

Thuốc kháng đông đường uống có thể sử dụng an toàn và hiệu quả trên những bệnh nhân có chỉ định sử dụng thuốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Wallentin L, et al. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2009;361:1139–51.
2. Patel MR, Mahaffey KW, Garg J, et al. Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2011;365:883–91.
3. Granger CB, Alexander JH, McMurray JJ, et al. Apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2011;365:981–92.
4. Steffel J, Collins R, Antz M, et al. 2021 European Heart Rhythm Association Practical Guide on the Use of Non-Vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants in Patients with Atrial Fibrillation. *EP Europace.* Volume 23, Issue 10. October 2021, Pages 1612–1676. <https://doi.org/10.1093/europace/euab065>
5. January CT, Wann LS, Calkins H, et al. 2019 AHA/ACC/HRS Focused Update of the 2014 AHA/ACC/HRS Guideline for the Management of Patients With Atrial Fibrillation: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice
6. Guidelines and the Heart Rhythm Society in Collaboration With the Society of Thoracic Surgeons. *Circulation.* 2019 Jul 9;140(2):e125-e151. doi: 10.1161/CIR.0000000000000665. Epub 2019 Jan 28. Erratum in: *Circulation.* 2019 Aug 6;140(6):e285. PMID: 30686041.
7. Hindricks G, Potpara T, Daqres N, et al. 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS): The Task Force for the diagnosis and management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association (EHRA) of the ESC. *European Heart Journal* 2021, 42(5): 373–498.
8. Leiria TLL, Pellanda LC, Magalhães E, et al. Comparative Study of a Portable System for Prothrombin Monitoring Using Capillary Blood against Venous Blood Measurements in Patients Using Oral Anticoagulants: Correlation and Concordance. *Arq Bras Cardiol.* 2007; 89(1) : 1-5.
9. Eşkut N, Tamer P, Küsbeci ÖY, Ataç C, İnci İ. Evaluation of Time in Therapeutic Range in Patients with Cerebrovascular Disease Receiving Treatment with Warfarin. *MKÜ Tip Dergisi* 2021;12(43):88-93.

XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG 8 HOẠT CHẤT TÂN DƯỢC NGUY TẠO TRONG THUỐC DƯỢC LIỆU ĐIỀU TRỊ GIẢM ĐAU KHÁNG VIÊM BẰNG PHƯƠNG PHÁP HPLC-PDA

Phan Văn Hồ Nam¹, Lê Thị Lư¹, Nguyễn Thị Thùy Linh²

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Hiện nay, tình trạng trộn trái phép tân dược vào chế phẩm đông dược diễn biến phức tạp, đặc biệt là trong các thuốc điều trị đau nhức xương khớp. Trong đó, vẫn chưa có nghiên cứu nào tại Việt Nam xác định meloxicam, là hoạt chất có nguy cơ cao hiện nay, ngụy tạo trong các chế phẩm này. **Mục tiêu:** Xây dựng quy trình định lượng đồng thời 8 tân dược ngụy tạo trong thuốc dược liệu giảm đau, kháng viêm bằng HPLC-PDA. **Đối tượng và phương pháp:** Paracetamol, piroxicam, meloxicam, diclofenac natri, ibuprofen, prednisolon, betamethason và dexamethason acetat. Xây dựng và thẩm định quy trình theo hướng dẫn của AOAC (2016). **Kết quả:** Điều kiện sắc ký là: cột sắc ký - XBridgeTM C18 (150x4,6 mm; 5 µm); pha động – ACN và H₃PO₄ pH

3,5 theo chương trình gradient; tốc độ dòng – 1 ml/phút; thể tích tiêm mẫu – 10 µl; nhiệt độ cột – 30 °C và detector – PDA (220 nm); Mẫu thử được chiết với 20×2 ml ethyl acetate có siêu âm trong 10 phút, loại tạp bằng SPE với 3 ml MeOH. Quy trình đạt các yêu cầu thẩm định theo hướng dẫn của AOAC (2016). 3/5 chế phẩm được xác định có ngụy tạo paracetamol, piroxicam, diclofenac và betamethason. **Kết luận:** Đã xây dựng và ứng dụng thành công quy trình định lượng 8 hoạt chất tân dược ngụy tạo trong thuốc dược liệu điều trị giảm đau, kháng viêm bằng HPLC-PDA.

