



Original Article

Research on the Preparation of Self-nano-emulsifying Drug Delivery System Containing *Gynostemma pentaphyllum* Dry Extract for Application in Skin Care Cosmetics

Vu Thi Thu Giang*, Pham Thuy Hanh, Nguyen Van Lam

Hanoi University of Pharmacy, 13-15 Le Thanh Tong, Hoan Kiem, Hanoi, Vietnam

Received 12 February 2023

Revised 24 February 2023; Accepted 10 March 2023

Abstract: *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino is a rich source of the herb in Vietnam. The gypenosides in this herb are triterpenoid saponins that have been shown to have moisturizing, antioxidant, and anti-aging effects on the skin. However, gypenosides are hydrophilic and have a large molecular weight with a bulk molecular structure which prevents them from penetrating and absorbing into the skin. To apply the natural active ingredients from herbs into skin care cosmetics, this research developed self-nano-emulsifying drug delivery systems (SNEDDS) containing *Gynostemma pentaphyllum* dry extract and applied them to emulgel skin care cosmetics. Prepared SNEDDS could self-emulsify in the water to form nanoemulsions with dispersed droplet sizes less than 20 nm with PDI < 0.3. The proportion of saponin entrapped in the oil droplets of nano emulsification was more than 90%. When combined with emulgel excipients, the obtained cosmetic products had nano-sized dispersed droplets less than 200 nm with uniform droplet size distribution, which are promising for application when further research is carried out.

Keywords: Self-nano-emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS), *Gymnostemma pentaphyllum* dry extract, cosmetic, emulgel, nano-emulsion.

* Corresponding author.

E-mail address: giangvtt@hup.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4488>

Nghiên cứu bào chế và ứng dụng hệ nano tự nhũ hóa cao khô Giảo cổ lam trong mỹ phẩm chăm sóc da

Vũ Thị Thu Giang*, Phạm Thúy Hạnh, Nguyễn Văn Lâm

Trường Đại học Dược Hà Nội, 13-15 Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 12 tháng 02 năm 2023

Chỉnh sửa ngày 24 tháng 02 năm 2023; Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 3 năm 2023

Tóm tắt: Giảo cổ lam (GCL) là nguồn dược liệu dồi dào ở Việt Nam. Các gypenosid trong GCL thuộc nhóm saponin triterpenoid khung dammaran đã được chứng minh có tác dụng giữ ẩm, chống oxy hóa, chống già hoá da. Tuy nhiên, gypenosid rất thân nước và có khối lượng phân tử lớn, cấu trúc hoá học công kênh do liên kết ether giữa đường với nhóm -OH alcol của phần aglycon trong khung dammaran nên cản trở sự xâm nhập và hấp thụ hoạt chất vào da. Để góp phần nghiên cứu ứng dụng các hoạt chất có nguồn gốc từ thảo dược thiên nhiên vào mỹ phẩm chăm sóc da, nghiên cứu đã xây dựng được công thức bào chế hệ nano tự nhũ hóa (SNEDDS) chứa cao khô GCL và bước đầu ứng dụng vào mỹ phẩm emulgel chăm sóc da. SNEDDS cao khô GCL bào chế có khả năng tự nhũ hóa tạo thành nano nhũ tương có kích thước giọt phân tán < 20 nm với PDI < 0,3. Tỷ lệ nano nhũ hóa đạt > 90 %. Khi phối hợp với nền tá dược emulgel thu được mỹ phẩm có kích thước giọt phân tán cỡ nano (< 200 nm) và phân bố kích thước giọt đồng đều, có triển vọng ứng dụng vào thực thể khi tiếp tục nghiên cứu sâu hơn.

Từ khóa: Hệ tự nano nhũ hóa (SNEDDS), Cao khô GCL, mỹ phẩm, emulgel, nano nhũ tương.

1. Mở đầu

Việc nghiên cứu ứng dụng các hoạt chất có nguồn gốc từ thảo dược thiên nhiên là xu hướng ngày càng được quan tâm, ưa chuộng từ các nhà nghiên cứu, sản xuất cũng như người tiêu dùng mỹ phẩm, thậm chí tạo ra xu hướng sống “xanh” trong tiêu dùng các sản phẩm bảo vệ sức khỏe và mỹ phẩm do đặc tính an toàn, ít gây tác dụng không mong muốn, mẫn cảm, kích ứng hay ăn mòn da và niêm mạc,... khi sử dụng lâu dài, thường xuyên.

GCL là nguồn dược liệu phong phú ở Việt Nam. Các gypenosid trong GCL thuộc nhóm saponin triterpenoid khung dammaran đã được chứng minh có tác dụng giữ ẩm, chống oxy hóa,

chống già hoá da. Tuy nhiên, gypenosid rất thân nước và có khối lượng phân tử lớn, cấu trúc hoá học công kênh do đường liên kết ether với nhóm -OH alcol của phần aglycon khung dammaran nên cản trở sự xâm nhập và hấp thụ hoạt chất vào da [4].

