

XÂY DỰNG VÀ THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ MÔI TRƯỜNG KHAN ĐỊNH LƯỢNG CHOLINE ALFOSCERATE TRONG THUỐC TIÊM

Hoàng Thị Tuyết Nhung^{1*}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng choline alfoscerate trong thuốc tiêm bằng phương pháp chuẩn độ điện thế trong môi trường khan.

Phương pháp nghiên cứu: Mẫu choline alfoscerate được làm khô, hòa tan trong acid acetic khan, bổ sung acetic anhydride và thủy ngân acetate, sau đó định lượng bằng chuẩn độ môi trường khan với dung dịch acid perchloric 0,1 N, xác định điểm tương đương theo phương pháp đo điện thế. Phương pháp được thẩm định theo các tiêu chí: tính đặc hiệu, tính tuyến tính, độ đúng, độ chính xác và khoảng xác định. Số liệu được xử lý bằng phương pháp thống kê.

Kết quả: Đã xây dựng được phương pháp định lượng choline alfoscerate trong thuốc tiêm bằng chuẩn độ điện thế trong môi trường khan. Mẫu được làm khô, hòa tan trong acid acetic băng, bổ sung acetic anhydride và thủy ngân acetate, sau đó chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N; điểm tương đương được xác định bằng phương pháp đo điện thế. Phương pháp có tính đặc hiệu, có sự tương quan tuyến tính giữa khối lượng choline alfoscerate và thể tích acid perchloric tiêu thụ trong khoảng 50–150% hàm lượng danh nghĩa ($R^2 = 0,9996$), độ lặp lại và độ chính xác trung gian tốt (RSD lần lượt 0,62% và 0,63%), độ thu hồi trung bình đạt 99,5% (RSD = 1,01%) trong khoảng 80–120% hàm lượng danh nghĩa. Khoảng xác định của phương pháp là từ 80–120% hàm lượng danh nghĩa.

Kết luận: Đã xây dựng và thẩm định thành công phương pháp định lượng choline alfoscerate trong thuốc tiêm bằng phương pháp chuẩn độ điện thế trong môi trường khan. Phương pháp đáp ứng các yêu cầu về tính đặc hiệu, tính tuyến tính, độ đúng, độ chính xác và khoảng xác định theo hướng dẫn ASEAN/ICH, đồng thời có ưu điểm đơn giản, chi phí thấp, dễ triển khai và phù hợp để ứng dụng trong kiểm nghiệm chất lượng chế phẩm thuốc tiêm chứa choline alfoscerate.

1. Trường Đại học Dược Hà Nội

* Tác giả liên hệ: Hoàng Thị Tuyết Nhung

Email: nhunghtt@hup.edu.vn

Ngày nhận bài: 03/3/2026

Ngày phản biện: 08/6/2026

Ngày duyệt bài: 10/6/2026

Từ khóa: Choline alfoscerate, môi trường khan, thẩm định phương pháp, định lượng, chuẩn độ điện thế.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A NONAQUEOUS TITRIMETRIC METHOD FOR THE ASSAY OF CHOLINE ALFOSCERATE IN INJECTION

ABSTRACT

Objective: To develop and validate a potentiometric nonaqueous titrimetric method for the quantitative determination of choline alfoscerate in injection preparations.

Methods: Choline alfoscerate samples were evaporated to dryness, dissolved in glacial acetic acid, supplemented with acetic anhydride and mercuric acetate, and subsequently assayed by nonaqueous titration using 0.1 N perchloric acid. The endpoint was determined potentiometrically. The analytical method was validated according to the parameters of specificity, linearity, accuracy, precision, and range. Statistical methods were applied for data processing and evaluation.

Results: A potentiometric nonaqueous titration method was successfully developed for the assay of choline alfoscerate in injection preparations. Samples were evaporated to dryness, dissolved in glacial acetic acid, supplemented with acetic anhydride and mercuric acetate, and subsequently titrated with 0.1 N perchloric acid. The equivalence point was determined potentiometrically. The method demonstrated specificity and a linear relationship between the amount of choline alfoscerate and the volume of perchloric acid consumed over the range of 50–150% of the nominal concentration ($R^2 = 0.9996$). Good repeatability and intermediate precision were obtained, with RSD values of 0.62% and 0.63%, respectively. Accuracy was confirmed by a mean recovery of 99.5% (RSD = 1.01%) over the range of 80–120% of the nominal concentration. The validated analytical range of the method was 80–120% of the nominal concentration.

