

- mano R, Acosta-Torres LS. [Respiratory physiotherapy in post-acute COVID-19 adult patients: Systematic review of literature]. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. Feb 1 2022;60(1):59-66. Fisioterapia respiratoria en pacientes adultos post-COVID-19: revision sistematica de la literatura.
7. Gonzalez-Gerez JJ, Bernal-Utrera C, Anarte-Lazo E, Garcia-Vidal JA, Botella-Rico JM, Rodriguez-Blanco C. Therapeutic pulmonary telerehabilitation protocol for patients affected by COVID-19, confined to their homes: study protocol for a randomized controlled trial. Trials. Jun 29 2020;21(1):588. doi:10.1186/s13063-020-04494-w
8. Shelley J, Hudson J, Mackintosh KA, et al. Perceptions of inspiratory muscle training in adults recovering from COVID-19. PLoS One. 2022;17(11):e0270620. doi:10.1371/journal.pone.0270620
9. Aragaw TJ, Afework DT, Getahun KA. Assessment of Knowledge, Attitude, and Utilization of Traditional Medicine among the Communities of Debre Tabor Town, Amhara Regional State, North Central Ethiopia: A Cross-Sectional Study. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM. 2020;2020:6565131. doi:10.1155/2020/6565131
10. Wang CC, Li K, Choudhury A, Gaylord S. Trends in Yoga, Tai Chi, and Qigong Use Among US Adults, 2002-2017. American journal of public health. May 2019;109(5):755-761. doi:10.2105/AJPH.2019.304998
11. Brooks SK, Webster RK, Smith LE, et al. The psychological impact of quarantine and how to reduce it: rapid review of the evidence. Lancet. 2020;395(10227):912-920.
12. Wassie SM, Aragie LL, Taye BW, Mekonnen LB. Knowledge, Attitude, and Utilization of Traditional Medicine among the Communities of Merawi Town, Northwest Ethiopia: A Cross-Sectional Study. Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM. 2015;2015:138073. doi:10.1155/2015/138073.

XÂY DỰNG QUY TRÌNH PHÂN TÍCH VÀ THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG L-CYSTINE TRONG VIÊN NANG MỀM BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

Hoàng Thị Tuyết Nhung^{1*}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đề tài này được thực hiện nhằm mục tiêu xây dựng và thẩm định quy trình định lượng L-cysteine trong viên nang mềm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) để cung cấp một phương pháp tham khảo giúp các nhà sản xuất dược phẩm, thực phẩm bổ sung trong nước có thể kiểm tra chất lượng nguyên liệu đầu vào được nhập khẩu từ các nhà cung cấp nguyên liệu nước ngoài và xây dựng phương pháp kiểm nghiệm thành phẩm cho sản phẩm của mình, phục vụ cho việc đăng ký lưu hành sản phẩm và kiểm tra chất lượng sản phẩm.

Phương pháp: Phương pháp định lượng bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao, xử lý mẫu bằng dung

dịch HCl 0,1 M và xử lý số liệu bằng phương pháp thống kê.

Kết luận: Đã xây dựng được phương pháp định lượng L-cystine trong viên nang mềm Beautycap bằng phương pháp HPLC, với điều kiện sắc ký như sau: cột sắc ký: C-18 (4 mm x 150 mm; 5 µm); detector: UV-240 nm; tốc độ dòng: 0,8 ml/phút, thể tích tiêm mẫu: 20 µl; pha động: hỗn hợp gồm 5 thể tích acetonitril và 95 thể tích natri hexan sulfonate 0,005 mol/l trong dung dịch đệm phosphat 0,1%. Mẫu phân tích được xử lý bằng cách chiết với dung dịch HCl 0,1 mol/l.

Từ khóa: L-cystine, HPLC, định lượng, thẩm định, viên nang

ABSTRACT

DEVELOPMENT AND METHOD VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES FOR L-CYSTINE IN SOFT CAPSULES BY HPLC

1. Trường Đại học Dược Hà Nội

*Chịu trách nhiệm: Hoàng Tuyết Nhung

Email: nhunghtt@hup.edu.vn

Ngày nhận bài: 08/02/2023

Ngày phản biện: 11/03/2023

Ngày duyệt bài: 15/03/2023

Objective: This study was carried out with the aim of developing and validating a procedure for the quantification of L-cysteine in soft capsules by high performance liquid chromatography (HPLC) to provide a reference method to help domestic pharmaceutical and food supplements manufacturers to check the quality of input materials imported from foreign raw material suppliers and develop a method of testing finished products for their own products, serving the product registration and product quality control.

Method: Quantitative determination by high performance liquid chromatography (HPLC), sample preparation with 0.1 M HCl solution and data processing by statistical method.

Conclusion: A method for quantification of L-cysteine in soft capsules has been developed by HPLC method, with simple chromatographic conditions. This method is applicable, the solvents and chemicals are common and available in testing centers and quality control departments at production facilities equipped with HPLC machines.

Key words: L-cystine, HPLC, quantification, validation, capsules

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

L - Cystine là một acid amin không thiết yếu được tìm thấy trong nhiều loại thực phẩm chứa protein. L-cysteine có tác dụng chống lại các gốc tự do, làm chậm quá trình lão hóa và tái tạo da [6]. Ngoài ra, loại amin này còn làm giảm quá trình sản xuất sắc tố melanin nên giúp da bớt sạm đen. Vì vậy, L-cystine cũng thường được sử dụng trong điều trị mụn trứng cá. Đối với dạng thuốc, đến nay đã có 62 chế phẩm được Cục Quản lý Dược cấp số đăng ký dưới dạng đơn chất hoặc phối hợp [8]. Trong những năm gần đây, trước sự phát triển mạnh mẽ của ngành thực phẩm chức năng và y học cá nhân hóa, hàng trăm sản phẩm chứa L-cystine sản xuất trong nước và nhập khẩu đã được cấp phép lưu hành với các chỉ định chính là làm chậm quá trình lão hóa, tái tạo da và làm sáng da, dùng riêng rẽ hoặc kết hợp với glutathion [6]. Sự bùng nổ về số lượng sản phẩm dẫn đến bất cập trong kiểm soát chất lượng, đặc biệt với nhóm sản phẩm được cấp phép là thực phẩm chức năng [9]. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục đích giúp các nhà sản xuất trong nước có thêm công cụ kiểm soát chất lượng nguyên liệu đầu vào, chất lượng thành phẩm và cơ quan có thẩm quyền có công cụ giám sát, kiểm tra, trọng tài về chất lượng sản phẩm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng: viên nang mềm Beautycap do Công ty Hankook Korus Pharmaceutical Co., Ltd, Hàn Quốc sản xuất.

