

NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ DUNG DỊCH GEL CHỨA TINH DẦU HƯƠNG THẢO (*Rosmarinus officinalis* L.) DÙNG HỖ TRỢ ĐIỀU TRỊ BỆNH VIÊM ÂM ĐẠO DO NẤM *CANDIDA ALBICANS*

Nguyễn Ngọc Yên*, Nguyễn Thị Thúy Lan,
Đặng Lê Tuyết Anh, Dương Thị Bích và Đỗ Văn Mãi
Trường Đại học Tây Đô
(*Email: nnyen@tdu.edu.vn)

Ngày nhận: 23/10/2021

Ngày phản biện: 23/11/2021

Ngày duyệt đăng: 01/12/2021

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm mục đích bào chế dung dịch vệ sinh phụ nữ dạng gel chứa hoạt chất chính là tinh dầu Hương thảo có thể có khả năng diệt nấm *Candida albicans*. Tinh dầu Hương thảo (*Rosmarinus officinalis* L.) sau khi trích ly bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước, được tinh chế và tiêu chuẩn hóa. Thiết kế và tiến hành thí nghiệm khảo sát để xây dựng công thức của dung dịch gel, các thành phần được khảo sát và lựa chọn dựa trên các chỉ tiêu cảm quan, lý hóa. Hàm lượng tinh dầu được lựa chọn dựa trên khả năng diệt nấm *Candida albicans* với phương pháp thử nghiệm Ref. ASTM 1054, 2315, CLSI M26-A. Công thức tối ưu của dung dịch vệ sinh phụ nữ đã được xây dựng với nồng độ tinh dầu Hương thảo là 0,5%, cho hiệu quả ức chế nấm *Candida albicans* lên đến 94%. Sản phẩm có dạng gel linh động, màu hồng nhạt, trong suốt, mùi thơm mát tự nhiên của Hương thảo. Sản phẩm đạt các giới hạn an toàn về kim loại nặng, vi sinh vật gây hại và gây kích ứng da không đáng kể trên thỏ.

Từ khóa: *Candida albicans*, dung dịch vệ sinh phụ nữ, Hương thảo, *Rosmarinus officinalis* L.

Trích dẫn: Nguyễn Ngọc Yên, Nguyễn Thị Thúy Lan, Đặng Lê Tuyết Anh, Dương Thị Bích, Đỗ Văn Mãi, 2021. Nghiên cứu bào chế dung dịch gel chứa tinh dầu Hương thảo (*Rosmarinus officinalis* L.) dùng hỗ trợ điều trị bệnh viêm âm đạo do nấm *Candida albicans*. Tạp chí Nghiên cứu khoa học và Phát triển kinh tế Trường Đại học Tây Đô. 13: 255-270.

*Ths. Nguyễn Ngọc Yên - Giảng viên Khoa Dược và Điều dưỡng, Trường Đại học Tây Đô

1. GIỚI THIỆU

Viêm âm đạo do nấm chiếm 1/3 các trường hợp viêm âm đạo (Jack et al., 2012) là bệnh nhiễm trùng âm đạo nội sinh chủ yếu là *Candida albicans* gây nên. Bệnh gây ngứa, đau rát, đi tiểu khó, khí hư nhiều, hôi... Bệnh có thể điều trị khỏi nhưng không có miễn dịch nên rất hay tái phát, dễ lây nhiễm. Có tới 3/4 phụ nữ bị nấm *Candida* âm hộ - âm đạo ít nhất một lần trong đời và một số phụ nữ bị tái phát nhiều lần (Cục Y tế dự phòng, 2016). Do đó bên cạnh việc điều trị bằng thuốc, tránh lạm dụng kháng sinh, vệ sinh cá nhân sạch sẽ người bệnh cần quan tâm sử dụng đến các sản phẩm dung dịch hỗ trợ vệ sinh vùng kín nhằm hỗ trợ điều trị và ngăn ngừa bệnh tái phát. Tuy nhiên, vùng kín là một vùng nhạy cảm, dễ viêm nhiễm nên cần một sản phẩm chuyên biệt để chăm sóc phù hợp, sản phẩm đó phải vừa có tác dụng diệt khuẩn vừa không làm mất cân bằng môi trường pH âm đạo, đặc biệt nếu có thành phần chính chiết xuất từ tự nhiên sẽ cho hiệu quả và an toàn hơn những hóa chất tổng hợp.

Cây Hương thảo có tên khoa học là *Rosmarinus officinalis* L., là cây bản địa vùng Địa Trung Hải. Cây dễ trồng, khá phù hợp với điều kiện khí hậu nước ta. Hương thảo được trồng như một loại cây cảnh, tỏa mùi hương nồng ngào ngạt, lá tươi hay lá khô đều thơm, có thể dùng làm

gia vị trong ẩm thực. Ngoài công dụng điều trị đau đầu, tuần hoàn kém, các bệnh viêm, mệt mỏi về thể chất và tinh thần (Yu et al, 2013), thể hiện hoạt tính kháng oxi hóa, tiềm năng trị liệu bệnh Alzheimer (Habtemariam et al, 2016) thì tinh dầu Hương thảo còn thể hiện hoạt tính ức chế mạnh mẽ trên dòng nấm *Candida albicans* (Lurdete, 2014). Sản phẩm có tinh dầu Hương thảo hiện nay chưa được nghiên cứu phổ biến, vì vậy, nghiên cứu này nhằm mục đích bào chế ra dung dịch gel chứa tinh dầu Hương thảo đạt các chỉ tiêu chất lượng của dung dịch vệ sinh, có tác dụng diệt nấm *Candida albicans* và an toàn cho người sử dụng.

