DOI: 10.58490/ctump.2025i83.3327

NGHIÊN CỨU THIẾT LẬP CHUẨN ACID FENOFIBRIC

Hoàng Việt Dũng[1], Lương Quang Anh[2], Nguyễn Hòa Bình[3], Phạm Thị Hiền[3], Nguyễn Thị Hải Yến[4], Nguyễn Thị Kiều Anh[3], Nguyễn Văn Giang[3], Nguyễn Văn Hải[3], Đào Nguyệt Sương Huyền[3]*

1. Trung tâm kiểm soát bệnh tật Thành phố Hà Nội

2. Bệnh viện bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác, Học viện Quân y

3. Trường Đại học Dược Hà Nội

4. Trường Đại học Y Dược - Đại học Quốc gia Hà Nội

**Email: huyendns@hup.edu.vn*

Ngày nhận bài: 18/11/2024

Ngày phản biện: 12/01/2025

Ngày duyệt đăng: 25/01/2025

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: *Chuẩn acid fenofibric là yêu cầu bắt buộc trong một số phương pháp phân tích (như HPLC, GC, LC_MS/MS) để kiểm tra chất lượng nguyên liệu và thành phẩm chứa acid fenofibric, do vậy thiết lập chất chuẩn acid fenofibric là yêu cầu cấp thiết ở Việt Nam.* ***Mục tiêu nghiên cứu:*** *Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở và thiết lập chuẩn thứ cấp của acid fenofibric được tổng hợp tại Việt Nam.* ***Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:*** *Acid fenofibric được tổng hợp bằng cách thủy phân ester fenofibrat trong môi trường base (NaOH) và tinh chế bằng phương pháp thông dụng. Cấu trúc sản phẩm được xác định bằng: IR, MS, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, ^{1}H-^{1}H COSY, XRD. Phương pháp xây dựng tiêu chuẩn chất lượng: Các tiêu chí đánh giá là tính chất, độ pH, nhiệt độ nóng chảy, tro sulfat, mất khối lượng do làm khô, định tính, thử tạp chất liên quan, định lượng. Các phép thử được thẩm định theo hướng dẫn của ICH, ASEAN và các tài liệu chuyên ngành. Phương pháp thiết lập chuẩn: Giá trị ấn định của chất chuẩn được tính theo công thức: %Hàm lượng (khan) = Độ tinh khiết sắc ký × (100 - %tạp vô cơ - %tạp bay hơi)/100.* ***Kết quả:*** *Acid fenofibric được tổng hợp và tinh chế từ phản ứng thủy phân ester fenofibrat cho hiệu suất 96,22% (1,70g). Phổ IR, MS, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, ^{1}H-^{1}H COSY đều cho các tín hiệu phù hợp với cấu trúc của phân tử acid fenofibric; phổ tử ngoại (UV) có cực đại hấp thụ tại 287,98 ± 2 nm. Nguyên liệu có cấu trúc tinh thể, với các đỉnh đặc trưng (d, Å): 15,909; 18,401; 22,539; 23,059 (Phổ XRD). Các phép thử đã được thẩm định, nguyên liệu tổng hợp đạt tiêu chuẩn cơ sở đã xây dựng. Hàm lượng (khan) của chuẩn acid fenofibric là 99,4 ± 0,1%.* ***Kết luận:*** *Acid fenofibric sau khi tổng hợp và tinh chế đã được sử dụng để thiết lập chuẩn thứ cấp với hàm lượng (khan) ghi nhãn là 99,4 ± 0,1%.*

Từ khóa*: Acid fenofibric, chuẩn thứ cấp, thiết lập chuẩn, tổng hợp acid fenofibric.*

ABSTRACT

RESEARCH TO ESTABLISH THE FENOFIBRIC ACID STANDARD

Hoang Viet Dung[1], Lương Quang Anh[2], Nguyen Hoa Binh[3], Pham Thi Hien[3], Nguyen Thi Hai Yen[4], Nguyen Thi Kieu Anh[3], Nguyen Van Giang[3], Nguyen Van Hai[3], Dao Nguyet Suong Huyen[3]*

