

Xây dựng công thức nhũ tương xịt họng chứa eucalyptol

Lê Thị Ngọc Lan¹, Đỗ Thị Hồng Tươi², Phạm Đình Duy^{1*}

¹Bộ môn Bào chế, Khoa Dược, Trường Đại học Y dược TP Hồ Chí Minh

²Bộ môn Dược lý, Khoa Dược, Trường Đại học Y dược TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 30/10/2018; ngày chuyển phản biện 14/11/2018; ngày nhận phản biện 4/1/2019; ngày chấp nhận đăng 14/1/2019

Tóm tắt:

Bào chế nhũ tương xịt họng chứa eucalyptol nhằm phòng ngừa, hỗ trợ điều trị bệnh viêm họng và các bệnh liên quan đường hô hấp trên. Phương pháp nghiên cứu: thiết kế mô hình thực nghiệm I-Optimal bằng phần mềm Design-Expert 8.0.6 gồm 21 công thức với các biến số độc lập là tỷ lệ eucalyptol (%), cremophor RH40 (%), ethanol (%), poloxamer 407 (%) và các biến số phụ thuộc là mức độ tách lớp của nhũ tương và đường kính trung bình chùm phun. Dựa vào phân tích phương sai các biến phụ thuộc và sự ảnh hưởng của các biến độc lập lên biến phụ thuộc mà phần mềm đưa ra các công thức tối ưu với các mức độ mong muốn khác nhau. Các công thức tối ưu được đánh giá hoạt tính kháng viêm và các tiêu chí chất lượng như cảm quan, pH, tỷ trọng, hình dạng phun, độ đồng đều khối lượng phun, định tính hợp chất eucalyptol. Kết quả cho thấy, Design-Expert đã đề xuất 2 công thức tối ưu có chỉ số mong muốn cao nhất với nồng độ 5 và 8% eucalyptol. Quá trình khảo sát đã cho thấy 2 công thức đều cho khả năng kháng viêm tốt khi so sánh với thuốc đối chiếu. Sản phẩm hoàn tất là vi nhũ tương trong mờ, có mùi thơm, vị ngọt nhẹ và hơi đắng; pH 4,5-6,5; tỷ trọng 0,98-1,01, hình dạng phun tròn hay gần tròn đường kính 6,63-9,2 cm; đạt độ đồng đều khối lượng phun; trên sắc ký lớp mỏng (SKLM) có xuất hiện màu từ xanh đến đỏ tím của eucalyptol. Kết luận: hai công thức tối ưu của nhũ tương xịt họng chứa eucalyptol cho tác dụng kháng viêm tốt và được khảo sát các tiêu chí chất lượng làm cơ sở cho việc xây dựng tiêu chuẩn chất lượng của sản phẩm sau này.

Từ khóa: eucalyptol, kháng viêm, thuốc xịt họng.

Chỉ số phân loại: 3.4

Đặt vấn đề

Viêm họng là một bệnh lý mang tính phổ biến, thường gặp ở mọi lứa tuổi. Nguyên nhân gây bệnh chủ yếu là virus, vi khuẩn và nấm [1]. Trong hầu hết các trường hợp, viêm họng có thể tự khỏi mà không cần điều trị, nhưng triệu chứng thường khó chịu nên việc sử dụng các liệu pháp điều trị để giảm nhẹ là điều tất yếu. Trong đó, liệu pháp điều trị tại chỗ không những cho hiệu quả cao do tác động trực tiếp lên vùng viêm, mà còn hạn chế các tác động có hại khi sử dụng các loại thuốc toàn thân, do đó liệu pháp này ngày càng phổ biến rộng rãi [2].

Với đặc tính kháng khuẩn, kháng virus và kháng viêm mạnh, tinh dầu khuynh diệp mà thành phần chính là eucalyptol từ lâu đã được sử dụng trong điều trị các bệnh đường hô hấp trên và được sử dụng phổ biến ở các dạng thuốc như viên nang mềm, kẹo ngậm, ống hít... Hiện nay, việc nghiên cứu dạng xịt khí dung trực tiếp vào cổ họng đang được quan tâm phát triển do có nhiều ưu điểm nổi trội, như đưa thuốc trực tiếp đến vị trí tác động, tác dụng tại chỗ,

dễ sử dụng và không bị chuyển hóa qua gan [3]. Vì vậy, việc nghiên cứu chế phẩm xịt họng chứa eucalyptol được thực hiện nhằm làm phong phú và đáp ứng nhu cầu về các sản phẩm nguồn gốc từ dược liệu trong phòng ngừa và điều trị các bệnh đường hô hấp trên.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu

