

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH BẢO CHẾ KEM BÔI TỪ CAPSAICIN

QUÁCH THỊ QUỲNH ⁽¹⁾, ĐÀO NGUYỄN MẠNH ⁽¹⁾,
TRẦN THANH TUÂN ⁽¹⁾, NGUYỄN THỊ THU THỦY ⁽¹⁾

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, các chế phẩm bảo vệ sức khỏe có nguồn gốc tự nhiên ngày càng được ứng dụng rộng rãi trong cuộc sống nhờ tính an toàn và hiệu quả trong quá trình sử dụng. Capsaicin là hợp chất tự nhiên có nguồn gốc từ quả ớt, được chứng minh có tác dụng giảm đau, chống viêm và được ứng dụng trong hỗ trợ điều trị các bệnh lý như: giảm đau thần kinh do bệnh tiểu đường, đau cơ xương mãn tính và đau sau phẫu thuật... [1-3]. Đặc biệt với cơ chế tác dụng lên các thụ thể vanilloid đặc hiệu như TRPV1 (transient receptor potential channel, vanilloid sub-family member 1), capsaicin có hiệu quả tốt trong hỗ trợ điều trị các trường hợp đau, viêm không đáp ứng với thuốc giảm đau truyền thống [4].

Việt Nam là quốc gia đứng thứ 10 trên thế giới về sản lượng khai thác ớt với hơn 95 nghìn tấn mỗi năm. Trữ lượng và sự đa dạng các loài ớt ở nước ta tạo cơ hội rất lớn cho việc nghiên cứu và phát triển các chế phẩm chứa capsaicin. Tuy nhiên, các nghiên cứu về ứng dụng các dược chất này ở nước ta vẫn còn hạn chế. Xuất phát từ đó, nhóm nghiên cứu thực hiện nhiệm vụ: “Xây dựng quy trình bảo chế kem bôi ngoài da chứa capsaicin để giảm đau” với mục tiêu bảo chế thành công kem bôi ngoài da từ capsaicin và một số hoạt chất bổ sung khác nhằm nâng cao hiệu quả giảm đau đồng thời khắc phục nhược điểm của các loại kem bôi chứa capsaicin trên thị trường, tận dụng nguồn tài nguyên ớt phong phú ở Việt Nam.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu và hóa chất

Đối tượng nghiên cứu là quả ớt chỉ thiên (*Capsicum frutescens* L.) được thu hái tại thời điểm chín đỏ ở vùng Tiên Lãng, Hải Phòng vào tháng 9/2020. Quả ớt được làm sạch, sấy khô ở 60°C trong vòng 3 ngày, sau đó nghiền nhỏ và bảo quản trong túi chân không ở nhiệt độ phòng.

Các thiết bị sử dụng trong nghiên cứu: Thiết bị chiết soxhlet (Trung Quốc), thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC detector UV (Thermo Fisher, Mỹ), TLC 60 RP-18 F₂₅₄S (Sigma, Mỹ), tủ sấy Memmert (Đức), bể điều nhiệt DH WB000106 Daihan (DaiHan Scientific, Hàn Quốc), máy khuấy trộn Faithful SH-II-7C (Faithful, Trung Quốc), cân phân tích Ohaus 210g (Trung Quốc), máy chiết kem A02 (Nahaso, Trung Quốc).

Hóa chất dùng trong nghiên cứu:

Hóa chất dùng để tách chiết, định lượng capsaicin: Ethanol (Việt Nam), capsaicin PHR 1450 (61,1%) (Sigma, Mỹ) đạt tiêu chuẩn phân tích HPLC [5], acetonitril (Sigma, Mỹ), methanol (Sigma, Mỹ), acid phosphoric (Sigma, Mỹ).

