

tháng; 9,0 tháng; 3,6 tháng^[4]. Ngoài ra, nghiên cứu của tác giả Estefanía Liza Baca – 2018 tại Bệnh viện Quốc gia Edgardo Rebagliati Martins trên 54 bệnh nhân cũng ghi nhận có sự khác biệt về thời gian sống thêm trung bình giữa các nhóm HAP A, HAP B, HAP C, HAP D tương ứng là: 32,8 ± 6,5 tháng; 24,9 ± 14,8 tháng; 13,9 ± 5,2 tháng; 14 ± 6,6 tháng.

Khảo sát chỉ số HAP với chỉ số ALBI trong tiên lượng tử vong ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có chỉ định nút mạch, chúng tôi nhận thấy chỉ số HAP có giá trị cao hơn trong dự báo khả năng tử vong. Diện tích dưới đường cong AUROC của chỉ số HAP và ALBI trong tiên lượng tử vong sau 6 tháng của bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan lần lượt là 0,801 và 0,487. Diện tích dưới đường cong AUROC của chỉ số HAP và ALBI trong tiên lượng tử vong sau 52 tháng của bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan lần lượt là: 0,709 và 0,57. Nghiên cứu của tác giả Apichat Kaewdech - 2021 trên 716 bệnh nhân tại Bệnh viện Songklanag me cũng cho kết quả tương tự: Diện tích dưới đường cong AUROC của chỉ số HAP và ALBI trong tiên lượng tử vong sau 1 năm của nhóm bệnh nhân UTBMTBG nút mạch lần lượt là: 0,696, và 0,622^[8].

Chỉ số ALBI thể hiện khả năng phân loại bệnh nhân dựa vào chức năng gan, bao gồm 2 thông số cơ bản là Albumin huyết thanh (g/l) và Bilirubin huyết thanh (mmol/l). Trong khi chỉ số HAP có thêm các chỉ số khác về đặc điểm liên quan đến khối u: AFP (ng/ml) và kích thước khối u (cm). AUROC của chỉ số HAP cao hơn ALBI khi dự báo khả năng tử vong càng khẳng định tính phức tạp và đa dạng của việc tiên lượng bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan. Ung thư

biểu mô tế bào gan là một bệnh lý ung thư được tiên lượng không chỉ dựa và đặc điểm khối u như các loại ung thư thường gặp mà còn cần nhắc về yếu tố chức năng gan. Chỉ số HAP là một chỉ số đơn giản, khách quan bao gồm cả 2 yếu tố đó, có thể bước đầu giúp các bác sĩ lâm sàng áp dụng để phân tầng bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có chỉ định TACE và chưa được điều trị trước đó.

KẾT LUẬN

Chỉ số HAP là một chỉ số đơn giản, khách quan, dễ áp dụng và có giá trị tiên lượng đối với bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan trước TACE.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **J M Llovet**, et al. Seminar in Liver Disease. 1999; 19 (3): 329 -338
2. **Galle PR**, et al. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. Vol 69, issue 1, P182 – 236
3. **Omar Elshaarawy**, et al. Intermediate stage hepatocellular carcinoma: a summary review. J Hepatocell Carcinoma. 2019
4. **Kadalayil L**, et al. A simple prognostic scoring system for patients receiving transarterial embolisation for hepatocellular cancer. Ann Oncol. 2013; 24(10): 2565-2570.
5. Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị ung thư biểu mô tế bào gan. Bộ y tế. 2020
6. **Estefanía Liza Baca**, et al. HAP score as prognostic factor of hepatocellular carcinoma treated with transarterial chemoembolization in a Latin American center. July 19, 2020.
7. **Josep M. Llovet**, et al. Hepatocellular carcinoma. Nature. January 2021
8. **Apichat Kaewdech**, et al. Clinical and Translational Gastroenterology. Feb 2021

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH BÀO CHẾ VIÊN NANG CỨNG “GIÁNG CHỈ TIÊU KHÁT LINH”

VŨ VIỆT HẰNG, ĐẶNG TRÚC QUỲNH
Trường Đại học Y Hà Nội

TÓM TẮT

Viên nang “Giáng chỉ tiêu khát linh” được nghiên cứu bào chế dựa trên cơ sở bài thuốc nghiên cứu phương “Giáng chỉ thang” gia giảm^[1]. Bài thuốc nghiên cứu phương “Giáng chỉ thang” được trích từ cuốn “Thiên gia diệu phương”^[1], thành phần gồm: Đan sâm, hoàng tinh, hà thủ ô

Chịu trách nhiệm: Vũ Việt Hằng
Email: vhangyhct@gmail.com
Ngày nhận: 28/5/2021
Ngày phản biện: 10/6/2021
Ngày duyệt bài: 12/6/2021

đồ, trạch tả, sơn tra dùng điều trị chứng đàm trệ và được cấu trúc gia thêm các vị: sinh hoàng kỳ, linh chi, thiên hoa phấn, hoàng liên, ngư tử, trị chứng tiêu khát (đái tháo đường) và ích trí nhân để ôn bổ tì vị^[2,3,4]. Bài thuốc đã được sử dụng nhiều dưới dạng thuốc thang để điều trị bệnh nhân đái tháo đường có rối loạn lipid máu. Nghiên cứu được tiến hành nhằm xây dựng chuẩn hóa quy trình bào chế đóng viên nang cứng “Giáng chỉ tiêu khát linh” để sử dụng thuận tiện, hiệu quả điều trị cao, tiến tới đăng ký lưu hành và ứng dụng điều trị trên lâm sàng.