Từ khóa: tân dược, thuốc dược liệu, ngụy tạo, HPLC-PDA.

SUMMARY

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE SIMULTANEOUS QUANTITATIVE PROCEDURE OF 8 ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS ADULTERATED IN ANTI-INFLAMMATORY AND ANALGESIC HERBAL MEDICINES BY HPLC-PDA

Background: Currently, the illegal mixing of the Western pharmaceutical medicines into traditional medicines is complicated, especially in the treatment of chronic diseases such as osteoarthritis. In addition,

¹Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

²Trung Tâm Kiểm Nghiệm Thuốc, Mỹ Phẩm, Thực Phẩm TP.HCM

Chủ trách nhiệm chính: Phan Văn Hồ Nam

Email: phanvanhonam@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 27.3.2023

Ngày phản biện khoa học: 17.5.2023

Ngày duyệt bài: 29.5.2023

there are no studies in Vietnam that determine meloxicam, a high-risk active ingredient that could be illegally blended with traditional herbal preparations. **Objectives:** A process to determine some fake Western drugs in anti-inflammatory and analgesic medicinal drugs method was developed by using HPLC-PDA. **Methods:** 8 APIs for pain and anti-inflammatory treatment: paracetamol, piroxicam, meloxicam, diclofenac sodium, ibuprofen, prednisolone, betamethasone and dexamethasone acetate. The placebo sample, chromatography conditions and extraction conditions were investigated. The process was validated according to AOAC guideline (2013). **Results:** The process of simultaneous quantification of 8 APIs was established as: column – XBridgeTM C18 (150 x 4,6 mm; 5 µm); mobile phase – mixture of acetonitrile and phosphoric acid pH 3,5 in gradient mode; flow rate – 1 ml/min; injection volume – 10 µl; column temperature – 30 °C and detection – PDA (220 nm); the preparation of sample: extracting with 20 ml ethyl acetate by ultrasound in 10 mins and 2 times, eliminating impurities by SPE with 3 ml MeOH. The proposed procedure complied well all the requirements of AOAC guidelines (2016). There were 3/5 products containing paracetamol, piroxicam, diclofenac and betamethasone. **Conclusions:** A simultaneous quantitative process for 8 substances that illegally mixed into traditional herbal preparations for pain relief and anti-inflammatory treatment developed and applied successfully by HPLC-PDA.

Keywords: pharmaceutical substances, herbal medicine, adulterated, HPLC-PDA.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gần đây, xu hướng quay lại sử dụng các sản phẩm thuốc có nguồn gốc thảo dược trở nên phổ biến, do được quan niệm là sản phẩm an toàn đối với sức khỏe con người. Trong điều trị bệnh về xương khớp, ngoài thuốc tân dược nhóm NSAIDs và corticoid thì nhiều bệnh nhân có xu hướng tìm đến thuốc đông dược. Lợi dụng tâm lý người dùng, nhiều cơ sở sản xuất đã trộn trái phép các tân dược trên vào trong chế phẩm nhằm tạo hiệu quả điều trị và tăng lợi nhuận. Điều này vô cùng nguy hiểm do tác dụng phụ của các nhóm thuốc này khá nghiêm trọng; nếu sử dụng lâu dài và không kiểm soát liều lượng thì sẽ mang lại nhiều hậu quả nặng nề cho bệnh nhân. Nhiều nghiên cứu khoa học sử dụng các thiết bị hiện đại để tìm ra các phương pháp định lượng các tân dược trộn trái phép trong chế phẩm đông dược. Tuy nhiên hầu hết các Trung tâm kiểm nghiệm Việt Nam vẫn sử dụng các hệ thống HPLC với đầu dò UV/PDA để kiểm soát chất lượng dược phẩm. Có nhiều nghiên cứu sử dụng HPLC nhưng chỉ phát hiện được hoặc nhóm corticoid hoặc nhóm NSAIDs trộn trái phép và chưa có nghiên cứu nào tiến hành xác định

