thay thế các kháng sinh dùng ngoài.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Cao khô RĐĐ được cung cấp bởi BV Pharma, Việt Nam theo tiêu chuẩn cơ sở của nhà sản xuất.

Ethanol, IPM, tween 20, span 80, natri carboxymethyl cellulose (NaCMC), natri alginat, carbopol 940, tá dược tạo gel Velvet (gel V) do Trung Quốc sản xuất và đạt tiêu chuẩn cơ sở của nhà sản xuất. Các thuốc thử đều thuộc loại tinh khiết phân tích.

Trang thiết bị nghiên cứu gồm có máy đo quang phổ UV-Vis 1280 (Shimadzu), tủ sấy (Mettler - M23), bếp cách thủy (Mettler - WNB114), cân kỹ thuật (Sartorius), cân phân tích (Sartorius), cân phân tích âm MB 45 (Ohaus), máy đo pH (Ika),

*Tác giả liên hệ: Email: tranvanthanh@ump.edu.vn

Preparation of microemulsion-based gels from carpet weed [*Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC., Molluginaceae] dry extract

Thi Kim Lien Nguyen¹, Xuan Truong Le², Van Thanh Tran^{2*}

¹Nguyen Tat Thanh University

²University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh city

Received 18 October 2018; accepted 19 December 2018

Abstract:

Carpet weed [*Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC., Molluginaceae] has the ability to inhibit microorganisms because its extract contains flavonoids, which are considered as a promising source of plant-based antibiotics for the production of antibiotics. Microemulsion-gels prepared from carpet weed could distribute a great amount of active ingredients to the skin surface. Carpet weed dry extract was purified by 90% ethanol, and its bio-activity against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, and *Staphylococcus aureus* were evaluated. The results helped to determine the formula for antibacterial gels. Microemulsion composition was determined on the basis of the microemulsion region constructed on a ternary phase diagram with isopropyl myristate, tween 20, span 80 and water. Three carpet weed microemulsion formulations were manipulated and tested for their appearance, pH, viscosity, droplet size distribution, and phase strength. The physical parameters of carpet weed microemulsion included pH 4.527, average particle size about 14 nm and being stable after 6 cycles of heat shock. Carpet weed microemulsion gels satisfied physical and chemical criteria and exhibited *in vitro* antibacterial activity.

Keywords: antibacterial, carpet weed, flavonoid, *Glinus oppositifolius*, microemulsion gel.

Classification number: 3.4

máy khuấy từ (Ika) và các dụng cụ thường quy của phòng thí nghiệm.

Phương pháp nghiên cứu

Tinh chế cao nguyên liệu: xác định hàm lượng flavonoid toàn phần trong cao khô nguyên liệu bằng phương pháp đo quang phổ UV-Vis với thuốc thử nhôm nitrat 10%, dung môi ethanol 80% có 5% acid acetic (dung môi A), sử dụng quercetin làm chất chuẩn

(phương pháp được điều chỉnh và thẩm định theo hướng dẫn trong Dược điển Việt Nam IV). Cân chính xác khoảng 1,0 g cao khô cho vào bình định mức 100 ml, thêm dung môi A gần đến vạch, lắc kỹ, siêu âm 5 phút và bổ sung dung môi A đến vạch, lọc qua giấy lọc lấy dịch. Hút 5 ml dịch lọc cho vào bình định mức 25 ml, thêm vào 1 ml natri acetat 1M, 1 ml dung dịch nhôm nitrat 10%, bổ sung dung môi A vừa đủ, lắc đều. Chuẩn bị mẫu trắng không có thuốc thử nhôm nitrat 10%. Để yên các mẫu trong 45 phút rồi tiến hành đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 412 nm [4, 5]. Các phép đo được thực hiện 3 lần, lấy giá trị trung bình.

