

DOI: <https://doi.org/10.59294/HIUJS.26.2023.526>

Công thức và đánh giá hoạt tính hạ đường huyết viên nhai cao chiết nước ép củ gừng tươi (*Zingiber officinale*) ở Việt Nam

Phạm Cảnh Em^{1*}, Lê Thị Tường Vi² và Lý Hồng Hương Hạ¹¹Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng, ²Bệnh viện Nhi đồng thành phố

TÓM TẮT

Thân rễ *Zingiber officinale* thường được gọi là gừng, thuộc họ Zingiberaceae là một trong những loại dược liệu quan trọng nhất với phổ hoạt tính sinh học rộng và là loại gia vị phổ biến cho nhiều loại thực phẩm và đồ uống vì vị cay nồng và thơm đặc trưng. Gừng đã được sử dụng rộng rãi tại nhà từ thời cổ đại để điều trị nhiều bệnh bao gồm đau, viêm, hen suyễn, ho, đánh trống ngực và rối loạn tiêu hóa. Mục đích của nghiên cứu là phát triển công thức viên nhai hiệu quả từ cao chiết nước ép củ gừng tươi ở Việt Nam bằng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM). Viên nhai gừng (100 mg) được bào chế bằng phương pháp nén trực tiếp sử dụng tá dược siêu rã crospovidon (CP). Hai mươi công thức được chuẩn bị và hỗn hợp bột được đánh giá các thông số trước khi nén bao gồm góc nghiêng, tỷ trọng khối, tỷ trọng riêng hạt, chỉ số nén và chỉ số Hausner. Các viên nhai có công thức này được đánh giá về sự thay đổi trọng lượng, độ cứng, độ mài mòn và độ rã. Kết quả cho thấy tất cả các thông số vật lý đều nằm trong giới hạn cho phép của Dược điển Việt Nam V. Công thức viên nhai tối ưu với thời gian rã tối thiểu bao gồm 45.945% MCC (cellulose vi tinh thể), 2.462% CP và 1.951% PVP-K30 (polyvinyl pyrrolidone K30). Hơn nữa, viên nhai và cao chiết nước ép củ gừng tươi thể hiện hoạt tính ức chế α -glucosidase *in vitro* tiềm năng với $IC_{50} = 76.4-79.1 \mu\text{g/mL}$ so với thuốc đối chiếu acarbose ($IC_{50} = 131.6 \mu\text{g/mL}$). Tóm lại, việc áp dụng cách tiếp cận RSM đã phát triển thành công viên nhai gừng, có thể mang lại nhiều ưu điểm khác nhau với phương pháp sản xuất đơn giản và hiệu quả về chi phí.

Từ khóa: Gừng, *Zingiber officinale*, viên nhai, tối ưu hóa, RSM

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo xu hướng chung hiện nay, con người ngày càng thích dùng sản phẩm từ thiên nhiên để chăm sóc và bảo vệ sức khỏe. Thuốc có nguồn gốc từ thiên nhiên thể hiện những ưu điểm như ít tác dụng phụ, rẻ tiền và là xu hướng phát triển của ngành công nghiệp dược thế giới. Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), mặc dù công nghệ tổng hợp Hóa dược phát triển nhưng 80% chăm sóc sức khỏe ban đầu đều từ nguồn dược liệu thiên nhiên [1 - 2]. Việt Nam là một nước nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa, có thảm thực vật vô cùng phong phú và đa dạng, đã cung cấp hàng ngàn loại dược liệu quý đáp ứng cho nhu cầu phòng và chữa bệnh. Ngay cả các loại rau - quả, gia vị trong bữa ăn hàng ngày cũng có nhiều hoạt tính sinh học quý giá.

Gừng là gia vị cổ truyền được trồng ở nhiều nước trong vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, từ Đông Á đến Đông Nam Á và Nam Á. Ở Việt Nam, cây được trồng ở khắp các địa phương, từ vùng núi cao đến đồng bằng và ngoài các hải đảo. Củ gừng được sử dụng để giảm đau và điều trị một số bệnh thông thường chẳng hạn như đau đầu, cảm lạnh, buồn nôn và nôn mửa. Nhiều hoạt chất trong củ gừng đã được xác định như phenolic và terpen. Các hợp chất phenolic chủ yếu là gingerol, shogaol và paradol đã tạo nên các hoạt tính sinh học khác nhau của gừng. Trong những năm gần

đây, gừng đã được chứng minh có các hoạt tính sinh học đa dạng bao gồm hoạt tính chống oxy hóa, chống viêm, kháng khuẩn và kháng ung thư. Ngoài ra, các nghiên cứu cũng đã chứng minh rằng gừng có tiềm năng ngăn ngừa và kiểm soát một số bệnh như thoái hóa thần kinh, bệnh tim mạch, béo phì, đái tháo đường, rối loạn hô hấp, buồn nôn và nôn do hóa trị liệu [3 - 4]. Tuy nhiên, việc sử dụng trực tiếp dược liệu hoặc cao chiết dược liệu có nhiều hạn chế như: cần có kiến thức về dược liệu; tốn nhiều thời gian, công sức và vật tư; nhiều loại dược liệu có mùi vị khó chịu.

Ngày nay, ngoài các dạng bào chế đông dược truyền thống như thuốc nước, rượu thuốc, viên hoàn cứng, hoàn mềm,... cũng như nhiều chế phẩm từ dược liệu được bào chế dưới dạng chế phẩm tân dược như viên nén, viên bao, viên nang, viên nang mềm, trà thuốc,... giúp dễ lưu trữ, tác dụng nhanh, tiện dụng và hiệu quả hơn. Ngoài ra, viên nhai là dạng thuốc được bào chế dưới dạng viên nén đặc biệt. Đặc điểm của viên nhai là cần phải nghiền nhỏ bằng răng trước khi nuốt. Dạng viên này thích hợp đối với bệnh nhân nằm liệt giường khó nuốt, trẻ em, người già trên 60 tuổi hoặc trong trường hợp không có nước sẵn để uống như khi di chuyển trên đường. Mục đích khi sử dụng viên nhai là giúp tăng khả năng hấp thu thuốc, giúp người dùng dễ

Tác giả liên hệ: ThS. Phạm Cảnh Em

Email: empc@hiu.vn

nuốt hơn thông qua hoạt động nghiền nhỏ chế phẩm. Hơn nữa, viên nhai còn tạo cảm giác ngon miệng, ổn định, liều dùng chính xác và dễ phân phối [3]. Do vậy, mục đích của nghiên cứu này là tối ưu hóa thành phần công thức và xác định hoạt tính hạ đường huyết của viên nhai cao chiết của nước ép củ Gừng tươi (*Zingiber officinale*) ở Việt Nam. Nghiên cứu hy vọng sẽ giúp đa dạng hóa sản phẩm chế biến từ củ Gừng ở Việt Nam. Bên cạnh đó, kết quả của nghiên cứu có thể góp phần nâng cao giá trị cây gừng ở Việt Nam, nâng cao thu nhập cho người trồng, mở rộng vùng trồng gừng và giảm việc nhập khẩu các sản phẩm từ gừng vào Việt Nam.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là viên nhai của cao chiết từ nước ép củ Gừng tươi (hay gọi tắt là cao chiết củ Gừng tươi) ở Việt Nam.