Thành phần: Mỗi viên nang mềm Beautycap chứa:

Hoạt chất: L-cystine 500 mg.

Tá dược: Dầu cọ 100 mg, dầu đậu nành 437 mg, sáp ong trắng 30 mg, gelatin 300 mg, glycerin đậm đặc 115 mg, methyl parahydroxybenzoate 1,0 mg, propyl parahydroxybenzoate 0,2 mg, ethyl vanillin vừa đủ, titanium dioxide vừa đủ, màu xanh số 1 vừa đủ, màu vàng số 4 vừa đủ, nước tinh khiết 0,24 ml.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân tích

- *Dung dịch chuẩn:* Cân chính xác khoảng 50 mg L-Cystine RS, cho vào bình định mức 100 ml. Hòa tan và định mức bằng dung dịch HCl 0,1 mol/l.

- *Dãy dung dịch chuẩn:* Pha dãy dung dịch chuẩn có nồng độ L-Cystine bằng khoảng 50 %, 80 %, 100 %, 120 % và 150 % nồng độ dung dịch chuẩn gốc (nồng độ dung dịch chuẩn gốc khoảng 500 µg/ml).

- *Dung dịch thử:* Cân chính xác lượng mẫu chứa trong không dưới 20 viên nang mềm, tương đương với 500 mg L-cystine, cho vào bình định mức 100 ml. Thêm 70 ml dung dịch HCl 0,1 mol/l, siêu âm và định mức tới vạch bằng dung dịch HCl 0,1 mol/l, lọc. Lấy 5,0 ml dịch lọc, cho vào bình định mức 50 ml và định mức bằng dung dịch HCl 0,1 mol/l.

- *Dung dịch placebo:* Cân chính xác lượng placebo (chỉ chứa tá dược, không chứa L-Cystine) tương đương với lượng tá dược trong 1 viên nang L-Cystine cho vào bình định mức 100 ml. Thêm 70 ml dung dịch HCl 0,1 mol/l, siêu âm và định mức tới vạch bằng dung dịch HCl 0,1 mol/l, lọc pha phểu lọc. Lấy 5,0 mL dịch lọc, cho vào bình định mức 50 ml và định mức bằng dung dịch HCl 0,1 mol/l.

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

- *Tính toán:* Tính hàm lượng, tính bằng %, lượng L-Cystine ($C_6H_{12}N_2O_4S_2$) trên nhãn theo công thức:

$$\frac{R_u}{R_s} \times \frac{W_s}{100} \times \frac{1000}{W_u} \times \frac{W_c}{500} \times \frac{\%P}{100} \times 100$$

Trong đó:

Ru: Diện tích pic của L-Cystine thu được từ dung dịch thử, Rs: Diện tích pic của L-Cystine thu được từ dung dịch chuẩn, Ws: Khối lượng L-Cystine RS được dùng để chuẩn bị dung dịch chuẩn, tính bằng mg, Wu: Khối lượng ruột viên nang mềm được lấy để chuẩn bị dung dịch thử, tính bằng g, Wc: Khối lượng trung bình của ruột viên nang mềm, tính bằng g, %P: Độ tinh khiết (hàm lượng) của L-Cystine RS, tính bằng %,

2.2.2. Điều kiện sắc ký

Sử dụng hệ thống sắc ký HPLC model Agilent 1200, 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 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.

2.2.3. Thẩm định phương pháp

Thực hiện theo hướng dẫn thẩm định phương pháp phân tích của ASEAN [3].

- **Độ đặc hiệu:** Tiến hành sắc ký với mẫu placebo để xác định xem tá dược có gây nhiễu đối với pic L-Cystine hay không, bằng cách tiêm riêng biệt các thể tích bằng nhau *mẫu trắng* (dung dịch HCl 0,1 mol/l), *dung dịch placebo*, *dung dịch chuẩn* và *dung dịch thử* chuẩn bị như mô tả ở mục 2.2.1.

- **Độ tuyến tính:** Tiến hành sắc ký dãy dung dịch chuẩn được chuẩn bị như mô tả ở mục 2.2.1. Vẽ đồ thị về sự tương quan giữa nồng độ chất chuẩn L-cystine với diện tích đáp ứng pic.

- Độ chính xác:

+ Độ chính xác của hệ thống: Tiêm sáu lần dung dịch chuẩn được chuẩn bị như mô tả ở mục 2.2.1 vào hệ thống sắc ký. Hệ thống đạt độ chính xác

nếu giá trị RSD của thời gian lưu và diện tích pic nhỏ hơn 2% [3].

+ Độ chính xác của phương pháp: Tiêm lần lượt 6 mẫu dung dịch thử như mô tả ở mục 2.2.1. Phương pháp đạt độ chính xác nếu giá trị RSD của độ thu hồi không quá 2% [3].

+ Độ chính xác trung gian: Tiêm 6 mẫu dung dịch thử như mô tả ở mục 2.2.1 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 quá 2% [3].