1. Hanoi center for Disease Control

2. Le Huu Trac National burn Hospital

3. Hanoi University of Pharmacy

4. University of medicine and pharmacy – Vietnam National University, Hanoi

Background: *The fenofibric acid standard substance is a mandatory requirement in some analytical methods (such as HPLC, GC, LC_MS/MS) to check the quality of raw materials and*

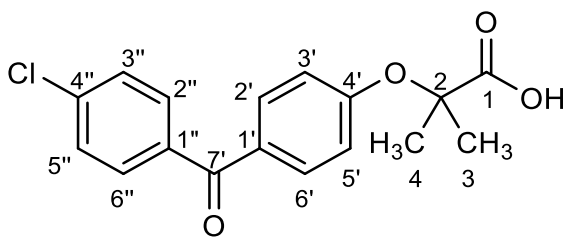
finished products containing fenofibric acid, therefore, establishing a secondary standard of fenofibric acid is an urgent requirement in Vietnam. ***Objectives:*** *To develop basic standards and establish a secondary standard for fenofibric acid which is synthesized in Vietnam.* ***Materials and methods:*** *Fenofibric acid is synthesized by hydrolysis of fenofibrate ester in the basic medium (NaOH) and purified by common methods. Product structure was determined by: IR, MS, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, ^{1}H-^{1}H COSY, and XRD. Method for developing quality standards: Evaluation criteria are properties, pH, melting temperature, sulfate ash, weight loss due to drying, identification, impurities, and quantification. Tests are validated according to ICH, ASEAN guidelines, and specialized documents. Standard establishment method: The assigned value of the standard substance is calculated according to the formula: %Content (anhydrous) = Chromatographic purity × (100 - %inorganic impurities - %volatile impurities)/100.* ***Results:*** *Fenofibric acid was synthesized and purified from the hydrolysis reaction of fenofibrate ester with a yield of 96.22% (1.70g). IR, MS, ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, ^{1}H-^{1}H COSY spectra all give signals consistent with the structure of the fenofibric acid molecule; the ultraviolet (UV) spectrum has a maximum absorption peak at 287.98 ± 2 nm. The material has a crystalline structure, with characteristic peaks (d, Å): 15.909; 18.401; 22.539; 23.059 (XRD spectrum). The tests were evaluated, the synthetic material met the established basic standards. The content (anhydrous) of the fenofibric acid secondary standard is 99.4 ± 0.1%.* ***Conclusion:*** *Fenofibric acid after synthesis and purification was used to establish the secondary standard with a labeled (anhydrous) content of 99.4 ± 0.1%.*

Keywords: *Fenofibric acid, the secondary standard, standard establishment, synthesis of fenofibric acid.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Acid fenofibric là một thuốc thuộc nhóm fibrat, có tác dụng ức chế sinh tổng hợp cholesterol ở gan, làm giảm các thành phần gây xơ vữa, giảm triglycerid, tăng lipoprotein tỷ trọng cao, do đó có tác dụng tốt trong điều trị mỡ máu, rối loạn lipid [1], [2]. Tác dụng của acid fenofibric là dựa trên việc hoạt hóa PPARII (Peroxisome Proliferator Activated Receptor type II). Hiện nay nhu cầu sử dụng các dạng bào chế của hoạt chất này trong điều trị khá lớn, dẫn đến yêu cầu về việc kiểm nghiệm, đánh giá chất lượng của các sản phẩm chứa acid fenofibric cần được kiểm soát chặt chẽ [3], [4].

