Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên
Tập 132, Số 1A, 65–73, 2023

pISSN 1859-1388
eISSN 2615-9678

PHÁT HIỆN MỘT SỐ THUỐC HẠ GLUCOSE MÁU TRỘN LẪN TRONG CHẾ PHẨM DƯỢC LIỆU BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO (HPLC)

Lê Thị Bảo Trâm[1, 4], Tạ Nguyễn Khánh Hà[1], Hoàng Thị Minh Nguyệt[2], Phạm Thị Thanh Hà[3], Nguyễn Thị Kiều Anh[3], Nguyễn Hải Phong[4], Huỳnh Văn Chung[5], Đào Thị Cẩm Minh[1]*

[1] Trường Đại học Y – Dược, Đại học Huế, 6 Ngô Quyền, Huế, Việt Nam
[2] Bệnh viện Trung Ương Huế, 16 Lê Lợi, Huế, Việt Nam
[3] Trường Đại học Dược Hà Nội, 13–15 Lê Thánh Tông, Hà Nội, Việt Nam
[4] Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, 77 Nguyễn Huệ, Huế, Việt Nam
[5] Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Buôn Ma Thuột, 298 Hà Huy Tập, Tp. Buôn Ma Thuột, Đắk Lắk, Việt Nam

* Tác giả liên hệ Đào Thị Cẩm Minh <dtcminh@hueuni.edu.vn>
(*Ngày nhận bài: 22-10-2022; Ngày chấp nhận đăng: 14-01-2023*)

Tóm tắt. Thông tư số 10/2021/TT-BYT quy định một số thuốc hạ glucose máu, như metformin hydroclorid, là các chất cấm trộn lẫn trong chế phẩm có nguồn gốc từ dược liệu. Do đó, mục tiêu nghiên cứu này là xây dựng quy trình phát hiện năm loại hoạt chất hạ glucose máu, gồm metformin hydroclorid, glibenclamid, gliclazid, glimepirid và glipizid, trộn lẫn trong chế phẩm có nguồn gốc dược liệu bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Chúng tôi đã xây dựng được chương trình sắc ký gồm hệ pha động methanol:đệm phosphat pH 3 với tỷ lệ 30/70 (v/v), cột sắc ký C18 (250 × 4,6 mm, 5 μm), và thời gian phân tích 25 phút. Phương pháp thẩm định có tính đặc hiệu cao, độ đúng, độ lặp lại và độ tái lặp cao, đạt yêu cầu theo AOAC. Chúng tôi đã phát hiện bảy mẫu chế phẩm dược liệu dương tính trong đó sáu mẫu dương tính với glibenclamid và một mẫu dương tính đồng thời với metformin và glibenclamid.

Từ khoá: thuốc hạ glucose máu, chế phẩm dược liệu, sắc ký lỏng hiệu năng cao

Detection of hypoglycemic drugs adulterated in herbal products with high-performance liquid chromatography

Le Thi Bao Tram[1, 4], Ta Nguyen Khanh Ha[1], Hoang Thi Minh Nguyet[2], Pham Thi Thanh Ha[3], Nguyen Thi Kieu Anh[3], Nguyen Hai Phong[4], Huynh Van Chung[5], Dao Thi Cam Minh[1]*

[1] University of Medicine and Pharmacy, Hue University, 6 Ngo Quyen St., Hue, Vietnam
[2] Hue Central Hospital, 16 Le Loi St., Hue, Vietnam
[3] Hanoi University of Pharmacy, 13–15 Le Thanh Ton St., Hanoi, Vietnam
[4] University of Sciences, Hue University, 77 Nguyen Hue St., Hue, Vietnam
[5] Buon Ma Thuot Medical University, 298 Ha Huy Tap St., Buon Ma Thuot, Daklak, Vietnam

* Correspondence to Dao Thi Cam Minh <dtcminh@hueuni.edu.vn>

(*Received: 22 October 2022; Accepted: 14 January 2023*)

Abstract. Circular No. 10/2021/TT-BYT stipulated that several hypoglycemic drugs, such as metformin hydrochloride, are prohibited from adulterating medicinal herbal preparations. Therefore, this study aims to develop a procedure to detect five hypoglycemic drugs, including metformin hydrochloride, glibenclamide, gliclazide, glimepiride, and glipizide, adulterated in herbal preparations by using the high-performance liquid chromatography (HPLC) method. The chromatographic program includes the methanol:phosphate buffer pH 3 mobile phase 70/30 (v/v), chromatographic column C18 (250 × 4.6 mm, 5 μm), and analysis time of 25 minutes. The procedure has high specificity, accuracy and precision, according to AOAC. We detected six herbal products reacting positively with glibenclamide and one with both metformin hydrochloride and glibenclamide.

