

## NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ CÔM TAN ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO

Nguyễn Thu Quỳnh\*, Nguyễn Thị Hồng Thúy, Nguyễn Thị Huyền

*Trường Đại học Y Dược – ĐH Thái Nguyên*

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm mục đích xây dựng công thức bào chế và tiêu chuẩn cơ sở của côm tan đông trùng hạ thảo. Đông trùng hạ thảo được chiết bằng phương pháp ngâm nóng, dung môi nước, nhiệt độ chiết 65°C, thời gian chiết 4 giờ, cho hiệu suất chiết cao và khả thi khi áp dụng quy mô pilot. Bào chế thành công côm tan đông trùng hạ thảo có tỷ lệ cao lỏng đông trùng và tá dược 1: 9; tá dược là lactose: glucose với tỷ lệ 6: 4. Côm tan có màu vàng, khô toi, vị ngọt thanh, độ đồng đều khối lượng đều nằm trong khoảng  $\pm 7,5\%$  so khối lượng trung bình gói, độ rã nhỏ hơn 5 phút, hàm ẩm nhỏ hơn 5%, hàm lượng cordycepin  $102,4 \pm 0,09\%$ .

**Từ khóa:** Đông trùng hạ thảo; cordycepin; ngâm nóng; côm; tá dược độn

*Ngày nhận bài: 26/9/2019; Ngày hoàn thiện: 21/12/2019; Ngày đăng: 10/01/2020*

## STUDY ON PREPARATION OF GRANULATED MEDICINE CONTAINER OF CORDYCEPS MILITARIS

Nguyen Thu Quynh\*, Nguyen Thi Hong Thuy, Nguyen Thi Huyen

*TNU - University of Medicine and Pharmacy*

### ABSTRACT

The study was performed to form the dosage formula and basic standards of Cordyceps militaris dissolved granulated medicine. Cordyceps *militaris* are extracted by hot soaking, aqueous solvent, extracted temperature at 65°C, extracted time about 4 hours, it gave high extracted efficiency and feasible when it was applied on the pilot scale. Successfully fabricated cordyceps militaris granulated formula, which have high ratio of liquid glue and padded adjuvants was 1: 9, excipients are lactose: glucose (6: 4). The composition of granulated medicine was yellow, dry, sweet, equitable mass within  $\pm 7.5\%$  of the average mass of the packages, less than five-minute decomposition, less than 5% moisture content and  $102.4 \pm 0.09\%$  cordycepin content.

**Key word:** *Cordyceps militaris; cordycepin; hot soaking; granulated medicine ; padded adjuvants*

*Received: 26/9/2019; Revised: 21/12/2019; Published: 10/01/2020*

\* Corresponding author. Email: quynhhdytm@gmail.com

## 1. Đặt vấn đề

Đông trùng hạ thảo là một loại thảo dược thiên nhiên quý hiếm được sử dụng từ lâu trong Y học cổ truyền. Vị thuốc “thần dược y học” này là sự kết hợp của sêu non và loại nấm Cordyceps. Cả Đông y và Tây y đã có nhiều nghiên cứu, chứng minh cho thấy đông trùng hạ thảo có tác dụng cân bằng âm dương, bồi bổ sức khỏe và hỗ trợ chữa bệnh rất hiệu quả. Tuy nhiên, chúng được dùng chủ yếu dạng nguyên liệu thô. Dạng dùng này có nhược điểm là có mùi tanh và thường phải chế biến trước khi dùng. Xuất phát từ thực tiễn trên “Nghiên cứu bào chế cốm tan đông trùng hạ thảo” được tiến hành với mục tiêu: Lựa chọn quy trình chiết xuất đông trùng hạ thảo tối ưu. Bào chế được cốm tan từ cao lỏng đông trùng hạ thảo và xây dựng được tiêu chuẩn cơ sở của chế phẩm.

## 2. Nguyên vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Nguyên vật liệu và thiết bị

Nguyên liệu quả thể đông trùng hạ thảo khô. Chất chuẩn cordycepin của Trung Quốc (99,8%). Lactose, glucose, mannitol đạt tiêu chuẩn USP 30 (Trung Quốc), Methanol (HPLC) của Merck, ethanol 96%, nước cất của Việt Nam đạt tiêu chuẩn ĐDVN V.

