

Điều chế và tiêu chuẩn hóa cao cỏ mần trầu *Eleusine indica* (L.) Gaertn

Nguyễn Ngọc Vân Anh, Cát Huy Khôi, Trương Thuý Huỳnh,
Trịnh Như Ngọc, Nguyễn Mai Pha và Nguyễn Thị Mai*
Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Trong vòng hai thập kỷ gần đây, xu hướng quay lại sử dụng các sản phẩm có nguồn gốc thảo dược để phòng và trị bệnh trở nên phổ biến. Việc bào chế sản phẩm trung gian như cao đặc, cao khô hoặc bột dược liệu đang dần được quan tâm nhiều hơn giúp cho việc đa dạng chế phẩm từ dược liệu. Bên cạnh đó, nhóm hợp chất flavonoid trong dược liệu cỏ mần trầu (*Eleusine indica* L.) có hoạt tính thanh nhiệt, kháng khuẩn, kháng nấm, bảo vệ gan,... Vì vậy, việc điều chế và tiêu chuẩn hóa cao đặc cỏ mần trầu là cần thiết. **Mục tiêu:** Điều chế và tiêu chuẩn hóa cao đặc cỏ mần trầu *Eleusine indica* (L.) Gaertn., họ lúa (*Poaceae*). **Đối tượng và phương pháp:** cỏ mần trầu toàn thân trên mặt đất, thăm dò điều kiện chiết xuất và điều chế cao đặc cỏ mần trầu đạt hiệu suất tối ưu. **Kết quả:** Xây dựng và thẩm định được quy trình định lượng flavonoid toàn phần (theo vitexin) bằng phương pháp quang phổ UV-Vis. Xây dựng được quy trình điều chế và một số tiêu chuẩn cơ sở cao đặc cỏ mần trầu. **Kết luận:** Xây dựng tiêu chuẩn chất lượng cao đặc cỏ mần trầu, góp phần kiểm soát tốt chất lượng nguồn nguyên liệu đưa vào sản xuất các dạng bào chế.

Từ khóa: cao đặc cỏ mần trầu, flavonoid toàn phần, quang phổ UV-Vis

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cỏ mần trầu có tên khoa học là *Eleusine indica* (L.) Gaertn, thuộc họ Poaceae. Theo Đông y, cỏ mần trầu là một vị thuốc có rất nhiều lợi ích, bao gồm các tác dụng như làm mát cơ thể, giảm đau, trị tóc bạc sớm, viêm khớp, viêm ruột, nhuận tràng, nhuận gan, giải độc, chữa cảm sốt,... [1]. Từ lâu, cỏ mần trầu đã được sử dụng theo kinh nghiệm nhân gian để chữa cảm nắng, sốt nóng,... [2]. Ngoài ra, theo nghiên cứu khoa học đã được báo cáo chiết xuất nước và methanol của *Eleusine indica* có khả năng chống giun sán (chống lại *Strongyloides stercoralis*) và có tính kháng khuẩn [3]. Theo các nghiên cứu về hoạt tính của cỏ mần trầu đều có liên quan đến hàm lượng polyphenol đặc biệt là các

flavonoid. Để tiện sử dụng dược liệu cỏ mần trầu cho các dạng bào chế, nhóm nghiên cứu thực hiện nghiên cứu quy trình điều chế và tiêu chuẩn hóa cao cỏ mần trầu nhằm mục đích đa dạng hóa chế phẩm từ dược liệu này là rất cần thiết.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Dược liệu: Cỏ mần trầu toàn cây trên mặt đất, được cung cấp bởi công ty Thảo dược Tấn Phát, Tây Nguyên.

2.2. Hóa chất thiết bị

Chất chuẩn: Vitexin do Viện hóa học cung cấp, độ tinh khiết 98.65%. Dung môi, hóa chất theo Bảng 1, Bảng 2.

Bảng 1. Danh mục hóa chất

STT	Tên hóa chất	Nguồn gốc
1	Vitexin	Việt Nam
2	Nhôm chloride	Trung Quốc
3	Natri hydroxide	Trung Quốc
4	Natri nitrit	Trung Quốc

Tác giả liên hệ: ThS.DS. Nguyễn Thị Mai

Email: maint2@hiu.vn

STT	Tên hóa chất	Nguồn gốc
5	Acid hydrochloride	Trung Quốc
6	TT diazo	Trung Quốc
7	Acid sulfanilic	Trung Quốc

Bảng 2. Danh mục dung môi

STT	Tên dung môi	Nguồn gốc
1	Methanol	Trung Quốc
2	Ethanol	Trung Quốc
3	Nước cất	Việt Nam

Trang thiết bị: Máy đo quang phổ hấp thụ UV – Vis (Shimadzu).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng flavonoid toàn phần (theo vitexin) trong cỏ mần trầu bằng phương pháp quang phổ UV – Vis

2.3.1.1. Xây dựng quy trình định lượng flavonoid toàn phần (theo vitexin) trong cỏ mần trầu bằng phương pháp quang phổ UV – Vis [4]

Thiết bị: Máy đo quang phổ hấp thụ UV – Vis (Shimadzu).

Chuẩn bị mẫu

Mẫu chuẩn: Hòa tan một lượng chất chuẩn vitexin bằng methanol. Pha loãng dung dịch trên nhiều lần với nước cất.

