

# NGHIÊN CỨU ĐỊNH LƯỢNG DEFLAZACORT TRONG VIÊN NÉN MIACORT 6 MG BẰNG PHƯƠNG PHÁP HPLC

MÃ VÂN KIỀU, VŨ THỊ THƯ CHUNG, TRẦN THỊ BÍCH VÂN  
Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương

*Từ khóa:* Định lượng, Deflazacort, loạn dưỡng cơ, sắc ký lỏng pha đảo, HPLC

## 1. Đặt vấn đề

Deflazacort là một glucocorticoid được sử dụng như một chất chống viêm và ức chế miễn dịch. Nó đã được FDA phê duyệt vào tháng 02 năm 2017 để sử dụng trong điều trị chứng loạn dưỡng cơ Duchenne (deflazacort với tên thương mại Emflaza) [4]. Dược điển Việt Nam (ĐDVN V) cũng như các Dược điển trên thế giới như Dược điển Mỹ (USP 42), Dược điển Anh (BP 2019), Dược điển Châu Âu (EP 9.0) chưa có chuyên luận về nguyên liệu deflazacort cũng như phương pháp định lượng những chế phẩm chứa hoạt chất này [1],[5],[6],[7]. Hiện nay trên thị trường đã xuất hiện nhiều chế phẩm chứa deflazacort. Để đánh giá được chất lượng của các chế phẩm đó, cần một phương pháp định lượng đủ độ tin cậy để kiểm tra các chế phẩm. Vì vậy, để đáp ứng nhu cầu kiểm nghiệm các chế phẩm có chứa deflazacort, chúng tôi xin giới thiệu kết quả nghiên cứu định lượng deflazacort trong viên nén bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

## 2. Thực nghiệm

### 2.1. Thiết bị, hóa chất, chất chuẩn

#### 2.1.1. Thiết bị, dụng cụ

Đã được hiệu chuẩn theo quy định của ISO/IEC 17025 và GLP.

- Máy HPLC Agilent 1200 với detector DAD;
- Cân phân tích Mettler Toledo AB 204 có độ chính xác 0,1 mg;
- Cân phân tích Mettler MS 105 có độ chính xác 0,01 mg;
- Các dụng cụ thủy tinh chính xác: bình định mức, pipet.

#### 2.1.2. Chất chuẩn

- Deflazacort: Chuẩn USP; Hàm lượng: 100% (nguyên trạng); Lot: F1L473;
- Betamethason valerat: Chuẩn của Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương (Viện KNTTW); Hàm lượng: 98,69% (nguyên trạng); Độ ẩm: 0,14%; SKS: 0103125.

#### 2.1.3. Hóa chất, thuốc thử

Đạt tinh khiết phân tích, tinh khiết sắc ký.

- Acetonitril (HPLC, Merck);

- Nước RO (Viện KNTTW).

## 2.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Viên nén Miacort 6 mg (Deflazacort 6 mg).
- Mẫu placebo: Mẫu giả dược theo công thức bào chế của viên nén Miacort nhưng không có hoạt chất deflazacort.

### 2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.2.1. Điều kiện sắc ký

- Cột: C18 (5  $\mu$ m, 250 x 4,6 mm)
- Detector UV: 245 nm
- Pha động: Acetonitril - Nước (45 : 55)
- Thể tích tiêm: 10  $\mu$ l
- Tốc độ dòng: 1,5 ml/phút

#### 2.2.2.2. Phương pháp chuẩn bị mẫu

- *Dung dịch chuẩn nội:* Cân chính xác khoảng 100 mg chất chuẩn betamethason valerat vào bình định mức 25 ml. Hòa tan và pha loãng vừa đủ thể tích bằng pha động, lắc đều.

- *Dung dịch placebo:* Cân khoảng 0,25 g mẫu placebo cho vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 30 ml pha động, lắc siêu âm 15 phút, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45  $\mu$ m và tiêm vào hệ thống sắc ký.

- *Dung dịch chuẩn:* Cân chính xác khoảng 15 mg deflazacort chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động, lắc siêu âm cho tan, thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội và thêm pha động vừa đủ thể tích, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45  $\mu$ m và tiêm vào hệ thống sắc ký.

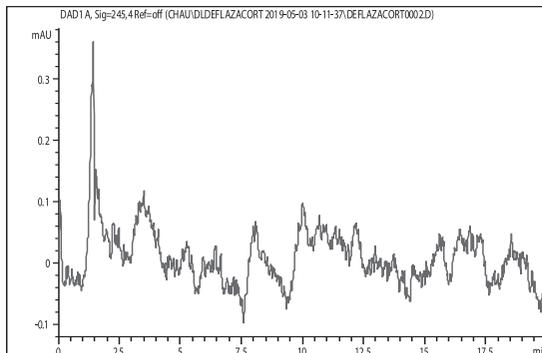
- *Dung dịch thử:* Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn, cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 15 mg deflazacort cho vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 30 ml pha động, lắc siêu âm 15 phút, thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội và thêm pha động vừa đủ thể tích, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45  $\mu$ m và tiêm vào hệ thống sắc ký.

### 3. Kết quả và bàn luận

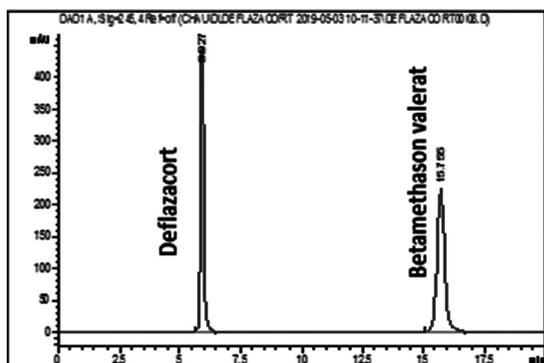
#### 3.1. Chọn điều kiện sắc ký

Chúng tôi đã khảo sát (thay đổi cột, tốc độ dòng, pha động, tỷ lệ pha động) và lựa chọn được điều kiện sắc ký như đã nêu ở phần 2.2.2.1, sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn và thử thể hiện ở Hình 2 và Hình 3.

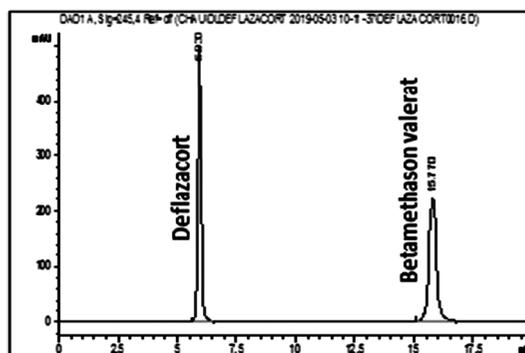
Trên sắc ký đồ (SKĐ) chúng ta thấy, pic deflazacort được tách hoàn toàn và cân đối, thời gian lưu khoảng 5,9 phút và pic betamethason valerat có thời gian lưu khoảng 15,8 phút.



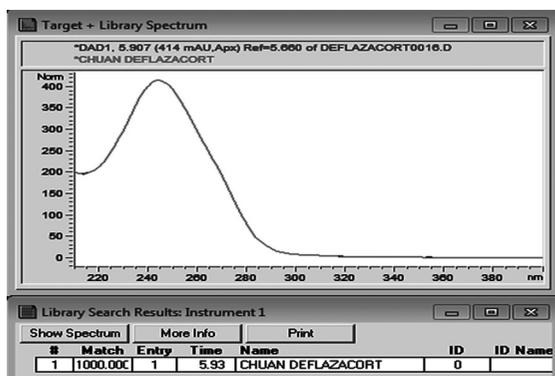
Hình 1. Sắc ký đồ dung dịch placebo



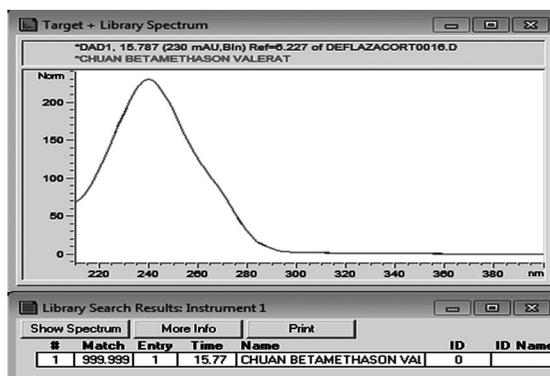
Hình 2. Sắc ký đồ dung dịch chuẩn



Hình 3. Sắc ký đồ dung dịch thử



Hình 4. Chồng phổ UV-VIS của pic deflazacort trên SKĐ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn



Hình 5. Chồng phổ UV-VIS của pic betamethason valerat trên SKĐ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn

### 3.2. Thẩm định phương pháp

#### 3.2.1. Tính đặc hiệu

Lần lượt tiêm vào hệ thống sắc ký các dung dịch placebo, dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

- Trên sắc ký đồ của dung dịch placebo (Hình 1) không xuất hiện các pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic deflazacort và pic betamethason valerat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

- Trên sắc ký đồ của dung dịch thử cho các pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic deflazacort và betamethason valerat trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn (khoảng 5,9 phút đối với deflazacort và 15,8 phút đối với betamethason valerat).

- Phổ UV của các pic chính trên sắc ký đồ thu được

từ dung dịch thử giống với phổ UV của pic deflazacort và betamethason valerat trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn. Kết quả thu được khi tiến hành chồng phổ UV – VIS với detector DAD của phổ chất đối chiếu và phổ mẫu thử với cùng thời gian lưu cho hệ số match của deflazacort là 100,0 và betamethason valerat là 998,3 (Hình 4, 5).

Kết quả cho thấy phương pháp đạt yêu cầu về tính đặc hiệu.

#### 3.2.2. Độ thích hợp của hệ thống sắc ký

Tiêm lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn deflazacort có nồng độ là 0,3066 mg/ml. Ghi lại các giá trị về thời gian lưu và diện tích của các pic tương ứng. Kết quả được thể hiện ở Bảng 1.

**Bảng 1. Kết quả khảo sát độ thích hợp của hệ thống sắc ký**

Stt	Thời gian lưu của deflazacort (phút)	Diện tích pic deflazacort	Thời gian lưu của beta. valerat (phút)	Diện tích pic beta. valerat	Tỷ lệ diện tích pic defla. / beta. valerat	Độ phân giải (R)	Số đĩa lý thuyết (N)	
							Defla.	Beta. valerat
1	5,927	3942,4	15,755	4840,4	0,81448	25,96	11800	13733
2	5,922	3942,0	15,740	4831,9	0,81583	25,85	11784	13589
3	5,928	3943,9	15,718	4840,3	0,81480	25,96	11958	13743
4	5,926	3939,9	15,703	4838,1	0,81435	26,08	11979	13939
5	5,928	3941,2	15,715	4836,5	0,81489	26,08	11996	13904
6	5,932	3950,1	15,751	4837,2	0,81661	26,04	11987	13814
<b>Trung bình</b>	<b>5,927</b>	<b>3943,3</b>	<b>15,7</b>	<b>4837,4</b>	<b>0,81516</b>			
<b>RSD (%)</b>	<b>0,05</b>	<b>0,09</b>	<b>0,14</b>	<b>0,06</b>	<b>0,11</b>			

Kết quả khảo sát cho thấy, RSD của thời gian lưu nhỏ hơn 1% và diện tích pic nhỏ hơn 2%, số đĩa lý thuyết  $N > 11.000$  chứng tỏ hệ thống sắc ký trên thích hợp để định lượng deflazacort trong viên nén Miacort 6 mg.

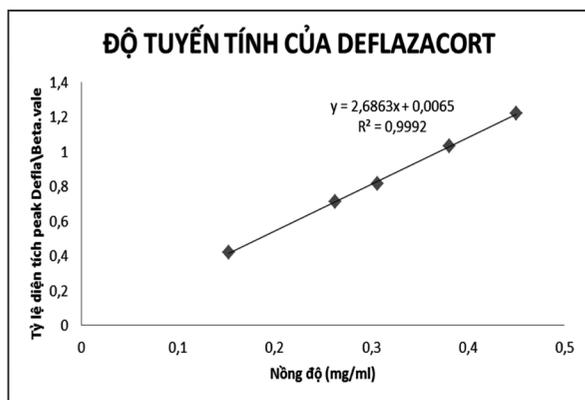
#### 3.2.3. Tính tuyến tính

Khảo sát trên dãy các dung dịch chuẩn với 5 nồng độ deflazacort khác nhau từ 0,15 - 0,45 mg/ml. Kết quả được ghi lại trong Bảng 2.

**Bảng 2. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính**

Stt	% so với định lượng	Lượng cân chuẩn deflazacort (mg)	Thể tích dung dịch chuẩn nội betamethason valerat (ml)	Bình định mức (ml)	Nồng độ deflazacort (mg/ml)	Tỷ lệ diện tích pic defla. / beta. valerat
1	50	7,62	5	50	0,1524	0,42068
2	80	13,12	5	50	0,2624	0,71388
3	100	15,33	5	50	0,3066	0,81516
4	120	19,05	5	50	0,3810	1,03335
5	150	22,51	5	50	0,4502	1,22003

**Phương trình hồi quy:  $y = 2,6863x + 0,0065$  ; Hệ số tương quan:  $r = 0,9996$**



**Hình 6.** Đồ thị biểu diễn mối tương quan giữa nồng độ deflazacort và tỷ lệ diện tích pic defla./beta. valerat

Kết quả cho thấy với điều kiện sắc ký đã lựa chọn, trong khoảng nồng độ deflazacort từ 0,15 mg/ml đến 0,45 mg/ml có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ deflazacort và tỉ lệ diện tích pic deflazacort và betamethason valerat tương ứng với hệ số tương quan  $r = 0,9996$ .

### 3.2.4. Độ chính xác

- Độ lặp lại: Độ lặp lại của phương pháp được đánh giá dựa trên độ lệch chuẩn tương đối của 6 mẫu thử được phân tích riêng biệt theo qui trình phân tích ở mục 2.2.2.

- Độ chính xác trung gian: Độ chính xác trung gian được đánh giá dựa trên độ lệch chuẩn tương đối của 12 mẫu thử được phân tích riêng biệt bởi 2 kiểm nghiệm viên, trên hai thiết bị ở 2 ngày khác nhau. Kết quả khảo sát độ lặp lại và độ chính xác trung gian được thể hiện ở Bảng 3.

**Bảng 3.** Kết quả khảo sát độ chính xác của phương pháp

STT	KNV1			KNV2		
	Lượng cân mẫu thử (g)	Tỷ lệ diện tích pic defla./beta. valerat	Hàm lượng (%)	Lượng cân mẫu thử (g)	Tỷ lệ diện tích pic defla./beta. valerat	Hàm lượng (%)
	Lượng cân chuẩn: 15,33 mg Khối lượng trung bình: 0,1060 g Tỷ lệ diện tích pic defla./beta. valerat trung bình mẫu chuẩn: 0,81516			Lượng cân chuẩn: 15,02 mg Khối lượng trung bình: 0,1071 g Tỷ lệ diện tích pic defla./beta. valerat trung bình mẫu chuẩn: 0,82958		
1	0,2814	0,90787	107,2	0,2845	0,94027	106,8
2	0,2845	0,91189	106,5	0,2825	0,92883	106,3
3	0,2801	0,91343	108,3	0,2853	0,94091	106,6
4	0,2825	0,91866	108,0	0,2801	0,93214	107,6
5	0,2814	0,91197	107,7	0,2866	0,93859	105,8
6	0,2816	0,91428	107,9	0,2781	0,94190	109,5
<b>Hàm lượng trung bình = 107,6%; n = 6; RSD = 0,62%</b>			<b>Hàm lượng trung bình = 107,1%; n = 6; RSD = 1,21%</b>			
<b>Kết quả hàm lượng trung bình = 107,3%; n = 12; RSD = 0,95%</b>						

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy phương pháp đạt yêu cầu về độ chính xác, độ lặp lại trong ngày là 0,62% và 1,21%; khác ngày là 0,95%.

