

Nghiên cứu độ ổn định và hoạt tính kháng nấm đối với *Candida albicans* của gel chứa tiểu phân nano clotrimazole

Hồ Hoàng Nhân^{1,*}, Ngô Thị Minh Châu², Hoàng Ngọc Tuấn¹,
Tôn Nữ Phương Anh², Nguyễn Thị Kiều Nhi¹

(1) Khoa Dược, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

(2) Bộ môn Ký sinh trùng, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Clotrimazole (CLO) là hoạt chất thường được sử dụng trong điều trị nhiễm nấm da và niêm mạc do *Candida albicans* (*C. albicans*). Nhằm cải thiện khả năng hấp thu thuốc tại chỗ, hệ đưa thuốc có kích thước nano đã được ứng dụng rộng rãi, đặc biệt với các dược chất kém tan như CLO. Trên cơ sở đó, đề tài được thực hiện nhằm đánh giá khả năng giải phóng thuốc của gel chứa tiểu phân nano CLO và hoạt tính kháng nấm của gel đối với *C. albicans*. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** CLO (Trung Quốc), Eudragit RS100 (Đức), Carbopol 934P (Trung Quốc) và một số hóa chất khác được sử dụng. Nghiên cứu tiến hành bào chế tiểu phân nano CLO và phối hợp vào công thức gel. Gel được đánh giá khả năng giải phóng dược chất *in vitro* bằng thiết bị khuếch tán Franz. Ngoài ra, sử dụng môi trường thạch dextrose khoai tây (Potato Dextrose Agar – PDA) để đánh giá hiệu quả kháng nấm đối với *C. albicans*. **Kết quả:** Gel chứa tiểu phân nano CLO ổn định trong 6 tuần, có khả năng giải phóng dược chất kéo dài so với gel chứa CLO tự do (tương ứng $51,46 \pm 1,10\%$ và $71,98 \pm 1,40\%$ sau 24h) và có hiệu quả kháng *C. albicans* tốt hơn so với gel chứa CLO tự do (31 điểm so với 33 điểm). **Kết luận:** Hệ tiểu phân nano chứa CLO có tiềm năng lớn phối hợp vào dạng gel dùng tại chỗ, giúp tăng cường hoạt tính kháng nấm và giải phóng thuốc kéo dài.

Từ khóa: clotrimazole, *Candida albicans*, kháng nấm, gel, tiểu phân nano.

Study on stability and antifungal activity against *Candida albicans* of gel containing clotrimazole-loaded nanoparticles

Ho Hoang Nhan^{1,*}, Ngo Thi Minh Chau², Hoang Ngoc Tuan¹,
Ton Nu Phuong Anh², Nguyen Thi Kieu Nhi¹

(1) Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(2) Department of Parasitology, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Abstract

Background: Clotrimazole (CLO) is a widely used drug for the treatment of cutaneous and mucosal fungal infections caused by *Candida albicans* (*C. albicans*). To improve the topical drug absorption, nano-sized drug delivery systems have gained significant attention, particularly for poorly soluble drugs such as CLO. This research aimed to assess the drug release capability of gel containing clotrimazole-loaded nanoparticles and evaluate its antifungal activity against *C. albicans*. **Materials and methods:** CLO (China), Eudragit RS100 (Germany), Carbopol 934P (China), and other chemicals were utilized in this study. The clotrimazole-loaded nanoparticles were prepared and incorporated into the gel formulation. The *in vitro* drug release profile of gel was evaluated using Franz diffusion cells. Furthermore, the antifungal efficacy against *C. albicans* was assessed using Potato Dextrose Agar (PDA) medium. **Results:** The prepared gel containing CLO-loaded nanoparticles were stable during 6-week storage, demonstrated prolonged drug release after 24 hours compared to the gel containing free CLO ($51.46 \pm 1.10\%$ and $71.98 \pm 1.40\%$, respectively), exhibited better antifungal activity against *C. albicans* than gel containing free CLO (31 points versus 33 points). **Conclusion:** The CLO-loaded nanoparticles incorporated into the gel formulation showed promising potential as a topical drug delivery system, enhancing the antifungal activity and prolonging the drug release.

Keywords: clotrimazole, *Candida albicans*, antifungal, gel, nanoparticles.