Kết quả: Đã hoàn thiện qui trình bào chế, tiêu chuẩn hóa cao bán thành phẩm và viên nang cứng thành phẩm trong quy trình sản xuất viên nang đạt các tiêu chí của Tiêu chuẩn cơ sở.

Từ khóa: Viên nang “Giáng chỉ tiêu khát linh”, rối loạn lipid máu, đái tháo đường typ 2.

SUMMARY

THE DEVELOPMENT OF THE “GIANG CHI TIEU KHAT LINH” CAPSULES’ PREPARATION PROCESS

The preparation of “Giang chi tieu khat linh” capsules was developed based on the “Giang chi thang” experience – based formula with additions. The “Giang chi thang” experience – based formula, quoted from the “Thien gia dieu phuong” book, consists of *Radix Salviae miltiorrhizae*, *Rhizoma Polygonati*, *Radix Fallopieae multiflorae*, *Rhizoma Alismatis*, *Fructus Mali* and is used in treating the phlegm turbidity syndrome. In this preparation form, this formula was added with *Radix Astragali membranacei*, *Ganoderma lucidum*, *Radix Trichosanthis*, *Rhizoma Coptidis*, *Radix Achyranthis bidentatae* for the treatment of type 2 diabetes mellitus and , *Fructus Alpiniae oxyphyllae* to warm and tonify the spleen and stomach. “Giang chi thang” formula with additions has been widely used in clinical practice for the type 2 diabetes mellitus patients with dyslipidemia condition. This study was conducted to develop the standardized preparation process of the “Giang chi tieu khat linh” hard capsules for the higher convenience and therapeutic efficacy, preparing for the register of drug circulation and widely clinical application. Results: The preparation process was completely developed and standardized for the semi-finished liquid extract and the finished hard capsules; the process has met the requirements of the basis standards.

Keywords: “Giang chi tieu khat linh” capsules, dyslipidemia, type 2 diabetes mellitus.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đái tháo đường (ĐTĐ) gia tăng hàng năm theo sự phát triển của đời sống kinh tế xã hội. Theo thống kê của IDF, năm 2013 thế giới có 382 triệu người mắc ĐTĐ (chiếm 8,3% dân số) và dự kiến con số này sẽ tăng thêm 210 triệu người vào năm 2035. Tốc độ phát triển tăng nhanh cùng với mức độ nguy hiểm của bệnh nên ĐTĐ đã được coi là “kẻ giết người thầm lặng”. Do vậy hơn bao giờ hết, nhu cầu các thuốc y học hiện đại (YHHĐ) hay y học cổ truyền (YHCT) nhằm kiểm soát glucose máu, điều trị rối loạn lipid máu (RLLPM), phòng ngừa các biến chứng và hạn chế tác dụng phụ của thuốc càng ngày càng trở nên cấp thiết hơn. Hiện nay, nhiều nhà khoa học ở Việt Nam cũng như trên thế giới đang có xu hướng tìm kiếm và ứng dụng các thuốc nguồn gốc tự nhiên có tác dụng điều trị ĐTĐ và hạn chế rối loạn lipid^[5,6,7].

Sử dụng thuốc y học cổ truyền trong chăm sóc sức khỏe lâu dài đã và đang được thế giới và nhà nước Việt Nam quan tâm phát triển^[6]. Tuy nhiên, để hiện đại hóa thuốc cổ truyền, thuận tiện cho việc sử dụng thì việc bào chế thuốc từ nguồn gốc thảo dược cần nghiên cứu quy trình sản xuất công nghệ cao, hiện đại để có thể đáp ứng với nhu cầu điều trị bệnh là vấn đề cần thiết. Vì vậy, việc nghiên cứu quy trình bào chế viên nang “Giáng chỉ tiêu khát linh” từ bài thuốc y học cổ truyền điều trị rối loạn lipid máu cho bệnh nhân có đái tháo đường typ 2 là một nhiệm vụ khoa học cấp thiết.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu nghiên cứu

1.1. Dược liệu:^[8,9]

Đạt sâm (*Radix Salviae miltiorrhizae*) Đạt ĐDVN IV, tr. 751

Hoàng tinh (*Rhizoma Polygonati*) Đạt ĐDVN IV, tr. 785

Hà thủ ô (*Radix Fallopieae multiflorae*) Đạt ĐDVN IV, tr. 772

Trạch tả (*Rhizoma Alismatis*) Đạt ĐDVN IV, tr. 920

Sơn tra (*Fructus Mali*) Đạt ĐDVN IV, tr. 885

Ngư tử (*Radix Achyranthis bidentatae*) Đạt ĐDVN IV, tr. 847

Hoàng kỳ (*Radix Astragali membranacei*) Đạt ĐDVN IV, tr. 782

Thiên hoa phấn (*Radix Trichosanthis*) Đạt TCCS

Hoàng liên (*Rhizoma Coptidis*) Đạt ĐDVN IV, tr. 783

Ích chí (*Fructus Alpiniae oxyphyllae*) Đạt ĐĐVN IV, tr. 796

Linh chi (*Ganoderma lucidum*) Đạt TCCS Bột Talc (Talcum) Đạt ĐĐVN IV, tr. 104

1.2. Dụng cụ, máy móc, thiết bị nghiên cứu

*Thiết bị chiết xuất:

- Dây chuyền chiết - cô dược liệu: Mã hiệu: RZZ190(06), Nước SX: Trung Quốc, Năm SX: 2003, bao gồm:

+ Hệ thống bình chiết, trục giữa có cánh khuấy (EXTRATCTING TANK), số hiệu: 03019, dung tích: 2m³, trọng lượng: 1315kg, áp suất: 0-0,25MPa, nhiệt độ: 0-138°C.

+ Hệ thống cô màng mỏng (FILM EVAPORATOR), số hiệu: 03022, diện tích: 12,2m², trọng lượng: 930kg, áp suất: 0-0,4MPa, nhiệt độ: 0-151°C.

+ Bộ phận lưu giữ chất bay hơi (gồm ống sinh hàn)

+ Thiết bị cô chân không (VACUUM CONCENTRATING TANK), số hiệu: 03017, dung tích: 0,7m³, trọng lượng: 720kg, áp suất: 0-0,2MPa, nhiệt độ: 0-133°C.

+ Thiết bị cô 2 vỏ EWKA (hình chảo)

- Máy sấy phun sương.

- Thiết bị đo tỷ trọng.

- Máy vắt ly tâm.

*Thiết bị sấy: Tủ sấy tĩnh (Mettmert- Đức); Dây chuyền sấy phụ (VN), máy đóng nang (TQ), Máy trộn ướt (TQ), Máy trộn hình chữ V (VN), Hệ thống cô chân không (TQ), Bình ngưng kiệt 30-50 lít (VN), Nồi hai vỏ Eka Nồi hai vỏ Eka (VN), Nồi inox (VN), Máy xay bột (VN), Rây các loại (VN), cân đồng hồ, cân đĩa (VN).

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Công thức bào chế 1 mẻ sản xuất (70.000 viên nang)

Đan sâm 12kg; Hoàng tinh 06kg; Hà thủ ô 12kg; Trạch tả 09kg; Sơn tra 09kg

Ngưu tất 09kg; Hoàng kỳ 12kg Thiên hoa phấn 15kg Hoàng liên 06kg

Ích chí 09kg Linh chi 12kg; Tá dược (Talc, Lactose, Magnesi stearat, bột sắn..) vđ

2.2. Công thức điều chế cho 1 viên nang 500mg: Viên nang cứng số 0

Đan sâm 0,170g Hoàng tinh 0,085g Hà thủ ô 0,170g Trạch tả 0,170g

Sơn tra 0,128g Ngưu tất 0,128g Hoàng kỳ 0,170g Thiên hoa phấn 0,214g

Hoàng liên 0,085g Ích chí 0,128g Linh chi 0,170g

Tá dược (Talc, Lactose, Magnesi stearat, bột sắn....) vđ

3. Chiết xuất^[10,11]

Tiến hành chiết xuất với dung môi nước và sử dụng công nghệ sấy phun đối với 9 vị dược liệu: Hoàng tinh, Hà thủ ô, Trạch tả, Sơn tra, Ngưu tất, Hoàng kỳ, Thiên hoa phấn, Ích chí, Linh chi. Chiết xuất với dung môi Ethanol đối với 2 vị dược liệu: Đan Sâm và Hoàng liên.

3.1. Phối hợp các thành phần, tạo cốm đóng nang^[11]

Trộn riêng các cao khô sau phun sấy với tá dược đã được rây qua cỡ rây 180/125, sau đó phối hợp cao khô dạng hạt mịn (1) và (2) tạo cốm đóng nang.

3.2. Đóng nang, đóng gói

Đóng nang số 0, hàm lượng 0,5g/ viên.

3.3. Phương pháp kiểm nghiệm và các chỉ tiêu kiểm nghiệm^[10,11]

3.3.1. Cảm quan

a, Yêu cầu: Bột thuốc dạng hạt mịn, màu nâu, mùi thơm nhẹ, vị hơi ngọt sau đắng nhẹ.

b, Phương pháp thử: Thử bằng cảm quan, chế phẩm phải đạt các yêu cầu.

3.3.2. Định tính

(1) Đan sâm: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (ĐĐVN IV, phụ lục 5.4)^[9]

a, Yêu cầu: Sắc ký đồ của mẫu thử phải có các vết cùng màu, cùng R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

b, Phương pháp thử

*Dụng cụ, thuốc thử:

- Bản mỏng silica gel G trắng sẵn (Merck) đã hoạt hoá ở 100 °C trong 30 phút

- Ethyl acetat; ethanol tuyệt đối (TT).

- Hệ dung môi triển khai sắc ký: Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic (5:2:2:1)

- Thuốc thử hiện màu: Soi UV 366nm.

*Cách thử :

- Dung dịch đối chiếu: Lấy 2g bột đan sâm, thêm 70ml nước, đun sôi nhẹ trong 30 phút, để nguội, lọc. Thêm vào dịch lọc 30ml ethyl acetat, lắc kỹ. Gạn lấy dịch chiết ethyl acetat, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa cồn trong 1ml ethanol tuyệt đối được dung dịch chấm sắc ký.