Eucalyptol 99% (Trung Quốc) đạt tiêu chuẩn nhà sản xuất. Các tá dược khác: cremophor RH40 (Đức), poloxamer 407 (Đức), ethanol (Việt Nam), aspartam (Trung Quốc), sorbitol (Trung Quốc), natri benzoat (Trung Quốc). Thuốc đối chiếu: khí dung xịt họng Anginovag. Phần mềm Design-Expert phiên bản 8.0.6 (Mỹ).

Phương pháp

Khảo sát tỷ lệ hỗn hợp chất nhũ hóa: thăm dò tỷ lệ hỗn hợp chất nhũ hóa cremophor RH40 và ethanol (S_{mix}): cố định lượng hỗn hợp chất nhũ hóa là 20%, tiến hành khảo sát

*Tác giả liên hệ: Email: duyphamding1981@gmail.com

Formulation of throat spray emulsion containing eucalyptol

Thi Ngọc Lan Lê¹, Thi Hồng Tuoi Do², Dinh Duy Pham^{1*}

¹Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy,
University of Medicine and Pharmacy in Ho Chi Minh City

²Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy,
University of Medicine and Pharmacy in Ho Chi Minh City

Received 30 October 2018; accepted 14 January 2019

Abstract:

The aim is formulation of throat spray emulsion containing eucalyptol which prevents and supports the treatment of pharyngitis and diseases related to upper respiratory tract infection. Methodology: an I-Optimal Experimental Model was designed by Design-Expert software v.8.0.6 including 21 formulas. Independent variables were percentage of eucalyptol (%), cremophor RH40 (%), ethanol (%), and poloxamer 407 (%). Dependent variables were levels of separating emulsion and average diameter of spray pattern. Based on ANOVA results and the influence of independent variables on dependent variables, Design-Expert software offered optimal formulas with different desirabilities. Final formulas were evaluated in vivo anti-inflammatory activity and such criteria as: perception, pH, density, spray pattern, delivered-dose uniformity, and determination of eucalyptol compound. The results were as follows: an experimental model with 21 formulas was established. Through the analysis of experimental data, Design-Expert software proposed optimal formulas with different desirabilities. The highest desirability formulas with 5 and 8% eucalyptol were selected; the anti-inflammatory activity was good when compared with other products on the market. The finished product was translucent, fragrant, lightly sweet and bitter; pH ranged between 4.5 and 6.5; density ranged from 0.98 to 1.01; spray pattern was round or almost round with the diameter of 6.8-9.2 cm; delivered-dose uniformity target was satisfied; and there was the appearance of blue to purplish red of eucalyptol on the chromatogram. In Conclusion, the two optimal formulas of eucalyptol throat spray emulsion met the quality requirements of preparation and also exhibited the anti-inflammatory activities.

Keywords: anti-inflammatory activity, eucalyptol, throat spray.

Classification number: 3.4

tỷ lệ cremophor RH40:ethanol ở các tỷ lệ 1:2, 3:4, 5:6, 1:1, 6:5, 4:3, 2:1. Với hàm lượng eucalyptol được cố định ở tỷ lệ 5% (kl/kl), lượng nước cất còn lại cố định vừa đủ 10 g. Đánh giá hỗn hợp thu được dựa trên độ đục, sự tạo bọt trong quá trình lắc phân tán để đồng nhất mẫu.

Khảo sát tỷ lệ chất ổn định nhũ tương: sau khi chọn được tỷ lệ hỗn hợp chất nhũ hóa phù hợp, cố định S_{mix} ở nồng độ 15% (kl/kl), eucalyptol 5% (kl/kl), tiến hành khảo sát tỷ lệ poloxamer từ 1-10% (kl/kl). Đánh giá hỗn hợp thu được dựa trên quan sát thể chất bằng cảm quan sao cho sản phẩm có độ nhớt thấp, dễ dàng phun thành hạt nhỏ qua vòi phun của bao bì và độ bền sau khi ly tâm 3.000 vòng/phút trong 30 phút.

