

mở là thoát vị bẹn gián tiếp, bao thoát vị lớn chứa mạc nối. Sau khi đẩy mạc nối lớn vào ổ bụng, qua cổ bao thoát vị không sờ thấy lưới nhân tạo. Theo chúng tôi, nguyên nhân tái phát thoát vị là do lưới bị di chuyển khỏi vị trí thoát vị gián tiếp, có thể do đặt lưới nhân tạo kích thước lớn nhưng phẫu tích khoang ngoài phúc mạc chưa đủ rộng dẫn đến gấp lưới. Để đặt tấm lưới có mức độ che phủ tốt cần tránh lỗi kỹ thuật như: bỏ sót thoát vị gián tiếp, phẫu tích khoang ngoài phúc mạc phía ngoài không đủ dẫn đến cuộn lưới.

Qua nghiên cứu trên 161 đối tượng chúng tôi cũng đưa ra nhận định về vai trò của phẫu thuật TAPP và ứng dụng như sau: “Phẫu thuật nội soi TAPP là một phẫu thuật an toàn, hiệu quả, có thể triển khai rộng rãi ở các tuyến. PTNS TAPP có thể chỉ định cho các thoát vị bẹn tái phát từ lần mổ trước đó. Ưu điểm của phẫu thuật này là tính thẩm mỹ, ít đau sau mổ, thời gian nằm viện ngắn, thời gian phục hồi lao động bình thường tốt”

V. KẾT LUẬN

TVB bên phải chiếm đa số với 62,7%. Nyhus loại II chiếm đa số 51,6%.

Thời gian mổ trung bình một bên $50,46 \pm 7,76$ phút, 2 bên $74,57 \pm 9,45$ phút.

Thời gian nằm viện trung bình là $3,99 \pm 1,47$ ngày.

Có 1 trường hợp tổn thương mạch vị dưới (0,6%), 1 trường hợp viêm tinh hoàn (0,6%), 5 trường hợp tụ dịch vùng bẹn bìu (3,1%) và 3 trường hợp tràn khí dưới da (1,9%), 2 trường hợp bí tiểu (1,2%).

Có 1 bệnh nhân tái phát ở tháng thứ 1 sau mổ (0,6%), 2 bệnh nhân được phát hiện ở tháng thứ 3 sau mổ (1,3%).

PTNS TAPP là một phẫu thuật an toàn, hiệu quả, có thể triển khai rộng rãi ở các tuyến. PTNS TAPP có thể chỉ định cho các thoát vị bẹn tái phát từ lần mổ trước đó.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bracale U., Melillo B., Pignata G. et al (2012).** Which is the best laparoscopic approach for inguinal hernia repair: TEP or TAPP? A systematic review of the literature with a network meta-analysis. *Surg Endosc*, 26(12), 3355-3366.
2. **Sato H., Shimada M., Nobuhiro et al (2012).** The Safety and usefulness of the singal incision, transabdominal pre- peritoneal (TAPP) laparoscopic technique for inguinal hernia, *J Med Invest*, 59 (3-4), 235-240.
3. **Morales-Conde S., Alarcon I. and Socas M. (2014).** Chapter 32, Inguinal Hernia Repair: TAPP. *Reduced Port Laparoscopic Surgery*, 381-388.
4. **Moldovanu R., Pavy G. (2014).** Laparoscopic Transabdominal Pre- Peritoneal (TAPP) Produce-Step-by-Step Tips and Tricks. *Surgical Technique*, 109 (3), 407-415.
5. **Bökeler U., Schwarz J., Bittner R., Zacheja S., Smaxwil C. (2013),** “Teaching and training in laparoscopic inguinal hernia repair (TAPP): impact of the learning curve on patient outcome”, *Surgical endoscopy*, 27(8), pp. 2886-2893.
6. **Trương Đình Khôi (2022),** “Nghiên cứu ứng dụng phẫu thuật nội soi điều trị thoát vị bẹn đặt tấm lưới nhân tạo trước phúc mạc qua đường vào ổ bụng, Luận án tiến sĩ Y học, Trường Đại học Y Dược Huế.
7. **Nguyễn Đoàn Văn Phú (2015),** “Nghiên cứu ứng dụng phẫu thuật điều trị thoát vị bẹn bằng tấm lưới nhân tạo có nút (Mesh-Plug)” Luận án tiến sĩ Y học, Trường Đại học Y Dược Huế.
8. **Tolver M. A. (2013),** “Early clinical outcomes following laparoscopic inguinal hernia repair”, *Dan Med J.*, 60(7), B4672, pp1-14.
9. **Ferrarese A. M., Enrico S., Solej M., et al (2013),** “Transabdominal pre- peritoneal mesh in inguinal hernia repair in elderly: end point of our experience”, *BMC surgery*, 13(2), pp. S24.
10. **Timisescu L., Turcu F., Munteanu R. et al (2013).** Treatment of Bilateral Inguinal Hernia – Minimally Invasive versus Open Surgery Produce. *Chirurgia*, 108 (1), 56-61.
11. **Phan Đình Tuấn Dũng (2017),** “Nghiên cứu ứng dụng phẫu thuật nội soi ngoài phúc mạc với tấm lưới nhân tạo 2D và 3D trong điều trị thoát vị bẹn trực tiếp”, Luận án tiến sĩ Y học, Trường Đại học Y Dược Huế.
12. **Ujiki M. B., Gitelis M. E., Carbray J., et al. (2015),** “Patient-centered outcomes following laparoscopic inguinal hernia repair”, *Surgical endoscopy*, 29(9), pp. 2512-2519.
13. **Tantia. O., Jain. M., et al. 2009,”** Laparoscopic repair of recurrent groin hernia: results of a prospective study”, *Surg Endosc*, 23, pp.734–738.
14. **Bittner R., Montgomery M., Arregui E., et al (2015),** “Update of guidelines on laparoscopic (TAPP) and endoscopic (TEP) treatment of inguinal hernia (International Endohernia Society)”, *Surgical endoscopy*, 29(2), pp. 289-321.
15. **Sharma. D., Yadav. K., et al. 2015,** “Prospective randomized trial comparing laparoscopic transabdominal preperitoneal (TAPP) and laparoscopic totally extra peritoneal (TEP) approach for bilateral inguinal hernias”. *Internatinal Journal of Surgery*, 22(2), pp.110-117.

XÂY DỰNG QUY TRÌNH PHÂN TÍCH VÀ THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG TRIMEBUTINE MALEATE TRONG VIÊN NÉN BAO PHIM BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

Hoàng Thị Tuyết Nhung^{1*}

Tóm tắt

Mục tiêu: Nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu xây dựng và thẩm định quy trình định lượng trimebutine maleate trong viên nén bao phim Tarabutine bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

Phương pháp nghiên cứu: Phương pháp Định lượng trimebutine maleate bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao, xử lý mẫu bằng dung dịch methanol 50 % và pha động. Xử lý số liệu bằng phương pháp thống kê.

Kết luận: Đã xây dựng được phương pháp định lượng trimebutine maleate trong viên nén bao phim Tarabutine bằng phương pháp HPLC, với điều kiện sắc ký: cột sắc ký: C-18 (250 mm x 4,6 mm; 5 μ m). Pha động: Dung dịch A: hỗn hợp acetonitrile (65 : 35). (Dung dịch A: hòa tan 1 g natri 1-pentanesulfonate trong 650 ml acid perchloric loãng (tỉ lệ pha loãng 17 : 20.000), trước đó đã được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng dung dịch ammonium acetate 0,1 M). Bước sóng phát hiện: λ = 269 nm. Tốc độ dòng: 1,0 ml/phút. Nhiệt độ cột: khoảng 35°C. Thể tích bơm mẫu 20 μ l.