Hóa chất dùng trong bào chế: Histamin dihydrochlorid (Sigma, Mỹ), allantoin (Sigma, Mỹ), vaselin (Trung Quốc), lanolin (Trung Quốc), cetyl alcohol (Trung Quốc), stearyl alcohol (Trung Quốc), propylen glycol (Trung Quốc), natri benzoat (Trung Quốc), tween 80 (Sigma, Mỹ), lavender oil (Việt Nam), glycerin (Sigma, Mỹ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chiết cao ớt

Nghiên cứu này sử dụng hai phương pháp chiết: Chiết ngâm bằng dung môi và chiết soxhlet nhằm đánh giá hàm lượng capsaicin [6].

Cách tiến hành:

Phương pháp chiết ngâm: Ngâm bột ớt với dung dịch ethanol (96%) trong bình kín với tỉ lệ 1:10, khuấy đều bằng máy khuấy từ trong vòng 15h. Dịch chiết được lọc qua máy lọc hút chân không và lưu giữ trong bình thủy tinh đầy kín. Sau đó tiếp tục thêm dung môi vào bình chứa nguyên liệu và khuấy trong vòng 15h. Lặp lại thí nghiệm đến khi dịch chiết không còn màu. Dịch lọc được cô quay chân không cho đến khi tạo thành cao đặc và thu hồi lượng ethanol.

Phương pháp chiết soxhlet: Cân 50g nguyên liệu cho vào bình chiết soxhlet, sau đó bổ sung dung môi (ethanol 96%) sao cho lượng dung môi thu được bằng 2/3 thể tích bình cầu thu hồi. Tiến hành chiết ở 80°C trong vòng 8h. Thu hồi dịch chiết, cất cô loại bỏ dung môi thu được cao chiết capsaicin.

Hiệu suất chiết tách cao ớt trong dược liệu khô được tính theo công thức:

$$T\% = \frac{M \times 100}{m - (m \times a\%)} \quad (1)$$

Trong đó: m: khối lượng dược liệu (g);

a: độ ẩm dược liệu (%);

M: khối lượng cao chiết (g).

2.2.2. Định lượng capsaicin bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)

Tiến hành định lượng capsaicin trong 2 mẫu cao ớt bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) sử dụng cột pha đảo C18 (5 µm; 4,6 mm x 250 mm), với chương trình gradient sử dụng dung môi A (acid phosphoric 0,1%) và dung môi B (acetonitril), bước sóng 222 nm, tốc độ dòng 1 ml/phút, detector UV 230 nm, thể tích tiêm 20 µl [5].

Mẫu chuẩn: Cân chính xác 9,8 mg chất chuẩn capsaicin pha loãng với methanol trong bình định mức 20ml. Hút chính xác 1 ml dung dịch trên, pha loãng vừa đủ thành 20 ml với dung môi pha mẫu.

Mẫu thử: Cân chính xác 0,31g cao ớt đã trộn đều vào bình định mức 25 ml, hòa tan và pha loãng vừa đủ bằng dung môi pha mẫu. Hút chính xác 3 ml dung dịch thu được, pha loãng vừa đủ thành 25 ml với dung môi pha mẫu.

Hàm lượng capsaicin được tính theo công thức:

$$HL = \frac{H.St.mc.Dt}{Sc.Dc.mt.(1-W)} \quad (2)$$

Trong đó: HL: Hàm lượng capsaicin trong mẫu chuẩn (%);

S_t , S_c : diện tích pic capsaicin trong dung dịch thử và chuẩn (mAu.s);

m_t , m_c : khối lượng capsaicin của mẫu thử và mẫu chuẩn (mg);

W: Hàm ẩm của cao ốt.