Nano nhũ tương với kích thước giọt pha phân tán cỡ nano có khả năng cải thiện thâm hoạt chất qua biểu bì đồng thời cải thiện độ ổn định, độ tan của hoạt chất [1-3]. Vì vậy, hệ được nghiên cứu ứng dụng nhiều trong cả dược phẩm và mỹ phẩm. Những năm gần đây, hệ nano tự nhũ hóa được nhiều nhà khoa học quan tâm do phạm vi ứng dụng rộng [4, 5]. Nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu bào chế được hệ nano tự nhũ

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: giangvtt@hup.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4488>

hoá chứa cao khô GCL và bước đầu ứng dụng trong mỹ phẩm chăm sóc da.

2. Nguyên vật liệu, thiết bị và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Cao khô GCL (TCNSX, Việt Nam); chất chuẩn Gypenosid XVII (98,86%, Wuhan Chemfaces Biochemical Co. Ltd, Trung quốc); Cremophor RH 40, PEG 400 (BASF - Đức); Capryol 90, Polyglyceryl-3-dioleate, Labrafac, Emulfree CBG (Gattefossé- Pháp); Acrypol 990, Tween 20; Tween 80 (Corel - Ấn Độ); methanol, acid acetic băng, acid perchloric, vanillin, ethyl acetat (Fissher - USA), n-butanol (Scharlab - Tây Ban Nha),...

2.2. Thiết bị nghiên cứu

Máy quang phổ UV-VIS Hitachi U-1900 (Nhật Bản), máy đo thế zeta và xác định phân bố kích thước tiểu phân Zetasizer Nano ZS90 (Anh), máy ly tâm Hermler Z 200A (Đức); ống ly tâm có màng siêu lọc Amicon Ultra-4 10000 NMWL (Đức), tủ sấy chân không LABTECH LVO – 2040 (Hàn Quốc), máy khuấy từ có bộ phận gia nhiệt IKA RH basic 1 (Đức), máy siêu âm WiseClean WUC – A10H (Hàn Quốc), máy đo pH micro - Mettler Toledo (Thụy Sĩ) và các dụng cụ thủy tinh khác.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp bào chế

Xác định vùng hình thành nano nhũ tương: Xây dựng giản đồ pha xác định vùng hình thành nano nhũ tương: chuẩn bị Smix theo các tỉ lệ khối lượng 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4. Với mỗi tỉ lệ Smix tiến hành trộn với pha dầu (O) theo tỉ lệ O/Smix = 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1. Hỗn hợp thu được đem khuấy từ đến đồng nhất, sau đó thêm 5 ml nước cất, lắc nhẹ nhàng, đánh giá cảm quan các mẫu thu được. Những mẫu không tách lớp được pha loãng thích

hợp, đo kích thước giọt (KTG) pha phân tán và phân bố kích thước giọt (PDI). Lựa chọn những điểm có kết quả KTG < 500 nm và PDI < 0,5 để xây dựng giản đồ pha xác định vùng hình thành nhũ tương [6].

Bào chế hệ nano tự nhũ hoá và nano nhũ tương chứa cao GCL: Cân chính xác một lượng chất đồng diện hoạt và pha dầu vào lọ thủy tinh có dung tích thích hợp, đồng nhất bằng máy khuấy từ với tốc độ khuấy 200 vòng/phút. Thêm chính xác lượng cao GCL, khuấy tan hoàn toàn. Phối chất diện hoạt và tiếp tục khuấy từ đến đồng nhất, trong quá trình duy trì nhiệt độ 40 °C. Lọ thủy tinh được bọc giấy bạc trong quá trình pha chế và bảo quản.

Bào chế mỹ phẩm chăm sóc da chứa SNEDDS cao GCL theo công thức sau:

Acrypol 990	0,15 %
Glycerin	1,00 %
Gôm Xanthan	0,10 %
Emulfree CBG	2,00 %
Labrafac	2,00 %
SNEDDS cao khô GCL	50,00 %
Dung dịch natri hydroxyd 10% vừa đủ	pH 4,5-5,5
Nipagin	0,18 %
Nước tinh khiết vừa đủ	100 %

Trình tự bào chế:

- Ngâm trương nở hoàn toàn Acrypol 990 trong nước.
- Đun nóng glycerin đến khoảng 60 °C để hoà tan nipagin.
- Phân tán gôm xanthan vào dung dịch nipagin trong glycerin, sau đó phối hợp vào Acrypol 990 đã trương nở và khuấy trộn nhẹ nhàng đến đồng nhất (1).
- Phối hợp đồng nhất Emulfree CBG và Labrafac (2).
- Thêm dần (2) vào (1), khuấy từ ở tốc độ 1500 vòng/phút trong 5 phút.
- Rót từ từ SNEDDS cao GCL vào hỗn hợp tá được kết hợp với khuấy trộn đến đồng nhất.
- Điều chỉnh pH từ 4,8 đến 5,2 bằng dung dịch natri hydroxyd 10%.
- Bổ sung nước vừa đủ và khuấy đều.