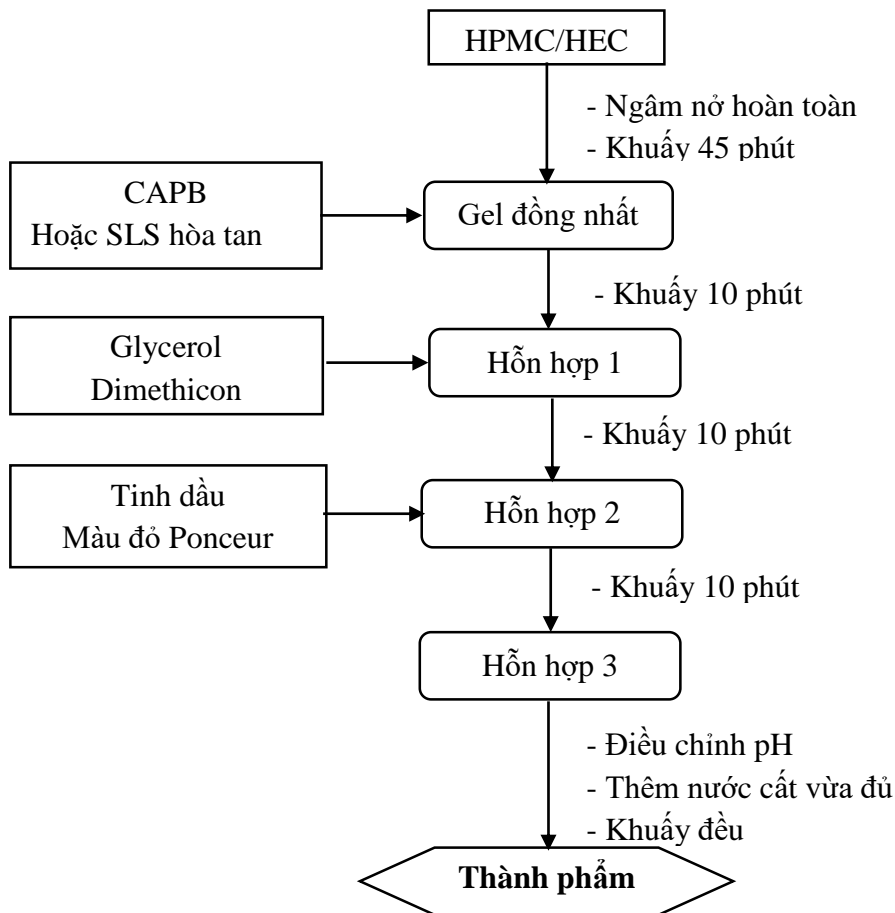
2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Phần thân lá trên mặt đất của cây Hương thảo được thu hái tại thành phố Đà Lạt, Lâm Đồng. Tinh dầu Hương thảo sau trích ly được tinh chế và tiêu chuẩn hóa.

2.1. Xây dựng công thức gel bào chế có hoạt chất là tinh dầu Hương thảo

2.1.1. Quy trình bào chế

Quy trình bào chế được thực hiện theo kỹ thuật bào chế dung dịch thuốc dùng ngoài (DĐVN V), hòa tan các chất vào dung môi bằng máy khuấy cơ ở nhiệt độ thường. Số lượng pha chế **100 mL** dung dịch cho mỗi công thức.



Hình 1. Sơ đồ quy trình bào chế

2.1.2. Khảo sát khả năng tạo gel của chất tạo gel và chất hoạt động bề mặt

Phối trộn riêng từng mẫu HPMC và HEC lần lượt với SLS và CAPB.

Ngâm 1 g chất tạo gel (HPMC/HEC) trương nở hoàn toàn trong 80 mL nước cất và khuấy trong 45 phút.

Chất hoạt động bề mặt: Nếu sử dụng CAPB thì cho trực tiếp 10 mL, nếu sử dụng Natri lauryl sulfat thì hòa tan trước 5 g trong 10 mL nước cất ở nhiệt độ 50-60 °C. Cho chất hoạt động bề mặt vào khối gel, khuấy trong 15 phút đến khi khối gel

đồng nhất. Điều chỉnh pH 4,5-5,5 bằng acid lactic.

Để hỗn hợp nghỉ trong 48 giờ, quan sát khối gel và chọn ra chất tạo gel và chất hoạt động bề mặt phù hợp.

Tất cả các thí nghiệm đều được lặp lại 3 lần. Từ kết quả nghiên cứu chọn ra được chất tạo gel và chất hoạt động bề mặt thích hợp.

2.1.3. Công thức dự kiến

Công thức dự kiến được lựa chọn dựa trên yêu cầu của dung dịch vệ sinh có tác dụng diệt nấm và an toàn cho da. Nồng độ tinh dầu Hương thảo được lựa chọn

dựa trên nồng độ ức chế tối thiểu đối với nấm *Candida albicans* và khả năng tạo mùi hương cho sản phẩm. Hàm lượng chất hoạt động bề mặt có thể được sử dụng đến 20% trong các sản phẩm làm sạch da và tóc (Yang, 2017), tuy nhiên đối với sản phẩm vệ sinh phụ nữ cần chọn nồng độ vừa phải tránh tẩy rửa quá mạnh,

để gây kích ứng. Nồng độ acid lactic được lựa chọn thích hợp để điều chỉnh pH trong khoảng 4,5-5,5. Vì sản phẩm có tác dụng tẩy rửa nên cần bổ sung chất làm mềm và giữ ẩm cho da. Các thành phần và nồng độ trong công thức dự kiến được trình bày trong bảng sau:

Bảng 1. Công thức dự kiến

STT	Thành phần	Nồng độ dự kiến (% w/v)
1	Tinh dầu Hương thảo	0,25 - 1 %
2	Cocamidopropyl betaine (CAPB) hoặc Sodium Lauryl sulfate (SLS)	3-6%
3	Acid Lactic	0,05 - 0,1%
4	Menthol	0,15%
5	Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) hoặc Hydroxyethyl cellulose (HEC)	0,7 – 1%
6	Ethanol 95%	1%
7	Dimethicon SF 1288	0,5%
8	Glycerin	1-4%
9	Màu Đỏ Ponceur	0,05%

2.1.4. Phương pháp lựa chọn nồng độ tá dược

Nguyên tắc: Xác định và tối ưu hóa các yếu tố đầu vào như chất tạo gel, chất hoạt động bề mặt, chất chỉnh pH, chất làm mềm và giữ ẩm da, nồng độ tinh dầu Hương thảo nhằm sàng lọc các yếu tố đầu vào có ảnh hưởng đến các chỉ tiêu về: cảm quan, pH sản phẩm, độ nhớt, độ đồng nhất, độ tạo bọt và khả năng diệt nấm *Candida albicans* của hỗn hợp gel.