Từ khóa: *Trimebutine maleate, HPLC, viên nén bao phim.*

DEVELOPMENT AND METHOD VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES FOR TRIMEBUTINE MALEATE IN FILM-COATED TABLETS BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

ABSTRACT

Objectives: This study was carried out with the aim of developing and validating a procedure for the quantification of trimebutine maleate in film-coated tablets by high performance liquid chromatography (HPLC).

Methods: Quantitative determination by high performance liquid chromatography (HPLC), sample preparation with methanol 50 % solution and mobile phase.

Conclusion: A method for quantification of trimebutine maleate in Tarabutine film-coated tablets has been developed by HPLC method, with the following chromatographic conditions: column: C-18 (250 mm x 4.6 mm; 5 μ m). Mobile phase: Solution A: acetonitrile mixture (65 : 35). (Solution A: dissolve 1 g of sodium 1-pentanesulfonate in 650 ml of dilute perchloric acid (Dilution factor: 17 : 20,000), previously adjusted to pH 3.0 with 0.1 M ammonium acetate solution). Detection wavelength: λ = 269 nm. Flow rate: 1.0 ml/min. Column temperature: about 35 °C. Sample injection volume 20 μ l.

Key words: *Trimebutine maleate, HPLC, film-coated tablets.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trimebutine là một thuốc hóa dược có tác dụng điều hòa nhu động dạ dày - ruột và chống co thắt nhờ vào tác dụng lên đám rối meissner, auerbach - là hệ thống thần kinh tại chỗ của niêm mạc dạ dày ruột có chức năng điều hòa hoạt động của đường tiêu hóa [1]. Chỉ định chính của trimebutine là điều trị loét dạ dày - tá tràng, trào ngược dạ dày - thực quản, hội chứng ruột kích thích [1], [2], [3]. Trimebutine có thể dùng dưới dạng đơn độc [4], hoặc kết hợp với một số hoạt chất khác để tăng cường tác dụng điều trị, như kết hợp với simethicone trong điều trị trào ngược dạ dày - thực quản [3], kết hợp với pinaverium trong điều trị hội chứng ruột kích thích có kèm theo triệu chứng tiêu chảy [5], hoặc kết hợp với lactulose nếu hội chứng ruột kích thích có kèm theo triệu chứng táo bón, đặc biệt là ở người cao tuổi [6]. Trimebutine đơn chất và dạng kết hợp đã được cấp phép điều trị ở Châu Âu, Canada nhưng chưa được cấp phép ở Mỹ [2], [3], [5]. Tại Việt Nam, theo tra cứu dữ liệu cấp phép của Cục quản lý Dược [7], cho đến nay có 40 chế phẩm và nguyên liệu đã được cấp phép. Trên thế giới, đã có một số nghiên cứu định lượng

1. Trường Đại học Dược Hà Nội

*Chịu trách nhiệm chính: Hoàng Tuyết Nhung

Email: nhunghtt@hup.edu.vn

Ngày nhận bài: 28/05/2023

Ngày phản biện: 07/06/2023

Ngày duyệt bài: 13/06/2023

trimebutine maleate đơn độc trong chế phẩm thuốc, hoặc trimebutine maleate và chất chuyển hóa trong dịch sinh học bằng phương pháp đo điện thế, phương pháp sắc ký lỏng khối phổ 2 lần, phương pháp sắc ký lỏng pha đảo. Ở trong nước, chưa tìm thấy tài liệu tham khảo nào về định lượng trimebutine maleate bằng phương pháp HPLC. Vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành với mục đích giúp các nhà sản xuất trong nước có thêm công cụ kiểm soát chất lượng nguyên liệu đầu vào, nghiên cứu phát triển sản phẩm thuốc thành phẩm, cũng như hỗ trợ các cơ quan có thẩm quyền trong việc giám sát, kiểm tra, trọng tài về chất lượng sản phẩm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

- Đối tượng nghiên cứu là viên nén bao phim Tarabutine do công ty Kukje Pharma Co., Ltd, Hàn Quốc sản xuất. Số lô: TM016, ngày nhập: 21/03/2022, quy cách đóng gói: hộp 3 vỉ x 10 viên nén bao phim, hạn dùng: 07/01/2025.

Thành phần: Mỗi viên nén bao phim Tarabutine chứa:

Hoạt chất: Trimebutine maleate 200 mg.

Tá dược: Lactose hydrate 18,2 mg; low-substituted hydroxypropylcellulose 17,0 mg; tinh bột ngô 20,0 mg; D-manitol 19,7 mg; hydroxypropylcellulose 4,0 mg; polyethylene glycol 6000 5,8 mg; magnesium stearate 5,0 mg; talc 5,0 mg.

2.2. Trang thiết bị và hóa chất.

Trang thiết bị

Trang thiết bị đã được hiệu chuẩn theo tiêu chuẩn ISO/IEC 17025 và GLP tại Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, bao gồm: Máy HPLC model Agilent 1260, Shimadzu LC-20; cân phân tích Mettler MS 105; dụng cụ thủy tinh; máy siêu âm Clifton SW1H.

Hóa chất, thuốc thử và dung môi

- Chất chuẩn đối chiếu: Trimebutine maleate do hãng TRC, Canada cung cấp, độ tinh khiết 98,0 %, số lô: 2-QL-58-1. Dung môi cho HPLC: acetonitrile (Merck). Hóa chất: 1-pentanesulfonate (Scharlau); perchloric acid (Merck); ammonium acetate (Merck); methanol (Merck).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp phân tích

- *Dung dịch chuẩn gốc:* Hòa tan 100 mg chất chuẩn trimebutine maleate bằng methanol 50 % trong bình định mức 100 ml.

- *Dãy dung dịch chuẩn:* Pha loãng định lượng từng bước dung dịch chuẩn gốc với pha động để thu được các dung dịch chuẩn có nồng độ từ 0,05 mg/ml đến 0,15 mg/ml (tương ứng với 50 – 150 % nồng độ dung dịch mẫu thử) của trimebutine maleate.

Pha động: Dung dịch A: hỗn hợp acetonitrile (65 : 35). (Dung dịch A: hòa tan 1 g natri 1-pentanesulfonate trong 650 ml acid perchloric loãng (tỉ lệ pha loãng 17 : 20.000), trước đó đã được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng dung dịch ammonium acetate 0,1 M).

- *Dung dịch thử:* Cân chính xác và nghiền thành bột 20 viên nén Tarabutine. Sau đó, cân chính xác lượng bột tương đương với khoảng 100 mg trimebutine maleate ($C_{22}H_{29}NO_5 \cdot C_4H_4O_4$), cho vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung dịch methanol 50 %, lắc siêu âm trong 20 phút, thêm dung dịch methanol 50% đến vạch. Lấy 10,0 ml dung dịch này cho vào bình định mức 100 ml, hòa tan trong pha động và định mức đến vạch bằng pha động. Lọc hỗn hợp qua màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,45 μ m.

- *Dung dịch placebo:* Chuyển 48,92 mg bột giả dược^(*) (placebo) vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung dịch methanol 50%, lắc siêu âm trong 20 phút, định mức đến vạch bằng dung dịch methanol 50%. Lấy 10,0 ml dung dịch này vào bình định mức 100 ml, hòa tan trong pha động và định mức đến vạch bằng pha động. Lọc hỗn hợp qua màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,45 μ m.