Chất chuẩn acid fenofibric là một trong những điều kiện bắt buộc cần phải có khi tiến hành các phương pháp kiểm tra, đánh giá chất lượng nguyên liệu và thành phẩm chứa acid fenofibric hoặc các dẫn chất của acid fenofibric như: Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), sắc ký khí (GC) hoặc sắc ký lỏng khối phổ (LC_MS/MS) [5], [6], [7]. Thực tế hiện nay tại Việt Nam, chất chuẩn acid fenofibric phải nhập từ nước ngoài với thời gian chờ lâu và giá thành cao. Do vậy việc tiêu chuẩn hóa nguyên liệu từ nguyên liệu tổng hợp tại Việt Nam và thiết lập chất chuẩn acid fenofibric là yêu cầu cấp thiết:



Hình 1. Cấu trúc hóa học của acid fenofibric

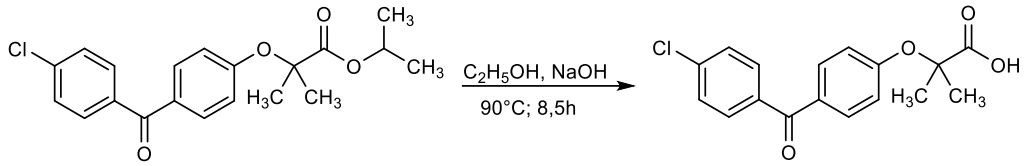
II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Acid fenofibric dạng dược dụng 99,8% (chuẩn USP - Số lô: F076G0); acid hydrocloric 36-38%, acid orthophosphoric 85%, methanol 99,8% (Scharlau - Tây Ban Nha); aceton 99,8%, kalihydro phosphat 99,5%, natri bicarbonat 99,7% (Merck); aceton, acid acetic, ethyl acetat, natri hydroxid (Trung Quốc); ethanol 96%, nước RO, nước cất hai lần (Việt Nam).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Acid fenofibric được tổng hợp bằng cách thủy phân ester isopropyl fenofibrat trong môi trường base (NaOH) như sơ đồ dưới đây.



Hình 2. Phản ứng tổng hợp acid fenofibric từ ester fenofibrat

Quy trình tổng hợp và tinh chế acid fenofibric từ ester isopropyl fenofibrat: Hòa tan 2,00 g (5,6 mmol) ester isopropyl fenofibrat trong 50 mL ethanol, thêm 0,28 g NaOH (7,0 mmol) trong 10 mL H_2O, khuấy đều và đun nóng 90°C trong 8,5 giờ. Kết thúc phản ứng, làm nguội hệ về nhiệt độ phòng, acid hóa bằng dung dịch HCl loãng đến pH 2-3, lọc thu lấy tủa. Phân tán chất rắn thu được trong 100 mL dung dịch $NaHCO_3$ bão hòa, khuấy kĩ, lọc loại bỏ chất rắn, thu lấy dịch trong. Kết tủa lại acid fenofibric bằng acid HCl loãng tại pH 2-3, lọc thu được sản phẩm thô. Kết tinh lại trong hỗn hợp ethanol - nước (tỷ lệ 1:1 về thể tích). Cấu trúc sản phẩm được xác định bằng các phương pháp phổ: UV, IR, MS, phổ ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, ^{1}H-^{1}H COSY, XRD.

2.3. Phương pháp xây dựng tiêu chuẩn chất lượng

Tiêu chuẩn chất lượng nguyên liệu acid fenofibric được xây dựng dựa trên việc tham khảo USP 44 [8] và Dược điển Việt Nam V [9] với các tiêu chí: Tính chất, độ pH, nhiệt độ nóng chảy, tro sulfat, mất khối lượng do làm khô, định tính, thử tạp chất liên quan, định lượng. Các phép thử tính chất, nhiệt độ nóng chảy, tro sulfat, mất khối lượng do làm khô và thử tạp chất liên quan tương tự như các tiêu chuẩn chất lượng dùng cho nguyên liệu thiết lập chuẩn.

Phép thử định tính, định lượng, thử tạp chất liên quan (HPLC) được thẩm định theo hướng dẫn của ICH và theo các quy định chung của ASEAN, USP, một số tài liệu chuyên ngành khác [10], [11], [12], [13], [14]. Trong đó thẩm định phương pháp định lượng bằng HPLC lần lượt đánh giá các yếu tố: độ chọn lọc, độ thích hợp hệ thống, độ tuyến tính, độ đúng, độ chính xác (gồm độ lặp lại và độ chính xác trung gian), khoảng xác định. Với phép thử tạp chất liên quan, tiến hành đánh giá độ chọn lọc, giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp.