2.2.3. Phương pháp bào chế kem bôi ngoài da

Thành phần của kem bôi được xây dựng sơ bộ dựa trên tính chất vật lý, hóa học của dược chất và tá dược, yêu cầu về chất lượng kem, tài liệu tham khảo về hàm lượng, thành phần của kem bôi capsaicin [7-9] như sau:

Bảng 1. Thành phần công thức kem bôi khảo sát

STT	Thành phần	Công dụng	Tỷ lệ (%)
1	Cao ốt	Chứa hoạt chất giảm đau	Thích hợp chứa 0,075% capsaicin
2	Histamin dihydrochlorid	Hoạt chất giảm đau	0,01%
3	Vaselin	Tá dược nền	Khảo sát
4	Lanolin	Tá dược nền	Khảo sát
5	Glycerin	Chất làm mềm	Khảo sát
6	Lavender Oil	Hương liệu	1%
7	Tween 80	Chất nhũ hóa	Khảo sát
8	Cetyl alcohol	Chất làm đặc, chất nhũ hóa	Khảo sát
9	Allantoin	Giảm kích ứng da	Khảo sát
10	Propylen glycol	Chất ổn định	Khảo sát
11	Stearyl alcohol	Chất khuếch tán, hòa tan pha dầu và nước	Khảo sát
12	Ethanol	Tăng độ hòa tan của hoạt chất	Khảo sát
13	Natri benzoat	Chất bảo quản	1%
14	Nước cất vừa đủ	Chất nền	Vừa đủ 100%

Khảo sát tỷ lệ hàm lượng các tá dược và các yếu tố kỹ thuật (thời gian, nhiệt độ nhũ hóa) để xây dựng công thức và quy trình bào chế kem dựa trên các chỉ tiêu: Cảm quan, độ ổn định và độ bền của kem.

2.2.4. Phương pháp đánh giá chất lượng kem bôi ngoài da

Tiến hành đánh giá các chỉ tiêu chất lượng kem bôi ngoài da theo quy định trong TCVN I-1:2017 [11] và trong Dược điển Việt Nam V [12].

Đánh giá cảm quan: Mô tả trạng thái, màu sắc, mùi vị, đánh giá độ đồng nhất của kem bôi.

Độ đồng đều khối lượng: Theo phương pháp 4, Phụ lục 11.3, TCVN I-1: 2017: Phép thử độ đồng đều khối lượng áp dụng cho thuốc mỡ.

Định lượng capsaicin bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) [5].

Độ đồng nhất: Được xác định theo Phụ lục 1.12 trong TCVN I-1:2017

Độ bền của kem bôi: Kem được đánh giá độ bền (khả năng tách lớp) dưới tác động của cơ học bằng phương pháp ly tâm với tốc độ cao (6000 vòng/phút trong vòng 5 phút).

Giới hạn nhiễm khuẩn: Giới hạn nhiễm khuẩn được xác định theo phụ lục 13.6 của TCVN I-1:2017: Thử giới hạn nhiễm khuẩn.

Giới hạn kim loại nặng: Định lượng Pd và Hg theo TCVN 10912:2015 “Xác định các nguyên tố vết - xác định asen, cadimi, thủy ngân và chì bằng đo phổ khối lượng plasma cảm ứng cao tần (ICP - MS) sau khi phân hủy bằng áp lực” [13].

Phương pháp thử kích ứng trên da thỏ: Xác định theo tiêu chuẩn ISO 10993-10:2010 [14].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Chiết cao ớt tổng số

Phương pháp chiết soxhlet: Từ 1000 g bột ớt ban đầu có độ ẩm trung bình là 8,53% thu được 346,72 gam cao đặc. Hiệu suất chiết tách cao ớt bằng phương pháp chiết soxhlet là 37,9%.

Phương pháp chiết ngâm: Từ 1000 g bột ớt ban đầu có độ ẩm trung bình là 8,53% thu được 324,34 g cao đặc. Hiệu suất chiết tách cao ớt bằng phương pháp chiết ngâm là 35,4%.

