



Original Article

Formulation of Microemulsion-based Gel Containing Mango Seed Kernel Extract for Application in Anti-inflammation

Nguyen Ngoc Nha Thao*, Nguyen Thi Trang Dai

Can Tho University of Medicine and Pharmacy, 179 Nguyen Van Cu, Ninh Kieu, Can Tho, Vietnam

Received 29 July 2023

Revised 05 October 2023; Accepted 18 March 2024

Abstract: Published research showed that mango seeds have good anti-inflammatory and antibacterial properties. The purpose of this study is to develop a microemulsion formula containing mango seed extract for application in the treatment of inflammatory acne. Isopropyl myristate and coconut oil were selected as the fixed oil phase components. Phase diagrams for the microemulsion regions were constructed using PEG 40 hydrogenated castor oil as surfactant and PEG 400 as co-solvent. Microemulsions were prepared by titration and mixed with mango seed extract. Microemulsions and the physical and chemical stability of the microemulsion were evaluated for droplet size and PDI index using dynamic light scattering techniques. The microemulsion was gelled and evaluated for its anti-inflammatory effect by comparing it with an acne cream on the market. The selected microemulsion formula has a ratio of isopropyl myristate oil to coconut oil of 1:2, Smix/Co is PEG 40 hydrogenated castor oil to PEG 400 with a ratio of 3:1, and a high loading efficiency of 5% mango seed. The average particle size of the microemulsion reached 22.74 nm. The selected microemulsion showed good stability, with almost no change in particle size when stored at room temperature after 30 days. The microemulsion was gelled with 7% carbopol, and the permeability of polyphenols from the microemulsion gel within 6 hours was observed to be about 59.61%. The microemulsion gel inhibited the denaturation of bovine serum albumin, indicating that the microemulsion containing coconut oil and mango extract may help in treating inflammatory acne. Microemulsion gel containing mango seed kernel has been successfully studied, has anti-inflammatory activity equivalent to a modern control drug, and is promising as a natural preparation that can provide anti-inflammatory protection on acne skin. However, further clinical studies need to be conducted before use.

Keywords: Polyphenol, mango seed kernel, anti-inflammation, microemulsion.

* Corresponding author.

E-mail address: nnnthao@ctump.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4543>

Bào chế gel vi nhũ tương chứa cao nhân hạt xoài (*Mangifera indica* L.) hướng tác dụng kháng viêm

Nguyễn Ngọc Nhã Thảo*, Nguyễn Thị Trang Đài

Trường Đại học Y Dược Cần Thơ, 179 Nguyễn Văn Cừ, Ninh Kiều, Cần Thơ, Việt Nam

Nhận ngày 29 tháng 7 năm 2023

Chỉnh sửa ngày 05 tháng 10 năm 2023; Chấp nhận đăng ngày 18 tháng 3 năm 2024

Tóm tắt: Các kết quả nghiên cứu đã công bố cho thấy hạt xoài có khả năng kháng viêm, kháng khuẩn rất tốt. Mục đích của nghiên cứu này là phát triển công thức vi nhũ tương chứa chiết xuất hạt xoài để ứng dụng trong điều trị mụn viêm. Vật liệu và phương pháp: Isopropyl myristat và dầu dừa được chọn làm thành phần pha dầu cố định. Giãn đồ pha cho các vùng vi nhũ tương được xây dựng bằng cách sử dụng dầu thầu dầu hydro hóa PEG 40 làm chất hoạt động bề mặt và PEG 400 làm chất đồng dung môi. Vi nhũ tương được bào chế bằng cách chuẩn độ và trộn với chiết xuất hạt xoài. Độ ổn định vật lý và hóa học của vi nhũ tương được đánh giá gồm kích thước tiểu phân, chỉ số PDI, sử dụng kỹ thuật tán xạ ánh sáng động. Vi nhũ tương được tạo gel và đánh giá về tác dụng chống viêm, so sánh khả năng kháng viêm với một loại kem trị mụn trên thị trường. Kết quả: công thức vi nhũ tương được lựa chọn có tỷ lệ dầu isopropyl myristat, dầu dừa là 1:2, Smix/Co là PEG 40 hydro hóa dầu thầu dầu và PEG 400 với tỷ lệ 3:1 và có hiệu suất tải cao hạt xoài 5%. Kích thước hạt trung bình của vi nhũ tương đạt 22,74 nm. Vi nhũ tương được lựa chọn cho thấy độ ổn định tốt, hầu như không thay đổi kích thước tiểu phân khi bảo quản ở nhiệt độ phòng sau 30 ngày. Vi nhũ tương được tạo gel với 7% carbopol và khả năng khuếch tán của polyphenol từ gel vi nhũ tương trong vòng 6 giờ được quan sát là khoảng 59,61%. Gel vi nhũ tương ức chế sự biến tính của albumin huyết thanh bò, cho thấy rằng vi nhũ tương chứa dầu dừa và chiết xuất hạt xoài có thể giúp điều trị mụn viêm. Kết luận: Gel vi nhũ tương chứa nhân hạt xoài đã được nghiên cứu thành công, có hoạt tính chống viêm tương đương với một loại thuốc trị mụn trên thị trường và hứa hẹn là một chế phẩm tự nhiên có thể bảo vệ chống viêm cho da mụn. Tuy nhiên, các nghiên cứu lâm sàng sâu hơn cần được tiến hành trước khi sử dụng.

Từ khóa: polyphenol, nhân hạt xoài, kháng viêm, vi nhũ tương.