meloxicam^(1,2,3,4). Do đó, đề tài được thực hiện với mục tiêu xây một quy trình định lượng đồng thời 8 hoạt chất (paracetamol - PA, diclofenac natri - DC, ibuprofen - IB, piroxicam - PX, meloxicam - MX, prednisolon - PR, betamethason - BM và dexamethason - DX) ngụy tạo trong chế phẩm đông dược bằng phương pháp HPLC-PDA và ứng dụng quy trình vừa xây dựng được trên một số chế phẩm trên thị trường.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu nghiên cứu: 5 chế phẩm đông dược có tác dụng giảm đau kháng viêm đang lưu hành trên thị trường (Didicera, Hỏa Long phong thấp hoàn, tê thấp phong hoản, thấp khớp ND và xương khớp Nhất Nhất) đã xác định không hiện diện các hoạt chất khảo sát được chọn làm nền mẫu giả lập. Năm mẫu thuốc trị đau nhức xương khớp được thu thập trên địa bàn TP.HCM và tỉnh Đồng Nai.

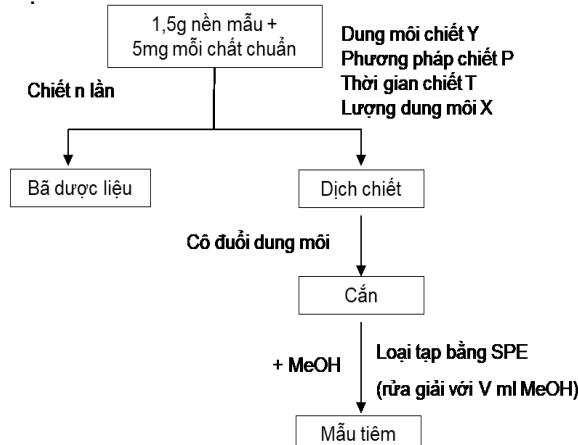
Chất đối chiếu: Paracetamol (99,5%), diclofenac natri (99,8%), ibuprofen (99,7%), piroxicam (99,7%), meloxicam (99,8%), prednisolon (99,0%), betamethason (98,8%) và dexamethason (99,2%) được cung cấp bởi Viện Kiểm Nghiệm Thuốc TP.HCM.

Thiết bị: Hệ thống HPLC-PDA WATERS 2489e-2996, bể siêu âm Elmasonic S900HM, máy đo pH Metler Toledo S20, cân phân tích độ nhạy 0,1 mg Sartorius CPA225D, cân phân tích độ nhạy 0,01 mg CP-2250, bếp cách thủy Memmert.

Hóa chất, dung môi: ethyl acetat (Merck), methanol (Merck), ethanol (Merck) H₃PO₄ (Merck) đạt tiêu chuẩn phân tích; acetonitril (Merck), methanol (Merck), nước cất hai lần (Đại Học Y Dược TP.HCM) đạt tiêu chuẩn phân tích dùng cho HPLC.

Phương pháp nghiên cứu. Tiến hành thống kê thành phần và tần suất xuất hiện các vị thuốc có trong 93 chế phẩm đông dược có tác dụng giảm đau, kháng viêm theo dữ liệu từ trang web chính thức của Cục Quản lý Dược tại thời điểm 30/07/2019 nhằm thiết kế nền mẫu giả lập. Khảo sát điều kiện sắc ký bao gồm khảo sát các chương trình gradient khác nhau với pha động gồm ACN - H₃PO₄ pH 3,5 và khảo sát pH pha động khác nhau. Khảo sát quy trình chiết xuất như hình 1: Tiến hành chiết xuất 1,5g mẫu với lượng X ml dung môi chiết xuất Y trong thời gian chiết xuất T phút bằng phương pháp chiết xuất P. Lọc qua giấy lọc. Thực hiện chiết xuất n lần. Gộp dịch lọc, sau đó dịch chiết được cô cách thủy đến cắn ở 80°C, cắn được hòa lại với MeOH, lọc vào bình định mức 20 ml, điều chỉnh

MeOH đến vạch. Hút 1 ml dung dịch cho vào SPE, rửa giải bằng V ml vào bình định mức 5 ml, điền đầy vạch bằng MeOH thu được dung dịch thử giả lập. Dựa vào kết quả trên HPLC để đưa ra kết luận. Quy trình chiết xuất ban đầu với: X = 10; Y là EA; T = 10; P là phương pháp siêu âm; n = 1; V = 3. Tiến hành khảo sát các điều kiện chiết xuất lần lượt, cố định điều kiện được lựa chọn phù hợp và thay đổi điều kiện tiếp theo nhằm loại được tạp tối đa và có được phương pháp chiết đơn giản nhất cho tín hiệu tương ứng 8 hoạt chất cao nhất. Quy trình định lượng được tiến hành thẩm định theo hướng dẫn của AOAC 2016 với các chỉ tiêu: tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính, độ đúng, độ chính xác, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng và độ thô⁽⁵⁾.