### 3.2.5. Độ đúng

Độ đúng của phương pháp được tiến hành theo phương pháp thêm chuẩn vào mẫu placebo.

Cân chính xác khoảng 12 mg, 15 mg, 18 mg deflazacort chuẩn vào bình định mức 50 ml đã chứa sẵn một lượng placebo khoảng 0,25 g, thêm khoảng 30 ml pha động, lắc siêu 15 phút, thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn

nội và thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45  $\mu$ m, thu được các dung dịch có nồng độ deflazacort khoảng 80, 100 và 120% so với nồng độ định lượng. Mỗi mức nồng độ làm 03 mẫu.

Dựa vào tỷ lệ diện tích pic defla./beta. valerat của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và lượng cân chuẩn tính ra lượng chất chuẩn tìm thấy.

Tỷ lệ diện tích pic defla./beta. valerat trung bình của dung dịch chuẩn: 0,81516

Kết quả khảo sát độ đúng được thể hiện ở Bảng 4.

**Bảng 4. Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp**

Mẫu	Lượng cân mẫu placebo (g)	Lượng chuẩn deflazacort thêm vào (mg)	Diện tích pic deflazacort	Diện tích pic beta. valerat	Tỷ lệ diện tích pic deflazacort / beta. valerat	Lượng deflazacort tìm lại (mg)	% thu hồi	% thu hồi trung bình
80%	0,2558	12,01	3163,3	4905,3	0,64487	12,13	101,0	<b>TB = 100,5% RSD = 1,39%</b>
80%	0,2525	12,23	3182,3	4943,6	0,64372	12,11	99,0	
80%	0,2521	12,44	3274,8	4869,5	0,67251	12,65	101,7	
100%	0,2536	14,78	3805,0	4892,0	0,77780	14,63	99,0	<b>TB = 99,4% RSD = 0,66%</b>
100%	0,2537	15,13	3872,2	4861,0	0,79659	14,98	99,0	
100%	0,2522	15,32	3999,1	4902,6	0,81571	15,34	100,1	
120%	0,2534	17,74	4703,6	4925,2	0,95501	17,96	101,2	<b>TB = 101,2% RSD = 0,29%</b>
120%	0,2519	18,22	4717,7	4827,8	0,97719	18,38	100,9	
120%	0,2532	18,32	4909,4	4967,9	0,98822	18,58	101,4	
<b>% thu hồi trung bình = 100,4%; n = 9; RSD = 1,11%</b>								

Kết quả cho thấy phương pháp phân tích đạt yêu cầu về độ đúng, tỷ lệ thu hồi của deflazacort từ 99,0% đến 101,7% và RSD < 2%.

#### 3.2.6. Khoảng xác định của phương pháp

Khoảng xác định (suy ra từ kết quả đánh giá độ đúng và độ tuyến tính của phương pháp) từ 0,26 mg/ml đến 0,38 mg/ml (tương ứng 80% đến 120% nồng độ định lượng).

#### 4. Kết luận

Phương pháp HPLC định lượng deflazacort trong viên nén Miacort 6 mg đã được xây dựng và thẩm định. Kết quả cho thấy phương pháp đặc hiệu, có khoảng tuyến tính từ 0,15 mg/ml đến 0,45 mg/ml với hệ số tuyến tính ( $r = 0,9996$ ), có độ chính xác cao (RSD = 0,95%) và độ đúng tốt (99,0% - 101,7%). Như vậy phương pháp HPLC đã xây dựng hoàn toàn phù hợp cho việc định lượng deflazacort trong viên nén Miacort 6 mg và có thể áp dụng định lượng hoạt chất này trong các chế phẩm thuốc có thành phần tương tự.

#### Tài liệu tham khảo

- Bộ Y tế (2017), Dược điển Việt Nam, Lần xuất bản thứ năm, NXB Y học, Hà Nội.
- Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương (2010), Đảm bảo chất lượng thuốc và một số phương pháp kiểm nghiệm thuốc.
- Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương (2016), Thủ tục Thẩm định và đánh giá phương pháp phân tích trong dược điển và tiêu chuẩn cơ sở.
- “FDA approves drug to treat Duchenne muscular dystrophy”.
- The Bristish pharmacopoeia (2019).
- The United states Pharmacopoeia 42 (2019).
- The International Pharmacopoeia.

#### SUMMARY

Reversed-phase liquid chromatography method was developed for assay of Deflazacort in Miacort 6 mg tablets. The methods was carried by using a column Rp18 (250 x 4.6 mm; 5  $\mu$ m); the flow rate of mobile phase is maintained at 1.5 ml per minute, injection volume: 10  $\mu$ l. A mixture of Acetonitrile and water (45:55) as mobile phase. Detector set up at 245 nm. The method was validated in specificity, linear range; accuracy, precision. Validation results proved that the developed method was suitable for assay of Deflazacort in Miacort 6 mg tablets.

(Ngày nhận bài: 12/08/2019 ; Ngày phản biện: 17/09/2019 ; Ngày duyệt đăng: 27/09/2019)

# ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI COLECALCIFEROL VÀ BENZYL ALCOL TRONG DUNG DỊCH UỐNG VITAMIN D<sub>3</sub> BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

NGUYỄN THỊ HẰNG, TRẦN THÚY HẠNH  
Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương

*Từ khóa:* HPLC, colexcalciferol, vitamin D<sub>3</sub>, benzyl alcol, dung dịch uống

## 1. Đặt vấn đề

Hiện nay, trên thị trường có rất nhiều dung dịch thuốc uống bổ sung vitamin D<sub>3</sub> sử dụng cho trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ để phòng ngừa chứng còi xương và các chứng bệnh khác do thiếu vitamin D. Ưu điểm của dạng dung dịch uống là thuốc được hấp thu và tác dụng nhanh hơn các dạng thuốc rắn và không gây kích ứng khi tiếp xúc với niêm mạc. Hơn nữa, dược chất được hòa tan trong dung môi nên có thể bào chế ở dạng thuốc giọt, rất tiện dùng cho người già và trẻ nhỏ. Tuy nhiên, bên cạnh các ưu điểm đã nêu thì thuốc dạng dung dịch uống thường có độ ổn định kém hơn các dạng thuốc rắn. Do đó, trong công thức bào chế của các dung dịch thuốc uống thường có thêm chất bảo quản kháng khuẩn, kháng nấm, chất chống oxy hóa và một số loại tá dược khác để tăng bền vững cho chế phẩm trong quá trình lưu thông, phân phối cũng như trong quá trình sử dụng của bệnh nhân.

Sản phẩm DK VitD là chế phẩm dung dịch thuốc uống vitamin D<sub>3</sub> do Công ty Cổ phần Dược khoa nghiên cứu và phát triển, trong công thức bào chế có chứa benzyl alcol. Đây là một trong các loại tá dược đóng vai trò chất bảo quản kháng khuẩn, kháng nấm có thể được sử dụng trong các chế phẩm thuốc uống [5].

Hiện nay, ĐDVN V và BP 2018 đều chưa có chuyên luận dung dịch thuốc uống chứa vitamin D<sub>3</sub>. USP 41 có chuyên luận dung dịch uống chứa vitamin D<sub>3</sub> nhưng trong chuyên luận này chỉ có quy trình định lượng cho vitamin D<sub>3</sub>, trong khi đó phương pháp định lượng benzyl alcol theo chuyên luận “<341> Xác định hàm lượng chất bảo quản kháng khuẩn” là sắc ký khí.

Với mong muốn đưa ra một phương pháp định lượng đồng thời colexcalciferol và benzyl alcol, đảm bảo độ chính xác, tin cậy, tiến hành đơn giản và nhanh chóng, chúng tôi giới thiệu quy trình định lượng đồng thời colexcalciferol và benzyl alcol trong dung dịch thuốc uống DK VitD bằng phương pháp HPLC pha đảo (sử dụng cột RP 18). Quy trình này đã được chúng tôi thẩm định và đạt yêu cầu theo đúng hướng dẫn của ICH đối với phép thử định lượng.

## 2. Thực nghiệm

### 2.1. Thiết bị, dụng cụ, dung môi, hóa chất, chất chuẩn

#### 2.1.1. Thiết bị, dụng cụ

Đã được hiệu chuẩn theo quy định của ISO/IEC 17025.

Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Shimadzu LC- 20A với detector DAD;

Cột phân tích sắc ký Phenomenex Gemini C18 (250 x 4,6 mm; 5 μm);

Cân phân tích Mettler Toledo MS 105, độ chính xác 0,01 mg;

- Bộ lọc dùng cho sắc ký với màng lọc 0,45 μm;
- Các dụng cụ thủy tinh chính xác loại A.

#### 2.1.2. Hóa chất, dung môi, chất chuẩn

- Chất chuẩn colexcalciferol (vitamin D<sub>3</sub>) của Viện Kiểm nghiệm Thuốc TP. HCM (SKS: QT047 120718);
- Nguyên liệu đối chiếu benzyl alcol của Công ty Cổ phần Dược khoa (Hàm lượng: 100%);
- Methanol HPLC (Merck), Số lô: I0917307743, Hạn dùng: 31/10/2020;
- Nước RO (Viện KNTTW).

### 2.2. Đối tượng, nội dung và phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Mẫu thử: Dung dịch uống DK VitD, do Công ty Cổ phần Dược khoa nghiên cứu phát triển sản phẩm, chứa vitamin D<sub>3</sub> 5800 IU/ml và benzyl alcol 5 mg/ml.

- Mẫu placebo MT-0: Dung dịch có thành phần giống công thức bào chế nhưng không có colexcalciferol và benzyl alcol.

- Mẫu placebo MT-1: Dung dịch có thành phần giống công thức bào chế nhưng không có colexcalciferol.

- Mẫu placebo MT-2: Dung dịch có thành phần giống công thức bào chế nhưng không có benzyl alcol.

#### 2.2.2. Nội dung

- Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng đồng thời colexcalciferol và benzyl alcol trong dung dịch thuốc uống vitamin D<sub>3</sub>.

- Ứng dụng để định lượng đồng thời colecalciferol và benzyl alcol trong dung dịch thuốc uống DKVitD của Công ty Cổ phần Dược khoa.

### 2.2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Dựa trên các tài liệu tham khảo [1],[2],[3], tiến hành khảo sát các điều kiện sắc ký để lựa chọn điều kiện sắc ký tối ưu.

- Sử dụng phần mềm Microsoft Excel để xử lý kết quả thăm định.

## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Xây dựng quy trình định lượng đồng thời colecalciferol và benzyl alcol trong dung dịch thuốc uống vitamin D<sub>3</sub> bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao

Sau khi tiến hành khảo sát về thành phần, tỷ lệ pha động, cột sắc ký, bước sóng phát hiện, tốc độ dòng, nồng độ mẫu thử, thể tích tiêm, chúng tôi xây dựng được quy trình phân tích như sau:

#### 3.1.1. Điều kiện HPLC

- Pha động: Chương trình gradient theo thời gian như sau:

Thời gian (phút)	Pha động A: MeOH (% tt/tt)	Pha động B: Nước (% tt/tt)
0	60	40
6	60	40
7	95	5
25	95	5
26	60	40
30	60	40

- Thời gian chạy sắc ký: 30 phút.
- Cột sắc ký: Phenomenex Gemini C18 (250 x 4,6 mm; 5 µm);
- Detector: 265 nm; Tốc độ dòng: 1,5 ml/phút;
- Thể tích tiêm: 20 µl.

**Bảng 1. Kết quả khảo sát tính thích hợp của hệ thống sắc ký xác định trên pic benzyl alcol**

STT	Thời gian lưu của benzyl alcol (phút)	Diện tích pic benzyl alcol (mAU.s)	Hệ số kéo đuôi	Số đĩa lý thuyết (N)
1	3,117	112623	1,238	4082
2	3,113	112483	1,236	4095
3	3,116	112417	1,237	4079
4	3,115	112710	1,239	4085
5	3,117	112145	1,240	4091
6	3,118	112743	1,237	4088
<b>Trung bình</b>	3,116	112520,17		
<b>RSD</b>	<b>0,06% &lt; 1,0%</b>	<b>0,20% &lt; 2,0%</b>		<b>N &gt; 3000</b>

### 3.1.2. Phương pháp chuẩn bị mẫu

- *Dung dịch chuẩn*: Từ các chất chuẩn vitamin D<sub>3</sub> và benzyl alcol, cân chính xác, hòa tan và pha loãng trong methanol để thu được dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ vitamin D<sub>3</sub> khoảng 580 IU/ml và nồng độ benzyl alcol khoảng 0,5 mg/ml.

- *Dung dịch thử*: Hút chính xác 2,0 ml chế phẩm pha loãng thành 20 ml bằng methanol và lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.

- *Dung dịch mẫu placebo*: Hút chính xác 2,0 ml các mẫu placebo (MT-0; MT-1; MT-2) pha loãng riêng biệt các mẫu thành 20 ml bằng methanol và lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.

#### 3.1.3. Cách tiến hành

- Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ phân giải giữa pic benzyl alcol và colecalciferol không được nhỏ hơn 3,0. Số đĩa lý thuyết của pic benzyl alcol và colecalciferol không được nhỏ hơn 3000.

Tiêm lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic benzyl alcol và colecalciferol không lớn hơn 2,0% và độ lệch chuẩn tương đối của thời gian lưu pic benzyl alcol và colecalciferol không lớn hơn 1,0%.

- Tiêm dung dịch thử.

#### 3.1.4. Tính kết quả

- Tính hàm lượng benzyl alcol (C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O) và colecalciferol (C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O) trong chế phẩm dựa vào lượng chất chuẩn, hàm lượng chất chuẩn, diện tích pic của colecalciferol và benzyl alcol thu được từ dung dịch chuẩn và dung dịch thử, hệ số pha loãng của dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

## 3.2. Thăm định phương pháp [4]

### 3.2.1. Tính thích hợp của hệ thống sắc ký

Tính thích hợp của hệ thống sắc ký được xác định bằng cách tiến hành tiêm lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn theo quy trình phân tích. Ghi lại các giá trị về thời gian lưu, diện tích pic, hệ số kéo đuôi và độ phân giải. Kết quả được thể hiện ở Bảng 1 và Bảng 2.

**Bảng 2.** Kết quả khảo sát tính thích hợp của hệ thống sắc ký xác định trên pic colecalciferol

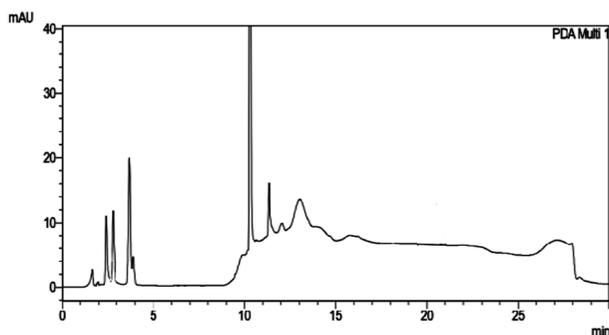
STT	Thời gian lưu của colecalciferol (phút)	Diện tích pic colecalciferol (mAU.s)	Hệ số kéo đuôi	Số đĩa lý thuyết (N)
1	19,806	293844	1,006	25456
2	19,802	294564	1,008	25178
3	19,791	291572	1,008	25348
4	19,797	295721	1,007	25584
5	19,796	292793	1,007	25293
6	19,811	294293	1,008	25610
<b>TB</b>	19,8005	293797,8333		
<b>RSD</b>	<b>0,04% &lt; 1,0%</b>	<b>0,49% &lt; 2,0%</b>		<b>N &gt; 3000</b>
Độ phân giải giữa 2 pic colecalciferol và benzyl alcol <b>Rs = 48,2 &gt; 3,0</b>				

Các số liệu thu được ở Bảng 1 và 2 cho thấy hệ thống sắc ký trên phù hợp cho việc phân tích định lượng đồng thời benzyl alcol và colecalciferol trong chế phẩm DKVitD.