2.4. Phương pháp thiết lập chất chuẩn

Nguyên liệu acid fenofibric sau khi tinh chế đạt tiêu chuẩn chất lượng được sử dụng để thiết lập chất chuẩn. Giá trị ấn định của chất chuẩn được thiết lập bằng phương pháp cân bằng khối lượng (bằng cách lấy 100% trừ đi các thành phần không phải hoạt chất có trong sản phẩm, bao gồm: tạp vô cơ không bay hơi, tạp hữu cơ không bay hơi, tạp bay hơi). Công thức tính: Hàm lượng $_{(khan)}$ = Độ tinh khiết sắc ký × (100 - $\%_{tạp\ vô\ cơ}$ - $\%_{tạp\ bay\ hơi}$)/100. Trong

đó, độ tinh khiết sắc ký được xác định bằng phương pháp HPLC, tạp vô cơ (không bay hơi) được tính toán bằng phép thử tro sulfat, tạp bay hơi được tính toán bằng phép thử mất khối lượng do làm khô.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tổng hợp acid fenofibric

Sản phẩm acid fenofibric sau tổng hợp, tinh chế là chất rắn màu trắng, khối lượng 1,70 g, hiệu suất 96,2%. **IR** ($\bar{\upsilon}$, cm^{-1}): 3034 (C-H thơm); 2935 (C-H no); 1638 (C=O ceton); 1583 và 1389 (C=O carboxylat); 1601 và 1498 (C=C thơm); 1255 và 1090 (C-O ete). **MS** (ESI^+): *m/z* = 319,3 ($[M+H]^+$, *m/z* lí thuyết = 318,1). **^{1}H-NMR** (500 MHz, MeOD, δ ppm): 7,72-7,76 (4H, dd, *J* = 7,5 Hz, H-2", H-6", H-2', H-6'), 7,53-7,55 (2H, d, *J* = 9 Hz, H-3", H-5"), 6,97-6,98 (2H, d, *J* = 7,5 Hz, H-3', H-5'), 1,67 (6H, s, H-3,H-4). **^{1}H-^{1}H COSY** cho thấy các tương tác proton-proton phù hợp với cấu trúc của acid fenofibric: cụm tín hiệu của proton H-3' và H-5' có một tương tác với proton H-2' và H-6'; tương tự cụm tín hiệu của proton H-3'' và H-5'' có một tương tác với proton H-2'' và H-6''. **^{13}C-NMR** (125 MHz, MeOD, δ ppm): 196,06 (C-7'), 176,09 (C-1), 161,44 (C-4'), 139,53 (C-4"), 137,83 (C-1"); 133,04 (C-2", C-6"), 132,36 (C-2', C-6'), 131,37 (C-1'), 129,68 (C-3", C-5"), 118,07 (C-3', C-5'), 80,51 (C-2), 25,79 (C-3, C-4). Phổ **XRD** cho thấy acid fenofibric có cấu trúc tinh thể, với các đỉnh đặc trưng (d, Å): 15,909; 18,401; 22,539; 23,059; phù hợp với dữ liệu XRD trong tài liệu [15]: 15,871; 18,428; 22,555; 23,189. Phổ UV có cực đại hấp thụ tại 287,98 ± 2 nm, dựa trên kết quả này chúng tôi sử dụng bước sóng tại 288 nm để phát hiện sản phẩm trong phương pháp HPLC.

3.2. Kết quả xây dựng tiêu chuẩn chất lượng

Các chỉ tiêu chất lượng cho acid fenofibric được xây dựng theo USP 44 và Dược điển Việt Nam V như trong Bảng 1 dưới đây:

Bảng 1. Các yêu cầu kĩ thuật trong tiêu chuẩn chất lượng acid fenofibric, phương pháp thử và kết quả đánh giá theo tiêu chuẩn cơ sở