1. Mở đầu

Nhân hạt xoài chứa carotenoid, tocopherol, polyphenol (mangiferin, hesperidin, rutin, quercetin, kaempferol,...) và acid phenolic (acid galic, acid caffeic, acid ellagic,...). Các thành phần hóa thực vật này được biết đến với đặc tính chống oxy hóa, chống ung thư, kháng khuẩn và trị đái tháo đường [1-4]. Chiết xuất hạt xoài có khả năng chống oxy hóa và kháng khuẩn hiệu

quả hơn so với chiết xuất vỏ trái xoài (*M. indica* L.) [5, 6]. Trong một nghiên cứu khác, các phân đoạn ethanol thể hiện tác dụng kháng khuẩn mạnh nhất đối với *Propionibacterium acnes* với nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu lần lượt là 1,56 mg/mL và 12,50 mg/mL [4]. Tác dụng ức chế của các chất chiết xuất đối với sự tiết IL-8 từ các tế bào RAW 264.7 gây ra LPS cũng đã được công bố. Chất chiết xuất từ nhân của quả *M. indica* thô có hiệu quả chống lại

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: nnnthao@ctump.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4543>

vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí gây mụn trứng cá, đặc biệt là *P. acnes* và có tác dụng chống oxy hóa cùng với các hoạt động chống viêm. Do đó, theo kết quả của các nghiên cứu trước đây, chất chiết xuất có thể là tác nhân tiềm năng để điều trị mụn viêm [7]. Để ứng dụng tác dụng kháng viêm, trị mụn của nhân hột xoài, việc lựa chọn dạng bào chế phù hợp là cần thiết. Trong số các dạng bào chế hiện đại, hệ gel vi nhũ tương hoặc dạng hệ tự vi nhũ tương hoá là một dạng bào chế được quan tâm nghiên cứu nhiều gần đây [8-10]. Đây cũng là dạng bào chế phù hợp với cao nhân hột xoài được chiết bằng ethanol với các thành phần có độ phân cực khác nhau như polyphenol dễ tan trong nước và mangiferin thì lại khó tan trong nước [8]. Do đó, nghiên cứu chế phẩm chứa dịch chiết hột xoài ở dạng gel vi nhũ tương, đánh giá tác dụng kháng viêm *in vitro* là cần thiết nhằm cung cấp một lựa chọn điều trị từ thiên nhiên đồng thời giải quyết vấn đề ô nhiễm môi trường. Mục tiêu chính của nghiên cứu là xây dựng công thức điều chế vi nhũ tương chứa cao hột xoài ổn định, khả năng thẩm thấu và đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vitro* của chế phẩm so với chế phẩm kháng viêm trị mụn trên thị trường.

2. Nguyên liệu, thiết bị và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu, hoá chất, thiết bị nghiên cứu

2.1.1. Nguyên liệu, hoá chất

Xoài Cát Hòa Lộc được thu hái tại Ô môn, Cần Thơ và tháng 4/2022 và xử lý lấy nhân hột phơi khô, xay mịn với độ ẩm đạt 8,5% đưa vào chiết xuất bào chế cao với ethanol 96% bằng phương pháp ngâm lạnh ở nhiệt độ phòng với tỷ lệ 1:10, cao đặc thu được đạt hàm lượng polyphenol tổng là $443,06 \pm 0,43$ mg/g cao, chỉ tiêu mất khối lượng do làm khô đạt 7,06%. Hóa chất và dung môi: chất chuẩn acid gallic, hàm lượng 98% (Sigma Aldrich). Tá dược dầu isopropyl myristat (Công ty 3C); PEG 40 hydrogenated castor oil (Công ty 3C), PEG 400, propylene glycol, Tween 80, Span 80 (Trung Quốc), Carbopol 940 (Mỹ). Huyết thanh bò (BSA, Himedia - Ấn Độ), chất chuẩn

prednisolone, diclofenac (độ tinh khiết 99,8%) được cung cấp bởi Viện Kiểm nghiệm thành phố Hồ Chí Minh và các hóa chất thông dụng khác.

Thuốc đối chứng: Klenzit-C gel (Glenmark) chứa 1 mg adapalene và 10 mg clindamycin trong 1 g gel.

2.1.2. Thiết bị nghiên cứu

Máy đo quang phổ UV-Vis (Hitachi-Nhật), tủ sấy (Mettler-Đức), bếp cách thủy (Mettler-Đức), cân kỹ thuật (Sartorius-Đức), cân phân tích (Sartorius-Đức), cân phân tích ẩm A&D (MX50-Nhật), máy đo pH (Ika-Đức), máy đo kích thước tiêu phân Zetasizer (Malvern-Anh), máy khuấy từ (Ika-Đức) và các dụng cụ thường quy của phòng thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bào chế vi nhũ tương và gel vi nhũ tương chứa cao nhân hột xoài

Bào chế vi nhũ tương

Khảo sát tỷ lệ phối hợp giữa đồng diện hoạt/diện hoạt và pha dầu: lựa chọn chất diện hoạt và đồng diện hoạt (Smix) từ các chất Tween 80, Span 80, PEG 400, lauryl glycosid, PEG 40 hydrogenated castor oil, propylene glycol, ethanol. Phối hợp từng cặp chất diện hoạt sao cho có HLB nằm trong khoảng 10-14 để xây dựng vi nhũ tương D/N. Thực hiện phối hợp các Smix/Co gồm đồng dung môi: diện hoạt theo các tỷ lệ: 1:1; 1:3; 1:4 (khối lượng/khối lượng). Mỗi tỷ lệ Smix/Co được phối hợp với pha dầu theo các tỷ lệ từ 9:1; 8:2; 7:3; 6:4; 5:5; 4:6; 3:7; 2:8; 1:9 (Smix/Co:Dầu) (khối lượng/khối lượng). Pha dầu được chọn là hỗn hợp dầu isopropyl myristat kết hợp dầu dừa. Các hỗn hợp phối hợp được quan sát ở thời điểm sau vortex 10 phút.