Keywords: hypoglycemic drug, herbal product, high-performance liquid chromatography

1 Giới thiệu

Hiện nay, số lượng bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường không ngừng gia tăng tại Việt Nam. Bên cạnh các loại thuốc từ hóa dược, chế phẩm dược liệu cũng đang được người bệnh sử dụng do có nguồn gốc thảo dược và an toàn. Lợi dụng tâm lý đó, các cơ sở sản xuất đã trộn các hóa dược vào các chế phẩm dược liệu nhằm thu lợi nhuận lớn. Việc trộn nhưng không khai báo các hóa dược vào chế phẩm dược liệu khiến người sử dụng phải chịu những tác dụng không mong muốn nguy hại đến sức khỏe như rối loạn tiêu hóa, buồn nôn, tiêu chạy, gây ban đỏ, mẫn cảm với ánh sáng, đặc biệt khi sử dụng trong thời gian dài [10]. Do đó, Thông tư số 10/2021/TT-BYT ngày 30/06/2021 về "Quy định danh mục chất cấm sử dụng trong sản xuất, kinh doanh thực phẩm bảo vệ sức khỏe" đã chỉ rõ một số thuốc hạ glucose máu như metformin hydroclorid [1].

Cho đến nay, có rất nhiều công bố sử dụng các phương pháp phân tích hiện đại để phát hiện các chất thuộc nhóm hạ glucose máu trộn trái phép trong các chế phẩm đông dược như UPLC-MS/MS [2], HPLC [3] và HPTLC [4]. Trong đó, sắc ký lỏng hiệu năng cao là một phương pháp được sử dụng phổ biến, được áp dụng rộng rãi và được chuẩn hóa tại nhiều phòng thí nghiệm và trung tâm kiểm nghiệm. Hơn nữa, với nền mẫu dược liệu phức tạp, nhiều thành phần, nồng độ hoạt chất trộn lẫn thấp, yêu cầu phương pháp phân tích phải có độ chọn lọc, độ nhạy cao nên HPLC là phù hợp cho việc kiểm tra đánh giá chất lượng, phục vụ công tác kiểm tra quản lý, đảm bảo chất lượng sản phẩm.

Vì vậy, nghiên cứu được tiến hành với mục đích xây dựng và thẩm định một quy trình định lượng các loại thuốc hạ glucose máu gồm metformin hydroclorid (MET), gliclazid (GLC), glibenclamid (GLB), glipizid (GLP), glimepirid (GLM) được trộn vào chế phẩm dược liệu bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), nhằm phát hiện các chất trên trong các chế phẩm đang lưu hành tại Việt Nam.

2 Vật liệu và phương pháp

2.1 Vật liệu

Chất chuẩn: metformin hydroclorid (99,12%), glibenclamid (99,5%), glimepirid (99,49%), gliclazid (99,53%) và glipizid (99,17%) của Viện kiểm nghiệm thuốc Trung ương. Cân chính xác 10 mg từng chất chuẩn và hoà tan trong 10 mL methanol thành dung dịch chuẩn gốc (1 mg·mL^{-1}). Dung dịch thứ cấp được pha loãng từ dung dịch chuẩn gốc trong methanol.

Mẫu trắng: Pha mẫu trắng có thành phần dựa trên dạng bào chế viên nang Giảo cổ lam Thiên Bảo gồm cao khô Giảo cổ lam (300 mg), cao khô chè dây (150 mg) và tá dược vừa đủ, giúp hỗ trợ điều trị giảm đường huyết, giảm mỡ máu.

Mẫu chế phẩm nguồn gốc dược liệu bao gồm 44 mẫu thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền,

pISSN 1859-1388
eISSN 2615-9678

thực phẩm bảo vệ sức khỏe có tác dụng điều trị hoặc hỗ trợ điều trị bệnh đái tháo đường đang lưu hành tại thị trường Việt Nam.