TT	Chỉ tiêu	Yêu cầu kỹ thuật	Phương pháp thử	Mẫu acid fenofibric tinh chế
1	Tính chất	Bột kết tinh màu trắng	Cảm quan	Đạt
2	Định tính	Pic HPLC chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu	HPLC	Đạt
3	Độ pH	3,0 – 4,0	Phụ lục 6.2, DĐVN V	Đạt
4	Nhiệt độ nóng chảy	179 – 183°C	DĐVN V	Đạt
5	Tro sulfat	≤ 0,2%	DĐVN V	Đạt 0,1142%
6	Mất khối lượng do làm khô	≤ 0,5%	DĐVN V	Đạt 0,0835%
7	Thử tạp chất liên quan	Tạp đơn: ≤ 0,15% (bỏ qua tạp < 0,01%), tổng tạp: ≤ 0,5%	HPLC	Đạt (tạp đơn cao nhất: 0,14%, tổng tạp: 0,45%)

TT	Chỉ tiêu	Yêu cầu kỹ thuật	Phương pháp thử	Mẫu acid fenofibric tinh chế
8	Định lượng	Hàm lượng acid fenofibric ($C_{17}H_{15}ClO_4$) 98,0-102,0%, tính theo nguyên liệu khan	HPLC, phương pháp ngoại chuẩn	Đạt 99,5%

Thẩm định phương pháp định lượng bằng HPLC: Tiến hành khảo sát điều kiện sắc ký và lựa chọn được điều kiện phù hợp là: Cột Eurospher II 100-5 C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm); pha động là MeOH - hệ đệm phosphat pH 2,5 (75 : 25); tốc độ dòng pha động: 1 mL/phút; nồng độ dung dịch thử 100 µg/mL thể tích tiêm 20 µL; bước sóng phát hiện ở 288 nm.

- Độ chọn lọc: Sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng không xuất hiện pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Phổ UV của của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có cực đại hấp thụ ở bước sóng 288 nm trùng với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

- Độ thích hợp hệ thống: Tiêm lặp lại 6 lần dung dịch thử, kết quả đánh giá cho thấy hệ thống phù hợp để xác định độ tinh khiết sắc ký của acid fenofibric (Bảng 2):

Bảng 2. Kết quả khảo sát độ thích hợp hệ thống

TT	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic (mAu.s)	Hệ số đối xứng
1	10,543	6202,0	0,959
2	10,624	6203,3	0,992
3	10,531	6243,0	0,975
4	10,556	6291,5	0,970
5	10,526	6270,4	0,973
6	10,496	6413,9	0,944
TB	10,546	6270,7	
RSD	0,409%	1,255%	

- Độ tuyến tính: Tiêm các dung dịch acid fenofibric với nồng độ 50-75-100-125-150 µg/mL. Phương trình đường chuẩn $S = 57,36 \times C + 107,12$; hệ số tương quan r = 0,9994 > 0,998, %hệ số chắn (%Y) = 1,85% < 2,0%. Độ thu hồi tính theo đường chuẩn ở mọi nồng độ đều nằm trong khoảng 98,0-102,0%.

- Độ chính xác: Kết quả được thể hiện trong bảng 3, giá trị RSD mỗi ngày của mỗi kiểm nghiệm viên < 2,0% và cả hai ngày < 3,0% nên phương pháp xác định độ tinh khiết sắc ký của acid fenofibric đạt yêu cầu về độ lặp lại và độ chính xác trung gian.

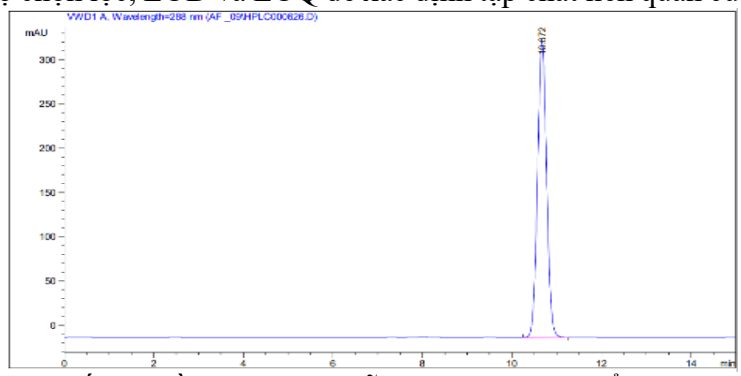
Bảng 3. Kết quả thẩm định độ chính xác trung gian của phương pháp