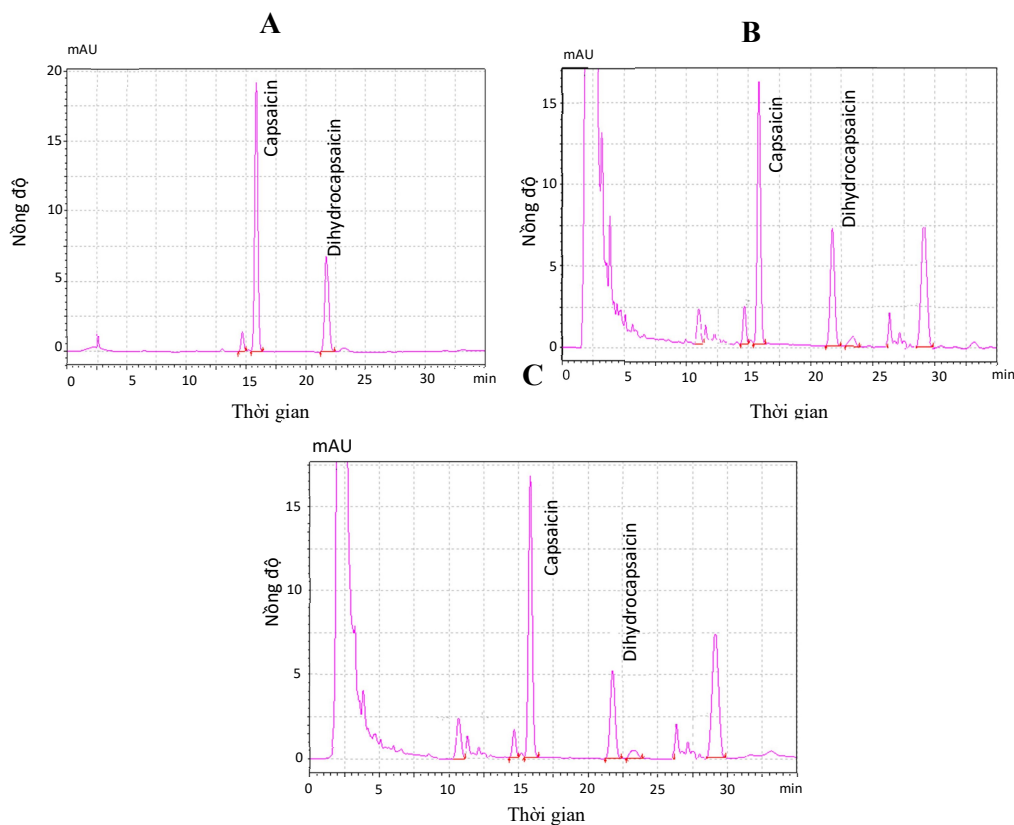
Như vậy, phương pháp chiết soxhlet cho hiệu suất chiết cao ớt cao hơn, thời gian thực hiện ngắn hơn (8h) so với phương pháp chiết ngâm và được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Định lượng capsaicin trong cao ớt

Hàm lượng capsaicin trong các cao chiết được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao. Sắc ký đồ của dung dịch chuẩn capsaicin và dung dịch thử trong cao ớt được trình bày ở hình 1.

Sắc ký đồ thu được các pic rõ ràng, các mẫu thử có đỉnh capsaicin với thời gian lưu là 15,9 phút tương đương thời gian lưu của mẫu chuẩn capsaicin.

Kết quả cho thấy, hàm lượng capsaicin có trong mẫu cao ớt được chiết bằng phương pháp soxhlet (10,43 mg/g) cao hơn so với phương pháp chiết ngâm (9,84 mg/g). Kết quả thu được phù hợp với các nghiên cứu trước đây về định lượng capsaicin trong ớt [6, 10]. Cao ớt thu được bằng phương pháp chiết soxhlet được sử dụng để bào chế kem bôi chứa capsaicin.



Hình 1. Sắc ký đồ của các mẫu phân tích bằng phương pháp HPLC

Trong đó: A-Mẫu chuẩn capsaicin; B-Mẫu cao ớt chiết bằng phương pháp soxhlet; C-Mẫu cao ớt chiết bằng phương pháp ngâm.