Thiết bị: Hệ thống HPLC SHIMADZU sử dụng bơm LC 20AD, bộ khử khí online DGU-20A, bộ phận tiêm mẫu tự động SIL-20A và kết nối với detector PDA SPD-M20A, Nhật Bản. Cột InertSustainTM C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 μm), hãng GL Science, Nhật Bản.

2.2 Phương pháp

Xây dựng quy trình định tính và định lượng: Khảo sát quy trình xử lý mẫu bằng cách thêm vào hỗn hợp năm chất ở nồng độ 100 $\mu g \cdot mL^{-1}$, tương ứng với khối lượng bột từng chất thêm vào 2,5 mg trong 1 g mẫu trắng với ba dung môi chiết gồm methanol, ethanol và dichloromethan; thời gian siêu âm là 5, 10 và 15 phút nhằm đạt hiệu suất chiết năm hoạt chất nghiên cứu là cao nhất với ba lần phân tích lặp lại [5-7]. Thẩm định quy trình phân tích phát hiện năm hoạt chất nghiên cứu trong mẫu trắng theo AOAC [8] với các thông số: độ đặc hiệu, khoảng tuyến tính, tính thích hợp hệ thống, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, độ đúng và độ chính xác. Áp dụng phương pháp HPLC-DAD và các điều kiện thí nghiệm thích hợp để xác định đồng thời các hoạt chất MET, GLC, GLB, GLP và GLM trong một số chế phẩm dược liệu thu thập được trên thị trường Việt Nam.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Khảo sát quy trình xử lý mẫu

Quy trình xử lý mẫu: Cân 1 g mẫu trắng, chiết với 25 mL dung môi bằng lắc xoáy rồi siêu âm; dung dịch được lọc qua màng 0,45 μm, pha loãng rồi bơm vào hệ thống sắc ký.

Khảo sát ba dung môi chiết gồm methanol (97–103%), ethanol (41–95%), dichloromethan (2–74%) đối với cả năm hoạt chất. Kết quả cho thấy methanol có hiệu suất chiết cao hơn hai dung môi còn lại và tương đồng với các kết quả của Pang [9] và Cui [7].

Khảo sát ba khoảng thời gian siêu âm đối với năm hoạt chất là: 5, 10 và 15 phút tương ứng với độ thu hồi lần lượt là 80–91%, 99–102% và 94–103%. Kết quả cho thấy siêu âm trong 10 phút có hiệu suất cao nhất và ít tạp lẫn hơn hai thời gian còn lại.

Từ đó, chúng tôi lựa chọn quy trình xử lý mẫu như sau: cân 1 g mẫu trắng, chiết với 25 mL methanol, lắc xoáy năm phút rồi siêu âm 10 phút, dung dịch được lọc qua màng 0,45 μm, pha loãng rồi bơm vào hệ thống sắc ký.

3.2 Xây dựng quy trình phát hiện

Qua quá trình khảo sát, chúng tôi xây dựng quy trình phát hiện đồng thời MET, GLC, GLB, GLP và GLM trong mẫu trắng chứa hỗn hợp năm chất chuẩn với các điều kiện tiến hành như sau: Cột sắc ký InertSustainTM C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 μm); pha động gồm methanol (MeOH) và đệm natri dihydrophosphat (PBR) pH 3; tỷ lệ 70:30 theo thể tích, tốc độ dòng 1 $mL \cdot phút^{-1}$; thể tích bơm 10 μL; nhiệt độ lò cột 40 °C; bước sóng phát hiện 230 nm; thời gian phân tích 25 phút.