Địa chỉ liên hệ: Hồ Hoàng Nhân, email: hhnhan@huemed-univ.edu.vn

Ngày nhận bài: 11/2/2023; Ngày đồng ý đăng: 6/5/2023; Ngày xuất bản: 10/6/2023

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong thời gian gần đây, các bệnh nhiễm trùng do nấm đang dần trở thành vấn đề sức khỏe đáng lưu ý bởi chúng ngày càng phổ biến và nguy cơ kháng thuốc của các mầm bệnh [1]. Một trong những tác nhân thường gặp trong nhiễm nấm da, niêm mạc, viêm âm đạo là *Candida albicans* (*C. albicans*) và clotrimazole (CLO) thường được sử dụng để điều trị trong các trường hợp này. CLO là thuốc kháng nấm phổ rộng thuộc nhóm imidazole. Theo hệ thống phân loại sinh dược học (BCS - Biopharmaceutics classification system), CLO thuộc nhóm II với đặc điểm tan kém, điều này góp phần làm hạn chế sinh khả dụng của thuốc [2].

Gel thân nước (hydrogel) với hàm lượng nước tương đối cao có thể giúp cải thiện độ tan, khả năng khuếch tán của những hoạt chất kém tan trong nước. Bên cạnh đó, hệ đưa thuốc chứa các tiểu phân nano nói chung và nano polyme nói riêng đã được nghiên cứu rộng rãi để cải thiện độ tan và sinh khả dụng thuốc. Như vậy, việc sử dụng hydrogel chứa tiểu phân nano có thể là một lựa chọn tiềm năng nhằm khắc phục đặc tính kém tan của CLO, giúp kéo dài khả năng giải phóng thuốc tại chỗ.

Trong nghiên cứu trước đây, nhóm nghiên cứu đã bào chế thành công gel thân nước từ hệ tiểu phân nano polyme Eudragit RS100 chứa CLO [3]. Trên cơ sở đó, nghiên cứu này được tiến hành nhằm tiếp

tục đánh giá độ ổn định và thử hoạt tính kháng nấm đối với *C. albicans* của gel chứa tiểu phân nano CLO (NanoCLO-G) so sánh với công thức chứa CLO tự do (CLO-G).

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu:

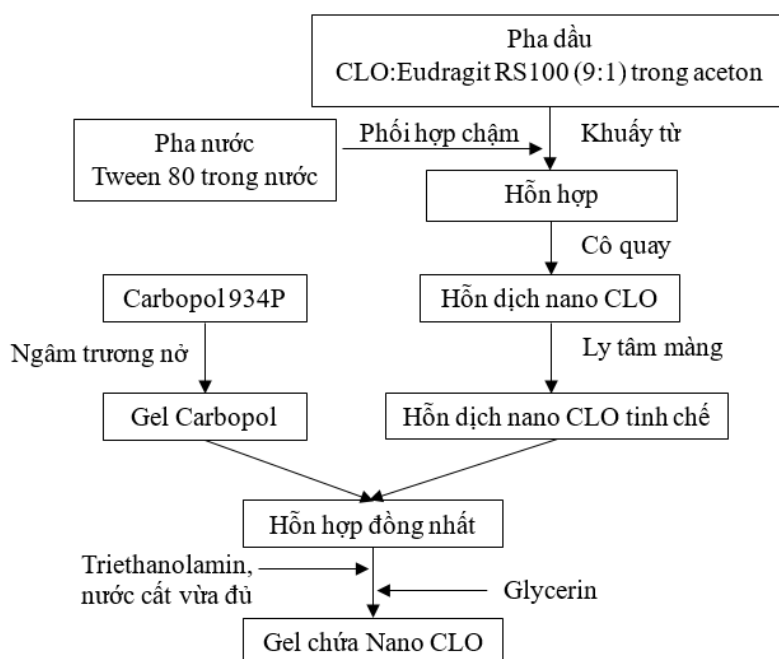
Nguyên liệu: CLO (độ tinh khiết 99%) từ Trung Quốc, Eudragit RS100 từ Đức, Carbopol 934P có nguồn gốc từ Trung Quốc và một số hóa chất khác.

Thiết bị: Máy lắc xoay Vortex Labnet (Mỹ), thiết bị ly tâm Hermle Labortechnik GmbH (Đức), máy khuấy từ IKA C-MAG HS 7, máy đo quang phổ UV-Vis (JASCO V-630, Nhật Bản), thiết bị HPLC Shimadzu (CAT.NO 228) (Nhật Bản), thiết bị đánh giá khả năng phóng thích qua màng Hanson Research (Teledyne Technologies Incorporated, Mỹ), cân phân tích HR-250 AZ (AND, Nhật Bản), thiết bị Zetasizer ZS90 (Malvern Instruments Ltd., Anh).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bào chế gel chứa tiểu phân nano CLO

Dựa vào kết quả khảo sát công thức đã nghiên cứu, tiến hành bào chế nano polyme chứa CLO sau đó phối hợp vào công thức gel Carbopol (0,3%), kết hợp thêm tá dược giữ ẩm glycerin (5%) để đạt hàm lượng 1% CLO (kl/kl) theo quy trình được mô tả ở hình 1 [3].