Conclusion: A potentiometric nonaqueous titration method for the assay of choline alfoscerate in injection preparations was successfully developed and validated. The method met the

ASEAN/ICH validation requirements for specificity, linearity, accuracy, precision, and range. In addition, it offers the advantages of simplicity, low cost, and ease of implementation, making it suitable for routine quality control of choline alfoscerate injection products.

Keywords: Choline alfoscerate, nonaqueous, analytical method validation, assay, potentiometric titration.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Choline alfoscerate (Cho-A) còn được biết đến với các tên gọi khác như L- α -glycerylphosphorylcholine (α -GPC), glycerylphosphorylcholine (GPC)... [1]. Trên thế giới, hoạt chất này được sử dụng dưới dạng thuốc (pharmaceutical product) hoặc thực phẩm bổ sung (food supplement, dietary supplement hoặc nutraceutical), tùy thuộc vào mục đích sử dụng và chỉ định lâm sàng [2], [3]. Khi được sử dụng dưới dạng thực phẩm bổ sung, các công dụng thường gặp bao gồm hỗ trợ trí nhớ, tăng khả năng tập trung. Đối với các chỉ định điều trị như sa sút trí tuệ (dementia), bệnh Alzheimer giai đoạn nhẹ đến trung bình, hội chứng não thực tổn ở người cao tuổi (cerebral involucional syndromes), hoặc hỗ trợ phục hồi sau tai biến mạch máu não (stroke rehabilitation), chế phẩm chứa Cho-A cần được đăng ký lưu hành dưới dạng thuốc [4], [5].

Về kiểm nghiệm chất lượng, hiện nay chưa có chuyên luận chính thức riêng cho Cho-A trong các dược điển lớn như Dược điển Mỹ (United States Pharmacopeia – USP) [6], Dược điển Anh (British Pharmacopoeia – BP) [7] hay Dược điển Nhật Bản (Japanese Pharmacopoeia – JP) [8]. Do đó, nguyên liệu này cũng như các thành phẩm của nó hiện chủ yếu được sản xuất và lưu hành theo tiêu chuẩn cơ sở của nhà sản xuất.

Cho-A có thể được định lượng bằng các kỹ thuật phân tích hiện đại như sắc ký ion (IC) [9], sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) hoặc sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS/MS) [10]. Các phương pháp này có độ nhạy và độ chọn lọc cao, tuy nhiên thường đòi hỏi hệ thống thiết bị chuyên dụng, chi phí đầu tư và vận hành lớn. Về mặt cấu trúc hóa học, Cho-A là hợp chất có độ phân cực cao, chứa nhóm amoni bậc bốn và nhóm phosphat, đồng thời không có nhóm hấp thụ mạnh trong vùng tử ngoại – khả kiến [1]. Do đó, việc định lượng bằng các phương pháp quang phổ hoặc HPLC-UV thông thường gặp nhiều hạn chế. Mặt khác, trong môi trường acid acetic khan, các hợp chất có tính base có thể được chuẩn

độ hiệu quả bằng acid perchloric nhờ sự hình thành ion acidium có tính acid mạnh, giúp phản ứng trung hòa xảy ra hoàn toàn và tạo điểm tương đương rõ ràng khi xác định bằng phương pháp chuẩn độ điện thế. Đây là nguyên lý đã được áp dụng rộng rãi trong chuẩn độ các hợp chất base hữu cơ trong môi trường khan. Xuất phát từ đặc điểm cấu trúc của Cho-A và mục tiêu xây dựng một phương pháp phân tích đơn giản, chi phí thấp, dễ triển khai đối với chế phẩm thuốc tiêm chỉ chứa nước cất pha tiêm, nghiên cứu này tiến hành xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng Cho-A bằng chuẩn độ điện thế trong môi trường khan.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian nghiên cứu

- **Đối tượng nghiên cứu:** là thuốc tiêm PMVLIN Injection do nhà máy Huons Co. Ltd (Hàn Quốc) sản xuất.

