

XÂY DỰNG TIÊU CHUẨN CƠ SỞ CỦA “CỒN MỘC MIẾT TỬ”

Nguyễn Thu Quỳnh*, Nguyễn Duy Thu, Bùi Thị Luyến,
Nguyễn Thị Lan Hương, Nguyễn Thị Mỹ Ninh
Trường Đại học Y Dược – ĐH Thái Nguyên

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu này tiến hành nhằm xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của “cồn mộc miết tử”. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** “Cồn mộc miết tử” do Khoa Dược- Trường Đại học y dược- Đại học Thái Nguyên sản xuất. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của chế phẩm theo tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam IV. **Kết quả:** Chế phẩm là dung dịch màu vàng, mùi đặc trưng, đạt yêu cầu về độ đồng đều thể tích, định tính mộc miết tử (phương pháp sắc ký lớp mỏng hoặc phản ứng tạo bọt), tỷ trọng dung dịch $0,89 \pm 0,019$; cân khô $8,12 \pm 0,68$ (g/L); hàm lượng ethanol $68,2 \pm 1,48$ (%); hàm lượng saponin tổng $11,25 \pm 1,39$ (mg/mL). **Kết luận:** Đã xây dựng được tiêu chuẩn cơ sở của “cồn mộc miết tử” bao gồm các chỉ tiêu: hình thức cảm quan, độ đồng đều thể tích, định tính, hàm lượng saponin tổng, tỷ trọng, hàm lượng ethanol, cân khô.

Từ khóa: *Cồn mộc miết tử, tiêu chuẩn cơ sở, hàm lượng ethanol, saponin tổng, định tính.*

Ngày nhận bài: 06/8/2019; Ngày hoàn thiện: 16/9/2019; Ngày đăng: 04/10/2019

STUDY OF STANDARDIZATION OF “CON MOC MIET TU”

Nguyen Thu Quynh*, Nguyen Duy Thu, Bui Thi Luyen,
Nguyen Thi Lan Huong, Nguyen Thi My Ninh
University of Medicine and Pharmacy - TNU

ABSTRACT

Objectives: To establish institutional standard of “Con moc miet tu”. **Subjects and method:** “Con moc miet tu” produced by Pharmaceutical Department, the University of Medicine and Pharmacy- Thai Nguyen university. Establishing the institutional standard for “Con moc miet tu” under the regulations of Vietnamese Pharmacopoeia IV. **Results:** The composition has the yellow solution, characteristic odor, met the standards of volume uniformity, qualitative of *Momordica cochinchinensis* seeds (TLC or foamy reaction), density 0.89 ± 0.019 (g/mL); the dry biting 8.12 ± 0.68 (g/L); ethanol content 68.2 ± 1.48 (%); total saponin content 11.25 ± 1.39 (mg/mL). **Conclusion:** Institutional standard of “Con moc miet tu” has been established including appearance, volume uniformity, quantitative of total saponin, qualitative, density, ethanol content and dry bite.

Key word: *Con moc miet tu, Institutional standard, ethanol content, total saponin, qualitative*

Received: 06/8/2019; Revised: 16/9/2019; Published: 04/10/2019

* Corresponding author. Email: quynhhdytn@gmail.com

1. Giới thiệu

Cồn mộc miết tử là một sản phẩm có nguồn gốc bài thuốc dân gian được sử dụng nhằm làm giảm đau, chống viêm trong các trường hợp bị sưng đau do chấn thương hoặc các trường hợp viêm khớp mạn tính và cấp tính. Sản phẩm đã được tiến hành thử tác dụng giảm đau, chống viêm trên động vật thí nghiệm và cho kết quả khá tốt. Xuất phát từ nhu cầu điều trị và tận dụng nguồn nguyên liệu sẵn có của địa phương chúng tôi tiến hành đề tài nghiên cứu nhằm bào chế sản phẩm “cồn mộc miết tử” với mong muốn cung cấp sản phẩm nguồn gốc thiên nhiên an toàn, lành tính đáp ứng yêu cầu trị bệnh của người dân. Sản phẩm sẽ góp phần chăm sóc sức khỏe cộng đồng bằng giải pháp đơn giản, tiết kiệm, phát triển kinh tế địa phương đồng thời giúp bảo tồn và phát huy giá trị cây thuốc Việt.

Do vậy, để đánh giá chất lượng, góp phần nâng cao độ ổn định và hiệu quả điều trị của sản phẩm, chúng tôi tiến hành nghiên cứu các phương pháp kiểm nghiệm để xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của cồn mộc miết tử.

2. Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên vật liệu, hóa chất và thiết bị

Sản phẩm cồn mộc miết tử do Khoa dược- Trường Đại học y dược- Đại học Thái Nguyên sản xuất gồm các thành phần mộc miết tử và ethanol.

Hóa chất nghiên cứu đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích. Thiết bị sử dụng trong nghiên cứu gồm cân phân tích (độ chính xác 0,0001 g) và cân kỹ thuật (độ chính xác 0,01 g) Satorrius, máy siêu âm LC 60H (Mỹ), tủ sấy tĩnh Memmert (Đức), máy cắt quay chân không Etrolab (Đức) và các dụng cụ thí nghiệm khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tiến hành khảo sát các chỉ tiêu chất lượng của cồn thuốc mộc miết tử theo tiêu chuẩn chất lượng cồn thuốc của Dược Điển Việt Nam IV [1], và tham khảo tài liệu số [2], [3], [4] bao gồm:

* Tính chất: Kiểm tra bằng cảm quan.

* Độ trong và độ đồng nhất: Kiểm tra bằng cảm quan.

* Độ đồng đều thể tích: Thử theo phụ lục 11.1 của Dược điển Việt nam IV, cụ thể: Lấy ngẫu nhiên 5 đơn vị chế phẩm. Xác định thể tích từng đơn vị bằng bơm tiêm chuẩn hoặc ống đong chuẩn sạch, khô, có độ chính xác phù hợp. Thể tích mỗi đơn vị phải nằm trong khoảng từ thể tích ghi trên nhãn đến giới hạn cho phép. Nếu có một đơn vị không đạt phải tiến hành kiểm tra lần thứ hai giống như lần đầu. Chế phẩm đạt yêu cầu nếu trong lần thử này không có đơn vị nào có thể tích nằm ngoài giới hạn cho phép.

* Định tính: Bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng hoặc phản ứng tạo bọt:

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng: Bản mỏng: Silica gel 60 F254 (Merck). Dung môi khai triển là cyclohexan: ethyl acetat (4 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 10 mL chế phẩm cho vào cốc có mỏ 100 mL, cô đến cạn. Hòa tan cặn bằng 10 mL nước rồi chuyển vào bình chiết, chiết với 20 mL ether dầu hỏa (30 - 60⁰), để lắng, chiết lấy dịch ether dầu hỏa. Cô dịch chiết đến cạn còn khoảng 1 mL, dùng làm dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Cân khoảng 3,0 g bột thô hạt gấc vào cốc có mỏ 100 mL, thêm 20 mL ethanol 70%, lắc siêu âm 15 phút, lọc, cô dịch lọc đến cạn. Hòa tan cặn bằng 10 mL nước, rồi chuyển vào bình chiết, lắc với 20 mL ether dầu hỏa (30 - 60⁰), để lắng, chiết lấy dịch ether dầu hỏa. Cô dịch chiết đến cạn còn khoảng 1 mL, dùng làm dung dịch chấm sắc ký.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 20 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 - 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, soi đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Yêu cầu: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải xuất hiện vết phát quang có cùng màu

sắc và giá trị Rf với vết trên sắc kí đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Phản ứng tạo bọt: Lấy khối lượng bột thuốc tương đương với 1 g bột dược liệu thô, thêm 10 mL ethanol 70% đun trên cách thủy 30 phút, lọc. Lấy 2 mL dịch lọc trên cô trên cách thủy tới gần sền sệt. Thêm vào cồn 20 mL nước nóng khuấy đều để nguội, lọc. Lấy 10 mL dịch lọc cho vào ống nghiệm, lắc mạnh theo chiều dọc của ống nghiệm 15 phút. Để yên 15 phút thấy có cọt bọt bền 5 phút.

* Tỷ trọng: Thử theo phụ lục 6.5 của Dược điển Việt nam IV, phương pháp dùng tỷ trọng kế: Lau sạch tỷ trọng kế bằng ethanol hoặc ether. Dùng đĩa thủy tinh trộn đều chất lỏng cần xác định tỷ trọng. Đặt nhẹ nhàng tỷ trọng kế vào chất lỏng đó sao cho tỷ trọng kế không chạm vào thành và đáy của dụng cụ đựng chất thử. Chính nhiệt độ tới 20°C và khi tỷ trọng kế ổn định, đọc kết quả theo vòng khum dưới của mức chất lỏng. Đối với chất lỏng không trong suốt, đọc theo vòng khum trên.