Quy trình điều chế nhũ tương:

- Điều chế pha nước: chia lượng nước trong công thức làm hai phần. Phần thứ nhất, dùng phân tán poloxamer 407 ở nhiệt độ 0-4°C, ngâm qua đêm ở nhiệt độ 0-4°C để thu dung dịch đồng nhất (A). Phần thứ hai, hòa tan tá dược tạo vị (aspartam, sorbitol) và natri benzoat (B). Sau đó, trộn dung dịch A và B thành pha nước.

- Điều chế pha dầu: hòa tan eucalyptol vào toàn bộ lượng ethanol trong công thức. Thêm cremophor RH40, khuấy đều.

- Phối hợp: phối hợp từ từ pha dầu vào pha nước đang khuấy ở tốc độ 3.200 vòng/phút bằng máy Ultra Turax, khuấy đều đến khi sản phẩm đồng nhất.

Thiết kế và tối ưu hóa công thức nhũ tương xịt họng: mô hình I-Optimal được thiết kế bằng phần mềm Design-Expert phiên bản 8.0.6, gồm 21 công thức. Bốn biến số độc lập quan trọng ảnh hưởng đến tính chất sản phẩm được thiết lập bao gồm: tỷ lệ eucalyptol (%), tỷ lệ cremophor RH40 (%), tỷ lệ ethanol (%), tỷ lệ poloxamer 407 (%) và lượng nước cất được thay đổi để các công thức vừa đủ 50 g. Những biến số này được khảo sát ở các mức khác nhau và các biến số phụ thuộc gồm mức độ tách lớp sau khi ly tâm (R1), đường kính trung bình chùm phun (R2). Việc lựa chọn công thức tối ưu dựa vào chỉ số mong muốn được gợi ý từ phần mềm Design-Expert, chỉ số này càng cao thì các giá trị dự đoán càng có khả năng sát với giá trị thực tế nhất.

Đánh giá các chỉ tiêu của sản phẩm hoàn tất: vi nhũ tương sau khi điều chế được đóng vào chai xịt họng và đánh giá dựa trên các chỉ tiêu:

- Cảm quan: quan sát bằng mắt thường vi nhũ tương đục mờ, có mùi thơm, hơi đắng.

- pH: được xác định theo Dược điển Việt Nam (ĐDVN)

IV [4]. Các phép đo phải được tiến hành trong cùng điều kiện nhiệt độ khoảng từ 20-25°C. Máy được hiệu chuẩn với các mẫu pH 4, 7 và 9 trước khi sử dụng. Mẫu đo được nhúng ngập điện cực và ghi nhận kết quả. Lặp lại thử nghiệm trên 6 mẫu khác nhau.

- Tỷ trọng tương đối: được xác định bằng picnomet theo ĐVN IV [4]. Cân xác định khối lượng chính xác của picnomet rỗng, khô và sạch. Đổ vào picnomet mẫu thử đã điều chỉnh nhiệt độ thấp hơn 20°C, chú ý không để có bọt khí. Giữ picnomet ở nhiệt độ 20°C trong khoảng 30 phút. Dùng một băng giấy lọc để thấm hết chất lỏng thừa trên vạch mức, làm khô mặt ngoài của picnomet, cân rồi tính khối lượng chất lỏng chứa trong picnomet. Đổ mẫu thử đi, rửa sạch picnomet, làm khô bằng cách tráng ethanol rồi tráng acetone, thổi không khí nén hoặc không khí nóng đuổi hết hơi acetone. Xác định khối lượng nước cất chứa trong picnomet ở nhiệt độ 20°C như làm với mẫu thử. Tỷ số giữa khối lượng mẫu thử và khối lượng nước cất thu được là tỷ trọng cần xác định. Lặp lại thử nghiệm trên 6 mẫu khác nhau.

- Hình dạng phun: được đánh giá dựa trên hướng dẫn của FDA [5]. Phủ bột talc kín và đều mặt có keo dính của tờ giấy vellum khổ A4. Cột định tờ giấy vào một mặt phẳng vuông góc với phương ngang của mặt đất. Xịt bỏ 2-3 lần cho bình xịt ổn định. Đặt bình đựng chế phẩm sao cho miệng vòi phun vuông góc và cách mặt phẳng tờ giấy 7 cm. Dùng tay nhấn vòi xịt mạnh và dứt khoát. Ghi nhận bằng mắt thường hình dạng chùm phun thu nhận được trên bề mặt giấy. Lặp lại thử nghiệm 3 lần trên 3 mẫu thử khác nhau. Việc đánh giá dựa trên hình dạng chùm phun và kích thước chùm phun.