Mẫu thử cao: Hòa tan một lượng cao đặc cỏ mần trầu trong dung dịch methanol bằng phương pháp siêu âm. Pha loãng dung dịch trên nhiều lần với nước cất. Tiến hành thực hiện phản ứng tạo phức dung dịch mẫu chuẩn và dung dịch mẫu thử cao với thuốc thử gồm: natri nitrit 5%, nhôm chloride 10%, natri hydroxide 10%. Lọc dịch qua màng 0.45 µm. Ghi nhận các thông số: Bước sóng hấp thụ của peak, độ hấp thụ cực đại, phổ UV, độ tinh khiết peak.

Xây dựng quy trình định lượng: Từ các kết quả khảo sát, xây dựng quy trình định lượng flavonoid toàn phần (theo vitexin) trong cao đặc cỏ mần trầu bằng phương pháp quang phổ UV – Vis.

Xác định bước sóng hấp thụ cực đại: Tiến hành đo độ hấp thụ quang phổ UV – Vis của mẫu chuẩn, chọn bước sóng hấp thụ cực đại.

2.3.1.2. Xây dựng quy trình định lượng flavonoid toàn phần (theo Vitexin) trong cỏ Mần trầu bằng

Bảng 3. Thí nghiệm ảnh hưởng của các loại dung môi

Dung môi	H ₂ O	C ₂ H ₅ OH	CH ₃ OH
Phương pháp	Ngâm lạnh		
Yếu tố cố định	Tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/6, thời gian ngâm lạnh 24 giờ ở nhiệt độ phòng		

Đánh giá: Định tính phản ứng đặc trưng của hợp chất flavonoid.

phương pháp quang phổ UV – VIS

Tiến hành đo mẫu chuẩn và mẫu cao tại bước sóng hấp thụ cực đại, Tính hàm lượng flavonoid toàn phần trong mẫu cao theo mẫu chuẩn.

2.3.1.3. Thẩm định quy trình định lượng flavonoid toàn phần (theo vitexin) trong cỏ mần trầu bằng phương pháp quang phổ UV – Vis

Theo hướng dẫn của ICH (International Conference on Harmonisation), bao gồm khảo sát tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính, độ chính xác, độ đúng [5].

2.3.2. Tối ưu hóa quy trình chiết cao cỏ mần trầu

2.3.2.1. Đánh giá nguyên liệu đầu vào

Kiểm tra các tiêu chuẩn cơ sở bao gồm: Độ ẩm, tro toàn phần, chất chiết được trong dược liệu, định tính theo chuyên luận cỏ mần trầu Dược điển Việt Nam V [6].

2.3.2.2. Nghiên cứu điều chế cao cỏ mần trầu

Nghiên cứu xây dựng quy trình chiết xuất cao cỏ mần trầu dựa vào hiệu suất chiết cao và hàm lượng flavonoid toàn phần.

Công thức hiệu suất chiết cao:

$$H = \frac{m_{\text{cao chiết}}}{m_{\text{dược liệu}}} \times 100\%$$

Trong đó: H: Hiệu suất chiết cao (%), $m_{\text{cao chiết}}$: Khối lượng cao (đã trừ ẩm) thu được sau khi cô đui dung môi (g); $m_{\text{dược liệu}}$: Khối lượng dược liệu (đã trừ ẩm) đem chiết (g).

Ảnh hưởng của các loại dung môi:

Bảng 4. Phản ứng định tính flavonoid

Hợp chất	Phản ứng	Cách thực hiện
Flavonoid toàn phần	Đóng mở vòng lacton	Thêm vài giọt NaOH 10%, đun nóng nhẹ trong 2 – 3 phút. Ống 1: Ống chứng (dịch chiết cao đặc cỏ màn trâu). Ống 2: Acid hoá bằng HCl 10% (đến pH 3 -5) Ống 3: Kiểm hóa bằng NaOH 10% (đến pH 7 – 8)
	Diazo	Kiểm hoá dịch chiết bằng NaOH 10% (đến pH 7 – 8), đun nóng nhẹ 2 – 3 phút. Để nguội và thêm 2 – 4 giọt TT diazo.

Hiệu suất chiết cao của các dung môi khác nhau được thực hiện theo 2.4.1.2.

Chọn dung môi có phản ứng dương tính với flavonoid và hiệu suất chiết cao.

Ảnh hưởng của phương pháp chiết

Bảng 5. Thí nghiệm ảnh hưởng của phương pháp chiết

Phương pháp	Ngâm lạnh	Đun hồi lưu
Dung môi	Được chọn từ thí nghiệm trên	
Yếu tố cố định	Tỷ lệ dược liệu/dung môi là 1/8	

Đánh giá: Tính hiệu suất chiết cao và chọn phương pháp chiết có hiệu suất chiết cao cao.

Ảnh hưởng của nồng độ dung môi, tỷ lệ dung môi/dược liệu, thời gian chiết, nhiệt độ chiết

Thiết kế 18 thí nghiệm với 4 nồng độ dung môi; 4 tỷ lệ dung môi/dược liệu; 3 mức thời gian chiết và 3 mức nhiệt độ. Tiến hành làm thực nghiệm, định lượng flavonoid toàn phần, kết quả được xử lý thống kê qua phần mềm Design Expert 13. Tìm ra điều kiện tối ưu để chiết xuất và điều chế cao đặc cỏ màn trâu [7, 8].

2.3.2.3. Điều chế cao đặc cỏ màn trâu

Dựa vào điều kiện chiết xuất tối ưu, tiến hành chiết xuất 50g dược liệu cỏ màn trâu, cô thu hồi dung môi còn ½ lượng ban đầu, để lắng 3 ngày loại tạp, gạn lấy dịch chiết cô đến thể chất cao đặc.