Các tạp chất tan trong nước được loại bằng cách thêm đồng lượng ethanol 90% và để lắng qua đêm trong tủ lạnh và lọc loại tạp. Tiến hành thẩm dò nồng độ ethanol phù hợp để loại được tối đa tạp chất mà vẫn đảm bảo hoạt tính kháng khuẩn. Cân các mẫu cao 10 g cho lần lượt vào 100 ml ethanol 45, 70 và 90%, khuấy kỹ, để lắng qua đêm và lọc qua giấy lọc. Cô dịch lọc trên bếp cách thủy đến khô. Các mẫu cao thu được được dùng để định tính khả năng kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên môi trường thạch với 4 chủng vi khuẩn *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* và *S. aureus*. Tiến hành tinh chế nguyên liệu với dung môi cho mẫu cao có khả năng kháng khuẩn tốt nhất, thu cao tinh chế (RTC).

Xây dựng công thức vi nhũ tương trắng: vi nhũ tương được xây dựng với IPM, chất diện hoạt tween 20, chất đồng diện hoạt sng - đục phát hiện bằng quan sát dưới ánh sáng thường để khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ chất diện hoạt/chất đồng diện hoạt đến sự hình thành vi nhũ tương qua giản đồ 3 pha: tween 20/span 80 (1/1) - IPM - nước, tween 20/span 80 (3/1) - IPM - nước, tween 20/span 80 (5/1) - IPM - nước, so sánh diện tích vùng tạo vi nhũ tương. Tiến hành khảo sát tỷ lệ giữa dầu và hỗn hợp chất diện hoạt/đồng diện hoạt ở các tỷ lệ 1/9, 2/8, 3/7, 4/6, 5/5, 6/4, 7/3, 8/2, 9/1.

Công thức vi nhũ tương được lựa chọn từ giản đồ pha sao cho thành phần pha dầu chiếm tỷ lệ không dưới 5%, lượng chất diện hoạt sử dụng là ít nhất, lượng nước sử dụng là nhiều nhất. Điều chế 3 công thức vi nhũ tương trắng F1, F2, F3 từ vùng tạo vi nhũ tương bằng cách cho IPM vào hỗn hợp chất diện hoạt và đồng diện hoạt, khuấy đều bằng máy khuấy từ, thêm pha nước vào và khuấy đến khi đồng nhất. Phối hợp 10% cao RTC vào các mẫu trắng để tạo 3 công thức chứa hoạt chất là F4, F5, F6. So sánh các công thức về cảm quan và độ bền pha sau 6 chu kỳ sốc nhiệt (mỗi chu kỳ được tiến hành ở dưới 4°C trong 16 giờ và chuyển ngay sang 40°C trong 8 giờ, các chu kỳ được tiến hành liên tục), chọn ra công thức phù hợp nhất.

Xác định các tính chất của cao đã tinh chế: RTC được định lượng flavonoid toàn phần bằng quang phổ UV-Vis và đo độ ẩm bằng cân hồng ngoại phân tích ẩm. Các phép đo được thực hiện 3 lần, lấy giá trị trung bình.

Thử độ tan của cao RTC với nước, ethanol và vi nhũ tương trắng bằng cách cho lượng dư cao RTC vào 20 ml chất thử, khuấy liên tục bằng máy khuấy từ ở nhiệt độ phòng trong 48 giờ. Lượng cao RTC cho vào đến khi đạt dung dịch bão hòa, cao không tan được sẽ làm cho dung dịch bị đục. Hỗn dịch được để qua đêm, đem đi ly tâm, lọc và tiến hành định lượng bằng quang phổ UV-Vis.

Xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của cao RTC bằng phương pháp pha loãng trên đĩa thạch với chủng vi khuẩn nhạy cảm, từ đó định liều cao RTC dùng cho chế phẩm bằng ít nhất 10 lần MIC. So sánh liều dự kiến với độ tan để thiết kế nồng độ phù hợp.

Điều chế vi nhũ tương RDD: điều chế 3 công thức vi nhũ tương RDD bằng cách phối hợp vi nhũ tương trắng với cao RTC ở 3 nồng độ dự kiến. Khảo sát các công thức về cảm quan, pH, độ bền pha sau 6 chu kỳ sốc nhiệt, đo kích thước hạt và phân bố kích thước hạt bằng máy tán xạ laser. Chọn ra công thức tốt nhất để thử nghiệm gel hóa.