2.3.2. Phương pháp đánh giá

- Định lượng saponin toàn phần trong cao GCL bằng phương pháp đo quang phổ hấp thụ UV-VIS ở bước sóng cực đại trên cơ sở tham khảo phương pháp định lượng đã công bố [7], có điều chỉnh phù hợp với nghiên cứu và thẩm định thêm một chỉ tiêu: xác định bước sóng cực đại hấp thụ (550 nm), đường chuẩn trong khoảng nồng độ 5,71-26,44 $\mu\text{g/ml}$: $y = 0,226x - 0,0299$ với $R^2 = 0,9909$; độ đúng với RSD: 1,78%. Cụ thể như sau:

Chuẩn bị thuốc thử vanillin 5% trong acid acetic băng: cân 0,5 g vanillin pha trong dung dịch acid acetic băng vừa đủ 10 ml.

Dung dịch chuẩn: cân chính xác khoảng 6,61 mg gypenosid XVII pha trong methanol vừa đủ 50 ml.

Dung dịch thử: cân chính xác khoảng 13,22 mg cao khô GCL cho vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 40 ml methanol, lắc nhẹ, siêu âm 45 phút. Để nguội, thêm dung môi vừa đủ đến vạch. Lắc đều rồi đem lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 25,0 ml dịch lọc cho vào cốc có mỏ, cô cách thủy đến khi còn 1-2 ml, thêm 5 ml nước chuyển vào bình gạn. Tráng cốc với 5 ml nước, chuyển vào bình gạn. Tráng tiếp cốc với 10 ml n-butanol bão hòa nước (5 ml x 2 lần), tập trung dịch vào bình gạn. Lắc trong 5 phút. Tách lấy phần n-butanol vào bình cất. Chiết bằng n-butanol bão hòa nước 2 lần nữa (lần lượt 10 ml và 5 ml). Tập trung dịch chiết n-butanol vào đĩa petri. Sấy chân không ở nhiệt độ 60 °C tới khô. Hoà tan cần và tráng đĩa petri bằng lượng tối thiểu methanol. Rót từ từ vào dung dịch methanol vào acetone có thể tích gấp 10 lần. Để lạnh (5 °C) trong 24 giờ. Lọc lấy tủa saponin toàn phần. Sấy khô thu cần chuyển vào bình định mức 25 ml, thêm methanol đến vừa đủ thể tích [7].

Phản ứng màu Rosenthaler: lấy 1,0 ml dung dịch mẫu thử hoặc chuẩn cho vào ống nghiệm, cô cách thủy đến cần. Thêm 0,2 ml dung dịch vanilin 5% trong acid acetic băng và 1,2 ml acid perchloric 72%. Đậy kín ống nghiệm, ủ trong bể cách thủy ở 80 °C trong 20 phút. Ngâm ống nghiệm trong nước đá 5 phút. Dùng ethyl acetat chuyển toàn bộ dịch sang bình định mức 10 ml

và bổ sung ethyl acetat tới vạch. Lắc đều. Đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 550 nm, mẫu trắng là methanol được làm phản ứng tương tự mẫu thử [7].

Tính kết quả: công thức tính hàm lượng saponin toàn phần (tính theo gypenosid XVII).

$$HL_{tp} = \frac{A_T \times C_C \times 500}{A_C \times m_T \times (1-H)} \times 100 (\%)$$

Trong đó: HL_{tp} : hàm lượng saponin toàn phần; A_T , A_C : độ hấp thụ quang của dung dịch thử và dung dịch chuẩn; m_T : khối lượng mẫu thử (mg); C_C : nồng độ gypenosid XVII trong dung dịch chuẩn đo quang (mg/ml); H : độ ẩm của mẫu thử (%).

- Tạo nano nhũ tương: cân chính xác một lượng SNEDDS tương ứng khoảng 132,2 mg cao GCL vào cốc có mỏ, thêm 5 ml nước, khuấy từ 50 vòng/phút trong 3 phút. Chuyển vào bình định mức 20 ml, tráng cốc với nước và định mức vừa đủ bằng nước.

- Xác định tỷ lệ nano nhũ hoá (EE-Entrapment Efficiency, %):

Định lượng saponin tổng trong nano nhũ tương: hút chính xác 10 ml nano nhũ tương vào bình định mức 50 ml, thêm methanol đến vạch, siêu âm rồi tiến hành các bước định lượng saponin bằng phương pháp đo quang phổ hấp thụ như đã mô tả ở trên (từ sau bước siêu âm).

Công thức tính hàm lượng saponin tổng ($C_{tổng}$):

$$C_{tổng} = \frac{A_{TP} \times C_C \times 250}{A_C} (\text{mg/ml})$$

Trong đó: A_{TP} , A_C : độ hấp thụ quang của saponin tổng trong nano nhũ tương và dung dịch chuẩn; C_C : nồng độ gypenosid XVII trong dung dịch chuẩn (mg/ml).