2.3.3. Dự thảo tiêu chuẩn cơ sở cao đặc cỏ màn trâu: Đánh giá chất lượng

Cảm quan, mất khối lượng do làm khô, giới hạn nhiễm khuẩn, định tính, định lượng theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V [7].

2.3.4. Đánh giá quy trình điều chế cao đặc cỏ màn trâu

Thực hiện điều chế 3 lô cao đặc cỏ màn trâu theo quy trình, mỗi lô với 0.5 kg dược liệu, thu được 3 lô

cao. Đánh giá chất lượng 3 lô cao theo tiêu chuẩn cơ sở đã dự thảo.

3. KẾT QUẢ

3.1. Xây dựng quy trình định lượng flavonoid toàn phần (theo vitexin) trong cỏ màn trâu bằng phương pháp đo quang phổ UV – Vis

Mẫu chuẩn: Cân chính xác khoảng 0.1 g vitexin cho vào bình định mức 50 mL, hòa tan bằng dung môi methanol vừa đủ, lắc đều. Thu được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ 3 mg/mL. Từ dung dịch chuẩn gốc pha dung dịch chuẩn có nồng độ 0.2 mg/mL trong nước cất. Lấy chính xác 0.75 mL cho vào bình định mức 25 ml (6 µg/mL).

Mẫu thử cao: Cân chính xác khoảng 0.1 g cao đặc cỏ màn trâu (độ ẩm 8.5%) hoà tan với methanol vào bình định mức 25 ml. Lấy chính xác 5 mL dung dịch trên cho vào bình định mức 25 mL, pha loãng với nước cất vừa đủ đến vạch. Lấy chính xác 3 mL cho vào bình định mức 25 mL.

Mẫu trắng: Như mẫu thử nhưng không cho chất tạo phức.

Thực hiện phản ứng tạo phức với các thành phần sau:

Bảng 6. Phản ứng tạo phức

	Mẫu chuẩn	Mẫu thử	Mẫu trắng	Thời gian
Dung dịch thử (mL)	0.75	3	3	
Nước cất (mL)	5.25	5	5	
Natri nitrit 5% (mL)	1	1	1	6 phút
Nhôm nitrat 10% (mL)	1	1	0	6 phút
Natri hydroxide 10% (mL)	10	10	10	15 phút

Xác định bước sóng hấp thụ cực đại: Tiến hành quét phổ hấp thụ quang phổ UV – Vis mẫu chuẩn trong khoảng bước sóng từ 200-800 nm, cho bước sóng hấp thụ cực đại là 352 nm.

Xây dựng quy trình định lượng flavonoid toàn phần (theo Vitexin) trong cỏ Mần trầu bằng phương pháp quang phổ UV – VIS: Tiến hành đo quang phổ UV – Vis ở bước sóng 352 nm của mẫu thử và mẫu chuẩn, kết quả hàm lượng flavonoid toàn phần (theo vitexin) được tính theo công thức:

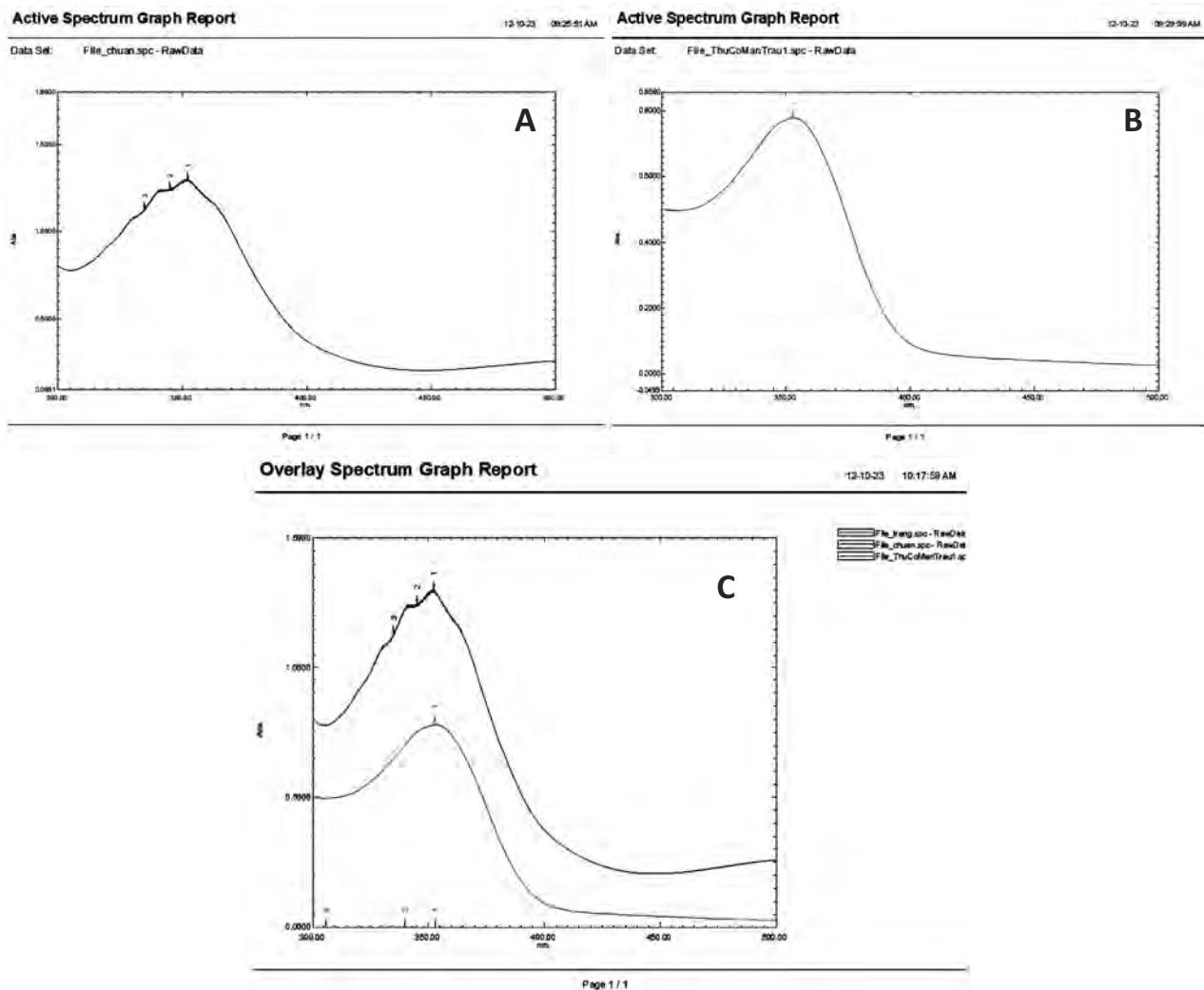
$$X(\%) = \frac{A_t + b}{ap} 100K$$

Trong đó: X (%) là hàm lượng flavonoid trong cao; A_t là độ hấp thụ ở bước sóng định lượng của mẫu thử; a, b là các hệ số trong phương trình tuyến tính của chuẩn $y = ax+b$; p là lượng cân thực tế (g); K là độ pha loãng.

3.2. Thẩm định quy trình định lượng flavonoid toàn phần (theo vitexin) trong cỏ mần trầu bằng phương pháp đo quang phổ UV – Vis

Tính tương thích hệ thống: Kết quả đo độ hấp thụ của 6 dung dịch chuẩn hàm lượng 6 $\mu\text{g/mL}$ ở bước sóng 352 nm, cho kết quả trung bình của độ hấp thụ là 0.8302 với RSD = 1.9288%. Kết luận: Quy trình đạt tính tương thích hệ thống.

Tính đặc hiệu: Tính đặc hiệu được trình bày trong Hình 1 cho thấy peak của mẫu thử (A) tại bước sóng 352.15 nm và peak của mẫu chuẩn (B) tại bước sóng 352.70 nm. Chênh lệch bước sóng giữa mẫu thử (A) và mẫu chuẩn (B) được thể hiện trong (C), có độ lệch khoảng 0.55 nm (giá trị chênh lệch không đáng kể). Kết luận: Quy trình đạt tính đặc hiệu.



Hình 1. Kết quả tính đặc hiệu

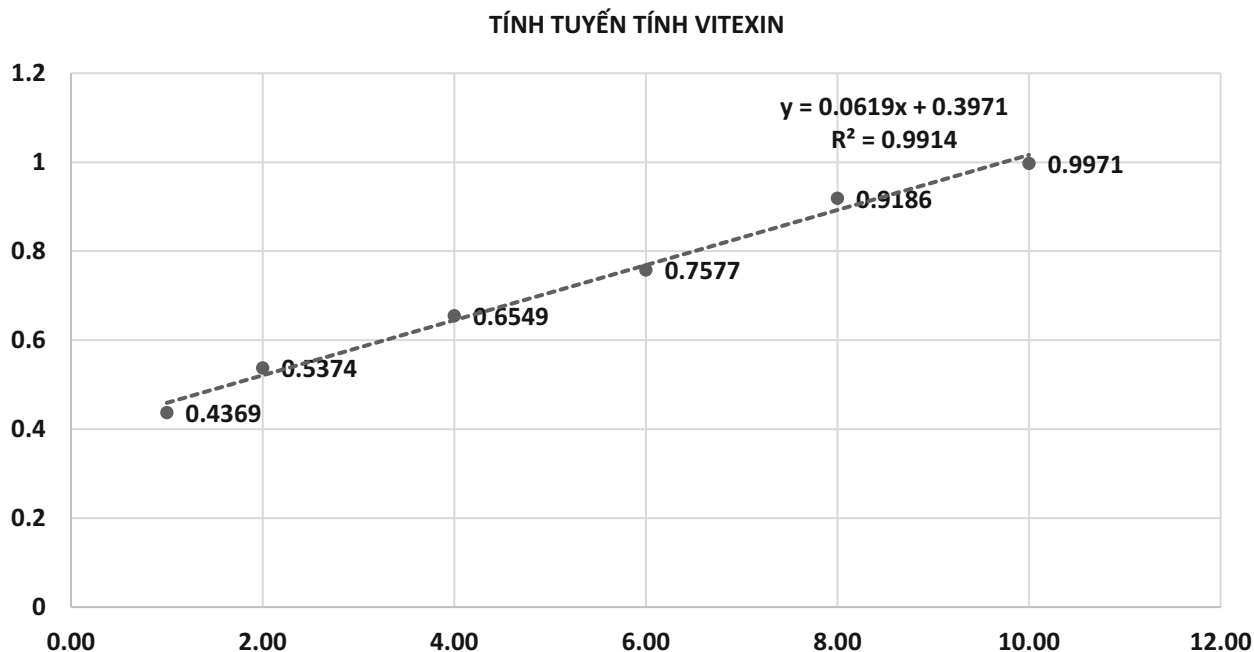
Tính tuyến tính: Kết quả xác định phương trình hồi quy và hệ số tuyến tính được trình bày trong Bảng 7 và Hình 2. Quy trình định lượng flavonoid toàn

phần (theo vitexin) đạt tính tuyến tính trong khoảng 1 – 10 $\mu\text{g/mL}$. Phương trình hồi quy tuyến tính giữa nồng độ flavonoid toàn phần và độ hấp

thụ có dạng $y = 0.0619x + 0.3971$; $R^2 = 0.9914$. $P_a = 3.075 \times 10^{-4}$ và $P_b = 2.543 \times 10^{-4}$, hệ số a và b đều có Phương trình thích hợp với độ tinh cậy 95%, hệ số ý nghĩa.

