

XÂY DỰNG VÀ THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO ĐỊNH LƯỢNG SUCRALFAT TRONG HỖN DỊCH

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng sucralfat trong hỗn dịch bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

Phương pháp nghiên cứu: Xử lý mẫu bằng dung dịch chuẩn độ hỗn hợp sulfuric acid và natri hydroxyd, lắc siêu âm để hòa tan mẫu ở nhiệt độ dưới 30 °C, lấy dịch chiết và lọc qua màng lọc 0,45 µm. Định lượng bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao. Xử lý số liệu bằng phương pháp thống kê.

Kết quả: Quy trình xử lý mẫu sử dụng hỗn hợp dung dịch sulfuric acid (đã pha loãng) và dung dịch natri hydroxyd theo tỷ lệ 1:1, giúp giải phóng sucrose octasulfat ra khỏi phức sucralfat ở pH tối ưu. Pha động là dung dịch ammonium sulfat 13,2% điều chỉnh pH về $3,5 \pm 0,1$. Sử dụng cột sắc ký L18 (NH₂) (300 mm × 3,9 mm; 5 µm), detector RID, tốc độ dòng 1 ml/phút, thể tích tiêm 50 µl. Thời gian lưu của sucrose octasulfat ổn định khoảng 6,1 phút. Phương pháp phân tích cho thấy tính đặc hiệu cao khi không ghi nhận sự nhiễu của tá dược tại vị trí pic của hoạt chất trên sắc ký đồ. Đường chuẩn thể hiện mối tương quan tuyến tính tốt giữa nồng độ và diện tích pic với hệ số tương quan R² đạt 0,9995 trong khoảng nồng độ từ 3,64 đến 10,93 mg/ml. Độ chính xác của phương pháp được đánh giá đạt yêu cầu với độ lệch chuẩn tương đối (RSD) nhỏ hơn 1,0%. Đồng thời, độ đúng cũng được khẳng định khi độ thu hồi trung bình dao động từ 98,9% đến 99,1% với RSD dưới 0,7%. Phương pháp có khoảng xác định rộng từ 5,86 đến 8,79 mg/ml, tương ứng với 80% đến 120% hàm lượng danh nghĩa.

Kết luận: Đã xây dựng thành công quy trình xử lý mẫu và phương pháp định lượng sucralfat trong hỗn dịch bằng HPLC sử dụng detector RID với độ chính xác, độ đúng và tính đặc hiệu cao. Phương pháp đáp ứng đầy đủ yêu cầu thẩm định phân tích theo hướng dẫn của ASEAN, phù hợp để ứng dụng kiểm nghiệm chất lượng sucralfat trong hỗn dịch uống trong sản xuất và đăng ký thuốc.

Hoàng Thị Tuyết Nhung¹, Mai Xuân Bách^{1*}

Từ khóa: HPLC, sucralfat, hỗn dịch, thẩm định phương pháp, định lượng

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY METHOD FOR THE QUANTIFICATION OF SUCRALFATE IN SUSPENSION

ABSTRACT

Objective: To develop and validate a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the quantification of sucralfate in suspension.

Methods: Samples were treated with a titration solution consisting of a mixture of sulfuric acid and sodium hydroxide, followed by ultrasonic shaking to dissolve the sample at temperatures below 30°C. The extract was then filtered through a 0.45 µm membrane. Quantification was performed using HPLC, and data were processed statistically.

Results: The sample preparation process involved a mixture of diluted sulfuric acid and sodium hydroxide solution in a 1:1 ratio, enabling the release of sucrose octasulfate from the sucralfate complex at an optimal pH. The mobile phase consisted of 13.2% ammonium sulfate solution, adjusted to pH 3.5 ± 0.1 . Chromatographic conditions included an L18 (NH₂) column (300 mm × 3.9 mm; 5 µm), RID detector, flow rate of 1 ml/min, and injection volume of 50 µl. The retention time of sucrose octasulfate was approximately 6.1 minutes. The method demonstrated high specificity, as no interference from excipients was observed at the retention time of the active compound. The calibration curve showed good linearity with a correlation coefficient (R²) of 0.9995 over the concentration range of 3.64 to 10.93 mg/ml. The method exhibited high precision with a relative standard deviation (RSD) of less than 1.0%. Accuracy was confirmed with a mean recovery ranging from 98.9% to 99.1% and RSD below 0.7%. The method had a wide quantification range from 5.86 to 8.79 mg/ml, corresponding to 80%–120% of the nominal concentration.

Conclusion: A reliable sample preparation and HPLC method using RID detection was successfully developed for the quantification of sucralfate in suspension. The method met ASEAN analytical

1. Trường Đại học Dược Hà Nội

*Tác giả liên hệ: Mai Xuân Bách

Email: bachmx@hup.edu.vn

Ngày nhận bài: 18/5/2025

Ngày phản biện: 30/5/2025

Ngày duyệt bài: 3/6/2025

validation requirements in terms of specificity, precision, accuracy, and linearity, making it suitable for quality control and regulatory purposes in the production and registration of sucralfate oral suspensions.

Keywords: HPLC, sucralfate, suspension, method validation, quantification.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sucralfat là một phức hợp polyme của sucrose octasulfat và nhôm hydroxyd, được sử dụng phổ biến trong điều trị loét dạ dày tá tràng và các bệnh lý liên quan đến tăng tiết acid như viêm thực quản trào ngược [1]. Với cơ chế tạo màng bao che phủ vết loét và gắn kết chọn lọc với mô tổn thương, sucralfat có tác dụng bảo vệ niêm mạc dạ dày, thúc đẩy quá trình lành loét và giảm triệu chứng đau. Hiện nay, sucralfat được bào chế chủ yếu dưới dạng hỗn dịch uống do ưu điểm dễ sử dụng, phù hợp với bệnh nhân khó nuốt và cho hiệu quả bao phủ niêm mạc tốt hơn dạng viên nén [2].