TT	Kiểm nghiệm viên 1 (Ngày 1)			Kiểm nghiệm viên 2 (Ngày 2)		
	Diện tích pic (mAu.s)	Hàm lượng theo đường chuẩn	% Hàm lượng	Diện tích pic (mAu.s)	Hàm lượng theo đường chuẩn	% Hàm lượng
1	5797,6	99,21	98,52	5854,8	100,20	100,00
2	5781,3	98,92	98,23	5853,2	100,18	99,98
3	5801,5	99,27	98,58	5853,2	100,18	99,98
4	5963,5	102,10	101,39	5980,3	102,39	102,19
5	5977,4	102,34	101,63	5813	99,47	99,28
6	5843,7	100,01	99,31	5886,3	100,75	100,55
n = 6	Trung bình: 99,61% RSD: 1,52%			Trung bình: 100,33% RSD: 0,99%		
n = 12	Trung bình: 99,97% RSD: 1,28%					

- Khoảng xác định: 80 - 120% nồng độ xác định độ tinh khiết sắc ký, hay 80-120 µg/mL. Như vậy, quy trình phân tích thích hợp để xác định độ tinh khiết sắc ký của acid fenofibric.

Thẩm định phép thử tạp chất liên quan bằng HPLC (các điều kiện sắc ký giống với phương pháp định lượng):

- Độ chọn lọc: Tiêm các dung dịch gồm mẫu trắng, mẫu thử, mẫu thử phân hủy ở các điều kiện: nhiệt độ, acid, base, oxy hóa, UV. Trên sắc ký đồ dung dịch mẫu trắng không xuất hiện pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ dung dịch thử. Trong tất cả mẫu thử phân hủy, các pic tạp đều tách riêng khỏi pic chính. Độ tinh khiết pic của pic chất phân tích trong các sắc ký đồ đều đạt yêu cầu.- Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ): LOD được xác định bằng phương pháp tỷ số tín hiệu/nhiễu (S/N). Dung dịch thử được pha loãng dần cho đến khi đạt được tỷ số S/N có giá trị gần ngưỡng 3. Tiêm sắc ký 6 lần các dung dịch thử có nồng độ khoảng 0,1 và 0,01 µg/mL, pha trong pha động. Giá trị RSD của diện tích pic tại LOD là 7,182% (< 10,0%) nên chọn LOD = 0,01 µg/mL, từ đó LOQ = 3,3 × LOD = 0,033 µg/mL. Quy trình phân tích đáp ứng các yêu cầu về độ chọn lọc, LOD và LOQ để xác định tạp chất liên quan của acid fenofibric.



Hình 3. Sắc ký đồ HPLC của mẫu acid fenofibric tổng hợp được

3.3. Đánh giá chất lượng nguyên liệu và thiết lập chất chuẩn

Nguyên liệu acid fenofibric sau tổng hợp, tinh chế được xác định cấu trúc sản phẩm và đánh giá chất lượng theo tiêu chuẩn chất lượng, kết quả mẫu acid fenofibric đáp ứng tất cả các tiêu chí trong tiêu chuẩn chất lượng đã xây dựng ở mục 3.2, đạt yêu cầu để thiết lập chất chuẩn (bảng 1)

Nguyên liệu thiết lập chuẩn được đóng nhanh trong lọ thủy tinh tối màu dung tích 2 mL, vặn nắp kín, dán parafin, nhiệt độ dưới 20°C, độ ẩm tương đối dưới 20%, khối lượng: 100 mg/lọ, số lượng: 50 lọ. Kiểm tra độ đồng nhất của quá trình đóng lọ và tính toán giá trị ấn định. Tiêm sắc ký ngẫu nhiên 16 lọ trong số 50 lọ, nồng độ khoảng 100 µg/mL ở hai thời điểm khác nhau. Kết quả được thể hiện ở Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả đánh giá độ đồng nhất của quá trình đóng gói chất đối chiếu