Khảo sát giản đồ pha từ các tá dược được chọn. Giản đồ pha được xây dựng bằng phương pháp chuẩn độ nước cất được thêm vào hệ chất mang (gồm 3 thành phần: dầu - chất diện hoạt - chất đồng dung môi) để thử khả năng tạo thành hệ tự vi nhũ hóa khi không có cao hột xoài với mục đích lựa chọn tỉ lệ tối ưu giữa chất diện hoạt và chất đồng dung môi cho hệ, sau mỗi lần thêm nước, lắc xoáy trong 1 phút, quan sát độ trong hỗn hợp, tiếp tục lặp lại các thao tác thêm nước

và lắc xoáy, điểm kết thúc là khi hỗn hợp đục hoặc có hiện tượng tách lớp. Giảm độ pha với 3 thành phần phối hợp thích hợp (Dầu : Smix/Co : Nước) có diện tích vùng vi nhũ tương lớn nhất, phù hợp với độ trong suốt của hỗn hợp nhìn thấy bằng mắt thường.

Công thức vi nhũ tương được lựa chọn từ giảm độ pha sao cho thành phần pha dầu chiếm tỷ lệ không dưới 4%, lượng chất diện hoạt sử dụng là ít nhất. Khảo sát khả năng tải cao hạt xoài trên các hệ tá dược tiềm năng với hàm lượng cao hạt xoài lần lượt là 100 mg, 500 mg, 1000 mg, 2000 mg cho 10 g hệ vi nhũ tương trắng. Hoà tan bằng cách khuấy trong 10 phút. Đánh giá qua việc ly tâm 1000 vòng/phút để loại các công thức chứa cao hạt xoài bị tủa, cặn, hoặc tách lớp. Để yên 24 giờ ở nhiệt độ phòng sau đó tiến hành các thử nghiệm tiếp theo.

Bào chế gel vi nhũ tương

Khảo sát nồng độ carbopol 940 từ 5% (G1), 6% (G2) và 7% (G3) để tạo gel nền và phối hợp với vi nhũ tương. Bào chế gel vi nhũ tương chứa cao hạt xoài theo công thức sau:

Vi nhũ tương	50 g
Glycerin	1 g
Nipagin M	0,1 g
Gel nền carbopol 940	vừa đủ 100 g

Quy trình bào chế:

- Ngâm trương nở hoàn toàn carbopol 940 trong nước theo các mức nồng độ trong 24 giờ. Cân lượng vừa đủ theo công thức.

- Đun nóng glycerin đến 60 °C. Cho nipagin M vào hoà tan. Phối hợp hỗn hợp vào Carbopol 940 đã trương nở và khuấy trộn nhẹ nhàng đến đồng nhất (1).

- Cân chính xác lượng vi nhũ tương theo công thức. Thêm dần vi nhũ tương vào (1), khuấy trộn đến đồng nhất.

- Bảo quản gel tạo thành trong lọ thủy tinh nâu, miệng rộng trong tối thiểu 24 giờ, sau đó lấy mẫu để thực hiện kiểm nghiệm.

2.1.2. Đánh giá vi nhũ tương và gel vi nhũ tương

- Đánh giá kích thước và phân bố kích thước tiểu phân trong vi nhũ tương bằng thiết bị tán xạ laser: cân 0,05 g vi nhũ tương chứa cao xoài sau đó phân tán hệ vào khoảng 50 mL nước cất đã

lọc qua màng 0,2 µm, cho mẫu vào cuvet thủy tinh, tiến hành đo trên thiết bị tán xạ laser với chỉ số khúc xạ RI là 1,33 và độ hấp thụ là 0,01.

- Đánh giá độ ổn định vật lý của vi nhũ tương: ly tâm vi nhũ tương 5000 vòng/phút trong 30 phút sau đó quan sát tính chất của vi nhũ tương. Vi nhũ tương được coi là ổn định khi không có sự tách lớp sau ly tâm.

- Xác định độ bền của hệ vi nhũ tương bằng cách theo dõi ở điều kiện nhiệt độ phòng trong 30 ngày. Đánh giá cảm quan, kích thước hạt, độ phân bố kích thước hạt của hệ so với ban đầu.

- Đánh giá gel vi nhũ tương chứa cao nhân hạt xoài.

Tính chất: được đánh giá bằng quan sát cảm quan. Yêu cầu: gel vi nhũ tương chứa cao nhân hạt xoài có màu nâu vàng, thể chất mềm, mịn, đồng nhất, ít hoặc không có bọt khí.

Độ ổn định chu kỳ nhiệt: cân 5 g mỗi mẫu gel cho vào ống nghiệm có nắp vặn riêng biệt. Để ở nhiệt độ phòng trong tối thiểu 24 giờ. Thực hiện 6 chu kỳ nhiệt. Ở mỗi chu kỳ, mẫu gel được bảo quản lần lượt ở 4 °C trong 16 giờ, tiếp theo ở 50 °C trong 8 giờ, các chu kỳ được thực hiện liên tục. Sau mỗi chu kỳ quan sát sự tách lớp, vẩn đục của gel. Yêu cầu: gel không tách lớp hay vẩn đục.

pH: cân khoảng 0,5 g gel, phân tán vào nước cất vừa đủ 50 mL. Xác định pH bằng máy đo pH ở nhiệt độ phòng. Thực hiện trên 3 mẫu thử độc lập.