- **Độ đúng:** Chuẩn bị chín chế phẩm mẫu placebo. Mỗi ba mẫu được thêm chuẩn với nồng độ tương đương 80 %, 100 %, 140 % của nồng độ dung dịch chuẩn danh nghĩa: cân chính xác lượng chất chuẩn L-Cystine, tương đương với khoảng 40 mg, 50 mg, 70 mg L-Cystine, vào bình định mức 100 ml trong đó đã chứa một lượng placebo (chỉ chứa tá dược, không chứa L-Cystine) tương đương với 1/10 lượng ruột của viên nang mềm Beautycap (khoảng 64 mg). Thêm 70 ml dung dịch HCl 0,1 mol/l, lắc siêu âm và pha loãng với dung dịch HCl 0,1 mol/l đến vạch, lắc đều. 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 quá 2% [3].

2.3. 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 1200, Shimadzu LC-20; cân phân tích Sartorius BSA 224S; dụng cụ thủy tinh; máy siêu âm Clifton SW1H.

Hóa chất, thuốc thử và dung môi

- Chất chuẩn đối chiếu: L-cystine do Cassel Research Laboratories PVT LTD (Ấn Độ) cung cấp, độ tinh khiết P = 99,86%, số lô: CA/WS/200; dung môi cho HPLC: acetonitrile; hóa chất: natri hexan sulfonat, kali dihydro phosphat, dung dịch HCl đặc.

III. KẾT QUẢ

3.1. Khảo sát điều kiện sắc ký

Kết quả khảo sát sơ bộ lựa chọn được điều kiện sắc ký như sau:

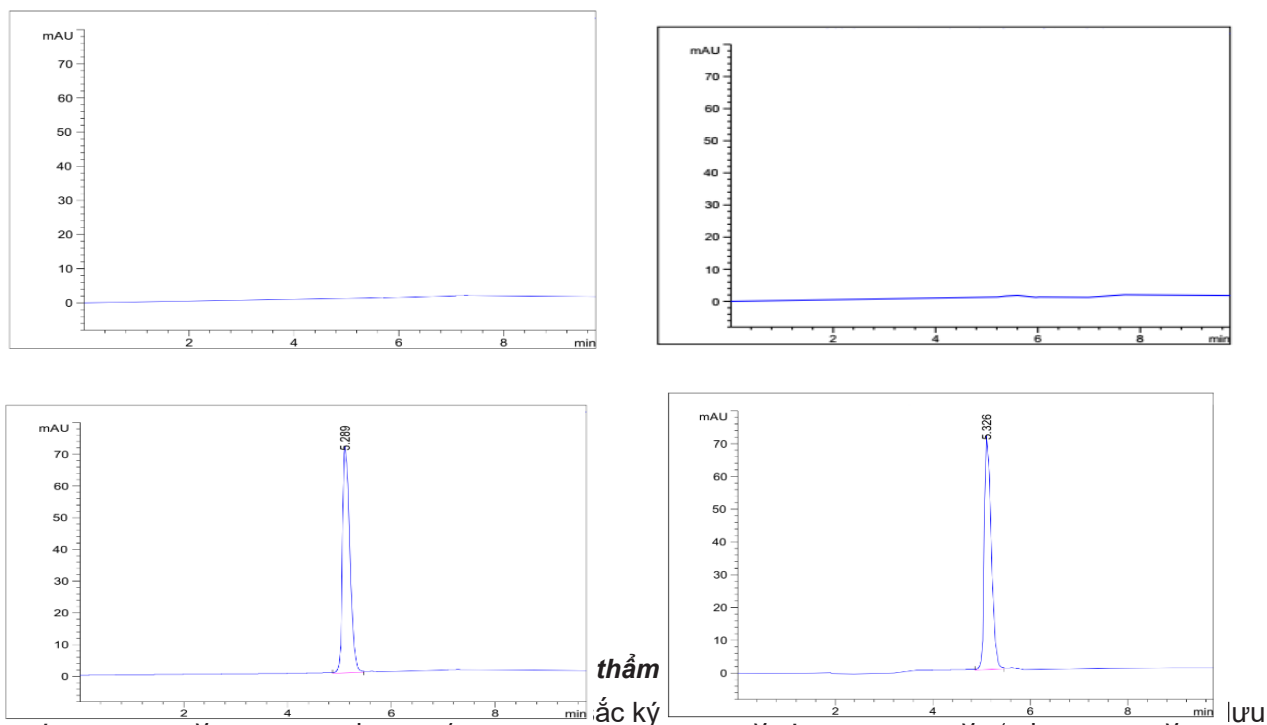
Cột sắc ký: C-18 (4 mm x 150 mm; 5 µm). Pha động: hỗn hợp gồm 5 thể tích acetonitril và 95 thể tích natri hexan sulfonat 0,005 mol/l trong dung dịch đệm phosphat 0,1%. (Dung dịch đệm phosphat 0,1%: Hòa tan 1 g kali dihydro phosphat trong 1000 ml nước. Natri hexan sulfonat 0,005 mol/l: Hòa tan 0,94 g natri hexan sulfonat trong 1000 ml dung dịch đệm phosphat 0,1%). Bước sóng phát hiện: λ = 240 nm. Tốc độ dòng 0,8 ml/phút và thể tích bơm mẫu 20 µl.

Với các điều kiện sắc ký trên, pic của chất phân tích cân đối, không có hiện tượng kéo đuôi, thời gian lưu khoảng 5,3 phút là phù hợp (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 2.2.3. Kết quả được trình bày ở Hình 1.



