

Độc tính của phác đồ chủ yếu là độc tính trên huyết học và tăng men gan, tăng creatinin độ 1,2. Trong 41 bệnh nhân chỉ 2 bệnh nhân biểu hiện viêm phổi kẽ (1 bệnh nhân độ 1, 1 bệnh nhân độ 4), 2 bệnh nhân tăng glucose mới xuất hiện độ 2 không có chỉ định điều trị đái tháo đường. Các tác dụng phụ miễn dịch như suy giáp, cường giáp, suy tuyến thượng thận không ghi nhận được có thể do nhiều bệnh nhân không được theo dõi nồng độ hormon cũng như phần lớn các độc tính này ở các nghiên cứu cũng phần lớn xảy ra ở độ 1 – 2, triệu chứng kín đáo và tỷ lệ xuất hiện thấp.<sup>4,5</sup>

## V. KẾT LUẬN

Sự kết hợp giữa pembrolizumab và hóa chất có platinum cho tỷ lệ đáp ứng là 61%, tỷ lệ kiểm soát bệnh 83% và thời gian sống thêm bệnh không tiến triển cho bệnh nhân UTPKTBN giai đoạn IV với mPFS lên đến 11,9 tháng. Độc tính của phác đồ chủ yếu trên hệ huyết học, gan, thận với dưới 10% trường hợp xảy ra độc tính độ 3,4.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al.** Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660
2. **Bracci L, Schiavoni G, Sistigu A, Belardelli F.** Immune-based mechanisms of cytotoxic chemotherapy: implications for the design of novel and rationale-based combined treatments against cancer. *Cell Death Differ.* 2014;21(1):15-25. doi:10.1038/cdd.2013.67
3. **Garon EB, Rizvi NA, Hui R, et al.** Pembrolizumab for the Treatment of Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2015;372(21):2018-2028. doi:10.1056/NEJMoa1501824
4. **Pembrolizumab plus** Chemotherapy for Squamous Non-Small-Cell Lung Cancer | NEJM. Accessed August 13, 2022. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1810865>
5. **Pembrolizumab plus** Chemotherapy in Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer | NEJM. Accessed August 13, 2022. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa1801005>
6. **Socinski MA, Obasaju C, Gandara D, et al.** Current and Emergent Therapy Options for Advanced Squamous Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer.* 2018; 13(2):165-183. doi:10.1016/j.jtho.2017.11.111

# XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI DIOSMIN VÀ QUERCETIN TRONG VI NHŨ TƯƠNG DQM BẰNG PHƯƠNG PHÁP HPLC-UV

Vũ Lê Hà<sup>1</sup>, Võ Thanh Hóa<sup>2</sup>, Nguyễn Đức Hạnh<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

Diosmin và quercetin là hai hoạt chất có tác dụng chống oxy hóa, chống viêm và tăng cường thành mạch, đã được nghiên cứu bào chế dưới dạng hệ vi nhũ tương (DQM) dùng ngoài. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng phương pháp định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong DQM bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Các phương pháp chuẩn bị mẫu đã được sàng lọc và lựa chọn. Phương pháp định lượng được thẩm định theo hướng dẫn của ICH về tính đặc hiệu, tính tương thích hệ thống, độ tuyến tính, độ chính xác và độ đúng. Hỗn hợp dung môi gồm methanol (80%) và dimethyl sulfoxid (20%) được chọn để chiết đồng thời diosmin và quercetin trong DQM. Điều kiện HPLC được chọn để xác định đồng thời diosmin và quercetin gồm cột

Synchronis C18 (250 × 4,6 mm; 5 μm), bước sóng phát hiện 268 nm, nhiệt độ cột 30 ° C, tốc độ dòng 0,8 ml / phút và thể tích tiêm là 20 μl. Pha động là hỗn hợp của acetonitril và 0,2% axit fomic pha trong nước. Tỷ lệ acetonitril tương ứng là 31%, 35% và 55% ở 0-2 phút, 3-4 phút và 5-15 phút. Giữa điện tích đỉnh và nồng độ diosmin ( $r^2 = 0,9991$ ) hoặc nồng độ quercetin ( $r^2 = 0,9988$ ) có mối tương quan tuyến tính. Giá trị % RSD của độ chính xác trung gian của diosmin và quercetin lần lượt là 1,60% và 0,60%. Độ đúng đạt yêu cầu với tỷ lệ phục hồi của diosmin và quercetin lần lượt là 98,47-103,40% và 99,66 - 101,53%. Phương pháp HPLC-UV định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương DQM đã được xây dựng và thẩm định thành công và có thể được ứng dụng để kiểm soát chất lượng của DQM và các sản phẩm liên quan.