Tuy nhiên, việc phân tích định lượng sucralfat gặp nhiều khó khăn do hoạt chất này không hấp thụ ánh sáng trong vùng tử ngoại – khả kiến, không hòa tan tốt trong dung môi hữu cơ thông thường và có cấu trúc polyme phức tạp, ít ổn định trong môi trường trung tính hoặc kiềm. Một số phương pháp phân tích truyền thống như đo quang phức hợp nhôm hoặc đo độ dẫn đã được áp dụng, tuy nhiên các phương pháp này thường kém đặc hiệu, không chọn lọc và khó áp dụng trong kiểm nghiệm thường quy [3].

Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) là một kỹ thuật phân tích hiện đại có độ nhạy cao, khả năng phân tách tốt và độ chính xác cao, đã được sử dụng rộng rãi trong phân tích dược chất và chế phẩm [4, 5]. Đối với sucralfat, một số nghiên cứu trước đây đã áp dụng HPLC để định lượng thành phần sucrose octasulfat – là đại diện định lượng cho sucralfat – sau khi xử lý mẫu thích hợp nhằm giải phóng và làm tan phân tử đích. Trong số các đầu dò (detector) của HPLC, detector chỉ số khúc xạ (RID) tỏ ra phù hợp cho các hợp chất không có phổ UV như sucralfat, với ưu điểm về chi phí thấp, dễ sử dụng và độ tái lập tốt trong điều kiện phòng thí nghiệm thông thường [7].

Tuy nhiên, cho đến nay, chưa có quy trình chuẩn hóa nào về phân tích sucralfat trong dạng hỗn dịch uống bằng HPLC-RID được công bố trong các dược điển chính thống như USP hay BP [4, 5]. Vì vậy, việc xây dựng và thẩm định một phương pháp

định lượng sucralfat bằng HPLC-RID với quy trình xử lý mẫu phù hợp, hiệu quả và đáng tin cậy là cần thiết nhằm hỗ trợ cho công tác nghiên cứu, phát triển và kiểm soát chất lượng chế phẩm sucralfat trong sản xuất và đăng ký thuốc.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

- Đối tượng nghiên cứu là hỗn dịch Sutra do nhà máy Huons Co. Ltd (Hàn Quốc) sản xuất.

Thành phần: Mỗi gói (15 ml) hỗn dịch Sutra chứa:

Hoạt chất: Sucralfat hydrat 1 g (dưới dạng phức với nhôm hydroxyd, tương đương với 0,384 g sucrose octasulfat khan).

Tá dược: Gôm xanthan 45 mg; natri monophosphat khan 75 mg; methylparaben 12 mg; propylparaben 3 mg; glycerin đậm đặc 2,25 g; đường kính 1,26 g; natri clorid 4,5 mg, tinh dầu cam vứa đủ; nước tinh khiết vừa đủ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 01/2024 – 04/2024 tại Khoa Khoa học cơ bản, Trường Đại học Dược Hà Nội và Viện kiểm nghiệm thuốc Trung ương.

2.2.1. Phương pháp phân tích

- Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 183 mg kali sucrose octasulfat, cho vào bình định mức 25 ml. Hòa tan và định mức đến vạch bằng pha động. Lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

- Dung dịch thử: Chuyển 5 ml hỗn dịch Sutra được cân chính xác vào cốc có mỏ đã có sẵn 10,0 ml dung dịch xử lý mẫu. Dung dịch xử lý mẫu được điều chế bằng cách trộn dung dịch sulfuric acid pha loãng và dung dịch natri hydroxyd theo tỷ lệ xác định (A:B = 1:1), nhằm tạo môi trường pH kiểm soát phù hợp để phân giải sucralfat, giải phóng sucrose octasulfat (xem mục 3.1), lắc đều. Tiếp tục lắc siêu âm trong 5 phút, giữ nhiệt độ của hỗn hợp dưới 30°C. Điều chỉnh pH đến 2 bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M. Chuyển hỗn hợp tạo thành vào bình định mức 25 ml. Rửa cốc có mỏ bằng nước cất, gộp dịch rửa vào bình định mức và thêm nước cất đến vạch. Tách lớp dịch trong. Lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

- Dung dịch trắng: Thay hỗn dịch Sutra bằng 5,00 ml nước cất. Các bước tiếp theo tương tự như đối với dung dịch thử.

- Dung dịch placebo: Thay hỗn dịch Sutra bằng một khối lượng placebo tương đương với khối

lượng có trong 5,00 ml hỗn dịch Sutra. Các bước tiếp theo tương tự như đối với dung dịch thử.

- Tiến hành: Tiêm riêng biệt các thể tích bằng nhau (khoảng 50 µl) dung dịch trắng, dung dịch placebo, dung dịch chuẩn và dung dịch thử vào thiết bị sắc ký, ghi sắc ký đồ và đo các đáp ứng pic chính.

