

SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ TP.HCM  
TRUNG TÂM THÔNG TIN VÀ THỐNG KÊ KH & CN



## **BÁO CÁO PHÂN TÍCH XU HƯỚNG CÔNG NGHỆ**

Chuyên đề:

### **XU HƯỚNG SỬ DỤNG CÁC HỢP CHẤT TỰ NHIÊN TRONG DƯỢC, MỸ PHẨM – CÔNG NGHỆ BÀO CHẾ BỘ DƯỢC, MỸ PHẨM DÙNG CHO DA NHẠY CẢM TỪ CÂY DƯƠNG CAM CÚC**



*Biên soạn:* Trung tâm Thông tin và Thống kê Khoa học và Công nghệ

*Với sự cộng tác của:*

- TS. Trần Anh Vũ - Đại học Y Dược TP.Hồ Chí Minh
- TS. Mai Thành Chí - Viện Công nghệ Hóa học

*TP.Hồ Chí Minh, 09/2016*

## MỤC LỤC

<b>I. TÌNH HÌNH SỬ DỤNG CÁC HỢP CHẤT TỰ NHIÊN TRONG DƯỢC, MỸ PHẨM TRÊN THẾ GIỚI VÀ TẠI VIỆT NAM.....</b>	<b>1</b>
1. Trên thế giới .....	1
2. Tại Việt Nam .....	5
<b>II. PHÂN TÍCH XU HƯỚNG ỨNG DỤNG CÁC HỢP CHẤT TỰ NHIÊN TRONG DƯỢC, MỸ PHẨM TRÊN CƠ SỞ SỐ LIỆU SÁNG CHẾ QUỐC TẾ .....</b>	<b>6</b>
1. Tình hình nộp đơn đăng ký sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm theo thời gian.....	6
2. Tình hình nộp đơn đăng ký sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm ở các quốc gia.....	8
3. Tình hình nộp đơn đăng ký sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm theo bảng phân loại sáng chế quốc tế IPC .....	10
<b>III. CÔNG THỨC BỘ DƯỢC, MỸ PHẨM DƯƠNG CAM CÚC (CHAM) TẠI ĐẠI HỌC Y DƯỢC TP.HCM.....</b>	<b>15</b>
1. Sơ lược về công dụng cây dương cam cúc .....	15
2. Quá trình điều chế các sản phẩm từ Dương cam cúc.....	21
2.1 Các phương pháp chiết xuất tinh dầu.....	21
2.2 Các phương pháp điều chế cao .....	22
3. Công nghệ CO <sub>2</sub> siêu tới hạn sử dụng trong chiết xuất tinh dầu Dương cam cúc và các nguyên liệu khác.....	24
4. Công thức bộ dược, mỹ phẩm từ cao và tinh dầu Dương cam cúc (CHAM)....	29
5. Tính năng của bộ sản phẩm CHAM trong hỗ trợ và điều trị viêm da dị ứng....	30
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO .....</b>	<b>33</b>

# XU HƯỚNG SỬ DỤNG CÁC HỢP CHẤT TỰ NHIÊN TRONG DƯỢC, MỸ PHẨM – CÔNG NGHỆ BẢO CHẾ BỘ DƯỢC, MỸ PHẨM DÙNG CHO DA NHẠY CẢM TỪ CÂY DƯƠNG CAM CÚC

\*\*\*\*\*

## I. TÌNH HÌNH SỬ DỤNG CÁC HỢP CHẤT TỰ NHIÊN TRONG DƯỢC, MỸ PHẨM TRÊN THẾ GIỚI VÀ TẠI VIỆT NAM

### 1. Trên thế giới

Trong vòng hai thập kỉ gần đây, xu hướng quay lại sử dụng các sản phẩm thuốc có nguồn gốc thảo dược để phòng và trị bệnh trở nên phổ biến. Dược điển các nước khu vực châu Á như Việt Nam, Hàn Quốc, Trung Quốc, Nhật Bản đều có các chuyên luận về dược liệu. Một số chuyên luận dược liệu cũng đã được đưa vào Dược điển Mỹ, châu Âu... Theo ước tính, 70% dân số toàn cầu vẫn sử dụng thuốc từ dược liệu trong chăm sóc sức khỏe ban đầu tại cộng đồng. Vì vậy, tổ chức y tế thế giới đã nhấn mạnh việc đảm bảo chất lượng của các thuốc này phải dựa trên các kĩ thuật phân tích hiện đại, với việc sử dụng các chất chuẩn đối chiếu phù hợp.

Trên thế giới, đã phát hiện được 265.000 loài thực vật. Trong đó có 150.000 loài được phân bố ở các vùng nhiệt đới, 35.000 loài có ở các nước ASEAN. Trong số này có ít nhất 6.000 loài được dùng làm thuốc. Các loài thực vật có chứa khoảng 5 triệu hợp chất hóa học. Cho tới nay, đã có 0,5%, nghĩa là 1.300 cây được nghiên cứu một cách có hệ thống về thành phần hóa học và giá trị chữa bệnh. Thuốc từ dược liệu được sử dụng không chỉ các nước Á Đông mà còn được tiêu thụ một lượng khá lớn ở các nước Phương Tây. Ở các nước có nền công nghiệp phát triển thì một phần tư số thuốc kê trong các đơn có chứa hoạt chất từ dược liệu. Tại Mỹ năm 1980 giá trị số thuốc đó lên tới 8 tỉ đô la, tại thị trường Châu Âu lượng thuốc đông dược tiêu thụ cũng lên tới 2,3 tỉ đô la. Nhiều biệt dược đông dược của Trung Quốc được tiêu thụ mạnh ở các nước phát triển.

Về sử dụng thuốc, ở khu vực Đông Á, Trung Quốc, Nhật Bản, cùng với Ấn Độ, là các nước tiêu thụ đông dược nhiều nhất. Tại Trung Quốc, đông dược chiếm khoảng 30% lượng dược phẩm tiêu thụ, doanh số đông dược sản xuất tại Trung Quốc để tiêu thụ nội địa và xuất khẩu năm 2003 ước đạt 20 tỉ đô la. Tại Nhật Bản, đông dược được gọi với tên “Kampo”, cũng được chấp nhận và sử dụng rộng rãi, với doanh số khoảng 1 tỉ đô la mỗi năm. Ở khu vực Đông Nam Á, Indonesia là nước đứng thứ hai trên thế giới sau Brazil về đa dạng sinh học cây thuốc, có tới 90% số lượng cây thuốc trên thế giới được tìm thấy ở đây. Theo số liệu năm 1995, có 40% dân số Indonesia sử dụng đông dược, trong đó có 70% sinh sống ở vùng nông thôn. Các nước Đông Nam Á khác đều có tỉ lệ sử dụng đông dược đáng kể trong cộng đồng và hệ thống y tế.

Hóa học các hợp chất thiên nhiên trong phát triển thuốc đã trải qua thời kỳ vàng son vào những năm 1940 đến những năm 1960. Ngày nay, với những kỹ thuật sàng lọc hoạt tính sinh học mới, hiện đại, với tốc độ nhanh, lượng mẫu nhỏ, việc phát hiện các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học mới là rất có triển vọng. Sau khi phát hiện ra các hoạt chất có hoạt tính mới thì việc nghiên cứu chuyển hóa chúng thành các dẫn xuất bằng nhiều con đường trong đó có hóa tổ hợp để thử hoạt tính sinh học vẫn là một lĩnh vực hấp dẫn.

Về nghiên cứu phát triển, hiện nay các công ty đa quốc gia đang có xu hướng phát triển các dược phẩm có chứa một hoạt chất từ cây thuốc (tinh chất dược liệu) do các chế phẩm này có giá trị kinh tế lớn hơn nhiều so với các sản phẩm chứa cao thuốc (extracts) hoặc hợp chất toàn phần chưa xác định được trong các công thức cổ truyền, kinh điển. Ở Trung Quốc giai đoạn 1979 - 1990 có 42 chế phẩm thuốc mới từ cây thuốc được đưa ra thị trường, trong đó có 11 chế phẩm chữa bệnh tim mạch, 5 chế phẩm chữa ung thư, 6 chế phẩm chữa tiêu hóa. Cho đến nay đã có trên 4.000 bằng sáng chế về thuốc đông dược của Trung Quốc được đăng kí, với 40 dạng bào chế khác nhau, được sản xuất ở 684 nhà máy chuyên về đông dược. Từ năm 1990 đến nay là giai đoạn phát triển rất mạnh đối với lĩnh vực sản xuất thuốc từ dược liệu với hàng trăm chế phẩm mới ra đời. Nhật Bản là nước dẫn đầu thế giới về nghiên cứu các hợp chất có tác dụng sinh học từ cây thuốc, chiếm 60% bằng phát minh trên thế giới về lĩnh vực này trong 5 năm (1990 - 1995). Trong giai đoạn 2000 – 2005 các công ty dược phẩm đa quốc gia đã có 23 thuốc mới từ nguồn gốc tự nhiên được phép đưa ra thị trường để điều trị bệnh ung thư, bệnh thần kinh, bệnh nhiễm trùng, bệnh tim mạch, các bệnh liên quan đến hệ miễn dịch, chống viêm... Điển hình là các thuốc Bivalirudin (MDCO, 2000), Ozogamicin (Wyeth – Ayerst, 2000), Pimecrolimus (Novatis, 2001), Nitisinone (Swedish Orphan, 2002), Ziconotide (Eli Lilly, 2004), Exenatide (Eli Lilly, 2005), Micafungin (Fujisawa, 2005)... Ở Việt Nam, một số thuốc đang được nghiên cứu lâm sàng giai đoạn I, II, III như thuốc viêm lợi Dentonin, thuốc trị lý và hương hàn Geranin, thuốc hỗ trợ và điều trị ung thư Panacrin, thuốc điều hòa miễn dịch Angala...

Về pháp chế dược và đăng kí thuốc, theo báo cáo của WHO năm 2011, tốc độ xây dựng và ban hành qui chế quản lí thuốc từ dược liệu phát triển khá nhanh trong khoảng thời gian từ năm 1986 đến 2007.

Sự phát triển nhanh chóng các thuốc từ cây cỏ là do xu hướng của các nước phương Tây nhằm tăng cường tự điều trị, và do lo lắng về tác dụng bất lợi của chế phẩm hóa dược và sự nâng cao nhận thức của cộng đồng về vai trò của thuốc từ dược liệu trong điều trị các bệnh mạn tính, bệnh thông thường.

Với sự phát triển của các kĩ thuật phân tích hiện đại, nhiều hoạt chất được tách chiết từ dược liệu, nghiên cứu xác định cấu trúc và tác dụng dược lí. Kết hợp

với công nghệ bào chế, các nhà sản xuất đã cho ra đời những dạng thuốc thuận tiện cho người sử dụng như viên nén, viên nang, cốm thuốc, trong đó nguyên liệu đầu vào là tinh chất hoặc cao dược liệu chuẩn hóa có hàm lượng hoạt chất chính xác.

Điển hình trong nhóm này là các chế phẩm viên nén, viên nang cao Bạch quả (*Ginkgo biloba*), chứa các hoạt chất ginkgo flavanol glycosides, terpene lactones, bilobalide, ginkgolide A, ginkgolide B, ginkgolide C; viên tỏi chứa dịch chiết tỏi có hoạt chất chính là allicin, viên nén cao Cúc gai dài (*Cardus marianus*) chứa hoạt chất chính là silymarin... Nhiều hoạt chất chiết xuất từ dược liệu được tinh chế đạt đến độ tinh khiết có thể sử dụng làm nguyên liệu bào chế thuốc tiêm. Điển hình trong nhóm này là các chế phẩm thuốc tiêm chứa flavonoid của *Ginkgo biloba* (biệt dược Tanakan®, Pháp; thuốc tiêm chứa paclitaxel phân lập từ cây *Taxus Brevifolia* (biệt dược Taxol®, Mỹ); thuốc tiêm chứa vinblastin phân lập từ cây *Vinca rosea* (biệt dược Velbe®, Pháp)... Do sự phức tạp về cấu trúc hóa học nhiều chất trong nhóm này cho đến nay vẫn chưa tổng hợp được.

Hiện nay, nguồn tài nguyên cây cỏ và tri thức sử dụng cây cỏ làm thuốc là cơ sở quan trọng để sàng lọc và tìm ra thuốc mới. Hướng nghiên cứu này đang rất được coi trọng ở các nước có nền y học tiên tiến như Mỹ, Pháp, Nhật Bản, Trung Quốc.

Ứng dụng công nghệ thông tin trong việc thiết kế các phân tử thuốc mới, cũng như trong nghiên cứu mối tương quan Cấu trúc – Hoạt tính đang ngày càng phát triển. Mặc dù đa số các công ty dược lớn trên thế giới trong thời gian vừa qua chưa đầu tư tích cực lắm cho việc nghiên cứu hóa học các hợp chất thiên nhiên. Song, việc nghiên cứu hóa học các hợp chất thiên nhiên vẫn được đẩy mạnh trong các thập niên vừa qua và chắc chắn sẽ phát triển mạnh trong thời gian tới.

Đặc biệt, trong những năm gần đây đã có những thay đổi đáng kể trong việc nghiên cứu và phát triển các hợp chất thiên nhiên.