^(*) Thành phần mẫu placebo (tương đương lượng tá dược trong 100 viên nén bao phim Tarabutine): Lactose hydrate 1820 mg; low-substituted hydroxypropylcellulose 1700 mg; tinh bột ngô 2000 mg; D-manitol 1970 mg; hydroxypropylcellulose 400 mg; polyethylene glycol 6000 580 mg; magnesium stearate 500 mg; talc 500 mg.

- *Tiến hành:* Tiêm riêng biệt các thể tích bằng nhau (20 μ l) dung dịch chuẩn và dung dịch thử vào thiết bị sắc ký, ghi sắc ký đồ (SKĐ) và đo đáp ứng pic chính.

- *Tính toán:* Nồng độ trimebutine maleate (mg/ml) được tính theo công thức sau:

$$C_a = \frac{S_a}{S_s} \cdot C_s$$

Trong đó: C_a là nồng độ trimebutine maleate trong dung dịch thử (mg/ml); S_a là diện tích pic của trimebutine maleate thu được từ dung dịch thử; S_s

là diện tích pic của trimebutine maleate thu được từ dung dịch chuẩn; C_s là nồng độ trimebutine maleate trong dung dịch chuẩn (mg/ml).

Độ thu hồi R của trimebutine maleate (%) được tính theo công thức sau:

$$R = \frac{C_{tt}}{C_{cb}} \cdot 100\%$$

Trong đó: R là độ thu hồi, C_{tt} là nồng độ trimebutine maleate tìm lại (mg/ml), C_{cb} là nồng độ trimebutine maleate chuẩn bị (mg/ml).

2.3.2. Điều kiện sắc ký

Sử dụng hệ thống sắc ký HPLC model Agilent 1260, Shimadzu LC-20, khảo sát sơ bộ để lựa chọn điều kiện sắc ký phù hợp (pha động, tốc độ dòng, thể tích tiêm mẫu, bước sóng định lượng) bằng cách thay đổi tỷ lệ thành phần của hỗn hợp dung môi trong pha động, thay đổi tốc độ dòng và thể tích bơm mẫu sao cho sắc ký đồ thu được có pic của chất phân tích cân đối, không bị chệch ngọn, với thời gian lưu hợp lý.

2.3.3. Thẩm định phương pháp

Thực hiện theo hướng dẫn thẩm định phương pháp phân tích của AOAC [8]. Cụ thể như sau:

- **Độ đặc hiệu:** Tiến hành sắc ký với mẫu placebo để xác định xem tá dược có gây nhiễu đối với pic trimebutine maleate hay không, bằng cách tiêm riêng biệt các thể tích bằng nhau *dung dịch placebo, dung dịch thử* và *dung dịch chuẩn* chuẩn bị như mô tả ở mục 2.3.1. Phương pháp đạt độ đặc hiệu khi không có pic nhiễu trên sắc ký đồ mẫu placebo; thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử tương ứng với thời gian lưu trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn; phổ của dung dịch thử phù hợp với phổ của dung dịch chuẩn.

- **Độ tuyến tính:** Tiến hành sắc ký dãy dung dịch chuẩn được chuẩn bị như mô tả ở mục 2.3.1. Về

đồ thị về sự tương quan giữa nồng độ chất chuẩn trimebutine maleate với diện tích đáp ứng pic. Phương pháp đạt yêu cầu về độ tuyến tính khi giá trị hệ số tương quan $R^2 \geq 0,99$, hệ số y-intercept $\leq 2\%$.

- Độ chính xác:

+ Độ chính xác của hệ thống: Tiêm 6 lần dung dịch chuẩn được chuẩn bị như mô tả ở mục 2.3.1 vào hệ thống sắc ký. Hệ thống đạt độ chính xác nếu giá trị RSD của thời gian lưu và diện tích pic không vượt quá 2%.

+ Độ chính xác của phương pháp: Tiêm lần lượt 6 mẫu dung dịch thử như mô tả ở mục 2.3.1. Phương pháp **đạt độ** chính xác nếu giá trị RSD của **độ thu** hồi không vượt quá 2% [8].

+ Độ chính xác trung gian: Tiêm 6 mẫu dung dịch thử như mô tả ở mục 2.3.1 bởi 2 người làm phân tích khác nhau vào các ngày khác nhau. Phương pháp **đạt độ** chính xác nếu giá trị RSD của **độ thu** hồi không vượt quá 2%.

- **Độ đúng:** Chuẩn bị 9 mẫu placebo. Mỗi 3 mẫu được thêm chuẩn với nồng độ tương đương 80 %, 100 %, 120 % của nồng độ dung dịch chuẩn danh nghĩa: cân chính xác từng lượng chất chuẩn đối chiếu trimebutine maleate tương đương 80,0 mg; 100,0 mg; 120,0 mg trimebutine maleate vào mỗi bình định mức 100 ml chứa khoảng 48,85 mg bột placebo, thêm 70 ml methanol 50 %, lắc siêu âm trong 20 phút, định mức bằng dung dịch methanol 50 % đến vạch. Lấy 10,0 ml dung dịch này vào bình định mức 100 ml, hòa tan trong pha động và định mức đến vạch bằng pha động. Lọc hỗn hợp qua màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,45 μ m. Tiến hành sắc ký. Phương pháp đạt độ đúng nếu độ thu hồi nằm trong khoảng 98% - 102% và giá trị RSD của độ thu hồi không vượt quá 2%.

III. KẾT QUẢ

3.1. Lựa chọn điều kiện sắc ký

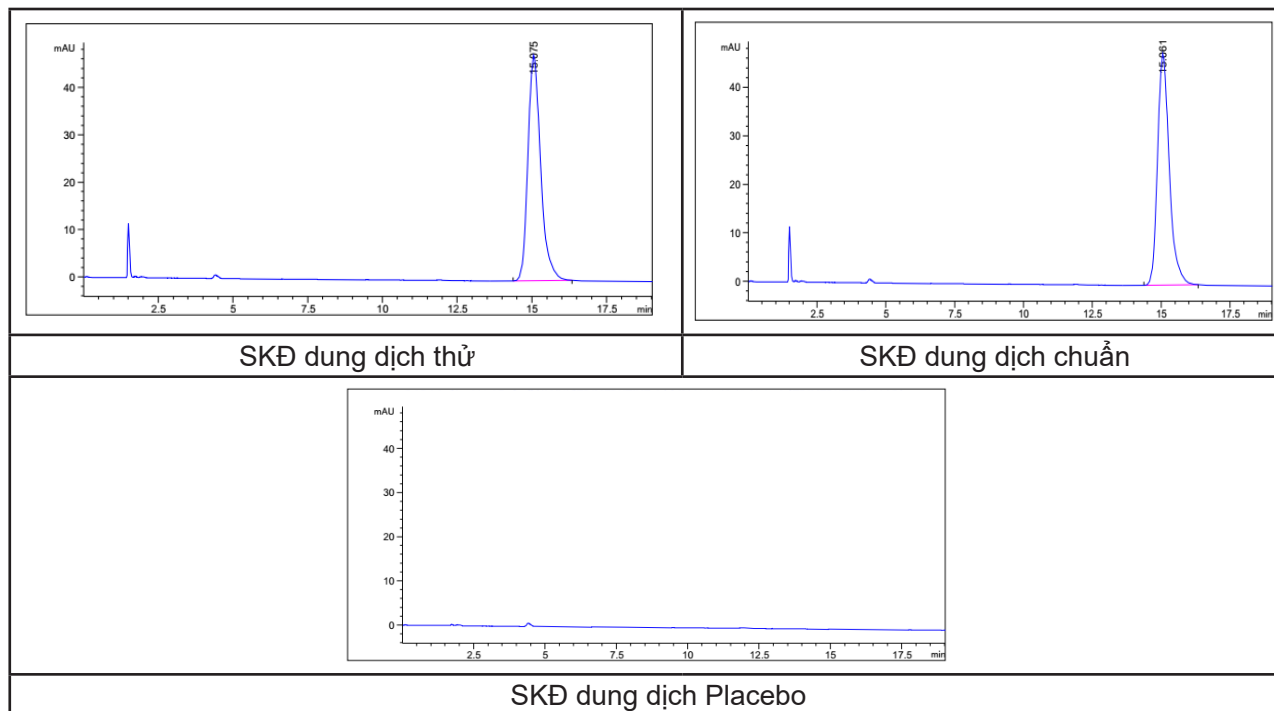
Qua nghiên cứu các tài liệu về định lượng trimebutine maleate [11], [12], [13], [14], dựa trên các đặc điểm về tính chất lý hóa và công thức cấu tạo của chất phân tích và điều kiện hiện có của phòng thí nghiệm, chúng tôi lựa chọn điều kiện sắc ký như sau: cột sắc ký: C-18 (250 mm x 4,6 mm; 5 μ m). Pha động: Dung dịch A: hỗn hợp acetonitrile (65 : 35). (Dung dịch A: hòa tan 1 g natri 1-pentanesulfonate trong 650 ml acid perchloric loãng (hệ số pha loãng là 17 : 20000), trước đó đã được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng dung dịch ammonium acetate 0,1 M). Bước sóng phát hiện: $\lambda = 269$ nm. Tốc độ dòng: 1,0 ml/phút. Nhiệt độ cột: khoảng 35°C. Thể tích bơm mẫu 20 μ l.