Hình 6. Sơ đồ quy trình chiết xuất

Chuẩn bị mẫu

Mẫu hỗn hợp chuẩn: Cân chính xác 5 mg mỗi 8 chất chuẩn, cho vào bình định mức 20 ml hòa tan với MeOH, siêu âm 10 phút, thêm dung môi đến vạch, lắc kĩ. Hút chính xác 2 ml dung dịch hỗn hợp chuẩn gốc cho vào bình định mức 10 ml, thêm MeOH đến vạch để thu được dung dịch mẫu chuẩn có nồng độ mỗi chất chuẩn là 50 ppm.

Mẫu trắng: Cân 1,5 g hỗn hợp 5 chế phẩm đã được nghiên mịn và trộn đồng nhất, tiến hành chiết xuất theo quy trình đã khảo sát.

Mẫu giả lập: Cân chính xác 5 mg mỗi 8 chất chuẩn vào erlen có nút mài đã có sẵn 1,5 g hỗn hợp 5 chế phẩm đã nghiên mịn và trộn đồng nhất, tiến hành chiết xuất theo quy trình đã khảo sát.

Mẫu thử: Cân chính xác khoảng 1,5 g bột chế phẩm đã được nghiên mịn và trộn đồng nhất từ lượng tương đương 20 liều dùng, tiến hành chiết xuất theo quy trình đã khảo sát.

Các mẫu phân tích sau khi được pha chế/chiết xuất được lọc qua màng lọc 0,45 µm, và triển khai sắc ký theo điều kiện phù hợp đã được khảo sát.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Xây dựng công thức nền mẫu giả lập. Kết quả thống kê cho thấy 12/82 vị thuốc có tần suất xuất hiện cao ($\geq 35\%$) trong 93 chế phẩm được cấp số đăng ký là Độc hoạt, Tang ký sinh, Phòng phong, Tân giao, Tế tân, Quế, Ngưu tất, Đỗ trọng, Bạch thươn, Xuyên khung, Cam thảo, Đường Quy. Do vậy, nền mẫu giả lập trong nghiên cứu này được trộn đồng nhất từ 5 chế phẩm Didicera (CTCP Traphaco), Hóa Long Phong Thấp Hoàn (Công ty TNHH Đông Nam Dược Bảo Long), Tê thấp phong hoàn (Cơ sở Đông Nam Dược Trung An), Thấp khớp ND (CTCP Nam Dược), Xương khớp Nhất Nhất (Công ty TNHH Nhất Nhất) có chứa 12 vị thuốc kể trên. Nền mẫu giả lập đã được phân tích bằng LC-MS cho thấy chế phẩm không có chứa hoạt chất tân dược.

Khảo sát điều kiện sắc ký. Từ các kết quả khảo sát, đã chọn được điều kiện sắc ký thích hợp như sau: cột pha đảo XBridge™ C18 (150 x 4,6 mm; 5 µm), thể tích tiêm mẫu 10 µl, tốc độ dòng 1 ml/phút, nhiệt độ cột 30 °C, bước sóng phát hiện 220 nm, pha động ACN-dung dịch H₃PO₄ pH 3,5 với chương trình rửa giải gradient như trong Bảng 1.