#### **\* Cách tiếp cận trong thu thập mẫu nghiên cứu**

Nhìn chung, cho đến nay có 6 cách tiếp cận khi thu thập mẫu nghiên cứu. Đó là: chọn địa điểm một cách ngẫu nhiên, dựa vào phân loại học, dựa vào y học dân tộc, dựa vào hóa thực vật, dựa vào cơ sở thông tin dữ liệu và dựa vào sự cầu may. Gần đây, cách tiếp cận dựa vào hóa thực vật và cơ sở thông tin đã có những thay đổi do sự phát triển mạnh mẽ của hai lĩnh vực này. Vì dụ khi cần thu thập các mẫu có một hoạt tính nào đó thì cơ sở dữ liệu có thể cho ta:

- Danh sách của những cây có hoạt tính này theo kinh nghiệm của y học dân tộc

- Danh sách các cây đã có số liệu về hoạt tính này qua phép thử in vitro, in vivo hoặc trên người.

- Danh sách các nguồn hợp chất thiên nhiên có hoạt tính này hoặc có hoạt tính của một trong các phép thử trên.

Trường hợp danh sách này quá dài thì người ta kết hợp với các yếu tố khác như: Mẫu dễ kiểm tra hay khó kiểm, sự độc đáo về mặt thực vật hoặc hóa thực vật, tính đặc hữu để lựa chọn một danh sách ngắn hơn. Quan trọng là phải thu tất cả các bộ phận của cây. Một trong những con đường để tìm kiếm nhanh các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học là dựa vào Thực vật dân tộc học (Ethnobotany) với tạp chí dẫn đầu là Journal of Ethno – pharmacology.

### **\* Về các phương pháp phân tích**

Nhiều kỹ thuật mới đã được sử dụng để tách chất như: sắc ký giọt ngược dòng, sắc ký ngược dòng quay, sắc ký phân chia ly tâm. Việc sử dụng pha đảo trong sắc ký tách chất (sắc ký lớp mỏng và sắc ký lỏng hiệu năng cao) đã góp phần giải quyết những khó khăn lớn trong lĩnh vực các hợp chất thiên nhiên. Những năm gần đây kỹ thuật chiết cặp ion và sắc ký lỏng hiệu năng cao cặp ion đã được sử dụng để tách điều chế các alkaloid quinolin và isoquinolin bậc bốn.

Kỹ thuật sử dụng các chất đồng phân quang học làm pha tĩnh trong sắc ký khí và sắc ký lỏng để tách các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính quang học cũng đem lại kết quả tốt.

Gần đây người ta phát triển kỹ thuật “Quan sát toàn cột” ứng dụng cho sắc ký lỏng hiệu năng cao và điện di mao quản. Ở phương pháp quan sát toàn cột người ta sử dụng nhiều bộ diod trên một đoạn cột dài 1cm để kiểm soát độ pic trong quá trình tách chất.

Những năm gần đây đã xuất hiện khái niệm “Metabolomic” trong phân tích. Đó là một lĩnh vực khoa học nghiên cứu các chất trao đổi của tế bào sống. Metabolom được định nghĩa là một tập hợp định lượng và định tính tất cả những chất phân tử lượng thấp có mặt trong tế bào. Những chất này tham gia vào phản ứng trao đổi chất và cần thiết cho việc duy trì, sinh trưởng cũng như chức năng bình thường của một tế bào. Chiến lược phân tích Metabolomic bao gồm 5 thành phần như sau:

- Metabolomic: là phép phân tích định tính và định lượng tất cả các chất trao đổi (metabolit) trong một hệ sinh học. Độ chọn lọc và độ nhạy của phương pháp phân tích đòi hỏi ở đây rất cao.

- Metabolite profiling: là phân tích định tính và định lượng một số chất trao đổi chọn lọc theo định hướng, thường là theo con đường trao đổi chất đặc thù. Trong công nghiệp dược phương pháp này được sử dụng rộng rãi để nghiên cứu thuốc, sản phẩm biến đổi của thuốc và hiệu quả của quá trình điều trị.

- Metabolic fingerprinting: phân tích nhanh mẫu để có thể phân loại được mẫu. Vì không phân tích định tính và định lượng nên thời gian phân tích mẫu ngắn, thường chỉ một phút (hoặc ngắn hơn). Đây là một công cụ sàng lọc để phân biệt mẫu của những trạng thái hoặc nguồn gốc sinh học khác nhau.

- Metabolite target analysis: định lượng và định tính một hoặc vài chất trao đổi (metabolit) liên quan đến một phản ứng trao đổi đặc thù.

- Metabonomic: đánh giá sự thay đổi của các mô và dịch sinh học trong hệ thống trao đổi chất nội sinh, hình thành do quá trình bệnh sinh hoặc quá trình điều trị.

## **2. Tại Việt Nam**

Việt Nam cũng có một số mặt hàng đông dược xuất khẩu có uy tín ở thị trường nước ngoài như hoa hòe, quế, sa nhân, dừa cạn, các loại tinh dầu hồi, quế, trầm...

Nhu cầu sử dụng đông dược ở nước ta cũng rất lớn. Theo đánh giá của Viện Dược liệu năm 1995, nhu cầu dược liệu toàn quốc khoảng 30.000 tấn, cung cấp cho 145 bệnh viện y học cổ truyền, 242 khoa y học cổ truyền trong bệnh viện đa khoa và khoảng 30.000 lương y đang hành nghề, ngoài ra còn cần khoảng 20.000 tấn cho nhu cầu xuất khẩu. Nhiều chế phẩm đông dược đã được nghiên cứu tại các viện nghiên cứu và chuyển giao kỹ thuật cho các xí nghiệp sản xuất trong nước, như thuốc viêm gan Haina, thuốc hạ cholesterol máu và hạ huyết áp Ruventat, thuốc chống đái tháo đường Morantin, thuốc nhỏ mũi Ngũ sắc, thuốc hòa tan sỏi thận Somatan, Sotinin, thuốc tăng tuần hoàn máu Angelin, thuốc viêm gan Phyllantin.

Trong năm 2010, Cục quản lý Dược, Bộ Y tế Việt Nam đã cấp phép nhập khẩu cho 106 chế phẩm từ dược liệu thuộc 15 quốc gia và vùng lãnh thổ trên thế giới, số lượng cụ thể như sau: Hàn Quốc: 44, Ấn Độ: 20, Trung Quốc: 15, Hồng Kông: 1, Đài Loan: 1, Nhật Bản: 1, Thái Lan: 3, Malaysia: 2, Pakistan: 1, Argentina: 2, Thụy Sĩ: 1, Australia: 1, Đức: 2, Pháp: 1, Mỹ: 7.

## II. PHÂN TÍCH XU HƯỚNG ỨNG DỤNG CÁC HỢP CHẤT TỰ NHIÊN TRONG DƯỢC, MỸ PHẨM TRÊN CƠ SỞ SỐ LIỆU SÁNG CHẾ QUỐC TẾ

Với một hệ thống thực vật phong phú, ở Việt Nam việc nghiên cứu và phát triển các sản phẩm dược liệu và mỹ phẩm thiên nhiên đang rất được quan tâm.

Trong thời gian gần đây, tại Sở khoa học và công nghệ cũng đã nhận được một số đề tài nghiên cứu về ứng dụng các hợp chất tự nhiên, điển hình như:

- Nghiên cứu phát triển chế phẩm trị bệnh đái tháo đường từ dược liệu theo quy trình kết hợp giữa khoa học tính toán và nghiên cứu thực nghiệm / Viện khoa học tính toán; PGS.TS Lê Thị Lý, TS. Trần Thị Vân Anh - 2015.
- Nghiên cứu chế phẩm có tác dụng hạ đường huyết từ râu mèo, mướp đắng và mắc cỡ” / Trung tâm Sâm & Dược liệu TP.HCM; ThS. Dương Thị Mộng Ngọc – 2013
- Nghiên cứu bào chế dược mỹ phẩm “Gel Dương Cam Cúc – Liposomes” dùng trên da bị viêm và dị ứng / Trung Tâm Khoa học Công nghệ Dược Sài Gòn; TS. Phạm Hoàng Lâm - 2012.
- Nghiên cứu thành phần hoá học và tác dụng dược lí của cây hà thủ ô trắng (*streptocaulon juvenas asclepiadaceae*), ứng dụng bào chế chế phẩm phối hợp với hà thủ ô đỏ trong điều trị hạ cholesterol huyết / Trung tâm phát triển khoa học và công nghệ Trẻ; ThS. Phạm Thanh Tâm – 2008
- Nghiên cứu quy trình chiết xuất Aloin và tinh chế gel tươi lá lô hội (*Aloe Vera L.*) ứng dụng vào dược phẩm và mỹ phẩm/ Viện Công nghệ hóa học; TS. Nguyễn Ngọc Hạnh, ThS. Phan Nhật Minh - 2007

Trên thế giới, vấn đề ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong sản phẩm dược và mỹ phẩm cũng rất được quan tâm, có khoảng hơn 1900 sáng chế nộp đơn đăng ký bảo hộ về vấn đề này.

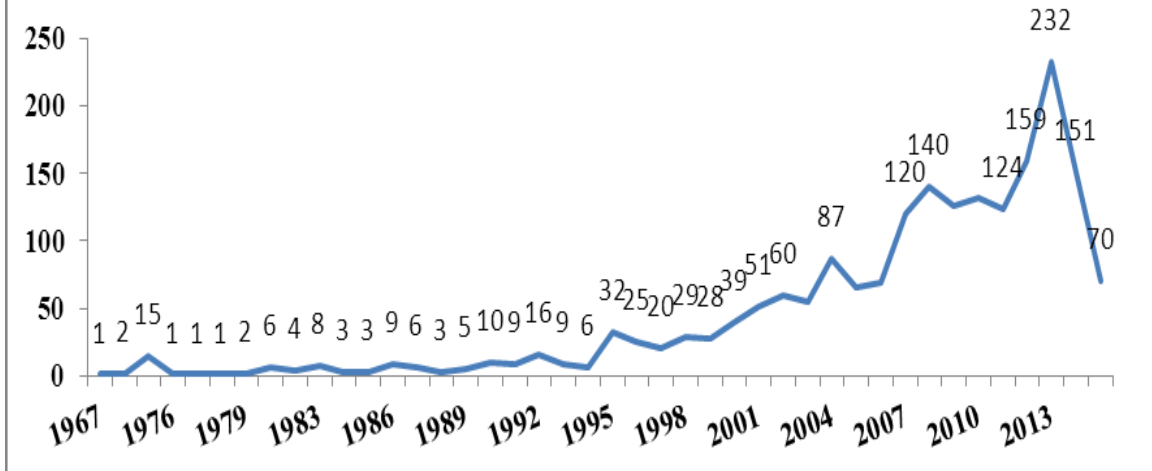
### 1. Tình hình nộp đơn đăng ký sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm theo thời gian

Từ thập niên 60 đã có sáng chế về ứng dụng các hợp tự nhiên trong dược và mỹ phẩm. Sáng chế trong thập niên này nộp đơn bảo hộ ở Đức đề cập về việc phân lập một hoạt chất dược lý từ vỏ cây *Ravensara aromatica* (Số sáng chế: DE1617473A1). Tinh dầu Cây *Ravensara aromatica* có nhiều tác dụng như: chất khử trùng, kháng khuẩn, chống viêm, dị ứng,...

Từ 1967-2015: có khoảng hơn 1900 sáng chế nộp đơn đăng ký bảo hộ trên thế giới về ứng dụng hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm (*theo CSDL Thomson Innovation*).

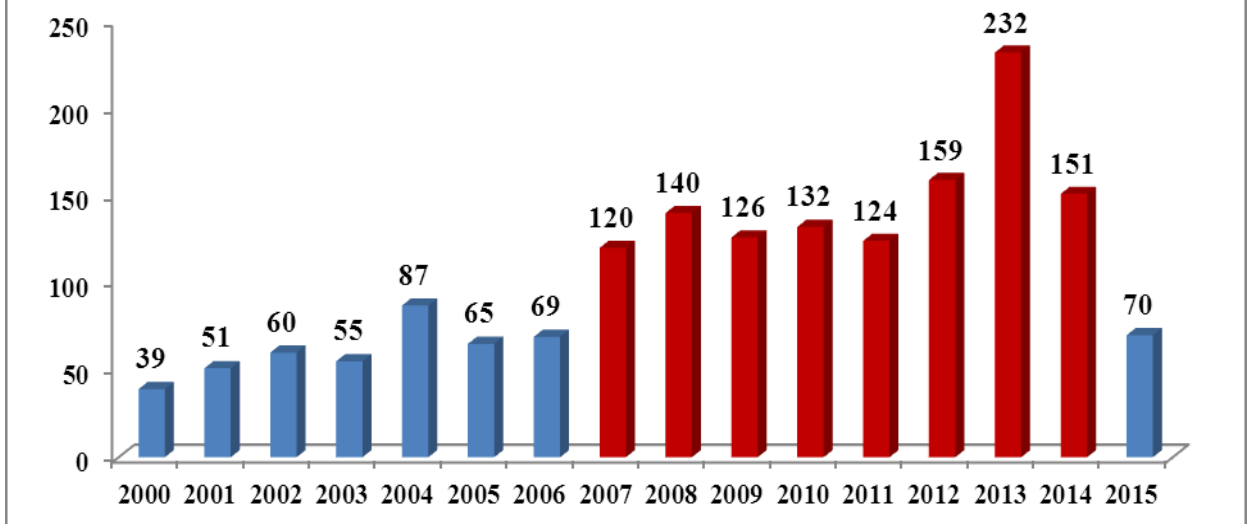


**Hình: Tình hình nộp đơn đăng ký sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm theo thời gian**



Trong những năm gần đây; đặc biệt trong giai đoạn 2007-2014, lượng sáng chế vượt qua cột mốc 100 sáng chế/năm.