- Độ đồng đều khối lượng phun: thực hiện theo USP 36 [6]. Lặp lại thử nghiệm trên 10 mẫu khác nhau. Mỗi mẫu thử trên 10 đơn vị, mỗi đơn vị 2 liều: 1 liều ngay sau liều đầu tiên và 1 liều tương ứng với liều cuối cùng. Xịt bỏ 2-3 lần đầu cho bình xịt ổn định. Lau sạch thân bình và miệng vòi. Cân khối lượng bình ban đầu (m_0). Xịt một liều mạnh và dứt khoát. Lau sạch thân bình và miệng vòi. Cân khối lượng bình (m_1). Tính $m_1 - m_0$ để được khối lượng của liều ngay sau liều đầu tiên. Tiếp tục xịt bỏ các liều tiếp theo đến khi chỉ còn lại một liều duy nhất so với tổng số liều. Lặp lại các bước trên để tính khối lượng liều tương ứng với liều cuối cùng.

- Định tính hợp chất eucalyptol: định tính eucalyptol trong thành phần bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng theo hướng dẫn ĐVN IV [4].

+ Bản sắc ký: dùng bản silicagel gel G tự tráng hay bản mỏng silicagel F254 tráng sẵn.

+ Dung môi khai triển: (S1) = benzen hay (S2) = benzen - ethyl acetat (9:1).

+ Mẫu thử: lắc 10 ml mẫu thử với 10 ml cloroform trong bình lắc gạn. Gạn lấy dịch cloroform, pha loãng dịch chiết 2 lần bằng cloroform.

+ Mẫu chuẩn: pha loãng 10 lần eucalyptol chuẩn bằng cloroform.

Châm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên.

Mẫu có chứa eucalyptol khi trên sắc ký đồ mẫu thử và mẫu chuẩn có vết chính thu được tương đương nhau về màu sắc và R_f .

Đánh giá tính kháng viêm: thử nghiệm được tiến hành theo mô hình gây viêm bằng carrageenan do Winter và cộng sự đề nghị năm 1962 [7].

- Động vật thử nghiệm: chuột nhắt trắng trưởng thành, giống đực, chủng *Swiss albino*, trọng lượng trung bình 20-30 g, được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm y tế Nha Trang. Chuột được giữ trong 2 ngày để quen với môi trường thử nghiệm. Trong suốt quá trình thử nghiệm, chúng được cung cấp đầy đủ thức ăn và nước uống.

- Hóa chất và nguyên liệu thử nghiệm: dung dịch carrageenan 1% được ngâm cho trương nở hoàn toàn trong nước muối sinh lý natri clorid 0,9%, tiến hành trước khi gây viêm khoảng 2 giờ. Chuột đã chọn được phân ngẫu nhiên vào các lô, mỗi lô 10 con. Lô thử: bôi chế phẩm cần khảo sát nồng độ eucalyptol 5% và 8%; lô tá dược: bôi dung dịch tá dược của công thức 5% và 8%; lô đối chiếu: bôi dung dịch xịt họng Anginovag; lô chứng bệnh: không bôi thuốc.

- Tiến hành: xác định thể tích chân chuột trước khi gây viêm (V_0) bằng máy đo thể tích chân chuột Plethymometer. Bôi thuốc lên vùng chân của chuột 3 lần mỗi ngày. Mỗi lần bôi 20 μ l chất thử trong 5 ngày liên tiếp để khảo sát tác dụng phòng ngừa phản ứng viêm của sản phẩm lên độ phù chân chuột. Sau 5 ngày bôi thuốc, tiến hành gây viêm và khảo sát hoạt tính kháng viêm: gây viêm chân chuột bằng cách tiêm vào gan bàn chân trái ở phía sau 0,025 ml dung dịch carrageenan 1%. Chuột sau khi gây viêm được nuôi trong các hộp nhựa có lót mặt cửa để tránh chân chuột bị nhiễm trùng. Tiến hành đo thể tích chân chuột tại các thời điểm 3 giờ, 5 giờ, 7 giờ, 10 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ sau khi tiêm.

Độ sưng phù chân chuột được tính theo công thức:

$$X = \frac{V_n - V_0}{V_0}$$

Trong đó: X là độ sưng phù chân chuột (%), V_0 là

thể tích chân chuột trước khi gây viêm (1/100 ml), V_n là thể

tích chân chuột sau khi gây viêm (1/100 ml).