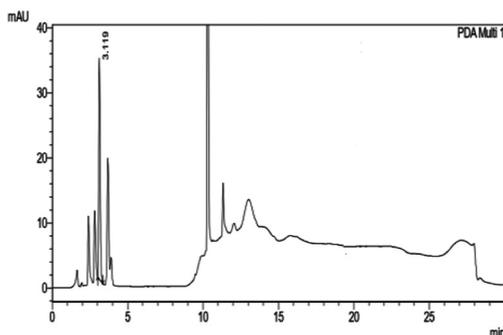
### 3.2.2. Tính đặc hiệu

Tiêm dung môi pha mẫu, dung dịch chuẩn, dung dịch thử và các dung dịch placebo vào hệ thống sắc ký. Kết quả cho thấy, trên sắc ký đồ của dung dịch thử cho 2 pic có thời gian lưu và phổ UV tương ứng với pic benzyl alcol và colecalciferol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (benzyl alcol ~ 3,1 phút và colecalciferol ~ 19,8 phút). Độ tinh khiết của pic benzyl alcol và pic colecalciferol trong sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và thử đều bằng 0,9999 (khoảng 100%). Sắc ký đồ mẫu placebo (MT-0; MT-1; MT-2) không xuất hiện pic tại thời gian lưu tương ứng với pic benzyl alcol và/hoặc colecalciferol.

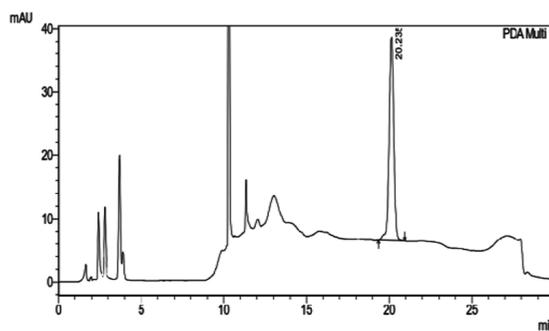
Như vậy, phương pháp có tính đặc hiệu phù hợp cho phép thử định lượng đồng thời benzyl alcol và colecalciferol bằng phương pháp HPLC.



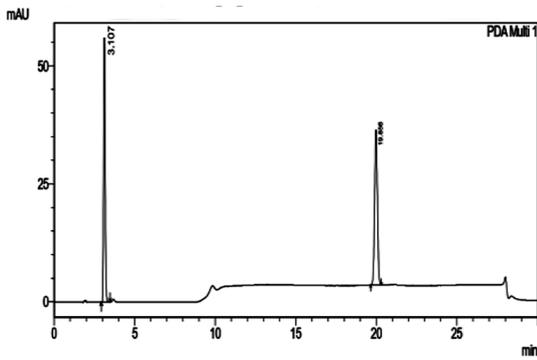
**Hình 1.** Sắc ký đồ của dung dịch placebo MT-0



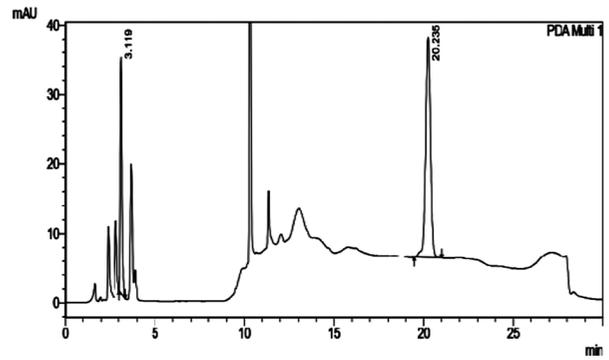
**Hình 2.** Sắc ký đồ của dung dịch placebo MT-1



**Hình 3.** Sắc ký đồ của dung dịch placebo MT-2



**Hình 4.** Sắc ký đồ của dung dịch chuẩn



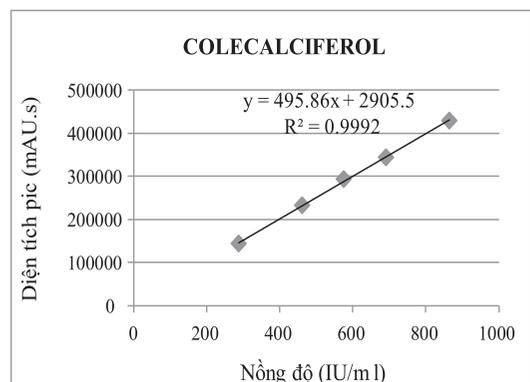
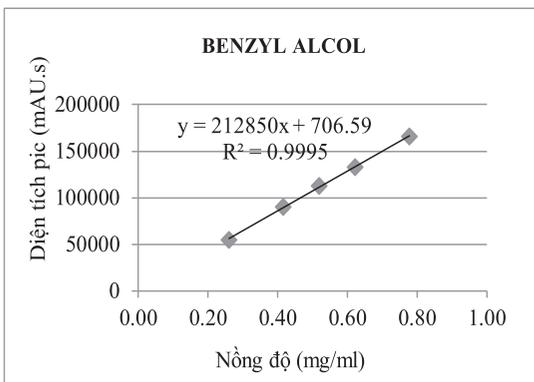
**Hình 5.** Sắc ký đồ của dung dịch thử

### 3.2.3. Độ tuyến tính

Khảo sát trên 05 dung dịch chuẩn với có nồng độ 50%, 80%, 100%, 120% và 150% so với nồng độ định lượng của benzyl alcohol (0,5 mg/ml) và colecalciferol (580 IU/ml) (được pha loãng từ *Dung dịch chuẩn gốc* với hệ số pha loãng khác nhau). Kết quả được ghi lại trong Bảng 3 và Hình 6.

**Bảng 3.** Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính

STT	Nồng độ % so với định lượng	Benzyl alcohol		Colecalciferol	
		Nồng độ (mg/ml)	DT pic (mAU.s)	Nồng độ (IU/ml)	DT pic (mAU.s)
1	50	0,2597	55013	288,09	143163
2	80	0,4155	89796	460,944	232069
3	100	0,5194	112623	576,18	293844
4	120	0,6233	132818	691,42	344282
5	150	0,7791	166045	864,27	429696
Phương trình hồi quy		$y = 212850x + 706,59$ $r = 0,9997 (> 0,998)$ $\% Y = 0,63\% (< 2,0\%)$		$y = 495,86x + 2905,5$ $r = 0,9996 (> 0,998)$ $\% Y = 0,99\% (< 2,0\%)$	



**Hình 6.** Đồ thị biểu diễn mối tương quan tuyến tính giữa nồng độ và diện tích pic

*Nhận xét:* Với điều kiện sắc ký đã lựa chọn, trong khoảng nồng độ đã khảo sát có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic đáp ứng, với hệ số tương quan  $r = 0,9997$  (benzyl alcohol) và  $r = 0,9996$  (colecalciferol).

### 3.2.4. Độ đúng

- Chuẩn bị các dung dịch khảo sát: Chuẩn bị các mẫu tự tạo bằng cách thêm chính xác một lượng benzyl alcohol

và colecalciferol chuẩn vào mẫu placebo tương ứng với mẫu tự tạo chứa 50, 100 và 150% các chất so với nồng độ định lượng. Mỗi mức nồng độ làm 03 mẫu.

- Tiến hành sắc ký các dung dịch khảo sát. Sử dụng dung dịch chuẩn ở phần 3.2.2. Tính thích hợp của hệ thống để tính tỉ lệ benzyl alcol và colecalciferol tìm thấy so với lượng thêm vào.

- Kết quả thể hiện ở Bảng 4 và Bảng 5.

**Bảng 4. Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp (đối với benzyl alcol)**

STT	% so với nồng độ định lượng	Lượng benzyl alcol thực tế thêm vào (mg)	Diện tích pic benzyl alcol (mAU.s)	Lượng benzyl alcol tìm lại (mg)	% Thu hồi	% Thu hồi trung bình
1	50%	5,1939	55298	5,1051	98,29	<b>TB = 98,29%</b> <b>RSD = 0,02%</b>
2	50%	5,1939	55307	5,1059	98,31	
3	50%	5,1939	55284	5,1038	98,27	
4	100%	10,3878	113483	10,4767	100,86	<b>TB = 100,54%</b> <b>RSD = 0,28%</b>
5	100%	10,3878	112886	10,4216	100,33	
6	100%	10,3878	113019	10,4339	100,44	
7	150%	15,5817	167044	15,4214	98,97	<b>TB = 99,18%</b> <b>RSD = 0,32%</b>
8	150%	15,5817	168012	15,5108	99,54	
9	150%	15,5817	167127	15,4291	99,02	

**Bảng 5. Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp (đối với colecalciferol)**

STT	% so với nồng độ định lượng	Lượng colecalciferol thực tế thêm vào (IU)	Diện tích pic colecalciferol (mAU.s)	Lượng colecalciferol tìm lại (IU)	% Thu hồi	% Thu hồi trung bình
1	50%	5761,8	145129	5692,378754	98,80	<b>TB = 99,16%</b> <b>RSD = 0,33%</b>
2	50%	5761,8	146047	5728,385367	99,42	
3	50%	5761,8	145820	5719,481771	99,27	
4	100%	11523,6	293718	11520,46871	99,97	<b>TB = 99,94%</b> <b>RSD = 0,19%</b>
5	100%	11523,6	293046	11494,11092	99,74	
6	100%	11523,6	294127	11536,51087	100,11	
7	150%	17285,4	433684	17010,33968	98,41	<b>TB = 98,59%</b> <b>RSD = 0,19%</b>
8	150%	17285,4	434523	17043,24768	98,60	
9	150%	17285,4	435298	17073,64542	98,77	

Từ kết quả thu được trong Bảng 4 và Bảng 5 cho thấy tỉ lệ thu hồi từ 98,27% đến 100,86% đối với benzyl alcol và từ 98,41% đến 100,11% đối với colecalciferol: nằm trong khoảng từ 98,0% đến 102,0% và RSD < 2,0%, quy trình thử đạt yêu cầu về độ đúng.

### 3.2.5. Khoảng xác định

Từ kết quả độ tuyến tính và độ đúng suy ra khoảng xác định của benzyl alcol từ 0,2597 mg/ml đến 0,7791 mg/ml; khoảng xác định của colecalciferol từ 288,09 IU/ml đến 864,29 IU/ml.

### 3.2.6. Độ chính xác

#### 3.2.6.1. Độ lặp lại

Tiến hành định lượng trên 06 mẫu thử độc lập dung dịch uống DK VitD theo quy trình phân tích. Xác định hàm lượng benzyl alcol và colecalciferol trong chế phẩm. Kết quả được trình bày trong Bảng 6 và Bảng 7.

### 3.2.6.2. Độ chính xác trung gian

Cách tiến hành tương tự như phần độ lặp lại trên cùng chế phẩm với kiểm nghiệm viên khác, ngày khác và thiết bị khác. Kết quả được trình bày trong Bảng 6 và Bảng 7.

**Bảng 6. Kết quả khảo sát độ chính xác của phương pháp (đối với benzyl alcol)**

STT	Kiểm nghiệm viên 1		Kiểm nghiệm viên 2	
	Diện tích pic (mAU.s)	HL (%) so với lượng ghi trên nhãn	Diện tích pic (mAU.s)	HL (%) so với lượng ghi trên nhãn
1	106872	98,66	107429	99,09
2	107123	98,90	107843	99,47
3	107581	99,32	106952	98,65
4	107629	99,36	108023	99,64
5	106958	98,74	107078	98,77
6	107186	98,95	107651	99,29
Trung bình = 98,99%; n = 6; RSD = 0,29%			Trung bình = 99,15%; n = 6; RSD = 0,39%	
Trung bình = 99,07%; n = 12; RSD = 0,34%				

**Bảng 7. Kết quả khảo sát độ chính xác của phương pháp (đối với colecalciferol)**

STT	Kiểm nghiệm viên 1		Kiểm nghiệm viên 2	
	Diện tích pic (mAU.s)	HL (%) so với lượng ghi trên nhãn	Diện tích pic (mAU.s)	HL (%) so với lượng ghi trên nhãn
1	295426	99,89	294115	99,56
2	296017	100,09	294835	99,80
3	296349	100,20	294722	99,76
4	295832	100,03	295010	99,86
5	295994	100,08	295242	99,94
6	296441	100,24	296314	100,30
Trung bình = 100,09%; n = 6; RSD = 0,12%			Trung bình = 99,87%; n = 6; RSD = 0,25%	
Trung bình = 99,98%; n = 12; RSD = 0,22%				

Từ kết quả thu được trong Bảng 6 và Bảng 7 cho thấy độ chính xác của phương pháp đối với cả 2 hoạt chất benzyl alcol và colecalciferol đạt yêu cầu với RSD < 2%.

### 3.2.7. Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

LOD, LOQ được tính từ kết quả thẩm định độ tuyến tính qua phân tích thống kê trên phần mềm Excel:

	LOD	LOQ
Colecalciferol	33,61 (IU/ml)	101,83 (IU/ml)
Benzyl alcol	0,024 (mg/ml)	0,072 (mg/ml)

## 4. Kết luận

Quy trình định lượng đồng thời benzyl alcol và colecalciferol trong dung dịch uống vitamin D<sub>3</sub> bằng phương pháp sắc ký lỏng pha đảo đã được thiết lập. Phương pháp phân tích sử dụng cột Phenomenex Gemini C18 (250 x 4,6 mm; 5 μm) với pha động là hỗn hợp methanol và nước theo chương trình gradient, tốc độ dòng 1,5 ml/phút, thể tích tiêm 20 μl; detector UV ở bước sóng 265 nm. Quy trình phân tích được thẩm định về tính đặc hiệu, độ thích hợp của hệ thống, độ tuyến tính, khoảng xác định, độ đúng, độ lặp lại và độ chính xác trung gian. Kết quả thẩm định cho thấy quy trình được xây dựng hoàn toàn phù hợp cho việc định lượng đồng thời benzyl alcol và colecalciferol trong các chế phẩm dung dịch uống Vitamin D<sub>3</sub>.

## Tài liệu tham khảo

1. Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam*, Lần xuất bản thứ năm, NXB Y học, Hà Nội.
2. *British Pharmacopeia* (2018).
3. *The United State Pharmacopeia 41* (2018).
4. *Validation of analytical procedure text and Methodology* - ICH Q2(R1).
5. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*- sixth Edition.

## SUMMARY

A reversed-phase liquid chromatography method was developed assay for simultaneous assay benzyl alcohol and colecalciferol in DK VitD oral solution. Chromatographic conditions are as follows:

Column: Apollo RP 18 (250 x 4.6 mm; 5  $\mu$ m).

Flow rate: 1.5 ml /min.

Detector: 265 nm.