**Hình: Tình hình nộp đơn đăng ký sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm (Giai đoạn 2000-2015)**

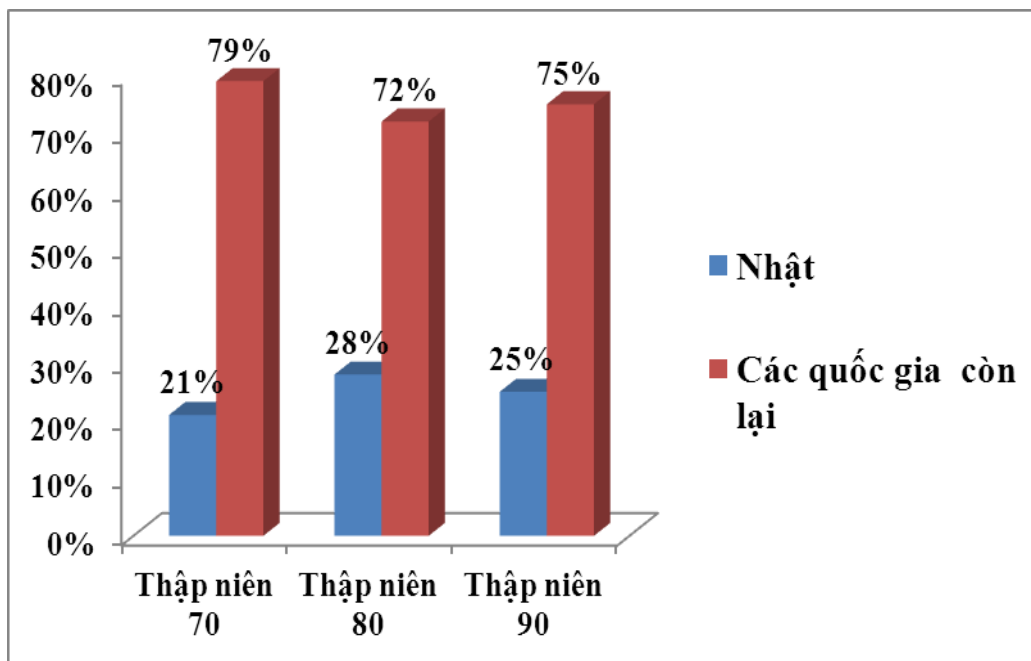


## 2. Tình hình nộp đơn đăng ký sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm ở các quốc gia

Thập niên 60: có sáng chế nộp đơn bảo hộ ở Đức.

Từ thập niên 70-90: sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm nộp đơn chủ yếu ở Nhật, cụ thể như sau:

- ✓ Thập niên 70: sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm nộp đơn bảo hộ ở 17 quốc gia. Trong đó, tập trung chủ yếu ở Nhật với lượng sáng chế chiếm khoảng 21% tổng lượng sáng chế trong giai đoạn này.
- ✓ Thập niên 80: sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm nộp đơn bảo hộ ở 11 quốc gia. Trong đó, Nhật lượng sáng chế nộp đơn bảo hộ chiếm khoảng 28% tổng lượng sáng chế trong giai đoạn này.
- ✓ Thập niên 90: sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm nộp đơn bảo hộ ở 20 quốc gia. Trong đó, lượng sáng chế nộp đơn bảo hộ ở Nhật chiếm khoảng 25% tổng lượng sáng chế trong giai đoạn này.

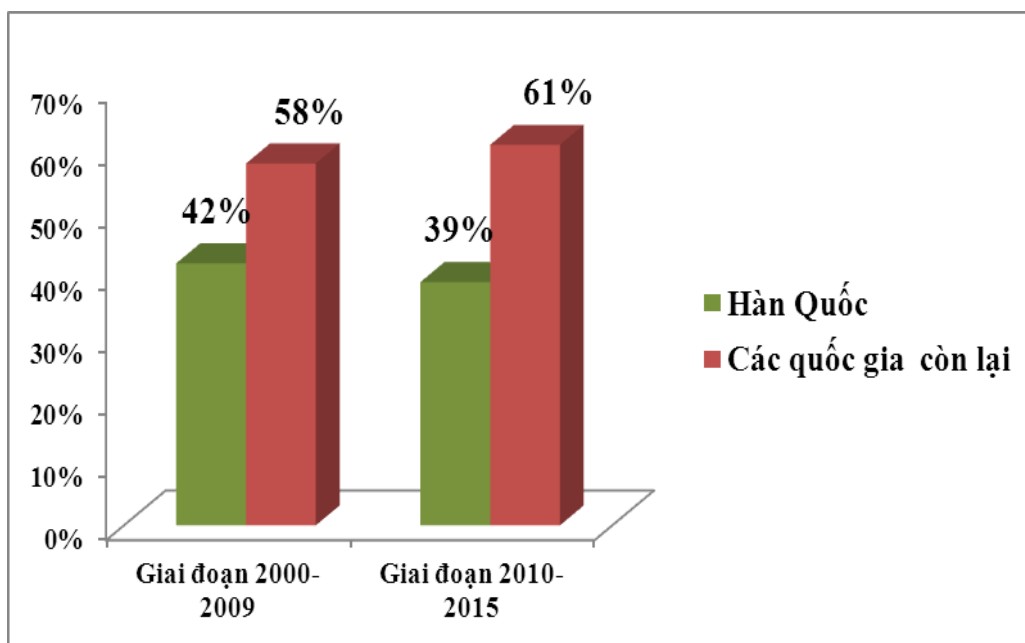


*Hình: Tình hình nộp đơn đăng ký sáng chế về ứng dụng hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm ở các quốc gia (từ thập niên 70 đến thập*

Từ năm 2000 đến nay: sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm nộp đơn chủ yếu ở Hàn Quốc, cụ thể như sau:

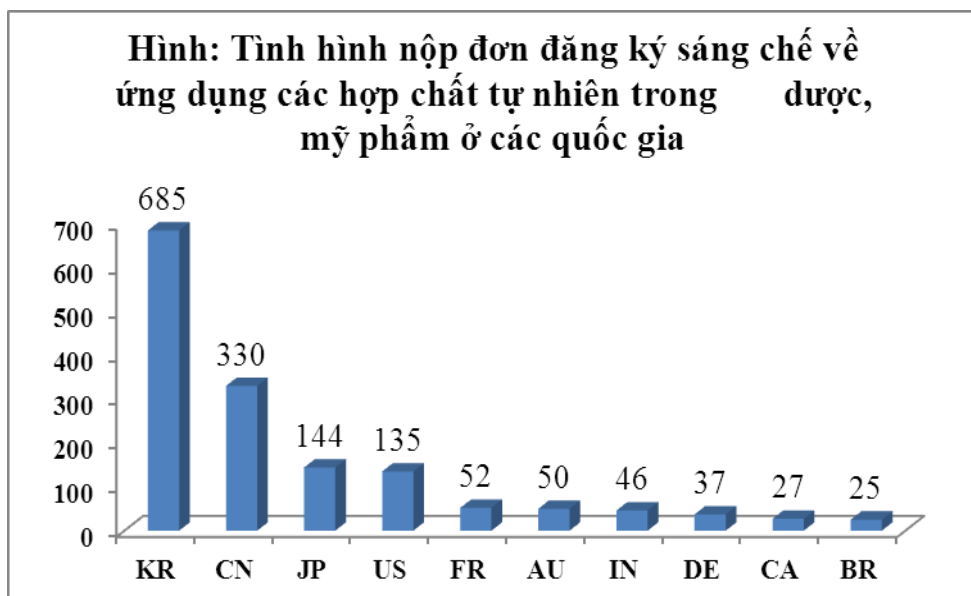
- ✓ Giai đoạn 2000-2009: sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm nộp đơn bảo hộ ở 32 quốc gia. Trong đó, tập trung chủ yếu ở Hàn Quốc với lượng sáng chế chiếm khoảng 42% tổng lượng sáng chế trong giai đoạn này.

- ✓ Giai đoạn 2010-2015: sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm nộp đơn bảo hộ ở 30 quốc gia. Trong đó, lượng sáng chế nộp đơn bảo hộ ở Hàn Quốc chiếm khoảng 39% tổng lượng sáng chế trong giai đoạn này.



**Hình: Tình hình nộp đơn đăng ký sáng chế về ứng dụng hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm ở các quốc gia (từ 2000-2015)**

Từ 1967-2015, sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm đã được nộp đơn bảo hộ ở khoảng 43 quốc gia. Trong đó, 10 quốc gia nhận nhiều đơn bảo hộ sáng chế nhất, bao gồm: Hàn Quốc (KR): 685 SC, Trung Quốc (CN): 330 SC, Nhật (JP): 144 SC, Mỹ (US): 135 SC, Pháp (FR): 52 SC, Úc (AU): 50 SC, Ấn Độ (IN): 46SC, Đức (DE): 37SC, Canada (CA): 27 SC, Brazil (BR): 25 SC.

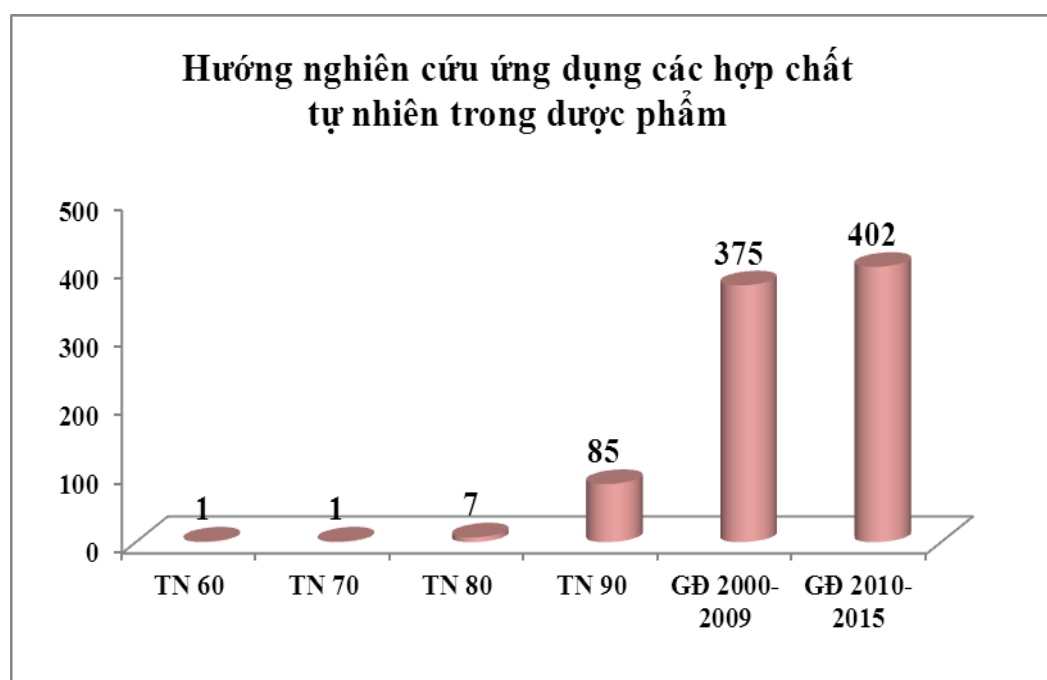


### 3. Tình hình nộp đơn đăng ký sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm theo bảng phân loại sáng chế quốc tế IPC

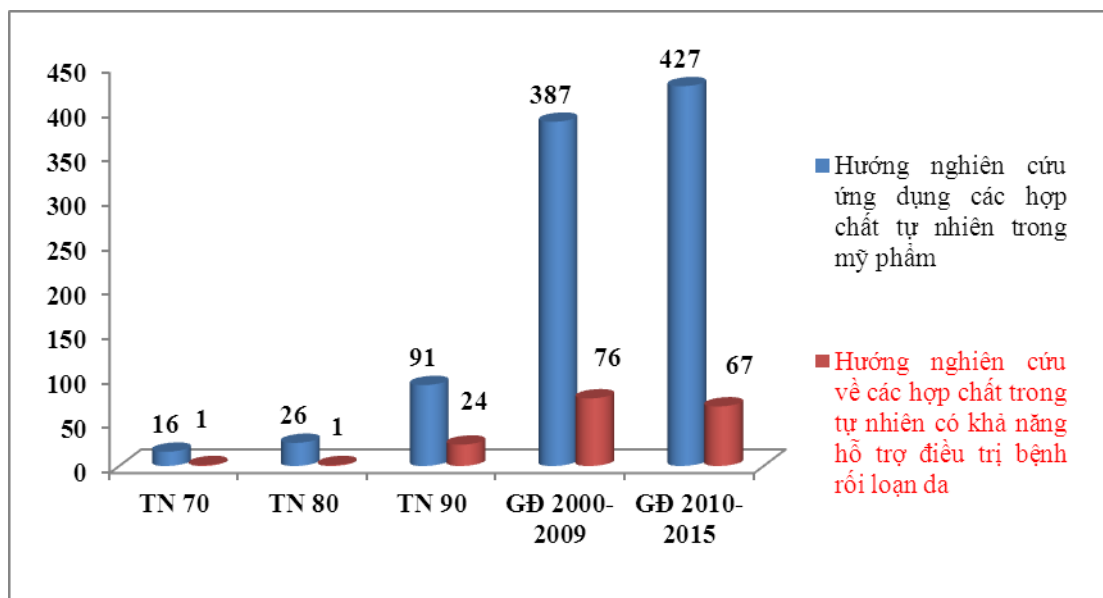
Theo bảng phân loại sáng chế quốc tế IPC, sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm đang tập trung nhiều vào các hướng nghiên cứu sau:

- Hướng nghiên cứu về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong mỹ phẩm có lượng sáng chế chiếm 50% tổng lượng sáng chế.
- Hướng nghiên cứu về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược phẩm có lượng sáng chế chiếm 45% tổng lượng sáng chế.
- Hướng nghiên cứu về ứng dụng các hợp chất tự nhiên hỗ trợ điều trị bệnh rối loạn da có lượng sáng chế chiếm 9% tổng lượng sáng chế.
- Hướng nghiên cứu về ứng dụng các hợp chất tự nhiên hỗ trợ điều trị ung thư có lượng sáng chế chiếm 9% tổng lượng sáng chế.
- Hướng nghiên cứu về ứng dụng các hợp chất tự nhiên hỗ trợ điều trị bệnh đường tiêu hóa có lượng sáng chế chiếm 8% tổng lượng sáng chế.