Bảng 1. Chương trình rửa giải gradient

Thời gian (phút)	ACN (%)	Dung dịch H ₃ PO ₄ pH 3,5 (%)
0 → 3	10	90
5 → 25	25	75
28 → 37	35	65
40 → 42	45	55
45 → 63	35	65
64 → 74	90	10
75 → 80	10	90

Khảo sát quy trình chiết xuất. Quy trình chiết xuất thích hợp để chiết được hàm lượng 8 hoạt chất cao nhất như sau: Cân chính xác khoảng 1,5 g nền mẫu giả lập đã nghiên mịn, thêm chính xác 5 mg mỗi 8 chất chuẩn, chiết với 20 ml EA trong 10 phút bằng phương pháp siêu âm rồi lọc qua giấy lọc. Tiến hành chiết lần 2, gộp dịch lọc sau đó cô cách thủy đến cắn ở 80 °C, hòa cắn với MeOH, lọc vào bình định mức 20ml, điền đầy bằng MeOH. Hút 1 ml dung dịch cho vào SPE, rửa giải bằng 3 ml MeOH vào bình định mức 5 ml, điền đầy bằng MeOH thu được dung dịch thử giả lập. Hiệu suất của 8 hoạt chất được trình bày qua Bảng 2.

Bảng 2. Hiệu suất quy trình chiết (n = 3)

	PA	PR	PX	BM	MX	DM	DC	IB
TB	86,12	89,10	82,61	83,87	78,21	89,73	88,70	89,28
RSD %	2,96	0,11	1,07	1,24	2,83	1,25	0,51	1,39

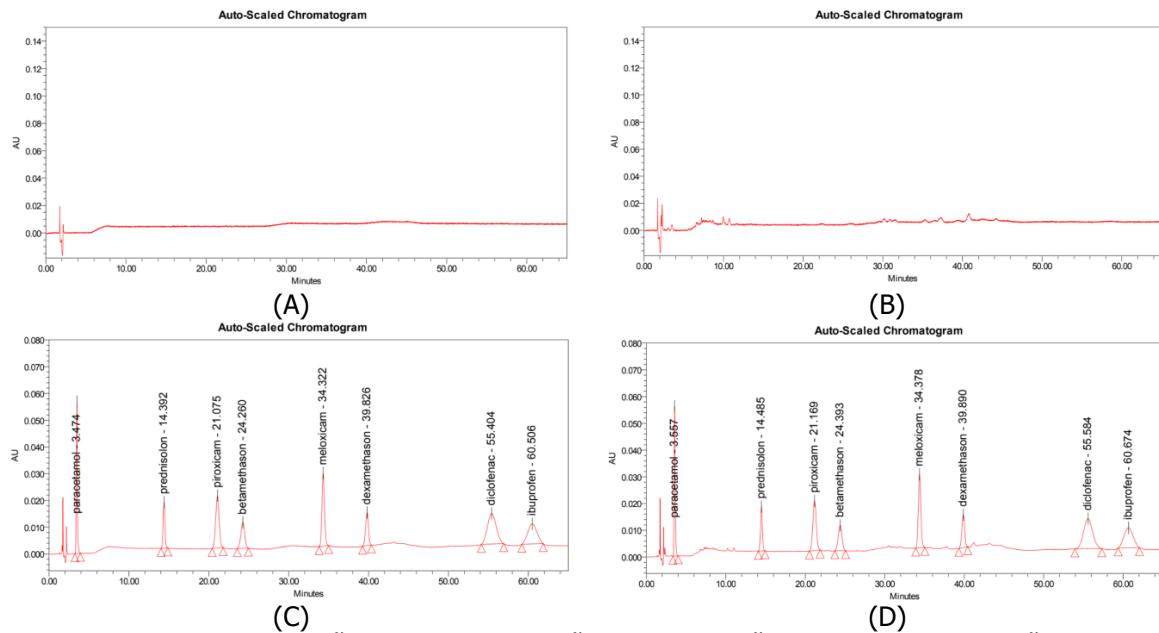
Thẩm định quy trình**Tính tương thích hệ thống****Bảng 3. Kết quả khảo sát tính tương thích hệ thống (n=6)**

Hoạt chất	t_R (phút)		S (μV × giây)		R_s	A_s	N
	TB	RSD%	TB	RSD%			
PA	3,58	1,80	1097185,33	1,54		1,11	3518
PR	14,52	0,36	515712,17	1,72	32,93	0,95	17706
PX	21,21	0,95	1119122,83	0,96	10,97	0,92	10913
BM	24,43	0,73	596297,33	1,27	3,80	0,92	11865
MX	34,39	0,65	999735,17	1,67	13,43	1,00	54555
DM	39,88	0,41	579427,33	1,48	8,82	0,90	57112
DC	55,32	1,26	1522462,00	1,34	11,15	1,01	10713
IB	60,49	0,89	1137127,50	1,70	2,33	1,00	11324