Injection volume: 20  $\mu$ l.

Mobile phase: Gradient solvent between Methanol and Water.

The method was validated in system suitability, specificity, linearity, accuracy, limit of detection, limit of quantitative and precision. Validation results proved that the developed method was suitable for simultaneous determination of benzyl alcohol and colecalciferol in oral solution.

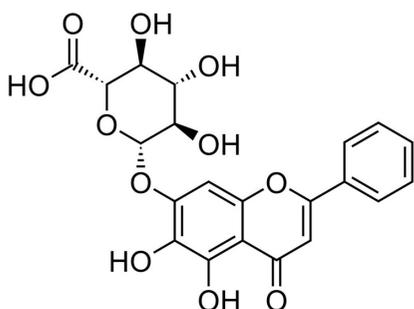
(Ngày nhận bài: 07/11/2019; Ngày phản biện: 16/12/2019; Ngày duyệt đăng: 23/12/2019)

# XÂY DỰNG VÀ THẨM ĐỊNH QUY TRÌNH HPLC ĐỊNH TÍNH, ĐỊNH LƯỢNG BAICALIN TRONG NGUYÊN LIỆU BAICALIN CHIẾT XUẤT, PHÂN LẬP TỪ DƯỢC LIỆU HOÀNG CẨM

BẠCH THỊ THẨM, LÊ THỊ TUYẾT, TRẦN THỊ THU TRANG  
Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương

**Từ khóa:** Baicalin, Hoàng cầm, chiết xuất, phân lập, HPLC

## 1. Đặt vấn đề



Công thức cấu tạo của Baicalin

Công thức phân tử:  $C_{21}H_{18}O_{11}$

Phân tử lượng: 446,36 g/mol

Tên khoa học: 5,6-Dihydroxy-4-oxo-2-phenyl-4H-1-benzopyran-7-yl- $\beta$ -D-glucopyranosiduronic acid, Baicalein 7-O- $\beta$ -D-glucuronide [7].

Hoặc: (2S,3S,4S,5R,6S)-6-(5,6-dihydroxy-4-oxo-2-phenyl-chromen-7-yl) oxy-3,4,5-trihydroxy-tetrahydropyran-2-carboxylic acid [6].

Baicalin thuộc nhóm flavon glycosid, là hoạt chất chính có trong rễ cây Hoàng cầm (*Scutellaria baicalensis* (*S. baicalensis*) Georgi, họ Bạc hà (Lamiaceae) [1],[2],[3]. Trong Dược điển Việt Nam V, Dược điển Trung Quốc 2015 và Hong Kong Chinese Materia Medica Standards sử dụng baicalin làm chất chuẩn để đánh giá chất lượng dược liệu Hoàng cầm nhưng đều chưa có chuyên luận riêng để đánh giá baicalin. Bên cạnh đó, quá trình chuẩn bị mẫu phức tạp, nồng độ baicalin trong dung dịch để định lượng thấp nên không thể hiện được sự có mặt của các pic tạp do đó không phù hợp cho việc đánh giá hàm lượng trong nguyên liệu Baicalin [1],[4],[5].

Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương đã tiến hành chiết xuất, phân lập và tinh chế được nguyên liệu baicalin từ dược liệu Hoàng cầm. Để xác định hàm lượng baicalin, chúng tôi tiến hành “Xây dựng và thẩm định quy trình HPLC định tính, định lượng Baicalin trong nguyên liệu Baicalin chiết xuất, phân lập từ dược liệu Hoàng cầm”.

## 2. Thực nghiệm

### 2.1. Thiết bị, hóa chất, chất chuẩn

#### 2.1.1. Thiết bị, dụng cụ

Các thiết bị, dụng cụ của Viện KNTTW đã được hiệu chuẩn theo quy định của GLP và ISO/IEC 17025.

- Máy sắc ký lỏng Hitachi;
- Cột C18 Inertsil ODS3 (250 x 4,6 mm; 5 µm);
- Cân phân tích Mettler Toledo AB-2S;
- Các dụng cụ thủy tinh cần thiết cho quá trình thực nghiệm.

#### 2.1.2. Hóa chất, dung môi, chất chuẩn

- Chất chuẩn baicalin, SKS: 110715-201318, hàm lượng: 93,5% (C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>O<sub>11</sub>), tính theo nguyên trạng, nguồn gốc: NIFDC-PRC;

- Acid phosphoric: đạt tinh khiết phân tích;
- Methanol: đạt tinh khiết sắc ký.

### 2.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nguyên liệu baicalin số lô 2018ĐD-NL01 do Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương chiết xuất, phân lập và tinh chế.

#### 2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

##### 2.2.2.1. Điều kiện sắc ký

Cột Inertsil RP-18 (5 µm; 250 × 4,6 mm).

Pha động:

- Dung môi A: Methanol
- Dung môi B: Acid phosphoric 0,4%

(Cách pha acid phosphoric 0,4%: Hút 4 ml acid phosphoric pha loãng với nước để được 1000 ml, lọc qua màng lọc 0,45 µm).

Chương trình dung môi:

Thời gian (phút)	% Dung môi A (tt/tt)	% Dung môi B (tt/tt)
0 → 24	47	53
24 → 25	47 → 90	53 → 10
25 → 40	90	10
40 → 41	90 → 47	10 → 53
41 → 45	47	53

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml phút.

Thể tích tiêm mẫu: 10 µl.

#### 2.2.2.2. Chuẩn bị các dung dịch chuẩn, dung dịch thử

**Dung dịch chuẩn:** Cân chính xác khoảng 10 mg chuẩn baicalin trong bình định mức 25 ml, thêm 20 ml methanol, lắc siêu âm 15 phút, để nguội và thêm vừa đủ đến vạch bằng methanol, lắc đều.

**Dung dịch thử:** Cân chính xác khoảng 10 mg mẫu thử trong bình định mức 25 ml, thêm 20 ml methanol, lắc siêu âm 15 phút, để nguội và thêm vừa đủ đến vạch bằng methanol, lắc đều.

#### 2.2.3. Thẩm định phương pháp

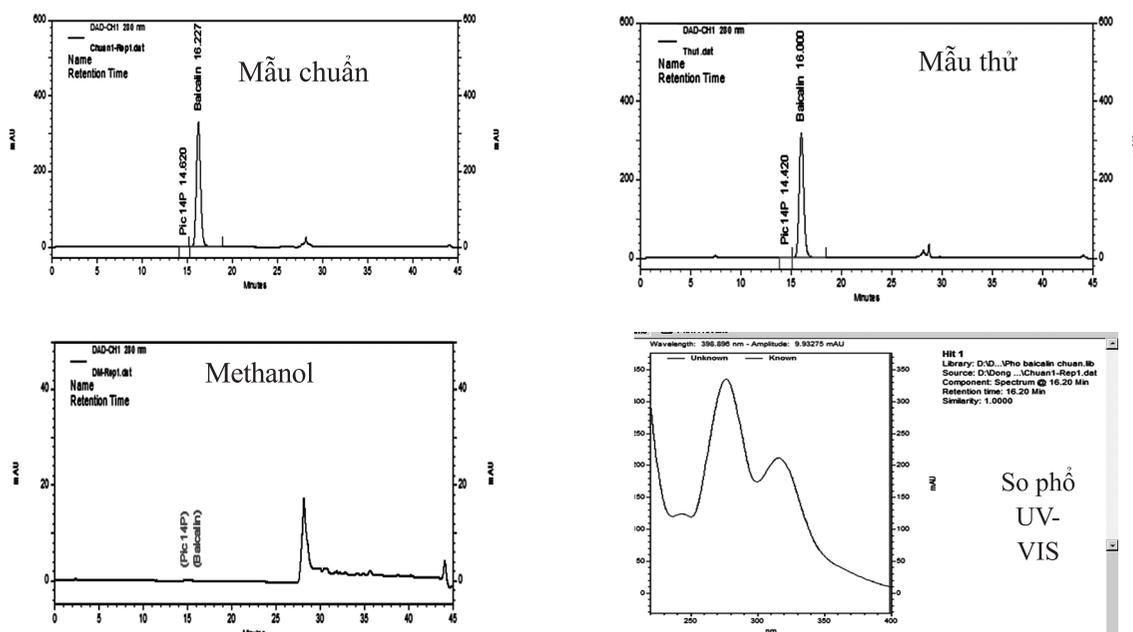
Thẩm định các chỉ tiêu: Độ đặc hiệu, tính thích hợp của hệ thống sắc ký, độ tuyến tính, độ đúng, độ lặp lại, độ chính xác trung gian.

## 3. Kết quả và bàn luận

Với các điều kiện sắc ký đã chọn, pic baicalin thu được cân đối (T = 1,1), hệ số phân giải giữa pic baicalin và các pic tạp lân cận đều lớn hơn 2,0.

### 3.1. Độ đặc hiệu

Tiến hành tiêm vào hệ thống sắc ký lần lượt các dung môi pha mẫu (methanol), dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Kết quả phân tích cho thấy:



**Hình 1.** Sắc ký đồ và so sánh phổ của mẫu nguyên liệu baicalin và mẫu chuẩn

- Trên sắc ký đồ của dung dịch thử cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với pic baicalin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn. Sắc ký đồ của dung môi pha mẫu không xuất hiện pic tương ứng với pic Baicalin.

- Phổ UV của pic baicalin trên sắc ký đồ của dung dịch thử và chuẩn giống nhau. Kết quả chồng phổ cho hệ số similarity là 1,000. Độ tinh khiết của pic baicalin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử là 1,000 cho thấy pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử là tinh khiết.

### 3.2. Tính thích hợp của hệ thống sắc ký

Cân 10,32 mg chuẩn baicalin trong bình định mức 25 ml, thêm 20 ml methanol, lắc siêu âm 15 phút, để nguội và thêm vừa đủ đến vạch bằng methanol, lắc đều. Tiêm vào hệ thống sắc ký 6 lần dung dịch chuẩn. Ghi lại các SKĐ của pic baicalin.

**Bảng 1.** Tính thích hợp của hệ thống sắc ký

STT	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic (mAU.s)	Số đĩa lý thuyết	Hệ số phân giải
1	16,867	44399421	5518	2,12
2	16,827	44201693	5411	2,10
3	16,880	44221932	5373	2,12
4	16,927	44148967	5424	2,13
5	16,907	44114422	5423	2,14
6	16,873	44215539	5410	2,12
<b>Trung bình</b>	<b>16,880</b>	<b>44216996</b>	<b>5427</b>	<b>2,12</b>
<b>RSD %</b>	<b>0,20</b>	<b>0,22</b>	<b>0,89</b>	

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy hệ thống HPLC sử dụng phù hợp và đảm bảo sự ổn định với độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của thời gian lưu và diện tích pic đều nhỏ hơn 2%. Số đĩa lý thuyết tính theo pic chuẩn baicalin lớn hơn 2500. Hệ số phân giải của pic baicalin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn so với các pic tạp lân cận lớn hơn 2.

### 3.3. Khoảng tuyến tính

Cân 51,43 mg chuẩn baicalin vào bình định mức có dung tích 50 ml, thêm 35 ml methanol, lắc siêu âm 15 phút,

để nguội và thêm vừa đủ đến vạch bằng methanol, lắc đều thu được dung dịch chuẩn gốc. Tiến hành pha dãy các dung dịch chuẩn trong methanol để được các dung dịch có nồng độ lần lượt bằng 50%, 75%, 100%, 125% và 150% so với nồng độ định lượng.

Tiến hành sắc ký theo điều kiện đã nêu trên. Kết quả được thể hiện ở Bảng 2.

**Bảng 2. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính**

STT	Nồng độ (µg/ml)	Diện tích pic (mAU.s)
1	192,35	22663610
2	288,52	34172915
3	384,70	45418272
4	480,87	57192924
5	577,04	67980067
<b>PT hồi quy: <math>y = 118174x + 24388</math></b> <b>Hệ số tương quan: <math>r = 1,000</math></b> <b>(%) hệ số chắn: 0,05%</b>		

**Khoảng tuyến tính baicalin**

Như vậy có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic baicalin trong khoảng nồng độ khảo sát với hệ số tương quan  $r = 1,000$  và (%) hệ số chắn tại nồng độ định lượng (0,4 mg/ml) là 0,05%.

### 3.4. Độ đúng của phương pháp

Dung dịch chuẩn: Dùng dung dịch chuẩn ở mục 3.2.

Đánh giá độ đúng của phương pháp bằng cách thêm chính xác một lượng chuẩn baicalin vào mẫu thử đã có nồng độ baicalin bằng 50% so với nồng độ định lượng để được mẫu tự tạo tương ứng với 3 mức nồng độ 80%, 100% và 120% so với nồng độ định lượng (lần lượt thêm vào khoảng 3 mg, 5 mg, 7 mg chất chuẩn baicalin vào mỗi mẫu thử đã có sẵn 5 mg baicalin).

Tiến hành định lượng và xác định lượng chất chuẩn tìm lại được so với lượng thêm vào. Kết quả được thể hiện tại Bảng 3.

**Bảng 3. Kết quả đánh giá độ đúng**

TT	Lượng Baicalin chuẩn thêm vào (mg)	Lượng Baicalin thử có sẵn (mg)	Tổng lượng Baicalin (mg)	Diện tích pic (mAU.s)	Lượng Baicalin tìm lại (mg)	% Thu hồi	Trung bình
1	2,885	4,857	7,742	35140479	7,668	99,05	<b>99,08%</b> <b>RSD=0,04%</b>
2	2,885	4,857	7,742	35170116	7,675	99,13	
3	2,885	4,857	7,742	35149846	7,671	99,07	
4	4,809	4,857	9,666	44240158	9,654	99,88	<b>99,65%</b> <b>RSD=0,34%</b>
5	4,809	4,857	9,666	43968573	9,595	99,27	
6	4,809	4,857	9,666	44208361	9,647	99,81	
7	6,732	4,857	11,589	53500951	11,675	100,74	<b>100,83%</b> <b>RSD=0,44%</b>
8	6,732	4,857	11,589	53334367	11,639	100,43	
9	6,732	4,857	11,589	53804134	11,741	101,31	

Khối lượng cân chuẩn: 10,32 mg; Hàm lượng chuẩn 93,5% nguyên trạng.

Diện tích pic trung bình (mAU.S): 44216996

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy (%) thu hồi của baicalin từ 99,05% đến 101,31%, độ lệch chuẩn tương đối ở 3 mức nồng độ đều nhỏ hơn 1%. Như vậy phương pháp phân tích có độ đúng tốt.

### 3.5. Độ chính xác

Tiến hành định lượng lặp lại trên 6 mẫu thử độc lập, thực hiện trên hai ngày khác nhau và 2 kiểm nghiệm viên khác nhau.

**Bảng 4.** Kết quả đánh giá độ chính xác của phương pháp

Mẫu thử	Ngày 1			Ngày 2		
	Lượng cân mẫu thử (g)	Diện tích (mAU.s)	HL baicalin tính theo nguyên trạng (%)	Lượng cân mẫu thử (g)	Diện tích (mAU.s)	HL baicalin tính theo nguyên trạng (%)
1	10,26	42686033	90,79	10,23	40889084	90,54
2	10,28	43277151	91,87	10,27	42284848	93,26
3	10,38	43389842	91,22	10,33	41266333	90,49
4	10,56	43661982	90,23	10,51	42374364	91,33
5	10,41	43465878	91,12	10,35	41916250	91,74
6	10,33	43191055	91,24	10,24	41508855	91,82
HL Trung bình = 91,08%; n = 6; RSD = 0,60%			HL Trung bình = 91,53%; n = 6; RSD = 1,12%			
Hàm lượng baicalin trung bình tính theo nguyên trạng = 91,30%; n = 12; RSD = 0,89%						

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy độ lệch chuẩn tương đối trên 6 mẫu thử của độ lặp lại, độ chính xác trung gian lần lượt là 0,6%; 1,1% và độ lệch chuẩn tương đối trên 12 mẫu thử của độ lặp lại khác ngày là 0,9%. Như vậy phương pháp có độ chính xác đạt yêu cầu.