Điều chế gel vi nhũ tương RDD: thực hiện thử nghiệm lựa chọn tác nhân tạo gel cho vi nhũ tương RDD với các tác nhân tạo gel thân nước thường dùng: NaCMC, natri alginate, carbopol 940 và gel V. Chất tạo gel được thêm từ từ vào vi nhũ tương, vừa thêm vừa khuấy đều đến khi mẫu thử sệt lại, chọn chất tạo gel đạt yêu cầu. Tiếp tục khảo sát chất tạo gel đã chọn ở nhiều nồng độ khác nhau, chọn nồng độ tối ưu sao cho gel trong suốt, đạt thể chất phù hợp, cho ánh sáng truyền qua dễ dàng và không làm thay đổi cấu trúc của vi nhũ tương. Điều chế thành phẩm gel vi nhũ tương RDD với chất tạo gel ở nồng độ đã chọn.

Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn *in vitro* của gel thành phẩm bằng phương pháp khuếch tán trên môi trường thạch Mueller-Hinton với các chủng vi khuẩn nhạy cảm. Vi khuẩn được hoạt hóa bằng môi trường Nutrient Broth, chỉnh độ đục vi khuẩn bằng nước muối sinh lý sao cho mật độ thu được tương đương với McFarland 0,5 (khoảng $1,5 \times 10^8$ CFU/ml). Dùng que bông vô trùng nhúng vào huyền dịch vi khuẩn đã chuẩn bị, trải đều trên mặt thạch, để hộp trong tủ ẩm cho ráo mặt. Đục các lỗ đường kính 6 mm trong bản thạch, cho chất thử vào đây lỗ. Mẫu chứng âm là gel vi nhũ tương trắng. Chứng dương là chế phẩm thương mại gel X chứa dịch chiết neem và 1% bạc nano. Ủ hộp thạch trong tủ ẩm 35-37°C trong 16-18 giờ. Lỗ chứng âm phải không ức chế sự phát triển của vi khuẩn. Chất thử có khả năng kháng khuẩn khi xung quanh lỗ có vòng kháng khuẩn.

Tiến hành khảo sát chế phẩm về các đặc tính vật lý như tính chất, pH, độ đàn mỏng.

Kết quả và bàn luận

Tinh chế cao nguyên liệu

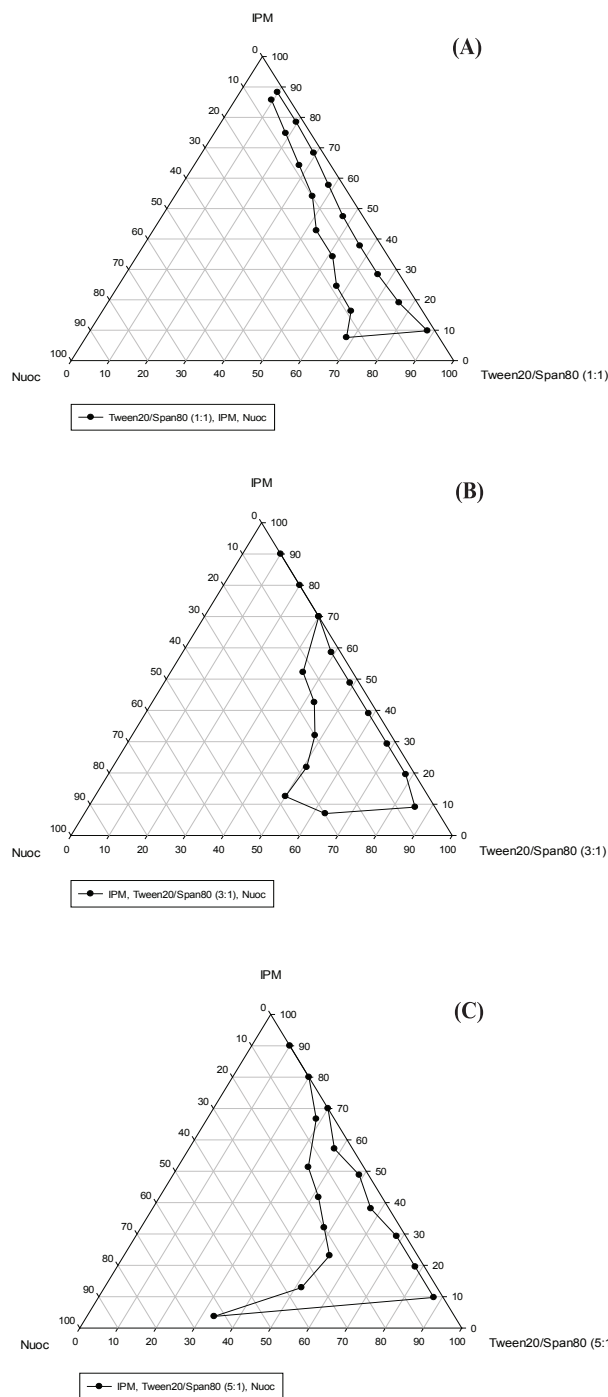
Kết quả định lượng cao nguyên liệu sau 3 lần lặp lại cho thấy hàm lượng flavonoid toàn phần là 2,621 mg quercetin/1 g cao. Hàm lượng này quá thấp, khó có thể sử dụng để điều chế thành phẩm đạt yêu cầu nên nguyên liệu cần phải được tinh chế để làm giàu hoạt chất, đồng thời loại các tạp tan trong nước để chế phẩm bền vững hơn.