Trước tiên, dựa vào công thức nền đã chọn tiến hành khảo sát độ nhớt của sản phẩm bằng cách thay đổi hàm lượng chất tạo gel. Khảo sát khả năng tạo bọt của sản phẩm bằng cách thay đổi hàm lượng chất hoạt động bề mặt.

Sau đó khảo sát ảnh hưởng của nồng độ Glycerol đến độ nhớt và độ tạo bọt của hỗn hợp gel.

Cuối cùng khảo sát ảnh hưởng của nồng độ tinh dầu Hương thảo khi phối trộn vào hỗn hợp gel đến khả năng diệt nấm *Candida albicans*.

2.1.5. Các phương pháp đánh giá chỉ tiêu chất lượng của sản phẩm

Đánh giá tính chất cảm quan và lý hóa

Đánh giá chất lượng của sản phẩm dựa trên phương thức vừa cảm quan vừa định lượng, các chỉ tiêu phải đáp ứng yêu cầu chất lượng của dung dịch thuốc.

Bảng 2. Các chỉ tiêu chất lượng của thành phẩm

STT	Tên chỉ tiêu	Yêu cầu	Phương pháp thử
1	Trạng thái	Gel sánh	Cảm quan
2	Màu sắc	Màu hồng nhạt	Cảm quan
3	Mùi	Mùi đặc trưng của Hương thảo	Cảm quan
4	Độ đồng nhất	Chế phẩm phải đồng nhất, không có cặn, bụi, vật lạ không tan.	Phương pháp thử độ đồng nhất, ĐĐVN V
5	Độ nhớt	2800-3000 cPs	Phương pháp đo độ nhớt, ĐĐVN V
6	pH	5,0 -6,0	Phương pháp xác định pH, ĐĐVN V
7	Độ tạo bọt	150-160 mL	Phương pháp lắc ống đong của Klein, 2004

Đánh giá hoạt tính kháng nấm *Candida albicans*

Khả năng kháng nấm *Candida albicans* của tinh dầu Hương thảo được thử theo phương pháp khuếch tán trong thạch qua đĩa giấy 6 mm và xác định MIC bằng phương pháp pha loãng trong thạch theo hướng dẫn của CLSI M07-A10; CLSI M45; CLSI M60; CLSI M100-S26. Thí nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm vi sinh, Trường ĐH Tây Đô.

Khả năng diệt nấm *Candida albicans* và vi khuẩn *Lactobacillus* của thành phẩm và đối chứng được thử theo phương

pháp Ref. ASTM 1054, 2315, CLSI M26-A, được thực hiện bởi Trung tâm khoa học công nghệ dược Sài Gòn (SAPHARCEN). Sản phẩm phải có tỉ lệ diệt nấm *Candida albicans* trên 90% và tỉ lệ diệt *Lactobacillus* nhỏ hơn đối chứng.

Đánh giá tính an toàn

Sản phẩm phải đạt các yêu cầu về tính an toàn theo Phụ lục 6-MP Quy định của ASEAN về giới hạn kim loại nặng, vi sinh vật trong sản phẩm mỹ phẩm. Các thử nghiệm được thực hiện tại Trung tâm kiểm nghiệm MeKongLAB.

Bảng 3. Các chỉ tiêu về tính an toàn của sản phẩm

Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp	Đơn vị	Yêu cầu
Tổng số vi khuẩn hiếu khí	ISO 21149:2017	CFU/g	< 1000
<i>Staphylococcus aureus</i>	ISO 22718:2015	CFU/g	< 10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ISO 22717:2015	CFU/g	< 10
<i>Candida albicans</i> (*)	ISO 18416:2016	ĐT/g	Không được có
Asen (As)	MKL-HH528 Ref. ASEAN METHOD	mg/kg	< 1
Chì (Pb)	ĐĐVN V, phụ lục 9.4.11 MKL-HH528 Ref. ASEAN METHOD	mg/kg	< 1

Thủy ngân (Hg)	ĐDVN V, phụ lục 9.4.11 MKL-HH528 Ref. ASEAN METHOD ĐDVN V, phụ lục 9.4.11	mg/kg	< 1
Khả năng kích ứng da	TCVN 6972:2001		Không đáng kể

2.2. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ của chất tạo gel đến độ nhớt của sản phẩm

Tiến hành thăm dò 4 công thức với các thành phần giữ nguyên trong công thức dự kiến, chất hoạt động bề mặt được chọn từ thí nghiệm 2.2.2. Các công thức từ CT1 đến CT4 khảo sát biến thiên nồng độ tá dược tạo gel để lựa chọn nồng độ tạo gel có độ nhớt thích hợp nhất.

Độ nhớt liên quan trực tiếp đến việc định lượng sử dụng, một sản phẩm quá sệt thì khó định lượng sử dụng vì phải ấn mạnh trên lọ, nhưng nếu quá lỏng, không đủ sệt người tiêu dùng sẽ cảm thấy sản phẩm không kinh tế. Sản phẩm sẽ trở nên quá đặc khi nồng độ HPMC trên 1% và quá lỏng nếu nồng độ này nhỏ hơn 0,7%. Nên nồng độ HPMC được chọn để khảo sát là trong khoảng 0,7 đến 1%. Công thức phù hợp là công thức có pH = 4,5 – 5,5, độ nhớt 2800-3000 cPs.