### 4. Kết luận

Qua thăm định quy trình HPLC để định tính, định lượng baicalin cho thấy phương pháp đã xây dựng có độ đặc hiệu, có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ baicalin và diện tích pic trong khoảng tuyến tính đã xây dựng; có độ lặp lại và độ chính xác đạt yêu cầu; có tỷ lệ thu hồi cao. Như vậy, phương pháp có thể áp dụng để định tính, định lượng baicalin trong nguyên liệu baicalin chiết xuất phân lập và tinh chế từ dược liệu Hoàng cầm.

#### Tài liệu tham khảo

1. Bộ Y Tế (2017), *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học.
2. Viện Dược liệu, *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, tập 2, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, trang 325.
3. Đỗ Tất Lợi (1999), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, trang 358.
4. *The Chinese Pharmacopoeia 2015*, vol. 1, P. 417 - 418, 522, 539, 600, 604, 645, 1461.
5. *The Hong Kong Chinese Material Medica Standards*, volume 3, *Radix Scutellariae*.
6. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Baicalin#section=CAS>
7. <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/y0001273?lang=en&region=VN>.

#### SUMMARY

*A Reverse-phase HPLC-DAD method was developed for assay Baicalin in Baicalin material is introduced: The chromatographic conditions are as follows: Column: Inertsil C18, 5  $\mu$ m (250  $\times$  4.6 mm); mobile phase: the mixture of Methanol – Phosphoric acid 0.4% (47:53) with the gradient program; flow rate: 1.2 ml/min; Injection volume is 10  $\mu$ l; DAD: 280 nm.*

*The method of assay was validated about the system suitability, specificity, linear range, precision, accuracy and the validation results proved that this method was suitable for identification and quantification of Baicalin in Baicalin material.*

(Ngày nhận bài: 15/12/2018; Ngày phản biện: 17/09/2019; Ngày duyệt đăng: 23/12/2019)

# NGHIÊN CỨU SINH KHẢ DỤNG VÀ ĐÁNH GIÁ TƯƠNG ĐƯƠNG SINH HỌC VIÊN NÉN METHYLPREDNISOLON 16 MG SẢN XUẤT TẠI VIỆT NAM

ĐỖ QUỲNH NGÂN, TRỊNH MẠNH HÙNG  
Học viện Quân Y

TẠ MẠNH HÙNG, LÊ THỊ THU HUYỀN,  
TRẦN HOÀNG, ĐOÀN CAO SƠN  
Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương

**Từ khóa:** Methylprednisolon, glucocorticoid, tương đương sinh học, huyết tương, LC-MS/MS

## 1. Đặt vấn đề

Methylprednisolon là một glucocorticoid tổng hợp, có tác dụng chống viêm, chống dị ứng và ức chế miễn dịch. Thuốc được dùng để chống viêm hoặc ức chế miễn dịch trong các bệnh về da (viêm da, vẩy nến,...), rối loạn thấp khớp (viêm cột sống dính khớp, viêm khớp dạng thấp,...), dị ứng, hen, ung thư (bệnh bạch cầu, u lympho ở người lớn) [1]. Trên thị trường Việt Nam có khá nhiều chế phẩm chứa hoạt chất methylprednisolon, tuy nhiên hầu hết đều chưa được đánh giá tương đương sinh học so với biệt dược gốc, do đó khả năng thay thế thuốc biệt dược gốc trên lâm sàng chưa được chứng minh.

Để góp phần nâng cao chất lượng các thuốc chứa methylprednisolon trên thị trường, Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương đã tiến hành nghiên cứu sinh khả dụng và đánh giá tương đương sinh học (TĐSH) viên nén methylprednisolon 16 mg sản xuất tại Công ty Cổ phần Dược Hà Tĩnh so với chế phẩm đối chứng, viên nén Medrol® 16 mg do Công ty Pfizer Italia Srl, Ý sản xuất sau khi uống liều đơn trong điều kiện đói trên 24 người tình nguyện khỏe mạnh.

## 2. Thực nghiệm

### 2.1. Thiết bị, dụng cụ, hóa chất, chất chuẩn

#### 2.1.1. Thiết bị, dụng cụ

Các thiết bị được quản lý và hiệu chuẩn theo các quy định của ISO/IEC và GLP.

- Máy sắc ký lỏng siêu hiệu năng ghép nối với detector khối phổ kiểu tứ cực chấp ba (TSQ Quantum Ultra - Thermo Scientific);

- Cân phân tích Mettler Toledo - Thụy Sĩ ( $d = 0,01$  mg);

- Tủ lạnh sâu Panasonic – Nhật Bản ( $-70^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ );

- Máy ly tâm lạnh Sigma 4 – 16 K – Đức;

- Máy lắc xoáy;

- Bình định mức, pipet thủy tinh loại A;

- Ống ly tâm bằng teflon chịu được lực ly tâm lớn, ...

#### 2.1.2. Dung môi, hóa chất, chất chuẩn

- **Chất chuẩn:** Các chất chuẩn của Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương.

- + Methylprednisolon (MPN): Chuẩn làm việc, SKS: WS. 0104177, hàm lượng: 99,69%, độ ẩm: 0,15%.

- + Prednisolon: Chuẩn Dược điển Việt Nam, SKS: 0296024 hàm lượng: 99,94%, độ ẩm: 0,20%, được dùng làm chuẩn nội trong phương pháp phân tích.

- **Dung môi, hóa chất:** Methanol, terbutylmethylether, acetonitril, amoni acetat, dinatri edetat đạt tiêu chuẩn tinh khiết dùng cho phân tích hoặc sắc ký.

- **Huyết tương trắng:** Không có MPN của Viện Huyết học và Truyền máu Trung ương.

### 2.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Thuốc nghiên cứu

- Viên nén methylprednisolon 16 mg, số lô: 010418; NSX: 050418; HD: 050421 do Công ty Cổ phần Dược Hà Tĩnh sản xuất (thuốc thử);

- Viên nén Medrol® 16 mg, số lô: 829EA; NSX: 07/04/17; HD: 07/04/19 do công ty Pfizer Italia Srl, Ý sản xuất (thuốc đối chứng).

Hai thuốc đều đạt tiêu chuẩn chất lượng và có hàm lượng MPN khác nhau không quá 5%.

#### 2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

- So sánh sinh khả dụng và đánh giá TĐSH viên nén methylprednisolon 16 mg sản xuất tại Việt Nam so với chế phẩm đối chứng trên người tình nguyện (NTN) khỏe mạnh, khi uống liều đơn thuốc nghiên cứu trong điều kiện đói qua đêm với thiết kế nghiên cứu chéo, ngẫu nhiên, 2 thuốc, 2 giai đoạn, 2 trình tự, nhãn mở theo các hướng dẫn thực hiện nghiên cứu TĐSH của EMA [5] và US-FDA [8].

- Nghiên cứu thực hiện trên 24 NTN khỏe mạnh không phân biệt giới tính (nữ giới không mang thai hoặc nuôi con bú), đủ năng lực hành vi dân sự, có độ tuổi từ 18 - 35, chỉ số BMI (cân nặng/bình phương chiều cao)

trong khoảng 18,5 - 25,0 kg/m<sup>2</sup>. NTN không nghiện rượu, thuốc lá và các chất gây nghiện, không có tiền sử mắc các bệnh tim mạch, gan, thận, hô hấp, dị ứng; xét nghiệm máu, chức năng gan thận bình thường; xét nghiệm HbsAg và HIV âm tính. Tiêu chuẩn chấp nhận, loại trừ các đối tượng tham gia nghiên cứu được quy định cụ thể trong đề cương nghiên cứu. Đề cương nghiên cứu và Bản cam kết tình nguyện tham gia nghiên cứu (ICF) được Hội đồng đạo đức phê duyệt, chấp thuận trước khi thực hiện theo đúng quy định về đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học của Việt Nam và quốc tế [2],[5],[8].

- Giai đoạn I của nghiên cứu, mỗi NTN sẽ uống một viên thuốc thử hoặc một viên thuốc đối chứng và trong giai đoạn II, NTN sẽ dùng các thuốc nghiên cứu theo thứ tự ngược lại so với giai đoạn I, tùy theo trình tự sử dụng thuốc được ngẫu nhiên hóa trong nghiên cứu. Ở mỗi giai đoạn, NTN uống thuốc với 240 ml nước lọc, sau khi nhịn đói qua đêm ít nhất 10 giờ. Thời gian nghỉ giữa 2 giai đoạn để thuốc thải trừ khỏi cơ thể NTN là 8 ngày. Tại mỗi giai đoạn của nghiên cứu, nghiên cứu viên sẽ tiến hành lấy 16 mẫu máu, mỗi mẫu máu khoảng 5 ml qua kim luồn đặt cố định ở tĩnh mạch cánh tay mỗi NTN tại thời điểm trước khi uống thuốc (0 giờ) và tại các thời điểm: 0,25; 0,50; 0,75; 1; 1,33; 1,67; 2; 2,5; 3; 4; 5; 6; 8; 10; 12 giờ sau khi uống thuốc. Các mẫu máu của NTN sau khi lấy được cho vào các ống nghiệm chứa chất chống đông dinatri edetat (Na<sub>2</sub>EDTA), sau đó ly tâm ngay, tách lấy phần huyết tương và bảo quản huyết tương ở nhiệt độ -35°C cho tới khi phân tích.

- Phân tích định lượng methylprednisolon trong huyết tương NTN bằng phương pháp LC-MS/MS với các điều kiện cụ thể như sau [3]:

+ *Kỹ thuật xử lý mẫu huyết tương*: Mẫu huyết tương để rã đông ở nhiệt độ phòng. Lấy 0,5 ml huyết tương, thêm 50 µl dung dịch chuẩn nội prednisolon, sau đó chiết bằng dung môi tert-butyl methyl ether. Lắc, ly tâm. Lấy lớp dung môi, cô dưới dòng khí nitơ đến cạn. Hòa cần trong 1 ml pha động. Lọc, tiêm sắc ký.

+ *Điều kiện sắc ký*:

- Cột C18; 100 x 2,1 mm; 1,9 µm.

- Pha động: Acetonitril - dung dịch amoni acetat 2 mM (tỷ lệ thể tích 90 : 10).

- Tốc độ dòng 0,35 ml/phút.

+ *Điều kiện khối phổ*:

- Kiểu phổ khối: MS/MS, nguồn ion hóa ESI (+);

- Các thông số của thiết bị khối phổ như sau:

<i>Thông số</i> / <i>Chất phân tích</i>	<i>Methylprednisolon</i>	<i>Prednisolon (IS)</i>
Thế ion hóa (V)	4000	4000
Nhiệt độ nguồn phun (°C)	100	100
Áp suất khí mang (psi)	30	30
Áp suất khí hỗ trợ (psi)	10	10
Áp suất khí quét (psi)	1	1
Nhiệt độ mao quản (°C)	360	360
Thế thấu kính hội tụ (V)	87	95
Mảnh ion mẹ (Dalton)	m/z = 375,1	m/z = 361,0
Năng lượng bắn phá (V)	20	23
Mảnh ion con (Dalton)	m/z = 161,0	m/z = 147,0

Phương pháp LC-MS/MS định lượng methylprednisolon trong huyết tương NTN đã được xây dựng và thẩm định theo hướng dẫn thẩm định phương pháp phân tích thuốc trong dịch sinh học của US-FDA và EMA. Phương pháp phân tích có độ đặc hiệu-chọn lọc đối với methylprednisolon; khoảng tuyến tính từ 2,5 - 500 ng/ml; độ đúng trong ngày, khác ngày nằm trong khoảng từ 85 - 115%, độ chính xác với giá trị CV < 15% ở tất cả khoảng nồng độ, độ ổn định dài ngày của mẫu huyết tương là 103 ngày ở nhiệt độ -35°C [3].

- Thống kê sinh khả dụng và đánh giá TĐSH:

+ Từ kết quả phân tích định lượng nồng độ methylprednisolon trong các mẫu huyết tương NTN, xác định các thông số được động học theo mô hình được động học không ngăn bằng phần mềm Phoenix WinNonlin. Phân tích phương sai, xác định ảnh hưởng của các yếu tố biến thiên như cá thể, trình tự, giai đoạn và thuốc nghiên cứu tới kết quả. Xác định khoảng tin cậy 90% của tỉ lệ trung bình hình học giữa thuốc thử và thuốc đối chứng được tính trên giá trị chuyển log của C<sub>max</sub>, AUC<sub>t</sub> và AUC<sub>inf</sub>. So sánh giá trị T<sub>max</sub> theo phương pháp thống kê phi tham số Wilcoxon.

+ Đánh giá TĐSH chế phẩm thuốc thử theo các hướng dẫn của US-FDA và EMA. Hai chế phẩm TĐSH nếu khoảng tin cậy 90% của tỉ lệ (T/R) C<sub>max</sub> và AUC trung bình tính trên giá trị đã chuyển logarit nằm trong khoảng giới hạn 80% - 125% [5],[8].

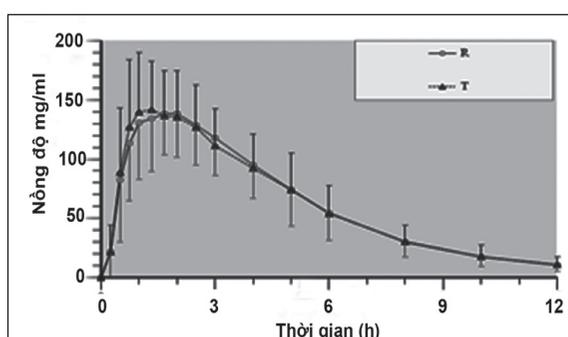
### 3. Kết quả và bàn luận

Nghiên cứu đánh giá TĐSH viên nén methylprednisolon tuân thủ theo đúng các nguyên tắc về đạo đức trong tuyên bố Helsinki, tuân thủ các hướng dẫn về thực hành tốt lâm sàng (GCP) và hướng dẫn thực hành tốt phòng kiểm nghiệm thuốc (GLP) của Bộ Y tế Việt Nam hiện hành [2],[5],[8]. Sau khi khám sức khỏe tổng quát và tiến hành xét nghiệm cận lâm sàng (huyết học; sinh hóa; nước tiểu; chức năng tim, phổi, gan, thận,...), thử cồn trong hơi thở, chất gây nghiện trong nước tiểu; xét nghiệm mang thai (với nữ giới) trên 38 người tự nguyện ký “*Bản cam kết tình nguyện tham gia nghiên cứu*”, các nghiên cứu viên đã lựa chọn được 25 NTN đáp ứng các yêu cầu của đối tượng nghiên cứu ghi trong đề cương nghiên cứu được Hội đồng đạo đức phê duyệt. 24 NTN (19 nam, 5 nữ, có tuổi trung bình  $25,0 \pm 3,4$ ; BMI trung bình  $20,8 \pm 1,6 \text{ kg/m}^2$ ) trong số này đã chính thức tham gia uống thuốc và lấy mẫu. Cả 24 NTN đều hoàn thành 2 giai đoạn nghiên cứu. Không có NTN nào bỏ nghiên cứu giữa chừng hoặc bị loại khỏi quá trình phân tích và thống kê.