Định lượng saponin trong pha nước: hút chính xác 3 ml nano nhũ tương vào ống ly tâm có màng siêu lọc 10 kDa, ly tâm 3000 vòng/phút trong 4 phút. Hút 0,1 ml pha nước thu được phía dưới ống vào bình định mức 5ml. Thêm methanol, lắc nhẹ, siêu âm 45 phút, để nguội, thêm methanol vừa đủ đến vạch. Cô cách thủy đến khi còn 1-2 ml rồi tiến hành các bước định lượng saponin bằng phương pháp đo quang phổ hấp thụ như đã mô tả ở trên (từ sau bước cô đến thể tích 1-2 ml).

Công thức tính hàm lượng saponin trong pha nước ($C_{\text{pha nước}}$):

$$C_{\text{pha nước}} = \frac{A_{\text{PN}} \times C_C \times 50}{A_C} \text{ (mg/ml)}$$

Trong đó: A_{PN} , A_C : độ hấp thụ quang của saponin trong pha nước và dung dịch chuẩn; C_C : nồng độ gypenosid XVII trong dung dịch chuẩn (mg/ml).

Tỷ lệ nano nhũ hoá được tính theo công thức:

$$EE = \frac{C_{\text{tổng}} - C_{\text{pha nước}}}{C_{\text{pha nước}}} \times 100\%$$

- Đánh giá KTG và phân bố KTG (PDI) nano nhũ tương:

KTG pha phân tán của nano nhũ tương và PDI được xác định bởi phương pháp tán xạ ánh sáng động, phân tích sự dao động trong tán xạ ánh sáng do chuyển động Brown của hạt với thiết bị Malvern Zetasizer, phép đo ở 25 °C, góc cố định là 90°.

- Độ ổn định vật lý của nano nhũ tương: ly tâm nano nhũ tương 5000 vòng/phút trong 30 phút sau đó quan sát tính chất của nano nhũ tương. Nano nhũ tương được coi là ổn định khi không có sự tách lớp sau ly tâm.

- Đánh giá mỹ phẩm chứa SNEDDS cao khô GCL:

Tính chất: Emulgel chứa SNEDDS cao GCL có màu nâu vàng, thể chất mềm, mịn, đồng nhất, không có bọt khí. Chỉ tiêu này được đánh giá bằng quan sát cảm quan.

pH: sử dụng thiết bị pH micro - Mettler Toledo.

KTG và phân bố KTG (PDI): tiến hành tương tự như với nano nhũ tương.

2.3.3. Phương pháp thiết kế thí nghiệm và tối ưu hoá công thức

Phần mềm MODDE 13.0 (Umetrics Inc, USA) được sử dụng để thiết kế thí nghiệm theo mô hình mặt hợp tử tại tâm. Các biến đầu vào gồm tỷ lệ: cao GCL, dầu, chất diện hoạt, đồng diện hoạt. Khoảng biến thiên được lựa chọn trên cơ sở vùng hình thành nano nhũ tương trên giản đồ pha đã xây dựng và mức độ ảnh hưởng của tỷ lệ cao GCL. Biến đầu ra gồm: KTG, PDI, tỷ lệ hoạt chất được nano nhũ hoá. Sử dụng phần mềm FormRules v2.0 (Intelligensys Ltd, UK) để phân

tích ảnh hưởng của các biến đầu vào tới các biến đầu ra. Phần mềm INForm v3.1 (Intelligensys Ltd, UK) được sử dụng để tối ưu hoá công thức dựa trên mô hình mạng neuron nhân tạo.

2.3.4. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

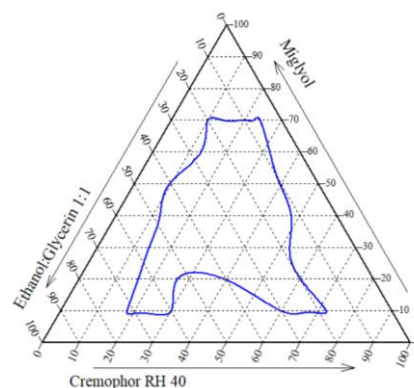
Các kết quả thu được sẽ được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và trình bày dưới dạng $TB \pm SD$, trong đó TB là giá trị trung bình, SD là độ lệch chuẩn, mỗi thí nghiệm lặp lại tối thiểu 3 lần.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Xây dựng giản đồ pha xác định vùng hình thành nano nhũ tương

Trên cơ sở khảo sát khả năng hòa tan cao khô GCL trong một số chất diện hoạt, đồng diện hoạt và dầu, nghiên cứu đã chọn được các thành phần của SNEDDS gồm pha dầu: Miglyol; chất diện hoạt: Cremophor RH 40; Chất đồng diện hoạt: Ethanol kết hợp với glycerin ở tỷ lệ 1:1 theo khối lượng.

Tiến hành xây dựng giản đồ pha xác định vùng hình thành nano nhũ tương kết quả thể hiện ở Hình 1. Vùng bên trong đường màu xanh dương là vùng hình thành nano nhũ tương.