- Tính toán: Tính hàm lượng % của sucralfat so với hàm lượng trên nhãn theo công thức:

$$HL(\%) = \frac{R_u}{R_s} \times \frac{W_s}{25} \times \frac{25}{W_u} \times \frac{1}{0,384} \times \frac{15 \times p}{1000} \times \frac{982,75}{1287,53} \times \frac{\%P}{100} \times 100$$

Trong đó:

R_u : đáp ứng pic của sucrose octasulfat thu được từ dung dịch thử

R_s : đáp ứng pic của sucrose octasulfat thu được từ dung dịch chuẩn

W_s : khối lượng kali sucrose octasulfat dùng để pha dung dịch chuẩn (mg)

W_u : khối lượng hỗn dịch sử dụng để chuẩn bị dung dịch thử (g)

p : tỷ trọng của hỗn dịch (g/ml)

0,384: khối lượng tương đương của sucrose octasulfat khan trong 1gram sucralfat hydrat.

982,75: khối lượng phân tử của sucrose octasulfat

1287,53: khối lượng phân tử của kali sucrose octasulfat khan

%P: độ tinh khiết của chất chuẩn kali sucrose octasulfat dạng khan (%)

2.2.2. Điều kiện sắc ký

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 [6].

- **Độ đặc hiệu:** Tiến hành sắc ký với mẫu placebo để xác định xem tá dược có gây nhiễu đối với pic chính của hoạt chất hay không, bằng cách tiêm riêng biệt các thể tích bằng nhau dung dịch trắng, 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 kali sucrose octasulfat 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 %.

+ 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 %.

+ 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 %.

- **Độ đúng:** Chuẩn bị chín chế phẩm mẫu placebo. Mỗi ba mẫu được thêm chuẩn với nồng độ tương đương 80 %, 100 %, 120 % của nồng độ dung dịch chuẩn danh nghĩa: Cân chính xác một lượng chất chuẩn kali sucrose octasulfat khoảng 147 mg, 183 mg, 220 mg vào một cốc có mỏ đã chứa khối lượng placebo tương đương khối lượng có trong 5 ml dung dịch Sutra, thêm 10,0 ml dung dịch xử lý mẫu, lắc đều. Tiếp tục lắc siêu âm trong 5 phút, giữ nhiệt độ của hỗn hợp dưới 30°C. Điều chỉnh pH đến 2 bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 M. Chuyển hỗn hợp tạo thành vào bình định mức 25 ml. Rửa cốc có mỏ bằng nước cất, gộp dịch rửa vào bình định mức và thêm nước cất đến vạch. Tách lớp dịch trong. Lọc qua màng lọc 0,45 µm. 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 %.

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 1260 Infinity II, Cột L18 (NH₂), 300 mm × 3.9 mm, kích thước hạt 5 µm, detector: Refractive Index (RI); cân phân tích Sartorius BSA 224S; dụng cụ thủy tinh.

Hóa chất, thuốc thử và dung môi

- Chất chuẩn đối chiếu: kali sucrose octasulfat, cung cấp bởi Huons Co. Ltd (Hàn Quốc), 99,76%, số lô: PSO/WS/171.

Hóa chất: ammonium sulfat; phosphoric acid; natri hydroxyd; sulfuric acid.

Mẫu thử: hỗn dịch Sutra, cung cấp bởi Huons Co. Ltd (Hàn Quốc).

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: L18 (NH₂), (300 mm × 3.9 mm; 5 μm), nhiệt độ cột 30 oC. Detector RI.

Tốc độ dòng 1 ml/phút, thể tích tiêm mẫu 50 μl.

Pha động: Hòa tan 132 g amonium sulfat vào nước và pha thành 1000 ml (điều chỉnh pH đến $3,5 \pm 0,1$ bằng phosphoric acid).

Điều chế dung dịch xử lý mẫu:

A: Hỗn hợp gồm 100 ml sulfuric acid và 100 ml nước (cẩn thận với phản ứng tỏa nhiệt, làm lạnh bằng nước đá).

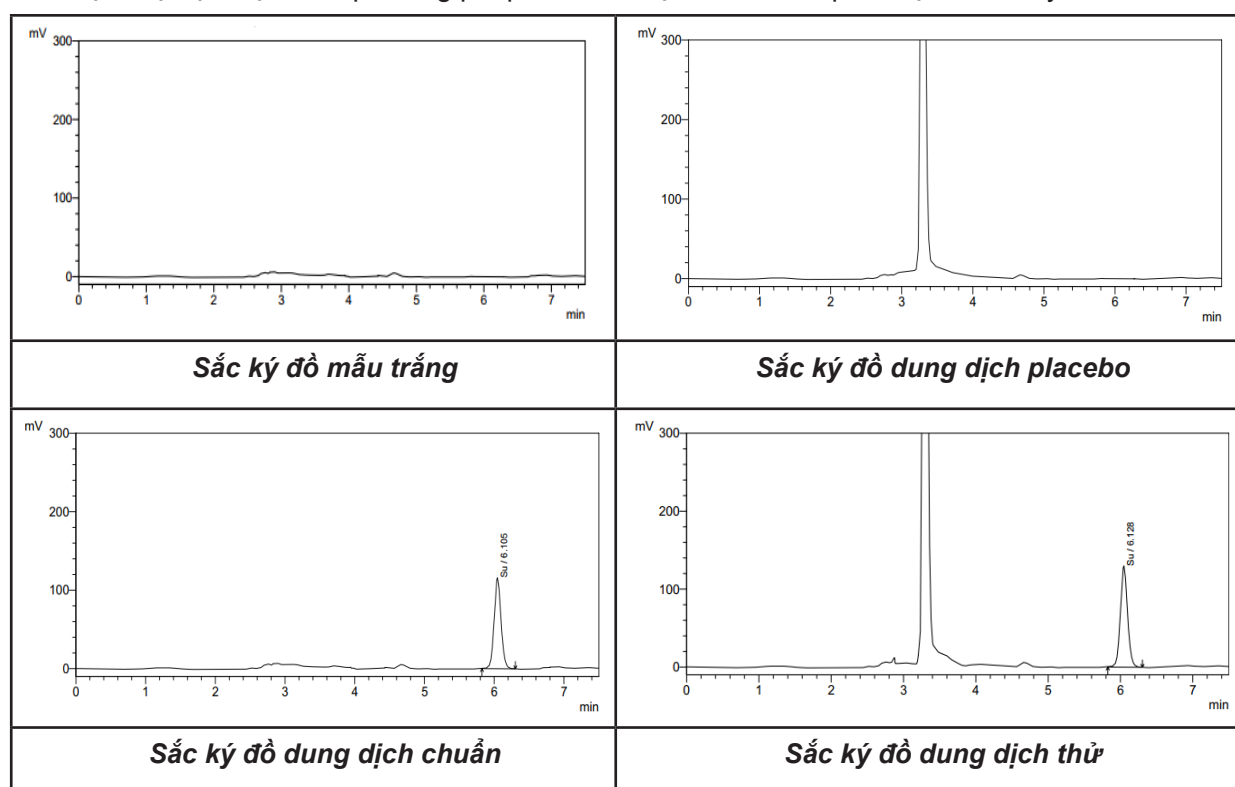
B: Hỗn hợp gồm 88,0 g natri hydroxyd và 1000 ml nước.