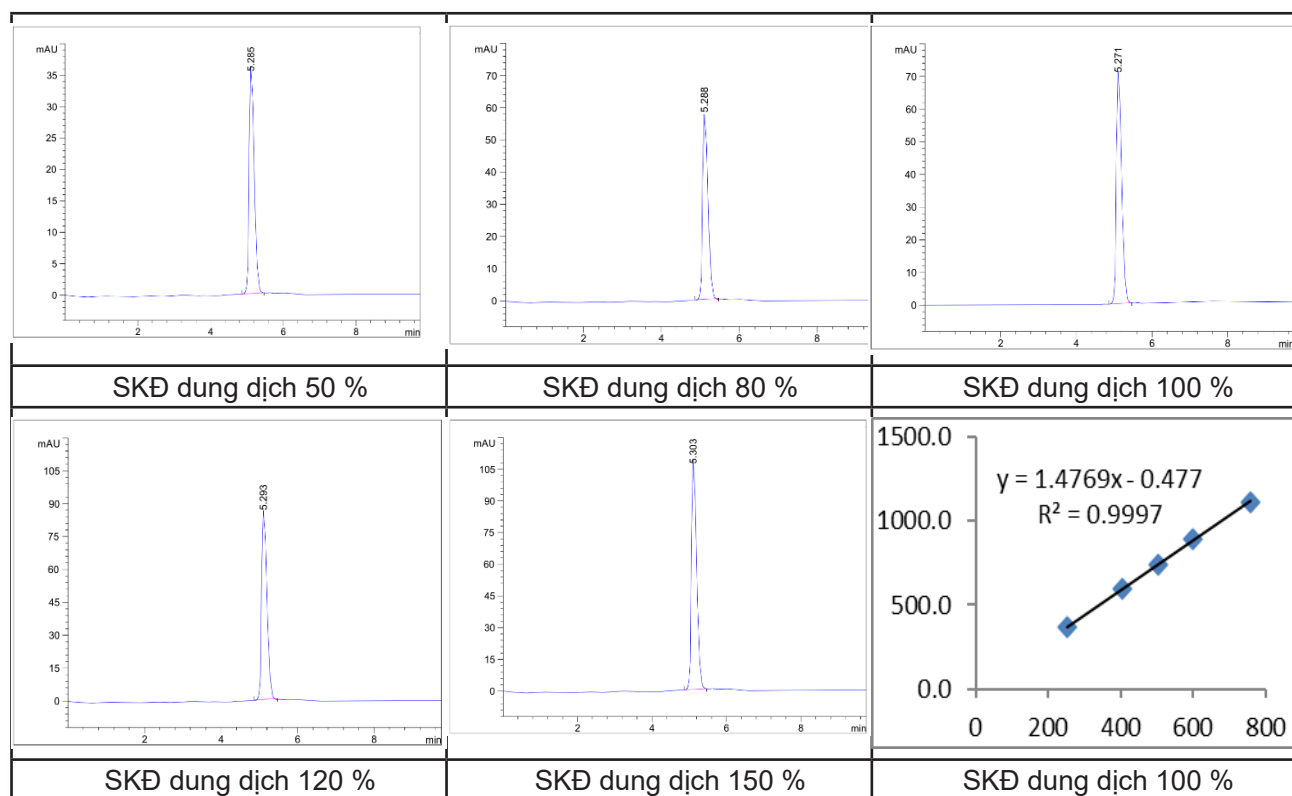
của pic L-Cystine trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn là khoảng 5,3 phút. Không có sai lệch đáng kể so với đường nền (trong cả mẫu trắng và dung mẫu dược). Vì vậy, tá dược không góp phần tạo ra bất kỳ pic gây nhiễu nào, phương pháp có tính đặc hiệu để định tính và định lượng L-cystine trong viên nang mềm Beautycap.

3.2.2. Độ tuyến tính

Thẩm định độ tuyến tính theo phương pháp mô tả ở mục 2.2.3. 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	Khối lượng L-Cystine (mg)	Nồng độ dung dịch L-Cystine ($\mu\text{g/ml}$)	Diện tích pic L-Cystine (mAU.s)
50 %	25,2	252,0	369,8
80 %	40,4	404,0	594,9
100 %	50,3	503,0	743,3
120 %	60,1	601,0	894,8
150 %	75,7	757,0	1112,2
Độ dốc	1,4769		
Giao điểm	- 0,477		
Hệ số tương quan	0,9999		



Hình 2. Sắc ký đồ và tương quan tuyến tính giữa nồng độ L-cystine và diện tích pic

Nhận xét: 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 $R^2 = 0,9997$.