Với các điều kiện sắc ký trên, pic của chất phân tích cân đối, không có hiện tượng kéo đuôi, thời gian lưu khoảng 15,1 phút là chấp nhận được trong phép phân tích bằng HPLC (không quá dài khiến thời gian chạy mẫu lâu, tiêu thụ nhiều dung môi và không quá ngắn khiến độ nhạy của phép phân tích giảm).

3.2. Thẩm định phương pháp

3.2.1. Độ đặc hiệu

Thẩm định độ đặc hiệu theo phương pháp mô tả ở mục 2.3.3. Kết quả được trình bày ở hình 1.



Hình 1. Sắc ký đồ thẩm định độ đặc hiệu

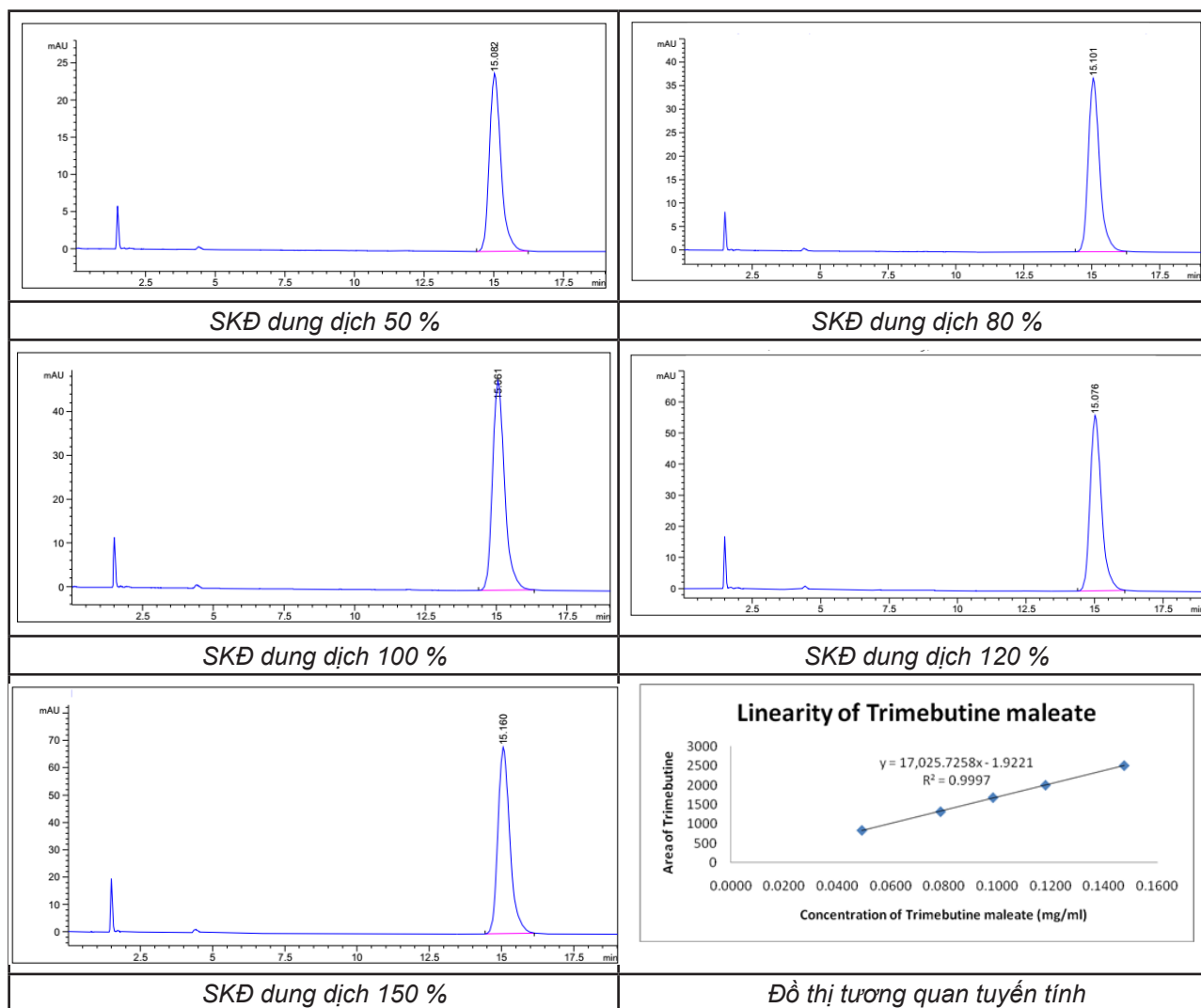
Thời gian lưu của pic trimebutine maleate trên sắc ký đồ dung dịch thử khoảng 15,07 phút. Thời gian lưu của pic trimebutine maleate trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn là khoảng 15,06 phút. Hình dạng phổ của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn phù hợp. Sắc ký đồ của mẫu placebo không xuất hiện pic ở thời gian lưu như trên, vì vậy tá dược không góp phần tạo ra bất kỳ pic gây nhiễu nào. Do đó, phương pháp có tính đặc hiệu để định tính và định lượng trimebutine maleate trong viên nén bao phim Tarabutine.

3.2.2. Độ tuyến tính

Thẩm định độ tuyến tính theo phương pháp mô tả ở mục 2.3.3. Kết quả được thể hiện trong bảng 1 và hình 2.

Bảng 1. Kết quả khảo sát độ tuyến tính của phương pháp

Nồng độ tương đối so với dung dịch thử (%)	Nồng độ chuẩn gốc (mg/ml)	Hệ số pha loãng	Nồng độ trimebutine maleate (mg/ml)	Diện tích pic (mAU.s)
50	0,9840	100/5	0,0492	841,2
80		50/4	0,0787	1322,5
100		50/5	0,0984	1686,1
120		25/3	0,1181	2006,3
150		20/3	0,1476	2511,1



Hình 2. Sắc ký đồ và tương quan tuyến tính giữa nồng độ trimebutine maleate và diện tích pic

Kết quả khảo sát cho thấy có sự tương quan tuyến tính giữa diện tích pic và nồng độ chất phân tích trong khoảng nồng độ khảo sát với hệ số tương quan $R^2 = 0,9997$.