- Dung dịch thử: Lấy 10g chế phẩm, thêm 70ml nước nóng, đun sôi nhẹ trong 10 phút. Để nguội, ly tâm. Gạn lấy dịch ly tâm, thêm 30ml ethyl acetat, lắc kỹ. Gạn lấy dịch chiết ethyl acetat, cô trên cách thủy tới cạn. Hoà cồn trong 1ml ethanol tuyệt đối được dung dịch chấm sắc ký.

- Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký theo ĐĐVN IV, phụ lục 5.4. Sau khi triển

khai được khoảng 13 - 14cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 366nm.

(2) Ngưu tất

a, Yêu cầu: Sắc ký đồ của mẫu thử phải có các vết cùng màu, cùng R_f với các vết của dung dịch chuẩn Ngưu tất và acid oleanolic.

b, Phương pháp thử: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (ĐĐVN IV, phụ lục 5.4)^[9]

*Dụng cụ, thuốc thử:

- Bản mỏng silicagel G tráng sẵn (Merck) đã hoạt hoá ở 100 °C trong 30 phút

- Cloroform; ethanol tuyệt đối (TT).

- Hệ dung môi triển khai sắc ký: Cloroform - ethyl acetat (7:3)

- Thuốc thử hiện màu: Dung dịch vanillin 1% trong acid sulfuric 5%

*Cách thử:

- Dung dịch đối chiếu:

+ Lấy 2g bột Ngưu tất, thêm 50ml dung dịch HCl 15%, đun sôi hồi lưu 2 giờ, để nguội, chuyển vào bình gạn rồi lắc với 30ml cloroform, lắc kỹ. Gạn lấy dịch chiết dung môi, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa cồn trong 1ml ethanol tuyệt đối được dung dịch chấm sắc ký.

+ Dung dịch chuẩn acid oleanolic trong ethanol có nồng độ 0,1mg/ml.

- Dung dịch thử: Lấy 10g chế phẩm, thêm 50ml dung dịch HCl 15%, đun sôi hồi lưu 2 giờ, để nguội, chuyển vào bình gạn rồi lắc với 30ml cloroform, lắc kỹ. Gạn lấy dịch chiết dung môi, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa cồn trong 1ml ethanol tuyệt đối được dung dịch chấm sắc ký.

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký theo ĐĐVN IV, phụ lục 5.4. Sau khi triển khai được khoảng 13 - 14cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun thuốc thử hiện màu, sấy, quan sát các vết ở ánh sáng thường.

3) Hoàng liên: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (ĐĐVN IV, phụ lục 5.4)^[9]

a, Yêu cầu: Sắc ký đồ của mẫu thử phải có các vết cùng màu, cùng R_f với các vết của dung dịch chuẩn Hoàng liên và chuẩn Berberin clorid, Palmatin clorid.

b, Phương pháp thử:

*Dụng cụ, thuốc thử:

- Bản mỏng silica gel G tráng sẵn (Merck) đã hoạt hoá ở 100 °C trong 30 phút

- Ethanol tuyệt đối (TT).

- Hệ dung môi triển khai sắc ký: N-butanol - acid acetic - nước (7:1:2)

- Thuốc thử hiện màu: Soi UV 366nm

*Cách thử:

- Dung dịch đối chiếu:

+ Lấy 2g bột Hoàng liên, thêm 20ml ethanol tuyệt đối, đun sôi hồi lưu cách thủy 10 phút, lọc được dung dịch chấm sắc ký.

+ Dung dịch chuẩn Berberin clorid trong ethanol có nồng độ 0,5mg/ml

+ Dung dịch chuẩn Palmatin clorid trong ethanol có nồng độ 0,5mg/ml

- Dung dịch thử: Lấy 5g chế phẩm, thêm 20ml ethanol tuyệt đối, đun sôi hồi lưu cách thủy 10 phút, lọc được dung dịch chấm sắc ký.

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký theo ĐĐVN IV, phụ lục 5.4. Sau khi triển khai được khoảng 13 - 14cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát các vết dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 366nm.

4) Hà thủ ô: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (ĐĐVN IV, phụ lục 5.4)^[9]

a, Yêu cầu: Sắc ký đồ của mẫu thử phải có các vết cùng màu, cùng R_f với các vết của dung dịch chuẩn.

b, Phương pháp thử:

*Dụng cụ, thuốc thử:

- Bản mỏng silicagel G tráng sẵn (Merck) đã hoạt hoá ở 100°C trong 30 phút

- Cloroform; ethanol tuyệt đối (TT).

- Hệ dung môi triển khai sắc ký: Toluene - ethyl acetat - acid formic (9:4:1)

- Thuốc thử hiện màu: Soi UV 366nm

*Cách thử:

- Dung dịch đối chiếu: Lấy 2g bột Hà thủ ô đỏ, thêm 50ml dung dịch HCl 15%, đun sôi hồi lưu 2 giờ, để nguội, chuyển vào bình gạn rồi lắc với 30ml cloroform, lắc kỹ. Gạn lấy dịch chiết dung môi, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa cồn trong 1ml ethanol tuyệt đối được dung dịch chấm sắc ký.