Bảng 4. Tỷ lệ các thành phần (%) trong mẫu khảo sát hàm lượng chất tạo gel

STT	Thành phần	CT1	CT2	CT3	CT4
1	Tinh dầu Hương thảo	0,25	0,25	0,25	0,25
2	Cocamidopropyl betanin	4	4	4	4
3	Acid lactic	X1	X1	X1	X1
4	Menthol	0,15	0,15	0,15	0,15
5	HPMC (X2)	1,0	0,9	0,8	0,7
6	Ethanol 95%	1	1	1	1
7	Dimethicon SF 1288	0,5	0,5	0,5	0,5
8	Glycerin	3	3	3	3
9	Màu Đỏ Ponceur	0,08	0,08	0,08	0,08

Kết quả thu được nồng độ acid lactic dùng điều chỉnh pH mong muốn là X1 (chỉ có tính tham khảo), nồng độ chất tạo gel thích hợp là X2.

2.3. Khảo sát ảnh hưởng của chất hoạt động bề mặt đến độ nhớt và độ tạo bọt

Chất hoạt động bề mặt đóng vai trò là chất nhũ hóa, chất tạo bọt, ổn định độ bọt và làm sạch. Hàm lượng tổng của các loại chất hoạt động bề mặt có thể được sử dụng lên đến 20% trong các sản phẩm làm sạch da và tóc (Yang, 2017). Tuy nhiên, sản phẩm làm sạch vùng kín nếu hàm lượng chất hoạt động bề mặt cao có

thể làm tăng nguy cơ gây kích ứng da và còn gây tâm lý e ngại cho người tiêu dùng. Hàm lượng chất hoạt động bề mặt được chọn khảo sát trong khoảng từ 3 đến 6% trong các công thức từ CT5 đến CT8

cho thể tích cột bọt và tính tẩy rửa phù hợp. Công thức được chọn là công thức có pH = 4,5 – 5,5, độ nhớt 2800-3000 cPs và thể tích cột bọt hay độ tạo bọt từ 150 – 160 mL.

Bảng 5. Tỷ lệ thành phần trong mẫu khảo sát hàm lượng chất hoạt động bề mặt

STT	Thành phần	CT5 (%)	CT6 (%)	CT7 (%)	CT8 (%)
1	Tinh dầu Hương thảo	0,25	0,25	0,25	0,25
2	Cocamidopropyl betaine (X3)	3	4	5	6
3	Acid lactic	X1	X1	X1	X1
4	Menthol	0,15	0,15	0,15	0,15
5	Chất tạo gel được chọn	X2	X2	X2	X2
6	Ethanol 95%	1	1	1	1
7	Dimethicon SF 1288	0,5	0,5	0,5	0,5
8	Glycerin	3	3	3	3
9	Màu Đỏ Ponceur	0,08	0,08	0,08	0,08

2.4. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ Glycerin đến độ nhớt và độ tạo bọt của hỗn hợp gel

Glycerin được sử dụng phổ biến trong mỹ phẩm nhờ tác dụng giữ ẩm và làm mềm da, ngoài ra glycerin còn làm tăng tính phân tán và đồng nhất của gel. Mặc dù được đánh giá là lành tính và có thể sử dụng ở nồng độ khá cao trong các sản phẩm làm sạch da và tóc, nhưng nếu sử dụng hàm lượng quá cao có thể gây bết dính và làm biến động độ nhớt của gel. Vì vậy, nồng độ của Glycerin được chọn khảo sát trong các công thức từ với nồng độ là 1,0, 2,0, 3,0 và 4,0%. Công thức phù hợp là công thức làm thay đổi trong giới hạn cho phép của độ nhớt và độ tạo bọt của sản phẩm.

2.5. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ tinh dầu Hương Thảo đến khả năng diệt nấm *Candida albicans*

Khảo sát đánh giá nồng độ tối ưu của tinh dầu có khả năng diệt nấm *Candida albicans* tốt nhất đồng thời cho mùi hương thích hợp. Vì nồng độ ức chế tối thiểu đối với nấm *Candida albicans* của tinh dầu Hương thảo trong nghiên cứu này là 0,25%, trong khi việc sử dụng nhiều tinh dầu sẽ tăng chi phí cho sản phẩm, nên tiến hành thử nghiệm khả năng diệt nấm của các công thức từ CT13 – CT16 với nồng độ tinh dầu từ 0,25, 0,50, 0,75 và 1,00%. Công thức phù hợp là công thức có khả năng diệt nấm và tạo mùi hương tốt nhất cho sản phẩm, đồng thời làm thay đổi không đáng kể độ nhớt và độ tạo bọt của sản phẩm. Công thức được chọn trong khảo sát này là công thức tối ưu cần xây dựng.

3. KẾT QUẢ

3.1. Xây dựng tiêu chuẩn nguyên liệu tinh dầu Hương thảo

Tiêu chuẩn này quy định các đặc tính của tinh dầu Hương thảo (*Rosmarinus officinalis* L.) thu được bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước.

Yêu cầu

Trạng thái: Dạng lỏng linh động, trong suốt.

Màu sắc: Không màu đến màu vàng nhạt.

Mùi: Đặc trưng của lá Hương thảo.

Tỷ trọng tương đối ở 25 °C: 0,890 - 0,910.

Chỉ số khúc xạ: 1,4600 – 1,4750.

Khả năng hòa trộn trong etanol ở 20 °C: Tinh dầu vừa mới chưng cất tan trong etanol 70 %.