Định lượng hàm lượng polyphenol tổng trong gel vi nhũ tương: bằng phương pháp đo quang sau khi phản ứng với thuốc thử folin-ciocalteu ở bước sóng 765 nm. Hàm lượng polyphenol toàn phần được tính theo acid gallic. Dung dịch chuẩn acid gallic: cân chính xác khoảng 10,0 mg acid gallic chuẩn, hòa tan trong nước cất để được 100 ml dung dịch chuẩn gốc (nồng độ 100 µg/mL). Dung dịch thử: cân chính xác khoảng 0,3 g gel vi nhũ tương cho vào bình cầu, chiết bằng thiết bị chiết siêu âm ở nhiệt độ 40 °C, thời gian 30 phút bằng 80 mL nước cất. Sau đó, bổ sung trong bình định mức 100 ml bằng nước cất. Lọc thu dịch chiết. Hút chính xác 1,0 mL dung dịch thử cho vào ống nghiệm, thêm 5,0 mL thuốc thử folin-ciocalteu, lắc đều trong 2

phút. Để yên ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Thêm 4,0 mL dung dịch Na_2CO_3 7,5%. Lắc đều trong 2 phút, đậy kín, để yên ở nhiệt độ phòng trong 60 phút. Hàm lượng polyphenol toàn phần trong gel vi nhũ tương theo acid gallic được tính theo công thức: $X = (\text{Cthực} \times V \times 100)/m$. Trong đó: X: hàm lượng polyphenol toàn phần (mg/g); Cthực: nồng độ polyphenol toàn phần trong dung dịch thử ($\mu\text{g}/\text{mL}$); V: thể tích dung dịch thử (mL); m: khối lượng của gel (g).

Đánh giá khả năng giải phóng hoạt chất *in vitro*: dùng tế bào Franz kiểu đứng với các thông số sau: thể tích buồng nhận (đã có thanh khuấy từ): 13,45 mL (xuất xứ thiết bị: Việt Nam); Nhiệt độ môi trường thử: 37 ± 1 °C; Tốc độ khuấy: mức 2 trên máy khuấy từ IKA; Lượng chế phẩm thử nghiệm: 0,5 g; Màng thử: màng cellulose acetat 0,45 μm , đường kính 20 mm; Môi trường thử nghiệm: đệm phosphat pH 7,4. Thời gian thử nghiệm: 6 giờ. Thể tích mẫu thử nghiệm: 1 mL. Diện tích tiếp xúc của màng thử và môi trường: 2 cm^2 . Định lượng polyphenol tổng khuếch tán qua màng theo quy trình đã được sử dụng để định lượng trong chế phẩm. Tổng lượng polyphenol trong chế phẩm khuếch tán qua tế bào Franz trong 6 giờ theo công thức: $Q_n = V \times C_n$. Trong đó: V (ml): thể tích ngăn tiếp nhận; C_n (g/ml): nồng độ mẫu nhận được ở t_n ; Q_n (μg): tổng lượng polyphenol trong chế phẩm khuếch tán qua tế bào thẩm tĩnh Franz.

2.1.3. Đánh giá hoạt tính kháng viêm của gel vi nhũ tương chứa cao nhân hạt xoài

Phương pháp khảo sát hoạt tính ức chế sự biến tính của albumin huyết thanh bò: khả năng kháng viêm của mẫu thử được khảo sát thông qua hoạt động ức chế sự biến tính albumin huyết thanh bò (Bovine serum albumin, Himedia, Ấn Độ) được thực hiện theo mô tả của Shah và cộng sự (2017) [11] có hiệu chỉnh. Hỗn hợp phản ứng gồm 150 μL mẫu thử ở các nồng độ khác nhau với 150 μL dung dịch albumin huyết thanh bò 0,5%. Sau đó, hỗn hợp được ủ ở 27 °C trong 20 phút. Sự biến tính albumin huyết thanh bò được gây ra bằng cách giữ hỗn hợp phản ứng ở 80 °C trong 20 phút. Sau khi làm mát, tiến hành đo mật độ quang tại bước sóng 660 nm. Diclofenac

(Viện Kiểm nghiệm thuốc thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam) được sử dụng như đối chứng dương. Khả năng ức chế sự biến tính albumin huyết thanh bò được xác định theo công thức sau: phần trăm ức chế (%) = $100 \times (1 - V_t/V_c)$. Trong đó, V_t : mật độ quang của mẫu thử hoặc chất chuẩn, V_c : mật độ quang của mẫu chứa đệm phosphat (pH=7,4).