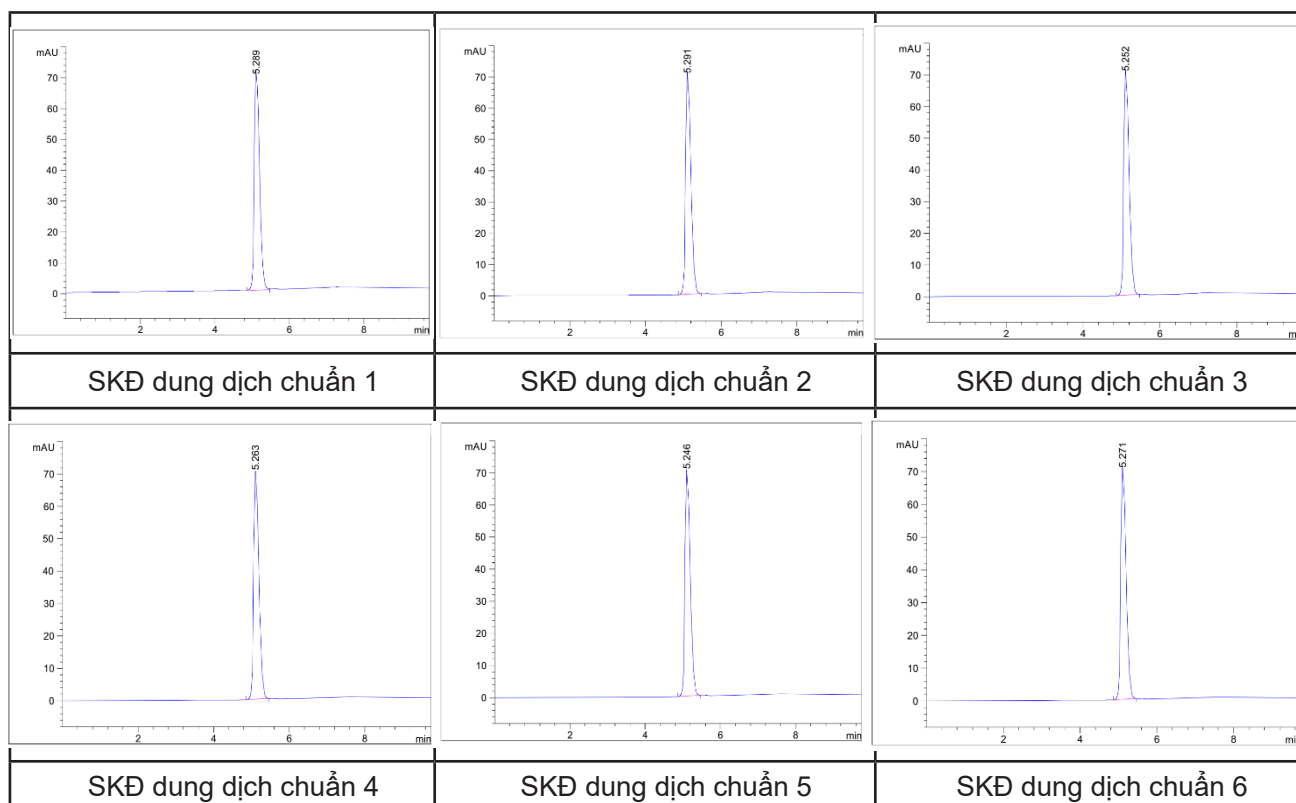
3.2.3. Độ chính xác

Độ chính xác của hệ thống

Thẩm định độ chính xác của hệ thống theo phương pháp mô tả ở mục 2.2.3. 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 L-Cystine (phút)	Diện tích pic của L-Cystine (mAU.s)
1	5,289	746,8
2	5,291	742,1
3	5,252	745,3
4	5,263	740,9
5	5,246	741,7
6	5,271	743,1
Trung bình	5,269	743,3
RSD (%)	0,35	0,31



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

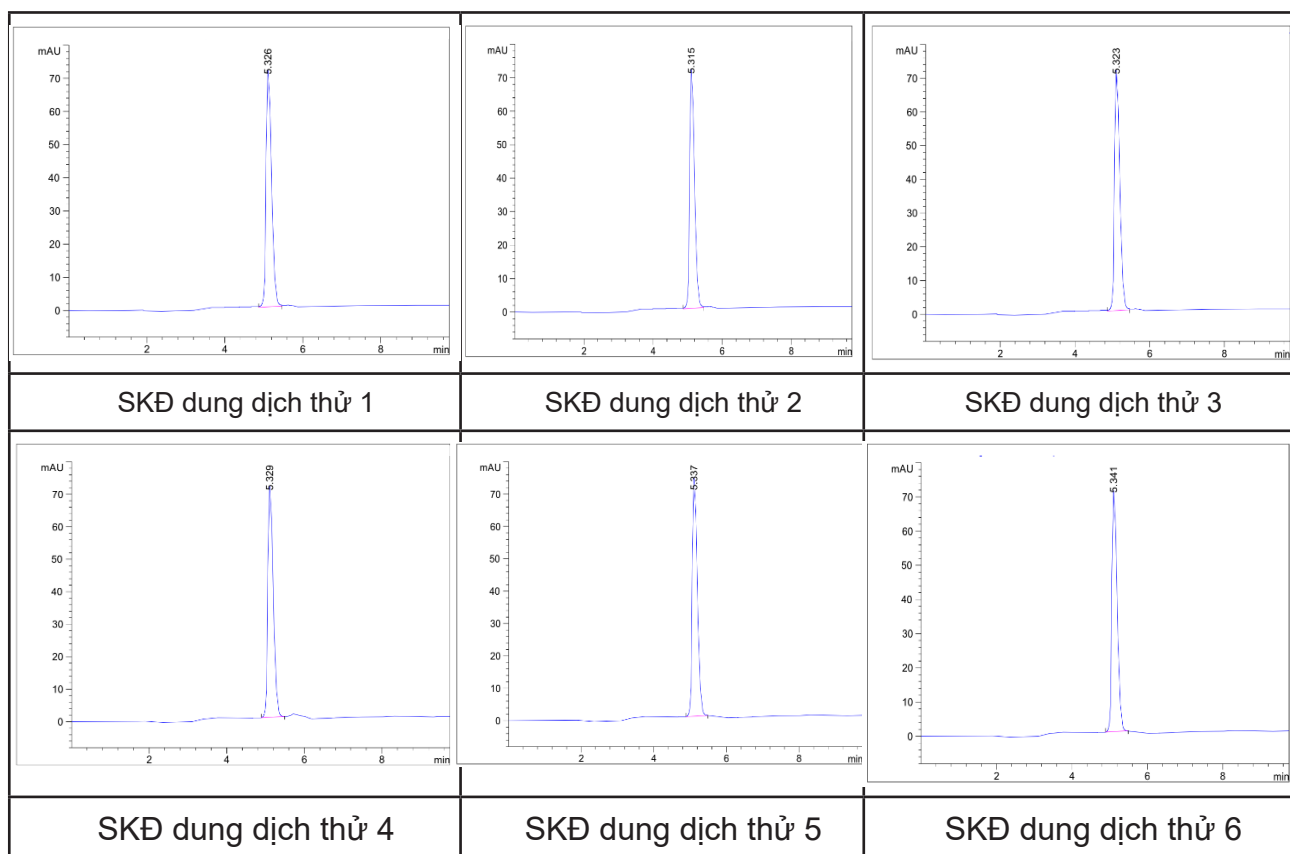
Nhận xét: Kết quả cho thấy độ chính xác của hệ thống đạt yêu cầu theo hướng dẫn thẩm định phương pháp phân tích của ASEAN [3].