Hình 1. Quy trình bào chế gel chứa tiểu phân nano CLO

2.2.2. Tính chất

Đánh giá tính chất của gel tạo thành bằng cách quan sát các tính chất như màu sắc, trạng thái đồng nhất, độ mịn màng, sự xuất hiện kết tủa.

2.2.3. pH của gel

Cân khoảng 2 g gel, pha loãng thành hỗn dịch có nồng độ 10% bằng nước cất. Hỗn dịch thu được đem xác định pH bằng máy đo pH [3].

2.2.4. Kích thước tiểu phân, phân bố kích thước tiểu phân nano trong gel

Cân khoảng 1,5 g gel, pha loãng bằng 15 ml nước cất, khuấy trộn để hòa tan hoàn toàn các tá dược tạo gel, sau đó ly tâm ở tốc độ 5000 vòng/phút trong 10 phút để làm lắng các tá dược tạo gel. Dịch sau ly tâm đem đo xác định K_{TP}, PDI trên thiết bị Zetasizer ZS90 (Malvern Instruments Ltd., Anh) [3].

2.2.5. Khả năng giải phóng dược chất in vitro

Tiến hành trên thiết bị khuếch tán Franz với mẫu thử: 0,3 g gel; môi trường khuếch tán: đệm phosphat pH 5,0:ethanol (tỉ lệ 8:2, tt/tt); nhiệt độ: 37 ± 0,5 °C; tốc độ khuấy: 350 vòng/phút, màng cellulose acetate 0,45 µm [4, 5]. Lấy mẫu tại các thời điểm 2, 4, 6, 8, 10, 24 giờ, mỗi lần lấy 1ml và bổ sung thể tích môi trường tương ứng. Hàm lượng CLO được xác định bằng phương pháp quang phổ UV-Vis, pha loãng mẫu bằng methanol. Tỉ lệ % CLO giải phóng tại từng thời điểm được tính toán là phần trăm so với lượng CLO có trong mẫu gel thử.

Bào chế gel chứa 1% CLO tự do (CLO-G) và tiến hành đánh giá tương tự để so sánh khả năng giải phóng thuốc giữa NanoCLO-G và CLO-G.

2.2.6. Độ ổn định

Mẫu gel NanoCLO-G được bảo quản trong lọ thủy tinh rộng miệng đầy kín và được theo dõi ở điều kiện phòng (nhiệt độ 25 °C, độ ẩm 60-70%). Các chỉ tiêu đánh giá bao gồm: tính chất, kích thước tiểu phân và pH.

2.2.7. Hoạt tính kháng nấm

Nghiên cứu tiến hành áp dụng quy trình thử hoạt tính kháng nấm bằng phương pháp PDA (dùng thạch dextrose - khoai tây) [6]:

Bột PDA được hòa tan trong nước cất để được nồng độ 39 g/l và được hấp diệt khuẩn ở 121 °C trong 15 phút. Dung dịch PDA sau khi diệt khuẩn được đặt trong bể cách thủy, làm mát và duy trì ở 55 °C đến 60 °C. Các mẫu thuốc thử gốc (nồng độ gấp 100 lần trong nước cất diệt khuẩn) được phối hợp với dung dịch PDA để tạo dãy các dung dịch có nồng độ thuốc khác nhau, cụ thể: 16; 8; 4; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,06; 0,03; 0,0 µg/ml.

Thạch không chứa thuốc mà chỉ chứa nước cất được sử dụng làm mẫu đối chiếu. Đồng thời, giếng chỉ chứa thạch mà không chứa nước cất hay thuốc được sử dụng để kiểm tra môi trường. Hỗn hợp thuốc thử và thạch được đổ trực tiếp vào các giếng (1,0 ml/giếng). Sau khi các đĩa được làm mát xuống nhiệt độ phòng, 10µl của hỗn dịch nấm đã chuẩn bị ở trên (5x10³ - 2x10⁴/ml) được cấy trên thạch của từng giếng. Các đĩa được ủ hiếu khí ở 35 °C cho đến khi giếng chứng dương (không chứa thuốc) mọc kín đủ để xác định.

Cách đánh giá: thang điểm 4 mức được sử dụng, mức phát triển nấm ở các giếng chứa thuốc được so sánh với giếng chứng dương: tương đương giếng chứng được cho điểm 4; các điểm 3, 2, 1 lần lượt đại diện cho 75%, 50%, và 25% mức phát triển với giếng chứng; không có nấm phát triển được cho điểm 0. Giá trị MIC của từng công thức được xác định bằng nồng độ thuốc tối thiểu ức chế hoàn toàn sự phát triển của nấm trên thạch (75% hoặc hơn).