Từ kết quả của Bảng 3 cho thấy độ phân giải giữa các pic đều lớn hơn 1,5; hệ số bất đồng của các pic trong khoảng 0,8-1,5; số dín lý thuyết của các pic đều > 2000; giá trị RSD của thời gian lưu và diện tích pic đều dưới 2%. Như vậy quy trình phân tích đạt tính tương thích hệ thống.

Tính đặc hiệu. Kết quả khảo sát tính đặc hiệu cho thấy: mẫu thử già lập xuất hiện các pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của

các pic trong mẫu hỗn hợp chuẩn. Mẫu trắng và mẫu dung môi không xuất hiện các pic có thời gian lưu tương ứng với các pic trong mẫu chuẩn. Phổ UV tại thời gian lưu của các pic trong mẫu thử già lập giống với phổ UV tại thời gian lưu của các pic trong mẫu hỗn hợp chuẩn. Do đó, quy trình phân tích đạt tính đặc hiệu. Hình 2 minh họa sắc ký đồ khảo sát tính đặc hiệu.



Hình 2. Sắc ký đồ (A) mẫu dung môi, (B) mẫu trắng, (C) hỗn hợp chuẩn và (D) hỗn hợp chuẩn trên nền mẫu

Tính tuyển tính, giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ). Kết quả khảo sát tính tuyển tính, LOD và LOQ thực tế được trình bày trong Bảng 4 cho thấy các chất phân tích đều có đáp ứng tương quan tuyển tính với nồng độ với hệ số tương quan >0,998.

Bảng 4. Kết quả khảo sát tính tuyến tính, LOD và LOQ

Hoạt chất	Khoảng tuyến tính (ppm)	Phương trình hồi quy	R ²	LOD (ppm)	LOQ (ppm)
PA	5,0 – 125,0	$\hat{Y} = 10620,1x + 32234,0$	0,9995	1,3	2,5
PR	12,5 – 125,0	$\hat{Y} = 9031,1x$	0,9986	2,5	10,0
PX	12,5 – 125,0	$\hat{Y} = 19421,1x$	0,9999	2,5	10,0
BM	15,0 – 125,0	$\hat{Y} = 9779,9x$	0,9992	5,0	15,0
MX	12,5 – 125,0	$\hat{Y} = 15941,9x$	0,9992	2,5	10,0
DM	15,0 – 125,0	$\hat{Y} = 9506,1x$	0,9987	5,0	15,0
DC	15,0 – 125,0	$\hat{Y} = 23779,6x$	0,9997	5,0	15,0
IB	12,5 – 125,0	$\hat{Y} = 19812,0x$	0,9984	5,00	15,0

Độ đúng và độ chính xác**Bảng 5. Kết quả độ đúng, độ chính xác và độ chính xác trung gian**

Hoạt chất	Mức LOQ (n = 6, 12)				Mức 200% LOQ (n = 6)		Mức 500% LOQ (n=6)	
	Tỷ lệ thu hồi trung bình (%) (n = 6)	RSD% (n = 6)	Tỷ lệ thu hồi trung bình (%) (n = 12)	RSD% (n = 12)	Tỷ lệ thu hồi trung bình (%) (n = 6)	RSD% (n = 6)	Tỷ lệ thu hồi trung bình (%) (n = 6)	RSD% (n = 6)
PA	103,10	1,81	108,65	4,40	107,74	5,55	108,26	4,24
PR	97,80	1,98	99,07	2,85	100,48	2,71	105,41	2,43
PX	95,94	2,46	102,98	2,71	101,95	2,79	100,47	2,12
BM	97,25	1,73	100,77	3,74	103,33	2,45	107,78	5,45
MX	101,96	2,50	108,56	3,57	106,00	2,55	102,79	2,24
DM	102,04	2,84	108,51	3,42	106,07	2,96	108,10	5,04
DC	89,39	3,13	102,70	2,89	102,81	3,76	106,43	5,93
IB	97,43	4,19	96,60	3,45	96,98	4,36	106,93	5,71