Hình 1. Giản đồ pha vùng hình thành nano nhũ tương của hệ Miglyol - Cremophor RH 40 - Ethanol:glycerin 1:1.

Nhận thấy, nano nhũ tương được hình thành trong vùng khá rộng với tỷ lệ Miglyol trong

khoảng 10-70%, Cremophor RH 40 trong khoảng 10-72% và ethanol: glycerin 1:1 trong khoảng 6-72%.

3.2. Xây dựng công thức bào chế tự nano tự nhũ hoá chứa cao Giảo cổ lam

Ảnh hưởng của tỷ lệ cao khô GCL đến sự hình thành và đặc tính của nano nhũ tương.

Đánh giá khả năng hòa tan cao khô GCL trong SNEDDS, hệ tá dược Miglyol – Cremophor RH 40 – Ethanol: Glycerin 1:1 với tỷ lệ Smix là 1:1 và tỷ lệ O/Smix là 3:7 được chọn để tiến hành hòa tan cao khô GCL với các tỷ lệ % (kl/kl) từ 1,0 đến 3,0. Yêu cầu đặc tính nano nhũ tương tạo thành như sau: tính chất: hệ lỏng, đồng nhất; KTG ≤ 200 nm; PDI ≤ 0,3; hệ ổn định, không tách lớp trong điều kiện ly tâm 5000 vòng/phút trong 30 phút.

Kết quả cho thấy cao khô GCL chỉ tan hoàn toàn trong hệ SNEDDS ở các tỷ lệ không quá 2,4%. Kết quả đo KTG và PDI và độ ổn định của nhũ tương tạo thành được thể hiện qua Bảng 1.

Khi hòa tan từ 1,0-2,0 % cao khô GCL, KTG của các mẫu nano nhũ tương tạo thành đều <200 nm với PDI < 0,3, nano nhũ tương tạo thành ổn định sau ly tâm. Các mẫu có tỷ lệ cao GCL 2,2%

và 2,4% bị tách pha sau khi ly tâm. Với kết quả thu được, tỷ lệ cao GCL trong SNEDDS từ 1,0% đến 2,0% được chọn để tiến hành tối ưu hóa xây dựng công thức hệ SNEDDS cao khô GCL.

Thiết kế thí nghiệm và tối ưu hoá công thức bào chế SNEDDS cao khô GCL

Bảng 1. Kết quả đo KTG, PDI và độ ổn định sau ly tâm của các mẫu có tỷ lệ cao GCL khác nhau

Tỷ lệ cao GCL (%)	KTG (nm)	PDI	Độ ổn định sau ly tâm
1,0	48,5	0,248	Đạt
1,2	96,3	0,271	Đạt
1,4	150,8	0,287	Đạt
1,6	123,1	0,286	Đạt
1,8	147,6	0,289	Đạt
2,0	141,0	0,287	Đạt
2,2	148,2	0,422	Tách pha
2,4	146,0	0,413	Tách pha

Dựa trên vùng hình thành nano nhũ tương trên giản đồ pha và kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ cao khô GCL, các biến đầu vào và đầu ra trong thiết kế thí nghiệm được chọn như sau:

Bảng 2. Các biến đầu vào

Tên biến	Kí hiệu	Đơn vị	Loại biến	Khoảng biến thiên
Tỷ lệ dược chất	X1	Phân số	Biến định lượng	0,01 đến 0,02
Tỷ lệ Miglyol	X2	Phân số	Biến thành phần	0,2 đến 0,5
Tỷ lệ Cremophor RH 40	X3	Phân số	Biến thành phần	0,2 đến 0,4
Tỷ lệ Ethanol: Glycerin 1:1	X4	Phân số	Biến lớp đáy	-

Bảng 3. Các biến đầu ra và yêu cầu

Tên biến	Kí hiệu	Đơn vị	Yêu cầu
KTG	Y1	nm	≤ 200
PDI	Y2	-	≤ 0,3
Tỷ lệ nano nhũ hoá	Y3	%	≥ 90

Bảng 4. Thiết kế thí nghiệm và đặc tính của nano nhũ tương tạo thành

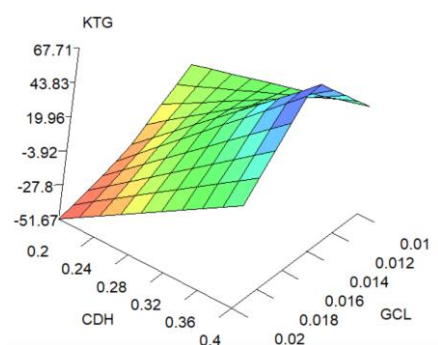
Công thức	Tỷ lệ Cao GCL	Tỷ lệ Miglyol	Tỷ lệ Cremophor RH 40	Tỷ lệ Ethanol: Glycerin 1:1	KTG (nm)	PDI	Tỷ lệ nano nhũ hoá (%)
F1	0,01	0,2	0,2	0,6	22,3	0,325	90,98
F2	0,02	0,2	0,2	0,6	22,3	0,258	94,50
F3	0,01	0,2	0,4	0,4	174,5	0,418	89,82
F4	0,02	0,2	0,4	0,4	168,6	0,300	94,51
F5	0,01	0,5	0,2	0,3	8,3	0,244	90,74

