

NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ VIÊN NANG MỀM CHỨA HỆ VI TỤ NHỮ (SMEDDS/SNEDDS) TỪ CAO CHIẾT LINH CHI GIÀU TRITERPENOID

Trần Việt Hùng^{1*}, Đào Mai Trúc Ly¹, Phan Nguyễn Trường Thắng¹,
Nguyễn Thị Khánh Linh¹, Trương Công Trí², Lê Minh Quân²,
Phan Hoàng Long³, Trần Cao Thụy Hạ Lan⁴, Huỳnh Thị Mỹ Duyên⁵

¹ Viện Kiểm nghiệm Thuốc Thành phố Hồ Chí Minh

² Trường Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

³ Khoa Dược, Trường Đại học Văn Lang

⁴ Khoa Dược, Trường Đại học Đông Á

⁵ Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

TÓM TẮT

Mục tiêu: Khảo sát và tối ưu hóa quy trình bào chế viên nang mềm chứa hệ vi tụ nhũ SMEDDS/SNEDDS từ cao chiết linh chi giàu triterpenoid (TGE-SMEDDS/SNEDDS).

Đối tượng và phương pháp: Triterpenoid được chiết xuất từ nấm linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) bằng phương pháp CO₂ siêu tới hạn (SFE). Từ cao chiết này, hệ TGE-SMEDDS/SNEDDS được bào chế với các thành phần gồm propylene glycol monocaprylate, Kolliphor RH 40, Tween 80, polyethylen glycol 400. Đánh giá độ bền nhiệt động học và tính chất hóa lý của hệ TGE-SMEDDS/SNEDDS. Bào chế viên nang mềm chứa hệ TGE-SMEDDS/SNEDDS bằng phương pháp ép khuôn trên trụ, có sử dụng hiệp đồng chất chống lên kết chéo glycin và acid citric.

Kết quả: Triterpenoid được chiết xuất từ nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) bằng phương pháp SFE có tổng hàm lượng triterpenoid toàn phần (TTC) là 240,4 ± 3,5 mg/g. Công thức tối ưu hóa TGE-SMEDDS/SNEDDS có TTC là 51,9169 ± 0,006 mg/g. Kích thước hạt micro/nano của hệ phân tán khoảng từ 130 – 200 nm trong môi trường nước, pH 1,2, pH 4,5 và pH 6,8. Kết quả đánh giá độ bền nhiệt động học và tính chất hóa lý TGE-SMEDDS/SNEDDS cho thấy hệ phân tán tốt trong các môi trường pH tương tự pH sinh lý, độ ổn định nhiệt rộng, độ pH, độ nhớt, tỷ trọng đã được chứng minh là phù hợp để phát triển viên nang mềm. Nghiên cứu bào chế viên nang mềm chứa TGE-SMEDDS/SNEDDS sử dụng hiệp đồng chất chống liên kết chéo glycin và acid citric ở tỉ lệ 2,5 : 0,5 cho thấy hiệu quả cao trong việc giảm hiện tượng liên kết chéo của vỏ nang. Mỗi viên nang mềm chứa 480 mg TGE-SMEDDS/SNEDDS, tương ứng với 80 mg TGE có TTC trong một viên nang mềm được xác định khoảng 25,80 mg/viên.

Chịu trách nhiệm: Trần Việt Hùng

Email: tran.viethung168@gmail.com

Ngày nhận: 26/9/2025

Ngày phản biện: 10/10/2025

Ngày duyệt bài: 24/10/2025

Kết luận: Đề tài đã khảo sát các thông số kỹ thuật khi nâng cấp quy trình chiết xuất triterpenoid bằng phương pháp CO₂ siêu tới hạn và thiết lập được quy trình bào chế hệ TGE-SMEDDS/SNEDDS ở cỡ lô 5.000 viên. Đồng thời, đã xây dựng được quy trình bào chế viên nang mềm chứa TGE-SMEDDS/SNEDDS có sử dụng hiệp đồng chất chống liên kết chéo trong công thức vỏ nang. Nghiên cứu viên nang mềm TGE-SMEDDS/SNEDDS làm tiền đề cho việc đánh giá độ ổn định, độ hòa tan và sinh khả dụng của sản phẩm ở giai đoạn tiếp theo.

Từ khóa: Chiết xuất siêu tới hạn – SFE, nấm linh chi, triterpenoid, hệ vi/siêu vi tự nhũ hóa, SMEDDS/SNEDDS, viên nang mềm, liên kết chéo.

**FORMULATION STUDY OF SOFT CAPSULES CONTAINING
A SELF-MICRO/NANOEMULSIFYING DRUG DELIVERY SYSTEM (SMEDDS/SNEDDS)
FROM GANODERMA LUCIDUM EXTRACT RICH IN TRITERPENOIDS**

SUMMARY

Objective: To investigate and optimize the formulation process of soft capsules containing a self-micro/nanoemulsifying drug delivery system (TGE-SMEDDS/SNEDDS) prepared from a triterpenoid-rich extract of *Ganoderma lucidum*.

Subjects and methods: Triterpenoids were extracted from *Ganoderma lucidum* using the supercritical fluid extraction (SFE) method. Based on this extract, the TGE-SMEDDS/SNEDDS system was formulated with propylene glycol monocaprylate, Kolliphor RH 40, Tween 80, and polyethylene glycol 400. The thermodynamic stability and physicochemical characteristics of the TGE-SMEDDS/SNEDDS were evaluated. Soft capsules containing the TGE-SMEDDS/SNEDDS system were prepared using the rotary die process, employing glycine and citric acid synergistically as anti-crosslinking agents.

Results: Triterpenoids were extracted from *Ganoderma lucidum* using SFE, with a total triterpenoid content (TTC) of 240.4 ± 3.5 mg/g. The optimized TGE-SMEDDS/SNEDDS formulation showed a TTC of 51.9169 ± 0.006 mg/g. The micro/nano sized particles of the dispersion ranged from 130 – 200 nm when dispersed in water, pH 1.2, 4.5, and 6.8. Thermodynamic stability and physicochemical evaluations demonstrated that the TGE-SMEDDS/SNEDDS system demonstrated excellent dispersibility across physiological pH conditions, high thermal stability, acceptable pH tolerance, viscosity, and density has supported its potential development into a soft capsule dosage form. This study developed soft capsules containing the TGE-SMEDDS/SNEDDS system using a synergistic combination of anti-crosslinking agents, glycine and citric acid at a ratio of 2.5 : 0.5, which proved highly effective in reducing capsule crosslinking of the capsule shell. Each soft capsule contained 480 mg of TGE-SMEDDS/SNEDDS, equivalent to 80 mg of TGE, with TTC of approximately 25.80 mg per capsule.

Conclusion: The study investigated the technical parameters for scaling up the triterpenoid extraction process using supercritical CO₂ extraction and established the formulation process

of TGE-SMEDDS/SNEDDS at a pilot scale of 5,000 capsules. In addition, a manufacturing process for soft capsules containing TGE-SMEDDS/SNEDDS was developed, incorporating the synergistic use of anti-crosslinking agents in the capsule shell formulation. This study on TGE-SMEDDS/SNEDDS soft capsules provides a foundation for further evaluation of the product's stability, dissolution, and bioavailability in subsequent stages.

Keywords: Supercritical fluid extraction – SFE, *Ganoderma lucidum*, triterpenoid, self-micro/nano emulsifying drug delivery system, SMEDDS/SNEDDS, capsule, cross-linking.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) là một loại dược liệu quý có nhiều tác dụng dược lý [1] đã được công bố bằng chứng khoa học qua các dữ liệu lâm sàng như chống xơ gan [2], bệnh Alzheimer [3], đái tháo đường [4], nhiễm vi rút [5]. Trong thành phần của nấm linh chi nhiều phân tử có hoạt tính sinh học với phân tử lượng khác nhau, chẳng hạn như nhóm polysaccharid, peptidoglycan, protein, sterol và triterpenoid [6]. Trong đó, triterpenoid là nhóm hoạt chất chính của nấm linh chi, có nhiều tác dụng dược lý quan trọng như hạ lipid máu, chống tăng huyết áp [7], khả năng kháng HIV [8], chất chống oxy hóa [9], chống khối u [10]... Dựa vào những hoạt tính sinh học trên, cho thấy việc bào chế cao chiết nấm linh chi giàu triterpenoid (TGE) là cần thiết. Việc sử dụng cao dược liệu được chuẩn hóa để bào chế thành phẩm nhằm kiểm soát nguồn dược liệu đầu vào giúp việc sản xuất thuốc ổn định. Tuy nhiên, TGE có tính tan kém, tính thấm và phân bố kém dẫn đến sinh khả dụng và khả năng điều trị thấp [11]. Để khắc phục những nhược điểm trên, hệ SMEDDS/SNEDDS chứa cao chiết linh chi giàu triterpenoid (TGE-SMEDDS/SNEDDS) đã được nghiên cứu và cho thấy tính khả thi giúp cải thiện khả năng phân tán, tính tan, độ ổn định, tính thấm qua việc hình thành các tiểu phân giọt dầu vô cùng nhỏ được phân tán

đều trong toàn bộ dịch tiêu hóa, làm tăng diện tích tiếp xúc của nhóm hoạt chất chính trong cao chiết [12].

Đa phần các sản phẩm linh chi trên thị trường Việt Nam ở dạng hỗn dịch cao khô phân tán trong dung dịch dầu hoặc bột cao khô đóng vào viên nang hay dập thành viên nén. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã công bố viên nang mềm có thể chứa hệ SMEDDS/SNEDDS như ibuprofen [13], silymarin [14]... có ứng dụng trong thực tiễn. Hơn nữa, viên nang mềm còn giúp nâng cao tuổi thọ của hệ SMEDDS/SNEDDS, giúp quá trình sản xuất, bảo quản và sử dụng trở nên dễ dàng, thuận tiện hơn, đồng thời vẫn giữ được hoạt tính của triterpenoid.