Tiến hành phân tích xác định nồng độ methylprednisolon trong huyết tương NTN bằng phương pháp LC-MS/MS đã được thẩm định [3]. Các mẫu huyết tương của một NTN được phân tích trong cùng một điều kiện. Tổng số 768 mẫu huyết tương của 24 NTN sử dụng thuốc nghiên cứu đã được phân tích trong thời gian 25 ngày. Thời gian tính từ thời điểm lấy mẫu đầu tiên tới khi kết thúc quá trình phân tích là 53 ngày, đảm bảo tất cả các mẫu đã được phân tích trong

khoảng thời gian độ ổn định của mẫu sinh học đã được thẩm định (103 ngày), đáp ứng các quy định phân tích thuốc trong dịch sinh học của US-FDA và EMA [4],[7].

Từ các kết quả phân tích LC-MS/MS xác định nồng độ methylprednisolon trong các mẫu huyết tương của NTN đã xác định được đường cong nồng độ thuốc theo thời gian sau khi uống thuốc nghiên cứu của mỗi NTN cũng như xác định được các thông số dược động học  $C_{\max}$ ,  $AUC_t$ ,  $AUC_{\text{inf}}$ ,  $T_{\max}$ ,  $t_{1/2}$ , ... của thuốc thử, thuốc đối chứng trên mỗi NTN. Đường cong trung bình nồng độ thuốc trong huyết tương theo thời gian của 24 NTN tham gia nghiên cứu sau khi uống thuốc thử (T) hoặc thuốc đối chứng (R) được mô tả ở Hình 1.



**Hình 1.** Đường cong trung bình nồng độ methylprednisolon theo thời gian trên 24 NTN

Các thông số dược động học trung bình của thuốc thử và thuốc đối chứng trên 24 NTN sau khi uống liều đơn 16 mg methylprednisolon trong tình trạng đói được tóm tắt trong Bảng 1.

**Bảng 1.** Thông số dược động học của methylprednisolon trên 24 NTN

Thuốc nghiên cứu Thông số ĐDH	Thuốc thử			Thuốc đối chứng		
		±			±	
$C_{\max} \pm SD$ (ng/ml)	165,5	±	40,3	165,9	±	33,2
$t_{\max} \pm SD$ (h)	1,64	±	1,22	1,81	±	0,96
$AUC_{\text{last}} \pm SD$ (ng.h/ml)	751,7	±	184,6	751,4	±	165,3
$AUC_{\text{inf}} \pm SD$ (ng.h/ml)	794,4	±	208,4	790,9	±	183,7
$Kel \pm SD$ (1/h)	0,285	±	0,045	0,310	±	0,034
$t_{1/2} \pm SD$ (h)	2,50	±	0,41	2,44	±	0,31

Kết quả phân tích phương sai, xác định khoảng tin cậy 90% các tỷ số (T/R)  $C_{\max}$ , AUC của thuốc thử và thuốc đối chứng được trình bày ở Bảng 2.

**Bảng 2.** Kết quả phân tích phương sai của giá trị  $C_{max}$ ,  $AUC_t$  và  $AUC_{inf}$

Thông số	Nguồn biến thiên	Bậc tự do	Tổng bình phương	Trung bình bình phương	F-stat	P
$C_{max}$	Trình tự thử	1,00	0,17	0,17	2,38	0,14
	Cá thể	22,00	1,54	0,07	2,45	0,02
	Thuốc	1,00	0,001	0,001	0,07	0,79
	Giai đoạn	1,00	0,001	0,001	0,05	0,83
	Sai số	22,00	0,63	0,03		
	<b>Dao động cá thể (Intrasubject CV)</b>			<b>17,03%</b>	<b>Power (%)</b>	<b>99,54</b>
$AUC_t$	Trình tự thử	1,00	0,08	0,08	0,69	0,41
	Cá thể	22,00	2,39	0,11	17,55	$< 10^{-3}$
	Thuốc	1,00	0,001	0,001	0,06	0,80
	Giai đoạn	1,00	0,01	0,01	1,14	0,30
	Sai số	22,00	0,14	0,01		
	<b>Dao động cá thể (Intrasubject CV)</b>			<b>7,88%</b>	<b>Power (%)</b>	<b>100,00</b>
$AUC_{inf}$	Trình tự thử	1,00	0,08	0,08	0,64	0,43
	Cá thể	22,00	2,70	0,12	18,05	$< 10^{-3}$
	Thuốc	1,00	0,001	0,001	0,01	0,92
	Giai đoạn	1,00	0,01	0,01	0,83	0,37
	Sai số	22,00	0,15	0,01		
	<b>Dao động cá thể (Intrasubject CV)</b>			<b>8,26%</b>	<b>Power (%)</b>	<b>100,00</b>

Kết quả phân tích phương sai cho thấy ảnh hưởng của các yếu tố trình tự, thuốc và giai đoạn không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) chứng tỏ yếu tố ngẫu nhiên và chuẩn hóa nghiên cứu đảm bảo yêu cầu. Khoảng tin cậy 90% của các tỷ số  $C_{max}$ ,  $AUC$  tính trên giá trị chuyên logarit tự nhiên nằm trong khoảng giới hạn quy định từ 80% đến 125%. Sai số  $\beta$  đạt kỳ vọng (giá trị Power =  $1-\beta > 80\%$ ).

Phân tích so sánh giá trị  $T_{max}$  của thuốc thử và thuốc đối chứng trên 24 NTN theo phương pháp thống kê phi tham số Wilcoxon được trình bày ở Bảng 3.

**Bảng 3.** Kết quả so sánh giá trị  $T_{max}$  theo phương pháp thống kê phi tham số

Mã NTN	$T_{max}$ (giờ)		Tỷ số T/R	Chênh lệch		Xếp hạng	
	Thuốc thử (T)	Thuốc đối chứng (R)		(+)	(-)	(+)	(-)
F01	1,33	2,00	0,67		0,67		11,5
F02	2,50	2,00	1,25	0,50		8,0	
F03	1,00	1,67	0,60		0,67		11,5
F04	2,00	2,50	0,80		0,50		8,0
F05	0,75	2,50	0,30		1,75		17,0
F06	1,33	1,33	1,00				
F07	0,75	1,00	0,75		0,25		2,0
F08	1,00	1,33	0,75		0,33		5,0
F09	2,50	0,50	5,00	2,00		18,0	

F10	1,00	1,00	1,00				
F11	1,33	2,00	0,67		0,67		11,5
F12	5,00	5,00	1,00				
F13	0,50	1,33	0,38		0,83		14,0
F14	1,67	2,00	0,84		0,33		5,0
F15	2,00	2,50	0,80		0,50		8,0
F16	1,00	2,50	0,40		1,50		15,5
F17	1,00	1,67	0,60		0,67		11,5
F18	1,33	1,00	1,33	0,33		5,0	
F19	0,75	1,00	0,75		0,25		2,0
F20	1,00	1,00	1,00				
F21	3,00	3,00	1,00				
F22	0,50	0,75	0,67		0,25		2,0
F23	5,00	1,33	3,76	3,67		19,0	
F24	1,00	2,50	0,40		1,50		15,5
<b>TB</b>	<b>1,64</b>	<b>1,81</b>	<b>1,07</b>		<b>Tổng</b>	<b>50,0</b>	<b>140,0</b>
<b>SD</b>	<b>1,22</b>	<b>0,96</b>	<b>1,07</b>				

Giá trị tra bảng ứng với số cặp sai khác  $N = 19$  là 46 ở mức tin cậy 95%. Tổng thứ hạng dương và âm đều lớn hơn giá trị tra bảng. Do vậy,  $T_{\max}$  của thuốc thử và thuốc đối chứng khác nhau không có ý nghĩa thống kê ở mức tin cậy 95%.

#### 4. Kết luận

Thuốc thử và thuốc đối chứng có thời gian đạt đến nồng độ cực đại trong huyết tương khác nhau không có ý nghĩa thống kê và khoảng tin cậy 90% của các tỷ số  $C_{\max}$ , AUC giữa thuốc thử với thuốc đối chứng nằm trong giới hạn 80 - 125%. Viên nén methylprednisolon 16 mg sản xuất tại Việt Nam tương đương sinh học với viên nén Medrol® 16 mg do công ty Pfizer Italia Srl, Ý sản xuất. Thuốc thử sản xuất tại Việt Nam có đủ các dữ liệu khoa học về sinh khả dụng và tương đương sinh học, thay thế được thuốc biệt dược gốc trong điều trị lâm sàng theo quy định của cơ quan quản lý.

#### Tài liệu tham khảo

1. Bộ Y tế (2015), *Dược thư Quốc gia Việt Nam*, lần xuất bản thứ hai. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật – Hà Nội, trang 969-971.
2. Bộ Y tế (2018), *Thông tư số 29/2018/TT-BYT: Quy định về thử thuốc trên lâm sàng*.
3. Tạ Mạnh Hùng, Nguyễn Thị Dung, Nguyễn Thị Hồng Hạnh (2017), “Định lượng methylprednisolon trong huyết tương người bằng phương pháp UPLC-MS/MS”. *Tạp chí Dược học*, số 491, tr. 77 – 79.
4. European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Human Use (2012): *Guideline on Validation of Bioanalytical Methods*.
5. European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Human Use (2010): *Guideline on the investigation of Bioequivalence*.
6. Karalis V., Macheras P., (2013): “An insight into the properties of a two-stage design in bioequivalence studies”. *Pharm Res.* 30(7):1824-35.
7. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (2018): *Bioanalytical Method Validation - Guidance for Industry*.
8. US-FDA-Guidance for Industry (2003): *Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products-General Considerations*.

9. Geister, Ursula, Guserle, Richard, Bungers (2000), "Bioavailability investigation of two different oral formulations of methylprednisolone". *Arzneimittelforschung*, vol. 50, no 03, pp. 286-292.

### SUMMARY

The bioavailability and bioequivalence of the two preparations of Methylprednisolon tablets were evaluated by a two-way cross-over randomized study, in 24 Vietnamese healthy volunteers after a single oral dose. Plasma samples which collected at given intervals of time after administration (0-12h), were assayed by high pressure liquid chromatography with positive turbo ion spray ionization tandem mass spectrometry detection. The pharmacokinetic parameters, area under the curve total ( $AUC_t$ ) and to infinity ( $AUC_{inf}$ ), peak plasma concentration ( $C_{max}$ ), time to attain peak ( $T_{max}$ ), and elimination half-life ( $t_{1/2}$ ) were determined and analyzed statistically. No statistical significant differences were observed for  $C_{max}$  and AUC. 90% confidence limits calculated for AUC and  $C_{max}$  of Methylprednisolon were included in the bioequivalence range (0.8 - 1.25). This study shows that the test formulation is bioequivalent to the reference formulation.

(Ngày nhận bài: 01/10/2019 ; Ngày phản biện: 24/10/2019 ; Ngày duyệt đăng: 23/12/2019)

## SO SÁNH MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CỦA HAI LOÀI TÂM GỬI ĐƯỢC DÙNG DƯỚI TÊN DƯỢC LIỆU TANG KÝ SINH

BẠCH THỊ THẨM, VŨ TRỌNG KHOA, LÊ THỊ TUYẾT, ĐỖ THỊ THÚY PHƯƠNG,  
TRẦN THỊ THU TRANG, NGUYỄN TUẤN ANH  
Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương

**Từ khóa:** Tang ký sinh, Tâm gửi, Dâu tằm, loranthus, quercitrin

### 1. Đặt vấn đề

Tang ký sinh là loài tâm gửi thuộc chi *Loranthus* sống ký sinh trên cây Dâu tằm (*Morus alba* L.), họ Dâu tằm (Moraceae), là một vị dược liệu được sử dụng rộng rãi với nhiều công dụng: Chữa phong thấp, mạnh gân xương, an thai, lợi sữa, kích thích tạo máu, chữa tăng huyết áp,...[5]. Hai loài Tâm gửi dùng dưới tên Tang ký sinh gồm [*Loranthus paraciticus* (L.) Merr hay *Taxillus paraciticus* (L.) S.T.Chiu] (Theo Dược điển Việt Nam V) và [*Taxillus chinensis* (DC.) Danser] (Theo Dược điển Trung Quốc và Hong Kong Chinese Materia Medica Standards) [2],[8],[10].

Bên cạnh đó, việc sử dụng nhầm lẫn một số loài Tâm gửi khác với dược liệu Tang ký sinh đang trở nên phổ biến. Do đó việc đưa ra bộ dữ liệu chuẩn và so sánh một số đặc điểm của hai loài dùng dưới tên dược liệu Tang ký sinh có ý nghĩa thiết thực cho công tác kiểm tra và quản lý chất lượng dược liệu Tang ký sinh hiện nay.

### 2. Thực nghiệm

#### 2.1. Thiết bị, hóa chất, chất chuẩn

##### 2.1.1. Thiết bị, dụng cụ

Các thiết bị, dụng cụ của Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương (Đã được hiệu chuẩn theo quy định của ISO/IEC 170125 và GLP) gồm:

- Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Hitachi với detector DAD.
- Kính hiển vi trường sáng phân cực Olympus BX53.
- Cân phân tích Melder Toledo AB-2S, độ chính xác 0,1 mg.
- Cột RP18 Inertsil ODS-3 (250 x 4,6 mm; 5  $\mu$ m).
- Các dụng cụ thủy tinh cần thiết cho quá trình thực nghiệm.

##### 2.1.2. Hóa chất, dung môi, chất chuẩn

- Chất chuẩn: Quercitrin, số lô: 111538-201105, hàm lượng: 100% (nguyên trạng), nguồn gốc: NIFDC-PRC.

- Các hóa chất, dung môi:

+ Acid formic, 2 - aminoethyl diphenyl borinat, acid phosphoric, butan-2-on, ethyl acetat, polyethylen glycol 400, natri dihydrophosphat: Đạt tinh khiết phân tích.

+ Acetonitril, methanol: Đạt tiêu chuẩn tinh khiết dùng cho HPLC.

## 2.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Đối tượng nghiên cứu

Các mẫu Tầm gửi được dùng dưới tên Tang ký sinh (Mã hóa lần lượt là mẫu A và mẫu B).

**Mẫu A:** Dược liệu là những đoạn thân cành và lá đã phơi khô, lấy từ cây Tầm gửi [*Loranthus paraciticus* (L.) Merr. hay *Taxillus paraciticus* (L.) S.T.Chiu], họ Tầm gửi (Loranthaceae), sống kí sinh trên cây Dâu tằm (*Morus alba* L.), họ Dâu tằm (Moraceae) do Bộ môn Thực vật – Trường Đại học Dược Hà Nội định danh và cung cấp.

**Mẫu B:** Dược liệu là những đoạn thân cành và lá đã phơi khô, lấy từ cây Tầm gửi [*Taxillus chinensis* (DC.) Danser], ký sinh trên cây Dâu tằm (*Morus alba* L.), họ Dâu tằm (Moraceae) chuẩn Dược điển Trung Quốc.

### 2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.2.1. Định tính dược liệu bằng kính hiển vi

Tiến hành theo phụ lục 12.18 – Dược điển Việt Nam V.

#### 2.2.2.2. Phương pháp sắc ký lớp mỏng

- **Bản mỏng:** Silica gel 60 F254 (Merck), hoạt hóa ở 100 °C trong 30 phút.

- **Dung môi khai triển:** Ethyl acetat - butan-2-on - acid formic - nước (24 : 3,6 : 1,5 : 0,9) (tt/tt).