* Hàm lượng ethanol: Thử theo phụ lục 12.10 của Dược điển Việt nam IV, phương pháp 3: Hút chính xác 25 mL chế phẩm vào bình chiết 250 mL, lắc với 25 mL dung dịch bão hòa NaCl và 25 mL ether dầu hòa trong 5 phút, chiết lấy lớp nước- ethanol vào bình chiết khác. Thêm 13 mL ether dầu hòa, chiết lớp nước- ethanol. Gộp lớp ether dầu hòa ở 2 lần chiết trên, thêm 25 mL dung dịch bão hòa NaCl, chiết lớp nước – ethanol. Gộp toàn bộ lớp nước- ethanol ở hai lần chiết trên vào bình cất, thêm đá bọt lắc đều.

* Hàm lượng saponin tổng: Tiến hành theo phương pháp quang phổ UV-Vis [2], [3], [4]. Dung dịch thử: Hút 5 mL mẫu thử, cô quay chân không thu được 1- 2 mL dịch chiết, thêm 5 mL nước cất, chuyển toàn bộ dịch chiết vào bình gạn. Chiết 3 lần với n-butanol đã bão hòa nước, mỗi lần 10 mL. Thu dịch chiết n-butanol, cô quay chân không thu hồi dung môi tới gần, thêm 0,4 mL dung dịch vanilin 5% trong acid acetic băng và 2,4 mL

acid pecloric 70%, đun cách thủy ở 80°C trong vòng 20 phút. Làm lạnh trong nước đá. Chuyển dung dịch vào bình định mức 10 mL, thêm ethyl acetat vừa đủ, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Pha chuẩn Gypenoside XVII trong metanol để thu được dung dịch có nồng độ 0,1 mg/mL. Hút 2 mL dung dịch trên cô quay đến gần, thêm 0,4 mL dung dịch vanilin 5% trong acid acetic băng và 2,4 mL acid pecloric 70%, đun cách thủy ở 80°C trong vòng 20 phút. Làm lạnh trong nước đá. Chuyển dung dịch vào bình định mức 10 mL, thêm ethyl acetat vừa đủ, lắc đều.

Mẫu trắng: Cô quay 5 mL metanol tới gần, thêm 30 mL n-butanol, cô quay tới gần, thêm 0,4 mL dung dịch vanilin 5% trong acid acetic băng và 2,4 mL acid pecloric 70%, đun cách thủy ở 80°C trong vòng 20 phút. Làm lạnh trong nước đá. Chuyển dung dịch vào bình định mức 10 mL, thêm ethyl acetat vừa đủ, lắc đều.

Quét phổ dung dịch thử và dung dịch chuẩn trong dải sóng từ 400 – 700 nm, đo độ hấp thụ tại bước sóng cực đại. Tính toán kết quả theo công thức sau:

$$C_{\text{mg/mL}} = \frac{D_c \times m_c \times C\% \times 1000 \times 2}{D_t \times 100 \times F_c \times 5}$$

Trong đó: m_c : Lượng cân chuẩn tính bằng g

F_c : Hệ số pha loãng của chuẩn tính đến nồng độ 0,1mg/mL

D_c : Mật độ quang của dung dịch chuẩn.

D_t : Mật độ quang của dung dịch thử.

$C(\%)$: Hàm lượng chất chuẩn.

* Cẩn sau bay hơi: Thử theo chuyên luận cồn thuốc của Dược điển Việt nam IV. Lấy chính xác 5,0 mL cồn thuốc cho vào cốc có đường kính 5 cm đến 7 cm và cao 2 cm đến 3 cm đã cân bì trước (m_1), làm bay hơi đến khô trên cách thủy và sấy khô ở 100°C trong 3 giờ, để nguội trong bình hút ẩm và cân (m_2). Tính % khối lượng hay số gam cồn trong 1 lít chế phẩm. Số gam cồn trong 1 lít chế phẩm: $m = (m_2 - m_1) \times 200$ (g)

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Kết quả đánh giá về tính chất, độ trong và độ đồng nhất

Theo dõi về tính chất cho thấy, chế phẩm là dung dịch trong suốt, màu vàng nâu, mùi đặc trưng, không có vật thể lạ khi quan sát bằng mắt thường.

3.2. Kết quả đánh giá tỷ trọng

Xác định tỷ trọng của cồn mộc miết tử theo phương pháp dùng tỷ trọng kế. Kết quả được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả khảo sát tỷ trọng của cồn mộc miết tử

STT	Kết quả tỷ trọng (g/cm ³)	TB±SD (g/cm ³)
1	0,89	
2	0,92	
3	0,87	0,89 ± 0,019
4	0,89	
5	0,88	

Tỷ trọng các mẫu khảo sát trung bình $0,89 \pm 0,019$ (g/cm³).