Chính vì vậy, nghiên cứu này hướng tới việc bào chế viên nang mềm chứa hệ vi tự nhũ SMEDDS/SNEDDS từ cao chiết linh chi giàu triterpenoid nhằm cải thiện sinh khả dụng của triterpenoid, duy trì độ ổn định lâu dài, mở ra tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong dược phẩm từ dược liệu quý.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng/vật liệu nghiên cứu

Linh chi đỏ do Công ty Cổ phần phát triển Dược liệu Tây Nguyên cung cấp (Số lô: 010823, thu hái vào tháng 04/2023, chiết xuất

vào tháng 08/2023), đã đạt tiêu chuẩn chất lượng theo Dược điển Việt Nam V và USP 47.

2.2. Hóa chất, thuốc thử

Chất đối chiếu là acid ganoderic A (hàm lượng 98,92%, số lô: Gan01/0 - 8/14) được cung cấp tại Viện Kiểm nghiệm Thuốc TP. Hồ Chí Minh. Chất chuẩn *Ganoderma lucidum fruiting body dry extract* (đạt tiêu chuẩn, số lô: F012B0) được USP cung cấp. Propylene glycol monocaprylate (PGM) được Gattefossé (Pháp) cung cấp. Kolliphor RH40 được cung cấp từ BASF SE (Đức) và Tween 80 được cung cấp từ Seppic (Pháp). Polyethylene glycol 400 (PEG 400) và Glycin được cung cấp từ Himedia (Ấn Độ). Gelatin bloom 150 được cung cấp từ Italegl (Ý). Glycerin được cung cấp từ PT Wilmar Nabati (Indonesia), Sorbitol được cung cấp từ Roquette (Pháp). Titan dioxyd và Propylparaben (PP) được cung cấp từ Ueno (Nhật), Methylparaben (MP) được cung cấp từ Precheza (Tiệp Khắc). Ethylvanillin (EV) được cung cấp từ Borregaard (Na Uy). Acid citric được cung cấp từ Weifang Ensign (Trung Quốc) và enzym pepsin được cung cấp từ Bio Basic (Canada). Các hóa chất, thuốc thử khác dùng trong nghiên cứu đều đạt tiêu chuẩn chất lượng dành cho phân tích.

2.3. Thiết bị nghiên cứu

Máy chiết xuất siêu tới hạn (SFE 96, Shanghai Chengdong Technology Co., Ltd, Thượng Hải, Trung Quốc); cân phân tích 4 chữ số (Mettler Toledo AT - 200, d = 0,1 mg, Thụy Sĩ); cân phân tích 6 chữ số (Mettler Toledo XP86, d = 0,002 mg, Thụy Sĩ); bể siêu âm gia nhiệt (Elma Sonic, Đức); bếp cách thủy (WMB 40, Memmert, Đức); tủ sấy chân không (VT 6025, Heraeus, Đức); máy khuấy từ (CB162, Stuart, Đức); kính hiển vi quang học

(Eclipse 80i, Nikon, Nhật Bản); máy đo pH (S220-Bio, Mettler Toledo, Trung Quốc); máy đo độ rắn (PTZ Auto 1EZ, Pharmatest, Đức); máy đo độ nhớt (DV2 Plus, Brookfield Ametek, Hoa Kỳ); máy độ hòa tan (Erweka, Đức); bình đo tỷ trọng (10 mL, Biohall, Đức), máy đo thế Zeta và phân bố kích thước hạt (Zetasizer Nano-SZ-100-Z2, Horiba Ltd, Nhật Bản); máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (SHIMADZU-UFLC-SPD-M20A detector PDA, Shimazu, Nhật Bản); cột C18 150 mm x 2,0 mm x 3 µm (Phenomenex, Mỹ); hệ thống cô quay chân không (Buchi Rotavapor® R-300, Buchi, Thụy Sĩ); dây chuyền sản xuất viên nang mềm (GB5 Touch, Bochang, Hàn Quốc).

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Nâng cấp bào chế hệ vi tụy nhũ SMEDDS/SNEDDS từ cao chiết linh chi giàu triterpenoid ở cỡ lô 100 g/mẫu lên cỡ lô 2,4 kg/lô

Phương pháp CO₂ siêu tới hạn (SFE) đã được nghiên cứu và chứng minh có hiệu quả trong chiết xuất triterpenoid từ nấm linh chi (*G. lucidum*) [15]. Trong đó, các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất cũng đã được khảo sát và điều kiện chiết xuất tối ưu để nâng cấp cỡ lô là sử dụng dung môi chiết ethanol 96% ở nhiệt độ chiết 40°C với áp suất chiết 200 bar trong thời gian chiết 2,5 giờ [15]. Tiếp nối kết quả đó, một nghiên cứu khác đã ứng dụng phương pháp SFE để chiết xuất triterpenoid trong nấm linh chi và bào chế thành công hệ vi tụy nhũ SMEDDS/SNEDDS chứa cao chiết linh chi giàu triterpenoid với các thành phần tá dược có trong công thức là PGM - Kolliphor RH40/Tween 80 - PEG 400 - TGE (16,7:33,3:33,3:16,7; kl/kl/kl/kl) ở cỡ lô 100 g/mẫu [12].

Kế thừa và phát triển hai nghiên cứu khoa học trên, nghiên cứu này sử dụng phương pháp SFE để chiết xuất triterpenoid từ nấm linh chi và ứng dụng công thức hệ vi tụy nhũ SMEDDS/SNEDDS trong bào chế viên nang mềm chứa hệ vi tụy nhũ TGE-SMEDDS/SNEDDS ở cỡ lô 5.000 viên/lô, tương ứng với 2,4 kg/lô dịch thuốc.

2.4.2. Phân tích đánh giá độ bền nhiệt động học và tính chất hóa lý của TGE-SMEDDS/SNEDDS

Đánh giá độ bền nhiệt động học của TGE-SMEDDS/SNEDDS bao gồm các chỉ tiêu về tính chất, độ bền dưới lực ly tâm (pha loãng 1:100 (tt/tt), tốc độ 10.000 vòng/phút trong 15 phút) ở môi trường nước, khả năng phân tán và tụy nhũ hóa (pha loãng 1:200 (tt/tt), tốc độ 100 vòng/phút) trong môi trường nước và môi trường pH sinh lý như acid hydrochloric 0,1 N (pH dịch dạ dày), dung dịch đệm acetat pH 4,5 (pH giữa dạ dày - ruột non) và dung dịch đệm phosphat 6,8 (pH dịch ruột), chu trình nóng - lạnh (6 chu kì, nhiệt độ nóng 45°C và nhiệt độ lạnh 4°C, thời gian lưu trữ ở mỗi nhiệt độ tối thiểu 48 giờ), chu trình đông - rã đông (6 chu kì, nhiệt độ đông -20°C và nhiệt độ rã đông 25°C, thời gian lưu trữ mỗi nhiệt độ tối thiểu 48 giờ).

Đánh giá tính chất hóa lý gồm các chỉ tiêu quan trọng như quan sát hình thể học, kích thước và phân bố kích cỡ trong môi trường phân tán nước cất, dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (pH 1,2), dung dịch đệm acetat (pH 4,5) và dung dịch đệm phosphat (pH 6,8), điện thế Zeta (Zetasizer Nano-SZ-100-Z2), định tính bằng sắc ký lớp mỏng (Silica gel 60 F₂₅₄, dung môi cloroform:methanol:nước 30:4:1, hiện màu bằng dung dịch acid sulfuric 10%), định

lượng bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (cột Gemini C18, 150 x 2,0 mm; 3 µm, pha động gradient: dung dịch acid acetic 0,1% - dung dịch acetonitril).

Định lượng triterpenoid toàn phần trong TGE-SMEDDS/SNEDDS

Phương pháp định tính và định lượng triterpenoid toàn phần được thực hiện như hướng dẫn của USP 47^[16], có điều chỉnh về cách chuẩn bị dung dịch mẫu thử. Quy trình đã được thẩm định về tính phù hợp hệ thống, độ đúng, độ chính xác và khoảng tuyến tính trước khi áp dụng cho mẫu thử. Sau khi được thẩm định, quy trình được ứng dụng để định lượng mẫu thử TGE, TGE-SMEDDS/SNEDDS. Điều kiện sắc ký: cột C18 (150 x 4,6 mm; 3,5 µm); tốc độ dòng: 1 mL/phút; nhiệt độ cột: 25°C; đầu dò UV 257 nm; pha động gradient: acid acetic 0,1% (A)-acetonitril (B). Chương trình chạy: bắt đầu, A:B, 80:20% v/v; 0 - 3 phút, % v/v của B tăng lên 26,5%; 3 - 34 phút, giữ nguyên; 34 - 52 phút, % v/v của B tăng lên 38,5%; 52 - 53 phút, % v/v của B giảm xuống 20%; 53 - 65 phút, giữ nguyên.

Quy trình xử lý mẫu

Dung dịch chuẩn acid ganoderic A: Cân chính xác 1,0 mg chuẩn acid ganoderic A vào bình định mức 10 mL, thêm 5 mL methanol, lắc siêu âm 5 phút. Để nguội và định mức đến vạch bằng methanol, lắc đều. Hút 1 mL dung dịch trên vào bình định mức 10 mL, định mức đến vạch bằng methanol, lắc đều.

Dung dịch cao chuẩn linh chi: Cân chính xác 40,0 mg cao chuẩn linh chi vào bình định mức 5 mL, thêm 5 mL ethanol, lắc siêu âm 5 phút. Để nguội và định mức đến vạch bằng ethanol, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45 µm hoặc ly tâm, lấy lớp trên.