Trong số các mẫu cao còn 45, 70 và 90% đem định tính kháng khuẩn, chỉ có mẫu cao còn 90% cho phản ứng dương tính ở nồng độ thử nghiệm (200 mg/ml) trên trực khuẩn Gram (-) *P. aeruginosa*, âm tính với 3 chủng còn lại; các mẫu cao còn 45% và 70% không thể hiện tính kháng khuẩn. Do đó, ethanol 90% được chọn làm dung môi tinh chế cao khô RDD ban đầu, qua quá trình

xử lý thu được cao đặc màu nâu đen có hàm ẩm trung bình 14,5% gọi là cao RTC.

Xây dựng công thức vi nhũ tương trắng

Các giản đồ pha trên hình 1 cho thấy, hỗn hợp tween 20/span 80 tỷ lệ 5:1 cho vùng tạo vi nhũ tương lớn nhất, nên tỷ lệ này sẽ được lựa chọn để xây dựng công thức vi nhũ tương.



Hình 1. Giản đồ pha thể hiện vùng tạo vi nhũ tương (vùng diện tích bên trong đường nối kín) với các tỷ lệ tween 20/span 80 lần lượt là 1:1 (A), 3:1 (B) và 5:1 (C).

Trên giản đồ pha của tỷ lệ tween 20/span 80 (5:1) chọn được 3 công thức tạo vi nhũ tương là F1, F2 và F3. Từ 3 công thức này phối hợp thêm 10% cao RTC để được 3 công thức F4, F5 và F6. Điều chế 6 công thức vi nhũ tương có thành phần như bảng 1.

Bảng 1. Thành phần các công thức vi nhũ tương khảo sát sơ bộ.

	F1	F2	F3	F4	F5	F6	Đơn vị
Cao RTC	0	0	0	10	10	10	%
IPM	5	5	5	4,5	4,5	4,5	%
Tween 20	37,5	41,67	45,83	33,75	37,5	41,25	%
Span 80	7,5	8,33	9,17	6,75	7,5	8,25	%
Nước	50	45	40	45	40,5	36	%

Về cảm quan, các công thức đều đồng nhất, trong suốt và cho ánh sáng truyền qua. Kết quả thử độ bền pha ghi nhận F4 bị tách lớp ở chu kỳ thứ 1 và F1 bị tách lớp ở chu kỳ thứ 3, các công thức còn lại đều bền vững qua 6 chu kỳ. Chọn công thức vi nhũ tương trắng là F2 để tiếp tục khảo sát do công thức này tạo được vi nhũ tương chứa hoạt chất F5 bền vững và có hàm lượng nước cao nhất, thích hợp cho quá trình gel hóa.