Thành phần: Mỗi ống tiêm (4 mL) dung dịch PMVLIN Injection chứa:

- Hoạt chất: Cholin Alfoscerate: 1000 mg
- Tá dược: Nước cất pha tiêm vừa đủ 4 mL.

- Địa điểm và thời gian nghiên cứu:

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 08/2025 – 12/2025 tại Khoa Khoa học cơ bản, Trường Đại học Dược Hà Nội và Viện kiểm nghiệm thuốc Trung ương.

2.2. Trang thiết bị và hóa chất.

Trang thiết bị và dụng cụ

Trang thiết bị và dụng cụ đã được hiệu chuẩn theo tiêu chuẩn ISO/IEC 17025 và GLP tại Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, bao gồm:

- Máy chuẩn độ điện thế Titrande 905 (Metrohm)
- Điện cực đo điện thế dùng cho chuẩn độ môi trường khan Solvotrode easyClean (Metrohm)
- Bếp cách thủy WB-22 (Mettler)
- Máy khuấy từ gia nhiệt RCT Basic (IKA)
- Cân phân tích XPR205 (Mettler Toledo)
- Nhiệt kế phòng thí nghiệm Testo 110 (Testo)
- Cốc có mỏ 100 mL, bình định mức 25 mL, pipet chính xác và pipet chia vạch các cỡ, đĩa thủy tinh, phễu thủy tinh, bình chứa dung môi khan

Hóa chất, thuốc thử và dung môi

- Chất chuẩn đối chiếu: Choline alfoscerate (choline alfoscerate RS)
- Hóa chất: Acid acetic băng (glacial acetic acid), acetic anhydride khan (anhydrous acetic acid)

anhydride), thủy ngân acetate (mercury acetate); acid perchloric (perchloric acid).

- Mẫu thử: Thuốc tiêm choline alfoscerate (PMLIVIN injection)

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp phân tích

- *Chuẩn bị dãy dung dịch chuẩn*: Chuẩn bị 5 dung dịch chuẩn choline alfoscerate RS trong khoảng nồng độ từ 50% đến 150%, trong đó mức 100% tương ứng với lượng Cho-A có trong dung dịch thử định lượng.

- *Chuẩn bị mẫu trắng*: Lấy 25 mL acid acetic băng, thêm 10 mL acetic anhydride khan và 10 mL thủy ngân acetate, trộn đều.

- *Chuẩn bị mẫu placebo*: Lấy 1,0 mL nước pha tiêm cho vào cốc có mỏ dung tích 100 mL, cô đến khô trên cách thủy. Hòa tan cần thu được trong 25 mL acid acetic băng, thêm 10 mL acetic anhydride khan và 10 mL thủy ngân acetate, trộn đều.

- *Chuẩn bị mẫu thử*: Lấy 1,0 mL thuốc tiêm choline alfoscerate cho vào cốc có mỏ dung tích 100 mL, cô đến khô trên cách thủy. Hòa tan cần thu được trong 25 mL acid acetic băng (đun nóng trên cách thủy nếu cần), thêm 10 mL acetic anhydride khan và 10 mL thủy ngân acetate, trộn đều.

- *Tiến hành*: Các mẫu ở trên được chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N theo phương pháp chuẩn độ đo điện thế.

Song song với quá trình trên, tiến hành phân tích mẫu trắng và hiệu chỉnh kết quả nếu cần.

- *Tính toán*: Mỗi mL dung dịch acid perchloric 0,1 N dùng chuẩn độ tương đương với 25,72 mg choline alfoscerate ($C_8H_{20}NO_6P$).

Hàm lượng Cho-A, tính theo % so với hàm lượng ghi trên nhãn, được tính theo công thức:

$$X\% = \frac{(V - V_b) \times 25,72 \times 4}{1000} \times 100 \times K$$

Trong đó:

V: Thể tích dung dịch acid perchloric 0,1 N tiêu thụ khi chuẩn độ mẫu thử (mL).

III. KẾT QUẢ

3.1 Kết quả khảo sát lựa chọn điều kiện định lượng

Phương pháp định lượng: Chuẩn độ trong môi trường khan, xác định điểm tương đương bằng phương pháp đo điện thế.

- Dung môi hòa tan mẫu: Acid acetic băng.

- Thuốc thử chuẩn độ: Dung dịch acid perchloric 0,1 N.