Thử nghiệm trên 3 mẫu gel gồm NanoCLO-G, CLO-G, và gel được bào chế từ tiểu phân nano không chứa CLO (mẫu placebo, ký hiệu Nano-G). Mỗi nồng độ tiến hành lặp lại 2 lần với sơ đồ thử mô tả ở bảng 1.

Bảng 1. Sơ đồ các mẫu thử hoạt tính kháng nấm trên đĩa 24 giếng

Chứng dương (+)	0,03 µg/ml	0,06 µg/ml	0,125 µg/ml	0,25 µg/ml	0,5 µg/ml
Chứng dương (+)	0,03 µg/ml	0,06 µg/ml	0,125 µg/ml	0,25 µg/ml	0,5 µg/ml
Chứng âm (-)	1 µg/ml	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml	16 µg/ml
Chứng âm (-)	1 µg/ml	2 µg/ml	4 µg/ml	8 µg/ml	16 µg/ml

Ghi chú: (+): chứa nấm và môi trường. (-): chỉ chứa môi trường

3. KẾT QUẢ

NanoCLO-G sau khi bào chế có màu trắng đục, đồng nhất, thể chất mịn màng, hàm lượng dược chất đạt $0,998 \pm 0,026\%$. Sau 6 tuần bảo quản, gel vẫn đồng nhất, không đổi màu, không xuất hiện tủa dược chất trong gel, kết quả đánh giá pH, KTCP và phân bố kích thước tiểu phân (PDI) được trình bày ở bảng 2.

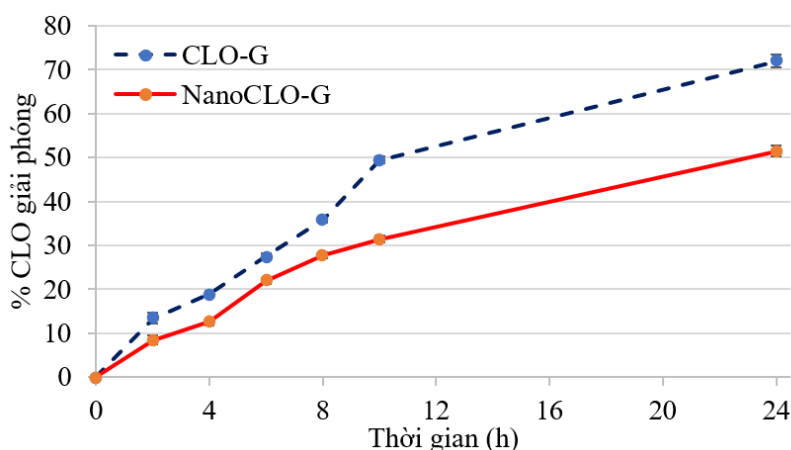
Bảng 2. Kết quả đánh giá độ ổn định của NanoCLO-G

Gel	pH	KTCP (nm)	PDI	Hình ảnh
Gel ban đầu	6,77	$154,6 \pm 3,6$	$0,153 \pm 0,011$	
Gel sau 6 tuần	6,72	$169,2 \pm 4,1$	$0,159 \pm 0,013$	

Nhận xét: Thể chất và các đặc tính của gel như pH, KTCP, PDI hầu như không có sự thay đổi đáng kể sau khi bảo quản ở nhiệt độ phòng trong vòng 6 tuần, từ đó phần nào chứng minh được gel chứa tiểu phân nano CLO bào chế theo quy trình và công thức đã nghiên cứu là ổn định trong thời gian bảo quản.

3.2. Khả năng giải phóng dược chất *in vitro*

Nhằm tìm hiểu khả năng giải phóng dược chất và có cơ sở để biện giải kết quả trong thử nghiệm đánh giá hoạt tính kháng nấm, thử nghiệm đánh giá khả năng giải phóng dược chất từ gel chứa CLO tự do CLO-G đã được tiến hành với kết quả như hình 2.