Bảng 2. Hàm lượng capsaicin trong cao ớt

TT	Tên mẫu	Khối lượng (mg)	Pha loãng	Diện tích pic (mAU.s)	Hàm lượng (%)	Hàm ẩm (%)	Hàm lượng TB (mg/g)
1	Chất chuẩn	9,8	400	343290,3	61,1		
2	Chiết soxhlet (L1)	312,1	208,3	309405,5	14,74	13,72	10,43
	Chiết soxhlet (L2)	313,7	208,3	310324,5	14,7		
3	Chiết ngâm (L1)	312,6	208,3	292277	13,9	13,72	9,84
	Chiết ngâm (L2)	309,5	208,3	289338	13,8		

3.3. Bào chế kem thuốc

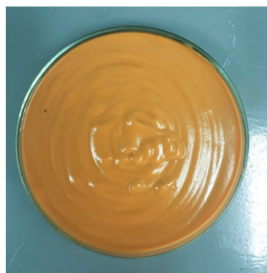
Thành phần công thức bào chế kem bôi được khảo sát dựa trên 03 công thức dự kiến (bảng 3), sử dụng các chỉ tiêu về thể chất, độ ổn định và độ bền của kem để đánh giá và lựa chọn công thức tối ưu.

Bảng 3. Thành phần khảo sát công thức bào chế kem

Thành phần	Công thức F1 (CT F1)	Công thức F2 (CT F2)	Công thức F3 (CT F3)
Cao ốt	7,19 %	7,19%	7,19 %
Vaselin	20%	15%	12%
Lanolin	5%	5%	3%
Cetyl alcohol	3%	3%	5%
Stearyl alcohol	10%	10%	10%
Lavender oil	1%	1%	1%
Glycerin	2%	2%	2%
Histamin dihydrochlorid	0,01%	0,01%	0,01%
Allantoin	4%	4%	5%
Propylen glycol	7%	12%	12%
Tween 80	2%	2%	2%
Ethanol	2%	4%	4%
Natri benzoat	1%	1%	1%
Nước cất vđ	100%	100%	100%
Trạng thái	Sệt, màu vàng nhạt	Sệt, màu vàng cam	Bán rắn, màu màu cam



CT F1



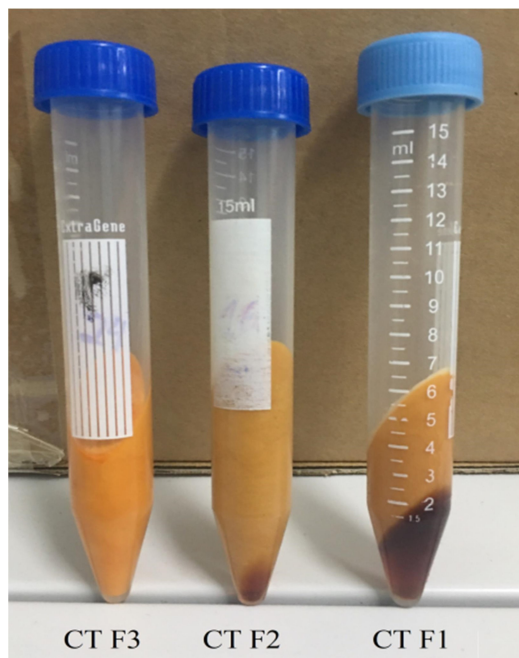
CT F2



CT F3

Hình 3. Trạng thái của 3 mẫu kem

Cả 3 công thức trên đều thu được kem có thể chất đạt yêu cầu với độ mịn cao, trong đó công thức F3 tạo ra trạng thái tốt hơn so với hai công thức còn lại. Tuy nhiên, để lựa chọn được công thức tối ưu, cần đánh giá độ bền của kem bằng phương pháp ly tâm với tốc độ 6000 vòng/phút trong thời gian 5 phút.