- Môi trường chuẩn độ: Hỗn hợp gồm 25 mL acid acetic băng, 10 mL acetic anhydride khan và 10 mL thủy ngân acetate.

V_b : Thể tích dung dịch acid perchloric 0,1 N tiêu thụ khi chuẩn độ mẫu trắng (mL).

K: Hệ số hiệu chỉnh của dung dịch acid perchloric 0,1 N.

2.3.2. Thẩm định phương pháp

Thực hiện theo hướng dẫn thẩm định phương pháp phân tích của ASEAN [11].

- *Độ đặc hiệu*: Mẫu placebo (nước cất pha tiêm) được chuẩn bị và phân tích theo quy trình định lượng như mô tả ở mục 2.3.1 nhằm đánh giá khả năng tá dược gây ảnh hưởng đến việc định lượng choline alfoscerate.

- *Độ tuyến tính*: Tiến hành định lượng dãy dung dịch chuẩn bằng cách chuẩn độ với dung dịch acid perchloric 0,1 N như mô tả ở mục 2.3.1.

- *Độ chính xác*:

+ Độ chính xác của phương pháp: Tiến hành định lượng 6 mẫu thử bằng cách chuẩn độ với dung dịch acid perchloric 0,1 N như mô tả ở mục 2.3.1.

Phương pháp đạt độ chính xác nếu giá trị RSD của độ thu hồi không quá 2%.

+ Độ chính xác trung gian: Tiến hành định lượng 6 mẫu thử bằng cách chuẩn độ với dung dịch acid perchloric 0,1 N như mô tả ở mục 2.3.1 bởi người làm phân tích thứ hai vào một ngày khác.

Phương pháp đạt độ chính xác nếu giá trị RSD của độ thu hồi không quá 2%.

- *Độ đúng*: Độ đúng của phép thử định lượng Cho-A được đánh giá bằng cách bổ sung chuẩn vào 9 mẫu placebo. Mỗi 3 mẫu được bổ sung lượng Cho-A tương ứng với 80%, 100% và 120% nồng độ định lượng danh nghĩa.

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%.

Điều kiện xử lý mẫu: Mẫu thuốc tiêm choline alfoscerate (PMLIVIN injection) được cô khô trên cách thủy, sau đó hòa tan cần trong acid acetic băng, có gia nhiệt nhẹ nếu cần để hòa tan hoàn toàn.

Điều kiện xác định điểm kết thúc: Chuẩn độ điện thế bằng máy chuẩn độ tự động sử dụng điện cực phù hợp cho môi trường khan.

Với các điều kiện trên, điểm kết thúc chuẩn độ được xác định rõ ràng, đường cong chuẩn độ ổn định, thể tích tiêu thụ dung dịch acid perchloric có độ lặp lại tốt.

3.2. Thẩm định phương pháp

3.2.1. Độ đặc hiệu

Thẩm định độ đặc hiệu theo phương pháp mô tả ở mục 2.3.2. Kết quả được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Thể tích (mL) dung dịch acid perchloric 0,1 N tiêu thụ khi chuẩn độ mẫu trắng và mẫu placebo

STT	Thể tích (mL) dung dịch acid perchloric 0,1 N VS tiêu thụ khi chuẩn độ mẫu trắng	Thể tích (mL) dung dịch acid perchloric 0,1 N VS tiêu thụ khi chuẩn độ mẫu placebo
1	0,014	0,013
2	0,015	0,014
3	0,015	0,014
4	0,014	0,013
5	0,015	0,015
6	0,016	0,015
Trung bình	0,015	0,014

Nhận xét:

- Thể tích dung dịch acid perchloric 0,1 N tiêu thụ khi chuẩn độ mẫu placebo là 0,014 mL, trong khi thể tích dung dịch acid perchloric 0,1 N tiêu thụ khi chuẩn độ mẫu trắng là 0,015 mL.

- Không ghi nhận sự sai khác đáng kể so với nền. Điều này cho thấy tá dược không gây ảnh hưởng đến phép định lượng Cho-A.