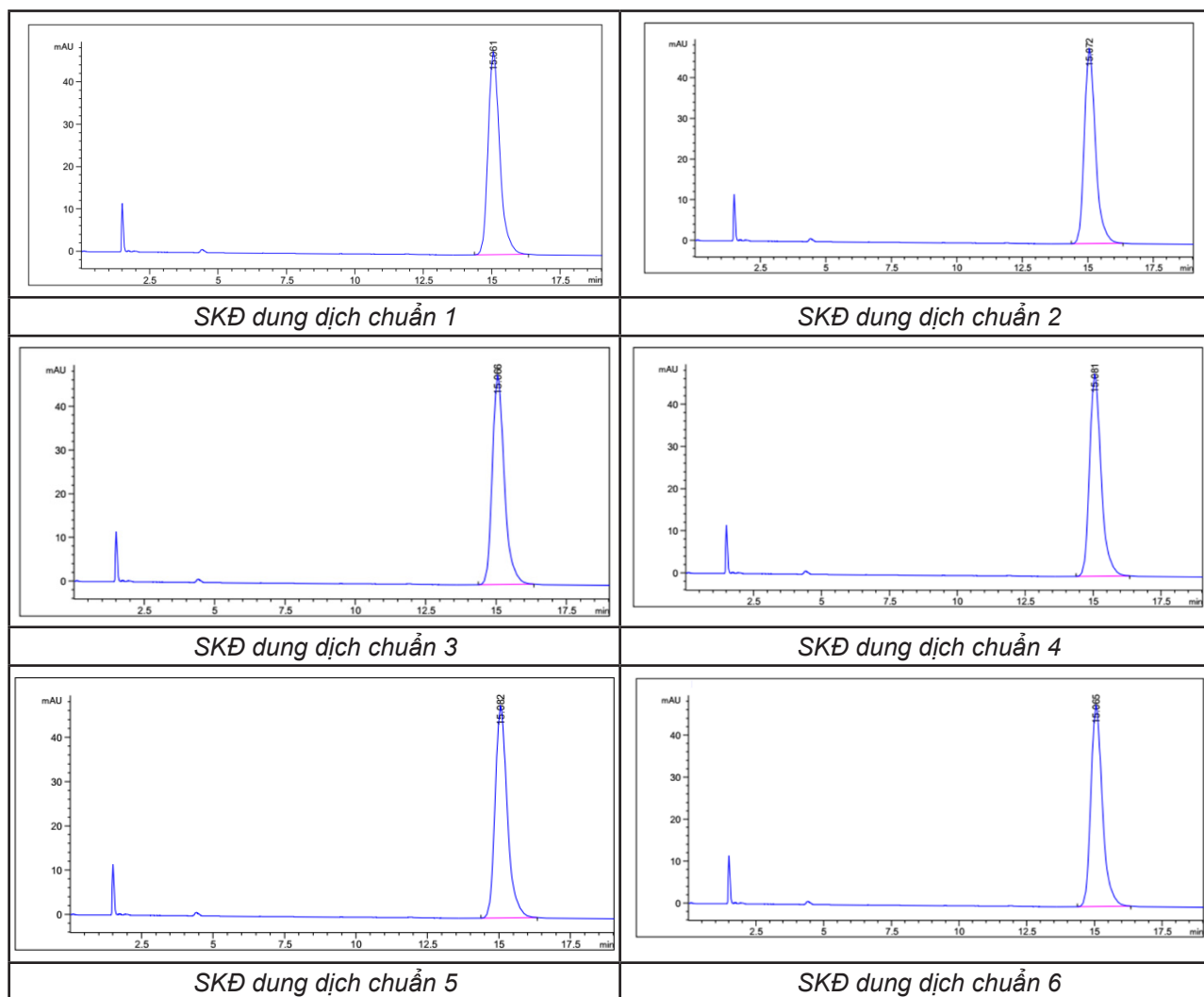
3.2.3. Độ chính xác

Độ chính xác của hệ thống

Thẩm định độ chính xác của hệ thống theo phương pháp mô tả ở mục 2.3.3. Kết quả được thể hiện trong bảng 2 và hình 3.

Bảng 2. Kết quả khảo sát độ chính xác của hệ thống

TT	Thời gian lưu của trimebutine maleate (phút)	Diện tích pic của trimebutine maleate (mAU.s)
1	15,061	1685,3
2	15,072	1684,3
3	15,066	1688,7
4	15,081	1684,9
5	15,082	1685,1
6	15,065	1688,2
Trung bình	15,071	1686,1
RSD, %	0,06 (< 1,0 %)	0,11 (< 1,0 %)



Hình 3. Sắc ký đồ thẩm định độ chính xác của hệ thống

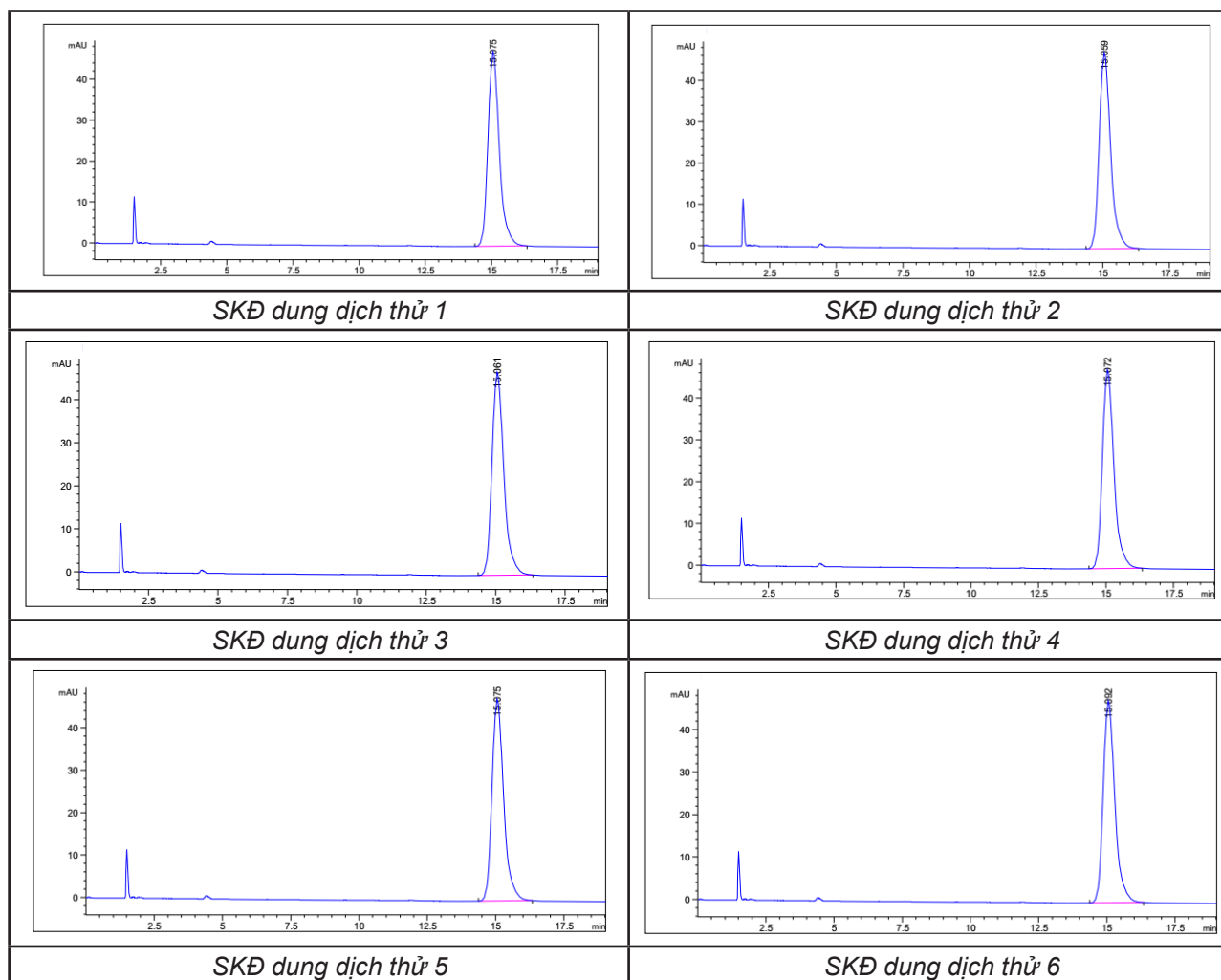
Kết quả cho thấy độ chính xác của hệ thống đạt yêu cầu theo hướng dẫn thẩm định phương pháp phân tích của AOAC [8].