Bảng 7. Kết quả đo tính tuyến tính

Nồng độ chất chuẩn (µg/ml)	1	2	4	6	8	10
Độ hấp thu (A)	0.4369	0.5374	0.6549	0.7577	0.9186	0.9971



Hình 2. Đường biểu diễn mối tương quan tuyến tính giữa nồng độ và diện tích peak

Độ chính xác: Được thực hiện với 6 mẫu cao đặc cỏ mần trầu (khối lượng khoảng 0.1 g cao) có hàm lượng trung bình của flavonoid toàn phần (theo vitexin) là 16.5918% với RSD = 1.47%.

Độ đúng: Bảng 8 cho thấy độ phục hồi trung bình

của vitexin từ 100.46 – 99.44%, độ phục hồi của phương pháp nằm trong khoảng cho phép từ 98 – 102% với RSD (%) của phần trăm hàm lượng flavonoid toàn phần (theo vitexin) ≤ 2%. Kết luận: Quy trình đạt độ đúng.

Bảng 8. Kết quả độ đúng

Mức (%)	STT	Lượng vitexin thêm vào (µg/mL)	Lượng vitexin tìm thấy (µg/mL)	Tỷ lệ thu hồi (%)	Trung bình (%)	RSD (%)
80	1	0.5856	0.5806	99.15	100.46	1.18
	2	0.5856	0.5900	100.75		
	3	0.5856	0.5942	101.47		
100	1	0.6014	0.6074	100.99	99.67	1.42
	2	0.6014	0.6004	99.84		
	3	0.6014	0.5904	98.18		
120	1	0.6559	0.6494	99.01	99.44	1.30
	2	0.6559	0.6455	98.41		
	3	0.6559	0.6618	100.90		

3.3. Chiết cao và xác định hiệu suất chiết

3.3.1. Kiểm tra nguyên liệu đầu vào (theo DĐVN V)

Bảng 9. Tiêu chuẩn cơ sở dược liệu cỏ mần trầu

STT	Tiêu chuẩn	Yêu cầu	Kết quả
1	Độ ẩm	$\leq 10\%$	7.08%
2	Tro toàn phần	$\leq 9\%$	8.57
3	Chất chiết được trong dược liệu	$> 4.5\%$	6.11
4	Định tính	Các phản ứng dương tính	Các phản ứng dương tính

Kết luận: Dược liệu cỏ mần trầu đạt theo tiêu chuẩn theo chuyên luận cỏ mần trầu của Dược điển Việt Nam V.

3.3.2. Nghiên cứu điều kiện chiết xuất dược liệu

3.3.2.1. Ảnh hưởng của các loại dung môi

Bảng 10. Kết quả định tính và hiệu suất chiết cao bằng các loại dung môi

	Dung môi	Định tính flavonoid	Hiệu suất chiết cao (%)
DM 1	H ₂ O	-	5.81
DM 2	C ₂ H ₅ OH	+	9.35
DM 3	CH ₃ OH	+	6.76

Nhận xét: Cao cỏ mần trầu chiết từ dung môi C₂H₅OH và CH₃OH đều chứa flavonoid và khi so sánh hiệu suất chiết cao từ C₂H₅OH cao hơn so với chiết cao từ CH₃OH.

Kết luận: Chọn dung môi C₂H₅OH để làm nghiên cứu tiếp theo.

3.3.2.2. Ảnh hưởng của phương pháp chiết

Bảng 11. Kết quả hiệu suất chiết cao và hàm lượng flavonoid toàn phần bằng phương pháp ngâm lạnh và đun hồi lưu

Phương pháp	Hiệu suất chiết cao (%)	Hàm lượng (%) flavonoid toàn phần
Ngâm lạnh	9.35	11.77
Đun hồi lưu	12.74	11.36

Nhận xét: Với hai phương pháp ngâm lạnh và đun hồi lưu kết quả flavonoid toàn phần không có chênh lệch đáng kể. Tuy nhiên, phương pháp đun hồi lưu cho hiệu suất chiết cao hơn.

Kết luận: Chọn phương pháp đun hồi lưu để điều chế cao đặc cỏ mần trầu.