Gừng (7 - 8 tháng tuổi) được thu tại vườn dược liệu núi Cấm của tỉnh An Giang, Việt Nam vào ngày 10/03/2023. Củ Gừng tươi được rửa sạch sơ bộ bằng nước thường. Sau đó, củ Gừng tươi tiếp tục được rửa sạch bằng nước cất, để ráo nước, thái nhỏ và trộn đều.

2.2. Hóa chất và thiết bị nghiên cứu

Các tá dược có nguồn gốc từ Trung Quốc với độ tinh khiết dược dụng và đạt tiêu chuẩn chất lượng của Dược điển Mỹ (USP44) [5].

Các thiết bị chính được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: máy khuấy từ gia nhiệt IKA (Đức), tủ sấy Memmert (Đức), máy nghiền mẫu (FM-681 C, Hanil, Incheon, Hàn Quốc), máy ép nước cốt gia đình (Việt Nam), máy cô quay chân không Rotavapor® (Buchi Essen, Đức), cân phân tích Shimadzu (Nhật), máy đo độ cứng và độ dày PTB 331E (Pharmatest, Đức), máy đo độ rã PTZ S/DIST3 (Pharmatest, Đức), máy đo độ mài mòn PTF E/ER (Pharmatest, Đức) và máy dập viên xoay tròn 6 chày (SBTP, Shree Bhagwati, Machtech, Ấn Độ).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Chuẩn bị cao chiết

Cao chiết củ Gừng tươi được chuẩn bị từ nước ép của củ Gừng tươi và dịch chiết từ phần rắn còn lại sau ép. Củ Gừng tươi không vỏ (1 kg) đã thái nhỏ và được

ng nghiền nhỏ, sau đó được ép lấy nước bằng máy ép. Phần rắn còn lại sau ép được cho vào bình tam giác 2000 mL để tiếp tục chiết bằng phương pháp ngâm động. Sau đó, thêm 1000 mL ethanol 70% và khuấy hỗn hợp bằng bếp khuấy từ gia nhiệt ở nhiệt độ phòng với tốc độ 1000 vòng/phút trong 4 giờ. Sau đó, nước ép và dịch chiết củ Gừng tươi được lọc qua giấy lọc Whatman® No.1 (Anh) và cô đui dung môi trong điều kiện áp suất giảm ở 40°C đến khô bằng máy cô quay chân không Buchi. Hiệu suất chiết được tính bằng công thức sau:

$$\text{Hiệu suất chiết (\%)} = \frac{\text{Khối lượng cao chiết khô (g)} \times 100}{\text{Khối lượng mẫu (g)}}$$

2.3.2. Hàm lượng phenolic tổng (TPC)

Hàm lượng phenolic tổng (TPC) của cao chiết được xác định bằng phương pháp Folin-Ciocalteu với acid gallic làm phenol chuẩn [6].

2.3.3. Tối ưu hóa công thức viên nhai

Để tối ưu công thức viên nhai cao chiết củ Gừng tươi, mô hình tâm phức hợp (CCD) với 3 biến độc lập và 5 mức được sử dụng trong nghiên cứu này. Các biến độc lập bao gồm: lượng MCC (cellulose vi tinh thể, % wt/wt – khối lượng/ khối lượng), CP (crospovidon, % wt/wt) và PVP-K30 (polyvinyl pyrrolidone K30, % wt/wt) và biến phụ thuộc là bốn thông số viên nhai cao chiết củ Gừng tươi bao gồm: Độ đồng đều khối lượng (% thay đổi khối lượng), độ cứng (N), độ mài mòn (%) và độ rã (phút). Thông qua nghiên cứu sàng lọc sơ bộ, khoảng biến thiên và mức biến đổi của 3 biến độc lập được thể hiện trong Bảng 1. Số thí nghiệm $N = 2^k + 2k + 6$ ($N = 20$ với $k = 3$). Trong đó, k là số biến độc lập và $2k$ là số thí nghiệm bổ sung tại điểm sao. Khoảng cách từ tâm đến điểm sao $\alpha = 2^{k/4}$ ($\alpha = 1.68$ với $k = 3$). Thiết kế thí nghiệm được thực hiện ở 5 mức ($-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha$). Như vậy, trong nghiên cứu này 20 thí nghiệm sẽ được thực hiện với 2^3 số thí nghiệm của quy hoạch toàn phần, 6 thí nghiệm lặp lại tại tâm để đánh giá sai số và 6 thí nghiệm bổ sung tại điểm sao nằm cách vị trí tâm thực nghiệm một khoảng $\pm\alpha$.

Mô hình thống kê biểu diễn sự phụ thuộc của các thông số viên nhai cao chiết củ Gừng tươi vào các biến độc lập được mã hóa là một phương trình đa thức bậc hai có dạng như sau:

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i X_i + \sum_{i=1}^k b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k b_{ij} X_i X_j + e$$

Trong đó: Y - Thông số viên nhai cao chiết củ Gừng tươi, X_i, X_j - Biến độc lập, b_0 - Hệ số hồi quy bậc 0, b_i - Hệ số hồi quy bậc 1 mô tả ảnh hưởng của X_i với Y , b_{ii} - Hệ số hồi quy bậc 2 mô tả ảnh hưởng của X_i với Y , b_{ij} - Hệ số tương tác giữa i và j , k - Số biến độc lập, e - Sai số ngẫu nhiên.