Thành phần hóa học tinh dầu hương thảo được xác định bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ GC-MS được thực hiện tại Viện Khoa học Vật liệu Ứng dụng, phòng phân tích hóa lý, 01B TL 29, phường Thạnh Lộc, Quận 12, Tp.HCM cho kết quả như sau:

Bảng 6. Thành phần hóa học tinh dầu Hương thảo

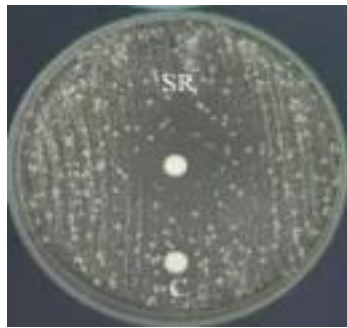
STT	Tên chất	Hàm lượng
1	1R-.alpha.-Pinen	19,37
2	Camphen	2,42
3	beta- Pinen	1,81
4	beta.-Myrcen	0,62
5	alpha.-Terpinen	0,39
6	D-Limonen	1,60
7	Eucalyptol	22,66
8	gamma.-Terpinen	0,78
9	Terpinolen	0,53
10	β - Linalool	2,84
11	Camphor	3,45
12	Verbenol	0,56
13	Borneol	4,76
14	Isocamphopinon	1,16
15	(-)-4- Terpeneol	1,59
16	Alpha-Terpinol	3,00
17	Myrtenol	0,80
18	cis-Verbenol	18,53
19	trans-Geraniol	4,41
20	Bornyl acetat	2,15
21	Caryophyllen	1,06
22	Caryophyllen oxyd	0,46

Tinh dầu Hương thảo trong nghiên cứu này chứa 22 hợp chất, chủ yếu là các terpenoid (chiếm trên 90%). Các thành phần chiếm hàm lượng cao trong tinh dầu đã được chứng minh có hoạt tính ức chế *Candida albicans* tốt như là eucalyptol (hay 1,8-cineol), camphor (Marija et al., 2021), α -pinen (Jefferson et al., 2020), Linalool... Vài nghiên cứu cũng chỉ ra khả năng kháng nấm *Candida albicans*

của α -pinen tốt hơn so với 1,8-cineol và camphor (Mosnica, 2011; Yusuke, 2013).

3.2. Khảo sát hoạt tính kháng nấm *Candida albicans* của tinh dầu Hương thảo

Với lượng tinh dầu Hương thảo tẩm lên đĩa giấy đường kính 6 mm là 20 μ L, cho đường kính vòng vô khuẩn tương đối là 12 mm.

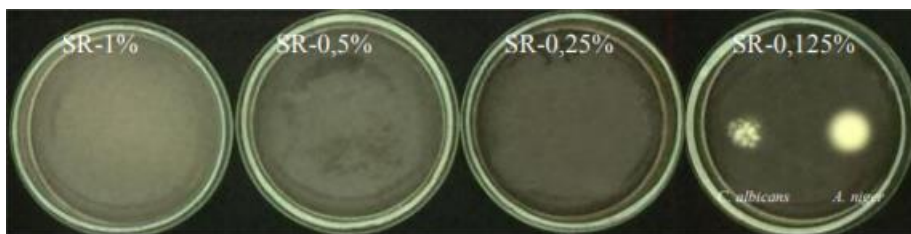


Hình 2. Kết quả định tính khả năng kháng *Candida albicans* của tinh dầu Hương thảo

Kết quả xác định MIC

Bằng phương pháp pha loãng trong thạch, tinh dầu được pha trực tiếp với môi trường thử nghiệm sao cho tạo thành giai nồng độ trong môi trường thử nghiệm (có

nồng độ sau bằng 1/2 nồng độ trước). Kết quả xác định được nồng độ tối thiểu của tinh dầu có khả năng ức chế nấm *Candida albicans* là 0,25%. Từ kết quả trên cho thấy tinh dầu Hương thảo có khả năng ức chế tốt đối với dòng nấm này.



Hình 3. Kết quả nồng độ ức chế tối thiểu (MIC)

Tính kháng khuẩn hoặc kháng nấm của tinh dầu có thể được gây ra bởi các đặc tính của terpenoid, phù hợp với các nghiên cứu của Chen (2015) và Haque

(2016). Các nghiên cứu này đã cho rằng các terpenoid đóng vai trò quan trọng trong việc ức chế khả năng sinh trưởng của chủng *Candida albicans*, do tính chất

lipophilic cao của chúng và trọng lượng phân tử thấp có khả năng phá vỡ màng tế bào, gây chết tế bào hoặc ức chế sự hình thành tế bào nấm. Một số thử nghiệm *in vitro* chỉ ra rằng terpenoid thể hiện hoạt tính kháng khuẩn và nấm hiệu quả hơn khi sử dụng toàn bộ thành phần của tinh dầu so với việc sử dụng từng hợp chất đơn lẻ (Tian, 2011; Bajpai, 2011).

3.3. Xây dựng công thức dung dịch vệ sinh phụ nữ dạng gel có hoạt chất tinh dầu Hương thảo

3.3.1. Khảo sát khả năng tạo gel của chất tạo gel và chất hoạt động bề mặt (HĐBM)

Chất tạo gel HPMC và HEC là những hóa chất thông dụng trong mỹ phẩm, chúng được lựa chọn sử dụng cho nghiên cứu này vì tính ổn định trong một khoảng pH rộng. Tuy nhiên cần xem xét khả năng tạo gel của chúng khi kết hợp với các chất hoạt động bề mặt khác nhau, nghiên cứu này sử dụng SLS (chất HĐBM anion) và CABP (chất HĐBM lưỡng cực). Sự phối hợp cho kết quả trạng thái và tính ổn định của gel được trình bày trong Bảng 7.

Bảng 7. Kết quả sự phối hợp giữa chất tạo gel và chất hoạt động bề mặt

Chất tạo gel	HPMC	HPMC	HEC	HEC
Chất HĐBM	SLS	CABP	SLS	CABP
Trạng thái Gel	Gel hơi đục, bột dính	Gel sánh mịn, trong suốt, ổn định.	Gel đục, bột dính	Gel sánh mịn, trong suốt, tách lớp nước nhẹ sau 24h.

