BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC DƯỢC HÀ NỘI

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

TRÍCH YẾU LUẬN ÁN

1. Tóm tắt mở đầu

Tên tác giả: Đào Thị Cẩm Minh

Tên luận án: "**Xây dựng quy trình xác định một số tân dược trộn trái phép trong chế phẩm đông dược"**

Chuyên ngành: Kiểm nghiệm thuốc và độc chất

Mã số: 62720410

Tên cơ sở đào tạo: Trường Đại học Dược Hà Nội

2. Nội dung trích yếu

2.1. Mục tiêu của luận án

- Xây dựng quy trình định tính và định lượng nhóm giảm đau, chống viêm, giảm glucose máu, ức chế PDE-5 trộn trái phép trong chế phẩm đông dược bằng phương pháp sắc ký hai lần khối phổ (LC-MS/MS).

- Xây dựng quy trình phát hiện nhanh một số tân dược trên trộn trái phép trong chế phẩm đông dược bằng sắc ký lớp mỏng hiệu năng cao (HPTLC) và tán xạ Raman tăng cường bề mặt (SERS).

- Áp dụng các quy trình đã xây dựng để kiểm tra phát hiện một số tân dược trên trộn trái phép trong các chế phẩm đông dược đang lưu hành tại Việt Nam.

2.2. Nguyên liệu, trang thiết bị, đối tượng nghiên cứu và phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nguyên liệu trang thiết bị

- Chất chuẩn: betamethason (100,42%), dexamethason acetat (99,6%), hydrocortison acetat (99,5%), prednisolon (99,49%), prednison (99.19%), paracetamol (100,04%), piroxicam (99,49%), indomethacin (99.7%), ketoprofen (99,54%), glibenclamid (100,10%), glipizid (99,17%), glimepirid (99,49%), gliclazid (99,53%), sildenafil citrat (98,28%), and tadalafil hydroclorid (97,65%) của Viện Kiểm nghiệm thuốc TƯ và vardenafil hydroclorid (100,0%) của Hội

đồng Dược Điển Châu Âu. Dược liệu theo tiêu chuẩn Dược Điển Việt Nam; hóa chất và dung môi đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích hoặc LC-MS.

- Hệ thống sắc ký lỏng khối phổ LC-MS/MS BRUKER EVOQ Qube – Mỹ; cột sắc kí Ultra C18 (100 x 2,1 mm; 1,9µm), cột bảo vệ (10 x 4mm, 3 µm).

- Hệ thống quang phổ Raman, LabRam, Horiba Jobin Yvon, camera CCD, tia laser 632,8 nm (Pháp).

- Hệ thống sắc ký lớp mỏng hiệu năng cao HPTLC CAMAG, CAT No 027.6200 (Thuỵ Sỹ): bộ phận chấm bán tự động, bộ phận khai triển tự động, máy chụp ảnh. Phần mềm điều khiển winCAT và phần mềm video Scan của Camag: quét bản mỏng, thu nhận hình ảnh vết sắc ký, xử lý dữ liệu hình ảnh trên máy tính. Dụng cụ thí nghiệm thông dụng (micropipet, pipet thủy tinh chính xác, ống ly tâm, …)

2.2.2. Đối tượng nghiên cứu

- Mẫu thử: 184 chế phẩm đông dược, thực phẩm bảo vệ sức khỏe gồm 119 chế phẩm được sử dụng điều trị hoặc hỗ trợ điều trị các bệnh xương khớp; 41 chế phẩm được sử dụng hỗ trợ điều trị các bệnh tiểu đường, giúp ổn định đường huyết; 24 chế phẩm được sử dụng điều trị hoặc hỗ trợ điều trị các bệnh lý liệt dương, tăng cường sinh lý đang lưu hành tại Việt Nam; các chế phẩm này được mua tại các nhà thuốc, qua internet, lương y và người dùng nghi ngờ gửi đến.

- Mẫu placebo gồm 9 nền mẫu có thành phần dựa trên các bài thuốc cổ truyền. Nền mẫu được bổ sung thêm tá dược và bào chế tại phòng nghiên cứu phát triển sản phẩm công ty cổ phần Traphaco.

2.2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Xây dựng quy trình định tính, định lượng một số tân dược trộn trái phép trong chế phẩm đông dược bằng LC-MS/MS: khảo sát quy trình chiết xuất; xây dựng quy trình xác định 16 dược chất trộn trái phép trong chế phẩm đông dược; Tiến hành thẩm định phương pháp theo hướng dẫn của AOAC (2016) và ICH (2005) trên 9 nền mẫu tự tạo.

- Xây dựng quy trình định tính một số tân dược trộn trái phép trong chế phẩm đông dược bằng HPTLC: khảo sát và lựa chọn điều kiện sắc ký; thẩm định phương pháp trên mẫu tự tạo chứa các chất nghiên cứu với các chỉ tiêu theo AOAC và ICH.