- Dung dịch thử: Lấy 10g chế phẩm, thêm 50ml dung dịch HCl 15%, đun sôi hồi lưu 2 giờ, để nguội, chuyển vào bình gạn rồi lắc với 30ml cloroform, lắc kỹ. Gạn lấy dịch chiết dung môi, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa cồn trong 1ml ethanol tuyệt đối được dung dịch chấm sắc ký.

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 μ l mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký theo ĐĐVN IV, phụ lục 5.4. Sau khi triển khai được khoảng 13 - 14cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát các vết dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 366nm.

3.3.3. Định lượng

3.3.3.1. Oleanolic acid: Phương pháp SKLM (ĐBVN IV)^[9]

a, Yêu cầu: $\geq 0,16$ mg/g
b, Phương pháp thử
- Hóa chất, thuốc thử: Acetonitril (HPLC); Acid phosphoric; Methanol.

- Điều kiện sắc ký:
+ Cột sắc ký pha đảo RP C18 (250 x 4,6 mm, 5 μ m).

+ Pha động: Acetonitril : dung dịch acid phosphoric 0,1% (90 : 10)

+ Tốc độ dòng: 1,0ml/phút.

+ Detector UV bước sóng: 210nm.

+ Thể tích tiêm mẫu: 20 μ l.

- Chuẩn bị dung dịch chuẩn, dung dịch thử:

+ Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch chuẩn acid oleanolic trong methanol có nồng độ chính xác khoảng 50 μ g/ml.

+ Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 10 g chế phẩm, thêm 50ml dung dịch HCl 15%, đun sôi hồi lưu 2giờ, để nguội, lọc. Chuyển dịch lọc sang bình gạn rồi lắc với cloroform 5 lần, mỗi lần 30ml, gộp các dịch chiết dung môi, cô cạn trên cách thủy. Hòa tan cần bằng methanol chuyển vào bình định mức 25 ml, thêm methanol vừa đủ thể tích, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

+ Tiến hành: Tiêm riêng biệt 20 μ l mỗi dung dịch đối chiếu và dung dịch thử vào máy. Tiến hành sắc ký theo điều kiện đã mô tả, ghi sắc ký đồ.

- Định tính: Sắc ký đồ của dung dịch thử có các pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của các pic trong sắc ký đồ dung dịch chuẩn acid oleanolic.

- Định lượng: Hàm lượng acid oleanolic (mg) trong 1 đơn vị chế phẩm (1 viên) được tính theo công thức:

$$X = \frac{S_t \times m_c \times M \times P \times Dt}{S_c \times m_T \times Dc \times 100}$$

Trong đó:

S_t, S_c : Diện tích pic dung dịch thử và chuẩn (mAu).

m_c : Khối lượng của chuẩn (mg).

m_T : Khối lượng mẫu thử (g).

P: Hàm lượng chuẩn nguyên trạng (%).

M: Khối lượng trung bình viên (g)

Dt, Dc : Độ pha loãng của thử và chuẩn

3.3.3.2. Palmatin HCl và Berberin HCl

a, Yêu cầu:

- Palmatin HCl: $\geq 0,48$ mg/g

- Berberin HCl: $\geq 1,5$ mg/g

b, Phương pháp thử

- Hóa chất, thuốc thử:

+ Acetonitril (HPLC).

+ Nước cất.

+ Kali dihydrophosphat.

+ Natri lauryl sulfat.

+ Methanol.

- Điều kiện sắc ký:

+ Cột sắc ký pha đảo RP C18 (250 x 4,6 mm, 5 μ m).

+ Pha động: 3,4 g kali dihydrophosphat, 1,7 g natri lauryl sulfat trong 1000 ml hỗn hợp acetonitril : nước (1 : 1).

+ Tốc độ dòng: 1,2 ml/phút.

+ Detector UV bước sóng 345 nm.

+ Thể tích tiêm mẫu: 20 μ l.

- Chuẩn bị dung dịch chuẩn, dung dịch thử:

+ Dung dịch chuẩn berberin clorid: pha dung dịch chuẩn berberin clorid trong methanol có nồng độ chính xác khoảng 30 μ g/ml.

+ Dung dịch chuẩn palmatin clorid: pha dung dịch chuẩn palmatin clorid trong methanol có nồng độ chính xác khoảng 8 μ g/ml.

+ Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột chế phẩm vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 70 ml methanol, siêu âm 30 phút, để nguội, thêm methanol vừa đủ thể tích. Lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

+ Tiến hành: Tiêm riêng biệt 20 μ l mỗi dung dịch đối chiếu và dung dịch thử vào máy. Tiến hành sắc ký theo điều kiện đã mô tả, ghi sắc ký đồ.

- Định tính: Sắc ký đồ của dung dịch thử có các pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của các pic trong sắc ký đồ dung dịch chuẩn palmatin clorid, berberin clorid.

- Định lượng: Hàm lượng Berberin clorid (mg) trong 1 đơn vị chế phẩm (1 viên) được tính theo công thức:

$$X = \frac{S_t \times m_c \times M \times P \times Dt}{S_c \times m_T \times Dc \times 100}$$

Trong đó:

S_t, S_c : Diện tích pic dung dịch thử và chuẩn (mAu).

m_c : Khối lượng của chuẩn (mg).

m_T : Khối lượng mẫu thử (g).