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Bào chế vi nhũ tương

3.1.1. Xây dựng giản đồ pha xác định vùng vi nhũ tương

Trên cơ sở khảo sát khả năng hòa tan của cao đặc nhân hạt xoài trong một số chất diện hoạt, đồng dung môi và dầu, nghiên cứu đã chọn được các thành phần để khảo sát hình thành vi nhũ tương bằng phương pháp tự vi nhũ hoá gồm pha dầu: isopropyl myristat, dầu dừa; chất diện hoạt: PEG 40 hydrogenated castor oil, Tween 80, Span 80; chất đồng diện hoạt: PEG 400. Kết quả khảo sát khả năng hoà tan của tương dầu vào hỗn hợp chất diện hoạt và đồng dung môi cho thấy 3 hệ sau có khả năng hoà tan tốt vào nhau gồm hệ (1) Dầu 1 (isopropyl myristat, dầu dừa tỷ lệ 1:2), Smix/Co 1 (PEG 40 hydrogenated castor oil và PEG 400 tỷ lệ 3:1); (2) Dầu 2 (isopropyl myristat, dầu dừa tỷ lệ 2:1), Smix/Co 1 (PEG 40 hydrogenated castor oil, và PEG 400 tỷ lệ 1:1) (3) Dầu 1 (isopropyl myristat, dầu dừa tỷ lệ 1:2), Smix/Co 2 (Tween 80, Span 80 và PEG 400 tỷ lệ 3:1:1).

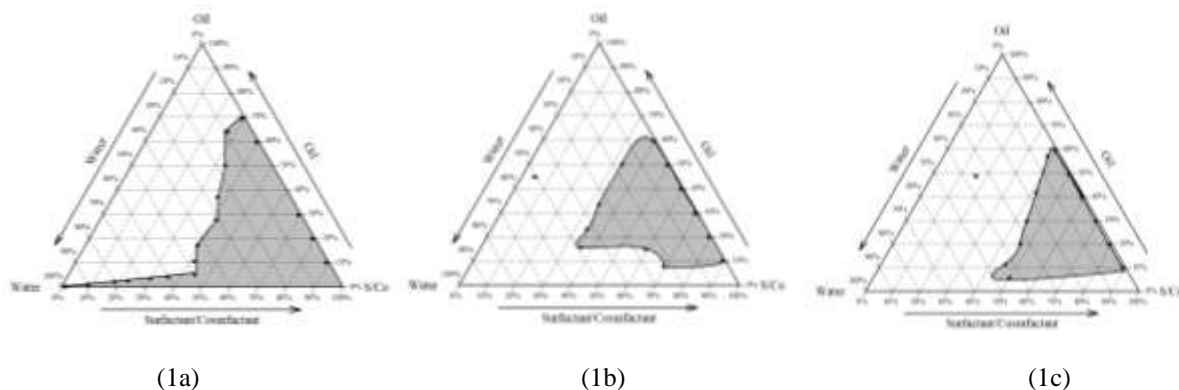
Kết quả khảo sát các giản đồ pha được thể hiện trong Hình 1. Trong đó, chọn hệ có khả năng hình thành vùng vi nhũ tương có diện tích lớn nhất là hệ (1) Dầu 1 (isopropyl myristat, dầu dừa tỷ lệ 1:2), Smix/Co 1 (PEG 40 hydrogenated castor oil và PEG 400 tỷ lệ 3:1).

3.1.2. Phối hợp cao hạt xoài trong công thức vi nhũ tương

Ba công thức chọn từ hệ Dầu 1 (isopropyl myristat, dầu dừa tỷ lệ 1:2), Smix/Co 1 (PEG 40 hydrogenated castor oil và PEG 400 tỷ lệ 3:1) được nạp cao xoài với các tỷ lệ từ 1-20% (kl/kl).

Hoà tan cao trong hệ bằng cách khuấy trong 10 phút. Tiến hành ly tâm 3000 vòng/phút để quan

sát mẫu chưa tan hết. Kết quả được trình bày trong Bảng 1.



Hình 1. Giải đồ pha của hệ chất mang Dầu 1 (isopropyl myristat, dầu dừa=1:2): Smix/Co 1 (PEG 40 hydrogenated castor oil:PEG 400=3:1)-Hình 1a; Dầu 2 (isopropyl myristat, dầu dừa=2:1):Smix/Co 1 (PEG 40 hydrogenated castor oil:PEG 400=1:1)-Hình 1b, Dầu 1 (isopropyl myristat, dầu dừa=1:2):Smix/Co 2 (Tween 80, Span 80 và PEG 400=3:1:1)-Hình 1c.

Bảng 1. Tải lượng cao xoài tối đa trong công thức vi nhũ tương và độ ổn định vật lý của vi nhũ tương hình thành

Công thức (Tỷ lệ D:Smix/Co:N)	Nồng độ cao xoài			
	1%	5%	10%	20%
CT1 (4:40:56)	Không xuất hiện cắn sau ly tâm	Không xuất hiện cắn sau ly tâm	Có cắn sau ly tâm	Có cắn sau ly tâm
CT2 (4:44:52)	Không xuất hiện cắn sau ly tâm	Không xuất hiện cắn sau ly tâm	Có cắn sau ly tâm	Có cắn sau ly tâm
CT3 (4:46:50)	Không xuất hiện cắn sau ly tâm	Không xuất hiện cắn sau ly tâm	Không xuất hiện cắn sau ly tâm	Có cắn sau ly tâm
CT4 (8:42:50)	Không xuất hiện cắn sau ly tâm	Không xuất hiện cắn sau ly tâm	Không xuất hiện cắn sau ly tâm	Có cắn sau ly tâm

Nhận xét: Cả 4 công thức đều có khả năng tải 5% cao xoài. Ưu tiên chọn công thức có tỷ lệ pha dầu cao và/hoặc lượng chất diện hoạt ít hơn nên chọn CT4 và CT1. Tiến hành đánh giá

độ ổn định sau ly tâm (ly tâm 5000 vòng/phút trong 30 phút), cỡ hạt và phân bố cỡ hạt của CT4 và CT1 được kết quả như trong Bảng 2.