Xác định các tính chất của cao đã tinh chế

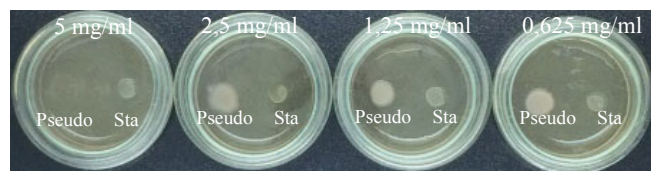
Hàm lượng flavonoid toàn phần trong cao RTC là 7,305 mg quercetin/1 g cao (n=3), tăng 2,8 lần so với cao khô ban đầu và ít tạp chất hơn nên cao RTC thích hợp để trực tiếp sử dụng điều chế gel vi nhũ tương.

Độ tan của cao RTC trong các chất thử nghiệm được mô tả trong bảng 2 cho thấy, vi nhũ tương làm tăng đáng kể độ tan của cao RTC so với dung môi nước. Do đó, dạng vi nhũ tương là một lựa chọn hợp lý để tải một lượng lớn thuốc vào chế phẩm.

Bảng 2. Kết quả thử độ tan cao RTC trong các dung môi (n=3).

Dung môi	Độ tan (g/ml)
Nước	0,4319
Vi nhũ tương F2	1,4546

Giá trị MIC của cao RTC đối với chủng *P. aeruginosa* ATCC 27853 là 5 mg/ml; đối với chủng *S. aureus* ATCC 29213 là trên 5 mg/ml (hình 2). Điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả định tính kháng khuẩn ở phần trên và các nghiên cứu của Juliana Janet R. Martin-Puzon và cs (2015) [3].



Hình 2. Kết quả thử MIC của mẫu cao RTC trên chủng *P. aeruginosa* và *S. aureus*.

MIC của cao RTC không vượt quá khả năng tải của vi nhũ tương F2 nên có thể tạo ra gel vi nhũ tương với nồng độ cao của RTC để cho hiệu quả kháng khuẩn tối ưu.

Điều chế vi nhũ tương RDD

Điều chế 3 công thức vi nhũ tương RDD F5, F7 và F8 với các nồng độ của cao RTC lần lượt là 10, 15 và 20% (kl/kl) bằng cách cân cao RTC vào cốc rồi bổ sung vi nhũ tương F2 vừa đủ, khuấy đều bằng cá từ ở tốc độ thấp để tránh tạo bọt.

Bảng 3. Thành phần công thức vi nhũ tương RDD.

Thành phần	F5	F7	F8	Đơn vị
Cao RTC	10	15	20	%
IPM	4,5	4,25	4	%
Tween 20	37,5	35,42	33,33	%
Span 80	7,5	7,08	6,67	%
Nước cất	40,5	38,25	36	%

Cả 3 công thức đều đạt cảm quan về độ trong suốt và đồng nhất, bền qua 6 chu kỳ sốc nhiệt (bảng 3).

Tiến hành đo pH, thế zeta, cỡ hạt và phân bố cỡ hạt của F8 là công thức có nồng độ hoạt chất cao nhất, so sánh với vi nhũ tương trắng F2 được kết quả như trong bảng 4.

Bảng 4. Các thông số của công thức F2 và F8.

Công thức	pH	Kích thước giọt (average) (nm)	Chỉ số đa phân tán (PI)	Thế zeta (mV)
F2	4,28	13,8	0,295	-7,8
F8	4,42	14,1	0,089	-3,3

Kết quả cho thấy, vi nhũ tương F8 có pH gần với pH da, kích thước giọt đạt quy định về cỡ hạt của vi nhũ tương với chỉ số đa phân tán thấp, chứng tỏ sự đồng đều trong phân bố cỡ hạt. Thế zeta khá thấp vì hệ sử dụng chất điện hoạt và đồng điện hoạt không ion hóa. Giá trị thấp của thế zeta không ảnh hưởng nhiều đến tính bền của vi nhũ tương vì cơ chế ổn định chủ yếu của hệ vi nhũ là nhờ sự phối hợp giữa chất điện hoạt và đồng điện hoạt. Công thức F8 tải lượng hoạt chất nhiều nhất và đạt độ ổn định nên được chọn để phát triển thành gel vi nhũ tương.

