

NGHIÊN CỨU ĐIỀU CHẾ GEL *IN SITU* CHỨA 2% METRONIDAZOL DÙNG TRONG NHA KHOA

Nguyễn Thị Phương Thảo*

Trường Đại học Lạc Hồng, Số 10 Huỳnh Văn Nghệ, Bàu Long, Biên Hòa, Đồng Nai, Việt Nam

Tác giả liên hệ: ntpuongthao@lhu.edu.vn

THÔNG TIN BÀI BÁO

Received: 22/11/2022

Revised: 28/5/2023

Accepted: 17/6/2023

Published: 15/9/2023

TỪ KHÓA

Gel *in situ*;

Metronidazol;

Bệnh nha khoa;

Độ tan;

Hệ phân tán rắn;

TÓM TẮT

Đề tài được thực hiện với mục đích cải thiện độ tan của metronidazol, từ đó tăng nồng độ của metronidazol trong gel *in situ* lên 2%, góp phần tăng nồng độ thuốc tại vị trí tác động. Dạng bào chế gel *in situ* giúp dễ dàng đưa thuốc vào sâu trong các túi nha chu, tăng hiệu quả điều trị và giảm tác dụng phụ cho người sử dụng.

Phương pháp nghiên cứu: Khảo sát hệ phân tán rắn chứa metronidazol và các chất mang mannitol, dextrose, acid citric, với các tỉ lệ 1:1; 1:2; 1:3. Các công thức gel *in situ* được nghiên cứu dựa trên các khảo sát dung môi hòa tan hệ phân tán rắn và các hệ tạo gel *in situ* của Poloxamer 407 và HPMC E6. **Kết quả:** Lựa chọn được hệ phân tán rắn metronidazol - acid citric tỉ lệ 1:2 và dung môi hòa tan là ethanol 50% và propylen glycol (2:1) với tỉ lệ tối ưu trong công thức là 30%. Phối hợp HPMC E6 làm giảm nhiệt độ tạo gel, cải thiện được thời gian tồn lưu và kéo dài thời gian phóng thích hoạt chất. Công thức B5 phối hợp P407 18% và HPMC E6 2% đáp ứng các yêu cầu đề ra về cảm quan, pH, nhiệt độ tạo gel, thời gian tồn lưu, tỉ lệ phóng thích hoạt chất đạt trên 80% sau 6 giờ và ổn định trong điều kiện bảo quản $5 \pm 3^\circ\text{C}$ sau 60 ngày.

FORMULATION OF PERIODONTAL GEL *IN SITU* CONTAINING METRONIDAZOL 2%

Nguyen Thi Phuong Thao*

Lac Hong University, No. 10 Huynh Van Nghe, Buu Long Ward, Bien Hoa, Dong Nai, Vietnam

Corresponding Author: ntpuongthao@lhu.edu.vn

ARTICLE INFO

Received: Nov 22th, 2022

Revised: May 28th, 2023

Accepted: Jun 17th, 2023

Published: Sep 15th, 2022

KEYWORDS

Gel *in situ*;

Metronidazol;

Periodontal disease;

Solubility;

Solid dispersion;

ABSTRACT

The study was carried out with the aim of improving the solubility of metronidazol, thereby increasing the concentration of metronidazol in *in situ* gel forming systems up to 2%, contributing to increased drug concentration at the site of action. *In situ* gel forming systems makes it easy to deliver the drug deep into the periodontal pockets, increasing treatment efficiency and reducing side effects for users. **Methods:** Solid dispersions containing metronidazol and carriers like mannitol, dextrose, citric acid were investigated in different ratios of 1:1; 1:2; 1:3. *In situ* gel formulations were studied based on surveys of solvents to dissolve solid dispersions and *in situ* gel forming systems of Poloxamer 407 and HPMC E6. **Results:** Solid dispersion of metronidazol and citric acid with the ratio of 1:2 were selected and the solvent was 50% ethanol and PG (2:1), used in the formula with the optimal ratio of 30%. The combination of HPMC E6 reduced the gelation temperature, improved the retention time and prolonged the release time of the active ingredient. Formula B5 combined Poloxamer 407 18% and HPMC E6 2% met the requirements of appearance, pH, gelation temperature, retention time, the release rate of active ingredient, reaching over 80% after 6 hours and stability under storage conditions of $5 \pm 3^\circ\text{C}$ after 60 days.

1. Giới thiệu

Hiện nay, các bệnh về răng miệng ngày càng phổ biến do thói quen ăn uống và vệ sinh không đúng cách. Việc điều trị các bệnh răng miệng thường gặp phải các vấn đề là nồng độ kháng sinh tại vị trí tác động và sự phát triển của vi sinh vật đề kháng. Vì vậy, việc phát triển các hệ thống phân phối thuốc mới trong điều trị bệnh răng miệng đang được quan tâm. Trong đó, gel *in situ* là một trong những hướng tiếp cận mới hiện nay. Gel *in situ* với đặc tính tồn tại ở dạng lỏng và tạo gel khi vào vị trí tác động giúp cho việc phân phối thuốc vào tận sâu trong túi nha chu một cách dễ dàng. Với mục tiêu điều trị tại chỗ, gel *in situ* tiếp xúc trực tiếp với tác nhân gây bệnh, đưa dược chất và duy trì nồng độ cao của thuốc tại vị trí tác động trong thời gian dài. Do đó, hiệu quả trị liệu cao và giảm tác dụng phụ toàn thân. [1]