- Phát triển quy trình định tính sildenafil trộn trái phép trong chế phẩm đông dược bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng kết hợp với tán xạ Raman tăng cường bề mặt (TLC – SERS): khảo sát các điều kiện SERS; thẩm định phương pháp theo hướng dẫn của AOAC và ICH trên 3 nền mẫu tự tạo NP1, NP2, NP3.

- Ứng dụng của các phương pháp phân tích LC-MS/MS, HPTLC, TLC-SERS trong phân tích mẫu thực; đánh giá sơ bộ tình hình tân dược trộn trái phép trong chế phẩm đông dược đang lưu hành.

2.3. Các kết quả chính và kết luận

2.3.1. Xây dựng được 3 quy trình định tính, định lượng 16 dược chất trộn lẫn trong chế phẩm đông dược điều trị, hoặc hỗ trợ điều trị các bệnh về xương khớp, bệnh đái tháo đường và bệnh lý liệt dương bằng LC-MS/MS.

- Các hoạt chất gồm paracetamol, piroxicam, indomethacin, ketoprofen, betamethason, dexamethason acetat, hydrocortison acetat, prednisolon, prednison, glibenclamid, gliclazid, glimepirid, glipizid, sildenafil, tadalafil và vardenafil. Mẫu thử được nghiền mịn, đồng nhất, chiết siêu âm bằng methanol, pha loãng thích hợp. Các chất trong dung dịch mẫu thử được tách bằng cột Restek Ultra II C18 (100 mm × 2,1 mm; 1,9 μm), pha động gồm acetonitril và nước đều chứa acid formic 0,1% theo chế độ gradient. Phát hiện bằng detector MS/MS với nguồn ion hóa ESI (+); mảnh khối lựa chọn (ion mẹ→ion định lượng/ion định tính).

- Đã thẩm định quy trình trên 9 nền mẫu tự tạo có độ đặc hiệu cao và LOD từ 0,076 đến 1,300 ng/ml, đạt yêu cầu phân tích.

2.3.2. Xây dựng được 4 quy trình phát hiện nhanh tân dược trên trộn trái phép trong chế phẩm đông dược bằng HPTLC và 1 quy trình định tính sildenafil bằng TLC-SERS

- Đã xây dựng quy trình HPTLC phát hiện nhanh 16 dược chất trên với xử lý mẫu là chiết siêu âm bằng methanol, chấm trực tiếp hoặc pha loãng hay cô đặc tùy từng nhóm. Thể tích chấm 5µl trên bản mỏng silica gel 60 F_{254}. Pha động của nhóm glucocorticoid gồm cloroform - ethyl acetat - ethanol (8,5:1:0,5); nhóm NSAID gồm n-hexan: ethyl acetat :acid acetic (6:2,5:1,5); nhóm giảm glucose máu gồm n-butyl acetat - acid formic (100:0,5); nhóm ức chế PDE-5 gồm ethylacetat – isopropanol – amoniac 25% (45: 5: 2,6) tính theo

thể tích. Thẩm định theo AOAC, ICH về tính chọn lọc trên 9 nền mẫu tự tạo, LOD từ 20-188 ng/vết.

- Đã xây dựng được quy trình định tính sildenafil bằng TLC – SERS với xử lý mẫu bằng methanol, pha động ethylacetat – isopropanol – amoniac 25% (45: 5: 2,6; v/v/v). Đánh dấu vết sắc ký ở bước sóng 254 nm, ghi phổ SERS bằng máy Raman, ở bước sóng 632,8 nm, thời gian 60 giây. Cách tạo hiệu ứng SERS và đo phổ được khảo sát để tận dụng lợi thế của hiệu ứng giọt cà phê kép, cải thiện độ nhạy của phương pháp với LOD= 2 ng/vết.

2.3.3. Áp dụng các quy trình đã xây dựng để kiểm tra các chế phẩm đông dược

- Các quy trình HPTLC: phân tích 184 mẫu chế phẩm đông dược, trong đó 25 mẫu dương tính với paracetamol, indomethacin, dexamethason acetat, glibenclamid, sildenafil, tadalafil, vardenafil.
- Các quy trình LC-MS/MS: phân tích 184 mẫu chế phẩm đông dược phát hiện 25 mẫu chứa hoạt chất với 9 mẫu có paracetamol (31,21-1318,62 mg/liều), 1 mẫu có indomethacin (5,64 mg/liều), 3 mẫu có dexamethason acetat (0,44-0,95 mg/liều), 8 mẫu có glibenclamid (0,14-2,16 mg/liều), 5 mẫu có sildenafil (15,58 – 70,00 mg/ liều), vardenafil (10,10 mg/ liều), tadalafil (12,34-17,17 mg/liều).
- Quy trình TLC-SERS: phát hiện 5 mẫu dương tính với sildenafil trong 24 mẫu hỗ trợ điều trị bệnh liệt dương; phù hợp với kết quả phân tích bằng LC-MS/MS.

Hà nội, ngày ... tháng ... năm 2019

Người hướng dẫn khoa học **Nghiên cứu sinh**

PGS.TS.Nguyễn Thị Kiều Anh PGS.TS.Phạm Thị Thanh Hà Đào Thị Cẩm Minh