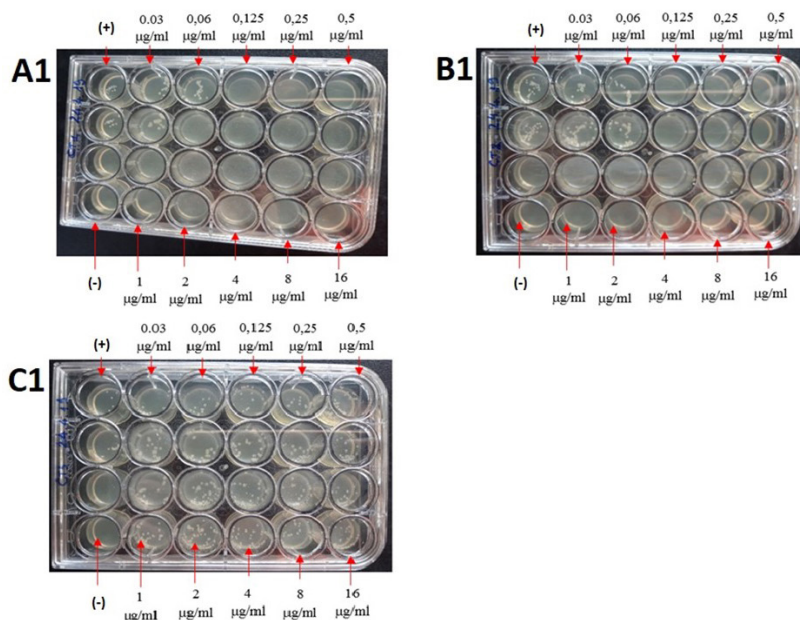


Hình 2. Đồ thị giải phóng dược chất *in vitro* của các mẫu gel chứa CLO gồm gel chứa tiểu phân nano CLO (NanoCLO-G) và gel chứa CLO tự do (CLO-G)

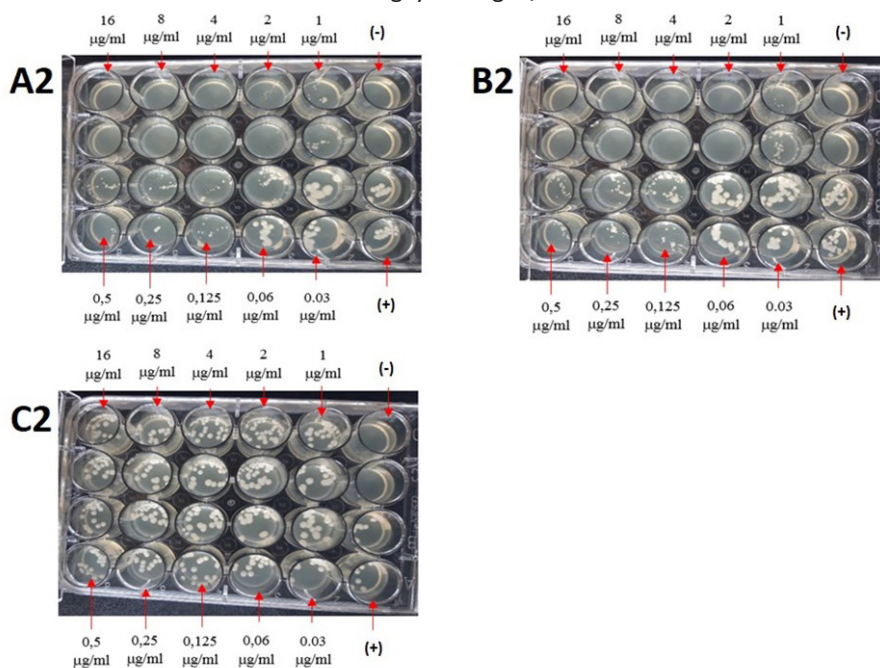
Nhận xét: Sau 24 giờ, CLO-G cho khả năng giải phóng hoạt chất ($71,98 \pm 1,40\%$) cao hơn nhiều so với NanoCLO-G. Kết quả này chứng tỏ tiềm năng giải phóng thuốc kéo dài của gel được bào chế từ hệ tiểu phân nano polyme so với dạng gel quy ước.

3.3. Hoạt tính kháng nấm

Khả năng kháng nấm của các mẫu gel chứa CLO gồm NanoCLO-G, CLO-G và mẫu không chứa CLO gồm Nano-G (mẫu placebo) được đánh giá trên chủng nấm *C. albicans* sau thời gian 2 ngày trên đĩa 24 giếng, kết quả thu được ở hình 3 và hình 4.