Metronidazol (MTZ) là một kháng sinh có tác dụng diệt khuẩn, tác động trên *Bacteroides*, *Fusobacterium* và nhiều vi khuẩn kỵ khí bắt buộc, trong đó có *Porphyromonas gingivalis* thường gây các bệnh về răng miệng. [1-3] Trong túi nha chu, các vi khuẩn được tổ chức thành màng sinh học, có khả năng chống lại điều trị bằng kháng sinh [4]. Nghiên cứu của Eick và cộng sự (2004) cho thấy, để loại bỏ vi khuẩn kỵ khí này nồng độ kháng sinh phải đạt được gấp 100 lần MIC (nồng độ ức chế tối thiểu) so với dạng tự do [5].

Hiện nay, các nghiên cứu về gel *in situ* chứa MTZ có nồng độ từ 0,05-1% [6,7]. Trên thị trường đã có các chế phẩm dùng trong nha khoa chứa MTZ dạng gel thông thường như Metrogyl Denta, Syndent Denta Gel... Các gel này thường có hàm lượng hoạt chất thấp từ 0,75-1%. Vì vậy, việc tăng nồng độ của MTZ trong gel *in situ* là cần thiết giúp tăng nồng độ thuốc tại nơi tác động, góp phần làm tăng hiệu quả điều trị.

Phương pháp điều chế hệ phân tán rắn (HPTR) là một trong những phương pháp hiệu quả, góp phần làm tăng độ tan, giúp tăng được nồng độ dược chất trong công thức bào chế. HPTR là khái niệm để chỉ những dạng bào chế rắn từ hai thành phần trở lên, thường là một khung matrix thân nước và hoạt chất kỵ nước. Chất mang đóng vai trò quyết định trong tính chất của HPTR. Việc lựa chọn chất mang phù hợp làm tăng độ tan của hoạt chất, giúp HPTR ổn định hơn về mặt lý hóa cũng như duy trì tác dụng dược lý trong suốt quá trình bảo quản. [8]

Đề tài “Nghiên cứu điều chế gel *in situ* chứa 2% metronidazol dùng trong nha khoa” được thực hiện với những mục tiêu cụ thể sau:

- Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng MTZ trong gel *in situ* và trong thử nghiệm phóng thích hoạt chất bằng phương pháp quang phổ UV-Vis.
- Khảo sát HPTR chứa MTZ và các chất mang.
- Xây dựng công thức điều chế gel *in situ* chứa MTZ 2% và đánh giá các chỉ tiêu của gel nghiên cứu.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu và trang thiết bị

Nguyên liệu: Các nguyên liệu sử dụng đạt chuẩn được dùng: MTZ (Trung Quốc), acid citric (Trung Quốc), mannitol (Trung Quốc), dextrose (Trung Quốc), P407 (Trung Quốc), HPMC E6 (Trung Quốc), triethanolamin (Trung Quốc), aspartam (Trung Quốc), nipagin M (Việt Nam), propylen glycol (PG) (Việt Nam), ethanol (Việt Nam), nước cất (phòng thí nghiệm).

Chất chuẩn MTZ của Viện Kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh, hàm lượng 99,9% (Số lô: L QT002 080921).

Trang thiết bị: Cân kỹ thuật TE 412 (Sartorius), cân phân tích TE 2145 (Sartorius), máy khuấy từ gia nhiệt Arc (VELP Scientifica), máy đo pH 3510 (Jenway), máy quang phổ UV-Vis (Thermo Scientific), tế bào Franz (Việt Nam), tủ lạnh Inveter (Toshiba).

Phần mềm phân tích thống kê SPSS 20.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng MTZ trong gel *in situ* và trong thử nghiệm phóng thích hoạt chất *in vitro* bằng phương pháp quang phổ UV-Vis

Định lượng MTZ trong gel *in situ* nghiên cứu và trong thử nghiệm phóng thích hoạt chất *in vitro* bằng phương pháp quang phổ UV-Vis ở bước sóng 277nm với dung môi HCl 0,1 N. Quy trình định lượng được thẩm định về các chỉ tiêu bao gồm tính đặc hiệu, tính tuyến tính, độ đúng và độ chính xác. [9]

2.2.2. Khảo sát HPTR chứa MTZ và các chất mang

Điều chế HPTR

Khảo sát hệ phân tán rắn của MTZ với các chất mang acid citric, mannitol, dextrose ở các tỉ lệ 1:1; 1:2; 1:3. [9,10]
Phương pháp điều chế:

Mẫu HPTR: Chất mang được đun trên bếp ở nhiệt độ 190°C cho đến khi chảy lỏng hoàn toàn. Sau đó MTZ được thêm vào và khuấy đều cho đến khi MTZ chảy lỏng hoàn toàn và phân tán đều vào trong chất mang. Hỗn hợp thu được làm lạnh ngay trong thau nước đá nhiệt độ 0 - 5°C cho đến khi kết tinh hoàn toàn. [8,10]

Mẫu vật lý: Hỗn hợp vật lý được tạo bằng cách trộn đều hoạt chất và chất mang theo tỉ lệ 1:3.