Dung dịch mẫu thử TGE: Cân chính xác khoảng 0,15 g TGE vào bình định mức 50 mL, thêm 30 mL ethanol và siêu âm trong 10 phút. Để nguội và định mức đến vạch bằng ethanol, lắc đều. Hút 1 mL dung dịch trên vào bình định mức 20 mL, định mức đến vạch bằng ethanol, lắc đều và lọc qua màng lọc 0,45 µm trước khi tiêm mẫu.

Dung dịch mẫu thử TGE-SMEDDS/SNEDDS: Cân chính xác khoảng 0,15 g mẫu thử TGE-SMEDDS/SNEDDS vào bình định mức 50 mL, thêm 30 mL ethanol, lắc siêu âm 60 phút. Để nguội và định mức đến vạch bằng ethanol, lắc đều. Hút 1 mL dung dịch thử trên vào bình định mức 10 mL, định mức đến vạch bằng ethanol, lắc đều và lọc qua màng lọc 0,45 µm trước khi tiêm vào hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

Hệ số đáp ứng tương đối của các triterpenoid trong linh chi lần lượt như sau: acid ganoderenic C 0,51, acid ganoderenic G 1,18, acid ganoderenic B 0,45, acid ganoderenic B 1,10, acid ganoderenic A 1,00, acid ganoderenic H 1,54, acid ganoderenic D 0,51, acid ganoderenic D 1,08, acid ganoderenic F 1,45.

Hàm lượng % mỗi acid ganoderenic trong cao, tính theo công thức:

$$X (\%) = \frac{S_t}{S_c} \times C_c \times \frac{V}{W} \times 100 \times F$$

Trong đó:

S_t: Diện tích pic của chất phân tích trong sắc đồ dung dịch thử

S_c: Diện tích pic của acid ganoderenic A trong sắc đồ dung dịch chuẩn

C_c: Nồng độ acid ganoderenic A trong dung dịch chuẩn (mg/mL)

V: Thể tích của mẫu thử (mL)

W: Khối lượng mẫu thử (mg)

F: Hệ số đáp ứng tương đối

Hàm lượng triterpenoid toàn phần (%) = Tổng hàm lượng % mỗi triterpenoid trong mẫu thử.

2.4.3. Nghiên cứu thiết lập công thức và quy trình bào chế viên nang mềm TGE-SMEDDS/SNEDDS

Đánh giá sự tương thích giữa dịch thuốc và vỏ nang

Dựa trên phương pháp của K. Venugopal và các cộng sự^[17], nghiên cứu sử dụng màng phim gelatin để đánh giá sự tương thích giữa dịch thuốc với vỏ nang ở điều kiện lão hóa cấp tốc (40 ± 5°C, 75 ± 5% RH) thông qua đánh giá thời gian hòa tan màng phim.

Cân các thành phần vỏ nang theo công thức L1 (45,0% gelatin, 15,0% glycerin, 5,0% sorbitol, 0,15% methylparaben, 0,05% propylparaben, 1,0% titan dioxyd, 1,0% ethylvanillin, 32,8% nước tinh khiết) trong cốc có chứa 70 - 80% lượng nước so với khối lượng gelatin, thêm gelatin vào và để yên 30 phút cho gelatin trương nở. Đun cách thủy hỗn hợp trên ở nhiệt độ 80°C trong khoảng 2 giờ, sau đó đổ dịch vỏ nang ra một tấm kính phẳng, sạch và cán mỏng bằng thiết bị cán màng phim, tạo màng có bề dày 0,8 ± 0,1 mm. Màng phim sau đó được sấy khô (24°C, 30% RH) đến khi đạt hàm ẩm quy định (6,0 - 13,0%). Cắt màng phim thành các vòng tròn có đường kính khoảng 14 mm và khối lượng từng màng phim khoảng 150 mg (tương ứng với viên oval 10).

Màng phim được ngâm trong khoảng 2,0 g dịch thuốc chứa hệ TGE, TGE-SMEDDS, PEG 400, Kolliphore, PGM và Tween 80. Các mẫu được bảo quản trong lọ thủy tinh và đặt trong tủ lão hóa cấp tốc với chu kỳ lấy mẫu vào các ngày 7, 15, 30 ngày để đánh giá cảm

quan và thời gian hòa tan màng phim. Thử nghiệm độ hòa tan của màng phim được tiến hành song song trên hai cốc hòa tan, một cốc không chứa pepsin và một cốc có pepsin. Thử nghiệm này sử dụng thiết bị thử độ hòa tan kiểu cánh khuấy, trong 500 mL môi trường pH 1,2 (có hoặc không có pepsin), tốc độ cánh khuấy 50 vòng/phút và nhiệt độ duy trì ở $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Quy trình bào chế viên nang mềm chứa TGE-SMEDDS/SNEDDS cỡ lô 5.000 viên (tương ứng với 2,4 kg/lô dịch thuốc)

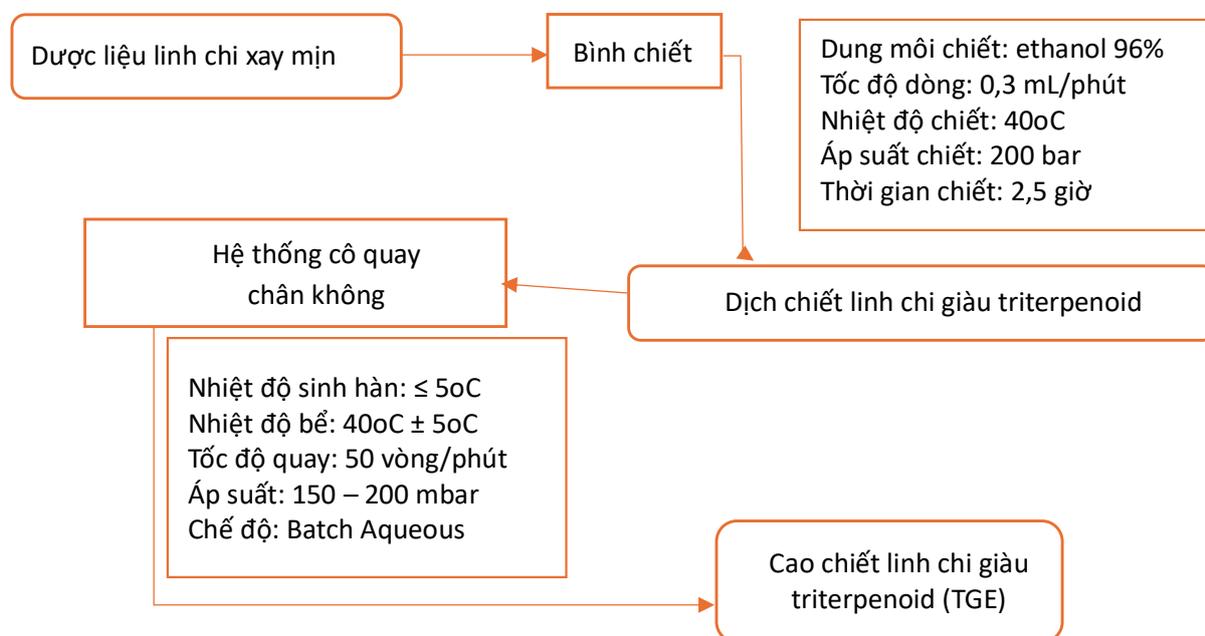
Quy trình bào chế viên nang mềm chứa TGE-SMEDDS/SNEDDS được thực hiện như sau:

Dịch vỏ nang và dịch thuốc được bào chế riêng biệt và trữ trong hai bể chứa khác nhau là bể chứa dịch vỏ nang (bảo ôn ở nhiệt độ $50 - 55^{\circ}\text{C}$) và bể chứa dịch thuốc (bảo ôn ở nhiệt độ $30 - 35^{\circ}\text{C}$). Sau đó tiến hành đóng nang bằng thiết bị ép khuôn trên trụ với các yếu tố cần kiểm soát là khuôn oval 10, nhiệt độ thùng chứa dịch thuốc và dịch vỏ nang, nhiệt độ hộp trải (trái, phải), nhiệt độ trống làm mát, nhiệt độ Wedge, độ dày màng gelatin, khối lượng dịch thuốc. Viên nang mềm được tạo thành trải qua hai quá trình sấy sơ cấp và sấy thứ cấp ($21 - 24^{\circ}\text{C}$, độ ẩm $20 - 30\%$). Tiến hành chọn nang và kiểm nghiệm bán thành phẩm. Ép vỉ và bảo quản thành phẩm ở nhiệt độ dưới 30°C .

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

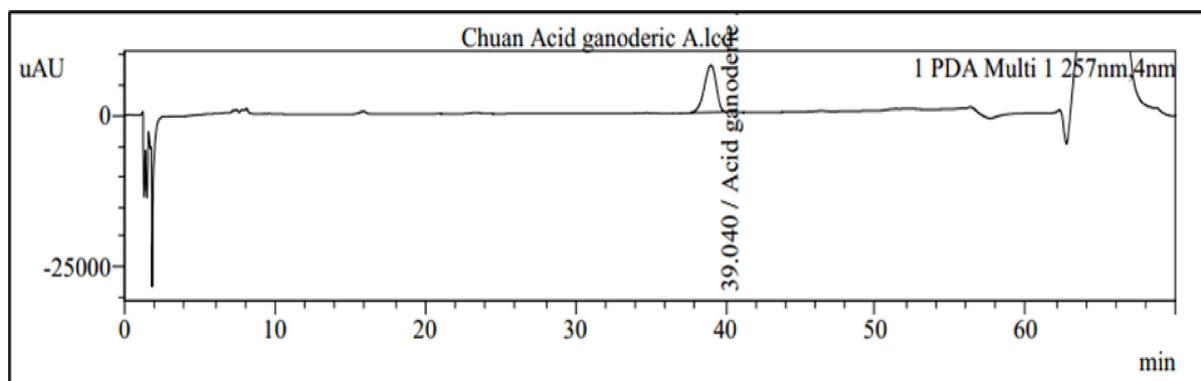
3.1. Nâng cấp bào chế hệ vi tự nhũ TGE-SMEDDS/SNEDDS ở cỡ lô 100 g/mẫu lên cỡ lô 2,4 kg/lô

Quy trình bào chế TGE được trình bày trong hình 1.