3.3 Thẩm định quy trình phân tích

Tính thích hợp hệ thống

Tiến hành bơm lặp lại sáu lần dung dịch chuẩn hỗn hợp MET, GLB, GLC, GLM và GLP trong methanol với nồng độ mỗi chất 175 $\mu g \cdot mL^{-1}$ vào hệ thống HPLC với các điều kiện đã được lựa chọn. Kết quả trung bình và độ lệch chuẩn tương đối của thời gian lưu (t_R), diện tích peak (S_{peak}), hệ số kéo đuôi (*Tf*), số đĩa lý thuyết (*N*) được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả khảo sát tính thích hợp của hệ thống sắc ký

Hoạt chất	Thông số	t_R (phút)	S_{peak} (mAU)	*Tf*	*N*
MET	TB (*)	2,655	392964	1,639	2033
	RSD%	0,14	1,59	1,93	1,57
GLP	TB	6,134	2674022	1,416	4412
	RSD%	0,08	1,04	1	1,74
GLC	TB	7,307	2187096	1,397	6017
	RSD%	0,06	1,84	1,65	1,67
GLB	TB	11,815	2846266	1,263	7485
	RSD%	0,06	1,73	1,62	1,54
GLM	TB	14,543	2387682	1,215	8405
	RSD%	0,06	1,06	1,6	1,82

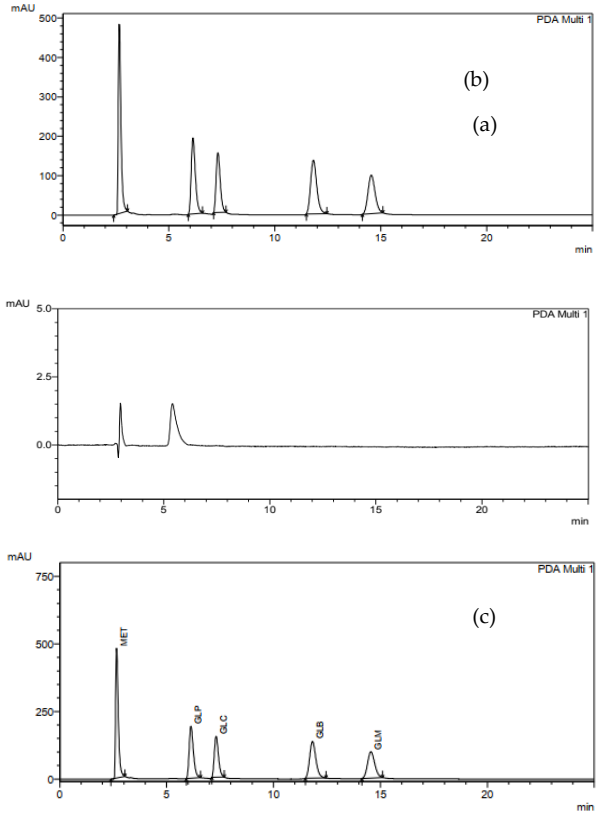
Điều kiện thí nghiệm: Cột sắc ký InertSustainTM C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm); Pha động:methanol (MeOH) và đệm natri dihydrophosphat (PBR) (pH = 3) = 70:30 (v/v); v = 1 mL·phút^{-1}; V_{bom} = 10 µL; t = 40 °C và λ = 230 nm. (*): Giá trị trung bình được tính với n = 6.

Các số liệu về *RSD*% (≤2%), số đĩa lý thuyết (N > 2000) và hệ số kéo đuôi (Tf ≤ 2) cho thấy hệ thống và các điều kiện sắc ký đã chọn là tương thích cho việc phân tích định lượng đồng thời MET, GLB, GLC, GLM và GLP.

Độ đặc hiệu

Tiến hành chạy sắc ký đối với mẫu trắng, chuẩn hỗn hợp 100 µg·mL^{-1} gồm MET, GLB, GLC, GLM và GLP và mẫu thêm chuẩn hỗn hợp 100 µg·mL^{-1} trên mẫu trắng**.** Kết quả được trình bày trên Hình 1.

Trong mẫu chuẩn đa chất xuất hiện các peak của MET, GLP, GLC, GLB và GLM tại các khoảng thời gian lưu lần lượt là 2,69, 6,21, 7,41, 11,99 và 14,75 phút. Trên sắc ký đồ của nền mẫu không xuất hiện peak tại các khoảng thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của MET, GLP, GLC, GLB, GLM trên sắc ký đồ của mẫu chuẩn hỗn hợp. Trên sắc ký đồ mẫu chuẩn hỗn hợp, trên nền mẫu xuất hiện năm peak tại các khoảng thời gian tương ứng với thời gian lưu của MET, GLP, GLC, GLB và GLM ở các mẫu chuẩn hỗn hợp. Do đó, phương pháp có độ đặc hiệu cao để phát hiện MET, GLP, GLC, GLB và GLM trên các chế phẩm dược liệu khảo sát.