3.3. Tỷ lệ cần khô

Đánh giá lượng cần sau khi bay hơi thu được kết quả trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Kết quả khảo sát lượng cần khô của cồn mộc miết tử

STT	Khối lượng cần (g/L)	TB± SD (g/L)
1	7,31	
2	7,47	8,12 ± 0,68
3	8,56	
4	8,47	
5	8,8	

Nhận xét: Khối lượng cần khô trung bình 8,12 g/L với SD nhỏ.

3.4. Hàm lượng ethanol

Hàm lượng ethanol trong cồn mộc miết tử được đánh giá theo phương pháp 3 (phụ lục 10.12). Kết quả được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Kết quả khảo sát hàm lượng ethanol của cồn mộc miết tử

STT	Kết quả hàm lượng ethanol (%)	TB ± SD (%)
1	68	
2	66	
3	70	68,2 ± 1,48
4	69	
5	68	

Tất cả các mẫu khảo sát đều có hàm lượng ethanol nằm trong khoảng 66- 70 (%).

3.5. Hàm lượng saponin tổng

Xác định hàm lượng saponin trong cồn mộc miết tử theo phương pháp quang phổ UV-Vis. Kết quả thu được hàm lượng saponin tổng trung bình là 11,25 mg/mL.

Bảng 4. Kết quả khảo sát hàm lượng saponin tổng trong cồn mộc miết tử

STT	Hàm lượng saponin tổng (mg/mL)	TB ± SD (mg/mL)
1	10,33	
2	11,56	11,25 ± 1,39
3	13,42	
4	11,18	
5	9,78	

3.6. Định tính

Kết quả định tính cồn mộc miết tử trong cồn mộc miết tử được trình bày trong hình 1.



Hình 1. Hình ảnh định tính cồn mộc miết tử

3.7. Độ đồng đều thể tích

Tất cả các mẫu khảo sát đều cho giới hạn thể tích nằm trong khoảng 0-8,5% so thể tích ghi trên nhãn.

Từ kết quả nghiên cứu, chúng tôi xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của cồn mộc miết tử gồm các chỉ tiêu như sau:

Tính chất: Chế phẩm là dung dịch trong suốt, có màu vàng, mùi đặc trưng, không có vật thể lạ khi quan sát bằng mắt thường.

Độ đồng đều thể tích: được phép sai số +10,0% so thể tích ghi trên nhãn.

Tỷ trọng: Tỷ trọng chế phẩm nằm trong khoảng 0,87-0,98 (g/cm³).

Hàm lượng ethanol: Phải nằm trong khoảng 65,0-75,0%.

Định tính: Chế phẩm có phản ứng đặc trưng của mộc miết tử.

Cẩn khô: Không quá 10 g/L.

Hàm lượng saponin tổng: không nhỏ hơn 8 mg/mL.

Bản tiêu chuẩn cơ sở đã được Trung tâm Kiểm nghiệm Dược phẩm, mỹ phẩm, thực phẩm chức năng tỉnh Bắc Kạn thẩm định. Tiến hành kiểm nghiệm mẫu “còn mộc miết tử” theo tiêu chuẩn cơ sở đã đề xuất. Kết quả các mẫu đều đạt chỉ tiêu chất lượng theo bản tiêu chuẩn cơ sở (phiếu kiểm nghiệm số: 2019GT-087 ngày 14-05-2019).

4. Kết luận

Đã xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của còn mộc miết tử với các chỉ tiêu về tính chất, tỷ trọng, độ đồng đều thể tích, hàm lượng ethanol, định tính, cẩn khô, hàm lượng saponin tổng. Tiêu

chuẩn cơ sở này dùng để kiểm nghiệm chất lượng sản phẩm còn mộc miết tử do Khoa Dược- Đại học Y Dược- Đại học Thái Nguyên sản xuất và lưu hành.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Bộ Y tế, *Dược Điển Việt Nam IV*, Nhà xuất bản Y học, 2009.
- [2]. Nguyễn Thu Quỳnh, Nguyễn Thị Lan Anh, Bùi Thị Luyến, Nguyễn Duy Thư, “Xây dựng phương pháp định lượng saponin trong dịch chiết nhân hạt gạo bằng quang phổ UV-Vis”, *Tạp chí Khoa học Công nghệ - Đại học Thái Nguyên*, T. 188, S. 12/1, tr. 39-45, 2018.
- [3]. Han Benyong, Chen Ying, Ren Ying, “Content determination of total saponins from *Opuntia*”, *Bio Technology An Indian Journal*, Vol. 10, No. 18, pp.10400-10404, 2014.
- [4]. Yoko Uematsu, Keiko Hirata, Kazuo Saito, “Spectrophotometric Determination of Saponin in *Yucca* Extract Used as Food Additive”, *Journal Of Aoac International*, Vol. 83, No. 6, pp.1451-1454, 2000.