Hoạt tính kháng viêm được đánh giá dựa vào hiệu quả giảm phù giữa lô thử so với lô tá dược hoặc lô đối chứng so với lô chứng bệnh theo công thức: $Y = \frac{X_1 - X_2}{X_1}$. Trong đó: Y là hiệu quả giảm phù (%), X_1 là độ phù bàn chân chuột của lô chứng bệnh ở thời điểm khảo sát, X_2 là độ phù bàn chân chuột của lô thử hoặc lô đối chiếu ở thời điểm khảo sát.

Dữ liệu được thu thập và xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS v20.0. Phân tích kiểm chuẩn Kolomogorow - Smirnow. Các số liệu thuộc phân phối chuẩn, kết quả được biểu diễn dưới dạng $M \pm SEM$, so sánh giá trị trung bình giữa các lô bằng One-way ANOVA. Sự khác biệt giữa các lô có ý nghĩa khi $P < 0,05$.

Kết quả và bàn luận

Kết quả khảo sát chất nhũ hóa và hỗn hợp chất nhũ hóa

Thành phần công thức khảo sát trong thí nghiệm thăm dò tỷ lệ cremophor RH40 và ethanol được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Thành phần công thức khảo sát tỷ lệ hỗn hợp chất nhũ hóa.

Thành phần	Tỷ lệ
Eucalyptol	5%
Cremophor RH40:ethanol (tỷ lệ khảo sát)	20%
Nước cất	Vừa đủ

Kết quả thăm dò tỷ lệ cremophor RH40 và ethanol được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Kết quả thăm dò tỷ lệ cremophor RH40 và ethanol trong công thức.

Mẫu	1	2	3	4	5	6	7
Cremophor RH40:ethanol	1:2	3:4	5:6	1:1	6:5	4:3	2:1
Độ đục	+++	++	++	++	+	+	+
Sự tạo bọt	-	+	+	+	+	++	+++

Số lượng dấu "+" biểu thị độ đục, sự tạo bọt sau quá trình lắc đồng nhất.

Độ đục của mẫu khảo sát giảm dần từ mẫu 1 đến 7, các mẫu càng trong đi kèm với độ nhớt tăng, gây khó khăn trong việc bóp đầu phun tạo chùm tia mịn; tỷ lệ cremophor càng lớn so với ethanol thì sự tạo bọt càng tăng, sẽ ảnh hưởng đến quá trình khuấy khi điều chế. Do đó, tỷ lệ hỗn hợp S_{mix} được chọn dùng trong các khảo sát sau là 1:2.

Kết quả khảo sát nồng độ chất ổn định nhũ tương

Thành phần công thức khảo sát trong thí nghiệm khảo sát chất ổn định được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Thành phần công thức khảo sát tỷ lệ poloxamer 407.

Thành phần	Tỷ lệ
Eucalyptol	5%
Cremophor RH40:ethanol (1:2)	15%
Poloxamer 407	Khảo sát
Nước cất	Vừa đủ

Kết quả đánh giá thể chất được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Kết quả đánh giá thể chất của các dung dịch khảo sát.

Công thức	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
% poloxamer 407	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Độ nhớt	+	+	+	+	+	++	++	++	+++	+++
Độ bền	T	T	B	B	B	B	B	B	B	B

+: nhớt thấp, có thể dễ dàng bóp ra khỏi đầu phun tạo thành hạt mịn; ++: khá nhớt, tạo thành chùm phun hẹp; +++: nhớt, không tạo được chùm phun; T: tách lớp; B: bền.

Nhìn chung khi nồng độ poloxamer 407 tăng lên thì độ bền nhũ tương sau khi ly tâm cũng tăng, tuy nhiên các công thức 6, 7, 8, 9, 10 có độ nhớt tương đối cao, khó xịt tạo chùm phun mịn, gây khó khăn trong quá trình sử dụng. Vì vậy, loại các công thức trên. Do đó, khoảng nồng độ poloxamer 407 được chọn để đưa vào thiết kế thực nghiệm là 1-5%.

Từ đó các thành phần công thức được đề xuất trong bảng 5.

Bảng 5. Các thành phần sử dụng trong công thức.

STT	Thành phần	Tỷ lệ (%)
1	Eucalyptol	1-10
2	Cremophor RH40	2,5-7,5
3	Ethanol	5-15
4	Poloxamer 407	1-10
5	Nước cất	Vừa đủ

Kết quả tối ưu hóa

Dữ liệu khảo sát thực nghiệm mức độ tách lớp sau ly tâm (R1) và đường kính trung bình chùm phun (R2) của các công thức được trình bày trong bảng 6.