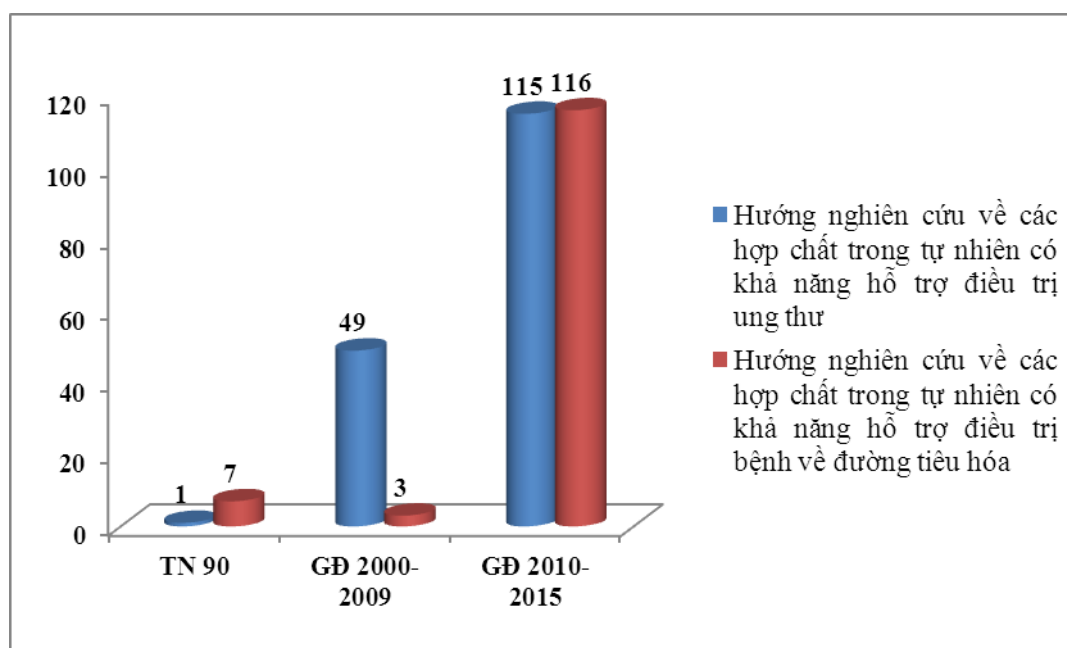
Trong các hướng nghiên cứu đề cập trên, hướng nghiên cứu về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược phẩm có sáng chế sớm nhất (thập niên 60)



Hướng nghiên cứu về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong mỹ phẩm có khả năng hỗ trợ điều trị bệnh rối loạn da có sáng chế nộp đơn đăng ký bảo hộ từ thập niên 70



Hướng nghiên cứu về ứng dụng các hợp chất trong tự nhiên hỗ trợ điều trị ung thư và hỗ trợ điều trị về đường tiêu hóa có sáng chế nộp đơn đăng ký bảo hộ từ thập niên 90



Theo Cục Sở hữu trí tuệ, một số sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm đã nộp đơn bảo hộ tại Việt Nam, điển hình như:

<b>Sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong dược phẩm</b>	
Thuốc hỗ trợ điều trị nghiện ma túy nhóm opiat từ thảo dược	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Số công bố đơn: 47702</li> <li>- Ngày nộp đơn: 07/04/2016</li> <li>- Người nộp đơn: Viện Nghiên cứu điều trị các bệnh hiểm nghèo Km 10, đường 5, Phú Thị, huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội</li> </ul>
Chế phẩm thảo dược (cây thầu dầu trắng và Formosanum elderberry) có tác dụng ức chế sự tăng trưởng của khối u	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Số công bố đơn: 39526</li> <li>- Ngày nộp đơn: 04/04/2014</li> <li>- Người nộp đơn: WEN-GUANG FONG No. 8, Yongkang Rd., Fenglin Township, Hualien County 97542, Taiwan</li> </ul>
Chế phẩm thảo dược để điều trị bệnh viêm đường tiêu hóa <i>(có tác dụng kìm hãm sự biểu hiện của các xytokin gây viêm, làm giảm sự phá vỡ của vách ngăn biểu mô và điều chỉnh chức năng ruột)</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Số công bố đơn: 42799</li> <li>- Ngày nộp đơn: 17/12/2014</li> <li>- Người nộp đơn: Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd. No. 58, Haichang South Road, Xinpu District Lianyungang, Jiangsu Province, CHINA 222001</li> </ul>
Hợp phần chứa chất chiết từ thảo dược (cây hoàng liên, cây khiên ngu tử) để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Số công bố đơn: 31758</li> <li>- Ngày nộp đơn: 16/04/2012</li> <li>- Người nộp đơn: AHN-GOOK</li> </ul>

<p>nha chu</p> <p><i>(có tác dụng kích thích chống viêm, biệt hoá nguyên bào xương, tái tạo xương ổ răng và ngăn ngừa sự phá huỷ xương ổ răng)</i></p>	<p>PHARMACEUTICAL CO., LTD. 993-75, Daerim 2-dong, Yeongdeungpo-gu, Seoul 150-072, Republic of Korea</p>
<p>Dược phẩm chứa chất chiết từ thảo dược (Sơn ca, Nhục quế, Hạ khô thảo, Mộc tặc) để ngăn ngừa hoặc điều trị chứng viêm thận</p>	<p>- Số công bố đơn: 31467 - Ngày nộp đơn: 02/12/2011 - Người nộp đơn: AHN-GOOK PHARMACEUTICAL CO., LTD. 993-75, Daerim 2-dong, Yeongdeungpo-gu, Seoul 150-072, Republic of Korea</p>
<p>Thuốc thảo dược dạng bột để điều trị bệnh tăng lipit máu và chống béo phì (Hồng hoa, Sơn tra, Hạ khô thảo, Kim ngân hoa, Hoa hòe, Uất kim, Lá sen)</p>	<p>- Số công bố đơn: 1894 - Ngày nộp đơn: 27/12/2010 - Người nộp đơn: Công ty TNHH Trường Minh Hoàng 448 Hoàng Hoa Thám, quận Tây Hồ, thành phố Hà Nội</p>
<p>Thuốc chữa bệnh u xơ tuyến tiền liệt bào chế từ các alcaloit được chiết xuất từ lá cây trinh nữ hoàng cung (<i>crinum latifolium</i> l.) và phương pháp bào chế</p>	<p>- Số công bố đơn: 8467 - Ngày nộp đơn: 15/07/2003 - Người nộp đơn: Nguyễn Thị Ngọc Trâm (VN)_75/Q9 Nguyễn Tri Phương, phường 14, quận 10, thành phố Hồ Chí Minh</p>

<b>Sáng chế về ứng dụng các hợp chất tự nhiên trong mỹ phẩm</b>	
Mặt nạ dưỡng da có tác dụng cải thiện da bị mụn trứng cá (rễ cây dâu tằm, cây lô hội, ngải cứu, nhựa thông, nước ép quả mướp)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Số công bố đơn: 47343</li> <li>- Ngày nộp đơn: 18/12/2014</li> <li>- Người nộp đơn: KWANGJU WOMEN'S UNIVERSITY 165, Sanjeong-dong, Gwangsan-gu, Gwangju, Republic of Korea</li> </ul>
Chế phẩm làm sáng da chứa dịch chiết thực vật (Chamomile) thu được bằng cách sử dụng CO <sub>2</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Số công bố đơn: 26243</li> <li>- Ngày nộp đơn: 26/01/2011</li> <li>- Người nộp đơn: UNILEVER N.V. Weena 455, 3013 AL Rotterdam, The Netherlands</li> </ul>
Mỹ phẩm làm trắng da chứa phần chiết của Magnolia sieboldii làm thành phần hoạt tính	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Số công bố đơn: 22546</li> <li>- Ngày nộp đơn: 30/11/2009</li> <li>- Người nộp đơn: COREANA COSMETICS, CO., LTD. 204-1, Jeongchon-ri, Sunggeo-eup Cheonan-shi, Chungcheongnam-do, 330-833, Republic of Korea</li> </ul>



### III. CÔNG THỨC BỘ DƯỢC, MỸ PHẨM DƯƠNG CAM CÚC (CHAM) TẠI ĐẠI HỌC Y DƯỢC TP.HCM

#### 1. Sơ lược về công dụng cây dương cam cúc

Dương cam cúc còn có tên Mẫu cúc, Xuân bạch cúc, Ca mô mi, tên khoa học: *Matricaria chamomilla* L. hay *M. recutita* L., *Chamomilla recutita* L., thuộc họ Cúc (*Asteraceae*). Là cây thân thảo, sống hàng năm. Cụm hoa mọc ở ngọn. Hoa thu hoạch vào các ngày nắng ráo, thu xong cần phơi khô hay sấy khô kịp thời để bảo đảm chất lượng. Dương cam cúc có nguồn gốc ở Trung Âu. Cây mọc tự nhiên và được trồng ở nhiều nước như Pháp, Đức và Hungari... để làm thuốc và hương liệu. Dương cam cúc được nhập vào Việt Nam từ đầu những năm 60, đến năm 1978 trồng thử ở Đà Lạt, sau đưa giống đi trồng ở một số nơi khác. Hiện nay, Đà Lạt vẫn là nơi trồng nhiều Dương cam cúc nhất.



**Hình 3.1** Cánh đồng hoa DCC tại Cam Ly, Vạn Thành, Đà Lạt



**Hình 3.2** Bộ phận dùng: Hoa phơi khô (*Flos Chamomillae*)

Trong nguyên tắc chăm sóc hay điều trị bệnh lý trên da, làm sạch da, thông thoáng lỗ chân lông là giai đoạn đầu tiên cần thực hiện trước khi sử dụng các loại dược phẩm, mỹ phẩm khác. Để đáp ứng nguyên tắc này các sản phẩm về da thường được thiết kế theo bộ bao gồm các sản phẩm tẩy rửa, sản phẩm làm sạch thông thoáng lỗ chân lông, sản phẩm điều trị và chăm sóc da.

Dương cam cúc có một lịch sử lâu đời trên 2000 năm. Nó không chỉ là một cây thuốc quý ở nơi xuất xứ mà còn có mặt và phát triển ở nhiều nơi trên thế giới qua sự di thực. Ngày càng có nhiều nước quan tâm, đầu tư nghiên cứu để phát triển dương cam cúc cho mục đích thương mại toàn cầu.

Dương cam cúc là vị thuốc đã được ghi lại trong một số dược điển châu Âu. Dược liệu được dùng uống để điều trị những chứng bệnh tiêu hóa như khó tiêu, đầy chướng thượng vị, đầy hơi. Nước hãm hoa dương cam cúc điều trị trạng thái bồn chồn và mất ngủ nhẹ do rối loạn thần kinh. Ở Ấn Độ, dương cam cúc có hiệu quả

đôi với những bệnh của trẻ em như rối loạn về răng, rối loạn dạ dày, đau tai, đau dây thần kinh và co giật. Dương cam cúc còn được dùng đôi với thể trạng yếu ớt, cơn đau chướng bụng, hysteria và sốt từng cơn. Một thuốc hãm ấm và đặc có tác dụng gây nôn, trong khi một thuốc hãm ấm và loãng có tác dụng bổ nhẹ, hạ sốt.

Dương cam cúc được bào chế kem thuốc, dầu gội đầu, thuốc đắp trị vết thương và viêm. Một thuốc hãm được dùng làm chất chống dị ứng dùng ngoài đối với eczema, vết thâm tím, mụn lở loét, đặc biệt chữa trĩ. Chamazulene là thuốc kháng histamin ở bệnh nhân dị ứng.

Ở Trung Quốc, lá dương cam cúc được dùng làm thuốc lọc máu. Ở Brazil, dương cam cúc dưới dạng chè an thần làm bớt bồn chồn. Ở Italia, một bài thuốc gồm những cụm hoa dương cam cúc và lá *Laurus nobilis* để làm thuốc an thần trong trường hợp đau nội tạng và đau kinh dưới dạng thuốc sát. Ở một số nước, dương cam cúc được dùng ngoài để điều trị viêm, kích ứng da và niêm mạc như vết nứt da, vết thâm tím, tổn thương vì cồng lạnh, sâu bọ cắn, kích ứng và nhiễm trùng miệng, lợi và trĩ. Dùng chế phẩm dương cam cúc hít ngửi để chữa triệu chứng kích thích đường hô hấp do cảm lạnh thông thường.

**\* Mô tả chi tiết:**

- Tên khoa học: *Matricaria Chamomilla* L. – Asteraceae.
- Tên đồng danh: *Matricaria recutita* L. – Asteraceae.
- Tên dược liệu: Dương cam cúc, họ Cúc.
- Tên Việt Nam khác: Mẫu cúc, Xuân bạch cúc, Ca – mô – ni.
- Bộ phận dùng: Nụ hoa phơi hoặc sấy khô.

Đây là cây cỏ hàng năm, mùi thơm. Thân mọc đứng, phân nhánh nhiều, cao tới 60 cm, thiết diện hình bầu dục, kích thước 3x2,5 mm, có nhiều sọc màu xanh đậm dọc thân, gần như nhẵn.