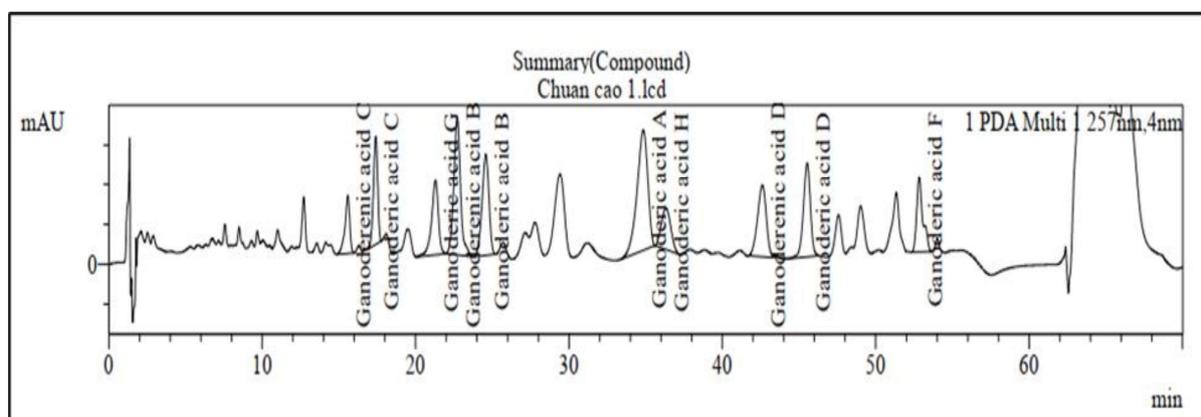


Hình 1. Sơ đồ quy trình chiết xuất TGE bằng phương pháp CO_2 siêu tới hạn

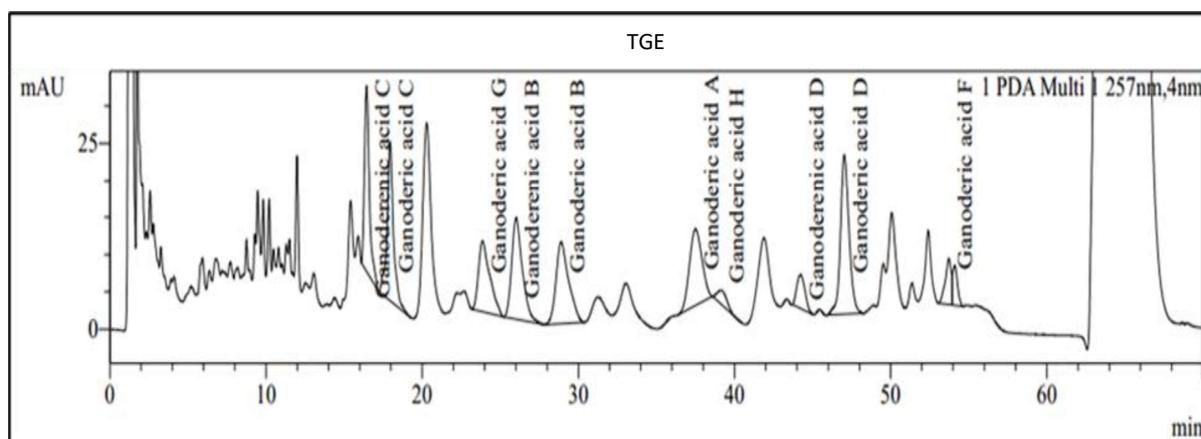
Kết quả sắc ký đồ của dung dịch chuẩn acid ganoderic A, cao chuẩn linh chi, TGE được trình bày trong hình 2, hình 3 và hình 4.



Hình 2. Sắc ký đồ HPLC dung dịch chuẩn acid ganoderic A (0,0122 mg/mL)



Hình 3. Sắc ký đồ HPLC cao chuẩn linh chi (8 mg/mL)



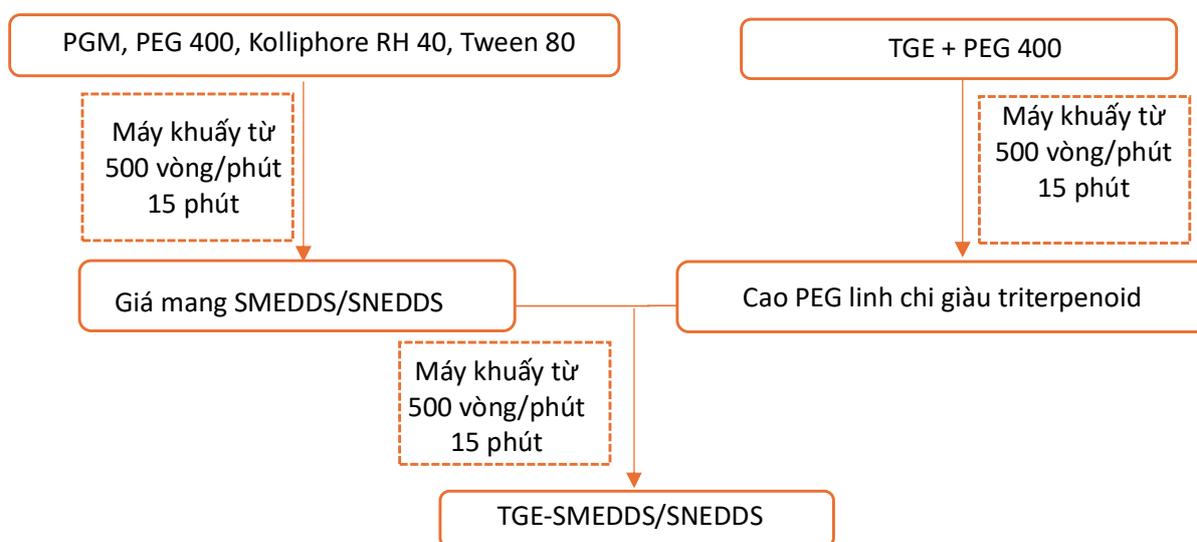
Hình 4. Sắc ký đồ HPLC của mẫu thử TGE

Kết quả thẩm định quy trình định lượng cho thấy quy trình có tính đặc hiệu, độ đúng thể hiện qua tỷ lệ phục hồi nằm trong khoảng 85,0% – 110,0% và RSD < 2% đối với độ chính xác. Khoảng tuyến tính của acid ganoderic A từ 5,2527 – 26,2633 $\mu\text{g/mL}$, cho thấy phù hợp nồng độ định lượng trong thành phẩm với độ tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic trong khoảng nồng độ đã khảo sát. Mẫu thử TGE chứa hàm lượng acid ganoderic A là $7,89 \pm 0,30\%$ ($78,95 \pm 3,0 \text{ mg/g}$) và TTC là $24,0 \pm 0,35\%$ ($240,4 \pm 3,5 \text{ mg/g}$).

Trong quá trình chiết triterpenoid từ nấm linh chi bằng SFE, nhiều nghiên cứu ghi nhận rằng hiệu suất thu hồi tăng thêm không

đáng kể sau hai lần chiết. Do đó, ở quy mô công nghiệp thường chỉ thực hiện hai lần chiết nhằm tiết kiệm năng lượng và dung môi. Tuy nhiên, hàm lượng triterpenoid thu được ở quy mô công nghiệp thường thấp hơn so với quy mô phòng thí nghiệm. Nguyên nhân là do khó duy trì sự phân bố pha đồng nhất và điều kiện chiết tách ổn định trong hệ thống CO_2 siêu tới hạn ở quy mô lớn, dẫn đến hiệu suất chiết và tách triterpenoid giảm so với ở quy mô phòng thí nghiệm [18].

Quy trình bào chế TGE-SMEDDS/SNEDDS cỡ lô 5.000 viên (tương ứng 2,4 kg dịch thuốc) đã được khảo sát các thông số kỹ thuật và được trình bày trong hình 5.



Hình 5. Sơ đồ quy trình bào chế TGE-SMEDDS/SNEDDS

3.2. Phân tích đánh giá độ bền nhiệt động học và tính chất hóa lý của TGE-SMEDDS/SNEDDS

Kết quả đánh giá độ bền nhiệt động học và tính chất hóa lý của TGE-SMEDDS/SNEDDS cỡ lô 5.000 viên được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả đánh giá độ bền nhiệt động học và tính chất hóa lý của TGE-SMEDDS/SNEDDS cỡ lô 5.000 viên

Đánh giá độ bền nhiệt động học			
Chỉ tiêu	Lô 1	Lô 2	Lô 3
Tính chất	Thể chất lỏng, đồng nhất, mùi đặc trưng		
Độ bền dưới lực ly tâm	Ổn định, không tách lớp		
Khả năng phân tán	Hòa tan tốt trong môi trường nước		
Chu trình nóng – lạnh (6 chu kì)	Ổn định	Ổn định	Ổn định
Chu trình đông – rã đông (6 chu kì)	Ổn định	Ổn định	Ổn định
Đánh giá tính chất hóa lý			
Hình thể học	Thể chất đồng nhất và không xuất hiện các tiểu phân thấy được.		
Kích thước hạt trung bình	139,0 nm ± 1,22	141,7 nm ± 1,32	141,2 nm ± 1,15
Thời gian tự nhũ	< 1 phút	< 1 phút	< 1 phút
Khả năng tự nhũ	Nhóm A	Nhóm A	Nhóm A
Độ nhớt	131,9 cP ± 1,05	134,3 cP ± 0,75	142,3 cP ± 0,15
Điện thế Zeta	-34,6 mV ± 2,53	-34,9 mV ± 1,32	-34,6 mV ± 3,24
Tỷ trọng	1,055 ± 0,14	1,051 ± 0,15	1,066 ± 0,11
Độ pH	4,21 ± 0,01	4,48 ± 0,01	4,63 ± 0,03
Định tính	Đúng	Đúng	Đúng
Định lượng	51,9169 mg/g	51,9170 mg/g	51,9112 mg/g

Dựa trên kết quả đánh giá độ bền nhiệt động học cho thấy, TGE-SMEDDS/SNEDDS có khả năng phân tán tạo vi nhũ tương ổn định trong môi trường nước và các môi trường pH sinh lý bên trong cơ thể.