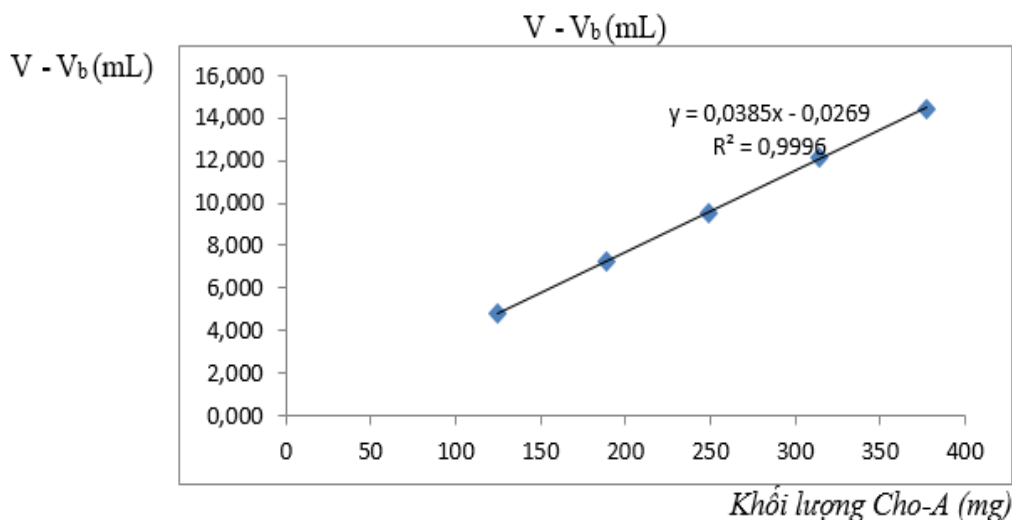
Phương pháp có tính đặc hiệu đối với Cho-A trong thuốc tiêm PMLIVIN.

3.2.2. Độ tuyến tính

Thẩm định độ tuyến tính theo phương pháp mô tả ở mục 2.3.2. Kết quả được thể hiện trong Bảng 2 và Hình 1.

Bảng 2. Kết quả khảo sát độ tuyến tính của phương pháp

% Nồng độ	Khối lượng Cho-A RS (mg)	V (mL)	V _b (mL)	V - V _b (mL)
50%	125,1	4,790	0,015	4,775
75%	188,6	7,240	0,015	7,225
100%	249,3	9,552	0,015	9,537
125%	314,1	12,195	0,015	12,180
150%	377,5	14,439	0,015	14,424
Độ dốc	0,0385			
Giao điểm	-0,0269			
Hệ số tương quan (R²)	0,9996			



Hình 1. Đồ thị tương quan tuyến tính giữa thể tích dung dịch chuẩn độ acid perchloric và nồng độ Cho-A

Nhận xét: Hệ số tương quan giữa nồng độ Cho-A và thể tích dung dịch acid perchloric 0,1 N tiêu thụ cho thấy phương pháp **đạt độ tính tuyến tính trong khoảng khảo sát.**

Phương pháp thể hiện tính tuyến tính trong khoảng từ 50% đến 150% nồng độ danh nghĩa của Cho-A.

3.2.3. Độ chính xác

Độ chính xác của phương pháp

Thẩm định độ chính xác của phương pháp theo phương pháp mô tả ở mục 2.3.2. Kết quả được thể hiện trong Bảng 3.

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

Thể tích dung dịch acid perchloric 0,1 N tiêu thụ khi chuẩn độ mẫu trắng: 0,015 mL; K = 1,009				
Số TT	V (mL)	V _b (mL)	V - V _b (mL)	Hàm lượng (% so với hàm lượng trên nhãn)
1	9,791	0,015	9,776	101,5
2	9,827	0,015	9,812	101,9
3	9,854	0,015	9,839	102,1
4	9,766	0,015	9,751	101,2
5	9,847	0,015	9,832	102,1
6	9,692	0,015	9,677	100,5
Trung bình				101,8
RSD (%)				0,62

V_b: Thể tích (mL) dung dịch acid perchloric 0,1 N tiêu thụ khi chuẩn độ mẫu trắng.

V: Thể tích (mL) dung dịch acid perchloric 0,1 N tiêu thụ khi chuẩn độ mẫu thử định lượng.

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 [11].

Độ chính xác trung gian

Thẩm định độ chính xác trung gian theo phương pháp mô tả ở mục 2.3.2. Kết quả được thể hiện trong Bảng 4.