Với các điều kiện sắc ký trên, pic của chất phân tích cân đối, không có hiện tượng kéo đuôi, thời gian lưu khoảng 6,1 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.



Hình 1. Sắc ký đồ thẩm định độ đặc hiệu

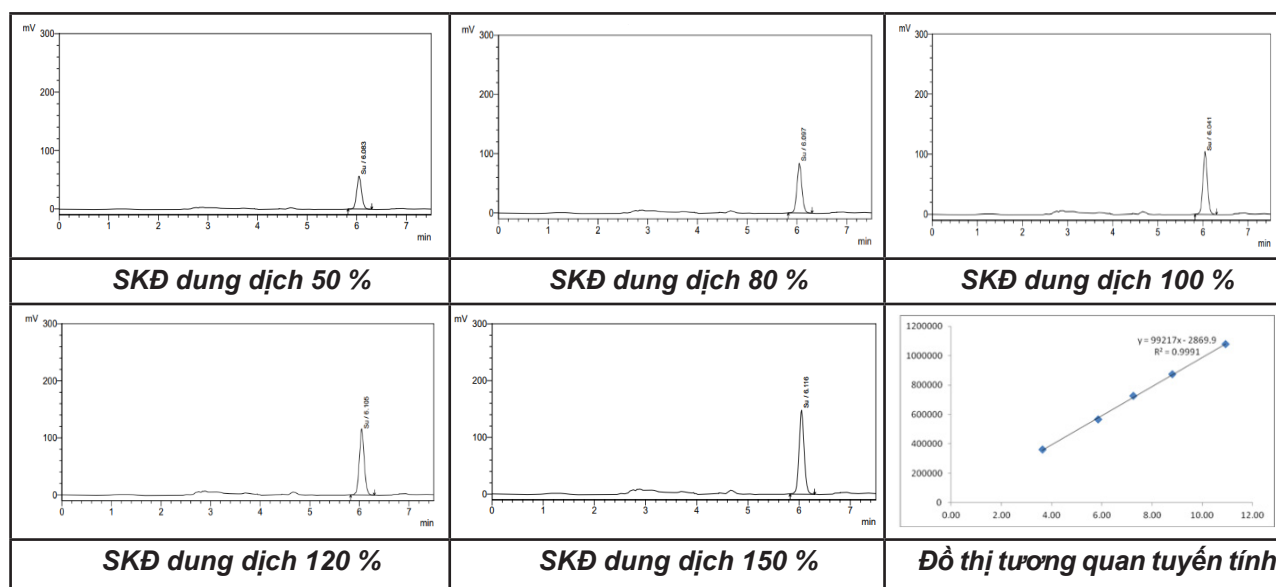
Nhận xét: Thời gian lưu của pic sucrose octasulfat trên sắc ký đồ dung dịch thử khoảng 6,1 phút. Thời gian lưu của pic sucrose octasulfat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn là khoảng 6,1 phút. Không có sai lệch đáng kể so với đường nền (trong cả mẫu trắng và dung mẫu placebo). Vì vậy, tá dược không góp phần tạo ra bất kỳ pic gây nhiễu nào, phương pháp có tính đặc hiệu để định tính và định lượng sucrose octasulfat trong hỗn dịch Sutra.

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 kali sucrose octasulfat (mg)	Nồng độ dung dịch kali sucrose octasulfate (mg/ml)	Diện tích pic của sucrose octasulfate (mV.s)
50%	90,9	3,64	360965
80%	146,4	5,86	565427
100%	181,2	7,25	726402
120%	220,0	8,80	872482
150%	273,2	10,93	1078603
Độ dốc	99217		
Giao điểm	-2869,9		
Hệ số tương quan (R^2)	0,9995		

**Hình 2. Sắc ký đồ và đồ thị tương quan tuyến tính giữa nồng độ kali sucrose octasulfate 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 $R^2 = 0,9995$.