Độ chính xác của phương pháp

Thẩm định độ chính xác của phương pháp theo phương pháp mô tả ở mục 2.3.3. Kết quả được thể hiện trong bảng 3 và hình 4.

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

TT	Khối lượng mẫu (g)	Diện tích pic của trimebutine maleate trong dung dịch thử (mAU.s)	Kết quả (%)
1	0,1521	1682,3	98,8
2	0,1516	1723,9	101,6
3	0,1508	1694,7	100,4
4	0,1537	1688,2	98,1
5	0,1547	1718,8	99,2
6	0,1544	1733,1	100,3
Trung bình			99,7
RSD (%)			1,26



Hình 4. Sắc ký đồ thẩm định độ chính xác của phương pháp

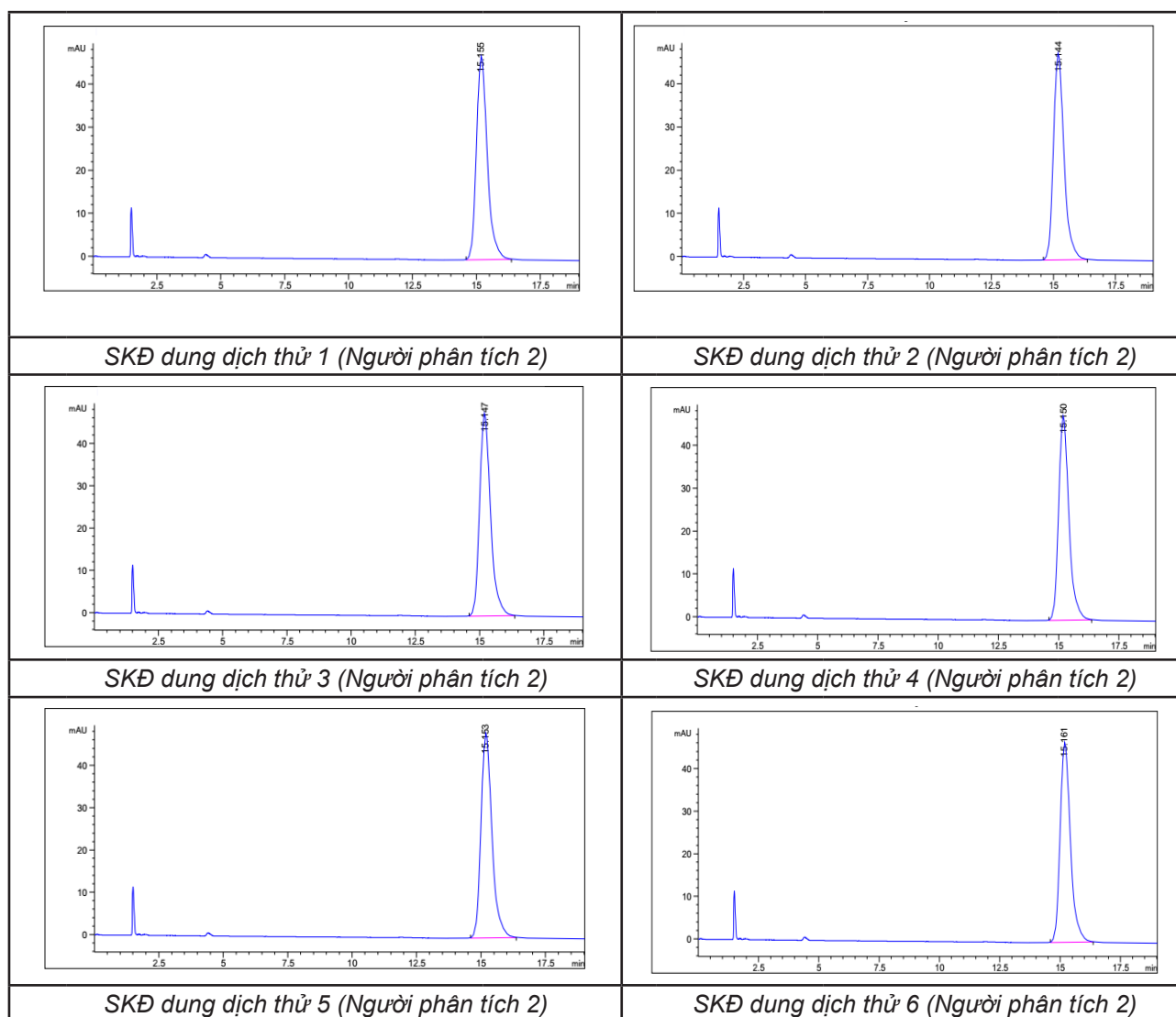
Kết quả cho thấy độ chính xác của phương pháp đạt yêu cầu theo hướng dẫn thẩm định phương pháp phân tích của AOAC [8].

Độ chính xác trung gian

Thẩm định độ chính xác trung gian theo phương pháp mô tả ở mục 2.3.3. Kết quả được thể hiện trong bảng 4 và hình 5.

Bảng 4. Kết quả khảo sát độ chính xác trung gian

TT	Người phân tích 1			Người phân tích 2		
	Khối lượng mẫu (g)	Diện tích pic dung dịch thử (mAU.s)	Kết quả (%)	Khối lượng mẫu (g)	Diện tích pic dung dịch thử (mAU.s)	Kết quả (%)
1	0,1521	1682,3	98,8	0,1506	1692,1	98,8
2	0,1516	1723,9	101,6	0,1523	1720,1	99,3
3	0,1508	1694,7	100,4	0,1501	1713,4	100,4
4	0,1537	1688,2	98,1	0,1513	1706,9	99,2
5	0,1547	1718,8	99,2	0,1507	1734,5	101,2
6	0,1544	1733,1	100,3	0,1522	1673,8	96,7
	Trung bình: 99,7 RSD (%): 1,26			Trung bình (%): 99,3 RSD (%): 1,55		
	Trung bình (%): 99,5 RSD (%): 1,37					



Hình 5. Sắc ký đồ thẩm định độ chính xác trung gian

Kết quả cho thấy độ chính xác trung gian đạt yêu cầu theo hướng dẫn thẩm định phương pháp phân tích của AOAC [8].