- **Thuốc thử hiện vết:**

**Thuốc thử (1):** Dung dịch 2-aminoethyl diphenyl borinat trong methanol nồng độ 10 mg/ml.

**Thuốc thử (2):** Dung dịch PEG 400 trong methanol nồng độ 50 mg/ml.

- **Dung dịch thử:** Lấy 1 g bột dược liệu (Đã qua rây 250 µm), thêm 15 ml methanol 50%, lắc siêu âm 30 phút, ly tâm, gạn dịch ly tâm, lọc qua giấy lọc được dung dịch chấm sắc ký.

- **Dung dịch chuẩn:** Dung dịch quercitrin 0,1 mg/ml trong methanol.

**Tiến hành:** Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 8 cm, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, sấy bản mỏng ở 110°C trong 5 phút rồi phun thuốc thử (1), sau đó phun ngay thuốc thử (2). Để khô bản mỏng, quan sát

bản mỏng dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 366 nm.

#### 2.2.2.3. Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao

- Cột RP18 Inertsil ODS-3 (250 x 4,6 mm; 5 µm).

- Pha động:

**Dung môi A:** Acetonitril.

**Dung môi B:** Dung dịch natri dihydrophosphat 1 mM.

**Chương trình dung môi:**

Thời gian (phút)	% Dung môi A (tt/tt)	% Dung môi B (tt/tt)
0 → 25	5 → 15	95 → 85
25 → 35	15 → 19	85 → 81
35 → 60	19	81
60 → 61	19 → 5	81 → 95
61 → 70	5	95

- Tốc độ dòng: 1,0 ml/phút.

- Detector DAD ở bước sóng 256 nm.

- Thể tích tiêm: 10 µl

**Chuẩn bị các dung dịch:**

- **Dung dịch thử:** Cân chính xác khoảng 1,0 g bột dược liệu (Đã qua rây 250 µm), thêm 10 ml methanol 50%, lắc siêu âm 30 phút, ly tâm dịch chiết, chuyển dịch chiết vào bình định mức 25 ml, lặp lại quá trình chiết trên 1 lần, gộp các dịch chiết vào bình định mức, vừa đủ đến vạch bằng methanol 50%, lắc đều và lọc qua màng 0,45 µm được dung dịch tiêm sắc ký.

- **Dung dịch chuẩn:** Hòa tan quercitrin chuẩn trong methanol để được dung dịch chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 0,05 mg/ml.

Tiêm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch chuẩn và các dung dịch thử vào máy sắc ký. Tiến hành sắc ký theo điều kiện đã nêu, ghi lại thời gian lưu, diện tích của các pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

## 3. Kết quả và bàn luận

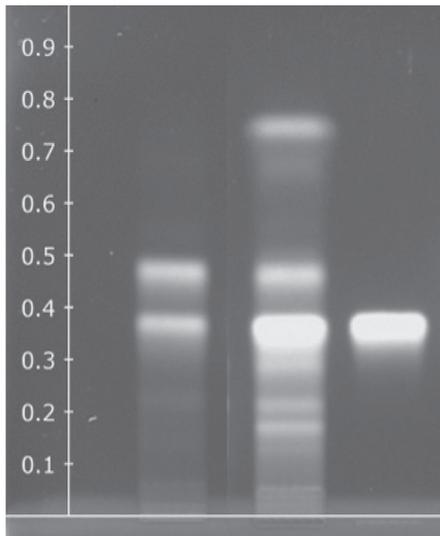
### 3.1. Phân tích đặc điểm bột dược liệu bằng kính hiển vi

Quan sát các đặc điểm bột của hai mẫu nghiên cứu A&B dưới kính hiển vi thấy: Mảnh bản, mảnh biểu bì chứa lỗ khí, mảnh mô mềm gồm những tế bào to, thành mỏng. Tế bào mô cứng thành dày có chứa tinh thể calci oxalat. Sợi riêng lẻ hay tập trung thành từng đám. Mảnh mạch điểm, mạch vạch, mạch vòng. Tinh thể calci oxalat hình khối, lông che chở hình sao.



### 3.2. Sắc ký lớp mỏng (TLC)

Tiến hành chạy sắc ký lớp mỏng hai mẫu nghiên cứu A và B theo điều kiện đã chọn (Mục 2.2.2.2) thu được hình ảnh sắc ký lớp mỏng (Hình 2).



Mẫu A    Mẫu B    Quercitrin

**Hình 2.** Sắc ký đồ lớp mỏng Mẫu A (*T. Paraciticus*) và Mẫu B (*T. Chinensis*)

Trên sắc ký đồ thu được, các vết tách rõ ràng, cả hai mẫu A và B đều có vết phát quang quercitrin màu vàng ở  $R_f$  khoảng 0,35. Mẫu B (*T. Chinensis*) cho các vết phát quang màu xanh dương và màu vàng khác biệt với Mẫu A (*T. Paraciticus*), từ đó làm cơ sở cho việc phân biệt

hai loài Tầm gửi *T. Chinensis* và *T. Paraciticus*. Kết quả được tổng kết tại Bảng 1.

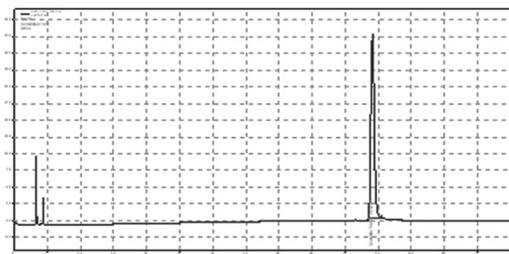
**Bảng 1.** Bảng so sánh giá trị  $R_f$  và màu sắc của các vết trên sắc ký đồ lớp mỏng

STT	Vị trí vết ( $R_f$ )	Màu sắc	<i>T. Paraciticus</i>	<i>T. Chinensis</i>
1	0,14	Xanh dương		+
2	0,18	Vàng	+	++
3	0,22	Vàng	+	++
4	0,28	Vàng		+
5	0,35 (Quercitrin)	Vàng	++	+++
6	0,48	Vàng	++	++
7	0,50	Xanh dương		++
8	0,55	Vàng nhạt	+	
9	0,66	Xanh dương		++
10	0,68	Vàng nhạt	+	
11	0,75	Xanh dương		++

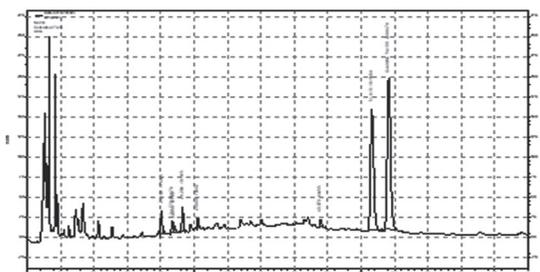
### 3.3. Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)

Tiến hành chạy sắc ký lỏng mẫu nghiên cứu A và B theo điều kiện đã chọn ở mục 2.2.2.3.

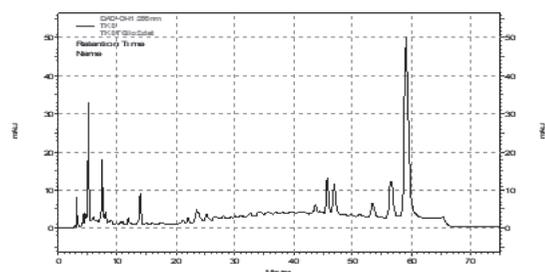
Kết quả thể hiện ở Hình 3, Hình 4 và Hình 5.



**Hình 3.** Sắc ký đồ của dung dịch quercitrin



**Hình 4.** Sắc ký đồ Mẫu A (*T. Paraciticus*)



**Hình 5.** Sắc ký đồ Mẫu B (*T. Chinensis*)

Trên sắc ký đồ HPLC thu được, các pic tách rõ ràng, cả hai Mẫu A (*T. Paraciticus*) và Mẫu B (*T. Chinensis*) đều có pic quercitrin (có thời gian lưu khoảng 54,1 phút). Các pic trên hai mẫu Tầm gửi A và B được tổng kết tại Bảng 2.

**Bảng 2.** Bảng tập hợp thời gian lưu tương đối của các pic trên hai mẫu Tầm gửi

STT	Thời gian lưu tương đối	Tên pic đánh dấu	<i>T. paraciticus</i>	<i>T. chinensis</i>
1	0,23		+	+
2	0,40		+	
3	0,42		+	
4	0,47		+	
5	0,76			+
6	0,81		+	+
7	0,90			+
8	0,95		++	+
9	<b>1,0</b>	<b>Quercitrin</b>	+	+

Trên sắc ký đồ thu được từ hai mẫu Tầm gửi A và B cho các pic khác biệt là dữ liệu có thể phân biệt được hai loài Tầm gửi *T. Paraciticus* và *T. Chinensis*.

#### 4. Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng được bộ dữ liệu bao gồm hình ảnh các đặc điểm về bột, sắc ký lớp mỏng và sắc ký lỏng hiệu năng cao của hai loài *Taxillus paraciticus* (L.) S.T. Chiu và *Taxillus chinensis* (DC.) Danser, họ Tầm gửi (Loranthaceae), sống kí sinh trên cây Dâu tằm (*Morus alba* L.), họ Dâu tằm (Moraceae). Kết quả đã góp phần xác định và xây dựng bộ dữ liệu hoàn chỉnh của hai loài Tầm gửi *T. Paraciticus* và *T. Chinensis* đang được sử dụng hiện nay.

#### Tài liệu tham khảo

- Bộ môn dược liệu, Trường Đại học Dược Hà Nội (2007), *Bài giảng dược liệu*, tập 1, Nhà xuất bản Y học.
- Bộ Y tế (2017), *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học.
- Bộ Y tế (2009), *Nghiên cứu phát triển bộ dữ liệu chuẩn của một số dược liệu thường dùng phục vụ công tác kiểm tra giám sát chất lượng dược liệu và thuốc đông dược*, Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, Hà Nội.
- Bộ Y tế (2006), *Nghiên cứu tiêu chuẩn hóa dược liệu bằng sắc ký lỏng cao áp với kỹ thuật điểm chỉ vân tay*, Viện Dược liệu, Hà Nội.
- Đỗ Tất Lợi (1999), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học.
- Viện Dược liệu (2006), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật Hà Nội.
- Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương (2016), *Nhận biết và xác định dấu vân tay sắc ký của một số dược liệu thường dùng*, Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam.
- Chinese Pharmacopoeia Commission*, Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2015).
- Hildebert Wagner, Rudolf Bauer, Dieter Melchart, Pei-Gen Xiao, Anton Staudinger, *Chromatographic Fingerprint Analysis of Herbal Medicines: Thin-layer and High Performance Liquid Chromatography of Chinese Drugs vol 3*, Springer (2015).
- Hong Kong Chinese Materia Standards, Department of Health, The Government of Hong Kong Special Administrative Region.

#### SUMMARY

*Establish a data include images of powder, TLC, HPLC about Taxillus paraciticus (L.) S.T. Chiu and Taxillus chinensis (DC.) Danser (Fam. Loranthaceae), this plant mainly parasitizes on the host plant of Morus alba L. The results are useful to determine and establish complete data about two samples Herba Taxillus paraciticus (L.) S.T. Chiu and Herba Taxillus chinensis (DC.) Danser.*

(Ngày nhận bài: 04/12/2018 ; Ngày phản biện: 15/12/2018 ; Ngày duyệt đăng: 05/07/2019)

## THUỐC KHÔNG ĐẠT CHẤT LƯỢNG ĐÃ ĐƯỢC BỘ Y TẾ XỬ LÝ TỪ 01/06/2019 ĐẾN 30/11/2019

*HÀ THỊ MINH CHÁU*  
*Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương*

Để tăng cường giám sát các cơ sở sản xuất, kinh doanh trong việc thực hiện thu hồi thuốc vi phạm chất lượng, đồng thời giúp cho các đồng nghiệp có thêm thông tin về những hoạt chất và các tên thuốc cần lưu ý về chất lượng, chúng tôi tập hợp danh mục các thuốc vi phạm chất lượng từ 01/06/2019 đến 30/11/2019 mà Bộ Y tế đã ra văn bản thông báo thuốc giả, thuốc bị thu hồi, rút số đăng ký của thuốc và đình chỉ lưu hành: 35 thuốc bị đình chỉ và thu hồi, rút số đăng ký của 23 thuốc.

Chi tiết về danh mục thuốc xin xem ở Bảng dưới đây:

### Danh mục đình chỉ lưu hành thuốc từ ngày 01/06/2019 đến ngày 30/11/2019

STT	Tên thuốc	Số lô	Ngày sản xuất	Hạn dùng	Số đăng ký	Tên cơ sở sản xuất	Tên cơ sở đơn vị nhập khẩu	Chỉ tiêu không đạt	Văn bản xử lý	Hình thức xử lý
1	Viên nang Nguyệt Quý	010518	09/05/2018	09/05/2020	VD-23564-15	Công ty Cổ phần Dược phẩm Hoa Việt		Định tính Xuyên khung	Công văn: số 8650/QLD-CL ngày 06/06/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Hà Nội
2	Viên nang pms - Lansoprazole 30	00118	30/01/2018	30/01/2020	VD-18739-13	Công ty Cổ phần Dược phẩm Imexpharm		Độ hòa tan	Công văn: số 9221/QLD-CL ngày 13/06/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn tỉnh Thanh Hóa
3	Viên nén bao phim Clavophynamox 1000	K026	14/01/2018	13/01/2020	VN-20275-17	Flemingo Pharmaceuticals Ltd. (India)	Công ty Cổ phần Dược Đại Nam	Độ hòa tan	Công văn: số 9222/QLD-CL ngày 13/06/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Hà Nội
4	Viên bao đường Hoạt huyết dưỡng não	1805	24/08/2018	24/08/2020	VD-27119-17	Công ty Cổ phần Dược phẩm Trường Thọ		Định lượng	Công văn: số 9271/QLD-CL ngày 14/06/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Hà Nội
5	Viên nang mềm Actiso PV	0217	01/11/17	31/10/20	VD-28159-17	Công ty Cổ phần Dược Phúc Vinh		Độ rã	Công văn: số 9453/QLD-CL ngày 18/06/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Tp. Cẩm Phả, tỉnh Quảng Ninh
6	Viên nén Acigmentin 1000	0250418	20/04/2018	20/4/2021	VD-21216-14	Công ty Cổ phần Dược Minh Hải		Độ hòa tan	Công văn: số 10205/QLD-CL ngày 26/06/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Tp. Hồ Chí Minh