Bảng 2. Các thông số của công thức CT1 và CT4

Công thức	Kích thước tiểu phân trung bình (nm)	PDI	Độ ổn định sau ly tâm
CT1 (4:40:56)	22,41	0,119	Đạt
CT4 (8:42:50)	42,48	0,464	Đạt

Nhận xét: các hệ vi nhũ tương CT1 và CT4 đều đạt độ ổn định sau ly tâm, có kích thước tiểu phân trung bình đạt quy định về cỡ hạt của vi nhũ tương. Công thức CT1 có hệ số đa phân tán thấp,

nhỏ hơn 0,3 chứng tỏ thuộc hệ đơn phân tán nên được chọn để phát triển thành gel vi nhũ tương.

Khảo sát độ bền công thức vi nhũ tương ở ở nhiệt độ thường trong 30 ngày.

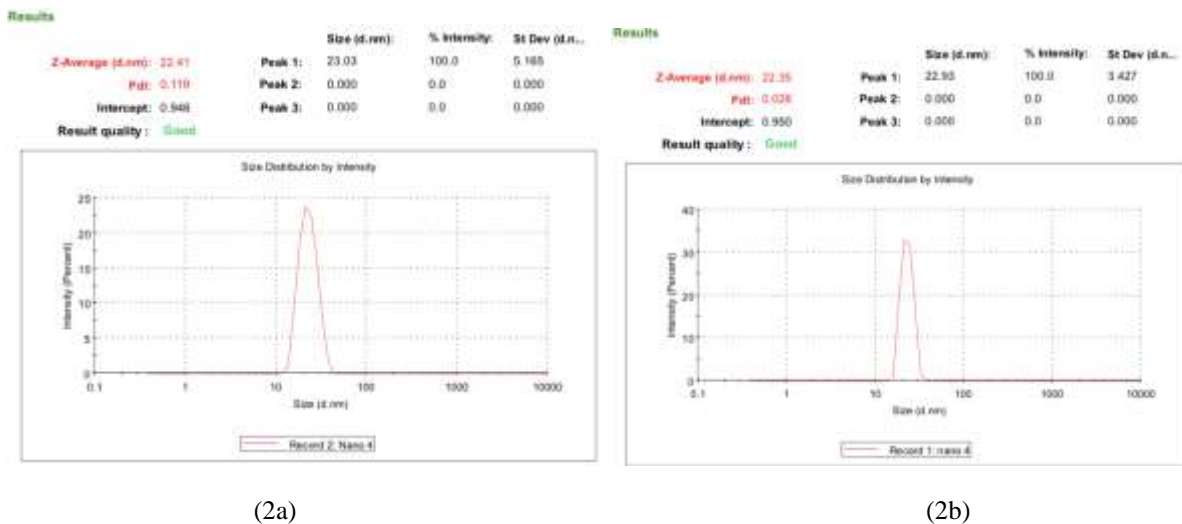
Hệ vi nhũ tương CT1 được khảo sát độ bền ở nhiệt độ thường trong 30 ngày, kết quả được trình bày tại Bảng 3, Hình 2.

Nhận xét: hệ vi nhũ tương CT1 hầu như không có sự thay đổi đáng kể về kích thước hạt hoặc tiểu phân. Kết quả đánh giá cảm quan hệ

cũng cho thấy hệ không bị kết tủa, không tách lớp khi bảo quản 30 ngày ở nhiệt độ thường. Với các kết quả đạt được cho thấy hệ vi nhũ tương CT1 ổn định trong thời gian 30 ngày ở nhiệt độ phòng.

Bảng 3. Kết quả độ ổn định của hệ CT1 ở nhiệt độ thường trong 30 ngày

	Ban đầu	Sau 30 ngày
Kích thước tiểu phân trung bình	22,41	22,35
Chỉ số đa phân tán	0,119	0,028
Kết tủa được chất	Không kết tủa	Không kết tủa
Tách lớp	Không tách lớp	Không tách lớp



Hình 2. Kết quả đo kích thước tiểu phân hệ CT1 ở nhiệt độ thường thời điểm ban đầu (2a) và sau 30 ngày (2b).

3.2. Điều chế gel vi nhũ tương và đánh giá các đặc tính của gel thành phẩm

3.2.1. Điều chế gel vi nhũ tương

Xây dựng công thức gel thành phẩm: thử nghiệm phối hợp hệ CT1 với các tác nhân tạo gel carbopol và kiềm hoá bằng NaOH để tăng độ nhớt. Tuy nhiên, chế phẩm tạo thành đạt độ nhớt của gel nhưng bị tăng màu khi kiềm hoá. Do đó, tiến hành khảo sát tăng tỷ lệ sử dụng của tá dược carbopol, bỏ giai đoạn kiềm hoá. Gel carbopol được khảo sát ở các tỷ lệ 5% (G1), 6% (G2) và 7% (G3) để so sánh khả năng tạo gel khi phối hợp với CT1. Kết quả cho thấy, gel carbopol ở nồng độ 7% (G3) khi phối hợp với vi nhũ tương

cao hoạt xoài có đặc tính tốt nhất về mặt cảm quan: gel trong suốt, và thể chất phù hợp. Các gel ở nồng độ thấp hơn 7% không tạo được gel đạt yêu cầu.