Hình 1. Sắc ký đồ các mẫu: chuẩn đa chất (a), mẫu trắng (b), chuẩn đa chất/mẫu trắng (c)

Khoảng nồng độ tuyến tính

Pha dãy dung dịch chuẩn hỗn hợp trong methanol gồm MET, GLP, GLC, GLB và GLM với nồng độ từng chất từ 10 đến 200 µg·mL^{-1}. Tiếp theo, tiến hành chạy HPLC và ghi nhận diện tích peak của năm chất. Kết quả khảo sát khoảng nồng độ tuyến tính của MET, GLP, GLC, GLB và GLM được trình bày ở Bảng 2.

pISSN 1859-1388
eISSN 2615-9678

Bảng 2. Sự phụ thuộc tuyến tính giữa nồng độ và diện tích peak của các chất

Hoạt chất	Nồng độ (μg·mL^{-1})	Phương trình hồi quy	Hệ số tương quan (R^2)
MET	10–200	$y = 44935 \times x - 34645$	0,9993
GLB	10–200	$y = 32351 \times x + 52211$	0,9973
GLC	10–200	$y = 25857 \times x - 22619$	0,9988
GLM	10–200	$y = 32289 \times x - 36471$	0,9989
GLP	10–200	$y = 31869 \times x - 42088$	0,9988

Điều kiện thí nghiệm như Bảng 1.

Kết quả cho thấy có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ các chất phân tích và tỷ lệ diện tích peak đáp ứng ($R^2 \geq 0,997$) trong khoảng nồng độ từ 10 đến 200 μg·mL^{-1}.

Độ lặp lại và độ tái lặp

Độ lặp lại và độ tái lặp trong ngày được xác định bằng cách tiến hành chạy sắc ký độc lập ba mẫu trắng thêm chuẩn của cùng một nồng độ và ở ba nồng độ 50, 100 và 150 μg·mL^{-1}. Đồng thời, phân tích lặp lại hai ngày khác nhau để xác định độ tái lặp của hệ thống HPLC. Kết quả được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả đánh giá độ lặp lại và độ tái lặp

Hoạt chất	Nồng độ, μg·mL^{-1}	Trong ngày		Khác ngày	
		TB, μg·mL^{-1}	RSD, %	TB, μg·mL^{-1}	RSD, %
MET	50	52,44	0,47	52,76	0,06
	100	99,92	0,7	100,12	0,37
	150	149,37	0,04	149,44	0,04
GLP	50	49,96	0,2	50,77	1,35
	100	97,73	0,38	96,93	1,64
	150	144,55	0,05	144,51	0,02
GLC	50	50,47	0,39	54,08	1,14
	100	98,12	0,56	98	0,22
	150	145,35	0,11	145	0,12
GLB	50	52,59	1,38	53	1,03
	100	102,97	0,41	102,7	0,04
	150	153,20	0,1	153,18	0,06
GLM	50	50,19	0,29	51,39	0,42
	100	97,94	0,62	97,49	0,04
	150	144,37	0,12	144,23	0,13

Điều kiện thí nghiệm như Bảng 1.

Kết quả cho thấy độ lặp lại và độ tái lặp trong ngày và khác ngày của năm chất phân tích có RSD < 3%, đáp ứng theo yêu cầu của AOAC [8] với giá trị RSD là nhỏ hơn 4%.

Độ đúng

Độ đúng (độ thu hồi, Rev) được xác định bằng cách thêm chuẩn ở ba mức nồng độ: nồng độ thấp (50 μg·mL⁻¹), nồng độ trung bình (100 μg·mL⁻¹), nồng độ cao (150 μg·mL⁻¹), tương ứng với khối lượng bột chuẩn thêm vào lần lượt là 1,25, 2,5 và 3,75 mg trong mẫu trắng. Phân tích lặp lại ba lần ở mỗi mức nồng độ trên mẫu trắng. Yêu cầu: độ thu hồi phải đạt từ 97 đến 103% theo AOAC [8]. Kết quả được trình bày ở Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả đánh giá độ đúng