F6	0,02	0,5	0,2	0,3	11,1	0,249	94,79
F7	0,01	0,5	0,4	0,1	23,2	0,448	88,90
F8	0,02	0,5	0,4	0,1	20,2	0,374	95,85
F9	0,01	0,35	0,3	0,35	19,1	0,316	89,67
F10	0,02	0,35	0,3	0,35	28,0	0,363	95,30
F11	0,015	0,35	0,2	0,45	18,5	0,252	93,84
F12	0,015	0,35	0,4	0,25	48,2	0,484	93,60
F13	0,015	0,2	0,3	0,5	38,6	0,261	94,57
F14	0,015	0,5	0,3	0,2	8,8	0,248	93,93
F15	0,015	0,35	0,3	0,35	14,0	0,253	94,14
F16	0,015	0,35	0,3	0,35	14,4	0,256	93,67
F17	0,015	0,35	0,3	0,35	14,6	0,241	94,75

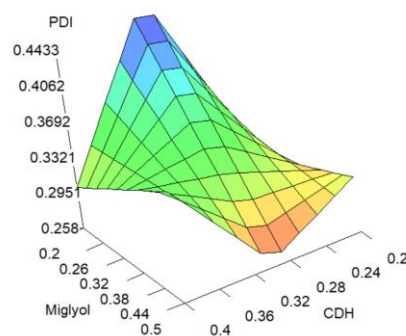
Thiết kế thí nghiệm theo mô hình mặt hợp tử tại tâm bởi phần mềm MODDE 13.0 và đánh giá một số đặc tính lý hóa của nano nhũ tương tạo thành. Kết quả được trình bày ở Bảng 4.

Ảnh hưởng của các biến đầu vào tới đến các biến đầu ra được xử lý bằng phần mềm FormRules v2.0. Kết quả cho thấy KTG và PDI

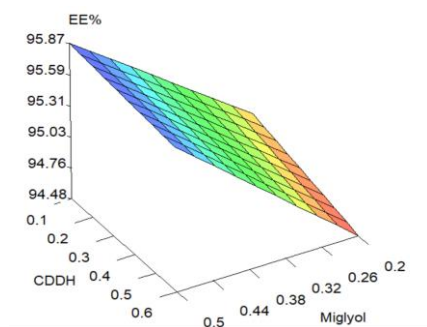
của nano nhũ tương đều chịu ảnh hưởng của 3 yếu tố là tỷ lệ cao GCL, Miglyol và Cremophor RH 40. Tỷ lệ nano nhũ hoá bị ảnh hưởng bởi tỷ lệ cao GCL, Miglyol và Ethanol:Glycerin 1:1. Cụ thể ảnh hưởng của các yếu tố thông qua mặt đáp được thể hiện dưới đây:



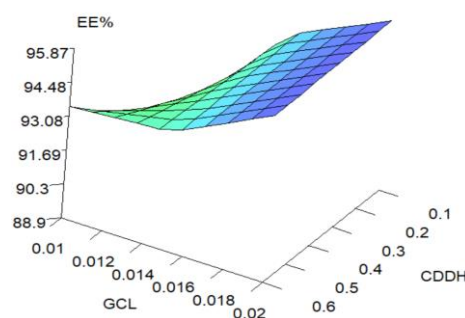
Hình 2. Ảnh hưởng của tỷ lệ cao GCL và Cremophor RH 40 đến KTG (tỷ lệ Miglyol là 0,5 và ethanol:glycerin 1:1 là 0,1).



Hình 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ Miglyol và Cremophor RH 40 (CDH) đến PDI (tỷ lệ cao GCL là 0,02 và ethanol:glycerin 1:1 là 0,1).



Hình 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ ethanol:glycerin 1:1 và Miglyol đến tỷ lệ nano nhũ hoá (tỷ lệ cao GCL là 0,02 và Cremophor RH 40 là 0,4).



Hình 5. Ảnh hưởng của tỷ lệ ethanol:glycerin 1:1 và cao GCL đến tỷ lệ nano nhũ hoá (tỷ lệ Miglyol là 0,5 và Cremophor RH 40 là 0,4).

Trong khoảng khảo sát, tỷ lệ Cremophor RH 40 trong công thức SNEDDS có ảnh hưởng tỷ lệ thuận tới KTG pha phân tán của nano nhũ tương tạo thành nhưng lại ảnh hưởng phức tạp hơn tới phân bố kích thước giọt (PDI). PDI của nano nhũ tương phụ thuộc tỷ lệ thuận với tỷ lệ Miglyol trong công thức. Tỷ lệ cao khô GCL có ảnh hưởng đa chiều đến KTG của nano nhũ tương.