Đánh giá HPTR

Đánh giá độ tan của HPTR

Tiến hành đánh giá độ tan trong nước ở 25°C của MTZ nguyên liệu, HPTR và mẫu trộn vật lý tương ứng để chọn ra chất mang và tỉ lệ phối hợp tối ưu nhằm cải thiện độ tan của MTZ.

Mẫu HPTR: Cho một lượng dư HPTR của MTZ vào 50ml nước cất, khuấy đều trên máy khuấy từ với tốc độ 300rpm trong 4 giờ, để ổn định trong 30 phút rồi tiến hành lọc qua lọc 0,45µm. Pha loãng bằng HCl 0,1N đến nồng độ thích hợp và định lượng bằng phương pháp quang phổ UV-Vis ở bước sóng 277nm.

Mẫu trộn vật lý: Cân một lượng dư hỗn hợp MTZ và chất mang theo tỉ lệ 1:3 và tiến hành tương tự như trên.

Nguyên liệu: tiến hành tương tự hai mẫu trên.

Phân tích nhiệt vi sai (DSC)

Phân tích nhiệt vi sai được thực hiện trên thiết bị phân tích nhiệt Mettler Toledo. Tiến hành đánh giá trên các mẫu MTZ nguyên liệu và mẫu HPTR. Các mẫu được đặt trên đĩa nhôm và chạy ở khoảng nhiệt độ từ 30-200°C, với tốc độ gia nhiệt 10°C/phút, tốc độ khí nitrogen 50ml/phút. [1]

2.2.3. Xây dựng công thức điều chế gel *in situ* chứa MTZ 2% và đánh giá các chỉ tiêu của gel nghiên cứu

Khảo sát và lựa chọn dung môi hòa tan HPTR

Từ HPTR được chọn, tiến hành khảo sát dung môi để hòa tan HPTR này cho công thức 100g gel. Các dung môi được khảo sát là: ethanol, PG, phối hợp ethanol và PG với các tỉ lệ 1:1; 1:2; 2:1.

Phương pháp điều chế: Cân một lượng HPTR cho công thức 100g gel. Thêm từ từ các dung môi khảo sát và khuấy đều trên máy khuấy từ với tốc độ 300rpm. Xác định khối lượng tối thiểu của các dung môi để hòa tan hoàn toàn HPTR trong thời gian 4 giờ. Từ đó lựa chọn dung môi có khả năng hòa tan HPTR tốt nhất.

Khảo sát tỉ lệ dung môi được chọn trong công thức gel *in situ*

Sau khi lựa chọn được dung môi hòa tan HPTR, tiến hành khảo sát lượng dung môi trong công thức 100g gel *in situ* ở 3 mức khác nhau.

- Cổ định các thành phần trong công thức:
- + Tá dược tạo gel Poloxamer 407: 18% (kl/kl)
- + Chất điều chỉnh pH triethanolamin: 4% (kl/kl)
- + Chất bảo quản nipagin: 0,1% (kl/kl)
- + Tá dược tạo vị ngọt aspartam: 0,5% (kl/kl) (đảm bảo lần át được vị đắng của MTZ)

Phương pháp điều chế

Chuẩn bị gel nền bằng cách phân tán từ từ các tá dược tạo gel vào nước (duy trì ở $4 \pm 1^\circ\text{C}$) trong becher được đặt trên máy khuấy từ với tốc độ 400rpm trong 30 phút. Sau đó, gel nền được để trong ngăn mát tủ lạnh ở $5 \pm 3^\circ\text{C}$ trong 24 giờ để trương nở hoàn toàn. Thêm triethanolamin vào và khuấy đều thu được hỗn hợp đồng nhất.[2,11]

HPTR của MTZ và chất mang acid citric tỉ lệ 1:2 được chuẩn bị như ở mục 2.2.2. Hòa tan lần lượt HPTR, nipagin M, aspartam vào hỗn hợp dung môi ethanol 50% và PG thu được dung dịch 1 (DD1).

Phối hợp từ từ DD1 vào gel nền, khuấy đều cho đến khi thu được gel đồng nhất. Các công thức sau khi điều chế được bảo quản và theo dõi độ ổn định ở $5 \pm 3^\circ\text{C}$.

Lựa chọn tỉ lệ dung môi thấp nhất đảm bảo được độ ổn định của công thức trong điều kiện bảo quản ở nhiệt độ $5 \pm 3^\circ\text{C}$ sau 60 ngày.

Khảo sát các tá dược tạo gel *in situ*

HPMC E6 được khảo sát phối hợp với P407 để cải thiện một số tính chất của gel.

Tiến hành khảo sát tá dược tạo gel *in situ* Poloxamer ở các nồng độ 16-20% đơn lẻ và phối hợp thêm với HPMC E6 nồng độ 1-3%. Quy trình điều chế được trình bày như ở phần **Khảo sát tỉ lệ dung môi được chọn cho công thức gel *in situ***.

Đánh giá các chỉ tiêu của gel nghiên cứu về cảm quan, pH, nhiệt độ tạo gel, thời gian tồn lưu, định lượng, khả năng phóng thích hoạt chất *in vitro* và độ ổn định.

Cảm quan: quan sát bằng mắt thường các công thức. Tiêu chuẩn: màu vàng nhạt, trong mờ.

pH: đo bằng máy đo pH các công thức ở nhiệt độ phòng. Tiêu chuẩn: pH nằm trong khoảng 5 - 5,5.