Bảng 1. Xác định khoảng biến thiên và mức biến đổi của các biến độc lập

Biến	Ký hiệu	Đơn vị	Mức nghiên cứu				
			$-\alpha$	-1	0	$+1$	$+\alpha$
MCC	X_1	% wt/wt	33.18	40	50	60	66.82

CP	X ₂	% wt/wt	0.32	1	2	3	3.68
PVP-K30	X ₃	% wt/wt	0.32	1	2	3	3.68

$\alpha = 2^{k/4} = 1.68179$ với $k = 3$, MCC - cellulose vi tinh thể, CP - crospovidon, PVP-K30 - polyvinyl pyrrolidon K30, wt/wt – khối lượng/khối lượng.

Các hệ số hồi quy bậc 0, bậc hai và tương tác của mô hình đa thức bậc hai được tính toán bằng phần mềm Design Expert 12 với phương pháp RSM. Chất lượng của mô hình đa thức thể hiện qua hệ số R²_{hiệu chỉnh} và phân tích phương sai ANOVA (analysis of variance). Tính có nghĩa của hệ số hồi quy được xác định qua kiểm định t và tính có nghĩa thống kê được xác định qua kiểm định F. Ngoài ra, 6 thí nghiệm ở tâm để kiểm định độ lặp lại của thí nghiệm (lack-of-fit).

Các hệ số hồi quy bậc 0, bậc hai và tương tác của mô hình đa thức bậc hai được tính toán bằng phần mềm Design Expert 12 với phương pháp RSM. Chất lượng của mô hình đa thức thể hiện qua hệ số R²_{hiệu chỉnh} và phân tích phương sai ANOVA (analysis of variance). Tính có nghĩa của hệ số hồi quy được xác định qua kiểm định t và tính có nghĩa thống kê được xác định qua kiểm định F. Ngoài ra, 6 thí nghiệm ở tâm để kiểm định độ lặp lại của thí nghiệm (lack-of-fit).

2.3.4. Phương pháp dập viên nhai

Viên nhai cao chiết nước ép củ gừng tươi được chuẩn bị bằng phương pháp dập thẳng. Thành phần của mỗi công thức viên nhai được thể hiện ở Bảng 2. Cao chiết củ gừng tươi, tá dược siêu rã (CP), tá dược độn (MCC, lactose monohydrat), mannitol và aspartam được

trộn ban đầu bằng máy trộn đa năng với tốc độ 100 vòng/phút trong 2 phút. Sau đó, bổ sung tá dược trơn bóng (magnesi stearat và talc) và tiến hành trộn hoàn tất bằng máy trộn lập phương với tốc độ 120 vòng/phút trong 3 phút. Cuối cùng, bột được ép thành viên bằng máy dập viên xoay tròn 6 chày (SBTP, Shree Bhagwati, Ấn Độ) với chày caplet (16.1x7.8 mm), tốc độ quay mâm ở mức 3 - 4 và tốc độ quay của bàn phân phối ở mức 2 - 3.

2.3.5. Đánh giá thông số bột

Các thử nghiệm vi lượng của bột viên nhai được đánh giá bao gồm tỷ trọng khối, tỷ trọng riêng hạt (tapped density), chỉ số Hausner, chỉ số nén (chỉ số Carr) và đặc tính dòng chảy (góc nghỉ).

2.3.6. Đánh giá thông số viên

Các thông số của viên nhai cao chiết củ gừng tươi sử dụng phương pháp dập thẳng được xác định bao gồm: Độ đồng đều khối lượng, độ cứng, độ mài mòn và độ rã theo hướng dẫn và tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam V với các thiết bị chuyên dụng (cân phân tích Shimadzu, máy đo độ cứng và độ dày PTB 331E, máy đo độ rã PTZ S/DIST3 và máy đo độ mài mòn PTFE/ER) [7].

Bảng 2. Các công thức của viên nhai cao chiết củ gừng tươi trong thiết kế RSM

Công thức	MCC (mg)	CP (mg)	PVP-K30 (mg)	Cao chiết (mg)	Mannitol (mg)	Asp (mg)	Mg St. (mg)	Talc (mg)	Lactose (mg)	Tổng khối lượng viên (mg)
F1	120	3	3	100	50	2	2	2	120	400
F2	180	3	3	100	50	2	2	2	180	400
F3	120	9	3	100	50	2	2	2	120	400
F4	180	9	3	100	50	2	2	2	180	400
F5	120	3	9	100	50	2	2	2	120	400
F6	180	3	9	100	50	2	2	2	180	400
F7	120	9	9	100	50	2	2	2	120	400
F8	180	9	9	100	50	2	2	2	180	400
F9	99.55	6	6	100	50	2	2	2	99.55	400
F10	200.45	6	6	100	50	2	2	2	200.45	400
F11	150	0.95	6	100	50	2	2	2	150	400
F12	150	11.05	6	100	50	2	2	2	150	400
F13	150	6	0.95	100	50	2	2	2	150	400
F14	150	6	11.05	100	50	2	2	2	150	400
F15	150	6	6	100	50	2	2	2	150	400
F16	150	6	6	100	50	2	2	2	150	400
F17	150	6	6	100	50	2	2	2	150	400
F18	150	6	6	100	50	2	2	2	150	400

F19	150	6	6	100	50	2	2	2	150	400
F20	150	6	6	100	50	2	2	2	150	400

Mg St. – Magnesi stearat, Asp – Aspartam

2.3.7. Đánh giá hoạt tính hạ đường huyết in vitro trong ức chế enzym α -glucosidase

Thử nghiệm được thực hiện dựa trên phản ứng phân cắt *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranosid nhờ tác động của enzym α -glucosidase, qua đó giải phóng sản phẩm là *p*-nitrophenol có màu vàng. Độ hấp thụ của hỗn hợp phản ứng tại bước sóng 410 nm ở thời điểm 30 phút sau phản ứng. Lượng sản phẩm *p*-nitrophenol sinh ra phản ánh hoạt độ của enzym α -glucosidase. Phương pháp xác định hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase được thực hiện trên đĩa 96 giếng. Mẫu thử được pha loãng bằng DMSO (dimethyl sulfoxid) và nước deion thành 1 dãy các nồng độ, nồng độ lần lượt trong phản ứng là 200, 100, 50, 10 và 1 μ g/mL hoặc pha loãng tiếp với mẫu có hoạt tính nhỏ hơn. Acarbose được sử dụng làm thuốc đối chiếu.