Mặc dù tất cả các mẫu phối hợp như trong Bảng cho cộ t bột gần giống nhau (khoảng 150-160 mL) nhưng SLS có vẻ không thích hợp khi kết hợp với các chất tạo gel được chọn. Sự phối hợp giữa CABP với HPMC/HEC cho trạng thái gel sánh mịn, trong suốt, tuy nhiên sự kết hợp giữa HEC và CABP cho hiện tượng tách nhẹ lớp nước trên bề mặt gel sau 24h và tăng nhẹ mỗi 24h sau đó. Mẫu phối hợp giữa HPMC và CABP cho kết quả trạng thái gel đồng nhất, trong suốt và ổn định,

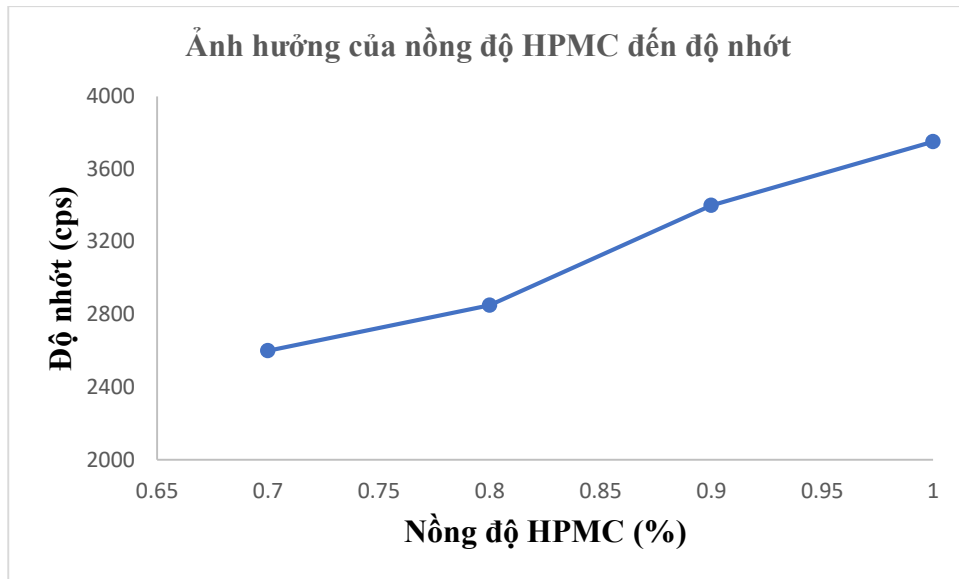
vì vậy nghiên cứu này sử dụng chất tạo gel HPMC và chất hoạt động bề mặt CABP cho công thức dự kiến.

3.3.2. Khảo sát nồng độ của chất tạo gel HPMC

Khảo sát hàm lượng chất tạo gel HPMC với tỉ lệ các thành phần trong 4 công thức từ công thức 1 đến công thức 4 (CT1 – CT4), kết quả được trình bày trong Bảng 8.

Bảng 8. Ảnh hưởng của nồng độ HPMC đến độ nhớt của sản phẩm

	CT1	CT2	CT3	CT4
Độ nhớt (cPs)	3750	3400	2850	2600
pH			5,0	
Cảm quan	sánh đặc	hơi đặc	sánh vừa	hơi loãng



Hình 4. Đồ thị biểu diễn ảnh hưởng của nồng độ HPMC

Kết quả từ Bảng cho thấy khi nồng độ HPMC giảm từ 1 đến 0,7 thì độ nhớt cũng giảm dần. Dựa vào đặc điểm cảm quan, cảm nhận khi sử dụng và tính phù hợp khi đóng chai sản phẩm, thì độ nhớt ở công thức 3 (CT3) cho cảm nhận tốt và phù hợp nhất. Giá trị độ nhớt đo được ở công thức này là 2850 cPs với nồng độ HPMC

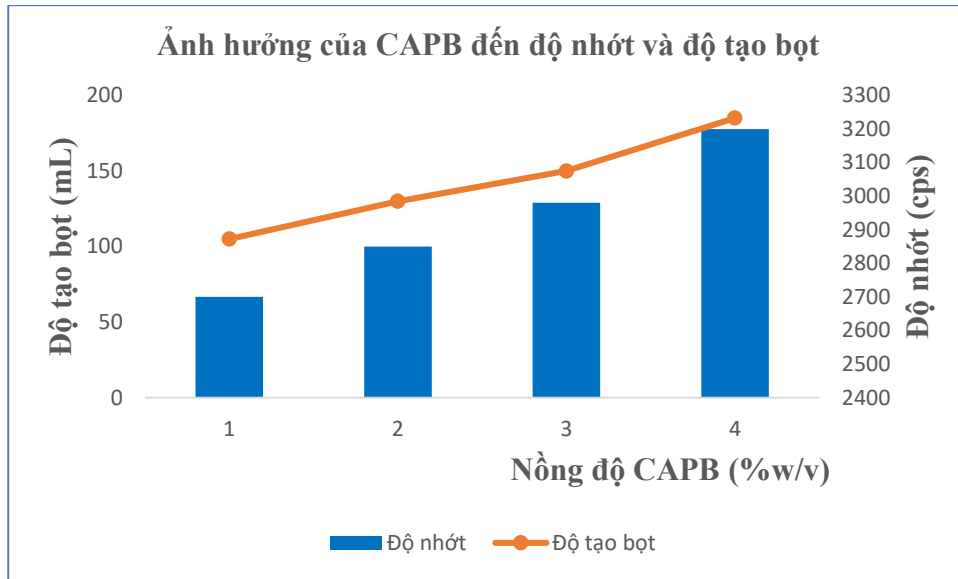
được chọn là 0,8%. Lượng acid lactic dùng để điều chỉnh pH= 5 là 0,04%.