P: Hàm lượng chuẩn nguyên trạng (%).

M: Khối lượng trung bình viên (g)

Dt, Dc : Độ pha loãng của thử và chuẩn

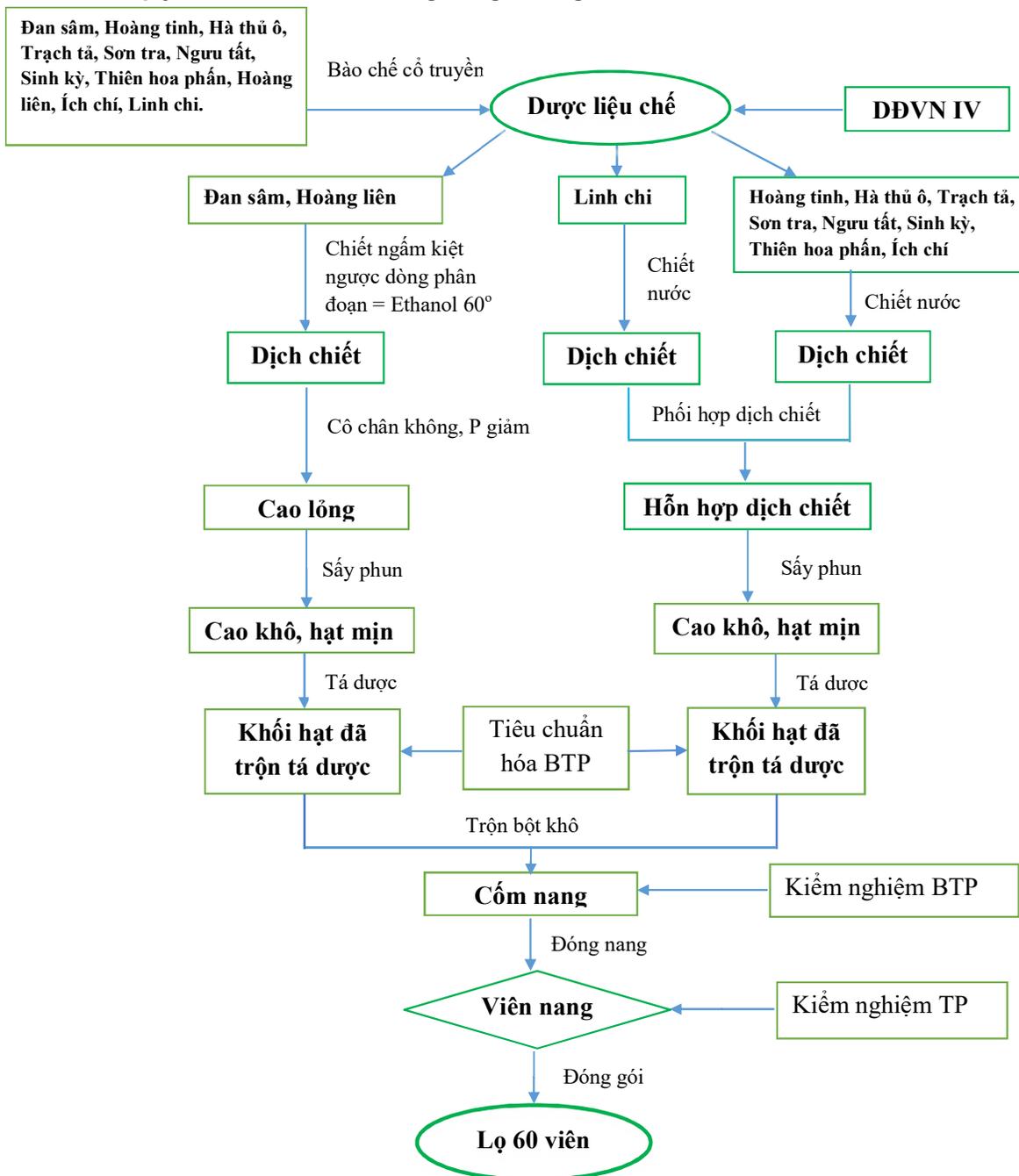
Hàm lượng Palmatin clorid (mg) trong 1 đơn vị chế phẩm (1 viên) tính theo công thức:

$$X = \frac{S_t \times m_c \times M \times P \times Dt}{S_c \times m_T \times Dc \times 100}$$

Trong đó:
 S_t, S_c : Diện tích pic dung dịch thử và chuẩn (mAu).
 m_c : Khối lượng của chuẩn (mg).

m_T : Khối lượng mẫu thử (g).
 P : Hàm lượng chuẩn nguyên trạng (%).
 M : Khối lượng trung bình viên (g).
 D_t, D_c : Độ pha loãng của thử và chuẩn

4. Sơ đồ quy trình bào chế viên nang cứng “Giáng chỉ tiêu khát linh”



KẾT QUẢ

1. Quy trình chiết xuất

1.1. Chiết xuất với dung môi nước và sử dụng công nghệ sấy phun

*Chuẩn bị:

- Dược liệu đã xử lý và chế biến đạt tiêu chuẩn: Hoàng tinh, Hà thủ ô, Trạch tả, Sơn tra, Ngưu tất, Hoàng kỳ, Thiên hoa phấn, Ích chí, Linh chi.