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

Thể tích dung dịch acid perchloric 0,1 N tiêu thụ khi chuẩn độ mẫu trắng: 0,014 mL; K = 1,009				
Số TT	V (mL)	V _b (mL)	V - V _b (mL)	Hàm lượng (% so với hàm lượng trên nhãn)
1	9,767	0,014	9,753	101,2
2	9,794	0,014	9,780	101,5
3	9,685	0,014	9,671	100,4
4	9,773	0,014	9,759	101,3
5	9,802	0,014	9,788	101,6
6	9,874	0,014	9,860	102,4
Trung bình				101,4
RSD (%)				0,63

Nhận xét: Kết quả cho thấy không có sự khác biệt giữa hai người phân tích, độ chính xác trung gian đạt yêu cầu theo hướng dẫn thẩm định phương pháp phân tích của ASEAN [11].

3.2.4. Độ đúng

Thẩm định độ đúng của phương pháp theo phương pháp mô tả ở mục 2.2.2. Kết quả được thể hiện trong Bảng 5.

Bảng 5. Kết quả khảo sát độ đúng

Mẫu	Khối lượng Cho-A thêm vào (mg)	Thể tích dung dịch acid perchloric 0,1 N đã hiệu chỉnh theo mẫu trắng (mL)	Khối lượng Cho-A thu hồi (mg)	% Thu hồi
80%	200,3	7,655	198,7	99,2
80%	200,5	7,763	201,5	100,5
80%	201,4	7,618	197,7	98,2
			TB	99,3
			RSD (%)	1,17
100%	250,6	9,508	246,7	98,5
100%	251,1	9,729	252,5	100,6
100%	251,8	9,723	252,3	100,2
			TB	99,7
			RSD (%)	1,12
120%	300,5	11,675	303,0	100,8
120%	301,2	11,471	297,7	98,8
120%	302,7	11,533	299,3	98,9
			TB	99,5
			RSD (%)	1,01
Trung bình				99,5
RSD (%)				1,10

Nhận xét: Phương pháp có độ đúng cao với trung bình phần trăm tỷ lệ thu hồi ở mỗi mức nồng độ đều nằm trong khoảng 98,0%– 102,0% và RSD < 2%. Do đó, phương pháp này đạt yêu cầu để định lượng Cho-A trong thuốc tiêm PMLIVIN.

3.2.5. Khoảng xác định

Như được trình bày trong phần đánh giá độ đúng của phương pháp:

- Ở mức nồng độ 80%: Độ thu hồi = 99,3%; RSD = 1,17%.

- Ở mức nồng độ 100%: Độ thu hồi = 99,7%; RSD = 1,12%.

- Ở mức nồng độ 120%: Độ thu hồi = 99,5%; RSD = 1,01%.

Các kết quả trên cho thấy trong khoảng từ 80% đến 120% so với khối lượng danh nghĩa của Cho-A, phương pháp có độ đúng và độ chính xác đạt yêu cầu. Vậy, phương pháp có khoảng xác định từ 80% đến 120% khối lượng danh nghĩa của Cho-A.

IV. BÀN LUẬN

Hiện nay, chưa có chuyên luận chính thức về choline alfoscerate (Cho-A) trong các dược điển lớn như USP [6], BP [7] hay JP [8]. Do đó, việc xây dựng phương pháp định lượng phù hợp cho nguyên liệu và chế phẩm chứa hoạt chất này vẫn là một nhu cầu thực tiễn trong nghiên cứu, sản xuất và kiểm nghiệm chất lượng thuốc.

Về đặc điểm cấu trúc, Cho-A là một hợp chất có độ phân cực cao, chứa nhóm amoni bậc bốn và nhóm phosphat trong phân tử. Do không có nhóm hấp thụ mạnh trong vùng tử ngoại – khả kiến nên việc định lượng bằng HPLC với detector UV thông thường gặp nhiều hạn chế về độ nhạy. Để khắc phục vấn đề này, các nghiên cứu đã công bố thường sử dụng các kỹ thuật phân tích hiện đại như sắc ký ion (IC) [9], HPLC ghép khối phổ (LC-MS/MS) hoặc HPLC pha thân nước (HILIC-HPLC) [10].