Các thành phần phản ứng bao gồm: Đệm phosphat 100 mM pH 6.8; α -glucosidase 0.2 U/mL, mẫu thử và *p*-nitrophenyl α -D-glucopyranoside 2.5 mM. Ở mẫu đối chứng, mẫu thử được thay bằng đệm phản ứng. Thí nghiệm được ủ ở nhiệt độ 37°C. Sau 30 phút, phản ứng được dừng bằng Na₂CO₃. Độ hấp thụ của phản ứng được xác định trên máy Biotek với bước sóng 410 nm (A). Khả năng ức chế enzym α -glucosidase của mẫu thử được xác định bằng công thức:

$$\text{Độ ức chế (\%)} = \frac{A_{\text{(đối chứng)}} - A_{\text{(mẫu thử)}}}{A_{\text{(đối chứng)}}} \times 100\%$$

IC₅₀ (half maximal inhibitory concentration) là nồng độ chất thử ức chế 50% hoạt động của enzym α -glucosidase, được tính bằng phần mềm Tablecurve.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Cellulose vi tinh thể (MCC) được khử phân giải một phần cellulose, có dạng tinh thể màu trắng, không mùi, không vị. MCC có sẵn trên thị trường với các kích thước hạt và độ ẩm khác nhau. Trong công thức viên nén và viên nang, MCC được sử dụng làm tá dược độn ở tỷ lệ 20 - 90% wt/wt. Crospovidon (CP)

có màu trắng, không vị và không mùi. CP là tá dược siêu rã, không tan trong nước được sử dụng ở tỷ lệ 2 - 5% wt/wt trong viên nén [8]. Trong khi đó, polyvinyl pyrrolidon K30 (PVP-K30) ở dạng bột mịn, có dạng hình cầu màu trắng, dễ hút ẩm, không mùi. Trong viên nén, dung dịch PVP-K30 được sử dụng làm chất kết dính trong phương pháp xát hạt ướt. PVP-K30 cũng được thêm vào hỗn hợp bột ở dạng khô trong viên nén bào chế bằng phương pháp dập thẳng ở tỷ lệ 0.5 - 5.0% wt/wt [8]. Do đó, MCC 40 - 60%, CP 1 - 3% và PVP-K30 1 - 3% được sử dụng làm các biến số để tối ưu hóa công thức viên nhai cao chiết củ gừng tươi dập thẳng bằng phương pháp RSM thông qua các khảo sát sơ bộ ở giai đoạn tiền nghiên cứu. Bên cạnh đó, một số tá dược cũng được bổ sung cho công thức viên nhai bao gồm: Tá dược trơn bóng (magnesi stearat và talc), tá dược độn (lactose monohydrat) và tá dược tạo ngọt (mannitol và aspartam) (Bảng 2).

Cao chiết củ gừng tươi được tiêu chuẩn hóa sơ bộ thông qua các thông số chất lượng gồm cao khô màu nâu, dễ làm tươi, mịn, có mùi thơm, độ ẩm nhỏ hơn 5% và hàm lượng TPC (≥ 10 mg GAE/g). Các thông số quan trọng của bột từ 20 công thức thiết kế thực nghiệm (F1-F20) sau khi trộn hoàn tất được thể hiện trong Bảng 3. Tỷ trọng khối nằm trong khoảng 0.37 - 0.41 g/cm³ và tỷ trọng riêng hạt nằm trong khoảng 0.39 - 0.49 g/cm³. Ngoài ra, kết quả chỉ số Hausner của bột nằm trong khoảng 1.00 - 1.25 (mức khá-tốt đến xuất sắc), chỉ số Carr nằm trong khoảng 11 - 15% (mức tốt) và góc nghỉ nằm trong khoảng 25 - 30° (mức tốt) đã chứng minh rằng bột của tất cả công thức có khả năng chảy tốt. Do đó, bột viên nhai đã thể hiện đặc tính tốt để có thể tạo ra viên thuốc đồng nhất và thỏa mãn tiêu chuẩn chất lượng của Dược điển quốc gia. Hơn nữa, độ dày của các viên nhai từ 20 công thức cũng được xác định với giá trị nằm trong khoảng 5.71 - 5.74 mm.

Bảng 3. Kết quả đánh giá các thông số bột viên của cao chiết củ gừng tươi

Thông số	Đơn vị	F1-F20	Đánh giá
Góc nghỉ	°	27.11-29.86	Tốt (25-30°)
Tỷ trọng khối	g/cm ³	0.37-0.41	
Tỷ trọng riêng hạt	g/cm ³	0.39-0.49	
Chỉ số Carr	%	11.12-14.19	Tốt (11-15%)
Chỉ số Hausner		1.02-1.23	Khá-Tốt (1.12-1.25) - Xuất sắc (1.00-1.11)

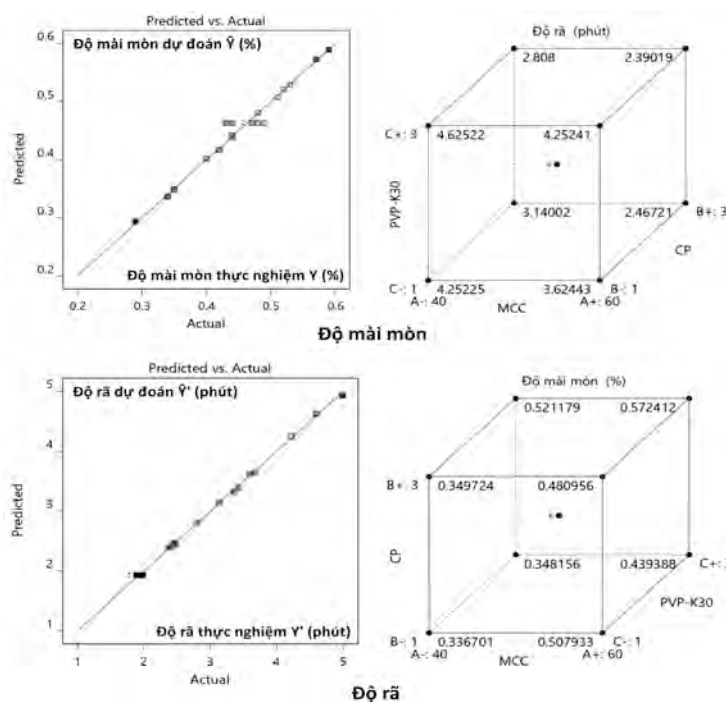
Bốn đáp ứng của viên nhai cao chiết củ gừng tươi gồm độ đồng đều khối lượng (% thay đổi khối lượng), độ cứng (N), độ mài mòn (%) và độ rã (phút) được xác định và

đánh giá mức ý nghĩa của mô hình trong thiết kế thực nghiệm RSM. Kết quả của 4 đáp ứng từ 20 công thức viên nhai cao chiết củ gừng tươi được thể hiện trong Bảng 4.