- Tá dược.

- Nước sinh hoạt.

*Tiến hành:

- **Chiết xuất:** Dùng hệ thống bình chiết, trục giữa có cánh khuấy tiến hành chiết xuất, dùng máy vắt ly tâm rút kiệt dịch chiết. Kết quả với tổng số 84kg dược liệu, dùng dung môi nước chiết xuất 3 lần với nhiệt độ 100°C, dịch chiết thu được sau 3 lần chiết là 430 lít.

Tiến hành chiết riêng Linh chi tương tự như trên, dịch chiết thu được 100 lít.

Cô dịch chiết: Trên hệ thống cô màng mỏng, tiến hành cô dịch chiết ở nhiệt độ 70°C và áp suất 0,1mpa, trong 3 giờ, khối lượng dịch sau cô là 80 lít có tỷ trọng 1,16.

Dịch chiết Linh chi tiến hành cô tương tự thu được 25 lít có tỷ trọng 1,14.

Gộp 2 loại dịch chiết sau cô pha chế để tiến hành phun sấy.

- **Sấy phun:**

+ Chuẩn bị: Pha chế dịch sấy phun

Dịch sau cô 105 lít Tá dược vđ

Hòa tan hoàn toàn tá dược trong nước sạch, cho dịch sau cô vào khuấy đều để được dịch đồng nhất tiến hành lọc rồi đem sấy phun.

+ Sấy phun: Dịch đã pha chế được tiến hành phun sấy trong thời gian 36 giờ, thu được 25 kg cao khô dạng hạt mịn (1).

1.2. Chiết xuất với dung môi cồn

* Chuẩn bị:

- Dược liệu đã xử lý và chế biến đạt tiêu chuẩn: Đan sâm và Hoàng liên.

- Dung môi: Ethanol

* Thiết bị:

- Hệ thống bình chiết ngấm kiệt.

- Thiết bị cô chân không.

* Tiến hành:

+ Chia dược liệu làm 3 phần theo tỷ lệ giảm dần cho vào 3 bình ngấm kiệt (8:6:4kg).

+ Làm ẩm dược liệu đậy kín, để yên 2 giờ.

+ Tiến hành chiết xuất bằng Ethanol 70°:

Cho Ethanol 70° vào bình ngập mặt dược liệu, cách mặt 3-4cm, ngâm 24h, sau đó rút dịch chiết từ từ. Tốc độ rút dịch chiết khoảng 100ml/phút. Dịch chiết đậm đặc (C1) thu được khoảng 80% dược liệu (11 lít), để riêng.

Chiết lần 2 ở bình 1 tương tự lần 1. Làm ẩm dược liệu bình 2 trong 2h, dịch chiết thu được lần 2 dùng làm dung môi chiết xuất lần 1 ở bình 2. Dịch chiết thu được lần 1 (C2) khoảng 80% dược liệu (7 lít) cũng để riêng.

Tiếp tục chiết lần 2 ở bình 2, rút dịch chiết và làm dung môi chiết xuất bình 3, sau khi đã làm ẩm như 2 bình trên, dịch chiết đậm đặc thu được ở bình 3 (C3) là 4 lít.

Tiến hành chiết xuất lần 3 luân chuyển từ bình 1 đến bình 3 tương tự như trên ta thu được dịch chiết các lần là C1'=14 lít, C2'= 8 lít, C3'= 5 lít.

Tổng dịch chiết thu được 49 lít.

- Cô và sấy phun sương: Dịch chiết thu được đem cô chân không ở nhiệt độ 70°, áp suất 0,1mpa, trong thời gian 3 giờ được 22.5kg cao. Sau đó đem pha chế tiến hành sấy phun sương tương tự như trên thu được 5,1 kg cao khô dạng hạt mịn (2).

2. Phối hợp các thành phần, tạo cốm đóng nang

Trộn riêng các cao khô sau phun sấy với tá dược đã được rây qua cỡ rây 180/125, sau đó phối hợp cao khô dạng hạt mịn (1) và (2) tạo cốm đóng nang.

3. Đóng nang, đóng gói

Đóng nang số 0, hàm lượng 0,5g/ viên. Vỏ nang của NSX: Công ty CP Dược phẩm Cửu Long, đạt tiêu chuẩn quốc gia.

Đóng nang bằng máy tự động, nhãn hiệu Feiyun NJP -800, nước SX: Trung Quốc.

Đóng lọ 60 viên.

Bảo quản nơi khô ráo, thoáng mát.

4. Kiểm nghiệm bán thành phẩm và thành phẩm

4.1. Cảm quan: Đạt yêu cầu như mô tả.

4.2 Định tính

Đan sâm: Sắc ký đồ của mẫu thử cho các vết tương đương với sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Ngưu tất: Sắc ký đồ của mẫu thử có các vết cùng màu, cùng R_f với các vết của dung dịch chuẩn Ngưu tất và acid oleanolic.

Hoàng liên: Sắc ký đồ của mẫu thử có các vết cùng màu, cùng R_f với các vết của dung dịch chuẩn Hoàng liên và chuẩn Berberin clorid, Palmatin clorid.