Độ chính xác của phương pháp

Thẩm định độ chính xác của phương pháp theo phương pháp mô tả ở mục 2.2.3. Kết quả được thể hiện trong Bảng 3 và Hình 4.

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

Khối lượng chất chuẩn L-Cystine (mg) = 50,3 Diện tích pic của L-Cystine trong dung dịch chuẩn (mAU.s) = 743,3			
TT	Khối lượng mẫu (g)	Diện tích pic của L-Cystine trong dung dịch thử (mAU.s)	Kết quả (%)
1	1,1423	745,6	100,7
2	1,1462	758,6	102,1
3	1,1454	750,1	101,0
4	1,1431	747,0	100,8
5	1,1417	759,3	102,6
6	1,1448	741,7	99,9
Mean			101,2
RSD (%)			0,97



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

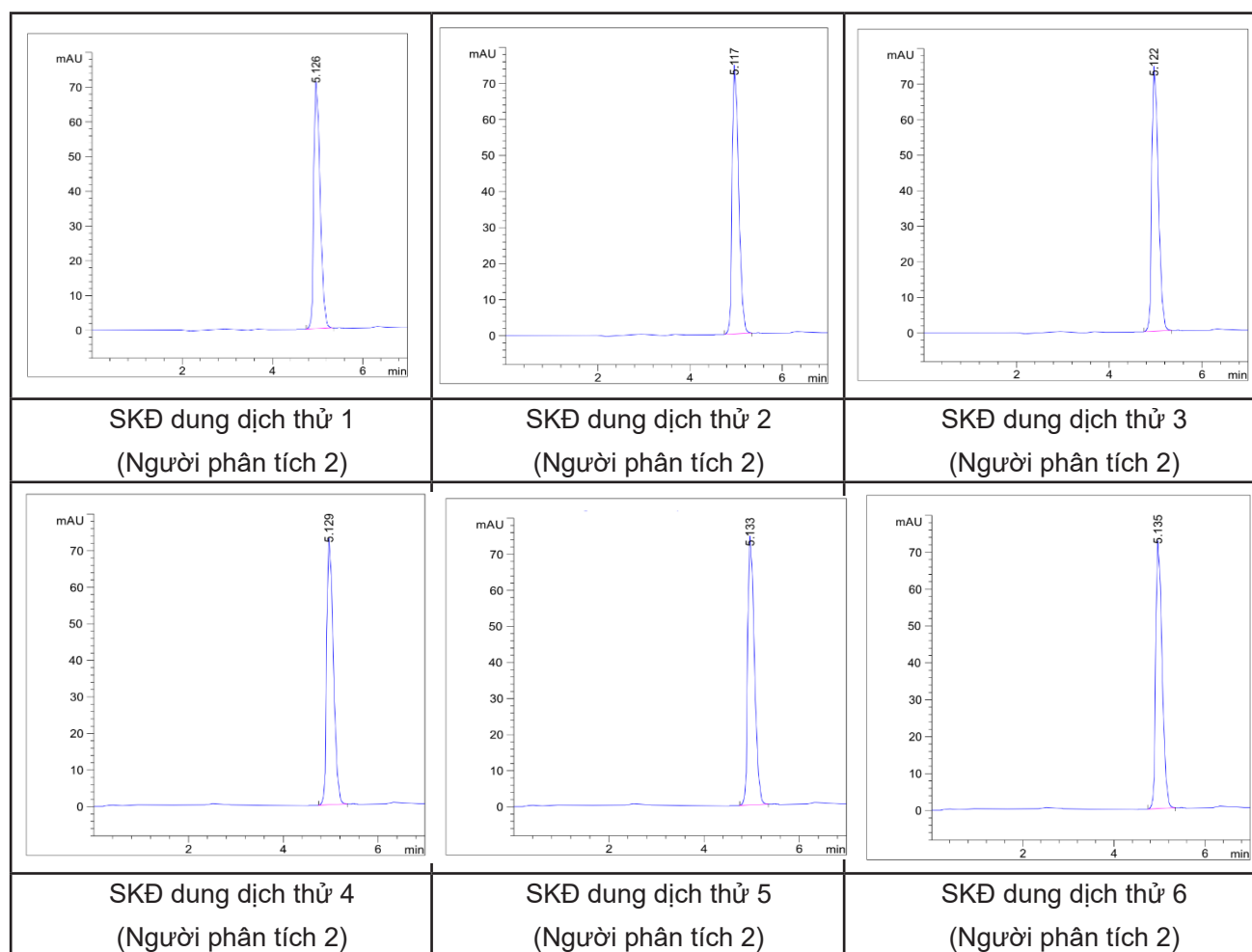
Nhận xét: Kết quả cho thấy độ chính xác của phương pháp đạt yêu cầu theo hướng dẫn thẩm định phương pháp phân tích của ASEAN [3].