3.2.3. Độ chính xác

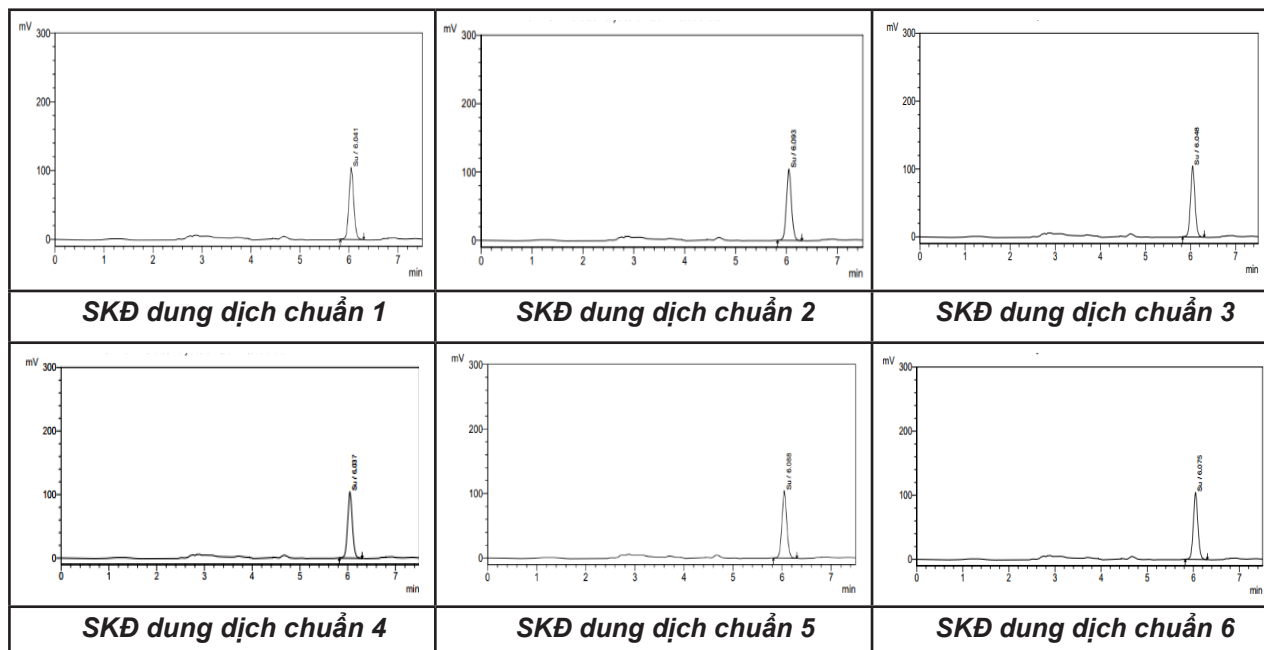
Độ chính xác của hệ thống

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 sucrose octasulfat (phút)	Diện tích pic của sucrose octasulfat (mV.s)
1	6,041	722490
2	6,093	725706
3	6,048	720893
4	6,037	728348

TT	Thời gian lưu của sucrose octasulfat (phút)	Diện tích pic của sucrose octasulfat (mV.s)
5	6,088	729102
6	6,075	731871
Trung bình	6,064	726402
RSD (%)	0,41	0,57



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

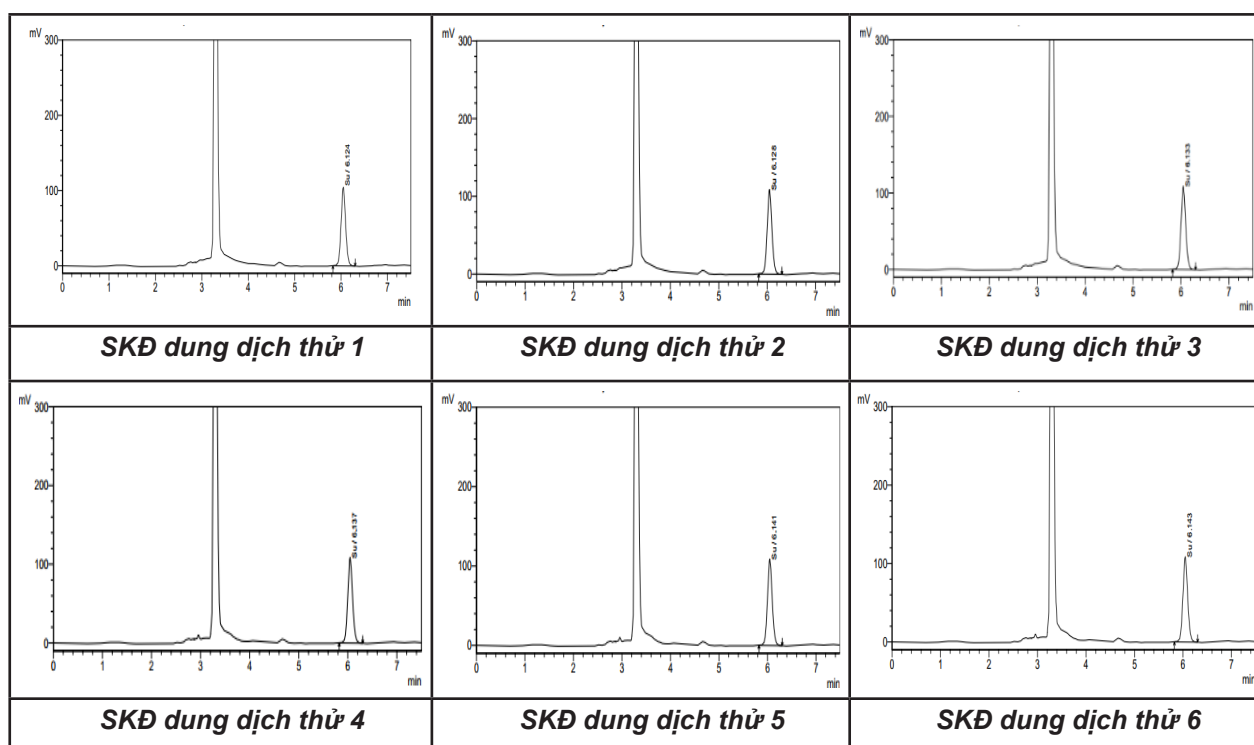
Nhận xét: Kết quả cho thấy độ chính xác của hệ thống đạt yêu cầu theo hướng dẫn thẩm định phương pháp phân tích của ASEAN [6].