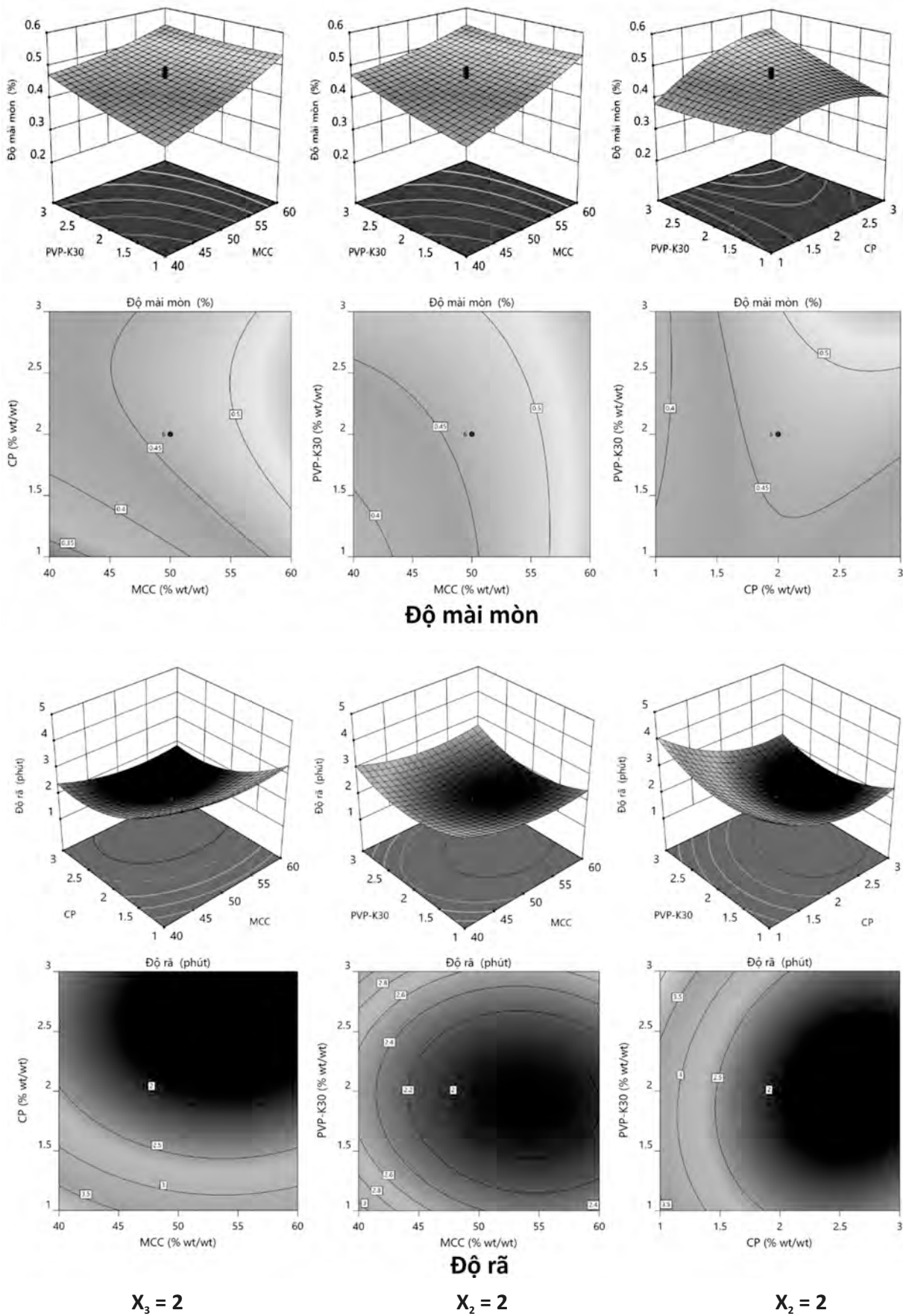
Bảng 4. Kết quả thực nghiệm của các đáp ứng trong thiết kế RSM

Công thức	Độ đồng đều khối lượng (%)	Độ cứng (N)	Độ mài mòn (%)	Độ mài mòn dự đoán (%)	Độ rã (phút)	Độ rã dự đoán (%)
<i>Tiêu chuẩn*</i>	$\pm 5\%$	40-100 N	<1%	<1%	<15 phút	<15 phút
F1	0.83	52.3	0.34	0.34	4.22	4.25
F2	1.92	52.8	0.51	0.51	3.59	3.63
F3	2.05	50.8	0.35	0.35	3.13	3.14
F4	1.87	56.6	0.48	0.48	2.46	2.47
F5	1.10	53.6	0.35	0.35	4.59	4.63
F6	1.58	55.3	0.44	0.44	4.22	4.25
F7	1.41	51.5	0.52	0.52	2.80	2.81
F8	1.02	52.7	0.57	0.57	2.38	2.39
F9	2.18	62.3	0.40	0.40	3.35	3.32
F10	1.54	51.9	0.59	0.59	2.47	2.44
F11	1.90	55.9	0.29	0.29	4.99	4.93
F12	0.88	57.8	0.42	0.42	2.43	2.43
F13	2.10	55.2	0.44	0.44	3.42	3.39
F14	1.55	61.0	0.53	0.53	3.67	3.64
F15	1.68	53.5	0.47	0.46	1.89	1.93
F16	1.52	52.9	0.43	0.46	1.91	1.93
F17	1.78	52.8	0.49	0.46	1.94	1.93
F18	1.54	50.8	0.48	0.46	1.96	1.93
F19	1.66	56.6	0.47	0.46	1.89	1.93
F20	1.71	52.7	0.44	0.46	1.98	1.93