3.3.2.3. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi, tỷ lệ dung môi/dược liệu, thời gian chiết, nhiệt độ chiết

Bảng 12. Mã hóa các yếu tố đầu vào

Yếu tố đầu vào	Biến mã hóa	Đơn vị tính	Giá trị thấp (-1)	Giá trị cao (+1)	Khoảng giá trị ứng với 1 đơn vị mã hóa	Giá trị trung tâm
Nồng độ DM	A	%	30	80	25	55
Tỷ lệ DM/DL	B		6	20	7	13
Thời gian	C	Phút	30	90	30	60
Nhiệt độ	D	°C	50	70	10	60

Phương trình hồi quy đa thức bậc 2:

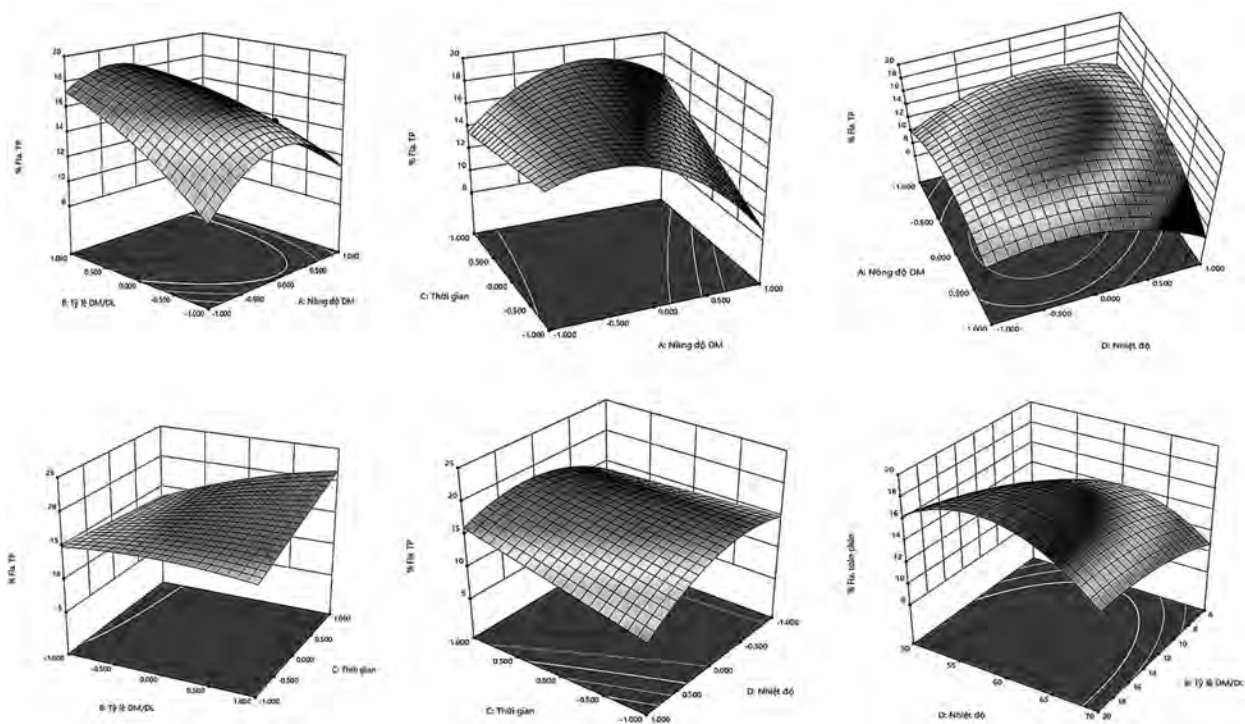
$$\% \text{ Flavonoid toàn phần} = \text{Intercept} + A + B + C + D + AB + AC + AD + BC + BD + CD + A^2 + B^2 + C^2 + D^2$$

Bảng 13. Thiết kế thí nghiệm theo giá trị mã hóa

Thí nghiệm	Nồng độ DM	Tỷ lệ DM/DL	Thời gian	Nhiệt độ	% Flavonoid toàn phần
1	1	-1	-1	0	9.54
2	-0.2	0.286	1	-1	14.43
3	-0.2	-1	-1	1	10.25
4	-0.2	0.286	-1	-1	15.35
5	-0.2	-0.429	0	0	15.97
6	1	-1	1	-1	9.38
7	-0.2	-1	1	1	11.6
8	-0.2	-1	0	-1	10.32
9	-0.2	-1	-1	1	10.25
10	0.6	-0.429	1	0	16.36
11	1	1	1	1	12.93
12	-0.2	0.286	1	-1	14.43
13	0.6	1	-1	-1	11.89
14	-1	0.286	1	1	14.68
15	-1	1	0	-1	13.26
16	-1	-0.429	-1	0	14.77
17	0.6	-0.429	0	0	14.58
18	-1	1	-1	1	11.26

Kết quả phân tích ANOVA bậc 2 cho kết quả với giá trị F là 3382.26 và giá trị p < 0.05. Phương trình hồi quy tìm được có tính tương thích với thực nghiệm

($P < 0.05$ và $R^2 = 0.9996$), có thể dùng để dự đoán % Flavonoid toàn phần chiết được qua các thông số đầu vào.



Hình 3. Kết quả đồ thị bề mặt đáp ứng

Chọn ngẫu nhiên 3 thí nghiệm theo điều kiện dự đoán kết quả tối ưu, tiến hành thực nghiệm điều chế 3 lô cao chiết. Định lượng hàm lượng

flavonoid toàn phần theo quy trình đã được xây dựng. Kết quả thực tế cho thấy gần với giá trị dự đoán.