Điều chế gel vi nhũ tương RDD

Xây dựng công thức gel thành phẩm: phối hợp F8 với các tác nhân tạo gel và so sánh với gel tạo vi nhũ tương trắng F2.

Bảng 5. Kết quả khảo sát các chất tạo gel của F2 và F8.

Chất tạo gel	F2	F8	Nồng độ khảo sát (%)
NaCMC	+	Tạo gel, không bền	5
Na alginat/calci clorid	+	Gel trong, bị vón cục	10
Carbopol 940/Triethanolamin	++	Bị tăng màu khi kiểm hóa	1,5
Gel V	++	Trong, đồng nhất	5

Ghi chú: +: tạo được gel; ++: tạo gel tốt

Kết quả bảng 5 cho thấy, tất cả các chất khảo sát đều tạo gel với vi nhũ tương trắng, nhưng khi phối hợp với F8 thì nhiều chất tạo gel tỏ ra không phù hợp. Cụ thể, gel NaCMC không bền và bị tách lớp sau 3 ngày, natri alginat tạo gel có thể chất vón cục không thích hợp cho sản phẩm bôi. Điều này có thể là do trong thành phần của cao RCT có chứa nhiều hợp chất chứa nhóm -OH phenol nên gây

tương kỵ với tác nhân gel hóa. Trong khi quá trình tăng độ nhớt của gel carbopol bằng kiềm làm flavonoid chế phẩm bị tăng màu. Chỉ có gel V có khả năng tạo gel ở nồng độ thấp mà không phá hủy cấu trúc vi nhũ tương. Do đó, gel V được lựa chọn để làm chất tạo gel cho công thức.

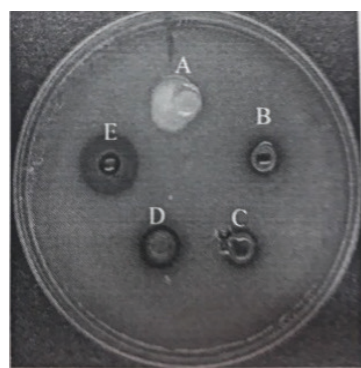
Gel V được khảo sát ở các tỷ lệ 2, 3, 4, 5 và 6% để so sánh khả năng tạo gel khi phối hợp với F8. Kết quả cho thấy, gel V ở nồng độ 5% có đặc tính tốt nhất về mặt cảm quan: gel trong suốt, thể chất phù hợp và cho ánh sáng truyền qua. Các gel ở nồng độ thấp hơn 5% không tạo được gel đặc.

Tiến hành điều chế gel vi nhũ tương từ F8 bằng cách thêm từ từ 95 g vi nhũ tương vào 5 g gel V, vừa thêm vừa khuấy đều cho đến khi gel trương nở hoàn toàn, thu được gel thành phẩm GF8 có công thức như bảng 6.

Bảng 6. Thành phần công thức gel vi nhũ tương thành phẩm GF8.

Thành phần	Khối lượng (g)
Cao RTC	20
IPM	4
Tween 20	33,33
Span 80	6,67
Nước cất	31
Gel V	5

Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn in vitro của gel thành phẩm: thử nghiệm tính kháng khuẩn của GF8 trên chủng *P. aeruginosa* ATCC 27853 với chứng âm A (gel 5% của vi nhũ tương trắng F2) và chứng dương gel X. Kết quả thể hiện ở hình 3 cho thấy, chứng âm không thể hiện tính kháng khuẩn, các mẫu còn lại đều thể hiện hoạt tính kháng *P. aeruginosa* với đường kính vòng kháng khuẩn của GF8, F8 và gel X lần lượt là 10, 12 và 15 mm. Mẫu vi nhũ tương F8 có vòng kháng khuẩn rộng hơn GF8, cho thấy việc gel hóa đã làm giảm tính kháng khuẩn của chế phẩm. Điều này có thể là do quá trình gel hóa làm tăng độ nhớt chế phẩm nên giảm khả năng khuếch tán của dược chất ra môi trường thử. Chế phẩm có khả năng kháng trực khuẩn mủ xanh, tuy nhiên hoạt tính còn khá hạn chế so với chế phẩm gel X vừa chứa dịch chiết vừa chứa nano bạc.