KNV 1		KNV 2	
TT đóng lọ	Độ tinh khiết sắc ký (%)	TT đóng lọ	Độ tinh khiết sắc ký (%)
1	99,20	5	99,92
7	99,72	11	99,62
13	99,06	17	98,91
19	99,86	23	99,55
25	99,69	29	99,63
31	99,78	35	99,74
37	99,86	41	99,45

KNV 1		KNV 2	
TT đóng lọ	Độ tinh khiết sắc ký (%)	TT đóng lọ	Độ tinh khiết sắc ký (%)
43	99,35	47	99,87
Trung bình (n=8)	99,56	Trung bình (n=8)	99,59
RSD (n=8)	0,32	RSD (n=8)	0,32
Trung bình (n=16): 99,58 %			
RSD (n=16): 0,31 %			

RSD mỗi thời điểm và RSD hai thời điểm < 1,0%, chứng tỏ quá trình đóng lọ là đồng nhất. Giá trị ấn định của chuẩn được tính toán theo công thức: %Hàm lượng (khan) = Độ tinh khiết sắc ký × (100 - %tạp vô cơ - %tạp bay hơi)/100. Thay số, tính được hàm lượng (khan) của chuẩn là 99,4%. Độ không đảm bảo đo kết hợp:

$$u_c = \sqrt{u^2_{c(HPLC)} + u^2_{c(\text{tro sulfat})} + u^2_{c(\text{mất khối lượng do làm khô})}}$$

Thay số, tính toán được $u_{c(HPLC)}$ = 0,02%, $u_{c\ (tro\ sulfat)}$ = 0,04%, $u_{c\ (mất\ khối\ lượng\ do\ làm\ khô)}$ = 0,01%, u_c = 0,05%. Độ không đảm bảo đo mở rộng U = 2u_c = 0,1% (hệ số phủ k = 2, độ tin cậy 95,45%). Giá trị hàm lượng (khan) ghi trên nhãn của chất chuẩn: 99,4 ± 0,1%. Chất chuẩn được bảo quản trong tủ lạnh chuyên dụng ở 2-8^{o}C.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Về xây dựng tiêu chuẩn cơ sở

Các kết quả đo phổ đã khẳng định cấu trúc phù hợp của acid fenofibric. Trong đó, phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton (^{1}H-NMR): nguyên tử hydro trong nhóm –OH (hydroxy) không xuất hiện trên phổ đồ do tín hiệu từ hydro thuộc nhóm này thường yếu và khó lên pic. Bên cạnh đó phổ nhiễu xạ tia X (XRD) đã chứng minh nguyên liệu acid fenofibric có cấu trúc tinh thể, với các đỉnh đặc trưng phù hợp với tài liệu tham khảo [14].

Về xây dựng tiêu chuẩn chất lượng acid fenofibric tổng hợp tại Việt Nam: Phương pháp HPLC để định tính, định lượng, xác định giới hạn tạp chất liên quan của acid fenofibric phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Quy trình chuẩn bị mẫu và pha động đơn giản, các hóa chất dung môi dễ kiếm, sẵn có và phổ biến. Kết quả thẩm định phương pháp cho thấy phương pháp HPLC có độ đặc hiệu, độ lặp lại cao, đảm bảo kết quả về độ đúng, cho kết quả chính xác và độ tin cậy cao, đường chuẩn không mắc sai số hệ thống. Nồng độ định lượng nằm trong khoảng tuyến tính đã khảo sát, có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic. Áp dụng phương pháp này để xác định hàm lượng của acid fenofibric tinh chế được là 99,4%. Acid fenofibric tinh chế được đáp ứng được yêu cầu làm nguyên liệu để thiết lập chuẩn [10, 13].