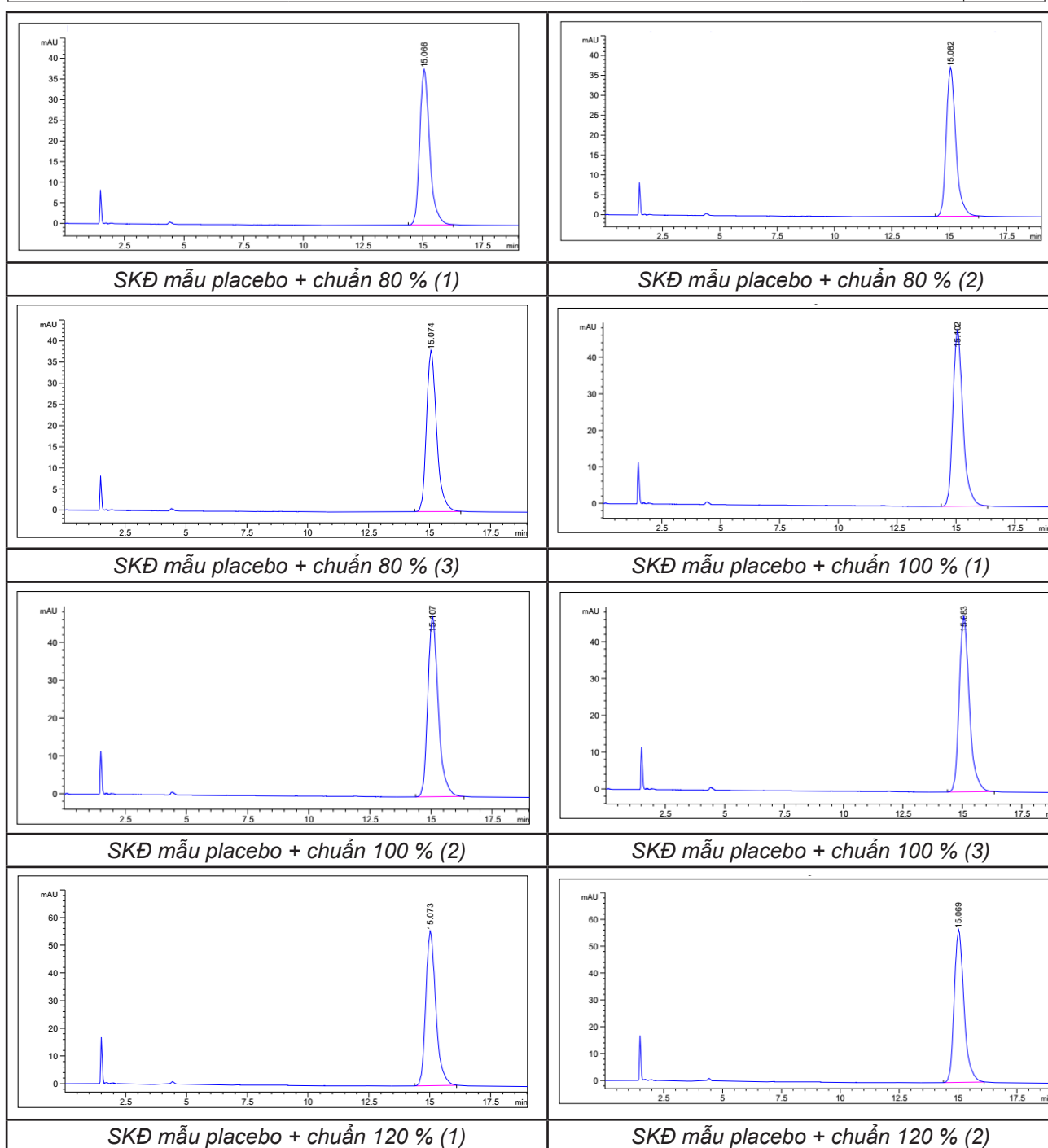
3.2.4. Độ đúng

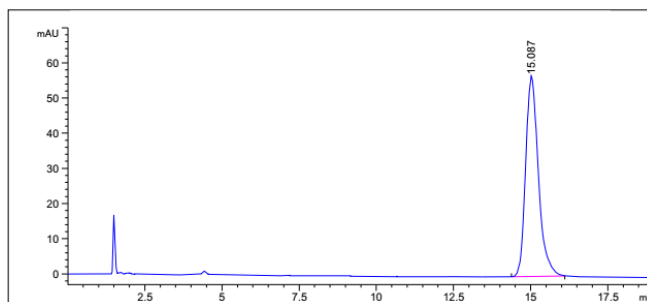
Thẩm định độ đúng của phương pháp theo phương pháp mô tả ở mục 2.3.3. Kết quả được thể hiện trong bảng 5 và hình 6.

Bảng 5. Kết quả khảo sát độ đúng

Mẫu	Khối lượng Placebo (mg)	Khối Lượng chất chuẩn trimebutine maleate thêm vào (mg)	Diện tích pic của trimebutine maleate	Khối lượng trimebutine maleate thu hồi (mg)	% Thu hồi
80 %	48,63	80,25	1352,3	80,5	100,4
80 %	49,02	80,11	1332,9	79,4	99,1
80 %	48,74	80,36	1355,9	80,7	100,5
				TB (%)	100,0
				RSD (%)	0,77
100 %	48,69	100,14	1700,1	101,2	101,1
100 %	49,25	100,53	1725,9	102,8	102,2
100 %	49,19	100,42	1714,5	102,1	101,7

Mẫu	Khối lượng Placebo (mg)	Khối Lượng chất chuẩn trimebutine maleate thêm vào (mg)	Diện tích pic của trimebutine maleate	Khối lượng trimebutine maleate thu hồi (mg)	% Thu hồi
				TB (%)	101,7
				RSD (%)	0,56
120 %	48,99	120,63	2026,1	120,7	100,0
120 %	48,37	121,41	2063,9	122,9	101,2
120 %	49,02	120,22	2055,5	122,4	101,8
				TB (%)	101,0
				RSD (%)	0,91
Trung bình (%)					100,9
RSD (%)					0,99





SKĐ mẫu placebo + chuẩn 120 % (3)

Hình 6. Sắc ký đồ thẩm định độ đúng

Phương pháp có độ đúng cao với trung bình phần trăm tỷ lệ thu hồi ở mỗi mức nồng độ đều thỏa mãn điều kiện của phương pháp phân tích bằng HPLC (98,0 % – 102 %) và RSD < 2 % [2]. Do đó, phương pháp này đạt yêu cầu để định lượng trimebutine maleate trong viên nén bao phim Tarabutine.

3.2.5. Khoảng xác định

Từ kết quả khảo sát độ tuyến tính và độ đúng, suy ra khoảng xác định của quy trình định lượng đã xây dựng là từ 0,08 mg/ml – 0,12 mg/ml.