Hình 3. Kết quả thử tính kháng *P. aeruginosa*. A. Gel vi nhũ tương trắng; B và C. Mẫu gel GF8; D. Mẫu vi nhũ tương F8; E. Gel X.

Đánh giá các đặc tính vật lý của gel thành phẩm:

Tính chất: gel trong mờ, mềm, dễ bôi lên da, dễ rửa sạch.

pH: kết quả trung bình 3 lần đo là 4,527. pH của chế phẩm hơi acid, tuy nhiên vẫn nằm trong khoảng chấp nhận được khi bôi lên da.

Độ bền pha: sau 6 chu kỳ nhiệt, mẫu gel thử không bị tách lớp và không có sự thay đổi về cảm quan.

Kết luận và đề xuất

Từ nguyên liệu cao RĐĐ không có khả năng kháng khuẩn, tiến hành tinh chế bằng ethanol 90% thu được cao RTC (độ ẩm 14,5%), hàm lượng flavonoid toàn phần 7,305 mg quercetin/1 g cao, tăng 2,8 lần so với cao khô ban đầu và có MIC là 5 mg/ml đối với chủng *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Gel vi nhũ tương GF8 điều chế từ cao RTC với hỗn hợp chất diện hoạt/chất đồng diện hoạt là tween 20/span 80 (5:1) được khảo sát các chỉ tiêu về tính chất, độ bền pha và độ đàn mỏng, có pH 4,527 phù hợp với sinh lý da; đồng thời thể hiện được hoạt tính kháng khuẩn *in vitro* khi thử nghiệm trên đĩa thạch với chủng *P. aeruginosa* ATCC 27853. Tuy nhiên, hoạt tính kháng khuẩn của gel GF8 kém hơn so với vi nhũ tương chưa gel hóa F8 có thể do quá trình gel hóa làm tăng độ nhớt đã ảnh hưởng đến khả năng khuếch tán của hoạt chất. Nhưng nhờ thể chất đặc hơn F8 nên GF8 lại có khả năng bám dính cao hơn, thể hiện qua độ đàn mỏng đạt yêu cầu của chế phẩm bôi trên da.

Có thể cải tiến chế phẩm theo hướng mở rộng phổ kháng khuẩn và tăng hoạt tính bằng cách phối hợp thêm các chất kháng khuẩn mạnh (tinh dầu, nano bạc) vào thành phần công thức để đạt được hiệu quả kháng khuẩn cao hơn. Điều này vừa làm tăng hiệu quả của cao dược liệu, đồng thời giảm liều của các chất kháng khuẩn trong chế phẩm. Một hướng nữa là giảm nồng độ của chất tạo gel để làm ra gel lỏng với độ bám dính thấp hơn nhưng có thể tăng được hoạt tính kháng khuẩn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Shi-Yuan Sheu, et al. (2014), "Recent progress in *Glinus oppositifolius* research", *Pharmaceutical Biology*, **52(8)**, pp.1079-1084.
- [2] Nguyen Dinh Tu (2013), *Evaluation of antimicrobial activity of Glinus oppositifolius L.*, Trường Đại học quốc tế TP Hồ Chí Minh.
- [3] Juliana Janet R. Martin-Puzon, et al. (2015), "TLC profiles and antibacterial activity of *Glinus oppositifolius* L. Aug. DC. (Molluginaceae) leaf and stem extracts against bacterial pathogens", *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, **5(7)**, pp.569-574.
- [4] Nguyễn Hữu Lạc Thủy và cs (2011), "Định lượng flavonoid toàn phần trong lá trinh nữ hoàng cung *Crinum latifolium* L. (Amaryllidaceae) bằng phương pháp quang phổ UV-Vis", *Tạp chí Y học TP Hồ Chí Minh*, **15(1)**, tr.90-94.
- [5] K. AsokKumar, M. UmaMaheswari (2009), "Free radical scavenging and antioxidant activities of *Glinus oppositifolius* (carpet weed) using different *in vitro* assay systems", *Pharmaceutical Biology*, **47(6)**, pp.474-482.