4.2. Thiết lập chuẩn thứ cấp

Sau khi đánh giá nguyên liệu đảm bảo đạt tiêu chuẩn chất lượng theo tiêu chuẩn xây dựng ở trên, tiến hành đóng lọ. Khi kiểm tra độ đồng đều của các lọ, kết quả cho thấy hàm lượng trung bình các lọ đạt 99,58%. Ở đây, giá trị ấn định được tính toán từ độ tinh khiết sắc ký, tạp vô cơ và tạp bay hơi, kết quả thu được giá trị ấn định là 99,4 ± 0,1%. Nhược điểm phương pháp mới chỉ đánh giá trên một thiết bị HPLC mà chưa tiến hành trên thiết bị HPLC khác ở một phòng thí nghiệm khác (đánh giá liên phòng thí nghiệm) và cũng chưa đánh giá được độ ổn định của chuẩn. Chuẩn acid fenofibric tổng hợp, tinh chế có thể được sử dụng để thực hiện các phép thử định tính, định lượng, đánh giá tạp B của nguyên liệu fenofibrat hoặc thành phẩm chứa fenofibrat.

V. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã tổng hợp và tinh chế được nguyên liệu acid fenofibric từ phản ứng thủy phân ester isopropyl fenofibrate tại Việt Nam với hiệu suất 96,22%. Đã xây dựng được tiêu chuẩn cơ sở cho nguyên liệu acid fenofibric gồm 08 chỉ tiêu: Tính chất, pH, nhiệt độ nóng chảy, tro sulfat, mất khối lượng do làm khô (theo các phương pháp của DĐVN V), định tính, thử tạp chất liên quan, định lượng (phương pháp HPLC). Sản phẩm acid fenofibric sau khi tinh chế đạt tiêu chuẩn cơ sở được sử dụng để thiết lập chất chuẩn acid fenofibric với giá trị hàm lượng (khan) ghi nhãn là 99,4 ± 0,1%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Grundy S.M., Cleeman J.I., Merz C.N., Brewer H.B., Jr., Clark L.T., *et al.* Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation*. 2004, 110(2), 227-239, DOI: 10.1161/01.CIR.0000133317.49796.0E.
2. National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection E., Treatment of High Blood Cholesterol in A. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002, 106(25), 3143-3421, https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ 12485966/.
3. Saurav A., Kaushik M., Mohiuddin S.M. Fenofibric acid for hyperlipidemia. *Expert Opin Pharmacother*. 2012, 13(5), 717-722, DOI: 10.1517/14656566.2012.658774.
4. Abbott Laboratories. Trilipix® (fenofibric acid delayed release capsules). 2011. https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=bbf3e782-d163-49c8-0e81-4eeabef48190.
5. Desager J.P. Gas--liquid chromatographic determination of procetofenic acid in human plasma and urine. *Journal of Chromatography*. 1978, 145(1), 160-164, DOI: 10.1016/S0378-4347(00)81681-3.
6. Shah I., Barker J., Barton S.J., Naughton D.P. A Novel Method for Determination of Fenofibric Acid in Human Plasma using HPLC-UV: Application to a Pharmacokinetic Study of New Formulations. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*, 2014, DOI:10.4172/2155-9872.S12-009.
7. Wang G, Guo J., Meng F, Song X, Zhong B, Zhao Y. Development of a sensitive liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for the determination of fenofibric acid in rat plasma. *Biomedical Chromatography.* 2012, 26, 497–501, DOI: 10.1002/bmc.1693.
8. United States Pharmacopoeia 44, Software.
9. Bộ Y Tế. Dược điển Việt Nam V. Nhà xuất bản Y học. 2019.
10. ICH harmonised tripartite guideline Q2(R1). Validation of analytical procedures: Text and methodology. 2005. https://www.ema.europa.eu/en/documents/ scientific-guideline/ich-guideline-q2r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5-first-version.
11. Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương. Đảm bảo chất lượng thuốc và một số phương pháp kiểm nghiệm thuốc, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 2010.
12. ASEAN. Asean guidelines for validation and analytical procedures. 2012.
13. United States Pharmacopoeia 46. Validation of compendial procedures. 2023.
14. Streel B., Hubert P., Ceccato A. Determination of fenofibric acid in human plasma using automated solid-phase extraction coupled to liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 2000, 742(2), 391-400, DOI: 10.1016/s0378-4347(00)00195-x.