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), máy HPLC RP10- L2000 của Hitachivà các dụng cụ thí nghiệm khác.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phương pháp chiết xuất [2,3]

Cân khoảng 100g bột dược liệu cho vào bình chiết, thấm ẩm dược liệu trong khoảng 2 giờ. Thêm 2000 ml dung môi nước 65°C hoặc ethanol 50%, chiết xuất bằng phương pháp ngâm dưới sự hỗ trợ của sóng siêu âm trong 1 giờ hoặc phương pháp ngâm nóng trong 4 giờ, chiết 2 lần. Lấy dịch chiết.

Tạo cao lỏng: cô dịch chiết bằng phương pháp cô quay chân không đến tỷ lệ dược liệu: dung môi là 1:1.

#### 2.2.2. Phương pháp tạo cốm tan [2]

Bào chế cốm tan bằng phương pháp xát hạt qua rây: Trộn các tá dược độn (lactose, glucose, mannitol) theo nguyên tắc đồng lượng. Thêm cao lỏng đông trùng tạo khối ẩm, nhào ẩm khối bột đồng đều (đánh giá bằng cảm quan), xát hạt qua rây 1 mm. Sấy hạt ở nhiệt độ 45°C trong khoảng 24 giờ đến độ ẩm khoảng 5%. Đánh giá khối lượng riêng biểu kiến và độ trơn chảy của hạt cốm. Thêm tá dược điều hòa độ chảy (magnesi stearat) nếu cần. Đóng gói cốm 3 g.

#### 2.2.3. Phương pháp đánh giá chất lượng [1]

Hình thức: Cảm quan (cốm khô, đồng đều về kích thước hạt, không có hiện tượng hút ẩm, không bị mềm và biến màu).

Độ đồng đều khối lượng: Tiến hành theo phụ lục 11.3 chuyên luận của ĐDVN V.

Độ rã: Cho một lượng cốm đóng gói trong một đơn vị phân liều vào cốc chứa 200 ml nước ở 15 - 25°C, phải có nhiều bọt khí bay ra. Cốm được coi là rã hết nếu hoà tan hoặc phân tán hết trong nước. Thử với 6 liều, chế phẩm đạt yêu cầu phép thử nếu mỗi liều rã trong vòng 5 phút, trừ khi có các chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

Định lượng: Xác định hàm lượng cordycepin bằng phương pháp HPLC. Cột RP C18 (4.6 x 250 mm, kích thước hạt 5 µm). Nhiệt độ cột duy trì ở 25°C. Pha động gồm nước - methanol với tỷ lệ 83:17(v/v). Tốc độ dòng 1 ml/phút. Detector UV-Vis, bước sóng 254 nm. Thể tích tiêm 10 µL [4,5].

- Chuẩn bị mẫu định lượng: Cân khoảng 1g nguyên liệu đông trùng hạ thảo, thêm 20 ml dung môi nước 65°C hoặc ethanol 50%, chiết xuất bằng phương pháp ngâm dưới sự hỗ trợ của sóng siêu âm trong 15 phút hoặc phương pháp ngâm nóng trong 1 giờ, thu lấy dịch chiết. Ly tâm 6000 vòng/phút. Lấy dịch nổi, lọc qua màng lọc 0,45 µm, đem định lượng.

Độ ẩm: Phương pháp mất khối lượng do làm khô của chuyên luận thuốc cỏm theo Dược điển Việt Nam V.

Đánh giá đặc tính của hạt: Khối lượng riêng biểu kiến được đánh giá bằng phương pháp gõ đến thể tích không đổi [2]. Khối lượng riêng thô  $d_t$  và khối lượng riêng biểu kiến được tính theo công thức:

$$d_t = \frac{m}{V_t} \quad d_{bk} = \frac{m}{V_{bk}}$$

Chỉ số Carr (C) được tính theo công thức:

$$C = \frac{(d_{bk} - d_t)}{d_{bk}} \times 100$$

Chỉ số C biểu thị khả năng trơn chảy của bột và hạt. C càng lớn, độ trơn chảy của bột (hạt) càng kém:

$C \leq 15$  Trơn chảy tốt

C trong khoảng từ 16 – 20 Trơn chảy tương đối tốt

C trong khoảng từ 21 – 25 Có thể trơn chảy

$C \geq 26$  Trơn chảy kém

### 3. Kết quả nghiên cứu

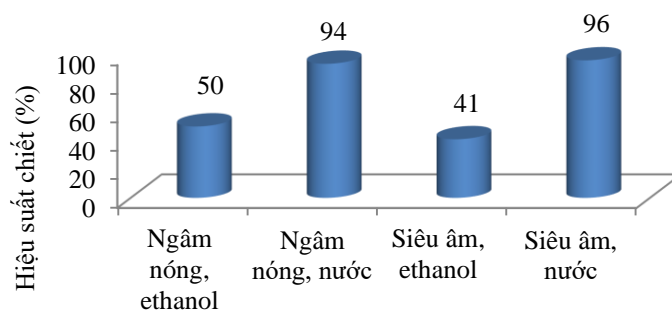
#### 3.1. Khảo sát điều kiện chiết xuất

Nguyên liệu đông trùng hạ thảo trước khi tiến hành thực nghiệm được định lượng hàm lượng cordycepin theo phương pháp trình bày mục 2, thu được kết quả hàm lượng cordycepin đạt  $4,45 \pm 0,09$  mg/g. Nguyên liệu được nghiền, rây để thu được kích thước bột nguyên liệu 0,5- 0,8 mm. Sau đó tiến hành chiết xuất theo phương pháp ngâm nóng hoặc siêu âm được trình bày mục 2. Khảo sát một số thông số của điều kiện chiết đến hàm lượng cordycepin, kết quả trình bày trong hình 1.

Nhận xét hình 1: Về dung môi, khi chiết đông trùng hạ thảo bằng nước cho hiệu suất chiết cordycepin cao hơn dung môi ethanol 50%. Về phương pháp chiết, ngâm nóng có kết hợp sóng siêu âm cho hiệu suất chiết cordycepin cao hơn phương pháp ngâm nóng. Tuy nhiên phương pháp này khó khả thi ở quy mô pilot. Do vậy, nghiên cứu sử dụng phương pháp ngâm nóng, dung môi nước, nhiệt độ chiết  $65^\circ\text{C}$  để chiết xuất đông trùng hạ thảo. Dịch chiết được tiến hành cô đặc trên thiết bị cô quay chân không để thu được cao lỏng đông trùng hạ thảo (tỷ lệ đông trùng hạ thảo: dung môi là 1:1). Cao lỏng được sử dụng trong bào chế cỏm tan đông trùng hạ thảo.

#### 3.2. Khảo sát tỷ lệ cao lỏng đông trùng hạ thảo và tá dược độn

Do cao lỏng đông trùng có thể chất dính nên được sử dụng làm tá dược dính. Khảo sát các mẫu có tỷ lệ cao lỏng và tá dược độn thay đổi 1: 1; 1: 3; 1: 5; 1: 7; 1: 9; 1: 12. Tiến hành bào chế cỏm tan theo phương pháp như trình bày mục 2. Kết quả cho thấy, ở các tỷ lệ cao lỏng và tá dược từ 1: 1 đến 1: 7 đều tạo khối bột nhão, dính bết và không thể tạo cỏm. Ở tỷ lệ cao lỏng và tá dược 1: 9 và 1: 12, khối ẩm dễ xát hạt tạo cỏm, hình thức cỏm tương đối đồng đều, cỏm dễ sấy khô đạt yêu cầu về hàm ẩm. Về khả năng trơn chảy, mẫu cỏm có tỷ lệ cao lỏng: tá dược 1:9 có khả năng trơn chảy tốt hơn (chỉ số Carr = 17) so với mẫu 1:12 (chỉ số Carr = 22). Do đó, tỷ lệ cao lỏng và tá dược độn là 1: 9 được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp.



Hình 1. Ảnh hưởng của điều kiện chiết đến hiệu suất chiết

### 3.3. Khảo sát ảnh hưởng của loại tá dược độn

Các tá dược độn được sử dụng trong nghiên cứu là lactose, glucose, mannitol. Các công thức khảo sát được thiết kế như trình bày trong bảng 1.