Mặt đáp Hình 4 và 5 cho thấy tỷ lệ nano nhũ hoá tăng khi tăng tỷ lệ Miglyol và tỷ lệ cao GCL. Tăng tỷ lệ ethanol:glycerin 1:1 (CDDH), tỷ lệ nano nhũ hoá gần như không thay đổi.

Tối ưu hoá công thức bào chế SNEDDS cao khô GCL bằng phần mềm INForm v3.1 cho kết quả sau:

Bảng 5. Bảng ANOVA cho các biến đầu ra

KTG				
Nguồn biến thiên	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	F – value
Mô hình	22136,5	13	1702,81	8,86442
Phần dư	192,095	1	192,095	
Tổng cộng	22079	14		
R ² train	99,13			
R ² test	89,3395			
PDI				
Nguồn biến thiên	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	F – value
Mô hình	0,0800402	13	0,00615694	1,10803
Phần dư	0,00555665	1	0,00555665	
Tổng cộng	0,0851116	14		
R ² train	93,4713			
R ² test	96,5907			
Tỷ lệ nano nhũ hoá				
Nguồn biến thiên	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	F – value
Mô hình	56,6636	13	4,35874	1,11721
Phần dư	3,90146	1	3,90146	
Tổng cộng	60,5035	14		
R ² train	93,5517			
R ² test	99,6125			

Phân tích ANOVA cho thấy R² train và R² test đều lớn hơn 80 nên mô hình mạng neuron nhân tạo mà phần mềm INForm sử dụng là phù hợp, phản ánh đúng mối quan hệ của các biến

đầu vào và biến đầu ra. Do đó, công thức tối ưu mà phần mềm INForm v.3.1 dự đoán là đáng tin cậy. Công thức tối ưu như sau:

Bảng 6. Công thức SNEDDS cao GCL tối ưu và đặc tính nano nhũ tương tạo thành được dự đoán

Thành phần	Tỷ lệ	Đặc tính nano nhũ tương
Cao khô GCL	0,02	KTG: 13,12 nm PDI: 0,25 Tỷ lệ nano nhũ hóa: 95,1 %
Miglyol	0,45	
Cremophor RH 40	0,25	
Ethanol:glycerin 1:1	0,37	

Bảng 7. Đặc tính của nano nhũ tương tạo thành từ SNEDDS cao khô GCL bào chế theo công thức tối ưu

Đặc tính	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Yêu cầu	Đánh giá
KTG (nm)	11,59	11,45	11,60	≤ 200	Đạt
PDI	0,249	0,245	0,258	$\leq 0,3$	Đạt
Tỷ lệ saponin được nano nhũ hoá (%)	94,51	94,30	94,14	≥ 90	Đạt
Độ ổn định sau ly tâm	Hệ đồng nhất, không tách lớp	Hệ đồng nhất, không tách lớp	Hệ đồng nhất, không tách lớp	Hệ đồng nhất, không tách lớp	Đạt

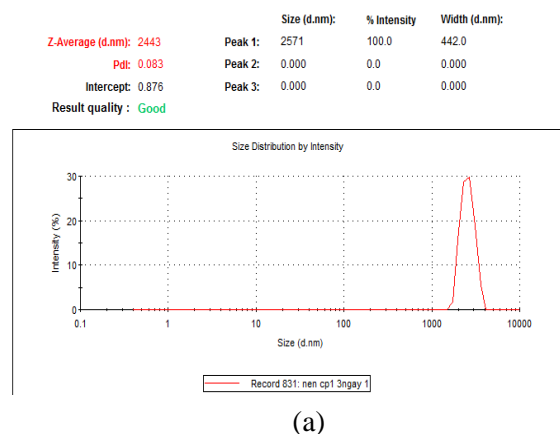
Kết quả đánh giá cho thấy: mẫu SNEDDS bào chế theo công thức tối ưu có khả năng tự nhũ hóa hình thành nano nhũ tương có KTG < 20 nm, phân bố kích thước giọt đồng đều với PDI < 0,3, ổn định không tách pha khi ly tâm 5000 vòng/phút trong 30 phút, có tỷ lệ hoạt chất được nano nhũ hoá trên 90%.

3.3. Bước đầu ứng dụng hệ SNEDDS cao khô Giáo cổ lam trong mỹ phẩm chăm sóc da

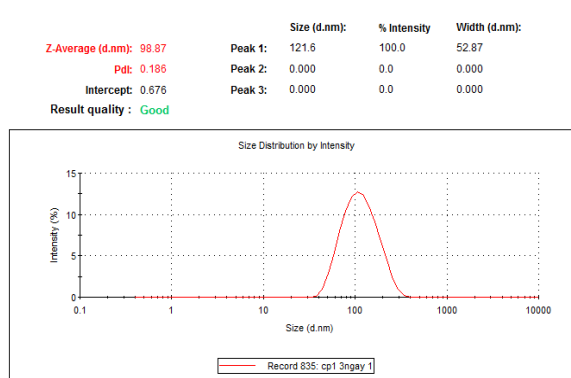
Qua khảo sát sơ bộ, nghiên cứu đã xây dựng được công thức tá dược nền emulgel và tiến hành phối hợp SNEDDS cao khô GCL với emulgel với tỷ lệ 1:1 theo khối lượng (công thức mỹ phẩm chăm sóc da thể hiện trong phân phương pháp nghiên cứu).