Nhiệt độ tạo gel

Nhiệt độ tạo gel được xác định bằng cách cho 2ml gel vào ống nghiệm. Cho nhiệt kế vào ống nghiệm và để nhiệt độ tăng từ từ. Ghi nhận nhiệt độ mà tại đó mặt khum không còn di chuyển khi nghiêng qua 90° . [12,13]

Tiêu chuẩn: nhiệt độ tạo gel nằm trong khoảng $25-32^\circ\text{C}$.

Thời gian tồn lưu

0,1ml gel được cho vào mặt phẳng của miếng kim loại và được đặt trong becher chứa 30ml dung dịch nước bọt mô

phòng, đặt trên máy khuấy từ và khuấy với tốc độ 50 vòng/phút ở nhiệt độ $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Quan sát và ghi nhận khoảng thời gian từ lúc bắt đầu cho vào đến lúc gel bị phân tán hoàn toàn trong dịch nước bọt.

Tiêu chuẩn: thời gian tồn lưu > 20 phút.

Định lượng

Cân chính xác lượng gel tương đương 0,01g MTZ. Sau đó pha loãng 1000 lần bằng HCl 0,1 N và lọc qua màng lọc $0,45\mu\text{m}$. Độ hấp thụ của dung dịch mẫu được đo trên máy UV-Vis ở bước sóng 277nm.

Công thức tính: Hàm lượng % dược chất trong chế phẩm so với hàm lượng ghi trên nhãn được tính theo công thức:

$$X(\%) = \frac{At}{Ac} \cdot Cc \cdot DPL \cdot \frac{1}{mt} \cdot \frac{1}{10000} \quad (1)$$

Trong đó:

X (%): hàm lượng % dược chất trong chế phẩm

Cc: nồng độ mẫu chuẩn ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

At: độ hấp thụ mẫu thử

Ac: độ hấp thụ mẫu chuẩn

mt: khối lượng gel cân pha mẫu (g)

DPL: Độ pha loãng

Tiêu chuẩn: Hàm lượng Metronidazol từ 90-110% [14]

Thử nghiệm phóng thích hoạt chất *in vitro*

Nghiên cứu phóng thích hoạt chất *in vitro* được xác định bằng cách sử dụng tế bào khuếch tán Franz. Thiết bị bao gồm khoang chứa mẫu và khoang thụ thể được phân cách bằng màng cellulose acetat $0,45\mu\text{m}$, màng được đun sôi trong nước cất trong 1 giờ, ngâm trong cồn tuyệt đối trong nửa giờ và được bảo quản trong dung dịch đệm phosphat pH 6,8 trong 24 giờ trước khi sử dụng. Cho 13ml dung dịch nước bọt mô phòng vào khoang thụ thể, khuấy từ với tốc độ 100 rpm và duy trì nhiệt độ ở $37 \pm 1^\circ\text{C}$. 0,5 ml dung dịch nước bọt mô phòng được thêm vào khoang chứa mẫu. Sau đó cho 0,5g công thức gel *in situ* vào khoang chứa mẫu. Sau các khoảng thời gian: 60, 120, 180, 240, 300, 360 phút lấy 0,5ml dịch thử nghiệm và thay thế bằng cùng một thể tích nước bọt nhân tạo tương ứng. Các mẫu rút được pha loãng thích hợp với dung dịch HCl 0,1N và đo độ hấp thụ ở bước sóng 277nm trên máy quang phổ khả kiến UV-Vis. [11,13]

Độ ổn định

Gel được đựng trong lọ kín, bảo quản ở $5 \pm 3^\circ\text{C}$. Theo dõi độ ổn định của gel sau 15, 30, 45 và 60 ngày. [11]

Dựa trên kết quả đánh giá các chỉ tiêu đề ra, đề tài chọn ra 1 công thức để tiến hành lặp lại 3 lần.

3. Kết quả

3.1 Thẩm định quy trình định lượng MTZ trong gel *in situ* và trong thử nghiệm phóng thích hoạt chất *in vitro* bằng phương pháp quang phổ UV-Vis

Định lượng MTZ trong gel *in situ*

Khảo sát mẫu placebo cho thấy các tá dược trong công thức không ảnh hưởng đến độ hấp thụ MTZ ở bước sóng 277nm chứng tỏ phương pháp có tính đặc hiệu.

Kết quả $R^2 = 0,9994$ cho thấy có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ MTZ và độ hấp thụ trong khoảng nồng độ 9-21 $\mu\text{g}/\text{ml}$ với phương trình hồi quy tuyến tính $\hat{y} = 0,047x - 0,1323$.

Độ đúng đạt với tỉ lệ hồi phục nằm trong khoảng 98 - 102% và giá trị RSD = 0,49% (< 2%).

Độ chính xác (n=6) đạt với RSD = 0,31% (< 2%).

Vậy, quy trình định lượng MTZ trong gel *in situ* đạt độ đặc hiệu, tính tuyến tính, độ đúng và độ chính xác.

Định lượng MTZ trong thử nghiệm phóng thích hoạt chất in vitro

Kết quả thẩm định cho thấy mẫu placebo có độ hấp thu không ảnh hưởng đến mẫu thử. Vì vậy, quy trình định lượng MTZ trong dịch thử phóng thích hoạt chất in vitro được tiến hành giống như định lượng MTZ trong gel in situ. Do đó, các yêu cầu về tính tuyến tính, độ đúng, độ chính xác không thẩm định lại.