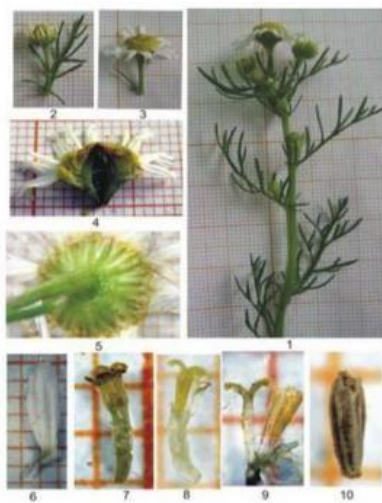
Lá đơn, mọc so le, dài 3 – 5 cm, rộng 1 – 1,5 cm, cuống lá gần như không có, phiến lá xẻ sâu đến gân lá thành 7 – 8 thùy riêng ở mỗi bên, các thùy này có thể nguyên hoặc xẻ thành 2 – 3 thùy nhỏ với các đoạn hình dải có đầu nhọn như cái gai, mặt trên xanh đậm, nhẵn, mặt dưới xanh nhạt.

Cụm hoa dạng đầu ở ngọn cành hay nách lá phía ngọn cây, đường kính 1 – 1,5 cm. Tổng bao lá bắc gồm 2 – 3 lớp, mỗi lớp khoảng 10 lá bắc nhỏ. Lá bắc hình tam giác có mũi rất nhọn, có viền mỏng, trong ở 2 bên, dài 3 – 4 mm, rộng 0,5 – 0,7 mm; các lá bắc phía trong có màu xanh nhạt hơn các lá bắc phía ngoài.

Hoa hình lưỡi nhỏ đơn tính cái, xếp thành một vòng đơn ở ngoài với khoảng 20 hoa, khi nở hoa xẻ ra vuông góc với cuống hoa, màu trắng, dài 1 – 1,2 cm, rộng

1,5 – 2 mm. Bầu dưới, nhỏ và ngắn, dài 0,25 mm, rộng 0,5 mm, có khía dọc. Vòi nhụy dài 1 – 1,2 mm, núm nhụy xẻ đôi, mang lông dính trông giống như cái chổi. Hoa hình ống lưỡng tính ở trong, dài 2 – 2,5 mm, rộng 0,25 – 0,5 mm, màu vàng tươi. Tràng đều, liền, màu trắng trong, phần ống dài 1,5 mm, nhăn, có 5 thùy nhỏ hình tam giác. Bộ nhị gồm 5 nhị rời ở phần chỉ nhị, liền ở phần bao phấn tạo thành một ống bao lấy vòi nhụy; ống bao phấn có phía ngoài (lưng) nhăn, phía trong (bụng) mang đầy hạt phấn màu vàng tươi, chiều dài bao phấn khoảng 1 mm. Bầu dưới, nhỏ, dài 0,5 mm, rộng 0,25 mm, có khía dọc; vòi nhụy dài bằng ống tràng, núm nhụy xẻ đôi, mang lông dính trông như cái chổi.

Quả đóng, dạng nón ngược, dài khoảng 1 mm, rộng 0,5 mm, màu vàng nhạt pha những dải màu đen.



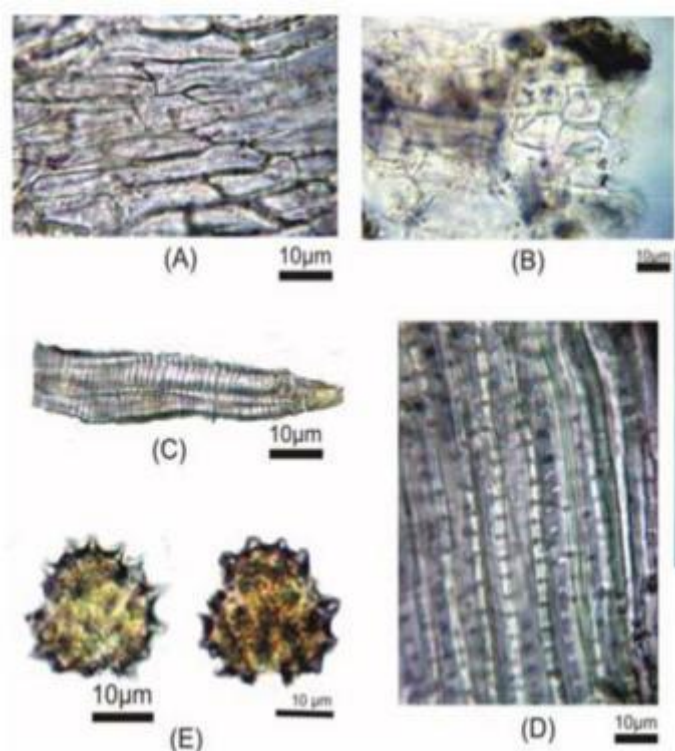
*Đặc điểm hình thái cây và hoa Dương cam cúc*

1. Thân, lá
- 2,3. Cụm hoa
4. Đốt
5. Tổng bao lá bắc
6. Hoa hình lưỡi nhỏ
- 7,8. Hoa hình ống
9. Bao phấn liền thành một bẹ và vòi, núm nhụy
10. Quả



*Đặc điểm vi phẫu thân*

*Đặc điểm vi phẫu lá*



### ***Bột hoa khô Dương cam cúc***

Thành phần hoá học: Dương cam cúc chứa khoảng 1,5% tinh dầu, chủ yếu gồm chamazulem với hàm lượng 1 - 15%. Ngoài ra còn có chứa các flavonoid nhất là glucosyl -7 -apigenol và dẫn chất ecetyl của nó.

#### **\* Cách sơ chế và bảo quản:**

Qua nghiên cứu hai cách sơ chế là phơi nắng nhẹ đến khô, đạt độ ẩm khoảng 10% hay sấy ở 60% đến khô đạt độ ẩm trên, nhận thấy: nụ hoa được chế biến theo hai phương pháp đều khô, mùi thơm đặc trưng. Về màu sắc, hoa sơ chế bằng sấy có màu hơi sẫm hơn. Dùng T-test, so sánh hàm lượng % tinh dầu của hai phương pháp này là khác nhau có ý nghĩa thống kê, nghĩa là hàm lượng tinh dầu mất khoảng 8 – 10%. Vì vậy, tốt nhất khi thu hoạch xong nên trải mỏng nụ hoa, phơi trong bóng râm hay nắng nhẹ đạt độ ẩm theo yêu cầu.

Khi so sánh chất lượng hoa và tinh dầu với các cách bảo quản khác nhau theo thời gian, nhận thấy: phương pháp bảo quản ở điều kiện tự nhiên với bao nylon dày 2 lớp hàn kín vẫn không bảo quản tốt cho sản phẩm. Hoa sau một năm đã có biến đổi về cảm quan, hàm lượng tinh dầu, sau 2 năm tỉ lệ hoa bị vụn nát, mọt cao, mùi từ thơm dịu sang hơi hắc, đặc biệt là hàm lượng tinh dầu giảm từ 25 – 45%. Các phương pháp bảo quản trong phòng lạnh 25°C hay trong tự nhiên có bao bì chống ẩm đặc biệt, kho thông thoáng gió, không chất đống liệu sát mặt đất và chông nhiều lớp có thể áp dụng được. Phương pháp bảo quản trong dụng cụ có hơi còn bão hòa cho chất lượng tinh dầu tốt nhưng chỉ phù hợp cho bảo quản giống mùa sau.

Tóm lại, hoa Dương cam cúc rất khó bảo quản. Vì vậy nên rút ngắn thời gian lưu giữ trong kho, sắp xếp đưa vào sản xuất càng sớm càng tốt.

**\* Thu hoạch:**

*Thu hoạch sản phẩm hoa:* hoa Dương cam cúc được thu hoạch khi bắt đầu nở, để hoac chưa có hình chóp và các hoa hình lưỡi chưa nằm ngang. Để sản phẩm đạt chất lượng, chỉ hái những hoa mới nở. Việc thu hoạch quá sớm hay quá muộn có khả năng dẫn đến thất thu. Khi thu hoạch hoa cần chú ý chỉ hái những hoa đủ phẩm chất, tránh làm tổn thương các nụ hoa non. Hoa thu hoạch cần được làm khô càng sớm càng tốt. Bằng cách phơi dưới nắng nhẹ hoặc trải mỏng trong bóng râm thoáng gió là cách tốt nhất để bảo vệ procamazulene. Đồng thời hoa giữ được màu tự nhiên để có giá trị thương phẩm và hiệu quả trị liệu.

*Thu hoạch giống:* bắt đầu thu hoạch giống từ lần thu hoạch thứ 2 đến lần thu hoạch thứ 4 của vụ mùa khô. Giống được thu trên những cây sinh trưởng phát triển tốt, cây to khỏe, tán rộng, nhiều cành, nhiều bông, bông to, không sâu bệnh. Khi thu hoạch hoa giống cần chú ý phải để hoa thật già, cánh ngoài bắt đầu rụng, để hoa có hình chóp rõ và đã chuyển sang màu vàng sẫm để hạt giống sau này thật chín sinh lý. Thu hoạch xong phơi trong bóng râm hoặc dưới nắng nhẹ đến khi hạt đạt độ thủy phần 10 – 13% cho vào bao nylon hàn kín.

Một ha trồng đại trà có thể thu được 45 – 50 kg hoa giống vào mùa khô, tuy nhiên thông thường chỉ nên sàng lọc lấy 18 – 20 kg để đảm bảo chắc chắn chất lượng. Hạt giống thu được trên cơ sở phải đạt tiêu chuẩn:

Hàm lượng tinh dầu  $\geq 0,4$  ml/100g hoa khô.

Năng suất  $\geq 450$  kg hoa khô/ha.

Tỷ lệ nảy mầm  $\geq 90\%$ .

Không sâu bệnh

Năng suất và chất lượng sản phẩm hoa khô: qua việc tiến hành trồng thử với quy trình như trên, ghi nhận kết quả về năng suất và hàm lượng tinh dầu được thể hiện ở bảng 1.

**Bảng 1. Kết quả về năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất**

Bán kính tán (cm)	Số bông trên cây (bông)	Trọng lượng trung bình một hoa (mg)	Đường kính hoa (cm)	Năng suất hoa khô (kg/ha)	Hàm lượng tinh dầu (ml/100g hoa khô)
31,93± 11,09	149,9± 51,96	22,4	18,64±0,92	464,28± 75,37	0,56±0,07

### **\* Điều kiện bảo quản:**

Để bảo quản chất lượng hoa sau thu hoạch được tốt, các thử nghiệm được tiến hành trên các mẫu hoa tươi, hoa đông lạnh, hoa sấy khô ở 30°C trong 1 tuần đến độ ẩm cho phép. Các mẫu trên được xác định hàm lượng tinh dầu bằng phương pháp cất kéo hơi nước và được xác định các thành phần bằng sắc ký khí. Kết quả như sau: loại Bona được sấy có hàm lượng tinh dầu tăng đáng kể so với nguyên liệu tươi, hàm lượng của mẫu hoa Bona tươi và đông lạnh là tương tự. Loại Bodegold đông lạnh có hàm lượng cao hơn hoa Bodegold sấy khô. Thử nghiệm khác đã kiểm tra các thành phần thay đổi trong tinh dầu đối với Bona mức độ  $\alpha$ -farnesene của hoa đông lạnh thấp hơn nhiều so với hoa tươi, bicyclogermacrene giảm 2,2% trong hoa đông lạnh, 1,7% trong hoa khô và 0,35% trong hoa tươi, chamazulene trong hoa khô có hàm lượng cao nhất. Bisabolol oxide B có hàm lượng không khác nhau giữa hoa khô, tươi và đông lạnh. Việc lưu giữ trong vòng 6 tháng ở nhiệt độ phong thủy có giảm hàm lượng hoạt chất trong hoa.

Về năng suất thu hoạch, trong điều kiện khí hậu tại vùng Tasmania, Úc, với giống Dương cam cúc Đức, năng suất trung bình là 1 tấn hoa khô Dương cam cúc trên 1 hecta canh tác. Trong 3 loài nghiên cứu, loài Dương cam cúc Bodegold cho năng suất cao hơn loài Bona, tuy nhiên hàm lượng tinh dầu từ giống hoa Dương cam cúc này thì thấp hơn.

### **\* Tác dụng dược lý:**

- Cao Dương cam cúc có hoạt tính hạ sốt, ức chế những vi khuẩn gram dương mạnh hơn so với vi khuẩn gram âm, và ức chế sự nảy mầm bào tử các men, mốc và nấm da thử nghiệm.

- Trong các thử nghiệm, cao Dương cam cúc và tinh dầu ức chế sự sinh sản của những chất gây viêm da cũng như có tác dụng chống viêm trên lâm sàng, đồng thời có tác dụng làm giảm kích thước của vết thương và làm khô nhanh vết thương. Cao Dương cam cúc trộn trong một kem cơ bản đắp tại chỗ làm giảm viêm da tốt hơn dyocyrison 0,25%. Kem Dương cam cúc cũng được chứng minh có hiệu quả điều trị eczema các chi tương đương với hydrocortison 0,25%.

- Cao toàn phần Dương cam cúc và phân đoạn flavonoid rất có hiệu quả làm giảm viêm khi áp dụng tại chỗ.

### **Công dụng, cách dùng:**

Ở châu Âu, nước hãm của hoa Dương cam cúc được dùng để uống chữa chứng khó tiêu, đầy hơi và điều trị trạng thái bồn chồn mất ngủ nhẹ do rối loạn thần kinh. Dược liệu cũng được dùng trong các chế phẩm làm dịu và chống ngứa, nhiễm trùng da, dùng để nuôi dưỡng, bảo vệ da nứt nẻ.