Bảng 6. Dữ liệu bào chế và kiểm nghiệm các công thức.

Công thức	A	B	C	D	R1	R2
1	1,00	2,50	10,20	2,46	0	8,40
2	6,54	4,44	8,85	5,00	1	6,95
3	1,00	7,50	15,00	1,00	0	8,75
4	4,88	6,75	12,00	2,90	0	7,30
5	6,54	4,44	8,85	5,00	0	7,00
6	10,00	2,50	15,00	5,00	3	7,20
7	10,00	7,50	9,85	1,00	1	8,33
8	1,00	7,50	6,80	5,00	0	5,25
9	9,71	5,00	5,20	3,00	1	9,00
10	2,35	4,97	6,50	3,47	0	7,00
11	10,00	2,50	5,00	1,00	4	11,15
12	4,88	6,75	12,00	2,90	0	7,50
13	10,00	7,50	5,00	5,00	0	6,17
14	1,00	2,50	5,00	5,00	0	6,13
15	5,37	7,50	5,00	2,44	0	8,50
16	1,00	2,50	10,20	2,46	0	8,25
17	10,00	5,10	15,00	2,46	2	7,80
18	5,64	2,50	15,00	1,00	1	9,60
19	1,00	4,88	5,00	1,00	0	9,50
20	8,20	7,50	15,00	5,00	0	6,65
21	1,00	3,50	15,00	5,00	0	5,96

A: nồng độ eucalyptol (%); B: nồng độ cremophor (%); C: nồng độ ethanol (%); D: nồng độ poloxamer 407 (%); R1: mức độ tách lớp sau khi ly tâm; R2: đường kính trung bình chùm phun (cm).

Các điều kiện ràng buộc của các biến số độc lập và phụ thuộc trong quá trình tối ưu hóa được trình bày ở bảng 7.

Bảng 7. Điều kiện ràng buộc cho các biến số.

Biến số	Mục tiêu	Khoảng giới hạn
A	Trong khoảng giới hạn	1-10 (%)
B	Trong khoảng giới hạn	2,5-7,5 (%)
C	Trong khoảng giới hạn	5-15 (%)
D	Trong khoảng giới hạn	1-5 (%)
R1	Lý tưởng nhất là 0	0
R2	Trong khoảng giới hạn	8-10 (cm)

Dựa vào dữ liệu thực nghiệm từ bảng 6, phần mềm Design-Expert đã đưa ra các công thức tối ưu với các chỉ số mong muốn D (Desirability) khác nhau. Công thức với chỉ số mong muốn cao được lựa chọn và trình bày trong bảng 8.

Bảng 8. Công thức tối ưu cho công thức 5% và 8% với chỉ số mong muốn cao nhất.

Thành phần	Tỷ lệ % tối ưu	
Eucalyptol	5	8
Cremophor RH40	7,50	7,48
Ethanol	5,07	5,7
Poloxamer 407	3,07	4,05
Nước cất	Vừa đủ	Vừa đủ
	D=0,995	D=0,999

Kết quả kiểm chứng công thức tối ưu

Bào chế lặp lại 3 lần các công thức tối ưu đã tìm được, với cùng các điều kiện và quy trình như trong giai đoạn thiết kế, mỗi công thức có khối lượng 50 g. Sau đó, tiến hành xác định chỉ tiêu mức độ tách lớp sau khi ly tâm (R1), đường kính trung bình chùm phun (R2). Kết quả được trình bày trong bảng 9.

Bảng 9. Kết quả kiểm chứng 3 lô công thức 5% và 8% eucalyptol.

Lô	CT 5%		CT 8%	
	R1	R2	R1	R2
1	0	8,1	0	7,75
2	0	8	0	7,88
3	0	7,93	0	7,83
Trung bình	0	8,01	0	7,82
Hệ số biến thiên CV (%)	0	1,10	0	0,80
Dự đoán	0	8	0	8,12
Sai số tương đối giữa giá trị trung bình và dự đoán (%)	0	0,13	0	3,69

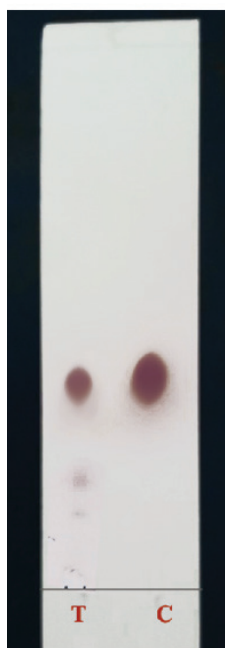
Kết quả mức độ tách lớp sau khi ly tâm (R1) và đường kính trung bình chùm phun (R2) của công thức tối ưu 5% và 8% eucalyptol có sự lặp lại tốt, đồng thời sự sai lệch giữa giá trị dự đoán và giá trị trung bình thấp.