3.2. Khảo sát HPTR chứa MTZ và các chất mang

So sánh trong cùng một chất mang, kết quả cho thấy HPTR cho hiệu quả tăng độ tan tốt hơn so với mẫu trộn vật lý tương ứng. Khi tăng tỉ lệ giữa MTZ và chất mang thì độ tan của HPTR cũng tăng theo và ở tỉ lệ MTZ : chất mang là 1:3 cho độ tan là cao nhất.

So sánh giữa các chất mang khác nhau, kết quả cho thấy HPTR của MTZ với acid citric cho khả năng tăng độ tan của MTZ cao hơn so với mannitol và dextrose. Trong đó, độ tan tăng dần theo thứ tự tỉ lệ 1:1 < 1:2 < 1:3. Tuy nhiên, khi sử dụng acid citric ở tỉ lệ cao làm cho gel có pH thấp. Vì vậy, đề tài lựa chọn HPTR MTZ - acid citric ở tỉ lệ 1:2 để tiến hành những khảo sát tiếp theo.

Khảo sát độ tan của nguyên liệu MTZ thu được dung dịch có nồng độ bão hòa trong nước là $0,96 \pm 0,02\%$.

Kết quả đánh giá độ tan của HPTR được trình bày như ở Bảng 1-3.

Bảng 1. Kết quả đánh giá độ tan của HPTR MTZ: Mannitol

MTZ :	HPTR			Trộn vật lý
	1:1	1:2	1:3	
Mannitol	1:1	1:2	1:3	1:3
Nồng độ % MTZ (kl/tt)	1,03 ± 0,03	1,22 ± 0,05	1,25 ± 0,06	0,95 ± 0,04

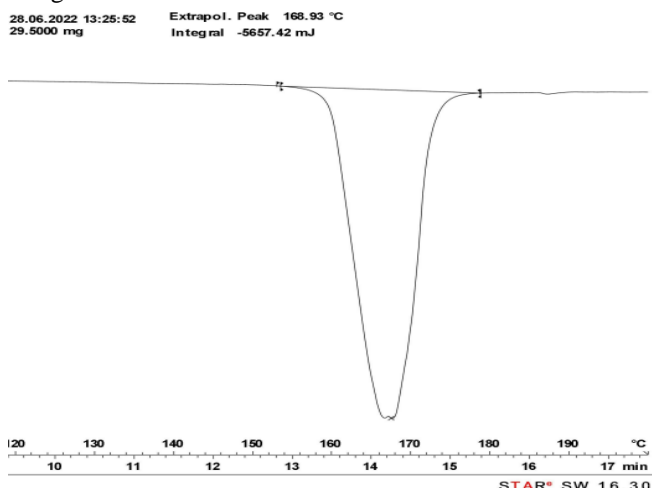
Bảng 2. Kết quả đánh giá độ tan của HPTR MTZ: Dextrose

MTZ :	HPTR			Trộn vật lý
	1:1	1:2	1:3	
Dextrose	1:1	1:2	1:3	1:3
Nồng độ % MTZ (kl/tt)	1,02 ± 0,03	1,14 ± 0,03	1,21 ± 0,05	0,99 ± 0,04

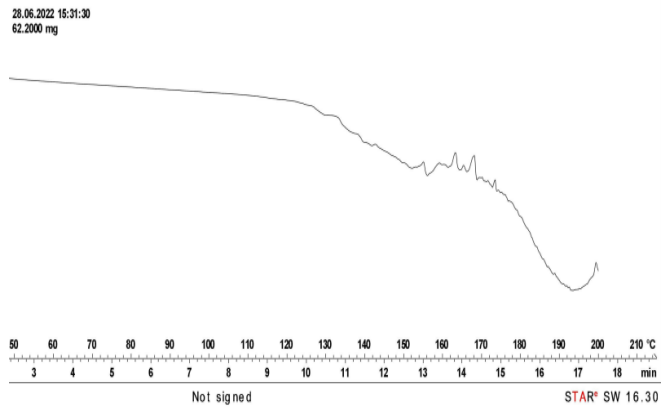
Bảng 3. Kết quả đánh giá độ tan của HPTR MTZ: acid citric

MTZ : Acid citric	HPTR			Trộn vật lý
	1:1	1:2	1:3	
Nồng độ % MTZ (kl/tt)	1,98 ± 0,02	2,91 ± 0,04	3,62 ± 0,05	2,36 ± 0,06

Phân tích nhiệt vi sai (DSC) của MTZ nguyên liệu và HPTR MTZ - acid citric tỉ lệ 1:2 thu được kết quả như trong Hình 1 và Hình 2.



Hình 1. Phổ DSC của MTZ nguyên liệu



Hình 2. Phổ DSC của HPTR MTZ – acid citric tỉ lệ 1:2

Nhận xét: Phổ DSC của HPTR MTZ – acid citric tỉ lệ 1:2 không còn đỉnh nóng chảy ở 168,93°C của MTZ nguyên liệu. Điều này cho thấy trong HPTR đã có sự tương tác giữa MTZ và chất mang acid citric và có sự chuyển dạng MTZ từ trạng thái tinh thể sang trạng thái vô định hình.