### **\* Liều dùng:**

- Người lớn: 2 đến 8 nụ hoa chia 3 lần/ ngày; 1 - 4ml cao lỏng 1: 1 trong cồn 45% dùng 3 lần/ ngày. Trẻ em: 2 nụ hoa chia 3 lần/ ngày; cao lỏng (ethanol 45 - 60%) một liều 0,6 - 2ml.

- Dùng ngoài: Để đắp hoặc súc miệng, nước hãm 3 - 10% nụ hoa (30 - 100 g/l), cao lỏng 1% hoặc cồn thuốc 5%. Để tắm, nụ hoa 5 g/l. Đối với những chế phẩm bán lỏng: cao nước - cồn tương đương 3 - 10%. Để hít hơi: 6g Dương cam cúc hoặc 0,8g cao cồn trong 1 lít nước nóng.

Không dùng cho trẻ em dưới 3 tuổi.

Không dùng cho những bệnh nhân nhạy cảm hay dị ứng với những cây họ Cúc.

## **2. Quá trình điều chế các sản phẩm từ Dương cam cúc**

Các hoạt chất được quan tâm chiết xuất từ hoa Dương cam cúc là tinh dầu và cao toàn phần chứa flavonid. Nguyên liệu nghiên cứu là cây mang hoa và hoa khô Dương cam cúc do Trung tâm trồng và chế biến cây thuốc Đà Lạt (Vimedimex) cung cấp. Cây di thực từ châu Âu, được trồng trên vùng đất đồi Cam Ly, Vạn Thành, Đà Lạt. Trung bình mỗi vụ trung tâm trồng khoảng 2000 m<sup>2</sup>, năng suất thu hoạch khoảng 300 – 500 kg/ha tùy thuộc mùa và điều kiện thời tiết. Bộ phận dùng là hoa phơi khô.

### **2.1 Các phương pháp chiết xuất tinh dầu**

#### **\* Chiết xuất bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước**

Các phương pháp chủ yếu để chiết xuất tinh dầu Dương cam cúc là chưng cất lôi cuốn hơi nước. Hàm lượng tinh dầu rất phụ thuộc vào thời chưng cất. Falzari đã thực nghiệm theo dõi việc chưng cất hoa Dương cam cúc trong 24 giờ. Tinh dầu thu được được phân tích bằng GC/MS. Kết quả thu được:

-  $\beta$ -farnesene: lúc đầu tăng dần đến cao điểm khoảng 40% trong khoảng 8 – 10 giờ đầu rồi sau đó giảm dần.

- Germacrene-D: đạt đỉnh ở mức khoảng 5,5% khoảng 4-6 giờ đầu sau đó giảm dần.

- Bicyclogermacrene: gần như ổn định trong suốt quá trình chưng cất 8 giờ đầu ở mức 5%, giảm sau 10 giờ trở đi.

-  $\alpha$ -farnesene: tăng dần đến đỉnh cao là 6,5% khoảng 8 giờ đầu, sau đó giảm dần.

- Bisabolol oxide B: bắt đầu tăng dần đến 14,6%, sau đó giảm dần sau 8 giờ rồi lại tăng nhẹ trở lại vào cuối chung cất.

- Bisabolone oxide: cũng tăng dần đến 3,2% và giảm nhẹ sau 10 giờ rồi tăng nhẹ trở lại vào cuối chung cất.

-  $\alpha$ -bisabolol: tăng đến 2,9% và ổn định trong suốt quá trình chung cất.

- Chamazulene: đạt đỉnh cao khoảng 16,3% trong 2 giờ, sau đó giảm và ổn định trong suốt quá trình chung cất.

- Bisabolol oxide A: tăng đều đặn trong vòng 12 giờ đầu chung cất, sau đó tăng lên khoảng 20,7%

- Dicycloether: có hàm lượng khoảng 9% trong 6 giờ đầu chung cất, sau đó giảm nhanh dần.

Như vậy thời gian chung cất để được chất lượng tinh dầu tốt là tập trung vào những thành phần mong muốn và không nên vượt quá 12 giờ.

### **\* Chiết xuất bằng dung môi**

Thí nghiệm trên mẫu hoa khô Dương cam cúc được chiết xuất với hexan ngâm trong vòng 2 giờ, 3 lần. Dịch ngâm được xác định thành phần bằng GC/MS. Các thành phần hiện diện trong tinh dầu bằng phương pháp này cũng giống như phương pháp lôi cuốn hơi nước nhưng không có chamazulene, có thêm một số thành phần khác.

## **2.2 Các phương pháp điều chế cao**

Điều chế cao toàn phần Dương cam cúc bằng 3 phương pháp: CO<sub>2</sub> SCF, ngâm kiệt và đun hồi lưu

### **Điều chế cao bằng phương pháp CO<sub>2</sub> siêu tới hạn**

Thêm dung môi hỗ trợ ethanol 5% với điều kiện nhiệt độ, áp suất đã được thăm dò là nhiệt độ 40°C, 120 atm trong 4 giờ. Xác định hiệu suất chiết.

### **Điều chế cao bằng phương pháp ngâm kiệt**

#### *Thử nghiệm thăm dò*

Qua các thử nghiệm thăm dò để xác định điều kiện điều chế cao TP. thời gian làm ấm 3 giờ được cố định. Tỷ lệ dược liệu và dung môi, kích thước dược liệu, % ethanol, thời gian ngâm lạnh được khảo sát để tìm điều kiện chiết xuất flavonoid TP đạt hiệu suất cao.

#### *Quy trình điều chế cao bằng phương pháp ngâm kiệt*

Lấy 10 kg bộ dược liệu như trên, làm ấm bằng ethanol được chọn từ thí nghiệm thăm dò khoảng 3 giờ. Ngâm lạnh với ethanol này trong thời gian được



chọn trong bình ngưng kết. Rút dịch chiết tốc độ 2ml/phút được khoảng 8 kg (dịch chiết đầu), để riêng. Tiếp tục dùng hết lượng dung môi theo kết quả thăm dò thì dừng lại, rút hết dung môi còn thừa và ép bã thu được dịch chiết sau. Cát thu hồi dung môi, dịch chiết còn lại khoảng 2 kg và trộn với dịch chiết đầu được khoảng 10 kg. Xác định hàm lượng flavonoid TP bằng phương pháp cân và tỷ lệ cắn khô. Dịch lọc đã loại tạp được chuyển qua thiết bị cô áp suất giảm cho đến đạt khối lượng quy định. Xác định hàm lượng flavonoid TP.

#### *Khảo sát tính chất của dịch chiết ngưng kết*

Xác định hàm lượng flavonoid TP và tỷ lệ cắn khô của dịch chiết trước và sau khi loại tạp.

#### *Khảo sát tính chất của cao ngưng kết*

Xác định hàm lượng flavonoid TP và tỷ lệ cắn khô của cao thu được.

### **Điều chế cao bằng phương pháp đun hồi lưu**

#### *Thử nghiệm thăm dò*

Lấy kết quả về kích thước dược liệu, HL ethanol (%) của phương pháp ngưng kết, tiếp tục khảo sát tỷ lệ dược liệu và dung môi, thời gian đun hồi lưu để tìm điều kiện chiết suất flavonoid TP đạt hiệu suất cao.

#### *Quy trình điều chế cao bằng phương pháp đun hồi lưu*

Cho khoảng 10 kg bột hoa khô được xay nửa mịn sau khi đã chiết tinh dầu bằng phương pháp CO<sub>2</sub> SCF vào thiết bị chiết nóng có 2 vỏ. Dung môi chiết được chọn từ thử nghiệm thăm dò, ngâm dược liệu với dung môi ngập mặt ít nhất 5 cm trong 2 giờ. Chiết lần 1 bằng cách đun hồi lưu ở nhiệt độ và thời gian theo kết quả thăm dò kể từ lúc sôi, phải giữ sôi đều. Khi chiết đủ thời gian, lọc dịch chiết qua thiết bị lọc. Tiếp tục chiết lần 2, tiến hành như lần 1 trong thời gian được chọn từ kết quả thăm dò. Rút dịch chiết, ép bã, cho ra dịch chiết 2. Gộp dịch chiết 1, 2 vào dụng cụ thích hợp. Dịch chiết được chuyển sang thiết bị cất thu hồi dung môi lỏng đến cao khoảng 10 kg. Xác định hàm lượng flavonoid TP bằng phương pháp cân và tỷ lệ cắn khô. Cát thu hồi bột ethanol trong dịch chiết rồi cho thêm ethanol 90% đủ cho 10 kg, khuấy trộn đều, để lắng qua đêm rồi lọc loại tạp, thu dịch lọc, xác định lại hàm lượng flavonoid TP và tỷ lệ cắn khô. Dịch lọc đã loại tạp được chuyển qua thiết bị cô áp suất giảm cho đến khi đạt khối lượng quy định. Xác định hàm lượng flavonoid TP.

#### *Khảo sát tính chất của dịch chiết và cao đun hồi lưu*

Tiến hành tương tự như dịch chiết và cao của phương pháp ngưng kết.

## **So sánh chất lượng dịch chiết và cao của các phương pháp**

So sánh hàm lượng flavonoid TP và tỉ lệ căn khô của dịch chiết trước và sau khi loại tạp tương ứng với các phương pháp. Dựa trên kết quả này có thể đánh giá về các phương pháp điều chế dịch chiết.

So sánh chất lượng cao điều chế từ các phương pháp dựa trên hiệu suất, giá thành sản phẩm của các cao để chọn lựa phương pháp phù hợp nhất.

## **Xây dựng tiêu chuẩn và kiểm nghiệm cao toàn phần**

*Xây dựng tiêu chuẩn cao toàn phần điều chế bằng phương pháp được chọn*

Xây dựng TCCS cho cao Dương cam cúc điều chế theo phương pháp đã chọn về cảm quan, độ tan, độ ẩm, tro toàn phần, định tính, định lượng, chỉ tiêu an toàn.

## **3. Công nghệ CO<sub>2</sub> siêu tới hạn sử dụng trong chiết xuất tinh dầu Dương cam cúc và các nguyên liệu khác**

Công nghệ trích ly sử dụng CO<sub>2</sub> ở trạng thái siêu tới hạn được ứng dụng nhiều trong công nghiệp dược phẩm, thực phẩm và mỹ phẩm. Các hợp chất tự nhiên như tinh dầu, chất màu, chất thơm là những chất nhạy cảm với các tác nhân vật lý như nhiệt độ, ánh sáng và đòi hỏi mức độ tinh sạch cao trong quá trình sản xuất. Trong trường hợp này, công nghệ sử dụng CO<sub>2</sub> ở trạng thái siêu tới hạn là một lựa chọn tối ưu. Hiện nay nhiều ứng dụng để tách chiết cafein, ditepen, dầu coffee, các dược chất đã được áp dụng thành công. Đặc biệt, phương pháp trích ly sử dụng CO<sub>2</sub> ở trạng thái siêu tới hạn (supercritical carbon dioxide extraction) là công nghệ được sử dụng nhiều trong công nghiệp dược phẩm bởi nó khắc phục được các nhược điểm của phương pháp trích ly bằng dung môi hữu cơ.

Những đặc tính của khí nén CO<sub>2</sub> đã được quan tâm cách đây hơn 130 năm. Năm 1861, Gore là người phát hiện ra CO<sub>2</sub> lỏng có thể hoà tan camphor và naphthalen một cách dễ dàng và cho màu rất đẹp nhưng lại khó hoà tan các chất béo. Tuy nhiên, từ năm 1875-1876 Andrew lại là người nghiên cứu về trạng thái siêu tới hạn của CO<sub>2</sub>, tức là CO<sub>2</sub> chuyển từ trạng thái lỏng sang trạng thái khí nhưng vẫn chưa đạt ở dạng khí hoàn toàn mà ở điểm giữa của hai trạng thái lỏng- khí. Những kết quả của ông đo về áp suất, nhiệt độ CO<sub>2</sub> ở trạng thái này rất gần với các số liệu mà hiện nay đang sử dụng.

Một thời gian sau, Buchner (1906) cũng công bố về một số hợp chất hữu cơ khó bay hơi nhưng lại có khả năng hoà tan trong SCO<sub>2</sub> cao hơn nhiều trong CO<sub>2</sub> lỏng. Năm 1920 – 1960 hàng loạt các công trình nghiên cứu về dung môi ở trạng thái siêu tới hạn ra đời. Đó là các dung môi như: etanol, metanol, di-ethyl eter... và

các chất tan dùng để nghiên cứu: các chất thơm, tinh dầu, các dẫn xuất halogen, các tri-glyxerit và các hoạt chất hữu cơ khác. Mặc dù vậy CO<sub>2</sub> vẫn được lựa chọn dùng trong phương pháp này vì nó có các tính chất mà dung môi khác không có. Cho đến thập kỷ 80, công nghệ SCO<sub>2</sub> mới thật sự phổ biến và được nghiên cứu một cách sâu rộng hơn.

Đi cùng với quá trình phát triển của xã hội, tinh dầu được xem là nguồn nguyên liệu đóng vai trò quan trọng. Với những công dụng thiết thực, từ lâu tinh dầu được mệnh danh là báu vật từ thiên nhiên vì chứa nhiều hoạt chất có khả năng ứng dụng trong đời sống con người. Ngày nay, các nhà khoa học đã phát triển, đưa tinh dầu trở thành nguồn nguyên liệu được sử dụng rộng rãi trong việc trị liệu, chăm sóc sức khỏe, tăng thêm hương liệu cho thực phẩm và đồ uống cũng như sản xuất nước hoa, mỹ phẩm làm đẹp trên toàn thế giới. Để tách tinh dầu ra khỏi nước, có nhiều phương pháp, trong đó trích ly bằng công nghệ CO<sub>2</sub> lỏng siêu tới hạn cho ra sản phẩm tinh dầu tự nhiên, không sử dụng dung môi độc hại và thân thiện với môi trường.