Trong phương pháp IC được AOAC lựa chọn để định lượng choline trong các sản phẩm dinh dưỡng, mẫu phải trải qua quá trình thủy phân vi sóng để giải phóng choline liên kết, sau đó phân tích bằng hệ thống sắc ký ion sử dụng detector độ dẫn điện triệt nền. Phương pháp này cho độ tuyến tính rất cao ($R^2 > 0,9999$), độ đúng và độ chính xác tốt, tuy nhiên đòi hỏi hệ thống IC chuyên dụng, quy trình xử lý mẫu tương đối phức tạp và chi phí đầu tư thiết bị cao [9].

Tương tự, Park và cộng sự đã phát triển phương pháp HPLC-MS/MS để định lượng choline trong huyết tương người phục vụ nghiên cứu dược động học của choline alfoscerate. Phương pháp sử dụng cột HILIC kết hợp đầu dò khối phổ tandem, cho độ nhạy rất cao với giới hạn định lượng ở mức ng/mL và khả năng phân tích trên nền sinh học phức tạp [10]. Tuy nhiên, LC-MS/MS là kỹ thuật có chi phí đầu tư, vận hành và bảo trì lớn, đồng thời yêu cầu chuyên môn cao trong khai thác thiết bị và xử lý dữ liệu. Trong nghiên cứu này, thay vì sử dụng các kỹ thuật sắc ký hiện đại, phương pháp chuẩn độ điện thế trong môi trường khan được lựa chọn dựa trên đặc tính base của nhóm amoni trong phân tử Cho-A. Trong môi trường acid acetic khan, acid perchloric tạo thành ion acidium $\text{CH}_3\text{COOH}_2^+$

có tính acid rất mạnh, giúp phản ứng trung hòa diễn ra hoàn toàn và tạo bước nhảy điện thế rõ tại điểm tương đương [12]. Đây là nguyên lý đã được ứng dụng rộng rãi trong chuẩn độ các hợp chất base yếu trong môi trường khan. Kết quả thẩm định cho thấy phương pháp đạt các yêu cầu cơ bản đối với phép thử định lượng. Mối quan hệ tuyến tính giữa lượng Cho-A và thể tích dung dịch acid perchloric tiêu thụ được thiết lập trong khoảng 50–150% hàm lượng danh nghĩa với hệ số tương quan $R^2 = 0,9996$. Độ lặp lại và độ chính xác trung gian đều có RSD dưới 1%, trong khi độ thu hồi trung bình đạt 99,5%. Các kết quả này cho thấy phương pháp có khả năng cho kết quả ổn định và phù hợp trong phạm vi khảo sát.

Tuy nhiên, cần lưu ý rằng tính đặc hiệu của phương pháp chỉ được đánh giá trên chế phẩm thuốc tiêm chứa duy nhất tá dược là nước cất pha tiêm. Do đó, kết luận về tính đặc hiệu hiện chỉ giới hạn đối với nền mẫu đã khảo sát và chưa thể ngoại suy cho các chế phẩm chứa hệ tá dược phức tạp hơn. Bên cạnh đó, nghiên cứu mới được thực hiện trên một sản phẩm thương mại và chưa có dữ liệu đánh giá liên phòng thí nghiệm hoặc trên nhiều cơ sở sản xuất khác nhau.

Một hạn chế khác của nghiên cứu là chưa khảo sát độ bền phương pháp (robustness), độ ổn định của dung dịch phân tích trong môi trường khan và các đặc tính vận hành dài hạn của hệ thống chuẩn độ. Những nội dung này có thể được xem xét trong các nghiên cứu tiếp theo nhằm hoàn thiện hơn hồ sơ thẩm định phương pháp.

Nhìn chung, kết quả nghiên cứu cho thấy chuẩn độ điện thế trong môi trường khan là một lựa chọn khả thi để định lượng choline alfoscerate trong chế phẩm thuốc tiêm có thành phần tá dược duy nhất là nước cất pha tiêm. So với các kỹ thuật sắc ký như IC hoặc LC-MS/MS, phương pháp có ưu điểm về tính đơn giản, chi phí thấp và yêu cầu trang thiết bị không quá phức tạp; tuy nhiên, khả năng áp dụng cho các nền mẫu phức tạp và mức độ khái quát hóa của phương pháp cần được tiếp tục đánh giá trong các nghiên cứu tiếp theo.