Kết quả được trình bày trong Bảng 5 cho thấy quy trình đạt độ chính xác với RSD% (n = 6) của mẫu giả lập các nồng độ LOQ, 200% LOQ và 500% LOQ của tất cả các hoạt chất đều nhỏ hơn 6%. Quy trình đạt độ đúng đối với tỷ lệ thu hồi mỗi mẫu nằm trong khoảng 80,00 – 115,00%. Quy trình đạt độ chính xác trung gian với RSD% (n=12) của mẫu giả lập ở nồng độ LOQ của tất cả các hoạt chất đều nhỏ hơn 6%.

Độ thô. Khi khảo sát pH $\pm 0,5$ nhận thấy thời gian lưu và diện tích pic thay đổi không đáng kể, độ phân giải giữa các pic luôn lớn hơn 1,5 và hệ số kéo đuôi nằm trong khoảng 0,8-1,5. Do đó quy trình ổn định trong khoảng pH = 3 đến pH = 4.

Ứng dụng phân tích mẫu thu thập từ thi trường. Tiến hành phân tích bằng quy trình vừa xây dựng năm mẫu thuốc được thu thập từ hiệu thuốc đồng ý, web online được mã hóa từ UD1 đến UD5. Kết quả thu được có 3/5 mẫu có chứa tân dược: mẫu UD1 chứa 21,1 mg PX, 0,8 mg BM và 3,2 mg DC; mẫu UD2 chứa 256,4 mg PA; mẫu UD3 chứa 101,3 mg DC (tính trên 1 đơn vị liều uống).

IV. BÀN LUẬN

Các chất khảo sát trong đề tài bao gồm paracetamol, prednisolon, piroxicam, betamethason, meloxicam, dexamethason acetat, diclofenac, ibuprofen là những chất có tác dụng giảm đau, kháng viêm phổ biến, dễ thu mua và giá thành thấp. Ngoài ra, chưa có nghiên cứu nào tại Việt Nam phát hiện sự có mặt của meloxicam, tạo điều kiện cho việc ngụy tạo các hoạt chất này vào chế phẩm đồng dược mà không bị phát hiện.

Các chế phẩm đồng dược ngày nay thường được bào chế theo phương pháp hiện đại, sử dụng các tá dược hiện đại. Giải pháp sử dụng chính một số chế phẩm đang lưu hành trên thị trường có nguồn gốc xuất xứ rõ ràng, có thành phần công khai, có số đăng ký để làm nền mẫu giả lập sẽ khả thi và mang tính đại diện hơn phương pháp sử dụng các dược liệu chuẩn phôi trộn theo tỷ lệ đồng đều.

Phương pháp phân tích sử dụng sắc ký lỏng pha đảo nên các chất phân cực được rửa giải sớm hơn các chất kém phân cực. Kết quả khi tiến hành thử độ đặc hiệu với các mẫu chuẩn

riêng biệt và mẫu hỗn hợp chuẩn cho thấy thứ tự rửa giải phù hợp với giá trị LogP tương ứng. Việc thêm acid phosphoric vào pha động giúp hoạt chất tồn tại ở một dạng (ion hóa hoặc không ion hóa), giảm thiểu các hiện tượng giãn pic do khuếch tán dọc, khuếch tán xoáy và sự chuyển khói, do đó các thông số sắc ký của pic các hoạt chất đều đạt yêu cầu phân tích, kết quả khảo sát cho thấy pH 3,5 là pH phù hợp nhất. Ở điều kiện khảo sát, tất cả các hoạt chất đều hấp thu cực đại ở bước sóng lớn hơn 240 nm, ngoại trừ ibuprofen có cực đại hấp thu ở 220 nm. Do đó để định lượng các hoạt chất NSAIDs và Corticoid đồng thời, bước sóng phát hiện được lựa chọn là 220 nm.