**Từ khóa:** HPLC, diosmin, quercetin, vi nhũ tương.

## SUMMARY

### DEVELOPMENT OF AN HPLC-UV METHOD FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF DIOSMIN AND QUERCETIN IN DQM MICROEMULSION

Diosmin and quercetin, two active ingredients possess the antioxidant, anti-inflammatory, and

<sup>1</sup>Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Đức Hạnh

Email: duchanh@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 28.7.2022

Ngày phản biện khoa học: 19.9.2022

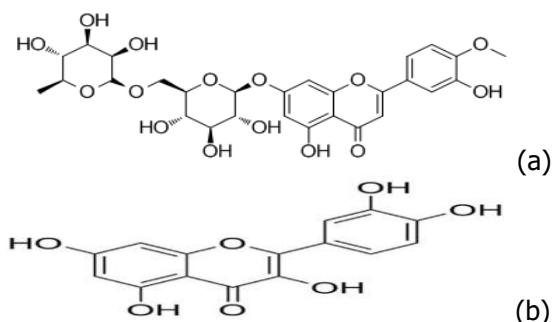
Ngày duyệt bài: 28.9.2022

vascular wall strengthening effects, have been simultaneously developed as a microemulsion (DQM) for a topical product. This study was carried out to develop a method for the simultaneous determination of diosmin and quercetin in DQM by high performance liquid chromatography (HPLC). The sample preparation methods were screened and selected. The HPLC method was validated according to the ICH guidelines for its specificity, system suitability, linearity, precision, and accuracy. The sample preparation method was selected using a mixture of methanol (80%) and dimethyl sulfoxide (20%) as solvent for the simultaneous extraction of diosmin and quercetin. The best HPLC condition for the simultaneous determination of diosmin and quercetin employed a Synchronis C18 column (250 × 4.6 mm; 5 μm), a detection wavelength of 268 nm, a column temperature of 30 °C, a flow rate of 0.8 ml/min and an injection volume of 20 μl. The mobile phase was a mixture of acetonitrile and 0.2% formic acid in water in gradient mode. The ratios of acetonitrile were 31%, 35% and 55% at 0-2 min, 3-4 min and 5-15 min, respectively. The good correlations were found between peak areas and diosmin concentrations ( $r^2 = 0.9991$ ) or quercetin concentration ( $r^2 = 0.9988$ ). The % RSD values of inter-day precision of diosmin and quercetin were 1.60% and 0.60%, respectively. The recovery percentages of diosmin and quercetin were 98.47-103.40 % and 99.66 – 101.53%, respectively. The HPLC-UV method for simultaneous quantification of diosmin and quercetin in DQM microemulsions has been reported for the first time. The quantitation method met the requirements of validation and could be useful for quality control of DQM and its related products.

**Keywords:** HPLC, diosmin, quercetin, microemulsion.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Diosmin và quercetin (Hình 1) là hai hoạt chất thuộc nhóm flavonoid, có tác dụng chống oxy hoá, kháng viêm, làm bền thành mạch [2]. Tuy nhiên, cả hai hoạt chất diosmin và quercetin đều có độ tan trong nước kém [3,4]. Vì vậy, diosmin và quercetin đã được nghiên cứu phối hợp bào chế dưới dạng vi nhũ tương (DQM) để cải thiện độ tan và làm tăng sinh khả dụng [1] của hoạt chất, hướng tới mục tiêu phát triển sản phẩm hỗ trợ điều trị suy giãn tĩnh mạch.



Hình 1. Cấu trúc hóa học của (a) diosmin và (b) quercetin

Việc kiểm soát đồng thời hàm lượng 2 hoạt chất diosmin và quercetin trong quá trình bào chế và đảm bảo chất lượng sản phẩm vi nhũ tương là nhu cầu cấp thiết trong quá trình nghiên cứu phát triển sản phẩm. Vì vậy, nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu xây dựng và thẩm định quy trình định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương bằng phương pháp HPLC.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**Đối tượng và nguyên liệu.** Diosmin chuẩn làm việc (hàm lượng 98,51%) và quercetin chuẩn làm việc (hàm lượng 98,92%) được cung cấp bởi Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh. Acetonitril (Macron, Hà Lan) và nước cất 2 lần đạt tiêu chuẩn dùng cho HPLC. Methanol (Merck, Đức) và dimethyl sulfoxide (DMSO) đạt tiêu chuẩn phân tích.