Hình 3. Kết quả thử hoạt tính kháng nấm của gel NanoCLO-G (A1); của gel CLO-G (B1); gel Nano-G (C1) sau 1 ngày thử nghiệm



Hình 4. Kết quả thử hoạt tính kháng nấm của gel NanoCLO-G (A2); của gel CLO-G (B2); gel Nano-G (C2) sau 2 ngày thử nghiệm

Nhận xét: Ở hình 3.C1 và 4.C2, mẫu thử là gel nano không có CLO, sự phát triển của nấm thể hiện ở tất cả các nồng độ với mật độ gần tương đương nhau, điều này chứng tỏ hệ tá dược trong Nano-G hầu như không có khả năng ức chế sự phát triển của nấm. Ngược lại, đối với NanoCLO-G, sau 1 ngày, nấm chỉ phát triển ở các giếng có nồng độ mẫu thử thấp (0,03-0,06 µg/ml) và sau 2 ngày nấm chỉ phát triển rất ít ngay cả ở nồng độ 1 µg/ml (hình 3.A1, 4.A2). Với CLO-G (hình 3.B1, 4.B2), mẫu gel này cũng có khả năng kháng *C. albicans*, tuy nhiên ở một số giếng có nồng độ khoảng 0,125 - 0,5 µg/ml, mức độ phát triển của nấm cao hơn so với giếng tương ứng của mẫu NanoCLO-G.

Từ các đĩa thử nghiệm, tiến hành đánh giá hoạt tính kháng nấm *C. albicans* của gel dựa vào thang điểm quy ước đã nêu trong phần phương pháp, kết quả đánh giá như bảng 3.

Bảng 3. Bảng điểm đánh giá hoạt tính kháng nấm của NanoCLO-G và CLO-G

Gel	Nồng độ (µg/ml)										Tổng điểm
	0,030	0,060	0,125	0,250	0,500	1,000	2,000	4,000	8,000	16,000	
NanoCLO-G	4	4	2	2	2	2	0	0	0	0	31
	4	4	2	2	2	1	0	0	0	0	
CLO-G	4	4	2	2	2	2	0	0	0	0	33
	4	4	3	3	2	1	0	0	0	0	

Nhận xét: Sau 2 ngày thử hoạt tính với nấm *C.albicans*, mẫu gel chứa tiểu phân nano CLO có tổng điểm là 31, còn mẫu gel chứa CLO tự do có tổng điểm là 33 và cả hai mẫu đều cho giá trị MIC là 2 (µg/ml).

4. BÀN LUẬN

Gel bào chế từ hệ tiểu phân nano CLO có thể chất mịn màng, phù hợp với dạng bào chế dùng qua da, hàm lượng dược chất đạt gần 1% tương đương với các chế phẩm dùng ngoài chứa CLO hiện có trên thị trường. Tiểu phân trong gel đạt kích thước nano ($154,6 \pm 3,6$ nm) hứa hẹn giúp tăng cường khả năng khuếch tán của dược chất qua da. Gel ổn định sau 6 tuần bảo quản với thể chất, pH và kích thước tiểu phân gần như không thay đổi đáng kể.

Trong thử nghiệm giải phóng dược chất *in vitro*, khi so sánh với gel chứa CLO tự do, gel chứa tiểu phân nano CLO cho thấy khả năng giải phóng kéo dài hơn sau 24 h thử nghiệm ($51,46 \pm 1,10\%$ so với $71,98 \pm 1,40\%$). Nghiên cứu của Mubarak (2019) về gel chứa tiểu phân nano polyme RS100-fluconazole cũng cho kết quả tương tự [7]. Điều này xảy ra có thể do hỗn dịch nano CLO đã được loại CLO tự do trước khi làm gel nên gel chứa tiểu phân nano CLO không có sự giải phóng ban đầu nhanh chóng như gel chứa CLO tự do. Đối với gel chứa các tiểu phân nano, sự phóng thích thuốc phụ thuộc vào sự phá vỡ lớp vỏ polyme bao bọc bên ngoài, sau đó mới là sự khuếch tán của CLO. Những kết quả này phù hợp với ứng dụng của Eudragit RS100, đây là một chất đồng trùng hợp không tan trong nước được tổng hợp từ este acid acrylic và acid metacrylic với 5% nhóm amoni bậc bốn, được sử dụng để giúp giải phóng thuốc bền vững. Các nhóm amoni có mặt dưới dạng muối và làm tăng tính thấm độc lập với pH của polyme này và lớp màng tạo bởi Eudragit RS100 chỉ thấm một chút vào nước [8]. Ngoài ra, Eudragit RS100 là một polyme cation sẽ làm bề mặt nano tích điện dương, còn bề mặt da mang điện tích âm (ở điều kiện pH sinh lý) do nhóm carboxyl của protein và lipid da. Tương tác tĩnh điện trong trường hợp này giúp hệ tiểu phân bám dính tốt trên da, nhờ đó có thể tối đa hóa sự hấp thu của tế bào đối với phức hợp thuốc –

polyme. Hơn nữa, Eudragit RS100 không hòa tan mà trương phồng ở pH sinh lý do đó đây là polyme hứa hẹn giúp kiểm soát kéo dài tác dụng mong muốn tại chỗ của thuốc [9].