Hình 4. Kết quả ly tâm của 3 mẫu kem

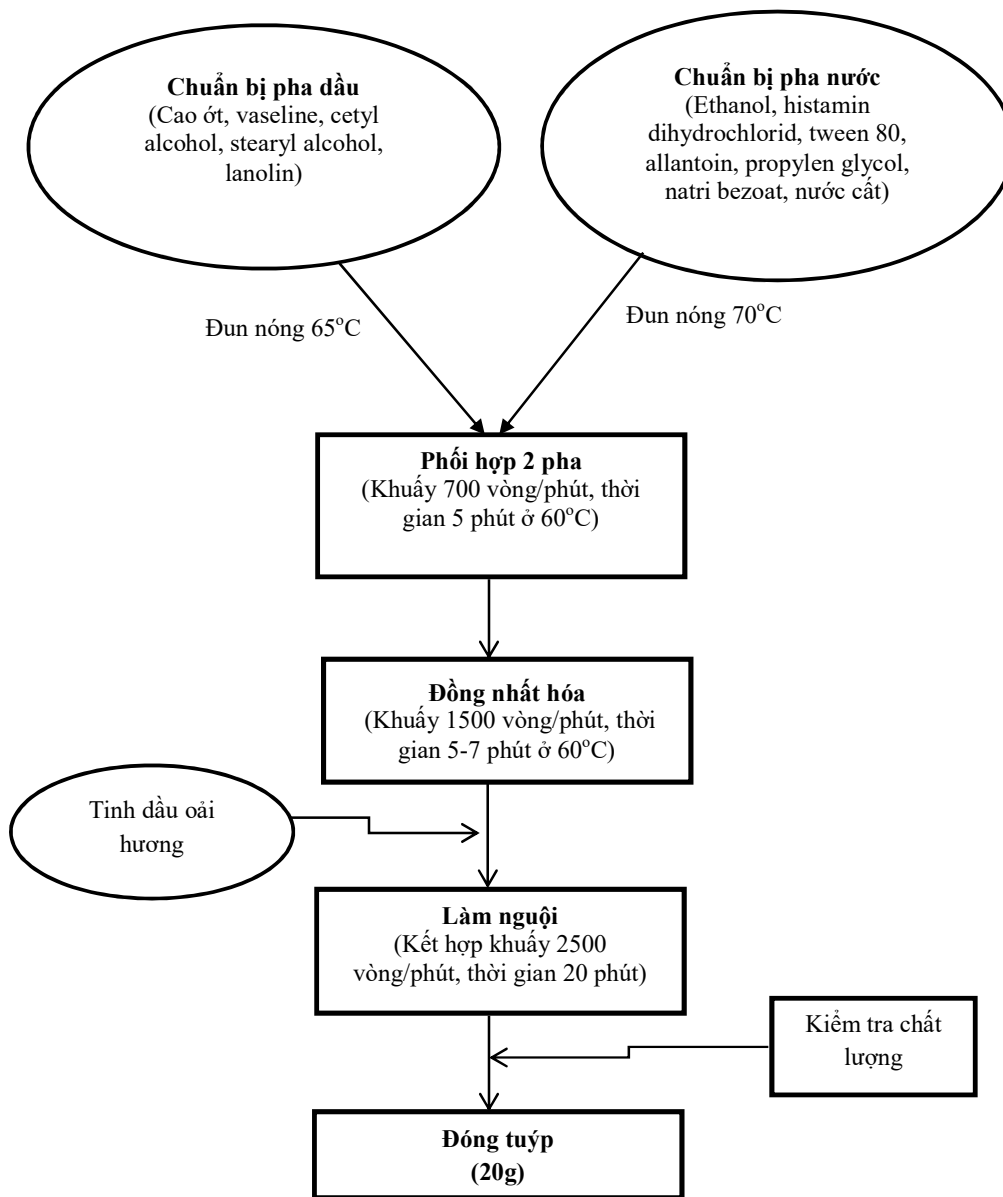
Từ hình 4 cho thấy, mẫu kem CT F1 sau khi ly tâm bị phân thành hai lớp rõ rệt, mẫu kem CT F2 kem bôi có độ ổn định tốt hơn nhưng vẫn có hiện tượng phân lớp, mẫu kem CT F3 không xuất hiện sự thay đổi về thể chất cũng như sự phân lớp. Như vậy, CT F3 là công thức phù hợp, được lựa chọn để xây dựng quy trình bào chế kem bôi. Sơ đồ quy trình bào chế kem bôi với quy mô 50 tuýp/mẻ (khối lượng mỗi tuýp 20 g) được thể hiện ở hình 5.