**Khảo sát điều kiện HPLC định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương.** Khảo sát điều kiện HPLC định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương sử dụng hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Azura, detector UV- Vis (Đức). Cột sắc ký C18 Synchronis™ (250 x 4,6 mm; 5 μm) và tiền cột HQ 105 C18 (10 x 4,6 mm; 5 μm) (Thermo Scientific, Mỹ). Nhiệt độ cột 30 °C, bước sóng phát hiện 268 nm, thể tích tiêm mẫu 20 μl, tốc độ dòng 0,8 ml/phút. Thẩm dò một số điều kiện pha động (Bảng 1). Chọn điều kiện HPLC sao cho pic diosmin và pic quercetin tách hoàn toàn khỏi các pic tạp trong mẫu thử và các thông số sắc ký đạt yêu cầu.

Bảng 1. Các pha động khảo sát điều kiện định lượng đồng thời diosmin và quercetin

	Thời gian (phút)	Nước cất	Acid formic 0,2%	Aceto nitril
<b>Điều kiện I</b>	0-12	70	-	30
<b>Điều kiện II</b>	0-12	45	-	55
<b>Điều kiện III</b>	0	69	-	31
	2	69	-	31
	3	65	-	35
	4	65	-	35
	5	45	-	55
	12	45	-	55
<b>Điều kiện IV</b>	0	-	69	31
	2	-	69	31
	3	-	65	35
	4	-	65	35
	5	-	45	55
	12	-	45	55

**Khảo sát quy trình xử lý mẫu**

**Chọn loại dung môi chuẩn bị mẫu thử.**

Mẫu thử chuẩn bị với dung môi methanol: Cân chính xác khoảng 0,0714 g vi nhũ tương chứa diosmin và quercetin vào bình định mức 5ml, thêm khoảng 4 ml dung môi methanol, siêu âm 10 phút, bổ sung dung môi methanol tới vạch, lọc qua màng lọc 0,22 µm.

Mẫu thử chuẩn bị với dung môi methanol:DMSO (8:2): Tiến hành tương tự như cách điều chế mẫu thử chuẩn bị với dung môi methanol nhưng sử dụng dung môi là hỗn hợp methanol:DMSO (8:2).

So sánh hàm lượng diosmin và quercetin trong các mẫu thử chuẩn bị bằng các dung môi khác nhau sử dụng phương pháp HPLC theo điều kiện sắc ký được chọn. Dựa vào kết quả HPLC, lựa chọn loại dung môi chiết tốt nhất đồng thời diosmin và quercetin.

**Chọn tỷ lệ pha loãng vi nhũ tương trong dung môi chuẩn bị mẫu thử.** Dùng dung môi chiết xuất được chọn ở trên để tiếp tục khảo sát chọn tỷ lệ pha loãng vi nhũ tương để chuẩn bị mẫu thử. Tiến hành thực nghiệm với 2 tỷ lệ sau:

- Tỷ lệ 1 (pha loãng 100 lần): Cân chính xác khoảng 0,05 g vi nhũ tương chứa diosmin và quercetin vào bình định mức 5 ml, thêm khoảng 4

ml dung môi được chọn, siêu âm 10 phút, bổ sung dung môi tới vạch, lọc qua màng lọc 0,22 µm.

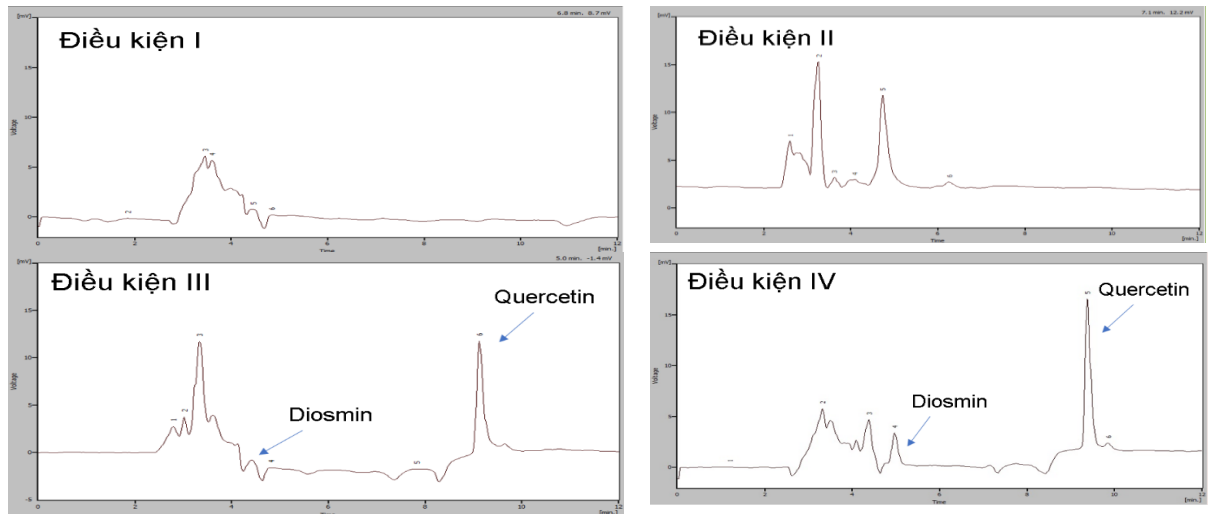
- Tỷ lệ 2 (pha loãng 70 lần): Cân chính xác khoảng 0,07 g vi nhũ tương chứa diosmin và quercetin vào bình định mức 5 ml, thêm khoảng 4 ml dung môi được chọn, siêu âm 10 phút, bổ sung dung môi tới vạch, lọc qua màng lọc 0,22 µm.