Độ chính xác trung gian

Thẩm định độ chính xác trung gian theo phương pháp mô tả ở mục 2.2.3. 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 Khối lượng chất chuẩn L-Cystine (mg) = 50,3 Diện tích pic của L-Cystine trong dung dịch chuẩn (mAU.s) = 743,3		Người phân tích 2 Khối lượng chất chuẩn L-Cystine (mg) = 50,3 Diện tích pic của L-Cystine trong dung dịch chuẩn (mAU.s) = 743,3	
	Diện tích pic của L-Cystine trong dung dịch thử (mAU.s)	Kết quả (%)	Diện tích pic của L-Cystine trong dung dịch thử (mAU.s)	Kết quả (%)
1	745,6	100,7	749,0	101,1
2	758,6	102,1	762,1	103,1
3	750,1	101,0	753,6	101,8
4	747,0	100,8	750,4	101,4
5	759,3	102,6	762,8	103,2
6	741,7	99,9	745,1	100,7
Mean: 101,2% RSD: 0,97%			Mean: 101,9% RSD: 1,03%	
Average: 101,5% RSD: 1,02%				



Hình 6. Sắc ký đồ thẩm định độ chính xác trung gian

Nhận xét: Kết quả cho thấy độ chính xác trung gian đạt yêu cầu theo hướng dẫn thẩm định phương pháp phân tích của ASEAN [3].

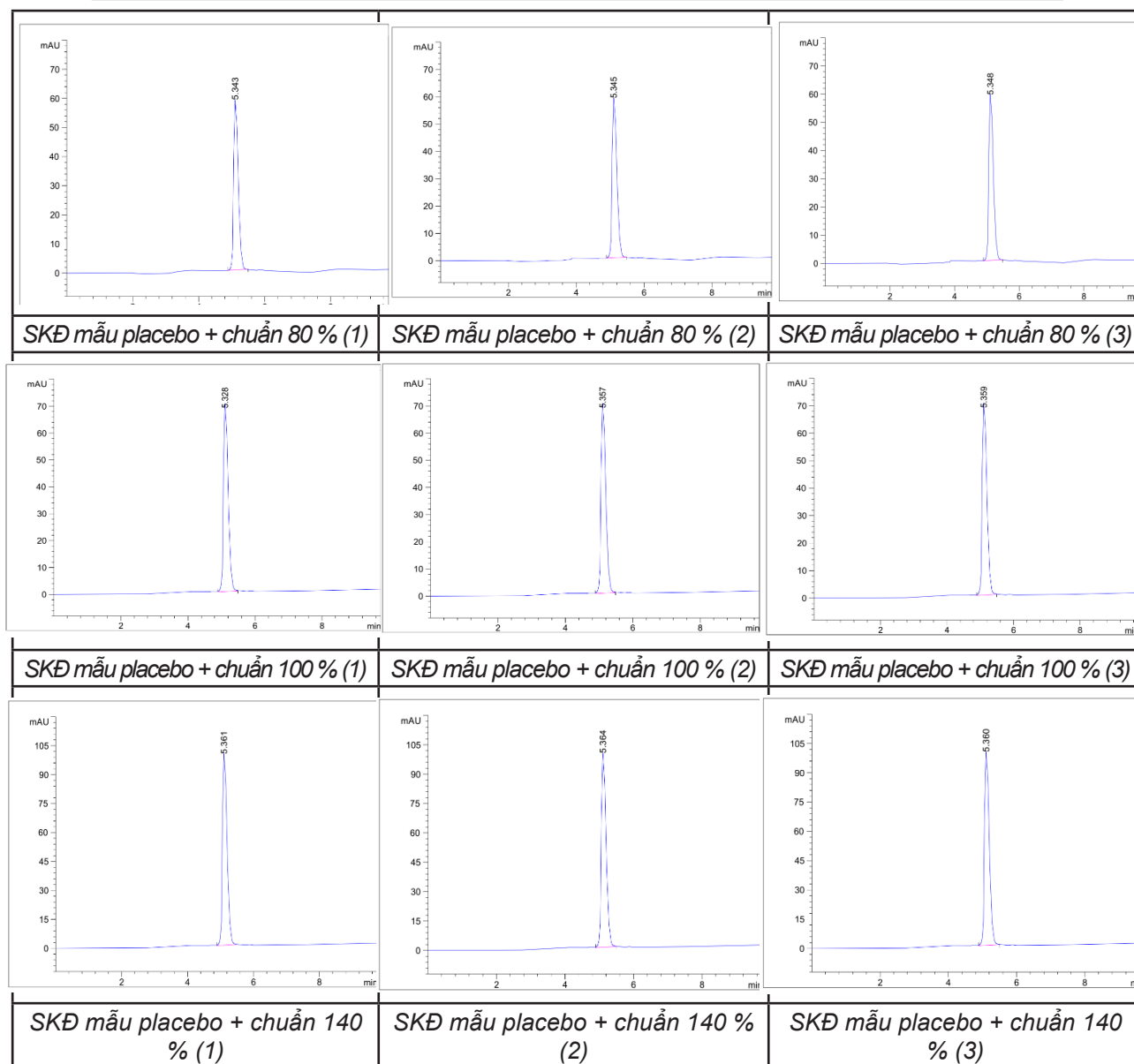
3.2.4. Độ đúng

Thẩm định độ đúng của phương pháp theo phương pháp mô tả ở mục 2.2.3. 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 L-Cystine thêm vào (mg)	Diện tích pic của L-Cystine	Khối lượng L-Cystine thu hồi (mg)	% Thu hồi
80 %	65,3	40,2	589,5	39,9	99,2
80 %	64,8	40,4	593,4	40,2	99,4
80 %	64,2	40,7	605,9	41,0	100,7
				TB	99,8
				RSD	0,83
100 %	65,4	50,0	730,4	49,4	98,9
100 %	64,5	50,3	744,7	50,4	100,2
100 %	65,7	50,5	745,7	50,5	99,9
				TB	99,7
				RSD	0,71
140 %	64,1	70,2	1028,0	69,6	99,1

Mẫu	Khối lượng Placebo (mg)	Khối Lượng L-Cystine thêm vào (mg)	Diện tích pic của L-Cystine	Khối lượng L-Cystine thu hồi (mg)	% Thu hồi
140 %	65,8	70,3	1035,8	70.1	99,7
140 %	65,2	70,6	1043,8	70.6	100,0
				TB	99,6
				RSD	0,48
Mean					99,7
RSD (%)					0,60



Hình 6. Sắc ký đồ thẩm định độ đúng

Nhận xét: 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 %. Do đó, phương pháp này đạt yêu cầu để định lượng L-Cystine trong viên nang mềm Beautycap.