V. KẾT LUẬN

Đã xây dựng được phương pháp định lượng Cho-A trong thuốc tiêm bằng phương pháp chuẩn độ môi trường khan, với điều kiện phân tích như sau: mẫu được làm khô, hòa tan trong acid acetic khan, bổ sung acetic anhydride và thủy ngân acetate, sau đó chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N; điểm tương đương được xác định theo phương pháp đo điện thế.

Phương pháp đạt yêu cầu về tính đặc hiệu, tính tuyến tính, độ đúng, độ chính xác và khoảng xác định theo hướng dẫn thẩm định của ASEAN. Kết quả nghiên cứu cho thấy phương pháp có hệ số tương quan tuyến tính cao ($R^2 = 0,9996$), độ chính xác tốt với RSD 1,01% và độ thu hồi trung bình đạt 99,5%. Những kết quả này khẳng định phương pháp có độ tin cậy, đồng thời có ưu điểm đơn giản, chi phí thấp và dễ triển khai trong điều kiện kiểm nghiệm thường quy. Phương pháp phù hợp để ứng dụng trong kiểm nghiệm chất lượng chế phẩm thuốc tiêm chứa Cho-A trong nghiên cứu, sản xuất, đăng ký và lưu hành thuốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Li, J., Zhang, J., Wang, Y., Yang, Y., Su, Y., Gu, L. and Chang, C. (2025), L-Alpha-Glycerylphosphorylcholine (L- α -GPC): A Comprehensive Review of Its Preparation Techniques and Versatile Biological Effects, *J. Food Sci.*, 90: e70338. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.70338>
2. Giovanni Biggio, Claudio Mencacci (2025), Choline alphoscerate: insights between acquired certainties and future perspectives, *Frontiers in Aging Neuroscience*, Vol. 17, <https://doi.org/10.3389/fnagi.2025.1613566>
3. Tamura Y, Takata K, Matsubara K, Kataoka Y.(2021), Alpha-Glycerylphosphorylcholine Increases Motivation in Healthy Volunteers: A Single-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Human Study, *Nutrients*. Jun 18, Vol13(6):2091. <https://doi: 10.3390/nu13062091>
4. European Commission (2024), Summary of application for authorisation of L-alpha-glycerylphosphorylcholine (L-alpha-GPC) as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283, truy cập ngày 16 tháng 5 năm 2026 từ https://food.ec.europa.eu/document/download/f0fcb3fa-4876-4558-934f-babe73399976_en?filename=novel-food_sum_ongoing-app_2023-12770.pdf
5. Health Canada (2023), Summary of Health Canada's safety assessment of L-alpha-glycerylphosphorylcholine (Alpha-GPC) for use as a supplemental ingredient, truy cập ngày 16 tháng 5 năm 2026 từ <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/reports-publications/summary-safety-assessment-l-alpha-glycerylphosphorylcholine-use-supplemental-ingredient.html>
6. United States Pharmacopeia Convention (2024), United States Pharmacopoeia 47 – National Formulary (USP 47 – NF 42).
7. The British Pharmacopoeia Commission (2024), British Pharmacopoeia 2024 (BP 2024).
8. The Ministry of Health, Labour and Welfare (2016), Japanese Pharmacopoeia 18th Edition (JP XVIII), trang i – xiv.
9. Jeffrey S. Rohrer (2016), Determination of Choline in Infant Formula and Adult Nutritionals Using Ion Chromatography: AOAC First Action Official Method Performance, *LCGC International*, Vol 3 (12), <https://www.chromatographyonline.com/view/determination-choline-infant-formula-and-adult-nutritionals-using-ion-chromatography-aoac-first-acti?utm>
10. S.-Y. Park et al. (2015), Discriminative Measurement and Pharmacokinetic Evaluation of Choline Alphoscerate against Endogenous Choline in Human, *Bulletin of The Korean Chemistry Society*, <https://doi.org/10.1002/BKCS.10409>
11. ASEAN Guidelines for Validation of Analytical Procedures, truy cập ngày 16 tháng 05 năm 2026 từ <https://asean.org/wp-content/uploads/2012/10/Asean-Analytical-Validation-gl.pdf>
12. Metrohm (2011), Nonaqueous titration of weak bases with perchloric acid, *Application Bulletin AN-T-239*, truy cập ngày 16 tháng 5 năm 2026 từ https://www.metrohm.com/vi_vn/applications/application-notes/aa-t-001-100/an-t-239.html