Độ ổn định nhiệt rộng từ 45°C đến -5°C được đánh giá ở chu trình nóng – lạnh và chu trình đông – rã đông, nhận thấy không có hiện tượng tách pha hay kết tủa sau khi ly tâm.

Phân tích tính chất hóa lý của TGE-SMEDDS/SNEDDS có độ nhớt trung bình 131,9 cP ± 1,05 (độ nhớt dưới 500 cP để kiểm soát quá trình bơm dịch thuốc vào vỏ nang và có khả năng chống lại sự biến dạng khi chịu tác động từ lực căng bề mặt hoặc lực cắt vỏ nang^[19]). Tỷ trọng 1,055 ± 0,14 (1,00 – 1,10) và pH 4,21 ± 0,01 (dịch thuốc ở khoảng pH 2,5 – 7,5 sẽ giúp ngăn chặn tạo aldehyd, một tác nhân thúc đẩy quá trình tạo liên kết chéo và tránh được hiện tượng gelatin bị thủy phân gây vỡ viên^[20]). Những đánh giá trên phù hợp cho dịch thuốc để phát triển thành viên nang mềm trên dây chuyền ép khuôn trên trụ.

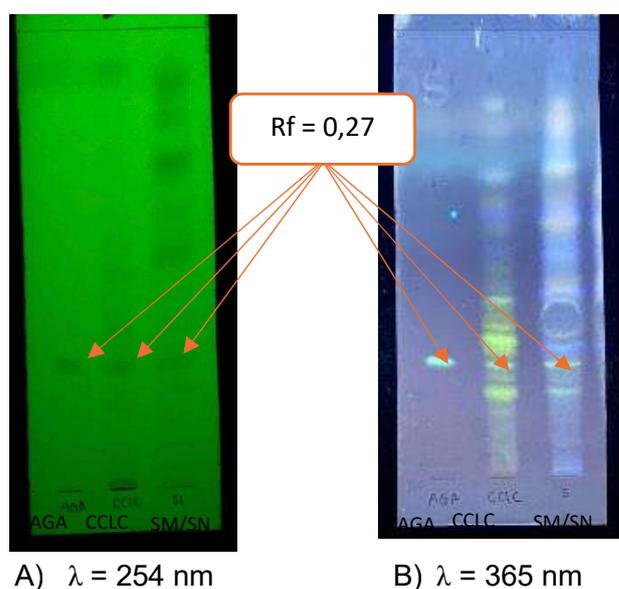
Dựa trên kết quả định tính cho thấy công thức hệ TGE-SMEDDS/SNEDDS có sự hiện diện của chất điểm chỉ acid ganoderic A với giá trị $R_f = 0,27$ trong dung dịch chuẩn, đồng thời cũng cho các vết tương tự cao chuẩn Linh chi (hình 6). Phân tích định lượng cho thấy TGE-SMEDDS/SNEDDS có chứa hàm lượng acid ganoderic A là 16,96 ± 0,003 mg/g và hàm lượng TTC là 51,9169 ± 0,006 mg/g (hình 7). Viên nang mềm chứa 480 mg TGE-SMEDDS/SNEDDS, tương ứng với 80 mg TGE trong 1 viên, có hàm lượng TTC là 25,80 mg/viên.

Kích thước trung bình của hệ phân tán micro/nano trong khoảng 130 – 200 nm, nằm trong giới hạn chấp nhận giọt nhũ tương dầu trong nước của hệ SMEDDS/SNEDDS từ 20 – 200 nm^[21] khi đo ở điều kiện pH sinh lý gồm: nước, pH 1,2, pH 4,5, pH 6,8 (hình 8). Chỉ số Pdl thấp 0,241 ± 0,016, giá trị Pdl khoảng 0,2 biểu thị sự phân bố kích thước đồng đều^[22, 23] và thế Zeta -34,6 mV ± 2,53 (hình 9) cho thấy hệ tiểu phân có sự ổn định về mặt điện thế bề mặt, giúp hệ phân tán ổn

định nhờ lực tương tác đẩy tĩnh điện kết hợp với tạo sự cản trở không gian bề mặt khi phân tán vào môi trường. Dựa vào những kết quả trên, cho thấy hệ phân tán tốt trong các môi trường thử nghiệm.

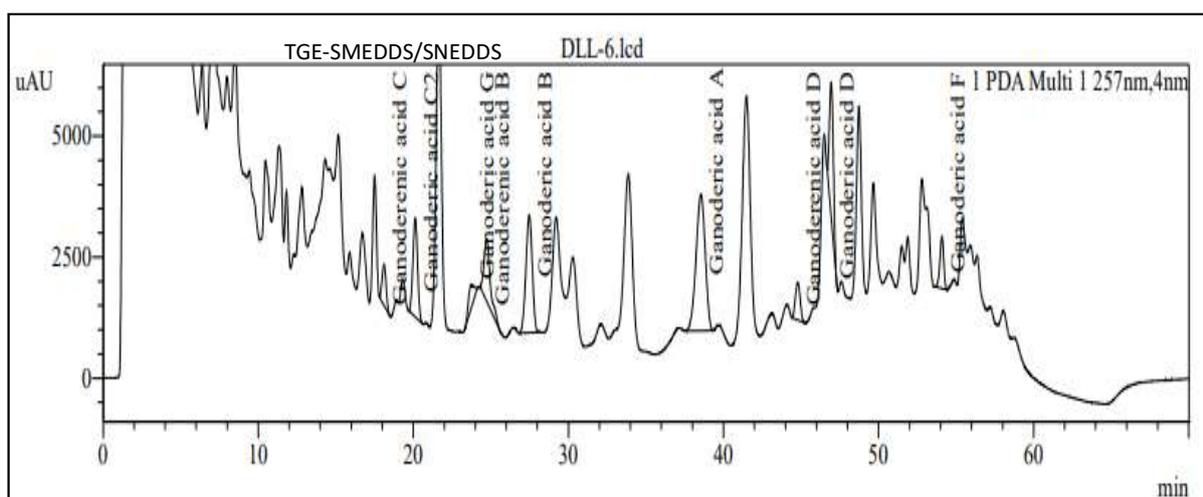
Tuy nhiên, ở môi trường pH 6,8 (mô phỏng môi trường ruột non), hệ phân tán có thể xảy ra hiện tượng giãn trương của pha vi mô, làm thay đổi cấu trúc và tính chất phân tán của hệ. Ngoài ra, tương tác với muối mật có thể làm suy giảm lực đẩy tĩnh điện giữa các tiểu phân, dẫn đến nguy cơ kết tụ và xuất hiện phân bố

kích thước hai đỉnh (bimodal) khi đo giá trị Pdl và thế Zeta. Nguyên nhân có thể do sự thay đổi điểm đẳng điện và hình thành các liên kết ion giữa anion muối mật và cation trong hệ, ảnh hưởng đến độ ổn định hệ TGE-SMEDDS/SNEDDS [24]. Điều này được phản ánh qua kết quả đo thế Zeta -22 mV ($|-22 \text{ mV}| \leq 30 \text{ mV}$) cho thấy có nguy cơ kết tụ do mất lực tương tác tĩnh điện và chỉ số đa phân tán Pdl là 0,423 ($0,423 > 0,2$) cho thấy hệ đang có xu hướng mất ổn định vì Pdl càng xa 0 càng biểu thị phân bố kích thước không đồng nhất.