3.3.3. Khảo sát hàm lượng của chất hoạt động bề mặt

Với tỉ lệ các thành phần như trong Bảng 5, kết quả ảnh hưởng của hàm lượng CAPB đến độ nhớt và độ tạo bọt được trình bày trong Bảng 9.

Bảng 9. Ảnh hưởng của hàm lượng CAPB

	CT5	CT6	CT7	CT8
Độ nhớt (cPs)	2700	2850	2980	3200
Độ tạo bọt (mL)	105	130	150	185
pH			5,0	
Cảm quan	Rất ít bọt	Ít bọt	Bọt vừa	Bọt nhiều



Hình 5. Ảnh hưởng của nồng độ CAPB đến độ nhớt và tạo bọt

CAPB đóng vai trò là chất tạo bọt, ổn định độ bọt và làm sạch, khi tăng hàm lượng từ 3-6% thì độ tạo bọt và độ nhớt tăng và khả năng làm sạch đều tăng. Công thức 7 (CT7) có độ tạo bọt phù hợp yêu cầu và độ nhớt thích hợp. Để điều chỉnh pH = 5, nồng độ acid lactic được sử dụng từ đây là 0,05%.

3.3.4. Ảnh hưởng của nồng độ Glycerin đến độ nhớt và độ tạo bọt

Glycerin, Dimethicon là những tá dược được thêm vào để làm tăng chất lượng của sản phẩm. Kết quả khảo sát nồng độ Glycerin được trình bày trong Bảng 10.

Bảng 10. Ảnh hưởng của nồng độ Glycerin

	CT9	CT10	CT11	CT12
Độ nhớt (cPs)	2790	2900	2980	3050
Độ tạo bọt (mL)	145	150	150	155

Khi tăng nồng độ glycerin thì độ nhớt cũng tăng, độ tạo bọt và pH thay đổi không đáng kể. Công thức 11 (CT11) với nồng độ glycerin là 3% là công thức được chọn vì cho cảm quan, độ nhớt và độ tạo bọt phù hợp nhất. Đây cũng là công thức tối ưu về thành phần các tá dược được chọn để khảo sát ảnh hưởng của hoạt chất

chính đến khả năng diệt nấm *Candida albicans*.

3.3.5. Ảnh hưởng của tinh dầu Hương Thảo đến khả năng diệt nấm *Candida albicans* của hỗn hợp gel

Từ công thức gel được xây dựng ở trên, tiến hành khảo sát ảnh hưởng của nồng độ tinh dầu đến tỷ lệ diệt nấm *Candida*

albicans và vi khuẩn *Lactobacillus sp* của sản phẩm. Sử dụng mẫu đối chứng là Lactacyd Odor Fresh - sản phẩm dung dịch vệ sinh phụ nữ bào chế chứa tinh dầu trà

không của hãng Sanofi Aventis. Thời gian tiếp xúc trong thử nghiệm này là 60 giây ở 25 °C.

Bảng 11. Kết quả thử nghiệm tỷ lệ diệt vi khuẩn, vi nấm của sản phẩm

Hàm lượng Tinh dầu (%)	Tỷ lệ diệt khuẩn (%)	
	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Lactobacillus sp</i>
0,25	90,0	98,5
0,5	94,2	98,3
0,75	92,3	98,5
1	92,0	98,2
Chứng	25,3	99,9

Kết quả cho thấy tỷ lệ diệt nấm *Candida albicans* của chế phẩm ở các nồng độ tinh dầu đều trên 90%, cao hơn so với sản phẩm đối chứng (25,3%). Mặc khác để đảm bảo sản phẩm vừa có mùi thơm đáp ứng yêu cầu vừa tiết kiệm chi phí nên nồng độ tinh dầu được chọn là 0,5%.

Mẫu chế phẩm với hàm lượng tinh dầu là 0,5% được khảo sát tỷ lệ diệt vi khuẩn

Lactobacillus bằng thử nghiệm tương tự cho kết quả diệt khuẩn khoảng 98% thấp hơn so với đối chứng (99,9%).

3.4. Đánh giá tính an toàn của sản phẩm

Sản phẩm được kiểm tra giới hạn nhiễm khuẩn để đánh giá tính an toàn, kết quả không phát hiện vi sinh vật gây bệnh.

Bảng 12. Kết quả giới hạn nhiễm vi sinh vật

Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp	Đơn vị	LOD	Kết quả
Tổng số vi khuẩn hiếu khí	ISO 21149:2017	CFU/g	-	<10
<i>Staphylococcus aureus</i>	ISO 22718:2015	CFU/g	-	<10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ISO 22717:2015	CFU/g	-	<10
<i>Candida albicans</i> (*)	ISO 18416:2016	ĐT/g	-	ND

Ghi chú: (*) chỉ tiêu gửi nhà thầu phụ và được giám sát bởi MekongLAB, < 10: không phát hiện/g mẫu, ND: không phát hiện.

Bảng 13. Kết quả giới hạn kim loại nặng (ppm)

Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp	LOD	Kết quả
Asen (As)	MKL-HH528 Ref. ASEAN METHOD ĐĐVN V, phụ lục 9.4.11	0,03	ND
Chì (Pb)	MKL-HH528 Ref. ASEAN METHOD ĐĐVN V, phụ lục 9.4.11	0,15	ND
Thủy ngân (Hg)	MKL-HH528 Ref. ASEAN METHOD ĐĐVN V, phụ lục 9.4.11	0,05	ND

Ghi chú: ND: không phát hiện.

Sản phẩm không phát hiện nhiễm các kim loại nặng, kết quả khảo sát được trình bày trong Bảng 15.

Tính kích ứng da của sản phẩm

Sản phẩm được thử nghiệm khả năng gây kích ứng da trên thỏ theo TCVN 6972 – 2001 cho kết quả gây kích ứng không đáng kể.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã xây dựng được công thức tối ưu cho sản phẩm dung dịch vệ sinh phụ nữ với hoạt chất chính là tinh dầu Hương thảo, nồng độ tinh dầu Hương thảo là 0,5%, cho hiệu quả ức chế nấm *Candida albicans* đạt 94%. Sản phẩm có dạng gel, màu hồng nhạt, trong suốt, mùi thơm mát tự nhiên của Hương thảo, an toàn về kim loại nặng và vi sinh vật gây hại, gây kích ứng da không đáng kể trên thỏ.