Về thử nghiệm đánh giá hoạt tính kháng nấm, kết quả được đánh giá trên 2 tiêu chí là số điểm được tính khi so sánh với chứng dương và nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của CLO. Khi so sánh với giếng chứng dương, NanoCLO-G có tổng điểm là 31, nhỏ hơn so với 33 của CLO-G cho thấy NanoCLO-G có khả năng kháng *C. albicans* cao hơn so với CLO-G (mức điểm càng nhỏ khả năng kháng nấm càng cao). Điều này có thể là do kích thước nhỏ hơn của các tiểu phân nano làm cho diện tích bề mặt tiếp xúc lớn hơn so với các tiểu phân CLO tự do. Đồng thời cũng có thể giải thích bởi các tiểu phân nano giúp tăng cường thâm nhập CLO vào các thành tế bào nấm để ức chế tổng hợp ergosterol một cách hiệu quả [10]. Nghiên cứu của Esposito và cộng sự (2013) khi thử hoạt tính kháng nấm của CLO trong hỗn dịch trong nước (MAD (monoolein aqueous dispersion) - CLO) và hệ lipid có cấu trúc nano (NLC (nanostructured lipid carrier) - CLO) cũng cho thấy kết quả tương tự khi số đơn vị hình thành khuẩn lạc (CFU-Colony Forming Units) của *C. albicans* giảm đáng kể, với hiệu quả tương ứng là 54,6% và 65,3%, cao gấp nhiều lần khi so sánh với CLO/DMSO chỉ giảm 6,8% [11]. Hay nghiên cứu của Hashem (2011) cũng cho thấy vi nhũ tương (microemulsion) CLO và gel của vi nhũ tương CLO có khả năng kháng nấm *C. albicans* cao hơn các chế phẩm kem CLO thông thường [10].

Kết quả đánh giá khả năng kháng nấm của NanoCLO-G và CLO-G cho thấy hai công thức có kết quả MIC bằng 2 µg/ml. Nguyên nhân có thể do NanoCLO-G chứa CLO được bao gói bên trong Eudragit RS100, một polyme giúp giải phóng hoạt chất kéo dài (kết quả đánh giá giải phóng *in vitro* sau 24 giờ là $51,46 \pm 1,10\%$ so với CLO-G là $71,98 \pm 1,40\%$),

nên cần thời gian để phá vỡ lớp màng polyme để được chất khuếch tán. Mặt khác, NanoCLO-G trước khi bào chế đã được loại CLO tự do (quá trình tinh chế bằng phương pháp ly tâm màng), do đó không tạo được liều giải phóng ban đầu như CLO-G nên trong thời gian ngắn theo dõi chưa phản ánh được hết khả năng kháng nấm vượt trội của NanoCLO-G so với dạng quy ước. Tham khảo trong một nghiên cứu khi đánh giá khả năng kháng nấm của CLO trên 10 chủng *C. albicans*, kết quả cho thấy 2 chủng bị ức chế với $MIC_{CLO} \leq 2 \mu\text{g/ml}$, 5 chủng bị ức chế với $MIC_{CLO} = 2-10 \mu\text{g/ml}$, 3 chủng bị ức chế với $MIC_{CLO} = 10-25 \mu\text{g/ml}$; khi đánh giá trên 811 chủng *C. albicans* thì cho thấy cả 811 chủng đều bị ức chế tại $MIC_{CLO} = 2-10 \mu\text{g/ml}$ [12], khi đánh giá trên 5 chủng *C. albicans* cho thấy MIC_{CLO} từ 1,56 - 3,13 $\mu\text{g/ml}$ [13]. Như vậy, từ kết quả các nghiên cứu trên, có thể cho thấy gel NanoCLO-G và CLO-G đều đạt yêu cầu về hiệu quả kháng nấm đối với *C. albicans*, nhưng với khả năng giải phóng hoạt chất kéo dài, NanoCLO-G sẽ giúp hạn chế số lần dùng thuốc trong ngày cho bệnh nhân. Ngoài ra, trong các nghiên cứu tiếp theo,

các phương pháp đánh giá hoạt tính kháng nấm khác như phương pháp vi pha loãng trên môi trường lỏng, phương pháp xây dựng đường cong biểu diễn khả năng kháng nấm theo thời gian (time-kill curve), phương pháp đánh giá khả năng kháng nấm *in vivo* trên bướm sáp lớn (*Galleria mellonella*),... có thể được sử dụng nhằm đánh giá sâu hơn về hoạt tính này đối với các công thức gel chứa CLO [14].