3.3. Xây dựng công thức điều chế gel in situ chứa MTZ 2% và đánh giá các chỉ tiêu của gel nghiên cứu

Khảo sát lựa chọn dung môi hòa tan HPTR

Bảng 4. Kết quả khảo sát lượng dung môi hòa tan 6g HPTR (g)

Dung môi	Ethanol				PG	Ethanol 50% : PG		
	30%	50%	70%	90%		1:1	1:2	1:3
Lượng dung môi	48	25	27	31	50	29	22	36

Nhận xét: Khảo sát ethanol ở các nồng độ khác nhau cho thấy ethanol nồng độ 50% cho khả năng hòa tan tốt nhất. Phối hợp ethanol 50% với PG ở tỉ lệ 2:1 cho kết quả tối ưu.

Từ kết quả trên, đề tài lựa chọn hỗn hợp dung môi ethanol 50% - PG tỉ lệ 2:1 và khảo sát các công thức ở 3 mức 24% (A1), 27% (A2) và 30% (A3).

Các thành phần còn lại trong công thức được cố định với tỉ lệ: P407 (18%), TEA (4%), nipagin (0,1%), aspartam 0,5%, nước cất vừa đủ 100%.

Kết quả theo dõi độ ổn định ở nhiệt độ $5 \pm 3^\circ\text{C}$ cho thấy công thức A1, A2 lần lượt bị tủa sau 30, 60 ngày theo dõi. Công thức A3 ổn định trong điều kiện bảo quản, không tủa sau 60 ngày. Vậy tỉ lệ dung môi là 30% được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.

Bảng 5. Kết quả đánh giá nhiệt độ tạo gel và thời gian tồn lưu các công thức dùng P407 từ 16-20%

P407 (%)	16	17	18	19	20
Nhiệt độ tạo gel (°C)	-	33,0 ± 0,5	30,3 ± 0,6	26,2 ± 0,3	21,5 ± 0,5
Thời gian tồn lưu (phút)	-	9,8 ± 0,6	13,3 ± 0,3	17,5 ± 0,5	21,2 ± 0,2

Bảng 6. Kết quả đánh giá chỉ tiêu định lượng và pH các công thức dùng P407 từ 16-20%

P407 (%)	16	17	18	19	20
Định lượng (%)	99,54 ± 0,14	98,95 ± 0,19	99,64 ± 0,26	99,23 ± 0,15	99,02 ± 0,12
pH	5,32	5,21	5,20	5,26	5,19

Bảng 7. Kết quả đánh giá nhiệt độ tạo gel và thời gian tồn lưu công thức dùng P407 kết hợp HPMC E6

P407 (%)	B1 (17-1)	B2 (17-2)	B3 (17-3)	B4 (18-1)	B5 (18-2)	B6 (18-3)
Nhiệt độ tạo gel (°C)	32,2 ± 0,3	30,5 ± 0,5	28,0 ± 0,0	29,2 ± 0,3	27,3 ± 0,3	23,5 ± 0,5
Thời gian tồn lưu (phút)	15,3 ± 0,3	17,8 ± 0,8	21,0 ± 0,5	19,2 ± 0,3	23,0 ± 0,5	26,5 ± 0,5

Bảng 8. Kết quả đánh giá chỉ tiêu định lượng và pH công thức dùng P407 kết hợp HPMC E6

P407 (%)	B1 (17-1)	B2 (17-2)	B3 (17-3)	B4 (18-1)	B5 (18-2)	B6 (18-3)
Định lượng (%)	99,02 ± 0,21	98,96 ± 0,18	98,78 ± 0,27	99,56 ± 0,14	99,27 ± 0,34	98,92 ± 0,28
pH	5,17	5,23	5,19	5,28	5,21	5,18

Khảo sát các tá dược tạo gel

Kết quả đánh giá chỉ tiêu các công thức gel *in situ* với nồng độ P407 từ 16-20% được trình bày trong Bảng 5-6.

Nhận xét: Từ nồng độ P407 17% có khả năng hình thành được cấu trúc gel. Khi tăng nồng độ P407 từ 17% đến 20% thì nhiệt độ tạo gel giảm và thời gian tồn lưu tăng lên. Đề tài lựa chọn 2 nồng độ P407 là 17% và 18% để tiếp tục khảo sát phối hợp thêm với HPMC E6 ở nồng độ 1-3%.

Kết quả đánh giá chỉ tiêu các công thức gel *in situ* kết hợp P407 và HPMC E6 được trình bày trong Bảng 7-8.

Nhận xét: Kết quả cho thấy khi phối hợp HPMC E6, nhiệt độ tạo gel của các công thức đều giảm. Ở nồng độ 1% HPMC E6, nhiệt độ giảm nhưng không nhiều (khoảng 1°C). Khi tăng nồng độ HPMC E6 lên 2-3% thì nhiệt độ tạo gel giảm đáng kể từ 3-7°C. Thời gian lưu của các công thức tăng tỉ lệ thuận với nồng độ của HPMC E6. Vậy, việc phối hợp thêm HPMC E6 giúp giảm nhiệt độ tạo gel và cải thiện được thời gian lưu đáng kể so với các công thức không phối hợp.

Đánh giá tỉ lệ phóng thích dược chất thu được kết quả được trình bày trong Bảng 9-11.