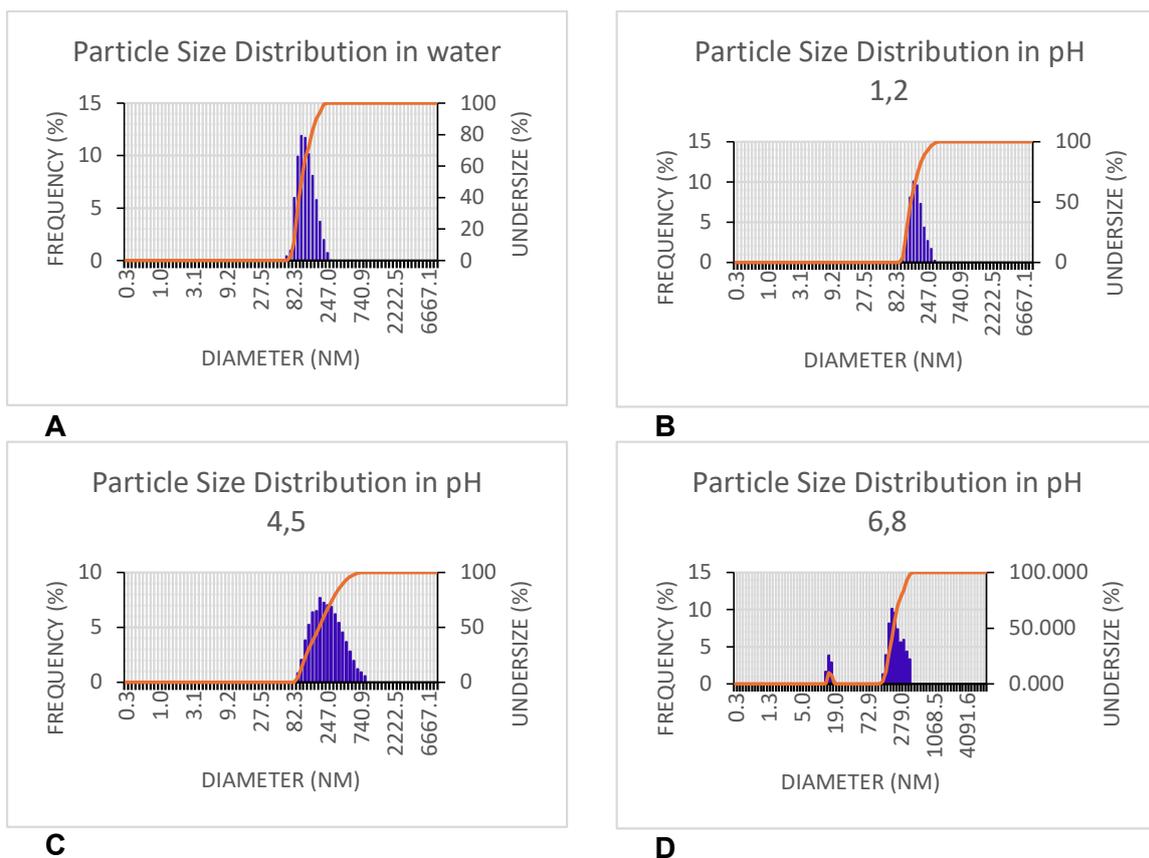


Chú thích:
 AGA: Acid ganoderic A
 CCLC: Cao chuẩn Linh chi
 SM/SN: Dung dịch mẫu thử
 TGE-SMEDDS/SNEDDS

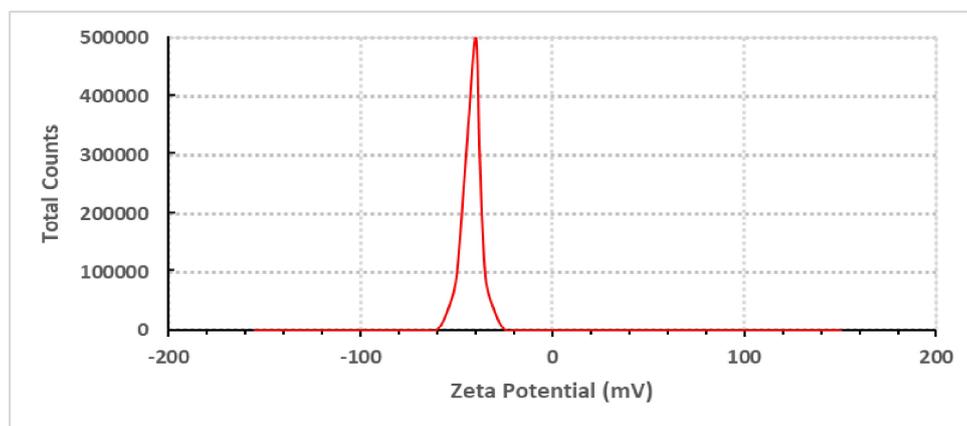
Hình 6. Sắc ký đồ TLC của TGE-SMEDDS/SNEDDS trong hệ dung môi cloroform:methanol:nước (30:4:1) ở bước sóng 254 nm (A) và bước sóng 365 nm (B)



Hình 7. Sắc ký đồ HPLC của TGE-SMEDDS/SNEDDS



Hình 8. Biểu đồ phân bố kích thước tiểu phân của TGE-SMEDDS/SNEDDS cỡ lô 5.000 viên khi phân tán ở môi trường nước cất (A), pH 1,2 (B), pH 4,5 (C) và pH 6,8 (D)

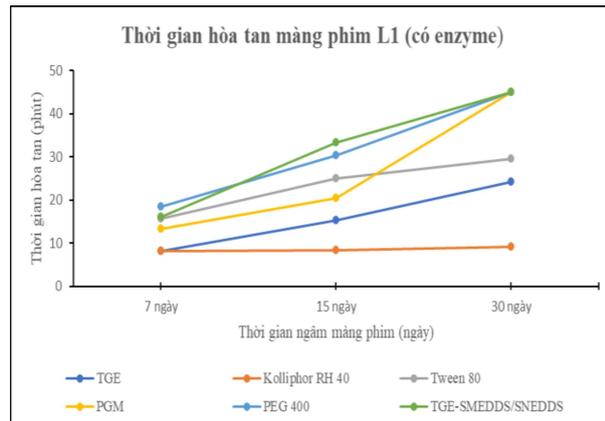
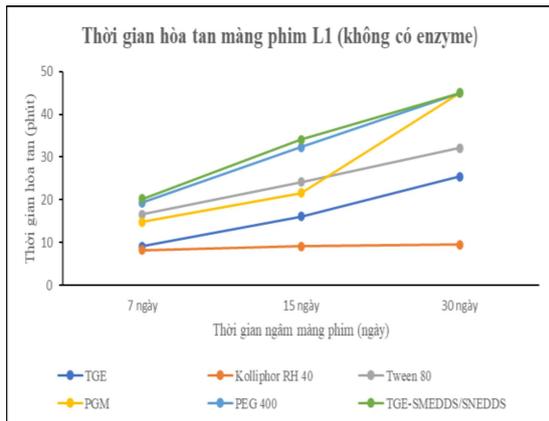


Hình 9. Phân bố thế Zeta của TGE-SMEDDS/SNEDDS cỡ lô 5.000 viên

3.3. Nghiên cứu thiết lập công thức bào chế và quy trình điều chế vỏ nang mềm

3.3.1. Đánh giá sự tương thích giữa dịch thuốc và vỏ nang

Kết quả đánh giá sự tương thích giữa công thức dịch vỏ nang L1 với các chất có trong dịch thuốc được trình bày trong hình 10.



A

B

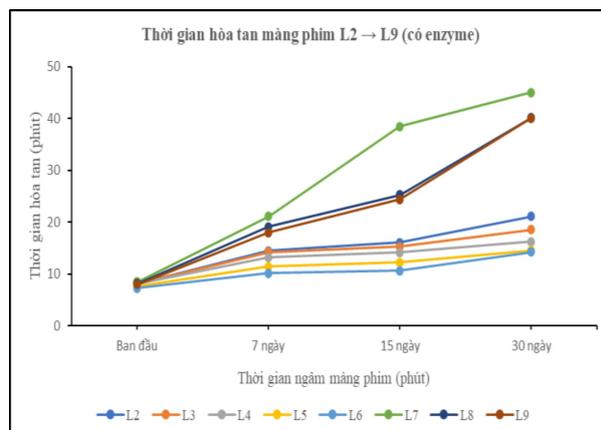
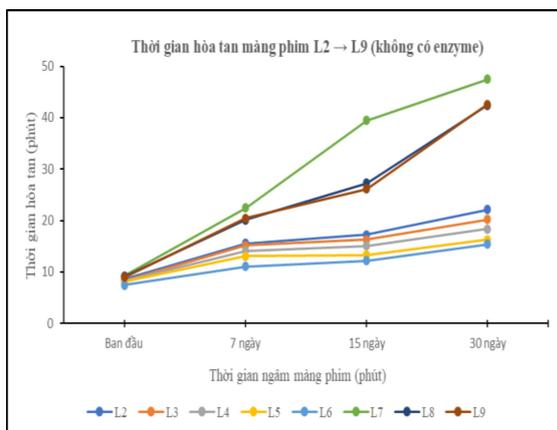
Hình 10. Thời gian hòa tan màng phim L1 không có enzym (A) và có enzym (B)

Phần lớn các màng phim sau khi ngâm trong các tá dược dịch thuốc đều nguyên vẹn, nhưng độ dày tăng dần từ 0,8 mm lên 1,0 mm và đạt 1,3 mm sau 1 tháng khảo sát. Đồng thời, thời gian hòa tan màng phim cũng kéo dài trên 45 phút với hiện tượng tan dần từ trong ra ngoài và xuất hiện màng mỏng trắng phía ngoài màng phim, ngăn không cho dịch vỏ nang được hòa tan. Như vậy, các tá dược trong dịch thuốc đều có thể là nguyên nhân tương tác với vỏ nang làm biến đổi cấu trúc gelatin, tạo liên kết chéo khiến vỏ nang không thể tan rã trong môi trường hòa tan để giải phóng dược chất. Một nguyên nhân khác là sự hiện diện của các tạp chất mang nhóm aldehyd hoặc carbonyl, vốn có thể tồn tại sẵn trong tá dược hoặc hình thành trong quá trình bảo quản ở điều kiện lão hóa cấp tốc (40°C, 75% RH). Từ những kết quả thực nghiệm trên cho thấy, công thức vỏ nang L1 đã xảy ra hiện

tượng liên kết chéo (cross-linking), chủ yếu do tương tác hóa học giữa gelatin và các tá dược trong hệ SMEDDS/SNEDDS.

Để ngăn chặn hiện tượng liên kết chéo có thể xảy ra trong viên nang mềm, nghiên cứu sử dụng chất chống liên kết chéo có chứa 1 chất chống liên kết hay kết hợp 2 chất chống liên kết chéo là glycin và acid citric. Glycin^[25] đã được FDA chấp thuận sử dụng và được liệt kê trong Inactive Ingredient Guide (IIG) từ năm 1996. Acid citric^[26] được FDA công nhận là an toàn (GRAS) và được dùng làm tá dược trong nhiều thuốc, chất bảo quản trong thực phẩm và thành phần trong thực phẩm bổ sung. Trong đó, glycin thay đổi trong khoảng từ 0,1 đến 2,5% và acid citric thay đổi từ 0,1 đến 1,0%.

Kết quả thời gian hòa tan màng phim khi sử dụng 1 chất chống liên kết chéo glycin hoặc acid citric được trình bày ở hình 11.