* - theo Dược điển Việt Nam V



Hình 1. Biểu đồ dự đoán - thực tế và biểu đồ khối lập phương (cube) của độ mài mòn và độ rã viên nhai cao chiết củ gừng tươi



Hình 2. Kết quả ảnh hưởng của các cặp biến độc lập đến độ mài mòn (%) và độ rã (phút) (X_1 : MCC (%), X_2 : CP (%), X_3 : PVP-K30 (%))

Bảng 5. Kết quả phân tích ANOVA cho mô hình đa thức bậc hai

Nguồn biến thiên	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	F	p
Độ đồng đều khối lượng					
Mô hình	1.72	9	0.1908	1.67	0.2167
Sự không tương thích LOF	1.09	5	0.2179	21.58	0.0021
Độ cứng					
Mô hình	35.37	9	3.93	0.2534	0.9747
Sự không tương thích LOF	137.18	5	27.44	7.66	0.0216
Độ mài mòn					
Mô hình	0.1121	9	0.0125	44.5	< 0.0001
Phần dư	0.0028	10	0.0003		
Sự không tương thích LOF	0.0001	5	0	0.024	0.9996
Sai số ngẫu nhiên	0.0027	5	0.0005		
Tổng số	0.1149	19			
<i>CV% = 3.71, R² = 0.9756 (R²_{hiệu chỉnh} = 0.9537; R²_{dự đoán} = 0.9614)</i>					
Độ rã					
Mô hình	18.75	9	2.08	1092.68	< 0.0001
Phần dư	0.0191	10	0.0019		
Sự không tương thích LOF	0.012	5	0.0024	1.69	0.2889
Sai số ngẫu nhiên	0.0071	5	0.0014		
Tổng số	18.77	19			
<i>CV% = 1.47, R² = 0.9990 (R²_{hiệu chỉnh} = 0.9981; R²_{dự đoán} = 0.9946)</i>					

LOF: lack of fit

Mô hình toán học mô tả mối quan hệ giữa độ mài mòn (\hat{Y}) và độ rã (\hat{Y}') của viên nhai cao chiết củ gừng tươi với các biến mã hóa như sau:

$$\hat{Y} = 0.4633 + 0.0556X_1 + 0.0365X_2 + 0.0257X_3 - 0.0100X_1X_2 - 0.0200X_1X_3 + 0.0400X_2X_3 + 0.0114X_1^2 - 0.0381X_2^2 - 0.0079X_3^2$$

$$\hat{Y}' = 1.93 - 0.2614X_1 - 0.7436X_2 + 0.0740X_3 - 0.0112X_1X_2 + 0.0637X_1X_3 - 0.1763X_2X_3 + 0.3359X_1^2 + 0.6187X_2^2 - 0.5604X_3^2$$

Kết quả phân tích ANOVA các mô hình đa thức bậc hai cho thấy hai mô hình gồm độ đồng đều khối lượng (% thay đổi khối lượng) và độ cứng (N) đã thể hiện sự không có ý nghĩa với giá trị $p > 0.05$ và sự không tương thích LOF của mô hình đáng kể ($p < 0.05$). Các mô hình này không sử dụng cho tối ưu hóa thành phần công thức viên nhai củ gừng tươi. Trong khi đó, hai mô hình gồm độ mài mòn (%) và độ rã (phút) có ý nghĩa với giá trị $p < 0.05$ và sự không tương thích LOF không đáng kể ($p > 0.05$). Do đó, mô hình độ mài mòn và độ rã được sử dụng cho tối ưu hóa thành phần công thức viên nhai.

Mô hình độ mài mòn ($p < 0.05$) có hệ số xác định cao ($R^2 = 0.9756$) và sự không tương thích LOF ($p = 0.9996 > 0.05$) cho thấy mô hình có thể được sử dụng để dự đoán thực nghiệm và phương trình hồi quy đã mô tả chính xác các số liệu thực nghiệm. Giá trị p liên quan đến kiểm định F của mô hình nhỏ hơn 0.05 ($p <$

0.0001). Ngoài ra, hệ số hiệu chỉnh cao ($R^2_{\text{hiệu chỉnh}} = 0.9537$) cho thấy độ tương thích tốt của phương trình hồi quy với thực nghiệm từ đó chứng minh độ tin cậy thống kê. Tương tự với mô hình độ mài mòn, mô hình độ rã ($p < 0.0001$) cho thấy cũng có thể sử dụng mô hình này để dự đoán thực nghiệm với hệ số xác định cao ($R^2 = 0.9990$), hệ số hiệu chỉnh cao ($R^2_{\text{hiệu chỉnh}} = 0.9958$) và sự không tương thích LOF ($p = 0.2889 > 0.05$), từ đó cho thấy phương trình hồi quy đã mô tả chính xác các số liệu thực nghiệm và độ tin cậy thống kê tốt (Bảng 4). Hệ số $R^2_{\text{hiệu chỉnh}}$ cho biết 95.37% sự biến đổi của độ mài mòn và 99.58% sự biến đổi của độ rã là do ảnh hưởng của các biến độc lập như tỷ lệ MCC (%), CP (%) và PVP-K30 (%) trong công thức, trong khi đó chỉ có dưới 5% sự thay đổi là do các yếu tố không xác định gây ra (sai số ngẫu nhiên). Bên cạnh đó, hệ số biến thiên CV% thấp chứng tỏ rằng các thí nghiệm được thực hiện chính xác cao. Hệ số $p_{\text{lack-of-fit}} > 0.05$ (độ mài mòn = 0.9996, độ rã = 0.2889) chứng minh sự không tương thích là không đáng kể và mô hình có độ lặp lại tốt. Kết quả so sánh độ mài mòn và độ rã thu được từ thực nghiệm với giá trị dự đoán dựa trên mô hình và biểu đồ khối lập phương (cube) thể hiện ở Hình 1. Kết quả phân tích ANOVA của mô hình đa thức bậc hai và điều kiện tối ưu khi độ rã đạt tối thiểu lần lượt thể hiện ở Bảng 5 và 6.