Bảng 9. Kết quả thử nghiệm phóng thích hoạt chất *in vitro* B1-2

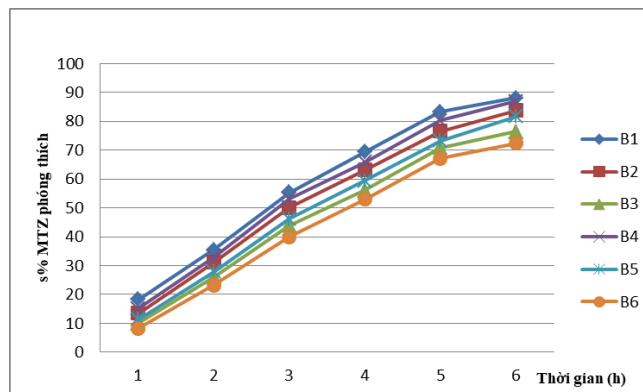
Công thức	Tỉ lệ MTZ phóng thích tại các thời điểm (%)					
	1 giờ	2 giờ	3 giờ	4 giờ	5 giờ	6 giờ
B1	18,23	35,43	55,38	69,37	83,26	88,03
B2	13,54	31,17	50,06	63,08	76,53	83,71

Bảng 10. Kết quả thử nghiệm phóng thích hoạt chất *in vitro* B3-4

Công thức	Tỉ lệ MTZ phóng thích tại các thời điểm (%)					
	1 giờ	2 giờ	3 giờ	4 giờ	5 giờ	6 giờ
B3	10,09	26,09	43,99	56,04	70,97	76,37
B4	15,11	32,98	53,05	65,79	80,26	86,93

Bảng 11. Kết quả thử nghiệm phóng thích hoạt chất *in vitro* B5-6

Công thức	Tỉ lệ MTZ phóng thích tại các thời điểm (%)					
	1 giờ	2 giờ	3 giờ	4 giờ	5 giờ	6 giờ
B5	11,32	27,86	46,21	59,31	73,25	81,63
B6	8,24	23,15	39,89	52,95	67,13	72,38



Hình 3. Đồ thị so sánh tỉ lệ phóng thích dược chất theo thời gian của các công thức B1-B6

Nhận xét: So sánh ở cùng tỉ lệ P407 17% (các công thức B1, B2, B3) và ở cùng tỉ lệ P407 18% (các công thức B4, B5, B6), khi tăng nồng độ HPMC E6 thì tỉ lệ phóng thích dược chất ở các thời điểm đều giảm. So sánh ở cùng tỉ lệ

HPMC E6 1% (công thức B1, B4), HPMC E6 2% (công thức B2, B5) và HPMC E6 3% (công thức B3, B6) cho thấy khi tăng nồng độ P407 cũng làm giảm tỉ lệ phóng thích dược chất.

Như vậy, nồng độ của polyme trong công thức đều tỉ lệ nghịch với tỉ lệ phóng thích dược chất. Tuy nhiên, mức độ

ảnh hưởng đến tỉ lệ giải phóng hoạt chất của HPMC E6 nhiều hơn so với P407.

Theo dõi độ ổn định của các công thức B1-B6 cho thấy các công thức đều không bị tủa trong điều kiện bảo quản 5 ± 3°C sau 60 ngày.

Bảng 12. Kết quả lặp lại công thức B5 lần 1

Chỉ tiêu	Cảm quan	pH	Nhiệt độ tạo gel (°C)	Thời gian tồn lưu (phút)	Định lượng (%)	% phóng thích MTZ sau 6h	Độ ổn định sau 60 ngày
Lần 1	Đạt	5,23	27,7 ± 0,3	23,4 ± 0,4	98,5 ± 0,18	82,03	Đạt

Bảng 13. Kết quả lặp lại công thức B5 lần 2

Chỉ tiêu	Cảm quan	pH	Nhiệt độ tạo gel (°C)	Thời gian tồn lưu (phút)	Định lượng (%)	% phóng thích MTZ sau 6h	Độ ổn định sau 60 ngày
Lần 1	Đạt	5,19	27,3 ± 0,3	22,9 ± 0,3	99,34 ± 0,36	81,24	Đạt

Bảng 14. Kết quả lặp lại công thức B5 lần 3

Chỉ tiêu	Cảm quan	pH	Nhiệt độ tạo gel (°C)	Thời gian tồn lưu (phút)	Định lượng (%)	% phóng thích MTZ sau 6h	Độ ổn định sau 60 ngày
Lần 1	Đạt	5,26	27,5 ± 0,5	23,2 ± 0,6	98,86 ± 0,52	81,49	Đạt

Dựa trên các tiêu chí đề ra, đề tài lựa chọn công thức B5 với nhiệt độ tạo gel nằm trong khoảng yêu cầu (27-32°C) và thời gian lưu lâu nhất và tỉ lệ phóng thích dược chất đạt trên 80% sau 6 giờ. Tiến hành điều chế lặp lại công thức B5 ba lần và đánh giá các chỉ tiêu đề ra. Kết quả được trình bày trong Bảng 12-14.

Nhận xét: Sử dụng phần mềm SPSS 20 phân tích phương sai ANOVA 1 yếu tố đối với từng chỉ tiêu cho thấy kết quả ở 3 lần không có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê (p>0,05). Như vậy, kết quả có tính lặp lại và có độ tin cậy cao.