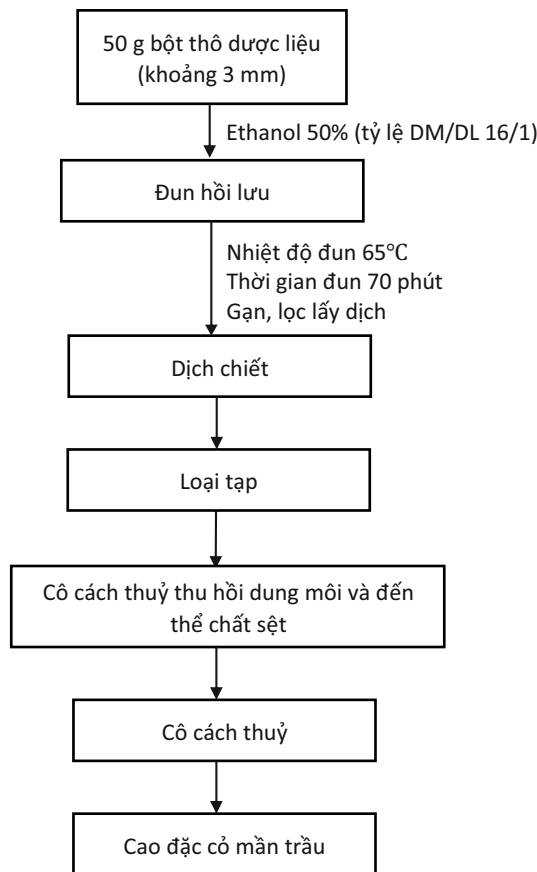
Bảng 14. Kết quả thực nghiệm

STT	Độ cồn	DM/DL	Thời gian	Nhiệt độ	% flavonoid (Dự đoán)	% flavonoid (Thực tế)
1	50	16	67	65	17.4	17.351
2	50	19	65	73	16.2	16.114
3	50	11	53	60	15.2	15.305

Kết luận: Sau khi khảo sát các điều kiện chiết cao đặc cỏ mần trầu bằng phần mềm tối ưu, chọn được điều kiện thích hợp chiết tối ưu: Chiết cao cỏ mần trầu bằng dung môi cồn 50% với tỷ lệ dung môi/dược liệu là 16/1, nhiệt độ đun 65°C

trong 70 phút với 800 mL ethanol 50%. Thu dịch chiết, lọc qua bông. Cô thu hồi dung môi đến thể tích còn 1/2 để lắng 3 ngày, gạn bỏ tạp lấy dịch chiết cô tiếp đến thể cao đặc, thu được 8.9 g cao đặc cỏ mần trầu.

3.3.3.2. Sơ đồ



Hình 4. Sơ đồ điều chế cao đặt cỏ mần trầu

3.3.4. Dự kiến tiêu chuẩn cơ sở cao đặc cỏ mần trầu

Tiêu chuẩn cơ sở cho cao đặc cỏ mần trầu gồm các

chỉ tiêu, mức chất lượng và phương pháp thực hiện được trình bày qua Bảng 13.

Bảng 15. Tiêu chuẩn cơ sở cao đặc cỏ mần trầu

STT	Chỉ tiêu	Yêu cầu	Thực hiện
1	Cảm quan	Thể chất đặc sệt, màu đen, mùi thơm, vị đắng nhẹ.	Kiểm tra bằng cảm quan
2	Độ ẩm	< 20 %	Theo ĐVN V

STT	Chỉ tiêu	Yêu cầu	Thực hiện
3	Giới hạn nhiễm khuẩn	Tổng số vi sinh vật hiếu khí (CFU/1 g) không quá 10.000. Tổng số nấm (CFU/1 g) không quá 100. Không quá 100 CFU/ g vi khuẩn gram âm dung nạp mật ong. Không có <i>Salmonella</i> trong 10 g. Không có <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> trong 1 g.	Theo PL 13.6, DĐVN V
4	Định tính	Phản ứng đóng mở vòng lacton. Phản ứng với TT diazo. Sắc ký lớp mỏng.	Theo DĐVN V
5	Định lượng (Hàm lượng % flavonoid toàn phần theo vitexin)	Không được dưới 14% (theo chế phẩm khan).	Bảng quang phổ UV – Vis, theo TCCS.

3.3.5. Đánh giá quy trình điều chế cao đặc cỏ mần trầu

Thực hiện điều chế 3 lô cao đặc cỏ mần trầu theo quy trình, mỗi lô với 0.5 kg dược liệu, thu được 3 lô cao với

khối lượng cao là lô 0011123 (96.11 g); lô 0021223 (94.97 g) và lô 0031223 (93.52 g). Kết quả kiểm tra theo tiêu chuẩn xây dựng được trình bày qua.

Bảng 16. Đánh giá quy trình điều chế cao đặc cỏ mần trầu

Chỉ tiêu	Lô 0011123	Lô 0021223	Lô 0031223	Kết quả
Cảm quan	Thể chất đặc sệt, màu đen, mùi thơm, vị đắng nhẹ.1			Đạt
Độ ẩm	11.04%	9.91%	10.54%	Đạt
Giới hạn nhiễm khuẩn	Không phát hiện vi khuẩn hiếu khí, kỵ khí. Số khóm nấm nấm trong giới hạn cho phép.	Không phát hiện vi khuẩn hiếu khí, kỵ khí. Số khóm nấm nấm trong giới hạn cho phép.	Không phát hiện vi khuẩn hiếu khí, kỵ khí. Số khóm nấm nấm trong giới hạn cho phép.	Đạt
Định tính	Hóa học Sắc ký lớp mỏng			Đúng
Định lượng Hàm lượng (%) flavonoid toàn phần (theo vitexin) trong cao	17.365%	17.182%	17.439%	Đạt

Kết luận: 3 lô cao đều đạt theo tiêu chuẩn cơ sở, chứng tỏ quy trình điều chế cao đặc cỏ mần trầu có tính lặp lại.