Tất cả 20 công thức viên nén đều thể hiện độ đồng đều khối lượng, độ mài mòn, độ cứng và độ rã trong

giới hạn cho phép của tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V (Bảng 4) [7]. Độ đồng đều khối lượng thể hiện giá trị nằm trong khoảng 0.83 - 2.18% thỏa tiêu chuẩn $\pm 5\%$ đối với viên nén có khối lượng bằng hoặc lớn hơn 250 mg [7]. Độ cứng của các viên nhai tốt nằm trong khoảng 50.8 - 62.3 N thỏa tiêu chuẩn cơ sở (40 - 100 N) và tương tự với một số sản phẩm viên

nhai lưu hành trên thị trường cũng như các nghiên cứu về viên nhai [3 - 4]. Bên cạnh đó, độ mài mòn của viên thấp nằm trong khoảng 0.29 - 0.59% thỏa tiêu chuẩn $< 1\%$ khối lượng viên nén. Ngoài ra, viên nhai củ gừng tươi thể hiện độ rã nhanh nằm trong khoảng 1.89 - 4.99 phút thỏa tiêu chuẩn < 15 phút của Dược điển Việt Nam V.

Bảng 6. Điều kiện tối ưu khi độ rã (phút) của viên nhai đạt tối thiểu

Biến	Giá trị tối ưu	\hat{Y}	Y	Sai số Y	\hat{Y}'	Y'	Sai số Y'
X_1	45.9449	0.4507	0.4624 \pm 0.025	2.53	1.8849	1.9206 \pm 0.042	1.86
X_2	2.4617						
X_3	1.9510						

Y : độ mài mòn thực nghiệm (%), \hat{Y} : độ mài mòn dự đoán (%), Y' : độ rã thực nghiệm (%), \hat{Y}' : độ rã dự đoán (%) sai số (%) = $|$ giá trị thực nghiệm - giá trị dự đoán $|$ / giá trị dự đoán $\times 100$



Bột viên sau khi trộn hoàn tất



Viên nhai

Hình 3. Hình ảnh bột viên và viên nhai ở công thức tối ưu

Kết quả ảnh hưởng của các cặp biến độc lập đến đáp ứng là độ mài mòn (%) và độ rã (phút) thể hiện ở Hình 2. Kết quả cho thấy ảnh hưởng phức tạp của tá dược MCC, CP và PVP-K30 đến độ mài mòn thông qua biểu đồ và phương trình hồi quy mã hóa với các hệ số tương tác, hệ số hồi quy bậc 1 và bậc 2. Độ mài mòn của tất cả công thức viên nhai thử nghiệm đều dưới 1% đã chứng minh viên có độ bền cơ học tốt, có khả năng chống ma sát và khả năng duy trì hình dạng của viên tốt. Trong khi đó, thời gian rã và mức độ rã ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng viên nén. Để được chất trong viên nén có thể hòa tan, hấp thu và có tác dụng trị liệu thì điều quan trọng là viên nén cần phải rã. Độ rã càng ngắn sẽ hỗ trợ cho quá trình hấp thu thành phần hoạt tính và rút ngắn thời gian khởi phát tác dụng của thuốc. Xét mối quan hệ tổng quát, sự tăng tá dược độn MCC, tá dược siêu rã CP và tá dược dính PVP-K30 trong khoảng từ mức thấp (mức -1) đến giá trị tối ưu dự đoán (điểm cực tiểu của đường cong) thể hiện tác động tích cực làm độ rã giảm. Tuy nhiên, sự tăng MCC, CP và PVP-K30 trong khoảng từ mức giá trị tối ưu dự đoán đến

mức cao (mức +1) thể hiện tác động tiêu cực làm độ rã tăng.

Hình ảnh bột viên và viên nhai ở công thức tối ưu được thể hiện ở Hình 3. Kết quả dự đoán từ mô hình cho thấy độ rã đạt tối thiểu khi $X_1 = 45.9449\%$, $X_2 = 2.4617\%$ và $X_3 = 1.9510\%$. Độ rã được dự đoán từ mô hình với giá trị là 1.8849 phút, trong khi giá trị độ rã thực nghiệm của công thức tối ưu là 1.9206 phút với sai số 1.86% ($< 2\%$) khi so sánh với giá trị dự đoán (Bảng 5). Ngoài ra, độ mài mòn được dự đoán từ mô hình với giá trị là 0.4507%, trong khi giá trị độ mài mòn thực nghiệm của công thức tối ưu là 0.4624% phút với sai số 2.53% ($< 3\%$) khi so sánh với giá trị dự đoán. Kết quả này đã chứng minh rằng mô hình xây dựng thể hiện độ chính xác và độ lặp lại tốt. Hơn nữa, công thức viên nhai của nghiên cứu cũng thể hiện ưu điểm vượt trội về thông số độ rã và độ mài mòn khi so sánh với các nghiên cứu tương tự về viên nhai củ gừng trên thế giới (cao chiết, tinh bột ngô/dung dịch siro glucose, magne stearat và talc) với độ rã nằm trong khoảng 19 - 30 phút và độ mài mòn nằm trong khoảng 0.79 - 17% [3 - 4].

Bảng 7. Hiệu suất chiết, TPC và hoạt tính ức chế α -glucosidase của cao chiết và viên nhai

	Hiệu suất chiết	TPC	(-) α -glucosidase
Cao chiết	10.37 ± 0.82	14.91 ± 0.76	IC ₅₀ = 76.4 µg/mL
Viên nhai			IC ₅₀ = 79.1 µg/mL
Acarbose	-	-	IC ₅₀ = 131.6 µg/mL

TPC: hàm lượng phenolic tổng (mg GAE/g), (-) α -glucosidase: ức chế enzym α -glucosidase

Mặc khác, hiệu suất chiết, hàm lượng phenolic tổng (TPC) của cao chiết cũng như hoạt tính hạ đường huyết *in vitro* trong ức chế enzym α -glucosidase của cao chiết và viên nhai củ gừng tươi ở điều kiện tối ưu cũng được xác định (Bảng 7). Kết quả cho thấy hiệu suất chiết (10.37%) và TPC (14.91 mg GAE/g) của cao chiết từ nước ép củ gừng tươi ở Việt Nam cao hơn đáng kể so với nghiên cứu tương tự về gừng với hiệu suất chiết 1.93 - 5.68% và TPC nằm trong khoảng 3.51 - 10.9 mg GAE/g [9]. Cao chiết và viên nhai củ gừng tươi thể hiện hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase tốt với giá trị IC₅₀ nằm trong khoảng 76.4 - 79.1 µg/mL khi so sánh với thuốc đối chiếu acarbose (IC₅₀ = 131.6 µg/mL). Hơn nữa, hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase của viên nhai và cao chiết củ gừng tươi cũng thể hiện tốt hơn cao chiết từ bột khô củ gừng được chiết với các dung môi khác nhau (IC₅₀ = 100 - 200 µg/mL) [10]. Điều này có thể là do TPC của cao chiết củ gừng tươi cao hơn đáng kể so với cao chiết từ bột khô củ gừng.