Cần tiếp tục nghiên cứu xác định hạn dùng của sản phẩm, xây dựng tiêu chuẩn cơ sở đáp ứng yêu cầu tiêu chuẩn chất lượng cho việc tham gia thị trường của sản phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bajpai V.K., Kang S., Xu H., Lee S.G., Baek K.H., Kang S.-C, 2011. Potential roles of essential oils on controlling plant pathogenic bacteria *Xanthomonas* species: A review. *Plant Pathol.*:207–224.
2. Chen Y., Zeng H., Tian J., Ban X., Ma B., Wang Y, 2013. Antifungal mechanism of essential oil from *Anethum graveolens* seeds against *Candida albicans*. *J. Med. Microbiol.*
3. Habtemariam S, 2016. Rutin as a natural therapy for Alzheimer's disease: insights into its mechanisms of action. *Curr. Med. Chem.* 23:860–873.
4. Haque E., Irfan S., Kamil M., Sheikh S., Hasan A., Ahmad A., Lakshmi V., Nazir A., Mir S.S, 2016. Terpenoids with antifungal activity trigger mitochondrial dysfunction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology.*

5. Jefferson Rodrigues Nosbrega, Daniele De Figuerêdo Silva, Francisco Datrico De Andrade Júnior, 2020. Antifungal action of α – pinene against *Candida* spp isolate from patients with otomycosis and effects of its association with boric acid. *Natural Product Research*, 35 (24): 1-4.
6. J. Yang, 2017. *Cosmetic Science and Technology*. 1st Edition, Pages: 601-605/ 835.
7. Klein, 2004. Evaluation of shampoo foam. *Cosmet Toilet Mag*, 119 (10), pp. 32-35.
8. Lurdete Maria Rocha Gauch, Fabíola Silveira-Gomes, Renata Antunes Esteves, Simone Soares Pedrosa, Ely Simone Cajueiro Gurgel, Alberto Cardoso Arruda and Silvia Helena Marques-da-Silva, 2014. Effects of *Rosmarinus officinalis* essential oil on germ tube formation by *Candida albicans* isolated from denture wearers.
9. Marija Ivanov, Abhilash Kannan, Dejan S. Stojković, Jasmina Glamoclija, Ricardo C. Calhelha, Isabel C. F. R. Ferreira and Marina Sokovic, 2021. Camphor and Eucalyptol – Anticandidal spectrum, antivirulence effect, efflux pumps interference and cytotoxicity. *International journal of Molecular science*, 22: 483.
10. Mosnica Zuzarte, Maria José Goncalves, Carlos Cavaleiro, Jorge Canhoto, Licis Vale – Silva, Maria João Silva, 2011. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lavandula viridis* L'Hér. *Journal of medical microbiology*, volume 60, issue 5.
11. Tian J., Ban B., Zeng H., He J., Bo H., Wang Y, 2011. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cicuta virosa* L. var. *latisecta* Celak. *Int. J. Food Microbiol.* 2011;145:464–470.
12. Ying Chen, Elizabeth Bruning, Joseph Rubino and Scott E Eder, 2017. Role of female intimate hygiene in vulvovaginal health: Global hygiene practices and product usage. *Womens Health (Lond.)* 2017 Dec; 13(3):58-67.
13. Yu MH, Choi JH, Chae IG, Im HG, Yang SA, More K, Lee IS, Lee J, 2013. Suppression of LPS-induced inflammatory activities by *Rosmarinus officinalis* L. *Food Chem.* 136:1047–1054.
14. Yusuke Matsuzaki, Toshiyuki Tsujisawa, Tatsuj Nishihara, Mari Nakamura, Yasuaki Kakinoki, 2013. Antifungal activity of chemotype essential oils from Rosemary against *Candida albicans*. *Open Journal of Stomatology*, 2013, 3,176-182.
15. Wu X.Z., Cheng A.X., Sun L.M., Lou H.X, 2008. Effect of plagiocchin E, an antifungal macrocyclic bis (bibenzyl), on cell wall chitin synthesis in *Candida albicans*. *Acta Pharmacol. Sin* 1478–1485.

STUDYING GEL PREPARATION OF ESSENTIAL OIL FROM ROSEMARY (*Rosmarinus officinalis* L.) FOR ADDITIONAL TREATMENT OF VAGINITIS CAUSED BY *CANDIDA ALBICANS*

Nguyen Ngoc Yen*, Nguyen Thi Thuy Lan,
Dang Le Tuyet Anh, Duong Thi Bich and Do Van Mai
Tay Do University
(*Email: nnyen@tdu.edu.vn)

ABSTRACT

*The objective of this study was to prepare a gel-based feminine hygiene solution containing Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil as the main active ingredient for cleaning purpose and for evaluating the capability of controlling the *Candida albicans* fungus. Rosemary essential oil, extracted by steam distillation, was purified and standardized. Experiments were set up to obtain the formula of the gel solution. Components were selected based on the physico-chemical criteria. The content of essential oils was selected based on the ability to control *Candida albicans*, using the test method Ref. ASTM 1054, 2315, CLSI M26-A. The optimal hygiene gel solution has been formulated with a concentration of Rosemary essential oil of 0.5%, which effectively inhibited *Candida albicans* by 94%. The product had a flexible gel form, light pink, transparent, with a natural cool scent of Rosemary. Our product was in safety limits for heavy metals, harmful microorganisms and causes negligible skin irritation on rabbits.*

Keywords: *Candida albicans, feminine hygiene solution, Rosemary, *Rosmarinus officinalis* L.*