Hoạt chất	Khối lượng thêm vào (mg)	1,25	2,50	3,75
MET	Rev (%)	102,6	98,8	97,6
		103,4	97,6	97,6
		102,5	97,6	97,7
	TB, %	102,8	97,9	97,6
GLB	Rev (%)	102,7	99,5	98,1
		99,9	98,7	98,3
		100,8	98,8	98,3
	TB, %	101,1	99	98,2
GLC	Rev (%)	102,3	98,5	97,9
		101,6	99,6	97,8
		102	99,3	97,9
	TB, %	101,9	99,1	97,9
GLP	Rev (%)	101,8	99,3	98,3
		101,9	99,9	98,3
		102,2	99,9	98,4
	TB, %	101,9	99,7	98,3
GLM	Rev (%)	102,7	100,7	98,1
		102,5	99,6	98,2
		102,1	99,6	98,4
	TB, %	102,4	99,9	98,2

Độ thu hồi của các chất phân tích dao động trong khoảng từ 97,6 đến 102,8%, đáp ứng các yêu cầu của AOAC [8].

Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

Chuẩn bị và tiến hành phân tích các mẫu chứa MET, GLP, GLC, GLB và GLM với nồng độ giảm dần. Giá trị LOD và LOQ được xác định bằng tỷ số tín hiệu/nhiễu nền (*S*/*N*). Giới hạn phát hiện (LOD) là nồng độ mà tại đó $S/N \approx 3$; giới hạn định lượng (LOQ) là nồng độ mà tại đó $S/N \approx 10$; nghĩa là LOQ ≈ 3 × LOD. Kết quả được trình bày ở Bảng 5.

pISSN 1859-1388
eISSN 2615-9678

Bảng 5. LOD và LOQ của 5 chất phân tích

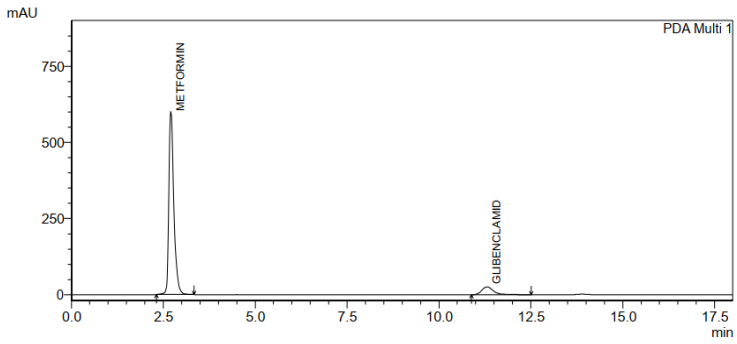
Hoạt chất	S/N (LOD)	LOD (μg·mL⁻¹)	LOQ (μg·mL⁻¹)
MET	3,6	0,05	0,15
GLB	3,1	0,025	0,075
GLC	3,2	0,05	0,15
GLM	3,1	0,025	0,075
GLP	3,4	0,05	0,15

Kết quả cho thấy giới hạn LOD và LOQ là rất thấp và do đó, có thể áp dụng phương pháp HPLC để xác định đồng thời năm chất trong các mẫu chế phẩm dược liệu.

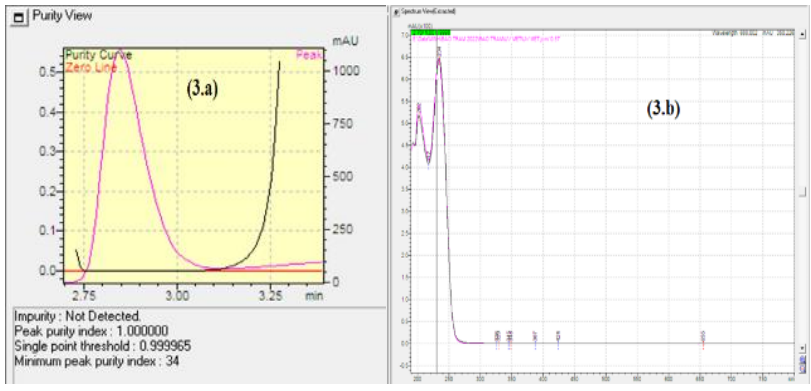
3.4 Áp dụng quy trình phân tích đã xây dựng vào mẫu chế phẩm dược liệu