4. BÀN LUẬN

Hầu hết các tác dụng dược lý của cỏ mần trầu có liên quan đến hàm lượng polyphenol của dược liệu, đặc biệt trong các loại flavonoid của *E. indica*, vitexin chiếm tỷ lệ cao [4]. Vì thế nhóm nghiên cứu chọn chất chỉ điểm trong cỏ mần trầu là vitexin để định lượng flavonoid toàn phần. Hiện nay, để kiểm nghiệm hoạt chất trong dược liệu có nhiều phương pháp phổ biến như: HPLC, GC,... có thể cung cấp chính xác kết quả định tính và định lượng. Nhưng các phương pháp này yêu cầu đối với thiết bị, chi phí, thời gian và trình độ chuyên môn người thực hiện. Để thuận tiện cho việc kiểm nghiệm sơ bộ dược liệu có thể sử dụng phương

pháp quang phổ UV – Vis với những ưu điểm về thiết bị, chi phí thấp, ít tốn thời gian và dễ thực hiện. Đề tài đã xây dựng và thẩm định quy trình định lượng flavonoid toàn phần trong cao đặc cỏ mần trầu (theo vitexin) bằng quang phổ UV – Vis đã góp phần vào công tác kiểm tra nhanh chất lượng nguồn nguyên liệu đầu vào.

5. KẾT LUẬN

Nhóm nghiên cứu đã xây dựng và thẩm định được quy trình định lượng flavonoid toàn phần (theo vitexin) trong cao đặc cỏ mần trầu bằng phương pháp đo quang phổ UV – Vis. Nghiên cứu điều chế cao đặc cỏ mần trầu bằng phương pháp đun hồi lưu với dung môi ethanol 50%, nhiệt độ đun 65°C, thời gian chiết 70 phút. Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở cao đặc cỏ mần trầu gồm các chỉ tiêu: cảm quan, độ ẩm, giới hạn nhiễm khuẩn, định tính, định

lượng. Điều chế được 3 lô cao đặc cỏ màn trâu và kiểm tra theo tiêu chuẩn cơ sở, cả 3 lô đều đạt tiêu

chuẩn, điều đó cho thấy quy trình điều chế cao đặc cỏ màn trâu có tính ổn định.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Đỗ Tất Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, tr. 544. Hà Nội: Nxb Y học, 2003.

[2] Viện Dược Liệu, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tái bản lần thứ nhất, tập 1, tr. 491–492. Hà Nội: Nxb Khoa học và kỹ thuật, 2006.

[3] Alaekwe I. O, Ajiwe V. I. E, Ajiwe A. C, Aningo G. N, "Phytochemical and Anti – Microbial Screening of the Aerial Parts of *Eleusine indica*", *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, Vol. 3, No. 1, pp. 257–264, 2015.

[4] A. Pękal and K. Pyrzyńska, "Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay," *Food Anal. Methods*, vol. 7, no. 9, pp. 1776–1782, 2014.

[5] D. W. G. Harron, "Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2(R1)," *Textb. Pharm. Med.*, vol. 1994, no. November, pp. 447 – 460, 2013.

[6] Bộ Y Tế, *Dược điển Việt Nam V*, tập 2, tr. 1115 – 1116. Hà Nội: Nxb Y học, 2017.

[7] Trương Văn Xạ, Trần Kim Thoa, "Nghiên cứu tối ưu hoá trích ly polyphenol tổng, flavonoid tổng từ hoa đậu biếc (*Clitoria ternatea*) bằng ma trận Plackett-Burman và phương pháp đáp ứng bề mặt Box-bhenken", *Khoa học và Phát triển nông thôn*, kỳ 2 tr. 75–84, 2022.

[8] Nguyễn Cảnh, *Quy hoạch và thực nghiệm*. Thành phố Hồ Chí Minh: Nxb Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh, 2016.

Formulation and standardization of soft extract *Eleusine indica* (L.) Gaertn

Nguyen Ngoc Van Anh, Cat Huy Khoi, Truong Thuy Huynh, Trinh Nhu Ngoc, Nguyen Mai Pha and Nguyen Thi Mai

ABSTRACT

Background: In the past twenty years, the trend of using herbal products for prevention and treatment has become common. The preparation of intermediate products such as soft extract, dry extract, or powder is gradually receiving more attention, which helps to obtain various formulations from herbs. In addition, the group of flavonoid compounds in the medicinal herb *Eleusine indica* (L.) Gaertn. has activities such as heat clearing, antibacterial, antifungal, hemostatic, liver protection,...Therefore, the formulation and standardization of soft extract *E. indica* is necessary. **Objective:** Preparing and standardizing soft extract *Eleusine indica* (L.) Gaertn., Poaceae family. **Subjects and methods:** Whole – body medicinal *E. indica* on the ground, exploration of extraction conditions, and preparation of goosegrass soft extract to achieve optimal performance. **Results:** A procedure for quantifying total flavonoid content (using vitexin as standard) was developed and validated using UV – Vis spectrum measurement. Developed a preparation process and some high basic standards for goosegrass soft extract. **Conclusions:** Building high – quality standards for goosegrass soft extract, contributes to good control of the quality of raw materials used to produce dosage forms.

Keywords: *Eleusine indica* (L.) Gaertn. soft extract, total flavonoid content, UV – Vis spectrum measurement

Received: 02/04/2024

Revised: 02/07/2024

Accepted for publication: 16/07/2024