A

B

Hình 11. Thời gian hòa tan màng phim L2 → L9 không có enzym (A) và có enzym (B)

Công thức vỏ nang mềm chứa glycin có thời gian hòa tan màng phim đều dưới 30 phút, nhận thấy khả năng làm giảm hiện tượng liên kết chéo. Acid citric không thể ngăn liên kết chéo xảy ra, sau 30 ngày màng phim không tan hết sau 45 phút. Xuất hiện hiện tượng màng phim trương nở

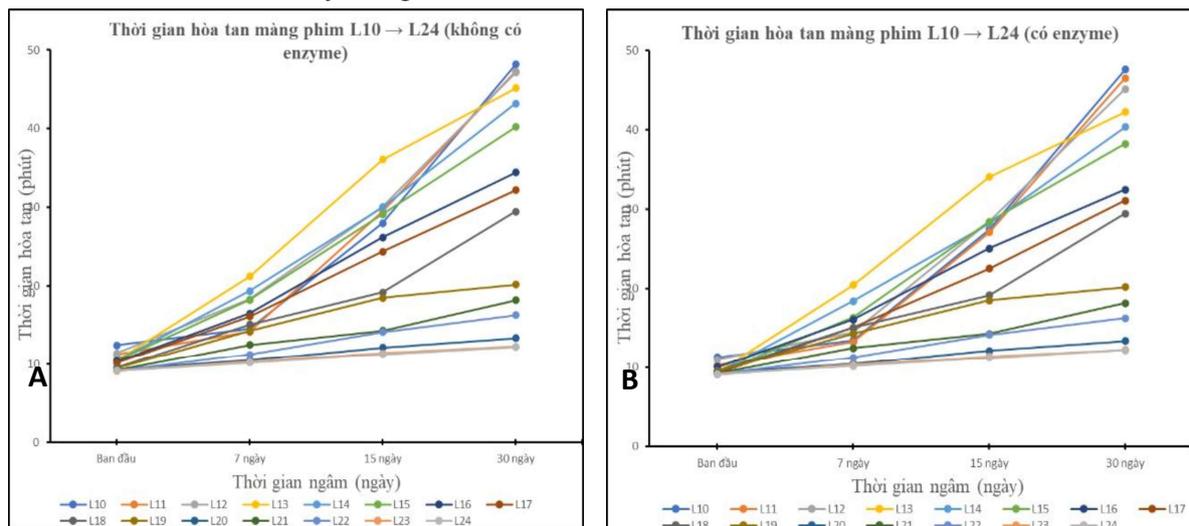
trước và xuất hiện màng mỏng trắng phía trên màng phim rồi sau đó mới bắt đầu tan, thay vì tan ngay lập tức như đặc tính thông thường của gelatin chưa bị biến tính.

Phối hợp glycin với acid citric theo từng tỉ lệ tương ứng, công thức trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Công thức phối hợp chất chống liên kết chéo glycin và acid citric

Công thức	Tỉ lệ thành phần các tá dược trong công thức dịch vỏ nang (%)									
	Gelatin Bloom 150	Glycerol	Sorbitol	MP	PP	Titan dioxyd	EV	Glycin	Acic citric	Nước tinh khiết
L10	45,0	15,0	5,0	0,15	0,05	1,0	1,0	0,5	0,1	32,2
L11	45,0	15,0	5,0	0,15	0,05	1,0	1,0	1,0	0,5	31,3
L12	45,0	15,0	5,0	0,15	0,05	1,0	1,0	1,5	1,0	30,3
L13	45,0	15,0	5,0	0,15	0,05	1,0	1,0	2,0	0,1	30,7
L14	45,0	15,0	5,0	0,15	0,05	1,0	1,0	2,5	0,5	29,8
L15	45,0	15,0	5,0	0,15	0,05	1,0	1,0	0,5	1,0	31,3
L16	45,0	15,0	5,0	0,15	0,05	1,0	1,0	1,0	0,1	31,7
L17	45,0	15,0	5,0	0,15	0,05	1,0	1,0	1,5	0,5	30,8
L18	45,0	15,0	5,0	0,15	0,05	1,0	1,0	2,0	1,0	29,8
L19	45,0	15,0	5,0	0,15	0,05	1,0	1,0	2,5	0,1	30,2
L20	45,0	15,0	5,0	0,15	0,05	1,0	1,0	0,5	0,5	31,8
L21	45,0	15,0	5,0	0,15	0,05	1,0	1,0	1,0	1,0	30,8
L22	45,0	15,0	5,0	0,15	0,05	1,0	1,0	1,5	0,1	31,2
L23	45,0	15,0	5,0	0,15	0,05	1,0	1,0	2,0	0,5	30,8
L24	45,0	15,0	5,0	0,15	0,05	1,0	1,0	2,5	1,0	29,3

Kết quả thời gian hòa tan màng phim khi sử dụng kết hợp glycin và acid citric từ công thức L10 → L24 được trình bày trong hình 12.



Hình 12. Thời gian hòa tan màng phim L10 → L24 không có enzym (A) và có enzym (B)

Ở các công thức L23, L24 sử dụng kết hợp glycin và acid citric với tỉ lệ 2,5:0,5 và 2,5:1:0, kết quả thử nghiệm cho thấy màng phim có độ hòa tan tốt, thời gian hòa tan chỉ tăng nhẹ khoảng 3 phút (9,08 – 12,17 phút). Tuy nhiên, công thức L24 sử dụng lượng tá dược acid citric nhiều hơn, có thể gây bất lợi về mặt chi phí nguyên liệu nếu áp dụng cho sản xuất quy mô lớn. Như vậy, công thức L23 có khả năng hạn chế tốt sự thay đổi cấu trúc vỏ nang gelatin, tối ưu hóa chi phí và quy trình sản xuất ở quy mô lớn.

Gelatin có cấu trúc xoắn ba, với trình tự đặc trưng Glycin-X-Y, trong đó X và Y thường là prolin hoặc hydroxyprolin. Khi bổ sung glycin vào công thức, nhóm amin tự do (-NH₂) của glycin sẽ cạnh tranh phản ứng với các tác nhân này, giúp ngăn chặn quá trình liên kết chéo xảy ra trên gelatin. Nhờ đó, gelatin vỏ

nang được bảo vệ, duy trì tính linh hoạt và ổn định của vỏ nang mềm trong quá trình bảo quản. Acid citric là chất chống oxy hóa, có khả năng ngăn chặn quá trình tự oxy hóa của PEG 400 có trong dịch thuốc hoặc do những nguyên nhân khác gây ra bằng cách cạnh tranh với nhóm carbonyl, giúp hạn chế liên kết chéo không mong muốn trong vỏ nang mềm, hơn nữa acid citric đóng vai trò tạo pH môi trường acid, giúp ngăn cản phản ứng tạo liên kết chéo ở pH trung tính.

Từ những lí do trên, công thức L23 sử dụng tá dược chống liên kết chéo (glycin 2,5% và acid citric 0,5%) được đánh giá là tối ưu hóa trong sản xuất vỏ nang mềm bằng phương pháp ép khuôn trên trụ. Công thức tối ưu hóa bào chế viên nang mềm chứa dịch thuốc TGE-SMEDDS/SNEDDS được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Công thức tối ưu hóa quy trình bào chế viên nang mềm TGE-SMEDDS/SNEDDS

STT	Thành phần	Tỉ lệ (%)	Thành phần 01 viên a (mg)	Thành phần 01 lô 5.000 viên b (kg)
	Dịch thuốc		480 (mg)	b (kg) = a x 5.000/1.000.000
1	TGE	16,7 %	80,0 mg	0,40 kg
2	PGM	16,7 %	80,0 mg	0,40 kg
3	PEG 400	33,3 %	160,0 mg	0,80 kg
4	Tween 80	16,7 %	80,0 mg	0,40 kg
5	Kolliphor RH40	16,7 %	80,0 mg	0,40 kg
	Vỏ nang		a (mg)	b (kg) = a x 3,2609 x 5.000/1.000.000
6	Gelatin bloom 150	45,0 %	146,3 mg	2,40 kg
7	Glycerin	15,0 %	48,8 mg	0,80 kg
8	Sorbitol	5,0 %	16,3 mg	0,30 kg
9	Methylparaben	0,15 %	0,50 mg	8,15 g
10	Propylparaben	0,05 %	0,16 mg	2,60 g
11	Titan dioxyd	1,0 %	3,25 mg	0,05 kg
12	Ethylvanillin	1,0 %	3,25 mg	0,05 kg
13	Glycin	2,5 %	8,13 mg	0,13 kg
14	Acid citric	0,5 %	1,63 mg	0,03 kg
15	Nước tinh khiết (*)	29,8 %	105,0 mg	1,60 kg
	Tổng khối lượng	100,0 %	325 ± 30 mg	16,11 kg

Ghi chú: (*) Thành phần bị mất sau quá trình bào chế 3,2609: hệ số pha dư của công thức vỏ nang

3.3.2. Quy trình bào chế viên nang mềm chứa TGE-SMEDDS/SNEDDS cỡ lô 5.000 viên (tương ứng với 2,4 kg/lô dịch thuốc)

Các thông số kỹ thuật trong quá trình đóng nang cũng được khảo sát bao gồm: khuôn ép oval 10, bồn chứa dịch thuốc 30 – 35°C và dịch vỏ nang 50 – 55°C, nhiệt độ hộp trái 62°C, nhiệt độ trống làm mát 22°C, nhiệt độ phễu 30°C, nhiệt độ Wedge 42°C, tốc độ máy 1,5 vòng/phút, độ dày màng 0,8 mm, khối lượng dịch thuốc 480 mg ± 7,5%, khối lượng dịch vỏ nang 325 ± 30 mg.