Để chế phẩm ổn định trong 03 ngày, tiến hành đánh giá KTG và phân bố kích thước giọt của tá dược emulgel và mỹ phẩm chăm sóc da được thể hiện trong các Hình 6.

Khi chưa kết hợp với SNEDDS, tá dược nền emulgel có KTG khá lớn, trung bình khoảng 2443 nm, phân bố kích thước đồng đều với PDI = 0,083. Sau khi kết hợp với SNEDDS cao GCL, KTG trung bình của chế phẩm khoảng 122 nm và phân bố đồng đều với PDI = 0,186, chế phẩm có thể chất mềm, đồng nhất và mịn màng. KTG của emulgel SNEDDS GCL giảm xuống cỡ nano là nhờ đặc tính tự nhũ hóa của SNEDDS trong quá trình khuấy trộn kết hợp vào emulgel. Kết quả nghiên cứu bước đầu cho thấy tính khả thi và triển vọng để tiếp tục nghiên cứu sâu hơn về độ ổn định và hiệu quả tác dụng chăm sóc da để có thể ứng dụng vào thực tiễn.



(a)



(b)

Hình 6. KTG và PDI của nền tá dược emulgel (a) và mỹ phẩm chăm sóc da (b) sau bào chế 3 ngày.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã lựa chọn tá dược, xây dựng giản đồ pha xác định vùng hình thành nano nhũ

tương và trên cơ sở đó thiết kế thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của các thành phần trong công thức đến đặc tính của nano nhũ tương tạo thành sau khi tự nhũ hóa SNEDDS GCL. Đã lựa chọn

được công thức SNEDDS GCL tối ưu có khả năng tự nhũ hóa tạo thành nano nhũ tương có KTG < 20 nm với PDI < 0,3. Tỷ lệ nano nhũ hóa > 90 %.

Đã bước đầu ứng dụng hệ nano tự nhũ hoá chứa cao GCL vào chế phẩm mỹ phẩm emulgel chăm sóc da. Mỹ phẩm bào chế có KTG cỡ nano (<200 nm) và phân bố kích thước giọt đồng đều, có triển vọng ứng dụng vào thực tế khi tiếp tục nghiên cứu sâu hơn.

Tài liệu tham khảo

- [1] C. M. N. Haziqah, W. R. Abdul, M. A. Hamid, An Overview of Nanoemulsion: Concepts of Development and Cosmeceutical Applications, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, Vol. 33, No. 1, 2019, pp. 779-797, <https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1620124>.
- [2] Y. C. Cheng, T. S. Li, H. L. Su, P. C. Lee, H. M. D. Wang, Transdermal Delivery Systems of Natural Products Applied to Skin Therapy and Care, *Molecules*, Vol. 25, No. 21, 2020, pp. 1-21, <https://doi.org/10.3390/molecules25215051>.
- [3] L. Montenegro, Nanocarriers for Skin Delivery of Cosmetic Antioxidants, *J Pharm Pharmacogn Res*, Vol. 2, No. 4, 2014, pp. 73-92.
- [4] B. H. Yoo, B. Y. Kang, M. H. Yeom, D. S. Sung, S. H. Han, H. K. Kim, H. K. Ju, Nanoemulsion Comprising Metabolites of Ginseng Saponin as an Active Component and a Method for Preparing the Same, and a Skin-care Composition for Anti-aging Containing the Same, US8263565B2, Amorepacific Corporation: Seoul (KR), 2012, pp. 1-16.
- [5] B. Shao, J. Tang, H. Ji, H. Liu, Y. Liu, D. Zhu, L. Wu, Enhanced Oral Bioavailability of Wurenchun (Fructus Schisandrae Chinensis Extracts) by Self-emulsifying Drug Delivery Systems, *Drug Dev Ind Pharm*, Vol. 36, No. 11, 2010, pp. 1356-63, <https://doi.org/10.3109/03639045.2010.480975>.
- [6] V. T. T. Giang, P. T. Nghia, N. T. Huyen, N. C. Hung, T. T. H. Yen, P. B. Tung, N. T. Linh, N. D. Hoa, Application of the Artificial Neural Network to Optimize the Formulation of Self-nanoemulsifying Drug Delivery System Containing Rosuvastatin, *J Appl Pharm Sci*, Vol. 10, No. 9, 2020, pp. 1-11, <https://doi.org/10.7324/JAPS.2020.10901>.
- [7] N. T. K. Anh, P. T. Anh, N. T. Huong, P. T. Suoi, N. T. T. Ha, T. Q. Luc, Quantification of Total Saponins in *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) using Gypenoside XVII as a Reference Substance, *Journal of Pharmaceutical Research and Drug Information*, Vol. 7, No. 2, 2016, pp. 7-11 (in Vietnamese).