7	Viên nang cứng Amoxycilin 500mg	160119	16/01/2019	16/01/2022	VD-20472-14	Chi nhánh Công ty CPDP Trung ương Vidipha Bình Dương		Độ hòa tan	Công văn: số 10218/QLD-CL ngày 27/06/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Tp. Hồ Chí Minh
8	Viên nén Alphachymotrypsin 4200 đơn vị	411217	29/12/2017	29/12/2020	VD-22400-15	Công ty Cổ phần Dược phẩm Đồng Nai		Định lượng	Công văn: số 11100/QLD-CL ngày 05/07/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn toàn quốc
9	Midampi 500/250	010618	16/06/18	16/06/20	VD-27951-17	Công ty Cổ phần Dược phẩm Minh Dân		Định lượng; Độ hòa tan	Công văn: số 11312/QLD-CL ngày 10/07/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn tỉnh Quảng Ninh
10	Thuốc cốm Virvic gran	17004	03/03/2017	02/03/2020	VN-15912-12	Binex Co., Ltd. (Korea)	Công ty Cổ phần Dược phẩm Vinh Phúc	Định lượng	Công văn: số 12723/QLD-CL ngày 26/07/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Thành phố Hà Nội
11	Dung dịch thuốc tiêm Netilmicin 300mg/3ml	010117	12/01/2017	12/01/2020	VD-25727-16	Công ty Cổ phần Dược phẩm Minh Dân		Màu sắc dung dịch	Công văn: số 13425/QLD-CL ngày 12/08/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Thành phố Hà Nội
12	Dung dịch thuốc tiêm Netilmicin 300mg/3ml	020117	13/01/2017	13/01/2020	VD-25727-16	Công ty Cổ phần Dược phẩm Minh Dân		Màu sắc dung dịch	Công văn: số 13425/QLD-CL ngày 12/08/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Thành phố Hà Nội
13	Dung dịch thuốc tiêm Netilmicin 300mg/3ml	010318	25/03/2018	15/03/2018	VD-25727-16	Công ty Cổ phần Dược phẩm Minh Dân		Màu sắc dung dịch	Công văn: số 13425/QLD-CL ngày 12/08/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Thành phố Hà Nội
14	Viên bao đường Promethazin	0020318A		020321	VD-19300-13	Công ty Cổ phần Dược phẩm 219 - Nadyphar		Độ hòa tan	Công văn: số 14055/QLD-CL ngày 19/08/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu
15	Viên nén Sebemin	SDM1711	24/10/2017	23/10/2020	VN-14320-11	Crown Pharm. Co. Ltd. (Korea)	Công ty Cổ phần Dược liệu TW2 (Phytopharma)	Định lượng	Công văn: số 14936/QLD-CL ngày 29/08/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn toàn quốc
16	Viên nang mềm Livetin-EP	2320193	10/1/2019	09/01/2022	VN-16217-13	Korea E-Pharm Inc. (Korea)	Công ty TNHH Xuất nhập khẩu Y tế Delta	Định lượng	Công văn: số 15403/QLD-CL ngày 09/09/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Thành phố Hà Nội
17	Thuốc cốm Virvic gran	17004	03/03/2017	02/03/2020	VN-15912-12	Binex Co., Ltd. (Korea)	Công ty Cổ phần Dược phẩm Vinh Phúc	Định lượng	Công văn: số 15582/QLD-CL ngày 11/09/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn toàn quốc
18	Viên nén bao phim Danapha-Telfadin	080518	02/07/2018	02/07/2021	VD-24082-16	Công ty Cổ phần Dược Danapha		Độ hòa tan	Công văn: số 15768/QLD-CL ngày 12/09/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn tỉnh Lào Cai

19	Viên nén bao phim Clavophynamox 1000	K026	14/01/2018	13/01/2020	VN-20275-17	Flamingo Pharmaceuticals Ltd. (India)	Công ty Cổ phần Dược Đại Nam	Độ hòa tan	Công văn: số 16457/QLD-CL ngày 23/09/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Hà Nội
20	Viên nang mềm Aciclovir 400mg	050918	24/09/18	24/09/21	VD-24375-16	Công ty Cổ phần Dược Vật tư Y tế Hải Dương		Độ hòa tan	Công văn: số 16461/QLD-CL ngày 23/09/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn tỉnh Hòa Bình
21	Viên nén bao phim Desratel	190157		09/02/2022	VD-28452-17	Công ty Cổ phần Dược phẩm Đạt Vi Phú		Định lượng	Công văn: số 16811/QLD-CL ngày 02/10/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn toàn quốc
22	Viên nén dài bao phim Cetirizin	002171		14/4/2020	VD-19303-13	Công ty Cổ phần Dược phẩm 3/2		Độ hòa tan	Công văn: số 16912/QLD-CL ngày 03/10/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn toàn quốc
23	Viên nén bao phim Nystatab	030718	16/07/2018	16/07/2020	VD-24708-16	Công ty Cổ phần Dược phẩm Agimexpharm		Định lượng	Công văn: số 17088/QLD-CL ngày 04/10/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Tp. Hồ Chí Minh
24	Viên nén bao phim Clarividi 250	111118	19/11/2018	19/11/2021	VD-16044-11	Công ty Cổ phần Dược phẩm Trung ương Vidipha		Độ hòa tan	Công văn: số 17344/QLD-CL ngày 10/10/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Tp. Hồ Chí Minh
25	Viên nén Methylprednisolone 16mg	804060	20.04.2018	20.04.2021	VD-19224-13	Công ty TNHH Dược phẩm USA-NIC		Độ hòa tan	Công văn: số 17364/QLD-CL ngày 11/10/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn toàn quốc
26	Viên nén bao phim AMK 625	99R002	09/04/2018	09/04/2020	VN-10135-10	R.X Manufacturing Co., Ltd. (Thailand)		Độ hòa tan	Công văn: số 17610/QLD-CL ngày 16/10/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn toàn quốc
27	Viên nang mềm Halaxamus	6880119	11/6/2019	11/6/2022	VD-25911-16	Chi nhánh Công ty Cổ phần Dược phẩm Phong Phú - Nhà máy sản xuất dược phẩm Usaticpharm		Tính chất; Định lượng; Độ đồng đều khối lượng	Công văn: số 17995/QLD-CL ngày 18/10/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn toàn quốc
28	Viên nén bao phim Ibucine	906019	20/6/2019	20/6/2022	VD-25569-16	Công ty TNHH Dược phẩm USA-NIC		Tạp chất liên quan; Độ hòa tan	Công văn: số 18716/QLD-CL ngày 01/11/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn toàn quốc
29	Thuốc kem bôi da Promethazin 2%	030318	05/03/2018	05/03/2020	VD-18771-13	Công ty Cổ phần Dược phẩm Trung ương Vidipha		Tính chất; Độ đồng nhất	Công văn: số 18894/QLD-CL ngày 07/11/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Hà Nội
30	Viên nang mềm Livetin-EP	2320193	10/01/2019	09/01/2022	VN-16217-13	Korea E-Pharm Inc. (Korea)	Công ty TNHH Xuất nhập khẩu Y tế Delta	Định lượng	Công văn: số 19506/QLD-CL ngày 18/11/2019	Đình chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn toàn quốc

31	Viên nang mềm Aciclovir 400mg	050918	240918	240921	VD-24375-16	Công ty Cổ phần Dược Vật tư Y tế Hải Dương		Độ hòa tan	Công văn: số 19664/ QLD-CL ngày 21/11/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn toàn quốc
32	Viên nén Ceteco Melocen 7,5	01/280318		280321	VD-20132-13	Công ty Cổ phần Dược Trung ương 3		Độ hòa tan	Công văn: số 19781/ QLD-CL ngày 25/11/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn toàn quốc
33	Viên nang cứng Myleran 400	1804001	03/04/2018	03/04/2021	VD-24461-16	Công ty Cổ phần S.P.M		Tạp chất liên quan	Công văn: số 19938/ QLD-CL ngày 27/11/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Tp. Cần Thơ
34	Viên nén Alphachymotrypsin	214719	11/3/2019	10/3/2021	VD-18417-13	Công ty Cổ phần Dược Trung ương Mediplantex		Định lượng	Công văn: số 19940/ QLD-CL ngày 27/11/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn Hà Nội
35	Viên nén Young II Captopril Tablet	1801	29/6/2018	28/6/2021	VN-20970-18	Young IL Pharm. Co., Ltd. (Korea)	Công ty TNHH MTV Dược Sài Gòn	Định lượng; Giới hạn captopril disulfid; Độ hòa tan	Công văn: số 19942/ QLD-CL ngày 27/11/2019	Định chỉ lưu hành và thu hồi trên địa bàn toàn quốc

### Danh mục thuốc bị rút số đăng ký từ ngày 01/06/2019 đến ngày 30/11/2019

STT	Tên thuốc	Số đăng ký	Tên cơ sở sản xuất	Tên cơ sở đăng ký	Văn bản xử lý	Hình thức xử lý
1	Viên nén bao phim Décontractyl	VD-27590-17	Công ty TNHH Sanofi-Aventis Việt Nam	Công ty TNHH Sanofi-Aventis Việt Nam	Quyết định số 427/QĐ-QLD ngày 23/7/2019	Rút SDK tự nguyện
2	Viên nén bao phim Décontractyl	VD-26017-16	Như trên	Như trên	Như trên	Như trên
3	Viên nén bao phim Décontractyl	VD-28320-17	Công ty Cổ phần Sanofi Việt Nam	Công ty Cổ phần Sanofi Việt Nam	Như trên	Như trên
4	Viên nén bao phim Décontractyl	VD-28321-17	Như trên	Như trên	Như trên	Như trên
5	Viên nén bao phim Theralene	VD-23403-15	Công ty TNHH Sanofi-Aventis Việt Nam	Công ty TNHH Sanofi-Aventis Việt Nam	Quyết định số 428/QĐ-QLD ngày 23/7/2019	Rút SDK tự nguyện
6	Viên nén Paracetamol Choay	VD-26617-17	Như trên	Như trên	Như trên	Như trên

7	Thuốc bột uống Sorbitol	VD-26618-17	Như trên	Như trên	Như trên	Như trên
8	Viên nén bao phim Flagyl 250mg	VD-23402-15	Như trên	Như trên	Như trên	Như trên
9	Kem bôi ngoài da Phenergan	GC-295-18	Công ty Cổ phần Dược phẩm Sanofi - Synthelabo Việt Nam	Như trên	Như trên	Như trên
10	Viên nén Paracetamol winthrop	GC-236-15	Như trên	Như trên	Như trên	Như trên
11	Thuốc nước dùng ngoài Lactacyd BB	VD-21888-14	Như trên	Công ty Cổ phần Dược phẩm Sanofi - Synthelabo Việt Nam	Như trên	Như trên
12	Bột pha tiêm Fordamet	VN-19495-15	Medochemie - Factory C	Medochemie Ltd.	Như trên	Như trên
13	Viên nén bao phim Lodoz 5mg/6,25mg	VN-18561-14	Merck KGaA	Merck Export GmbH	Như trên	Như trên
14	Viên nén bao phim Lodoz 2.5mg/6,25mg	VN-18560-14	Như trên	Như trên	Như trên	Như trên
15	Viên nén bao phim Lodoz 10mg/6,25mg	VN-18559-14	Như trên	Như trên	Như trên	Như trên
16	Viên nén bao phim Zocor 20mg	VN-20813-17	Merck Sharp & Dohme (Asia) Ltd.	Merck Sharp & Dohme Ltd.	Như trên	Như trên
17	Viên nén bao phim Zocor 20mg	VN-19264-15	Merck Sharp & Dohme (Asia) Ltd. (đồng gói và xuất xưởng tại PT Merck Sharp Dohme Pharma Tbk.)	Như trên	Như trên	Như trên
18	Viên nén bao phim Zocor 10mg	VN-19263-15	Như trên	Như trên	Như trên	Như trên
19	Viên nén Renitec 5mg	VN-19708-16	Như trên	Như trên	Như trên	Như trên
20	Viên nén bao phim Ammoclon	VN-19179-15	Shanxi Xinyitong Pharmaceutical Co. Ltd	Harbin Pharmaceutical Group Co. Ltd. General Pharm. Factory	Như trên	Như trên
21	Dung dịch truyền tĩnh mạch Penemil	VN-16695-13	Jiangsu Sihuan Bioengineering Co. Ltd.	Il-Yang Pharm Co. Ltd.	Như trên	Như trên
22	Bột pha tiêm DBL Meropenem for Injection 1g	VN-12312-11	Hospira healthcare India Pvt. Ltd.	Pfizer (Thailand) Ltd.	Như trên	Như trên
23	Bột pha tiêm DBL Meropenem for Injection 500mg	VN-12313-11	Như trên	Như trên	Như trên	Như trên

## MỤC LỤC

	<i>Trang</i>
<b>● Nghiên cứu khoa học</b>	
- Nghiên cứu định lượng Deflazacort trong viên nén Miacort 6 mg bằng phương pháp HPLC. <i>MÃ VÂN KIỀU, VŨ THỊ THU CHUNG, TRẦN THỊ BÍCH VÂN</i>	1
- Định lượng đồng thời Colecalciferol và Benzyl alcol trong dung dịch thuốc uống Vitamin D <sub>3</sub> bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao. <i>NGUYỄN THỊ HẰNG, TRẦN THÚY HẠNH</i>	6
- Xây dựng và thẩm định quy trình HPLC định tính, định lượng Baicalin trong nguyên liệu Baicalin chiết xuất, phân lập từ dược liệu Hoàng cầm. <i>BẠCH THỊ THẨM, LÊ THỊ TUYẾT, TRẦN THỊ THU TRANG</i>	12
- Nghiên cứu sinh khả dụng và đánh giá tương đương sinh học viên nén Methylprednisolon 16 mg sản xuất tại Việt Nam. <i>TẠ MẠNH HÙNG, LÊ THỊ THU HUYỀN, TRẦN HOÀNG, ĐỖ QUỲNH NGÂN, TRỊNH MẠNH HÙNG, ĐOÀN CAO SƠN</i>	17
- So sánh một số đặc điểm của hai loài Tầm gửi được dùng dưới tên dược liệu Tang ký sinh. <i>BẠCH THỊ THẨM, VŨ TRỌNG KHOA, LÊ THỊ TUYẾT, ĐỖ THỊ THÚY PHƯƠNG, TRẦN THỊ THU TRANG, NGUYỄN TUẤN ANH</i>	22
<b>● Thông tin khoa học - Tin tức</b>	
- Thuốc không đạt chất lượng đã được Bộ Y tế xử lý từ tháng 6/2019 đến tháng 11/2019. <i>HÀ THỊ MINH CHÂU</i>	27

## CONTENTS

	<i>Trang</i>
<b>● Scientific researches</b>	
- Study on determination of Deflazacort in Miacort 6 mg tablets by HPLC method. <i>MÃ VÂN KIỀU, VŨ THỊ THU CHUNG, TRẦN THỊ BÍCH VÂN</i>	1
- Simultaneous assay of Colecalciferol and Benzyl alcohol in oral solution of Vitamin D <sub>3</sub> by High Performance Liquid Chromatography method. <i>NGUYỄN THỊ HẰNG, TRẦN THÚY HẠNH</i>	6
- Development and validation of HPLC method for identification and determination of Baicalin in Baicalin material extracted, isolation from “Hoàng Cầm – <i>Radix Scutellariae</i> ” medicinal herbs. <i>BẠCH THỊ THẨM, LÊ THỊ TUYẾT, TRẦN THỊ THU TRANG</i>	12
- Study on bioavailability and assess bioequivalence for Methylprednisolon 16 mg tablets manufactured in Vietnam. <i>TẠ MẠNH HÙNG, LÊ THỊ THU HUYỀN, TRẦN HOÀNG, ĐỖ QUỲNH NGÂN, TRỊNH MẠNH HÙNG, ĐOÀN CAO SƠN</i>	17
- Compare some characteristics of two species of <i>Herba Loranthe</i> (Tầm gửi) used under the name of “Tang ký sinh – <i>Herba Loranthe gracilifoli</i> ” medicinal herbs. <i>BẠCH THỊ THẨM, VŨ TRỌNG KHOA, LÊ THỊ TUYẾT, ĐỖ THỊ THÚY PHƯƠNG, TRẦN THỊ THU TRANG, NGUYỄN TUẤN ANH</i>	22
<b>● Technical information – News</b>	
- Substandard pharmaceuticals recalled from June 2019 to November 2019 on decision of Ministry of Health. <i>HÀ THỊ MINH CHÂU</i>	27