3.4. Kiểm tra chất lượng kem bôi

Đánh giá cảm quan: Kem mịn, đồng nhất, có màu vàng cam đặc trưng của cao ớt.

Độ đồng đều khối lượng: Độ chênh lệch khối lượng của các tuýp kem bôi so với khối lượng chuẩn ban đầu đều nằm trong giới hạn cho phép (<10%) được quy định trong phụ lục 11.3, ĐĐVN V (bảng 4).

Hàm lượng capsaicin trong kem bôi: Hàm lượng capsaicin trung bình trong các tuýp kem đạt 0,075%, đáp ứng được yêu cầu bào chế (bảng 5).



Hình 5. Quy trình bảo chế kem bôi

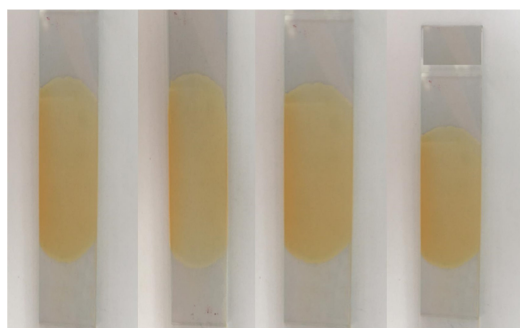
Bảng 4. Độ đồng đều khối lượng của các tuýp kem bôi

	Tuýp 1	Tuýp 2	Tuýp 3	Tuýp 4	Tuýp 5
Khối lượng (gam)	18,56	19,02	19,11	19,22	18.97
% Chênh lệch so với KL chuẩn (20g)	7,2	4,9	4,45	3,9	5,15

Bảng 5. Hàm lượng capsaicin trong các tuýp kem bôi

TT	Tên mẫu	Khối lượng (mg)	Pha loãng (lần)	Diện tích pic (mAU.s)	Hàm lượng (%)	Hàm lượng trung bình (mg/g)
1	Chất chuẩn	10	500	343290,3	61,1	
2	Tuýp kem 01	300	208,3	15189	0,750	0,75
	Tuýp kem 02	302	208,3	15219	0,749	

Độ đồng nhất: Kết quả làm tiêu bản trên các mẫu kem bôi đều thu được một vết đồng đều và không quan sát thấy các tiểu phân trên tiêu bản (hình 6).

**Hình 6.** Độ đồng nhất của các mẫu kem bôi

Độ bền: Không bị tách lớp dưới áp lực cơ học khi ly tâm ở 6000 vòng/phút trong 5 phút.

Giới hạn nhiễm khuẩn và giới hạn kim loại nặng: Nằm trong giới hạn cho phép theo TCVN (bảng 6).

Mức độ kích ứng da: Không gây kích ứng da (bảng 6).

Bảng 6. Kết quả phân tích mẫu kem bôi

TT	Chỉ tiêu phân tích	Kết quả
1	Cảm quan	Dạng kem sệt, mịn và đồng nhất
2	Hàm lượng chì	0,147 mg/kg
	Hàm lượng thủy ngân	< 0,04 mg/kg
3	Tổng số vi khuẩn hiếu khí	$1,1 \times 10^2$ CFU/g
	Tổng số nấm men, nấm mốc	$< 1,0 \times 10^1$ CFU/g
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Không phát hiện
	<i>Candida albicans</i>	Không phát hiện
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Không phát hiện
4	Kích ứng da	Không gây kích ứng

4. KẾT LUẬN

Đã xây dựng được phương pháp chiết cao ớt tổng số chứa capsaicin quy mô phòng thí nghiệm: Phương pháp chiết soxhlet với dung môi ethanol, thời gian và nhiệt chiết tương ứng là 8h và 80°C; hàm lượng capsaicin trong cao ớt 10,43 mg/g. Xây dựng được công thức bào chế (Công thức F3, bảng 3) có hàm lượng capsaicin đạt 0,075%, bổ sung histamin dihydrochlorid (0,01%) và allatoin (5%).