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 kali sucrose octasulfat (mg) = 181,2			
Diện tích pic của kali sucrose octasulfat trong dung dịch chuẩn (mV.s) = 726402			
TT	Khối lượng mẫu (g)	Diện tích pic của sucrose octasulfat trong dung dịch thử (mV.s)	Kết quả (%)
1	5,5204	723562	98,4
2	5,6431	741278	98,6
3	5,5239	732778	99,6
4	5,5875	738975	99,3
5	5,6128	727930	97,4
6	5,6439	733095	97,5
Mean			98,5
RSD (%)			0,92



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

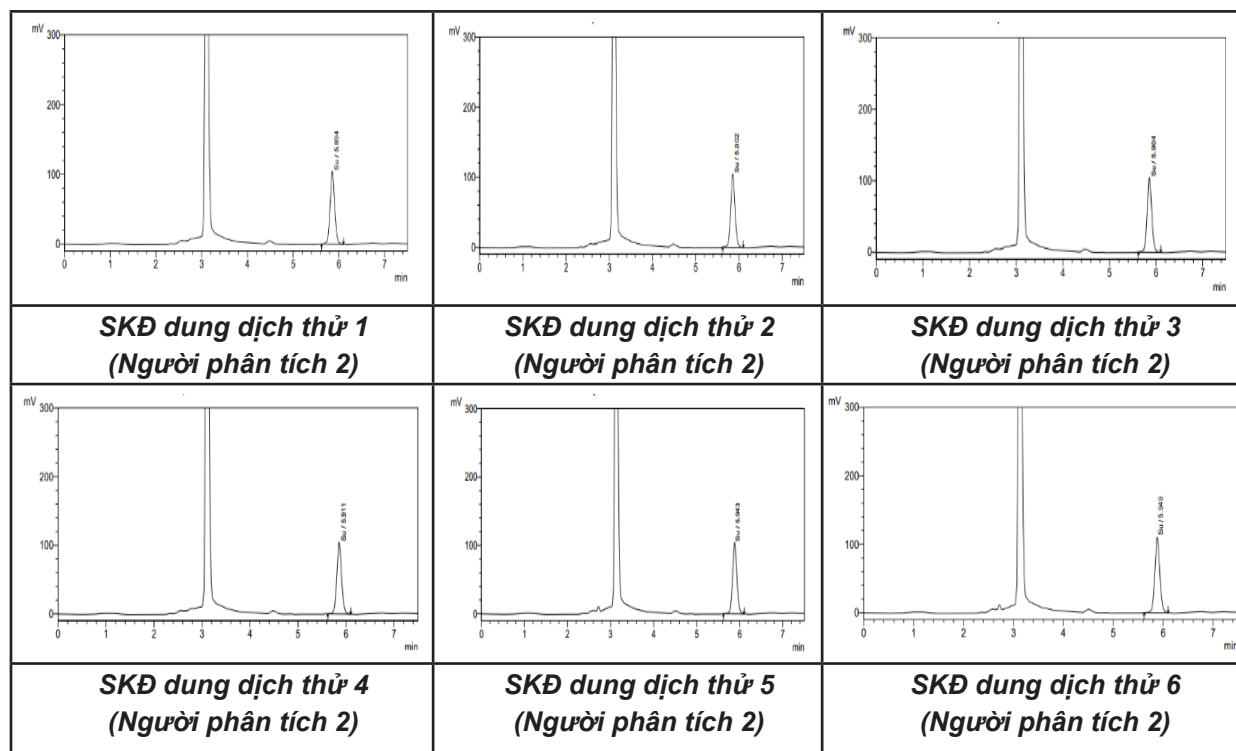
Nhận xét: Kết quả cho thấy độ chính xác của phương pháp đạt yêu cầu theo hướng dẫn thẩm định phương pháp phân tích của ASEAN [6].

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		Người phân tích 2	
	Khối lượng chất chuẩn kali sucrose octasulfat (mg) = 181,2		Khối lượng chất chuẩn kali sucrose octasulfat (mg) = 182,5	
	Diện tích pic của sucrose octasulfat trong dung dịch chuẩn (mV.s) = 726402		Diện tích pic của sucrose octasulfat trong dung dịch chuẩn (mV.s) = 734477	
	Diện tích pic của sucrose octasulfat trong dung dịch thử (mV.s)	Kết quả (%)	Diện tích pic của sucrose octasulfat trong dung dịch thử (mV.s)	Kết quả (%)
1	723562	98,4	737190	100,2
2	741278	98,6	740195	97,6
3	732778	99,6	740486	96,8
4	738975	99,3	743782	98,4
5	727930	97,4	731205	98,7
6	733095	97,5	754531	96,5
Mean: 98,5 % RSD: 0,92 %			Mean: 98,0 % RSD: 1,38 %	
Average: 98,3 % RSD: 1,14 %				