Tinh dầu là hỗn hợp nhiều thành phần, thường có mùi thơm, không tan trong nước, tan trong các dung môi hữu cơ, bay hơi được ở nhiệt độ thường, được chiết xuất từ lá, thân, hoa, vỏ, rễ hoặc những bộ phận khác của thực vật.

Tinh dầu - báu vật của thiên nhiên - được ứng dụng rất đa dạng trong các lĩnh vực dược phẩm, trị liệu, chăm sóc sức khỏe, làm đẹp trên toàn thế giới:

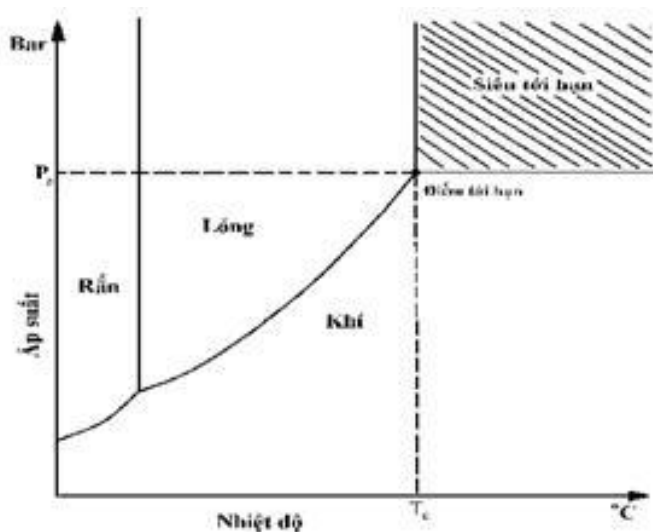
- *Dùng làm thuốc:* Kích thích tiêu hoá, lợi mật, thông mật; kháng khuẩn và diệt khuẩn; kích thích thần kinh trung ương; diệt ký sinh trùng; chống viêm, làm lành vết thương, sinh cơ; thông các giác quan, khai thông hô hấp, giảm đau, giảm stress; làm mềm mại, mượt mà da...
- *Dùng trong thực phẩm:* tạo mùi thơm các loại bánh kẹo, mứt, đồ hộp; pha chế rượu, đồ uống; sản xuất chè, thuốc lá,...
- *Dùng trong mỹ phẩm:* pha chế nước hoa, xà phòng, mỹ phẩm, các hương liệu khác tạo mùi thơm nhẹ nhàng và tinh khiết,...

### **Nguyên lý công nghệ CO<sub>2</sub> siêu tới hạn**

Đối với các chất thông thường, tùy theo điều kiện nhất định, sẽ tồn tại ở một trong 3 trạng thái rắn, lỏng và khí. Nếu nén chất khí tới một áp suất đủ cao, khí sẽ hóa lỏng. Tuy nhiên, có một giá trị áp suất mà ở đó, nếu nâng dần nhiệt độ lên thì chất lỏng cũng không thể trở về trạng thái khí, mà rơi vào một vùng trạng thái đặc biệt gọi là trạng thái siêu tới hạn.

Vật chất ở trạng thái này mang nhiều đặc tính của cả chất khí và chất lỏng, nghĩa là vừa có khả năng hòa tan được các chất như pha lỏng, vừa có khả năng

khuếch tán cao của pha khí. Bất kỳ dung môi nào cũng sẽ ở trạng thái siêu tới hạn nếu tồn tại ở nhiệt độ và áp suất trên giá trị tới hạn. Trên giản đồ, nhiệt độ điểm tới hạn và áp suất điểm tới hạn của chất nằm cuối đường cong cân bằng lỏng-khí.



**Giản đồ pha**

Sự trích ly của chất lỏng siêu tới hạn tùy thuộc vào tỷ trọng của nó (tỷ trọng có thể điều khiển được bằng cách thay đổi áp suất hay nhiệt độ). Tỷ trọng của lưu chất biến đổi nhanh ở vùng nhiệt độ và áp suất gần điểm tới hạn.

Carbon dioxit (CO<sub>2</sub>) ở trạng thái siêu tới hạn thường được sử dụng để chiết các chất thơm và chất béo, chủ yếu do giá trị tới hạn thấp (31,04°C; 73,79 bar), không độc, giá rẻ. Sau quá trình chiết, để thu hồi sản phẩm chỉ cần giảm áp suất thấp hơn áp suất tới hạn thì CO<sub>2</sub> chuyển sang dạng khí ra ngoài, còn sản phẩm được tháo ra ở bình hứng mà không để lại dư lượng hóa chất như trong dung môi cô điển. Ngoài ra, độ nhớt của CO<sub>2</sub> yếu và gần với độ nhớt của chất khí cho phép dòng chảy qua với tốc độ lớn và như vậy tăng hiệu suất tách.

Tinh dầu sản xuất bằng phương pháp CO<sub>2</sub> siêu tới hạn thường cho chất lượng cao khi so sánh với phương pháp trích ly bằng dung môi thông dụng.

**Giá trị tới hạn của CO<sub>2</sub>**

STT	Thông số	Đơn vị	Giá trị tới hạn
1	Áp suất	bar	73,79
2	Nhiệt độ	°C	31,04
3	Tỷ trọng	g/cm <sup>3</sup>	0,468

## Tính chất của CO<sub>2</sub> ở pha khí, pha lỏng và pha siêu tới hạn

	Tỷ trọng (g.cm <sup>-3</sup> )	Độ nhớt (g.cm <sup>-1</sup> .s <sup>-1</sup> )	Hệ số khuếch tán (cm <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> )
Pha khí	(0,1 - 2)10 <sup>-3</sup>	(1 - 3) 10 <sup>-4</sup>	0,1 - 0.4
Pha siêu tới hạn	0,47	3.10 <sup>-4</sup>	7.10 <sup>-4</sup>
Pha lỏng	0,6 - 1,6	(0,2 - 3) 10 <sup>-2</sup>	(0,2 - 2) 10 <sup>-5</sup>

### Ưu điểm của phương pháp:

- Độ hòa tan của CO<sub>2</sub> được kiểm soát bởi áp suất và nhiệt độ.
- CO<sub>2</sub> dễ kiếm, rẻ, không độc hại với môi trường và con người, không ăn mòn thiết bị, không gây cháy nổ. CO<sub>2</sub> được thu hồi dễ dàng sau đoạn trích do tính chất dễ bay hơi của chúng.
- Những thành phần không bền nhiệt được chiết ra với sự phân hủy thấp. Ngoài ra, điều kiện chiết xuất có thể được kiểm soát, dễ lựa chọn điều kiện tách.
- Những thành phần có nhiệt độ sôi cao được chiết ra một cách tương đối ở nhiệt độ thấp bởi CO<sub>2</sub>.
- Ít có phản ứng với các chất cần tách. Không để lại vết dung môi có hại trên sản phẩm tách.

Là phương pháp thu về các sản phẩm an toàn, do vậy, hiện nay công nghệ trích ly bằng CO<sub>2</sub> lỏng siêu tới hạn đang được áp dụng phổ biến để chiết tách các hoạt chất thiên nhiên sử dụng trong nhiều ngành công nghiệp. Công nghệ này được dùng để chiết tách các hoạt chất chữa bệnh, tăng cường sức khỏe từ các nguồn nguyên liệu thảo mộc. Trong ngành mỹ phẩm và công nghệ sinh học, công nghệ trích ly bằng CO<sub>2</sub> lỏng siêu tới hạn được dùng để chiết tách các tinh dầu quý hiếm để phục vụ cho công nghiệp sản xuất nước hoa, đặc biệt là các loại nước hoa cao cấp và hương liệu trong đồ uống và thực phẩm.

Một số nước trên thế giới đã ứng dụng công nghệ CO<sub>2</sub> lỏng siêu tới hạn ở quy mô công nghiệp với một số sản phẩm nhất định như: Chiết xuất tinh dầu làm mỹ phẩm từ hoa huylông (hoa bia) và thảo dược ở New Zealand, Ba Lan; tách loại cafein trong cà phê, trà ở Đức và Italia; chiết xuất tinh dầu từ gia vị và thảo dược ở Ấn Độ; xử lý thuốc trừ sâu trong gạo ở Đài Loan; chiết xuất tinh dầu mè ở Hàn Quốc... Tại Việt Nam, công nghệ trích ly bằng CO<sub>2</sub> lỏng siêu tới hạn đã được ứng dụng để chiết xuất tinh dầu trầm, tinh dầu dương cam cúc, tinh dầu gấc, tinh dầu tiêu, tinh dầu quế...

Có thể thấy việc ứng dụng công nghệ CO<sub>2</sub> lỏng siêu tới hạn trong chiết xuất các tinh dầu được xem là xu hướng vừa đảm bảo an toàn cho người tiêu dùng vừa thân thiện với môi trường hiện nay. Với những ưu điểm về công nghệ, đây là hướng đi mới nhiều tiềm năng phát triển của các ngành công nghiệp trong sản xuất và chế biến sản phẩm từ thảo dược thiên nhiên.

### **Nguyên lý chiết xuất tinh dầu Dương cam cúc**

Bột hoa dương cam cúc được chuyển vào bình chiết chịu áp, áp suất bình chiết tăng dần. Khí CO<sub>2</sub> cũng được bơm vào bình chiết bằng thiết bị chuyên dụng. Điều chỉnh các thông số nhiệt độ (từ 30 – 40°C), áp suất lần lượt là (100, 120, 160, 230 bar), tốc độ dòng lần lượt là (1,67x10<sup>-5</sup> kg/s, 3,33x10<sup>-5</sup> kg/s), thời gian thực hiện là 10 giờ.

Sau thời gian qui định, CO<sub>2</sub> lỏng thẩm thấu vào nguyên liệu và chiết xuất hoạt chất. Van giới hạn được mở chuyển CO<sub>2</sub> lỏng cùng hoạt chất được chiết vào bình thu. Hoạt chất thu được là hỗn hợp tinh dầu và sáp. Sử dụng tách phân đoạn để tách tinh dầu ra khỏi sáp. CO<sub>2</sub> được thu hồi.

### **Các yếu tố ảnh hưởng đến quy trình chiết tinh dầu dương cam cúc**

- *Ảnh hưởng của áp suất và nhiệt độ:* trong thực tế dung môi CO<sub>2</sub> siêu tới hạn dùng để chiết tách thường trong khoảng nhiệt độ lớn hơn nhiệt độ tới hạn 1-2 lần, áp suất lớn hơn áp suất tới hạn khoảng 3,5 lần. Vậy có thể điều chỉnh áp suất và nhiệt độ để thay đổi tỉ trọng nhằm thay đổi khả năng hòa tan của dung môi siêu tới hạn. Khả năng nén cao của CO<sub>2</sub> siêu tới hạn làm cho việc thay đổi tỷ trọng dễ dàng, điều này giúp việc tách chiết có lựa chọn một hay nhiều thành phần ra khỏi dược liệu.

- *Ảnh hưởng của thời gian chiết xuất:* việc đảm bảo sự tiếp xúc tối đa của nguyên liệu chiết xuất và dung môi là rất quan trọng trong quá trình chiết xuất với dung môi siêu tới hạn. Thành phần và hàm lượng các chất trong tinh dầu chiết được bằng sắc ký tại 100 bar, 30oC và 1,67x10<sup>-5</sup> kg/s theo thời gian 30 phút hàm lượng α-bisabolol là 10%, 300 phút là 10,62%, 600 phút lên tới 20,89%.

- *Ảnh hưởng của tốc độ dòng dung môi:* tốc độ chảy của dung môi siêu tới hạn thẩm vào tế bào dược liệu có ảnh hưởng lớn đến hiệu suất chiết. Tốc độ dòng phù hợp, dung môi vừa thẩm sâu vào tế bào nguyên liệu, giúp tăng hiệu suất chiết, vừa tiết kiệm thời gian.

- *Ảnh hưởng của chất hỗ trợ:* chất hỗ trợ cho thêm vào dung môi chiết xuất với một số mục đích như gia tăng tính thẩm thấu của dung môi vào dược liệu hay làm thay đổi tính tan của hoạt chất trong dung môi vì thay đổi tính phân cực của dung môi.

- *Ảnh hưởng của kích thước nguyên liệu:* việc giảm kích thước nguyên liệu trong quy trình chiết với dung môi siêu tới hạn có thể làm tăng diện tích tiếp xúc giữa dược liệu và dung môi, tuy nhiên cũng không loại trừ kích thước quá nhỏ sẽ gây ra hiện tượng vón cục làm giảm hiệu suất chiết.

#### **4. Công thức bộ dược, mỹ phẩm từ cao và tinh dầu Dương cam cúc (CHAM)**

**\* Công thức kem chứa tinh dầu dương cam cúc:**

##### **Nguyên liệu**

- Tinh dầu dương cam cúc, chitosan đạt tiêu chuẩn cơ sở (TCCS).
- Olivem 1000, polawax GP 200, tween 20, propylene glycol, chất tạo đặc, chất bảo quản, nước tinh khiết. (B&T-Ý, CRODA)
- Chất gây viêm là formalin.
- Kem đôi chiều chứa tinh dầu dương cam cúc 0,4% (Slovakia)

##### **Thiết bị**

- Thiết bị đồng nhất hoá 10243-Nhật, làm mịn thuốc mỡ ERWEKA.
- Cân phân tích AND HR 2000-Nhật, cân kỹ thuật Sarito CP4202S-Nhật.
- Máy đo thể tích chân chuột Plethysmometer 7140-Ý.
- Keo thủy tinh giữ chuột với vĩ lưới đỡ.