IV. BÀN LUẬN

Trimebutine được sử dụng dưới dạng muối maleate, trong các dược điển quốc tế thông dụng, hiện chỉ có Dược điển Anh [9] và Dược điển Châu Âu [10] có chuyên luận định lượng trimebutine maleate nguyên liệu, chưa có dược điển nào có chuyên luận trimebutine maleate thành phẩm. Trimebutine maleate dạng nguyên liệu có độ tinh khiết cao, không có ảnh hưởng của tá dược và có thể định lượng bằng phương pháp chuẩn độ điện thế, sử dụng chất chuẩn acid perchloric 0,1 M trong môi trường acid acetic khan [9], [10]. Ở dạng thành phẩm, trimebutine maleate đã được cấp phép lưu hành dưới dạng viên nén, viên nang, hỗn dịch uống hoặc thuốc tiêm [1], [11]. Với các dạng bào chế khác nhau, do ảnh hưởng của việc giải phóng dược chất khỏi dạng bào chế cũng như ảnh hưởng tá dược đi kèm, cần phải có khảo sát cụ thể về cách xử lý mẫu và điều kiện định lượng nên trong nhiều trường hợp, phương pháp phân tích hoạt chất ở dạng nguyên liệu không phù hợp để sử dụng cho việc định lượng hoạt chất trong chế phẩm. Để định lượng trimebutine maleate trong mẫu viên nén, huyết thanh và nước tiểu, Ali T.A và cộng sự [12] đã phát triển phương pháp đo điện thế, dùng điện cực cảm biến dán carbon. Các cảm biến được đề xuất có đặc tính tốt, có đáp ứng Nernst ở khoảng nồng độ rộng ($1,5 \cdot 10^{-7}$ – $1,0 \cdot 10^{-2}$ mol/lít đối với mẫu huyết thanh, nước tiểu và $1,0 \cdot 10^{-7}$ – $1,0 \cdot 10^{-2}$ mol/lít đối với mẫu viên nén) ở 25 °C và giới hạn phát hiện thấp. Phương pháp không đòi hỏi xử lý mẫu phức tạp và có thể dùng để định lượng hoạt chất trong nền mẫu có pH biến đổi rộng. Tuy nhiên, phân tích

bằng điện hóa thường phức tạp, đòi hỏi kỹ năng cao, hay dùng trong nghiên cứu là chính và không phải là phương pháp được ưu tiên trong các dược điển. Trimebutine và chất chuyển hóa N-mono-desmethyl trimebutine của nó trong huyết tương cũng được định lượng đồng thời bằng phương pháp sắc ký lỏng – khối phổ hai lần (LC-MS/MS) để nghiên cứu về độc tính tiềm tàng của trimebutine, một chất từ lâu được xem là vô hại [13]. Phương pháp này có giới hạn phát hiện thấp nhưng xử lý mẫu rất phức tạp, đòi hỏi trang thiết bị đắt tiền, thích hợp khi cần định lượng trimebutine trong dịch sinh học. Phương pháp sắc ký lỏng pha đảo (HPLC-RP) được phát triển bởi Raju và cộng sự [14] sử dụng cột C-18 (n (250 x 4,6 mm, 5 µm) với pha động gồm dung dịch ammonium acetate 0,02 M trong acetonitrile với chế độ rửa giải gradient nồng độ, tốc độ dòng 1 ml/phút, bước sóng phát hiện là 275 nm, thời gian lưu khoảng 17 phút, khoảng tuyến tính 20 – 300 mcg/ml. So với phương pháp trên, phương pháp nghiên cứu của chúng tôi đơn giản hơn, với chế độ rửa giải đẳng dòng, thời gian lưu ngắn hơn (khoảng 15 phút).

V. KẾT LUẬN

Đã xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng trimebutine maleate trong viên nén bao phim Tarabutine bằng phương pháp HPLC với các điều kiện sắc ký như sau: cột sắc ký: C-18 (250 mm x 4,6 mm; 5 µm). Bước sóng phát hiện: $\lambda = 269$ nm. Tốc độ dòng: 1,0 ml/phút. Nhiệt độ cột: khoảng 35 °C. Thể tích bơm mẫu 20 µl. Mẫu phân tích được xử lý bằng dung dịch methanol 50 % và pha động

gồm dung dịch A: hỗn hợp acetonitrile (65 : 35). (Dung dịch A: hòa tan 1 g natri 1-pentanesulfonate trong 650 ml acid perchloric loãng (hệ số pha loãng 17 : 20000), trước đó đã được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng dung dịch ammonium acetate 0,1 M).

Kết quả thẩm định phương pháp cho thấy, phương pháp có độ đặc hiệu cao, khoảng tuyến tính rộng (0,05 mg/ml đến 0,15 mg/ml), độ đúng cao (từ 99,1 – 102,2%) và độ lặp lại tốt (RSD < 1,55%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Salvioli B.**, Trimebutine: a state-of-the-art review, *Minerva Gastroenterol Dietol* (2019), 65(3):229-238. doi: 10.23736/S1121-421X.19.02567-4. PMID: 31617696.
- Tổ chức sở hữu trí tuệ thế giới (WIPO)**, PCT Gazette, Weekly Issue No. 27, 2001, truy cập ngày 25 tháng 5 năm 2023 từ https://www.wipo.int/edocs/pctdocs/en/2001/pct_2001_27-section1.pdf.
- Tổ chức sở hữu trí tuệ thế giới (WIPO)**, truy cập ngày 28 tháng 5 năm 2023, từ <https://patentscope.wipo.int/search/pt/detail.jsf;jsessionid=09B234E6DEEE26F816FEAD62BD67AB9C.wapp1nB?docId=WO2016114734>.
- Kountouras J, et al.**, Trimebutine Maleate Monotherapy for Functional Dyspepsia: A Multicenter, Randomized, Double-Blind Placebo Controlled Prospective Trial, *Medicina (Kaunas)* (2020), 8;56(7):339. doi: 10.3390/medicina56070339. PMID: 32650518; PMCID: PMC7404657.
- Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health**, Trimebutine Maleate and Pina-verium Bromide for Irritable Bowel Syndrome: A Review of the Clinical Effectiveness, Safety and Guidelines, truy cập ngày 28 tháng 5 năm 2023 từ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK350043/>.
- Zhou Y., Yang D., Gu W.**, Efficacy and Mechanism of Trimebutine Maleate Combined with Lactulose in the Treatment of Constipation-Predominant Irritable Bowel Syndrome in the Elderly, *Emerg Med Int* (2022), 6125120. doi: 10.1155/2022/6125120. PMID: 36406929; PMCID: PMC9674410.
- Tra cứu Giấy đăng ký thuốc**, nguyên liệu làm thuốc tại Việt Nam, truy cập ngày 25 tháng 5 năm 2023 từ <http://dichvucong.dav.gov.vn/cong-bothuoc/index>.
- AOAC Official Methods of Analysis**, Association of Official Analytical Chemists (2016), Guidelines for Standard Method Performance Requirements, Appendix F, pages 1-18.
- Dược điển Anh**, The British Pharmacopoeia Commission (2022), trang II-1233-1234.
- Dược điển Châu Âu**, xuất bản lần thứ 11, European Directorate for the Quality of Medicines (2023), trang 4282-4283.
- Hanaa M., Abdel-Wadood**, Spectrophotometric and spectrofluorimetric determination of trimebutine, *Bull., Pharm., Sci., Assiut University* (2002), Vol 25, Part 2, pages 137-144.
- Ali T.A, Mohamed G.G, El-Sonbati A.Z, Diab M.A, Elkfass A.M.**, New Potentiometric Screen-printed Sensors for Determination of Trimebutine Drug in Tablets, Serum and Urine Samples, *Iran J Pharm Res* (2020), 19(3):533-555. doi: 10.22037/ijpr.2019.13892.11970. PMID: 33680050; PMCID: PMC7758010.
- Larabi I.A., Duverneuill-Mayer C., Abe E, Baud F., Alvarez J.C.**, An Automated Method for the Determination of Trimebutine and N-Mono-Desmethyl Trimebutine by On-Line Turbulent Flow Coupled with Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry in Human Plasma: Application to a Fatal Poisoning Case with Toxicokinetic Study, *J Anal Toxicol* (2015), 39(9):720-5. doi: 10.1093/jat/bkv098. Epub 2015 Sep 4. PMID: 26342056.
- Raju A., Mohamud A., Pathi P., Raju N.**, Estimation of trimebutine maleate in tablet dosage form by RP-HPLC, *Journal of Pharmaceutical & Scientific Innovation* (2014), 3(1):99-101 doi:10.7897/2277-4572.031116.