Xây dựng được quy trình bào chế kem bôi quy mô phòng thí nghiệm (công suất 50 tuýp/mẻ) và xác định các chỉ tiêu chất lượng của sản phẩm với độ bền và độ ổn định cao, mức độ nhiễm khuẩn nằm trong giới hạn cho phép và không gây kích ứng da.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Fraenkel L., S. T. Jr Bogardus, J. Concato, D. R. Wittink, *Treatment options in knee osteoarthritis: the patient's perspective*, Arch. Intern. Med., 2004, **164**:6.
2. Deal C. L., Schnitzer T. J., et al., *Treatment of arthritis with topical capsaicin: a double-blind trial*, Clin. Ther., 1991, **13**:13.
3. Rains C. L., Bryson H. M., *Topical capsaicin, a review of its pharmacological properties and therapeutic potential in post-herpetic neuralgia, diabetic neuropathy and osteoarthritis*, Drugs Aging, 1995, **7**(4):317-328.
4. Cotright D.N., Szallasi A., *Biochemical pharmacology of the vanilloid receptor TRPV1*, Eur. J. Biochem., 2004, **271**:1814-1819.
5. Sigmaaldrich, *Certificate of analysis - Certified Reference Material Capsaicin (PHR1450)*, method HPLC.
6. Trần Anh Khoa, Nguyễn Thị Ngọc Tuyết, Lê Thị Kim Phụng, *Khảo sát và so sánh các phương pháp ly trích capsaicin từ quả ớt Capsicum annum L.*, Science & Technology development, 2016, **19**(3):44-51.
7. Council of Europe, European Pharmacopoeia, 2017, p. 1300-1302.
8. Rowe C. R., Sheskey J. P., and Quinn E. M., *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Pharmaceutical Press, USA, 1983, **2009**, p.159-160.
9. Stephen D. Holt, Little Rock A. R., et al., *Cream utilizing capsaicin*, United States Patent, US 6.573.302 B1, 2003.
10. Enkelejda Goci, Entela Haloçi, Kliton Vide, Ledjan Mala, *Application and comparison of three different extraction methods of capsaicin from capsicum fruits*, Albanian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2013, **1**(1):2313-1772.
11. TCVN I-1:2017, *Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - Phần 1: Phương pháp kiểm nghiệm thuốc* (gồm 201 tiêu chuẩn).
12. Bộ Y tế, *Dược điển Việt Nam (V)*, Nhà xuất bản Y học, 2018.

13. TCVN 10912:2015 “Xác định các nguyên tố vết - xác định asen, cadimi, thủy ngân và chì bằng đo phổ khối lượng plasma cảm ứng cao tần (ICP - MS) sau khi phân hủy bằng áp lực”.
14. Tiêu chuẩn ISO 10993-10:2010, Đánh giá sinh học đối với trang thiết bị y tế - Phần 10: Phép thử kích thích và độ nhạy của da.

Nhận bài ngày 12 tháng 9 năm 2022

Phản biện xong ngày 23 tháng 10 năm 2022

Hoàn thiện ngày 19 tháng 11 năm 2022

⁽¹⁾ Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

Liên hệ: Quách Thị Quỳnh

Viện Y sinh Nhiệt đới, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

Số 63 Nguyễn Văn Huyền, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội

Điện thoại: 034.9835.119; Email: quynhqt.ndvn@gmail.com