Hà thủ ô: Sắc ký đồ của mẫu thử có các vết cùng màu, cùng R_f với các vết của dung dịch chuẩn.

4.3. Định lượng

+ Hàm lượng Oleanolic acid: Sắc ký đồ trong phép thử định lượng Oleanolic acid trong cao khô, hàm lượng Oleanolic acid trong bột cao khô đóng nang được xác định là 0,182mg/g bột cao khô.

+ Hàm lượng Palmatin HCl và Berberin HCl: Sắc ký đồ trong phép thử định lượng Palmatin HCl và Berberin HCl trong cao khô, trong cao khô đóng nang xác định được hàm lượng Palmatin HCl là 0,5mg/g bột cao khô và Berberin HCl là 1,54mg/g bột cao khô.

BÀN LUẬN

Các vị thuốc đều được kiểm định đạt tiêu chuẩn Dược điển VN IV và tiêu chuẩn cơ sở trước khi đưa làm sản xuất, được sơ chế và bào chế theo phương pháp Y học cổ truyền trước khi đưa vào chiết xuất để đảm bảo hoạt chất và tác dụng được cao nhất.

Quy trình chiết xuất được thực hiện với hai dung môi là cồn Ethanol và nước để đạt được tối ưu dịch chiết. Thiết bị chiết xuất và quy trình cô cao dịch chiết hiện đại đảm bảo được hiệu suất chiết cao và tiết kiệm chi phí.

Cao đặc sau chiết xuất được sử dụng công nghệ sấy phun là công nghệ mới nhất để điều chế ra cao khô Giáng chỉ tiêu khát linh, từ đó tạo cốm và đóng viên nang. Cao khô “Giáng chỉ tiêu khát linh” đã được kiểm định về hình thức, cảm quan, tính chất, độ ẩm, tro toàn phần và định tính. Cao khô “Giáng chỉ tiêu khát linh” đạt tiêu chuẩn cơ sở trước khi đóng viên nang.

Các tá dược bào chế viên nang “Giáng chỉ tiêu khát linh” đã được nghiên cứu nhằm đảm bảo đưa lượng thuốc tối đa trong viên nang và đảm bảo yêu cầu tiêu chuẩn của viên nang cứng. Qua quá trình khảo sát, các tá dược được lựa chọn là Talc, Lactose, Magnesi stearat, bột sắn...

Kỹ thuật bào chế viên nang “Giáng chỉ tiêu khát linh” là kỹ thuật cũng đang được ứng dụng nhiều đối với các thuốc có nguồn gốc tự nhiên và đặc biệt là các thuốc y học cổ truyền. Đây là một dạng thuốc hiện đại và đang ngày càng được sử dụng rộng rãi. Kỹ thuật bào chế viên nang là một trong các kỹ thuật hiện đại mang nhiều ưu điểm: có thể sản xuất được ở qui mô công nghiệp, thuận tiện sử dụng, phát huy tác

dụng theo ý muốn nhờ vào sự tác động của các phương pháp bào chế.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã chuẩn hóa được quy trình bào chế viên nang cứng “Giáng chỉ tiêu khát linh”, đạt tiêu chuẩn cơ sở để tiến hành nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Lý Văn Lượng** (Biên dịch: Viện Thông tin Thư Viện Y học Trung ương Hà Nội (1989), Thiên gia diệu phương, Nhà xuất bản Quân giải phóng Nhân dân Trung Quốc, Tr. 52 - 57; 60.

2. **Đỗ Tất Lợi** (2004), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y học, tr. 48 - 49, 189 - 191, 217, 353 - 357, 405 - 406, 629 - 631, 818 - 820, 831 - 836, 841 - 843, 887 - 889.

3. Thông tư số 30/2017/TT-BYT ngày 11/07/2017 của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc hướng dẫn phương pháp chế biến các vị thuốc cổ truyền.

4. Bộ môn Dược học cổ truyền, Trường Đại học Dược Hà Nội (2003), Dược học cổ truyền, Nhà xuất bản Y học, tr. 242 - 243, 291 - 293, 314 - 315, 334 - 335, 357 - 358.

5. **Võ Văn Chi** (2012). Từ điển cây thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y học, Tập I, II.

6. **Nguyễn Việt Thân** (2013). Những cây thuốc Việt Nam và những bài thuốc thường dùng, Nhà xuất bản Thế giới, Tập I.

7. **Vũ Xuân Phương** (2007). Thực vật chí Việt Nam, Nhà xuất bản khoa học Kỹ thuật, Hà Nội.

8. Viện Dược liệu (2006), Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam, Nhà xuất bản Khoa học kỹ thuật, Tr 943 - 945.

9. Bộ Y tế (2009), Dược điển Việt Nam IV, NXB Y học, Hà Nội.

10. Bộ môn Bào chế, Trường Đại học Dược Hà Nội (2008). Kỹ thuật bào chế và sinh dược học các dạng thuốc, tập II, NXB Y học, Hà Nội, tr 165, 213 - 214

11. **Từ Minh Koóng** (2009). Kỹ thuật sản xuất dược phẩm, tập III, NXB Y học, Hà Nội, tr 46 - 47, 168 - 170.