3.2.5. Khoảng xác định

Từ kết quả khảo sát độ đúng, suy ra khoảng xác định của quy trình định lượng đã xây dựng là từ 250 µm/ml – 750 µg/ml.

IV. BÀN LUẬN

L-cystine về mặt hóa học là một acid amin. Định lượng acid amin có thể dựa trên một số phương pháp như HPLC với detector huỳnh quang (HPLC-FLD) [1], phương pháp này chỉ phù hợp với các cơ sở nghiên cứu, các phòng kiểm nghiệm của cơ sở sản xuất thường chỉ có trang bị HPLC với detector UV nên khả năng ứng dụng trong sản xuất không cao. Ngoài ra, acid amin có thể được định lượng bằng phương pháp tạo dẫn xuất trước cột bằng dansyl clorid [4], [10] hoặc bằng acid ethacrynic [2]. Phương pháp này có độ đặc hiệu và độ chính xác cao nhưng quy trình phân tích và xử lý mẫu phức tạp, thời gian phân tích lâu và đòi hỏi người phân tích phải có kinh nghiệm, cơ sở thực hiện phân tích có điều kiện trang bị tốt như cột sắc ký ion chuyên dụng [2], [4], [10]. Nghiên cứu này đã xây dựng phương pháp định lượng L-cystine bằng HPLC với detector UV là loại detector thông dụng, dung môi pha động acetonitril sẵn có, hóa chất sử dụng là loại rẻ tiền, dễ kiếm. Với điều kiện sắc ký đã chọn, thời gian lưu của L-cystine là 5,3 phút nên thời gian phân tích mẫu nhanh, thuận tiện cho việc phân tích nhiều mẫu cùng một lúc. Kết quả thẩm định cho thấy, phương pháp có độ đặc hiệu cao, khoảng tuyến tính khá rộng (50 % - 150%), có độ đúng cao (99,1 % - 100,2 %) và độ lặp lại tốt (giá trị RSD từ 0,31 % - 1,02 %), thời gian phân tích ngắn, đáp ứng các yêu cầu về phương pháp định lượng hoạt chất trong chế phẩm thuốc và thực phẩm chức năng.

V. KẾT LUẬN

Đã xây dựng và thẩm định phương pháp định tính, định lượng L-cystine trong viên nang mềm Beautycap với các điều kiện sắc ký như sau: cột sắc ký: C-18 (4 mm x 150 mm; 5 μ m); detector: UV-240 nm; tốc độ dòng: 0,8 ml/phút, thể tích tiêm mẫu: 20 μ l; pha động: hỗn hợp gồm 5 thể tích acetonitril và 95 thể tích natri hexan sulfonate 0,005 mol/l trong dung dịch đệm phosphat 0,1%. Mẫu phân tích được xử lý bằng cách chiết với dung dịch HCl 0,1 mol/l.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Alona Savych, Olha Polonets, Liubov Morozova, Kateryna Syrovatko, Tetiana Recun (2022), "HPLC-FLD analysis of amino acids content in Chrysanthemum morifolium", *Pharmacia*, 69(2): 337–343.
2. A.M. Di Pietra, R. Gotti, D. Bonazzi, V. Andriano, V. Cavrini (1994), "HPLC determination

of glutathione and L-cysteine in pharmaceuticals after derivatization with ethacrynic acid", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 12, Issue 1, January 1994, Pages 91-98.

3. ASEAN Guidelines for validation of analytical procedures, truy cập ngày 05 tháng 12 năm 2022 từ <https://asean.org/wp-content/uploads/2012/10/Asean-Analytical-Validation-gl.pdf>.
4. A. Suneetha, B. Chandra Sekhar, K. Sudheer Babu (2022), "DOE Assisted RP-HPLC Method Development and Validation for Estimation of L-Cysteine and Cystine with Dansyl Chloride derivatization in Presence of Amino Acid Mixture", *Asian Journal of Pharmaceutical Analysis*, 12(1):35-2. doi: 10.52711/2231-5675.2022.00007.
5. Đoàn Cao Sơn (2022), "Định hướng nhiệm vụ công tác kiểm tra và giám sát chất lượng năm 2022", *Tạp chí Kiểm nghiệm thuốc*, số 1.2022, tập 20, số 75, tr. 1-2.
6. Hovhannes J. Gukasyan; Ram Kannan; Vincent H. L. Lee; Kwang-Jin Kim (2003), "Regulation of L-Cystine Transport and Intracellular GSH Level by a Nitric Oxide Donor in Primary Cultured Rabbit Conjunctival Epithelial Cell Layers", *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, Vol.44, p. 1202-1210.
7. Kristina Riegel, Thomas Hengl, Saskia Krischok, Kim Schlinzig Harry F Abts (2020), "L-Cystine-Containing Hair-Growth Formulation Supports Protection, Viability, and Proliferation of Keratinocytes", *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, Vol 13, p. 499–510.
8. Tra cứu Giấy đăng ký thuốc, nguyên liệu làm thuốc tại Việt Nam, truy cập ngày 16 tháng 3 năm 2023 từ <http://dichvucong.dav.gov.vn/cong-bothuoc/index>.
9. Vu T. et al. (2019), "Quality Control of Functional Foods: Current Status and Future Directions", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 67, No. 21, pp. 5977-5988.
10. Wang, Yan; Kang, Xue-Jun; Ge, Wei-Hong; Sun, Xi-Zhao; et al. (2013), "Simple, Rapid, and Accurate RP-HPLC Method for Determination of Cystine in Human Urine after Derivatization with Dansyl Chloride", *Chromatographia*, Vol 65, Issue 9-10, p. 527-532.