##### **Súc vật nghiên cứu**

Chuột nhắt trắng, phái đực chủng Swissalbino, 5-6 tuần tuổi, trưởng thành, trọng lượng trung bình 22-25 g do Viện vắc xin và sinh phẩm y tế Nha Trang cung cấp. Nuôi ổn định 3-5 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm.

##### **Phương pháp nghiên cứu**

Dùng mô hình gây phù chân chuột bằng dung dịch formalin 2% để đánh giá tác động kháng viêm của các kem thử nghiệm.

##### **Phương pháp đánh giá tác động kháng viêm**

Chuột được chia làm các lô, mỗi lô từ 8-12 con tùy thí nghiệm. Lô chuột chứng có gây viêm nhưng không được điều trị. Các lô chuột thử có gây viêm và được điều trị bằng các mẫu thử cần kiểm tra. Chuột được tiêm dưới da 0,02 ml formalin 2% vào gan bàn chân phải sau vào ngày thứ 1, 3, 5. Chân trái không tiêm làm chứng. Các lô chuột được bôi mẫu thử 2 lần mỗi ngày, liên tục trong 6 ngày. Lô chứng cũng được tiêm formalin nhưng không được bôi gì. Đánh giá mức độ viêm bằng cách đo thể tích chân chuột bằng thiết bị Plethysmometer vào sáng ngày thứ bảy. Tiến hành đo 3 lần và lấy giá trị trung bình.

## **Đánh giá kết quả**

Kết quả được tính theo số trung bình ở mỗi lô chuột. Dùng phép thống kê Mann-Whitney của phần mềm Minitab 14.0 để so sánh hiệu lực kháng viêm giữa các lô với nhau và với thuốc đối chiếu.  $P < 0,05$  được cho là có ý nghĩa thống kê.

- Bào chế một số công thức kem thuốc theo qui trình và các tá dược đã được nghiên cứu, có sự phối hợp giữa tinh dầu dương cam cúc và chitosan với các tỉ lệ thăm dò khác nhau.

- Đánh giá tác động kháng viêm của các kem thăm dò để khảo sát ý nghĩa của sự phối hợp các hoạt chất.

- Tối ưu hóa thành phần hoạt chất trong công thức nhằm chọn ra tỉ lệ phối hợp của hai hoạt chất trong kem vừa cho tác động kháng viêm tốt vừa đem lại hiệu quả kinh tế theo phương pháp bố trí thí nghiệm kiểu yếu tố đầy đủ và tiến đến vùng gần dùng bằng phương pháp Box-Willson.

## **Kết quả**

Qua các thí nghiệm thăm dò, tỉ lệ hoạt chất trong các công thức kem thuốc được đề nghị là:

- Tinh dầu dương cam cúc ..... 0,1 - 0,3%
- Chitosan ..... 1 - 3%
- Tá dược ..... vđ 100%

## **Kết luận**

Nghiên cứu đã xác định được tỉ lệ tinh dầu dương cam cúc 0,35% và chitosan 2% trong kem thuốc cho tác động kháng viêm tương đương với kem thuốc chứa tinh dầu dương cam cúc ngoại nhập. Qua kết quả này, chế phẩm đã góp phần vào việc ứng dụng một cách hiệu quả các sản phẩm từ dương cam cúc di thực trồng tại Việt Nam, một nguồn nguyên liệu quý nhưng chưa được đầu tư nghiên cứu rộng rãi ở nước ta.

## **5. Tính năng của bộ sản phẩm CHAM trong hỗ trợ và điều trị viêm da dị ứng**

**\* Kem được bào chế từ cây dương cam cúc:**

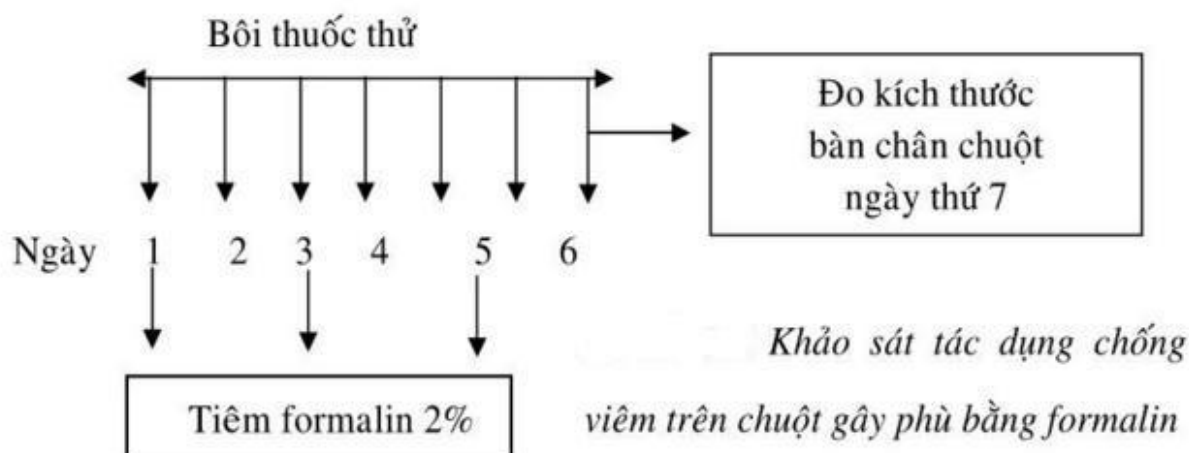
**Thử tác dụng kháng viêm, kháng khuẩn của kem thuốc**

*Đánh giá tác dụng kháng viêm của kem theo mô hình gây phù chân chuột bằng formalin 2%*

Chuột được tiêm dưới da 0,02 ml formalin 2% vào gan bàn chân sau vào ngày thứ 1, thứ 3 và thứ 5. Các lô chuột thử được bôi thuốc 30 phút sau khi tiêm



formalin ở ngày 1, 3, 5 và lần thứ hai vào lúc 3 giờ chiều cùng ngày. Vào các ngày khác chuột được bôi thuốc thử 2 lần/ngày và liên tục trong 5 ngày. Đo kích thước chân chuột vào sáng ngày thứ 7.



Cách đo thể tích chân và thao tác gây viêm tương tự như gây phù bằng carrageenin 1%, chỉ khác nhau ở thời điểm gây viêm, đo và bôi thuốc thử.

*Đánh giá sơ bộ tác dụng kháng khuẩn bằng cách xác định MIC theo phương pháp pha loãng trong môi trường rắn*

Tạo những bản thạch có chứa chất thử nghiệm với nồng độ tăng dần. Chấm 1  $\mu$ l vi khuẩn thử nghiệm với nồng độ  $10^6$  vi khuẩn/ml lên các bản thạch. Sau khi ấp ở  $37^\circ\text{C}$  trong 24 giờ, quan sát sự tăng trưởng vi khuẩn bằng mắt thường, nồng độ MIC là nồng độ thấp nhất ngăn cản sự tăng trưởng của vi khuẩn quan sát được bằng mắt thường.

Chỉ tiêu an toàn của kem thuốc: thực hiện theo TCVN 6972 – 2001

Chỉ tiêu kích ứng da: thực hiện theo TCVN 6972 – 2001

**Kết luận:** Qua kiểm nghiệm sản phẩm đã được bào chế, kem cho cảm quan tốt, pH đạt yêu cầu phù hợp với pH da (7,1), khá bền (thời gian tách lớp trung bình là 18,32 phút), độ phóng thích hoạt chất tốt (65,15%) sau 60 phút, có khả năng kháng khuẩn dựa trên MIC, kháng viêm tương đương với kem đối chiếu.

**\* Gel được bào chế từ cây dương cam cúc:**

**Đánh giá độ an toàn**

- Đối tượng thử nghiệm: chọn 20 người tình nguyện có da bình thường, khỏe mạnh, không bị dị ứng da, không bị bệnh về da. Vùng thử là mặt trong cánh tay.

- Thực hiện: làm sạch vùng da thử nghiệm bằng nước thường, phết sản phẩm kem, gel khoảng 1 g lên vùng da thử nghiệm khoảng 3 x 3 cm. Dùng bút đánh dấu loại sản phẩm thử nghiệm và sản phẩm đối chứng. Đặt lên trên một miếng giấy thấm sau đó đặt tiếp một miếng giấy bóng rồi dùng băng dán lại.

- Đánh giá kết quả sau thời gian thử nghiệm 30 phút, 1, 2, 4 ngày, theo tiêu chuẩn điểm đối với phản ứng da trong dán. Sản phẩm có điểm số trong khoảng 0 – 0,5 được xem không gây kích ứng da.

### **Đánh giá khả năng làm sạch da, chống nhờn**

- Đối tượng thử nghiệm: chọn 10 người tình nguyện có da bình thường hay nhờn hay bị mụn. Nơi thử là vùng trán hay má.

- Thực hiện: trước khi thử nghiệm không dùng bất kỳ sản phẩm nào trong vòng 24 giờ. Rửa sạch vùng mặt phải bằng sản phẩm gel, vùng mặt trái bằng sản phẩm đối chứng.

- Đánh giá kết quả thông qua mức độ thay đổi bã nhờn (sebum) sau khi rửa mặt bằng nước sạch so với rửa bằng gel rồi quan sát trực tiếp trên miếng thử làm sẵn và phân tích kết quả bằng các thiết bị đo bã nhờn trên da chuyên dụng. Kết hợp với máy soi da và máy chụp hình kỹ thuật số.

### **Đánh giá khả năng giữ ẩm**

Một gel tốt là có khả năng làm sạch da nhưng không khô da. Để kiểm tra tính chất này, nghiên cứu tiến hành đo độ ẩm da sau khi dùng gel.

- Đối tượng thử nghiệm: chọn 10 người tình nguyện trên đã dùng gel. Nơi thử là vùng trán, má. Môi trường đo được tiêu chuẩn ở 23 – 25°C, độ ẩm 50 – 60%.

- Thực hiện: làm quen môi trường thử nghiệm trong vòng 2 giờ. Dùng một lượng gel cố định, rửa một lần với thử nghiệm trong ngày hay rửa một ngày một lần với thử nghiệm dài ngày. Đo độ ẩm bằng thiết bị chuyên dụng sau thời gian 0, 4, 8, 12 giờ (trong ngày); 1, 2, 3, 4 tuần (dài ngày) và so sánh với mẫu chuẩn.

Đánh giá kết quả như trên dựa trên các chỉ số của các thiết bị đo độ ẩm da (% độ ẩm tương đối) trước và sau khi dùng sản phẩm.

**Kết luận:** qua kiểm nghiệm sản phẩm đã bào chế cho thấy, gel có khả năng làm sạch da chống nhờn so với nhóm chứng chỉ rửa bằng nước da vẫn ở mức độ dầu nhiều 4,3. Các kết quả đánh giá về mức độ làm sạch da của gel so với mẫu đối chiếu khác nhau không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) cho thấy tác dụng của gel tương đương mẫu đối chiếu. Gel tốt phải vừa có khả năng làm sạch da mà không gây khô da. Kết quả đánh giá độ của da sau khi dùng gel so với nhóm chứng chỉ dùng nước và nhóm dùng mẫu đối chiếu bằng số liệu ẩm tương đối (%) đo trên máy chuyên dụng bằng miếng thử *measure de l'hydratation*.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phan Quốc Kinh (2011), *Giáo trình các hợp chất thiên nhiên có hoạt tính sinh học*, NXB. Giáo dục, Hà Nội.
2. Trần Anh Vũ (2010), *Chuyên đề những nghiên cứu về dược liệu dương cam cúc trên thế giới và Việt Nam*, trường Đại học Y Dược, Tp.Hồ Chí Minh.
3. Trần Anh Vũ (2011), *Nghiên cứu bào chế một số dược phẩm, mỹ phẩm dùng trên da bị viêm và dị ứng từ dương cam cúc di thực (Matricaria chamomilla L.): luận án tiến sĩ dược học*, trường Đại học Y Dược, Tp.Hồ Chí Minh.
4. Trần Anh Vũ; Lê Quang Nghiệm và Nguyễn Thị Chung (2009), *Nghiên cứu xây dựng công thức và qui trình bào chế kem thuốc từ dương cam cúc di thực và nghệ*, Tạp chí Dược học, 6(398), tr.15 – 18.
5. Trần Anh Vũ; Lê Quang Nghiệm và Nguyễn Thị Chung (2009), *Nghiên cứu phân lập apigenin-7-glucosid từ dương cam cúc di thực làm chất đổi chiều*, Tạp chí Dược học, 8(400), tr.40 – 43.
6. Trần Anh Vũ; Nguyễn Ngọc Yến (2011), *Khảo sát tác động kháng viêm công thức kem chứa tinh dầu dương cam cúc và chitosan*, Tạp chí Y học Tp.Hồ Chí Minh, số 1, tập 15, tr.66 – 69.
7. Trần Việt Hưng; Phan Đức Bình (2014), *Dương cam cúc: cây hoa của sự quân bình*, Tạp chí Khoa học phổ thông, 199, tr.17 – 22.
8. Võ Duy Huân (2008), *Dương cam cúc*, truy cập ngày 20/9/2016 từ trang: <http://www.vusta.vn/>.
9. *Xu hướng sử dụng các hợp chất tự nhiên trong dược, mỹ phẩm – Công nghệ bào chế bộ dược, mỹ phẩm dùng cho da nhạy cảm từ cây Dương cam cúc*, tài liệu chương trình báo cáo phân tích xu hướng công nghệ (09/2016), Trung tâm Thông tin và Thống kê Khoa học và Công nghệ, Tp.Hồ Chí Minh.