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

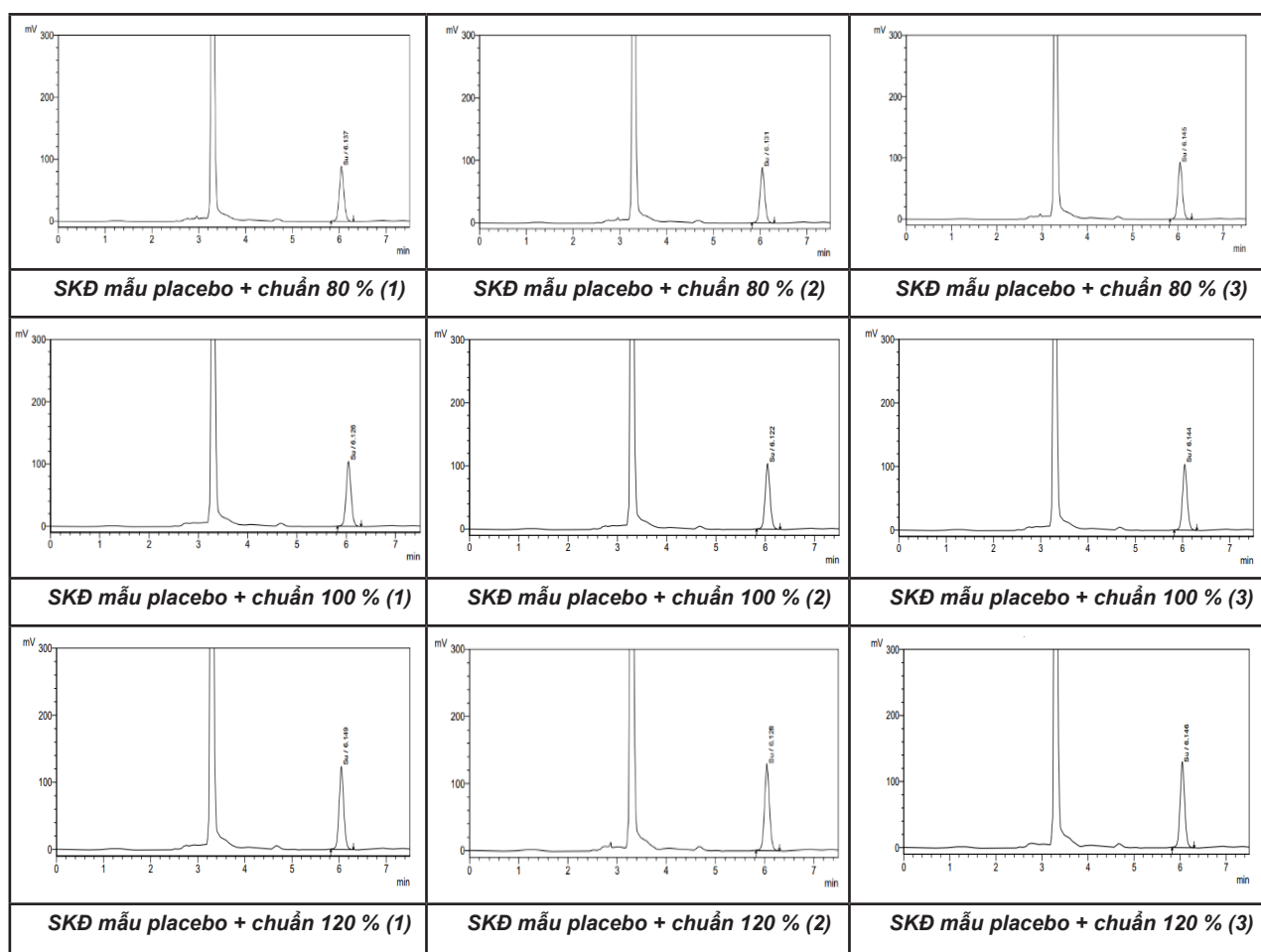
Nhận xét: Kết quả cho thấy độ chính xác trung gian đạt yêu cầu theo hướng dẫn thẩm định phương pháp phân tích của ASEAN [6].

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 kali sucrose octasulfat thêm vào (mg)	Diện tích pic của sucrose octasulfat	Khối lượng kali sucrose octasulfat thu hồi (mg)	% Thu hồi
80 %	5,2317	146,3	578013	144,2	98,6
80 %	5,2209	145,0	573598	143,1	98,7
80 %	5,2456	147,9	590124	147,2	99,5
				TB	98,9
				RSD	0,54
100 %	5,2273	18,29	726725	181,3	99,1
100 %	5,2438	183,6	731093	182,4	99,3
100 %	5,2157	183,8	722459	180,2	98,1
				TB	98,8
				RSD	0,69
120 %	5,2369	218,3	864174	393,4	215,6
120 %	5,2458	221,2	883465	402,2	220,4
120 %	5,2237	222,1	881056	401,1	219,8
				TB	99,1
				RSD	0,46
Mean					99,0
RSD (%)					0,51

**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 sucrose octasulfat trong hỗn dịch Sutra.

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 5,86 mg/ml – 8,79 mg/ml.