4. KẾT LUẬN

Đề tài đã khảo sát các thông số kỹ thuật khi nâng cấp quy trình chiết xuất triterpenoid bằng phương pháp CO₂ siêu tới hạn và thiết lập được quy trình bào chế TGE-SMEDDS/SNEDDS ở cỡ lô 2,4 kg/lô (tương ứng với 5.000 viên). Các đánh giá tính chất độ bền nhiệt động học và tính chất hóa lý TGE-SMEDDS/SNEDDS cho thấy hệ phân tán tốt trong các môi trường thử nghiệm có kiểu phân bố 1 đỉnh với chỉ số Pdl thấp 0,241 ± 0,016. Kích thước trung bình của hệ phân tán micro/nano trong khoảng 130 - 200 nm đo ở điều kiện pH sinh lý (nước, pH 1,2, pH 4,5, pH 6,8) và thế Zeta -34,6 mV ± 2,53, cho thấy hệ phân tán tiểu phân có sự ổn định nhờ lực tương tác đẩy tĩnh điện. Độ ổn định nhiệt rộng, vẫn duy trì được khả năng tự nhũ hóa sau chu trình nóng - lạnh và sau khi xử lý đông - rã đông, tạo được nhũ tương loại A. Các đặc tính lý hóa khác bao gồm pH, độ nhớt, tỷ trọng đã được chứng minh là phù hợp để phát triển viên nang mềm. Nghiên cứu đã lựa chọn được công thức tối ưu hóa L23 trong sản xuất viên nang mềm có sử dụng hiệp đồng chất chống liên kết chéo glycin:acid citric tỉ lệ 2,5:0,5 với thời gian hòa tan màng phim chỉ tăng 3 phút sau 30 ngày ngâm trong dịch

thuốc. Công thức vỏ nang mềm với có chứa các thành phần bao gồm gelatin, glycerin, sorbitol, methylparaben, propylparaben, titan dioxyd, ethylvanillin, glycin, acid citric và nước tinh khiết, tương ứng với tỉ lệ % là 45,0:15,0:5,0:0,15:0,05:1,0:1,0:2,5:0,5:29,8. Các thông số kỹ thuật trong quá trình đóng nang đã được khảo sát với viên oval 10, nhiệt độ Wedge 42°C, tốc độ máy 1,5 vòng/phút, độ dày màng 0,8 mm, khối lượng dịch thuốc 480 mg ± 7,5%, khối lượng dịch vỏ nang 325 ± 30 mg. Trong công thức hệ tự nhũ SMEDDS/SNEDDS có chứa 80 mg TGE, tương ứng với 480 mg TGE-SMEDDS/SNEDDS trong 1 viên nang mềm, hàm lượng TTC trong 1 viên nang mềm được xác định chứa khoảng 25,80 mg/viên. Tuy nhiên, để đánh giá hiệu quả sản phẩm đạt chất lượng tốt và bào chế ở quy mô lớn hơn, cần đánh giá thêm về chỉ tiêu độ hòa tan *in vitro* theo hướng dẫn của ASEAN về thực hiện nghiên cứu sinh khả dụng và tương đương sinh học, nghiên cứu độ ổn định của chế phẩm viên nang mềm theo hướng dẫn của ICH, thử nghiệm độc tính *in vivo* và hoạt tính chống oxy hóa của viên nang mềm TGE-SMEDDS/SNEDDS.

Nghiên cứu được hỗ trợ kinh phí theo đề tài số 88/QĐ-SKHCN ngày 19 tháng 01 năm 2023 của Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yang Y., Zhang H., Zuo J., Gong X., Yi F., Zhu W., Li L. (2019), "Advances in research on the active constituents and physiological effects of *Ganoderma lucidum*", *Biomedical Dermatology*, 3(1), pp. 1 - 17.
2. Peng H., Zhong L., Cheng L., Chen L., Tong R., Shi J., Bai L. (2023), "*Ganoderma lucidum*: Current advancements of characteristic components and experimental

progress in anti-liver fibrosis", *Frontiers in Pharmacology*, 13:1094405.

3. Chen X. J., Deng Z., Zhang L. L., Pan Y., Fu J., Zou L., Bai Z., Xiao X., Sheng F. (2024), "Therapeutic potential of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* against Alzheimer's disease", *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 172:116222.

4. Shao W., Xiao C., Yong T., Zhang Y., Hu H., Xie T., Liu R., Huang L., Li X., Xie Y. (2022), "A polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* ameliorates hyperglycemia through modulating gut microbiota in type 2 diabetic mice", *International Journal of Biological Macromolecules*, 197, pp. 23 - 38.

5. Cör Andrejč D., Knez Ž., Knez Marevci M. (2022), "Antioxidant, antibacterial, antitumor, antifungal, antiviral, anti-inflammatory, and neuro-protective activity of *Ganoderma lucidum*: An overview", *Frontiers in Pharmacology*, 13:934982.

6. Wang M., Li D., Gao X., Wang X., Zhang L., Ding J., Xuan Ke, Wang G., Bai Y., Gong J. (2025), "The Research Progress of *Ganoderma* as a Medicinal and Edible Product", *Food Bioscience*, 107055.

7. Morigiwa A., Kitabatake K., Fujimoto Y., Ikekawa N. (1986), "Angiotensin converting enzyme-inhibitory triterpenes from *Ganoderma lucidum*", *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 34(7), pp. 3025 - 3028.

8. El-Mekkawy S., Meselhy M. R., Nakamura N., Tezuka Y., Hattori M., Kakiuchi N., Shimotohno K., Kawahata T., Otake T. (1998), "Anti-HIV-1 and anti-HIV-1-protease substances from *Ganoderma lucidum*", *Phytochemistry*, 49(6), pp. 1651 - 1657.

9. Minh P. V., Hà B. T., Tuấn N. T. H., Nghĩa H. V. (2022), "Khảo sát một số tác dụng không mong muốn của bài thuốc tiêu đàm -

03 trên bệnh nhân rối loạn lipid máu", *Tạp chí Y Dược học Quân sự*, 47(7), tr. 101 - 108.

10. Hsu K. D., Cheng K. C. (2018), "From nutraceutical to clinical trial: frontiers in *Ganoderma* development", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(21), pp. 9037 - 9051.

11. Qu D., He J., Liu C., Zhou J., Chen Y. (2014), "Triterpene-loaded microemulsion using *Coix lacryma-jobi* seed extract as oil phase for enhanced antitumor efficacy: preparation and in vivo evaluation", *International Journal of Nanomedicine*, pp. 109 - 119.

12. Long P. H., Hùng T. V., Thắng P. N. T., Trĩ T. C., Lan T. C. T. H. (2022), "Nghiên cứu bào chế hệ vi nhũ tương tự nhũ hóa từ cao chiết linh chi giàu triterpenoid", *Tạp chí Dược liệu*, 27(5), tr. 309 - 313.

13. Kim H., Lee S., Jeon H., Park H., Woo H., Park Y. (2001), "Solubilized formulations of ibuprofen in soft capsule employing SMEDDS. In: *Proceedings of the PSK Conference: 2001*", *The Pharmaceutical Society of Korea*, pp. 230 - 232.

14. Sornsuvit C., Hongwiset D., Yotsawimonwat S., Toonkum M., Thongsawat S., Taesotikul W. (2018), "The bioavailability and pharmacokinetics of silymarin SMEDDS formulation study in healthy Thai volunteers", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018(1):1507834.

15. Linh N. T. K., Hùng T. V., Thắng P. N. T., Khang L. T. (2021), "Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết triterpenoid từ linh chi (*Ganoderma lucidum*) bằng chiết lỏng siêu tới hạn (Supercritical Fluid Extraction, SFE) ở quy mô phòng thí nghiệm", *Tạp chí Y Dược học*, 15, tr. 88 - 92.

16. United States Pharmacopeial Convention: *Ganoderma Lucidum* Fruiting

Body Powder: United States Pharmacopeial Convention, Rockville (MD); 2024.

17. Venugopal K., Singh S. (2001), "Evaluation of gelatins for cross-linking potential", *Pharmaceutical Technology*, 25(9; SUPP), pp. 32 - 37.

18. Cygnarowicz M. L., Seider W. D., "Design and control of supercritical extraction processes—a review", *Supercritical Fluid Technology (1991)*, 2017, pp. 383 - 404.

19. Sarveshwar Jaiswal, Sunil Kumar, Sharma UK (2022), "Evaluation Parameters of Hard and Soft Gelatin Capsule and Their Manufacturing Process", *International Journal of Pharmaceutical Research and Applications*, 7(3), pp. 792 - 808.

20. Gullapalli R. P. (2010), "Soft gelatin capsules (softgels)", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99(10), pp. 4107 - 4148.

21. Abourobe N. M., Hassan T. H., Gad S., Mostafa Y. M. (2022), "A Comprehensive Overview of Lipid-Based Drug Delivery Approach", *Records of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 6(3), pp. 59 - 68.

22. Zheng Y., Chen B., Huang X., Tao X., Ai C., Zhao Y., Liang P., Chen L. (2024), "A designed self-microemulsifying delivery system: Stability and Anti-inflammation in vivo enhancement of dihydromyricetin", *Journal of Functional Foods*, 118:106266.

23. Ye J., Bao S., Zhao S., Zhu Y., Ren Q., Li R., Xu X., Zhang Q. (2021), "Self-assembled micelles improve the oral bioavailability of dihydromyricetin and anti-acute alcoholism activity", *Aaps Pharmscitech*, 22(3):111.

24. Sarkar A., Horne D. S., Singh H. (2010), "Interactions of milk protein-stabilized oil-in-water emulsions with bile salts in a simulated upper intestinal model", *Food Hydrocolloids*, 24(2 - 3), pp. 142 - 151.

25. Jegorov A., Szrajber R. Reduction of cross-linking gelatin in gelatin capsules. In.: Google Patents; 2014.0

26. Gerezgiher A., Szabó T. (2022), Crosslinking of starch using citric acid. In: *Journal of Physics: Conference Series: 2022*: IOP Publishing; 2022: 012036.