Đánh giá các chỉ tiêu của sản phẩm hoàn tất

Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu thuốc khí dung thành phẩm được trình bày trong bảng 10.

Bảng 10. Kết quả đánh giá chỉ tiêu của thuốc khí dung xịt họng thành phẩm.

Chỉ tiêu	CT 5%	CT 8%
Cảm quan	Vi nhũ tương đục mờ, có mùi thơm, vị ngọt nhẹ, hơi đắng	Vi nhũ tương hơi đục, có mùi thơm, vị ngọt nhẹ, hơi đắng
pH	4,5-6,5	
Tỷ trọng	0,99-1,01	0,98-1,01
Hình dạng phun	Hình dạng chùm phun: tròn hoặc gần tròn	
	Kích thước chùm phun: đường kính trung bình nằm trong khoảng 6,8-9,2 (cm)	Kích thước chùm phun: đường kính trung bình nằm trong khoảng 6,63-8,97 (cm)
Độ đồng đều phân liều	Các liều nằm trong khoảng 0,1178-0,1766 (g) Trung bình các liều đầu và liều cuối phải nằm trong khoảng 0,1251-0,1693 (g)	Các liều nằm trong khoảng 0,1165-0,1747 (g) Trung bình các liều đầu và liều cuối phải nằm trong khoảng 0,1238-0,1674 (g)
Định tính	Sắc ký lớp mỏng có xuất hiện màu từ xanh đến đỏ tím của eucalyptol	



Hình 1. Sắc ký lớp mỏng của mẫu thử so với eucalyptol chuẩn.

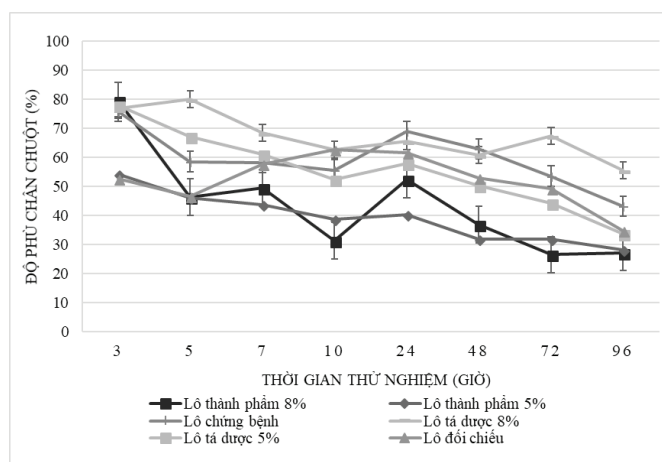
Đánh giá khả năng kháng viêm của thành phẩm

Khả năng kháng viêm của thành phẩm được thể hiện ở bảng 11 và hình 2.

Bảng 11. Hiệu quả giảm phù so với lô chứng bệnh/gel nhũ tương nền.

Lô	Độ phù bàn chân chuột trung bình (%)							
	3 giờ	5 giờ	7 giờ	10 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ
Chứng bệnh	75,83 ±4,29	58,61 ±6,33	58,33 ±3,80	55,69 ±5,48	68,89 ±6,04	62,92 ±7,20	53,61 ±5,94	43,19 ±4,25
Thành phẩm 8%	79,58 ±11,16	46,42 ±7,91	49,53 ±6,71	31,40 ±4,15	52,46 ±5,91	36,91 ±7,59*	26,55 ±7,06*	27,25 ±5,34*
Tá dược 8%	76,87 ±6,89	80,16 ±9,70	68,49 ±7,75	62,78 ±6,94	65,50 ±7,54	60,77 ±13,46	67,32 ±11,72	55,52 ±11,87
Thành phẩm 5%	54,20 ±3,78*	46,10 ±4,71*	43,80 ±4,04*	38,80 ±3,18*	40,30 ±3,63*	31,80 ±4,74*	31,9 ±6,26*	28,2 ±5,41*
Tá dược 5%	77,92 ±7,23	67,28 ±3,20	61,13 ±4,58	52,38 ±3,89	58,08 ±3,71	50,26 ±6,12	44,21 ±5,45	33,65 ±4,81
Đối chiếu	52,68 ±4,91*	46,67 ±4,31	57,58 ±7,50	62,72 ±6,92	61,65 ±5,44	53,04 ±7,11	49,21 ±3,00	34,92 ±4,69

*P<0,05: giá trị có ý nghĩa thống kê khi so sánh với lô chứng bệnh/tá dược.