Tiến hành thu thập 44 mẫu chế phẩm dược liệu có tác dụng điều trị hoặc hỗ trợ điều trị các bệnh đái tháo đường đang lưu hành trên thị trường từ nhà thuốc, quầy thuốc y học cổ truyền, các trang thương mại điện tử, v.v. Các dạng bào chế gồm viên nang (17 mẫu), viên hoàn (15 mẫu), viên nén (5 mẫu), bột (3 mẫu) và trà túi lọc (3 mẫu). Qua phân tích, chúng tôi đã phát hiện bảy mẫu chế phẩm trộn trái phép các chất nghiên cứu, trong đó có sáu mẫu dương tính với glibenclamid và một mẫu dương tính đồng thời metformin và glibenclamid (Bảng 6).

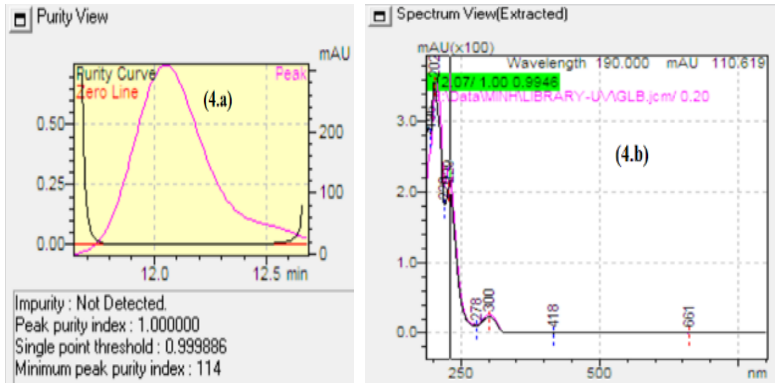
Kết quả định tính được khẳng định căn cứ vào thời gian lưu của peak, độ tinh khiết peak (≥99%) và hệ số chồng phổ chất phân tích so với chuẩn (≥99%). Ví dụ minh họa là mẫu HMD59. Trên sắc ký đồ xuất hiện hai peak trùng thời gian lưu của metformin và glibenclamid (Hình 2). Độ tinh khiết và hệ số chồng phổ của peak MET và GLB với chuẩn MET và GLB đều ≥99% (Hình 3, 4).



Hình 2. Sắc ký đồ của mẫu HMD59



Hình 3. Độ tinh khiết (a) và kết quả chồng phổ (b) với chuẩn MET của peak MET trong sắc ký đồ của mẫu HMD59



Hình 4. Độ tinh khiết (a) và kết quả chồng phổ (b) với chuẩn GLB của peak GLB trong sắc ký đồ của mẫu HMD59

Bảng 6. Kết quả phân tích các mẫu thực dương tính

Mẫu thử	Chất phát hiện	Hàm lượng (mg·g^{-1})
HMD10	GLB	1,25
BD11	GLB	0,25
HCD13	GLB	0,27
HCD18	GLB	4,88
HCD19	GLB	4,54
HCD22	GLB	1,11
HMD59	GLB	1,09
	MET	117,74

Công thức tính hàm lượng chất phân tích có trong mẫu dương tính là

$$\text{Hàm lượng (mg} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{C_{\text{thử}} \times 10^{-3} \times V \times n}{m_{\text{thử}}}$$

trong đó $C_{\text{thử}}$ là nồng độ chất phân tích trong mẫu thử tính theo đường chuẩn (µg·mL^{-1}); $m_{\text{thử}}$ là khối lượng bột mẫu thử được cân (g); V là thể tích methanol dùng để pha loãng mẫu thử (mL); n là hệ số pha loãng của mẫu thử.

Trong bảy mẫu chế phẩm dương tính, tồn tại những mẫu có hàm lượng thuốc hóa dược vượt quá liều điều trị của glibenclamid như HCD18, HCD19 và HMD59 với hàm lượng lần lượt là 8,57, 7,87 và 8,41 mg/liều (Bảng 6). Trong số bảy mẫu dương tính phát hiện được ở Bảng 6, có bốn mẫu gồm HMD10, BD11, HCD13 và HCD22 dương tính với GLB với hàm lượng lần lượt là 1,32, 0,25, 0,28 và 1,65 mg/liều, thấp hơn liều điều trị của glibenclamid thông thường ở người lớn là 2,5–5 mg/ngày [10]. Hàm lượng metformin trong mẫu HMD59 là 117,74 mg·g^{-1} ứng với 470,59 mg/liều gần với liều điều trị của metformin thông thường ở người lớn là 500 mg/ngày [10].