Quy trình chiết đã được khảo sát điều kiện phù hợp nhất sao cho tín hiệu thu được trên sắc ký đồ là lớn nhất, các tạp đi kèm là giảm thiểu nhất. Tuy nhiên hoạt chất có thể bị hấp phụ bởi bột thuốc hoặc bị giữ lại trên giấy lọc nên hiệu suất thu hồi từ 75,82 – 89,64% và để tránh sai số cần tiến hành phân tích 3 lần. Sử dụng SPE nhắm loại tạp kem phân cực giúp bảo vệ được cột sắc ký đồng thời giúp sắc ký đồ thu được khi phân tích dễ đạt yêu cầu về sắc ký hơn.

Kết quả phân tích 5 mẫu thuốc được thu mua tại thị trường nhận thấy: có 3/5 mẫu chứa các hoạt chất tân dược (paracetamol, betamethason, piroxicam và diclofenac), hàm lượng các hoạt chất này đều cao hơn liều điều trị và với độ pha loãng phù hợp đều cho tín hiệu nằm trong miền xác định (từ mức nồng độ LOQ đến 500% LOQ). Do vậy mặc dù đầu dò PDA được xem kém nhẹm hơn so với đầu do MS, nhưng nó vẫn đáp ứng yêu cầu phát hiện ngụy tạo tân dược trong thuốc từ dược liệu. Bên cạnh đó, hệ thống HPLC-PDA được trang bị khá phổ biến trong hệ thống kiểm nghiệm tại Việt Nam nên ứng dụng của đề tài là khả thi và có tính thực tiễn cao. Ngoài ra sắc ký đồ của các mẫu phân tích còn cho các tín hiệu khác có cường độ cao, dự đoán đó có thể là hoạt chất tân dược khác được ngụy tạo vào chế phẩm, vì thông thường hàm lượng các hoạt chất tự nhiên có sẵn trong dược liệu khá nhỏ, chưa kể tỷ lệ của dược liệu trong công thức bào chế thấp

và khá đồng đều, nên một tín hiệu cao bất thường trên sắc ký đồ là một dấu hiệu nghi ngờ. Do đó quy trình nên tăng cường số lượng hoạt chất tân dược trong các nhóm NSAIDs và corticoid hoặc tiếp tục xây dựng thêm một số quy trình khác giúp đánh giá tốt tình hình trộn trái phép trái phép trong thuốc đồng dược.

V. KẾT LUẬN

Quy trình định lượng đồng thời 8 hoạt chất paracetamol, prednisolon, piroxicam, betamethason, meloxicam, dexamethason acetat, diclofenac natri, ibuprofen bằng phương pháp HPLC-PDA đã được xây dựng và thẩm định đạt theo yêu cầu của AOAC 2016. Quy trình cũng đã được ứng dụng vào 5 mẫu chế phẩm dược liệu điều trị giảm đau kháng viêm trên thị trường để phát hiện các tân dược ngụy tạo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bùi Thị Luyến, Nguyễn Thị Quỳnh, Bùi Thị Thanh Châm (2018).** Nghiên cứu xác định thuốc Diclofenac natri lẫn trong chế phẩm đồng dược được sử dụng điều trị hoặc hỗ trợ điều trị các bệnh về xương khớp bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao. Tạp chí khoa học và công nghệ Đại học Thái Nguyên. 187(11):31-37
- Nguyễn Thị Quỳnh, Hồ Thị Hồng Thắm, Bùi Thị Luyến (2018).** Xây dựng phương pháp định tính, định lượng Dexamethason acetat trong một số chế phẩm đồng dược có tác dụng hỗ trợ hoặc điều trị viêm khớp bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao. Tạp chí khoa học và công nghệ Đại Học Thái Nguyên. 188:75-81.
- Trần Thị Diệu Oanh, Ngô Văn Tuyên, Tô Minh Hùng (2018).** Xây dựng và thẩm định phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao phân tích đồng thời 6 corticoid trộn trong chế phẩm từ dược liệu. Tạp chí Y học Quân sự. <http://yhqs.vn/yhqs/162/danh-gia-ketqua-dieu-tri-ung-thu-dai-trang-bang-hoa-tri-lieu-sau-phau-thuat-tai-benh-vien-quan-y-103.htm>, ngày truy cập 16/12/2020
- Nguyễn Đức Thành, Bùi Đình Sơn (2014).** Xác định một số corticosteroid trong thực phẩm chức năng bằng phương pháp HPLC.
- AOAC (2016).** Appendix K: Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals. 1-32