4. Kết luận

HPTR MTZ được điều chế bằng phương pháp đun chảy với chất mang là acid citric giúp cải thiện độ tan của MTZ. Trong đó, tỉ lệ MTZ : acid citric là 1:2 được lựa chọn. Dung môi hòa tan HPTR là ethanol 50% và PG (2:1) với tỉ lệ tối ưu trong công thức là 30%. Khảo sát các tá dược tạo gel và cho thấy khi tăng nồng độ tá dược tạo gel là P407 và HPMC làm giảm nhiệt độ tạo gel, tăng thời gian tồn lưu và giảm tỉ lệ phóng thích dược chất. Từ các tiêu chí đề ra, đề tài đã lựa chọn được công thức B5 đạt các chỉ tiêu đề ra và kết quả cho thấy tính lặp lại và độ tin cậy cao.

Như vậy, đề tài đã điều chế thành công Gel in situ chứa 2% MTZ dùng trong nha khoa. So sánh với các nghiên cứu trước đây, đề tài đã tăng được nồng độ MTZ trong gel in situ lên 2%, giúp tăng được nồng độ thuốc tại vị trí tác động trong các túi nha chu.

Kết quả thu được từ nghiên cứu này góp phần tạo tiền đề cho những nghiên cứu về cải thiện độ tan bằng HPTR và những nghiên cứu về gel in situ của metronidazol cũng như các hoạt chất khác.

5. Lời cảm ơn

Xin cảm ơn Trường Đại học Lạc Hồng đã tạo điều kiện, hỗ trợ kinh phí và phòng thí nghiệm để thực hiện đề tài cơ sở, mã số LHU-RF-TE-19-04-06. Cảm ơn Ban Biên tập và phản biện Tạp chí Khoa học Lạc Hồng đã góp ý cho bài báo này.

6. Tài liệu tham khảo

[1] Khushbu S. Patel; Dr.K.R. Vadalia; Dr. J. K. Patel. Development and Evaluation of *in Situ* Gelling System for Treatment of Periodontitis. *International Journal of PharmTech Research*, **2014**, (6)7, 2104.
 [2] Pariksha Oberoi; Joga Singh; Garima Sharma; Vishakha

Grover; Indu Pal Kaur, Preparation and Characteration of in situ gelling systems containing Curcumin loaded solid lipid nanoparticles for periodontitis, *Current Trends in Biomedical Engineering & Biosciences*, **2021**, 20 (2), 1-2.

[3] Ravishankar Yadav; Indu Lata Kanwar; Tanweer Haider; Vikas Pandey; Vishal Gour and Vandana Soni. *In situ* gel drug delivery system for periodontitis: an insight review. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2020**, 6(33), 1-3.

[4] Sandra S.; Maria José Vieira Fonseca; José Orestes Del Ciampo; José Roberto Jabor; Vinicius Pedrazzi, Metronidazole-containing gel for the treatment of periodontitis: An *in vivo* evaluation, *Brazilian Oral Research*, **2008**, 22(2), 148-149.

[5] Eick S; Seltmann T; Pfister W., Efficacy of antibiotics to strains of periodontopathogenic bacteria within a single species biofilm - an in vitro study, *J Clin Periodontol.*, **2004**, 31(5), 378.

[6] El-Sayed Ali Ibrahim; Sayed Ismail; Gihan Fetih; Omar Shaaban; Khaled Hassanein; Noura Hassan Abdallah, Development and characterization of thermosensitive pluronic-based metronidazole *in situ* gelling formulations for vaginal application, *Acta Pharm.*, **2012**, 62, 60.

[7] Duy Toan Pham; Premchirakorn Phewchan; Kanchana Navesit; Athittaya Chokamonsirikun; Thatawee Khemwong; Waree Tiyaboonthai, Development of metronidazole loaded *in situ* thermosensitive hydrogel for periodontitis treatment, *Turk J Pharm Sci.*, **2020**, 18(4), 513.

[8] Mohd Aftab Alam; Fahad I. Al-Jenoobi; Abdullah M. Al-Mohizea; Raisuddin Ali. Effervescence Assisted Fusion Technique to Enhance the Solubility of Drugs. *American Association of Pharmaceutical Scientist*, **2015**, 16(6), 1487-1488.

[9] Sinurat Ariyana; D. Ervina; Irma Bangun D. Formulation and *in vitro* evaluation of alginate-based metronidazole periodontal gel, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, **2014**, 7(1), 223-227.

[10] Sharda Sambhakar; Bishambar Singh; Kirtika Madan; Monalisha; Shalini Mayle, Solid dispersions: A tool for improving the solubility and dissolution of metronidazole, *International Journal of Drug Delivery*, **2013**, 5(1), 94-96.

[11] Alpana Kulkarni; Sarfraz Khan; Mohamed Hassan G Dehghan. Evaluation of poloxamer-based in situ gelling of articain as drug delivery system for anesthetizing periodontal pockets - an *in vitro* study, *Journal of Dental Research*, **2012**, 3(4) 202-207.

[12] El-Sayed Ali Ibrahim; Sayed Ismail; Gihan Fetih; Omar Shaaban; Khaled Hassanein; Noura Hassan Abdallah, Development and characterization of thermosensitive pluronic-based metronidazole in situ gelling formulations for

- vaginal application, *Acta Pharm.* **2012**, 62, 60-62.
- [13] Kevin Garala; Parth Joshi; Malay Shah; A Ramkishan; Jaydeep Patel. Formulation and evaluation of periodontal *in situ* gel, *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, **2013**, 3(1), 31.
- [14] USP-NF 2022, Metronidazole Gel monograph, 21/11/2022.