**Bảng 1.** Thành phần công thức cốm thay đổi loại tá dược độn

Thành phần	M1	M2	M3
Cao lỏng ĐT (g)	0,3	0,3	0,3
Lactose (g)	2,7		
Glucose (g)		2,7	
Mannitol (g)			2,7

Các mẫu thực nghiệm được tiến hành bào chế cốm theo phương pháp ghi mục 2. Tiến hành đánh giá chất lượng cốm tạo thành, kết quả được trình bày trong bảng 2.

**Bảng 2.** Một số chỉ tiêu chất lượng chế phẩm khi thay đổi loại tá dược độn

Chỉ tiêu	M1	M2	M3
<b>Hình thức và sự thuận tiện trong thao tác</b>	Hạt cốm chắc, đẹp, vị nhạt, dễ tạo hạt, thời gian sấy ngắn	Hạt cốm chắc, vị ngọt sắc, cứng, dễ hút ẩm, thời gian sấy kéo dài.	Hạt cốm có vị ngọt vừa, cốm xốp dễ vỡ, dễ tạo hạt và thời gian sấy cốm ngắn.
<b>Chỉ số Carr (n=3; TB ± SD)</b>	15,8 ± 1,64	22,5 ± 2,18	24,1 ± 2,45
<b>Độ rã (giây)</b>	136	161	127
<b>Hàm lượng Cordycepin (%) (n=3; TB ± SD)</b>	95,5 ± 1,07	108,7 ± 0,97	106,1 ± 1,09
<b>Độ đồng đều khối lượng</b>	Đạt	Đạt	Không đạt

Nhận xét: Các mẫu cốm sử dụng lactose và glucose tạo sản phẩm cốm chắc, đều, trơn chảy tốt. Mẫu cốm sử dụng mannitol cho hạt cốm xốp, dễ vỡ, độ trơn chảy kém. Tuy nhiên sử dụng đơn độc glucose thì sản phẩm dễ hút ẩm, và ngọt đậm, thời gian sấy kéo dài. Do vậy, nghiên cứu lựa chọn biện pháp kết hợp lactose và glucose để tạo sản phẩm có vị ngọt thanh, giảm được thời gian sấy cốm.

### 3.4. Khảo sát tỷ lệ tá dược độn

Để đánh giá ảnh hưởng của các tá dược độn, tiến hành thay đổi tỷ lệ của lactose và glucose như thiết kế trong bảng 3.

**Bảng 3.** Thành phần công thức thay đổi tỷ lệ tá dược độn

Công thức	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
Cao lỏng đồng trùng (g)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Lactose (g)	0,54	0,81	1,08	1,35	1,62	1,89	2,16
Glucose (g)	2,16	1,89	1,62	1,35	1,08	0,81	0,54

Các mẫu được bào chế theo phương pháp ghi mục 2 và đánh giá chất lượng sản phẩm. Kết quả được trình bày trong bảng 4.

Nhận xét bảng 4: Khi thay đổi tỷ lệ tá dược độn, kết quả cho thấy mùi vị và đặc tính trơn chảy của chế phẩm bị thay đổi, tuy nhiên các chỉ tiêu độ rã và hàm lượng cordycepin thay đổi không đáng kể. Ở tỷ lệ lactose: glucose là 6:4 (M8) cho chế phẩm có vị ngọt thanh, mùi thơm, các chỉ tiêu về đặc tính cốm đều đạt yêu cầu theo dược điển Việt Nam V, được lựa chọn là công thức tối ưu trong phạm vi khảo sát. Tiến hành bào chế 3 lô chế phẩm (quy mô 20,000 gói/lô) theo công thức đã lựa chọn. Tiến hành khảo sát các chỉ tiêu chất lượng của 03 lô chế phẩm, từ đó đề xuất tiêu chuẩn cơ sở cho chế phẩm. Kết quả được trình bày trong bảng 5:

**Bảng 4.** Một số chỉ tiêu chất lượng chế phẩm khi thay đổi tỷ lệ tá dược độn

Mẫu	Hình thức và sự thuận tiện trong thao tác	Chỉ số Carr (n= 3; TB ± SD)	Độ rã (giây)	Hàm lượng Cordycepin (%) (n= 3; TB ± SD)
M4	Cốm không đều, dễ hút âm, cứng chắc, vị ngọt sắc, khó sấy khô.	25,9 ± 1,16	246	94,1 ± 0,08
M5	Cốm không đều, dễ hút âm, cứng chắc, vị ngọt sắc, khó sấy khô.	26,1 ± 1,31	194	106,9 ± 1,01
M6	Cốm không đều, dễ hút âm, cứng chắc, vị ngọt sắc, khó sấy khô.	21,5 ± 2,07	208	102,9 ± 1,24
M7	Cốm đồng đều, cứng chắc, vị ngọt sắc, khó sấy khô.	21,8 ± 1,96	177	93,3 ± 0,06
M8	Cốm đồng đều, cứng chắc, vị ngọt thanh, ngon, dễ sấy khô.	16,7 ± 1,53	199	104,2 ± 0,09
M9	Cốm đồng đều, cứng chắc, vị nhạt, dễ sấy khô.	18,6 ± 2,00	215	98,9 ± 1,08
M10	Cốm đồng đều, cứng chắc, vị nhạt, dễ sấy khô.	16,4 ± 1,57	238	100,5 ± 1,64

**Bảng 5.** Bảng đề xuất một số tiêu chuẩn cơ sở của chế phẩm

Chỉ tiêu	Kết quả			Đề xuất tiêu chuẩn
	Mề 01	Mề 02	Mề 03	
<b>Tính chất Định tính</b>	Cốm có màu vàng, khô toại, mùi thơm đặc trưng của đông trùng hạ thảo, vị ngọt thanh			
<b>Độ đồng đều khối lượng (%) (n= 20)</b>	± 3,17	± 5,28	± 1,33	≤ ± 7,5% so khối lượng trung bình
<b>Độ rã (giây, n= 6, TB ± SD)</b>	217 ± 15	197 ± 32	235 ± 19	≤ 300
<b>Định lượng (%) (n=3, TB ± SD)</b>	105,2 ± 0,79	100,8 ± 1,05	99,7 ± 1,12	90 - 110
<b>Hàm ẩm (%) (n=6; TB ± SD)</b>	3,16 ± 0,19	1,57 ± 0,99	2,08 ± 0,74	< 5%

Như vậy, các mẫu bào chế đều đạt yêu cầu chất lượng đã đề ra và từ đó đề xuất được tiêu chuẩn cơ sở của chế phẩm.

#### 4. Kết luận

Cao lỏng đông trùng hạ thảo được chiết bằng phương pháp ngâm nóng, dung môi nước, nhiệt độ chiết 65°C cho hiệu suất chiết cordycepin cao, khả thi khi tiến hành chiết ở quy mô pilot. Sản phẩm cốm tan đông trùng hạ thảo với có tỷ lệ đông trùng hạ thảo: lactose: glucose là 0,3: 1,62: 1,08 cho chất lượng tốt nhất. Tiêu chuẩn cơ sở của chế phẩm với các chỉ tiêu về hình thức, độ đồng đều khối lượng, hàm lượng cordycepin, độ rã và hàm ẩm để kiểm soát quy trình sản xuất và đánh giá chất lượng.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

[1]. Ministry of Health, *Vietnam Pharmacopoeia V*. Medicine Publishing House, 2019.

- [2]. Ministry of Health, *Preparation and biopharmaceutical techniques*, Medical Publishing House, Volume I, 2006, pp. 148-149.
- [3]. H. J. Wang and M. C. Pan, "Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Cordycepin from Cordyceps militaris Using Orthogonal Experimental Design," *Molecules*, 19, pp. 20808-20820, 2014.
- [4]. T. H. T. Le and H. M. Le, "Research and develop the process of extracting adenosine and cordycepin from cordyceps cultured cordyceps (*Cordyceps militaris*)," *Journal of Pharmacy*, 492, pp. 24-48, 2017.
- [5]. L. Huang and Q. Li, "Determination and analysis of cordycepin and adenosine in the products of Cordyceps spp.," *African journal of Microbiology Research*, vol. 3(12), pp. 957-961, 2009.