3.2.2. Đánh giá các đặc tính của gel thành phẩm

Tính chất: gel màu nâu nhạt, trong, mềm, dễ bôi lên da, dễ rửa sạch. Đánh giá pH: kết quả trung bình 3 lần đo là 5,13. Độ bền pha: sau 6 chu kỳ nhiệt, mẫu gel thử không bị tách lớp và không có sự thay đổi về cảm quan. Định lượng polyphenol tổng trong gel: kết quả định lượng cho thấy lượng polyphenol tổng trong gel vi nhũ tương đạt $11,44 \pm 0,01$ mg/g gel tính theo acid gallic. Độ khuếch tán qua màng: đạt $59,61 \pm$

0,02% lượng polyphenol khuếch tán qua màng sau 6 giờ.

3.3. Đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vitro* của gel thành phẩm

Đánh giá hoạt tính kháng viêm *in vitro* của gel thành phẩm bằng phương pháp khảo sát hoạt tính ức chế sự biến tính của albumin huyết thanh bò. Kết quả hoạt tính kháng viêm của mẫu gel vi nhũ tương chứa cao hạt xoài và thuốc đối chứng là Klenzit-C được trình bày trong Bảng 4.

Bảng 4. Giá trị IC50 của các cao chiết trong khảo sát hoạt tính kháng viêm

Mẫu	IC50 ($\mu\text{g/mL}$)
Gel vi nhũ tương cao hạt xoài	238,41 \pm 8,06
Gel Klenzit-C	270,85 \pm 2,85
Diclofenac	6,64 \pm 0,13

Nhận xét: chứng dương diclofenac có giá trị IC50 là 6,64 \pm 0,13 $\mu\text{g/mL}$, thấp hơn nhiều so với 2 mẫu thử. Kết quả cho thấy giá trị IC50 của gel vi nhũ tương cao hạt xoài đạt tương đương với thuốc đối chứng sử dụng phổ biến để điều trị mụn viêm trên thị trường Klenzit-C ($p < 0,05$).

4. Bàn luận

Các chất chiết xuất chủ yếu bằng ethanol của nhân hạt *M. indica* có lượng hợp chất phenolic và mangiferin được tìm thấy khá cao trong cao chiết xuất hạt *M. indica* [3]. Các hợp chất này được cho là có liên quan đến tác dụng chống ung thư, chống tiểu đường, chống viêm, bảo vệ da, bảo vệ tế bào thần kinh, kháng khuẩn và chống lão hóa [12-15]. Mangiferin có đặc tính khó tan trong nước nên được nghiên cứu tạo hệ tự vi nhũ hoá để tăng độ tan như trong nghiên cứu của Xiao-yu Xuan và cộng sự năm 2012 đã sử dụng hệ isopropyl myristat-Cremphor EL35-labrasol = 2 : 4,8 : 3,2 để điều chế và kết quả cải thiện được độ hoà tan của mangiferin [16]. Do điều kiện thí nghiệm, nghiên cứu hiện tại chưa đánh giá được hàm lượng mangiferin trong cao cũng như trong chế phẩm. Đây là một hạn chế của nghiên cứu. Tuy nhiên, nghiên cứu hiện tại đã bào chế thành công vi nhũ tương với kích thước

tiểu phân đạt kích thước nano và đánh giá mức độ khuếch tán của polyphenol cũng là một thành phần chính quan trọng trong cao đặc hạt xoài. Trong nghiên cứu hiện tại sử dụng isopropyl myristat làm pha dầu, giống như nghiên cứu của Xiao-yu Xuan và cộng sự. Tuy nhiên, điểm khác biệt và ưu điểm hơn là được phối hợp với dầu dừa-một loại dầu có nhiều công dụng có lợi cho da và có thể hỗ trợ trong tình trạng viêm da. Khả năng ức chế biến tính albumin càng cao khi IC50 càng thấp. Từ kết quả nghiên cứu cho thấy gel vi nhũ tương (IC50 = 238,41 $\mu\text{g/mL}$) có khả năng ức chế biến tính albumin yếu hơn nhiều lần diclofenac (IC50 = 6,64 $\mu\text{g/mL}$). Tuy nhiên, khi được so sánh với thuốc đối chứng Klenzit-C được sử dụng rộng rãi trên thị trường trong kháng viêm mụn thì vi nhũ tương có khả năng ức chế biến tính tương đương với thuốc đối chứng với IC50 = 270,85 $\mu\text{g/mL}$. Kết quả đạt được cho thấy khả năng được ứng dụng điều trị mụn viêm của gel vi nhũ tương được nghiên cứu. Điều này có thể lý giải là do cao ethanol chứa nhiều những hợp chất như polyphenol, flavonoid, saponin,... Các hợp chất này đều được chứng minh là có khả năng kháng viêm tốt (RiceEvans và cộng sự, 1996). Kết quả của nghiên cứu hiện tại cũng phù hợp với các nghiên cứu ngoài nước về tác dụng kháng viêm của cao chiết từ hạt xoài (Worrapan Poomanee và cộng sự, 2018) [17].

5. Kết luận

Gel vi nhũ tương (G3) chứa cao nhân hạt xoài được nghiên cứu có khả năng khuếch tán qua màng đạt gần 60% sau 6 giờ, có khả năng kháng viêm tương đương thuốc đối chứng tân dược và hứa hẹn như một chế phẩm tự nhiên có thể mang lại tác dụng chống viêm trên da mụn. Tuy nhiên, các nghiên cứu lâm sàng tiếp theo cần được tiến hành trước khi đưa vào sử dụng

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Y Dược Cần Thơ, đề tài “Nghiên cứu bào chế chế phẩm trị mụn từ cao đặc nhân hạt xoài”.