4 Kết luận

Chúng tôi đã xây dựng được quy trình định lượng đồng thời metformin hydroclorid, gliclazid, glibenclamid, glipizid và glimepirid

pISSN 1859-1388
eISSN 2615-9678

trong chế phẩm dược liệu bằng phương pháp HPLC với pha động là hỗn hợp methanol (A) và đệm natri dihydrophosphat (B) với tỷ lệ 70:30 theo thể tích. Phương pháp phân tích có tính đặc hiệu cao, độ đúng, độ lặp lại và độ tái lặp cao đạt yêu cầu theo AOAC. Chúng tôi đã phát hiện bảy trong 44 mẫu chế phẩm dược liệu dương tính với metformin và glibenclamid, đặc biệt có một mẫu dương tính đồng thời hai hoạt chất. Như vậy, phương pháp này có ý nghĩa thực tiễn, đánh giá được sơ bộ tình trạng trộn các thuốc hạ glucose máu trong chế phẩm có nguồn gốc từ dược liệu.

Thông tin tài trợ

Công trình được thực hiện với sự tài trợ của Đại học Huế trong đề tài mã số DHH 2021-04-150.

Lời cảm ơn

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Y Dược và Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, đã đã hỗ trợ kỹ thuật và trang thiết bị để thực hiện nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

1. Bộ Y tế. Thông tư 10/2021/TT-BYT Quy định Danh mục chất cấm sử dụng trong sản xuất, kinh doanh thực phẩm chức năng bảo vệ sức khỏe. Hà Nội: Bộ Y tế; 2021.
2. Li N, Cui M, Lu X, Qin F, Jiang K, Li F. A rapid and reliable UPLC-MS/MS method for the identification and quantification of fourteen synthetic anti-diabetic drugs in adulterated Chinese proprietary medicines and dietary supplements, Biomed Chromatogr. 2010;24(11):1255-61.
3. Thắng VN, Hùng TM, Dung VTP, Chí VD, Xây dựng phương pháp HPLC để phân tích đồng thời một số thuốc hóa dược điều trị đái tháo đường có thể trộn trong một số chế phẩm từ dược liệu. Tạp chí Kiểm nghiệm thuốc. 2017;15(55):16-21.
4. Kumasaka K, Kojima T, Honda H, Doi K. Screening and Quantitative Analysis for Sulfonylurea-Type Oral Antidiabetic Agents in Adulterated Health Food Using Thin-Layer Chromatography and High-Performance Liquid Chromatography, Journal of Health Science. 2005);51(4):453-60.
5. Minh ĐTC, Hà PTT, Anh NTK. Nghiên cứu phát hiện các thuốc giảm đau, chống viêm, giảm glucose máu trộn trái phép trong chế phẩm Đông dược bằng sắc ký lớp mỏng hiệu năng cao. Tạp chí Dược học. 2019;59(516):57-62.
6. Bogusz MJ, Hassan H, Al-Enazi E, Ibrahim Z, Al-Tufail M, Application of LC–ESI–MS–MS for detection of synthetic adulterants in herbal remedies, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006;41:554–64.
7. Cui M, Li N, Qin F, Li F, Xiong Z. Simultaneous Determination of 14 Illegal Adulterants in Chinese Proprietary Medicines Using Reversed-Phase Ion-Pair LC. Chroma. 2010;72:1189-94.
8. AOAC Official Methods of Analysis. Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements; 2016.
9. Pang W, Yang H, Wu Z, Huang M, Hu J. LC-MS–MS in MRM Mode for Detection and Structural Identification of Synthetic Hypoglycemic Drugs Added Illegally to 'Natural' Anti-Diabetic Herbal Products. Chroma. 2009;70:1353-9.
10. Bộ Y tế. Dược thư quốc gia Việt Nam. Hà Nôi: Nxb Y học; 2018.