5. KẾT LUẬN

Gel chứa tiểu phân nano CLO đã bào chế có những đặc tính phù hợp để dùng bôi da. Hơn nữa, gel cho thấy khả năng giải phóng thuốc kéo dài, thuận tiện trong việc giúp giảm số lần dùng thuốc. Bên cạnh đó, việc đưa hỗn dịch nano CLO vào công thức gel vẫn lưu giữ được hoạt tính kháng nấm đối với *C. albicans* với MIC là 2 $\mu\text{g/ml}$ tương đương mẫu gel chứa CLO tự do nhưng có khả năng ức chế sự phát triển của nấm tốt hơn. Như vậy, nghiên cứu chứng tỏ tiềm năng của việc sử dụng hệ gel chứa tiểu phân nano CLO dùng tại chỗ giúp tăng cường hoạt tính kháng nấm và giải phóng thuốc kéo dài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. World Health Organization. WHO releases first-ever list of health-threatening fungi Oct 25, 2022 [Available from: <https://www.who.int/news/item/25-10-2022-who-releases-first-ever-list-of-health-threatening-fungi>.
2. Grimling B, Karolewicz B, Nawrot U, Włodarczyk K, Górniak A. Physicochemical and Antifungal Properties of Clotrimazole in Combination with High-Molecular Weight Chitosan as a Multifunctional Excipient. *Mar Drugs*. 2020;18(12).
3. Hồ Hoàng Nhân, Hoàng Ngọc Tuấn, Lê Thị Minh Nguyệt. Nghiên cứu bào chế gel chứa tiểu phân nano clotrimazole. *Tạp chí Y Dược học - Trường Đại học Y - Dược Huế*. 2019;9(5).
4. de S. L. Oliveira ALC, dos Santos-Silva AM, da Silva-Júnior AA, Garcia VB, de Araújo AA, de Geus-Oei L-F, et al. Cholesterol-functionalized carvedilol-loaded PLGA nanoparticles: anti-inflammatory, antioxidant, and antitumor effects. *J Nanopart Res*. 2020;22(5).
5. Alves T, Arranca D, Martins A, Ribeiro H, Raposo S, Marto J. Complying with the Guideline for Quality and Equivalence for Topical Semisolid Products: The Case of Clotrimazole Cream. *Pharmaceutics*. 2021;13(4).
6. Liu Y, Tortora G, Ryan ME, Lee HM, Golub LM. Potato dextrose agar antifungal susceptibility testing for yeasts and molds: evaluation of phosphate effect on antifungal activity of CMT-3. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(5):1455-61.
7. Mubarak Al H. Fluconazole Nano-particles Loaded Gel for Improved Efficacy in Treatment of Oral Candidiasis. *Int J Pharmacol*. 2019;15(3):436-40.
8. Santos SS, Lorenzoni A, Ferreira LM, Mattiazzi J, Adams AI, Denardi LB, et al. Clotrimazole-loaded Eudragit® RS100 nanocapsules: preparation, characterization and in vitro evaluation of antifungal activity against *Candida* species. *Mater Sci Eng C-Mater*. 2013;33(3):1389-94.
9. Adibkia K, Javadzadeh Y, Dastmalchi S, Mohammadi G, Niri FK, Alaei-Beirami M. Naproxen-Eudragit® RS100 nanoparticles: Preparation and physicochemical characterization. *Colloids Surf B*. 2011;83(1):155-9.
10. Hashem FM, Shaker DS, Ghorab MK, Nasr M, Ismail A. Formulation, characterization, and clinical evaluation of microemulsion containing clotrimazole for topical delivery. *AAPS PharmSciTech*. 2011;12(3):879-86.
11. Esposito E, Ravani L, Contado C, Costenaro A, Drechsler M, Rossi D, et al. Clotrimazole nanoparticle gel for mucosal administration. *Mater Sci Eng C*. 2013;33(1):411-8.
12. Sawyer PR, Brogden RN, Pinder RM, Speight TM, Avery. Clotrimazole: a review of its antifungal activity and therapeutic efficacy. *Drugs*. 1975;9(6):424-47.
13. Shadomy S. In vitro antifungal activity of clotrimazole (Bay b 5097). *Infect Immun*. 1971;4(2):143-8.
14. Bidaud AL, Schwarz P, Herbreteau G, Dannaoui E. Techniques for the Assessment of In Vitro and In Vivo Antifungal Combinations. *J Fungi (Basel)*. 2021;7(2).