Tài liệu tham khảo

- [1] V. R. Lebaka, Y. J. Wee, W. Ye, M. Korivi, Nutritional Composition and Bioactive Compounds in Three Different Parts of Mango Fruit, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, Vol. 18, 2021, pp. 741.
- [2] A. Kumar, G. Pawan, S. Gurjarb, K. Beera, A. Pongenerc, A Review on Valorization of Different Byproducts of Mango (*Mangifera Indica* L.) for Functional Food and Human Health, *Food Biosci*, Vol. 48, 2022, pp. 101783.
- [3] P. E. F. Melo, A. P. M. Silva, F. P. Marques, P. R. V. Ribeiro, M. D. S. M. S. Filho, E. S. Brito et al., Antioxidant Films from Mango Kernel Components, *Food Hydrocoll*, Vol. 95, 2019, pp. 487-495.
- [4] A. S. N. O. Djarbeng, R. O. Kwarteng, S. O. Asante, G. O. Dapaah, Comparative Antimicrobial Activities of Ethanolic Extracts of Leaves, Seed and Stem Bark of *Mangifera Indica* (Mango), *J Pharmacogn and Phytochem*, Vol. 9, No. 1, 2020, pp. 1240-1243.
- [5] A. K. G. Thiripuranathar, A. N. Navaratne, P. Paranagama, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Peels, Pulps and Seed Kernels of Three Common Mango (*Mangifera indica* L.) Varieties in Sri Lanka, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, Vol. 8, No. 81, 2017, pp. 70-78.
- [6] B. Yusuf, Z. Malede, A. Desta, M. Idris, S. Seyida, Physicochemical Properties and Biological Activities of Mango (*Mangifera Indica* L.) Seed Kernel and Peel Oils, *Fungal Territ*, Vol. 4, No. 4, 2021, pp. 1-3.
- [7] S. Cheenpracha, E. J. Park, B. Rostama, J. M. Pezzuto, L. C. Chang, Inhibition of Nitric Oxide (NO) Production in Lipopolysaccharide (LPS)-Activated Murine Macrophage RAW 264.7 Cells by the Norsesquiterpene Peroxide, Epimuqubilin A, *Marine Drugs*, Vol. 8, No. 3, 2010, pp. 429-437.
- [8] H. P. L. Reddy, D. S. S. N. Neelima, Formulation and Evaluation of a Self Microemulsifying Drug Delivery System of Mangiferin Calcium Trihydrate, *Research J. Pharm. and Tech.*, Vol. 9, No. 7, 2016, pp. 789-793.
- [9] Z. Belhadj, S. Zhang, W. Zhang, J. Wang, Formulation Development and Bioavailability Evaluation of a Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) of Mangiferin Calcium, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 29, No. 1, 2013, pp. 1103-1113.
- [10] V. Miryala, M. Kurakula, Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) for Oral Delivery of Mangiferin- Formulation and Bioavailability Studies, *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, Vol. 3, No. 3, 2013, pp. 131-142.
- [11] M. Shah, Z. Parveen, M. R. Khan, Evaluation of Antioxidant, Antiinflammatory, Analgesic and Antipyretic Activities of the Stem Bark of *Sapindus Mukorossi*, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, Vol. 17, 2017, pp. 526.
- [12] A. S. H. Abdullah, A. S. Mohammed, R. Abdullah, M. E. S. Mirghani, M. A. Qubaisi, Cytotoxic Effects of *Mangifera Indica* L. Kernel Extract on Human Breast Cancer (MCF-7 and MDA-MB-231 Cell Lines) and Bioactive Constituents in the Crude Extract, *BMC Complement Altern. Med.*, Vol. 14, 2014, pp. 199.
- [13] S. Rajan, H. Suganya, T. Thirunalasundari, S. Jeeva, Antidiarrhoeal Efficacy of *Mangifera Indica* Seed Kernel on Swiss Albino Mice, *Asian Pac. J. of Tro. Med.*, Vol. 5, No. 8, 2012, pp. 630-633.
- [14] D. B. Vivas, G. Á. Rivera, S. J. Morantes, A. D. P. S. Camargo, E. Ibáñez, F. P. Alfonso et al, An Integrated Approach for the Valorization of Mango Seed Kernel: Efficient Extraction Solvent Selection, Phytochemical Profiling and Anti-Proliferative Activity Assessment, *Food Res. Int. Elsevier*, Vol. 126, 2019, pp. 108616.
- [15] E. J. K. Mutua, S. Imathiu, W. Owino, Evaluation of the Proximate Composition, Antioxidant Potential, and Antimicrobial Activity of Mango Seed Kernel Extracts, *Food Sci Nutr*, Vol. 5, No. 2, 2016, pp. 349-357.
- [16] X. Y. Xuan, Y. J. Wang, H. Tian, J. X. Pi, S. Z. Sun, W. L. Zhang, Study on Prescription of Self-microemulsifying Drug Delivery System of Mangiferin Phospholipid Complex, *Zhong Yao Cai*, Vol. 35, No. 9, 2012, pp. 1508-1511.
- [17] W. Poomanee, W. Chaiyana, M. Mueller, H. Viernstein, W. Khunkitti, P. Leelapornpisid, *In-vitro* Investigation of Anti-acne Properties of *Mangifera indica* L. Kernel Extract and Its Mechanism of Action Against *Propionibacterium Acnes*, *Anaerobe*, Vol. 54, 2018, pp. 64-74.