IV. BÀN LUẬN

Các dược điển quốc tế phổ biến hiện nay như Dược điển Mỹ [4] và Dược điển Anh [5] đều chưa có chuyên luận về định lượng sucralfat trong dạng hỗn dịch uống. Do sucralfat không hấp thụ ánh sáng trong vùng tử ngoại – khả kiến, nên không thể sử dụng detector UV-Vis — loại detector phổ biến nhất trong kỹ thuật HPLC — để định lượng. Trong số các loại detector thay thế hiện có, nghiên cứu này đã lựa chọn detector chỉ số khúc xạ (RID) nhờ các ưu điểm như tính phổ biến, dễ sử dụng và chi phí thấp. Các kết quả đã công bố, như kết quả của Raina Hadjikinova và cộng sự [7], cũng hỗ trợ việc sử dụng các kỹ thuật sắc ký để định lượng các chất phân tích có liên quan về mặt cấu trúc với hoạt chất sucralfat.

Phương pháp HPLC-RID được phát triển để xác định sucralfat trong hỗn dịch cho thấy tính đặc hiệu, tính tuyến tính, độ chính xác, độ đúng và khoảng xác định rộng, đáp ứng các yêu cầu về phân tích định lượng hoạt chất sucralfat trong chế phẩm dược dụng [6]. Thời gian lưu của sucrose octasulfat là nhất quán trong các dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở mức khoảng 6,1 phút. Không có sai lệch đáng kể so với đường nền (trong cả mẫu trắng và dung mẫu placebo), chứng tỏ tá dược không tạo ra pic nhiễu, vì vậy phương pháp có tính đặc hiệu để định tính và định lượng sucrose octasulfat trong hỗn dịch Sutra. Phương pháp cho thấy tính tuyến tính tốt trong phạm vi nồng độ từ 3,64 mg/mL đến 10,93 mg/mL, với hệ số tương quan (R^2) là 0,9995. Độ chính xác của hệ thống

và độ chính xác của phương pháp được xác nhận với các giá trị RSD lần lượt là 0,41% và 0,92%, cả hai đều nằm trong tiêu chuẩn chấp nhận là $RSD < 2,0\%$. Độ chính xác trung gian ($RSD = 1,14\%$) cũng đạt yêu cầu, cho thấy kết quả nhất quán giữa những người phân tích và trong các điều kiện khác nhau. Giá trị thu hồi trung bình dao động từ 98,9% đến 99,1% trên 80% đến 120% hàm lượng danh nghĩa và các giá trị RSD dưới 0,7%. Những kết quả này chứng minh độ tin cậy của phương pháp đối với phân tích định lượng sucralfat trong hỗn dịch. Khoảng xác định của phương pháp trải dài từ 80% đến 120% hàm lượng danh nghĩa, bao gồm các biến thể nồng độ thực tế dự kiến trong quá trình kiểm soát chất lượng thường quy.

V. KẾT LUẬN

Đã xây dựng được phương pháp định lượng sucralfat trong hỗn dịch bằng phương pháp HPLC, với điều kiện sắc ký như sau: cột sắc ký: L18 (NH₂), (300 mm × 3,9 mm; 5 μm); detector chỉ số khúc xạ; tốc độ dòng: 1 ml/phút, thể tích tiêm mẫu: 50 μl; pha động: hòa tan 132 g amonium sulfat vào nước và pha thành 1000 ml (điều chỉnh pH đến $3,5 \pm 0,1$ bằng phosphoric acid). Mẫu phân tích được xử lý bằng dung dịch hỗn hợp chuẩn độ sulfuric acid và natri hydroxyd, lắc siêu âm để hòa tan mẫu ở nhiệt độ dưới 30 oC, lấy dịch chiết và lọc qua màng lọc 0,45 μm.

Phương pháp đạt yêu cầu về tính đặc hiệu, tuyến tính, độ đúng và độ chính xác theo hướng dẫn thẩm định của ASEAN. Khi áp dụng phương pháp để phân tích mẫu thực tế là hỗn dịch Sutra do Huons Co. Ltd (Hàn Quốc) sản xuất, kết quả cho thấy hàm lượng sucralfat đạt 98,5% so với hàm

lượng ghi trên nhãn, nằm trong giới hạn cho phép. Điều này khẳng định phương pháp có độ tin cậy cao, phù hợp để áp dụng trong kiểm nghiệm chất lượng sucralfat trong quá trình sản xuất, đăng ký và lưu hành thuốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Candelli M, Carloni E, Armuzzi A, và cộng sự (2000)**, Role of sucralfate in gastrointestinal diseases, *Panminerva Med.* Mar;42(1):55-9. PMID: 11019606.
2. **Hollander D, Tarnawski A, Krause WJ, và cộng sự (1985)**, Protective effect of sucralfate against alcohol-induced gastric mucosal injury in the rat. Macroscopic, histologic, ultrastructural, and functional time sequence analysis, *Gastroenterology.* Jan;88(1 Pt 2):366-74. doi: 10.1016/s0016-5085(85)80191-8. PMID: 3871090.
3. **Ashrani Sunil1, Goyal Anju and Vaishnav Rajat (2018)**, HPLC Detectors, Their Types and Use: A Review, *Organic and Medicinal Chemistry;* 6(5). doi: 10.19080/OMCIJ.2018.06.555700.
4. **Dược điển Mỹ (2023)**, United States Pharmacopoeia Convention, trang xv–xlv.
5. **Dược điển Anh (2023)**, The British Pharmacopoeia Commission, trang A1–A25.
6. **ASEAN Guidelines for validation of analytical procedures**, truy cập ngày 16 tháng 05 năm 2025 từ <https://asean.org/wp-content/uploads/2012/10/Asean-Analytical-Validation-gl.pdf>
7. **Raina Hadjikinova và cộng sự (2017)**, Development and Validation of HPLC-RID method for Determination of Sugars and Polyols, *J. Pharm. Sci. & Res.* Vol. 9(8), 1263-1269.