Hình 2. Kết quả thử nghiệm khả năng kháng viêm của thành phẩm.

Kết quả độ phù chân chuột giữa lô chứng bệnh, tá dược 8%, tá dược 5% và thuốc đối chiếu khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($P>0,05$) (hình 2). Như vậy tá dược 8% và tá dược 5% không có tác dụng kháng viêm. Thuốc đối chiếu chỉ có tác dụng giảm phù ở thời điểm 3 giờ sau khi tiêm carragenin ($P<0,05$) với hiệu quả giảm phù là 30,53%, tuy nhiên độ phù chân chuột tăng dần sau 24 giờ và giảm nhẹ sau 96 giờ do lượng carrageenan được chuyển hóa và đào thải. Như vậy sau 5 ngày sử dụng, thuốc đối chiếu Anginovag® chỉ có tác dụng phòng viêm trong thời gian ngắn.

Độ phù chân chuột giữa lô thành phẩm 8% và lô chứng bệnh khác nhau có ý nghĩa thống kê ở thời điểm 48 giờ, 72 giờ, 96 giờ ($P<0,05$).

Bảng 12. Tác động kháng viêm của thành phẩm so với lô chứng bệnh.

Lô	Hiệu quả giảm phù so với lô chứng bệnh (%)							
	3 giờ	5 giờ	7 giờ	10 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ
Thành phẩm 1 (8%)	-4,95	20,79	15,09	43,62	23,85	41,34	50,47	36,92
Thành phẩm 2 (5%)	28,57	21,33	25,00	30,42	41,53	49,45	40,41	34,73
Đối chiếu	30,53	20,38	1,29	-12,61	10,51	15,70	8,22	19,15

Thành phẩm 5% có tác dụng kháng viêm khá tốt với độ phù chân chuột thấp và giảm đều ở mọi thời điểm, sau 96 giờ độ phù chân chuột giảm từ 54,2% xuống 28,2%, (hình 2). Hiệu quả giảm phù tăng dần theo thời gian và đạt cao nhất ở thời điểm 48 giờ là 49,45% (bảng 12). Khác biệt về độ phù chân chuột giữa lô thành phẩm 5% và lô chứng bệnh đạt ý nghĩa thống kê với $P < 0,05$. Như vậy thành phẩm có chứa 5% eucalyptol có tác dụng phòng viêm tốt.

Kết luận

Các kết quả trên cho thấy, nghiên cứu này đã đạt được thành công trong việc ứng dụng hoạt chất eucalyptol vào dạng khí dung xịt họng có tác dụng tại chỗ để điều trị viêm

họng. Sản phẩm hoàn tất đã được khảo sát chỉ tiêu về cảm quan, pH, tỷ trọng, hình dạng phun, độ đồng đều khối lượng phun và định tính. Hơn nữa, sản phẩm còn cho khả năng kháng viêm tốt so với lô không điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bộ Y tế (2016), *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số bệnh về tai mũi họng*, Nhà xuất bản Y học.
- [2] F. Farrer (2012), “Sprays and lozenges for sore throats”, *South African Family Practice*, **54**(2), pp.26-31.
- [3] M.M. Thosar (2011), “Intra oral sprays - An overview”, *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, **2**(11), pp.1235-1246.
- [4] Bộ Y tế (2009), *Dược điển Việt Nam IV*, Nhà xuất bản Y học.
- [5] USFDA CDER (2002), *Nasal spray and inhalation solution, suspension, and spray drug product chemistry, manufacturing, and controls documentation*.
- [6] The United State Pharmacopeial Convention (2013), “Aerosol chapter <601>”, *USP 36 - NF 31*, p.244.
- [7] Hans Gerhard Vogel (2008), *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays (Second editon)*, Springer, pp.1099-1106.