4. KẾT LUẬN

Công thức viên nhai cao chiết củ gừng tươi đã phát triển thành công thông qua thiết kế thực nghiệm RSM với các biến độc lập gồm tỷ lệ MCC, CP và PVP-K30. Kết quả cho thấy tất cả công thức đều thể hiện thông số bột tốt và thông số viên nén thỏa mãn tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V gồm: độ đồng đều khối lượng, độ cứng, độ mài mòn và độ rã. Mô hình độ mài mòn và độ rã đã được xây dựng thành công và có ý nghĩa thống kê (p < 0.05). Hơn nữa, viên nhai và cao chiết củ gừng tươi đã thể hiện hàm lượng TPC cao và hoạt tính ức chế enzym α -glucosidase tốt khi so sánh với thuốc đối chiếu acarbose. Tóm lại, việc áp dụng phương pháp DoE (thiết kế thí nghiệm) đã phát triển thành viên nhai từ cao chiết củ gừng tươi với chất lượng tốt, quy trình sản xuất đơn giản và tiết kiệm chi phí.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng cấp kinh phí thực hiện dưới mã số đề tài GVTC16.09.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] P. C. Em, V. V. Lenh, N. V. Cuong, N. D. Ngoc Thoi and L. T. Tuong Vi, "Formulation development, optimization, *in vivo* antidiabetic effect and acute toxicity of directly compressible herbal tablets containing *Merremia tridentata* (L.) extract," *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 84, p. 104445, 2023. DOI: 10.1016/j.jddst.2023.104445.

[2] P. C. Em, V. V. Lenh, N. V. Cuong, N. D. Ngoc Thoi, L. T. Tuong Vi and T. N. Tuyen, "*In vitro* and *in vivo* antidiabetic activity, isolation of flavonoids, and *in silico* molecular docking of stem extract of *Merremia tridentata* (L.)," *Biomed Pharmacother.*, vol. 146, p. 112611, 2022. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112611.

[3] J. Muazu, S. Lame, G. T. Mohammed and S. J. Madu, "Formulation and tableting properties of aqueous extract of fresh ginger (*Zingiber officinale*) rhizome," *World J. Pharma. Res.*, vol. 4, pp. 9-18, 2015.

[4] S. M. Ghurghure, M. S. A. Pathan, P. R. Surwase, P. D. Shirure and P. M. Gote, "Formulation and evaluation of chewable tablets containing aqueous extract of *Zingiber officinale*," *World J. Pharm. Pharmaceu. Sci.*, vol. 8, pp. 1-10, 2019.

[5] USP USP44-NF39, United State Pharmacopoeia 44 - National Formulary 39, the United States

Pharmacopeial Convention, Inc, Rockville, MD, 2021.

[6] K. Slinkard and V. L. Singleton, "Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods," *American J. Enol. Viticul.*, vol. 28, no. 1, pp. 49-55, 1977.

[7] Bộ Y tế Việt Nam, *Dược điển Việt Nam V*, lần xuất bản thứ năm. Hà Nội: Nhà xuất bản Y học, 2018.

[8] P. J. Sheskey, W. G. Cook and C. G. Cable, *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, eighth edition. Libros Digitales-Pharmaceutical Press, 2017.

[9] H. A. Muhammad, R. Taha, N. A. Mohammad, G. Sana, E. Khalil, J. Ayman, K. Stan, M. A. Ali and R. Mervat, "Optimization of phenolic content, antioxidant, and inhibitory activities of α -glucosidase and angiotensin-converting (AC) enzymes from *Zingiber officinale* Z.," *Inter. J. Food Prop.*, vol. 19, pp. 1303-1316, 2016.

[10] M. P. Rani, K. P. Padmakumari, B. Sankarikutty, O. L. Cherian, V. M. Nisha and K. G. Raghu, "Inhibitory potential of ginger extracts against enzymes linked to type 2 diabetes, inflammation and induced oxidative stress," *Int. J. Food Sci. Nutr.*, vol. 62, pp. 106-110, 2011.

Formulation and evaluation of hypoglycemic activity of chewable tablets from extract of fresh ginger juice (*Zingiber officinale*) in Vietnam

Pham Canh Em, Le Thi Tuong Vi
and Ly Hong Huong Ha

ABSTRACT

Zingiber officinale rhizome generally known as Ginger, belonging to the family Zingiberaceae is one of the most important medicinal herbs with a wide spectrum of biological activity and a common condiment for various foods and beverages for its characteristic pungency and piquant flavor. Ginger has been widely employed in home remedies since antiquity for many ailments including pain, inflammation, asthma, cough, palpitation, and gastrointestinal disorders. The study's aim was to develop an effective formulation of chewable tablets from the extract of fresh ginger juice in Vietnam using response surface methodology (RSM). The Ginger chewable tablets (100 mg) were prepared by direct compression method using crospovidone (CP) super-disintegrant excipient. Twenty formulations are prepared and the blend is evaluated for pre-compression parameters including angle of repose, bulk & tapped density, compressibility index, and Hausner's ratio. These formulated tablets are evaluated for weight variation, hardness, friability, and disintegration. The result showed that all the physical parameters were found within acceptable limits of Vietnam Pharmacopeia V. The optimal tablet formulation for minimal disintegration time consisted of 45.945% MCC (microcrystalline cellulose), 2.462% CP, and 1.951% PVP-K30 (polyvinyl pyrrolidone K30). Furthermore, chewable tablets and fresh ginger extract exhibited potential *in vitro* α -glucosidase inhibitory activity with $IC_{50} = 76.4-79.1 \mu\text{g/mL}$ compared to the acarbose reference drug ($IC_{50} = 131.6 \mu\text{g/mL}$). In conclusion, the application of the RSM approach successfully developed Ginger chewable tablets, which can offer various advantages in terms of cost-effectiveness and simple manufacturing methods.

Keywords: Ginger, *Zingiber officinale*, chewable tablet, optimization, RSM

Received: 28/08/2023

Revised: 19/09/2023

Accepted for publication: 26/09/2023