Chuẩn bị 3 mẫu thử riêng biệt cho mỗi tỷ lệ khảo sát. So sánh khả năng chiết diosmin và quercetin của 2 tỷ lệ khảo sát bằng phương pháp HPLC theo điều kiện sắc ký được chọn.

**Thẩm định quy trình định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương.** Quy trình định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương được thẩm định theo hướng dẫn của ICH về tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính, độ chính xác và độ đúng [5].

**III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN**

**Khảo sát điều kiện HPLC định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương.** Kết quả khảo sát các điều kiện pha động HPLC định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương được trình bày trong Hình 4.



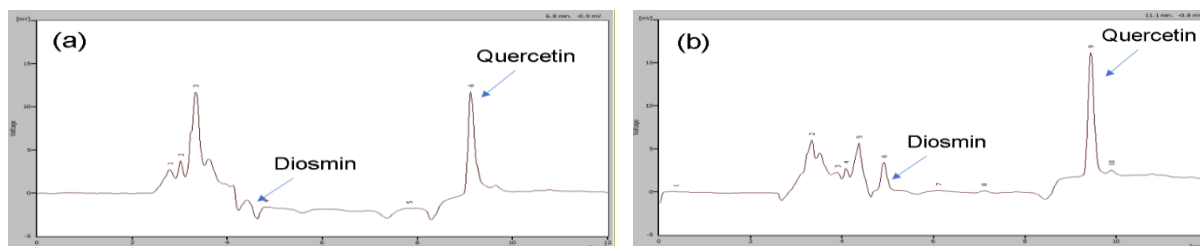
**Hình 2. Sắc ký đồ HPLC định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương với các điều kiện pha động khác nhau**

Hình 2 cho thấy điều kiện I không rửa giải được pic diosmin và quercetin sau 12 phút. Ở điều kiện II đã rửa giải được quercetin, tuy nhiên độ phân giải của pic diosmin chưa tốt. Điều kiện III pic diosmin vẫn còn dính với pic của tạp. Điều kiện IV tách được các pic diosmin và quercetin khỏi các pic tạp, đồng thời pic diosmin và quercetin đều đạt yêu cầu về độ phân giải. Vì

vậy, chọn điều kiện IV làm hệ dung môi rửa giải để định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương.

**Khảo sát quy trình xử lý mẫu.** Chọn loại dung môi chuẩn bị mẫu thử

Kết quả HPLC khảo sát dung môi chuẩn bị mẫu thử được trình bày trong Hình 3.



**Hình 3. Kết quả HPLC khảo sát dung môi chuẩn bị mẫu thử (a) methanol và (b) hỗn hợp methanol: DMSO (8:2)**

Hình 3 cho thấy khi sử dụng dung môi methanol để điều chế mẫu thử, lượng diosmin được tìm thấy thấp hơn và pic diosmin có độ phân giải kém so với trường hợp sử dụng hỗn hợp methanol: DMSO (8:2). Vì vậy, hỗn hợp methanol: DMSO (8:2) được chọn làm dung môi để điều chế mẫu thử.

Chọn tỷ lệ pha loãng vi nhũ tương trong dung môi chuẩn bị mẫu thử

Kết quả hàm lượng diosmin và quercetin xác định được với hai tỷ lệ pha loãng khảo sát được trình bày ở Bảng 2.

**Bảng 2. Hàm lượng diosmin và quercetin xác định được với hai tỷ lệ pha loãng khảo sát**

Tỷ lệ pha loãng VNT (lần)	Hàm lượng diosmin trong VNT (% , kl/kl)	Hàm lượng quercetin trong VNT (% ,kl/kl)
100	0,005 ± 0,002	0,01 ± 0,002
70	0,005 ± 0,001	0,01 ± 0,001

Bảng 2 cho thấy hàm lượng diosmin và quercetin chiết được với 2 tỷ lệ pha loãng VNT trong dung môi khảo sát khác nhau không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Như vậy, khi tăng tỷ lệ pha loãng vi nhũ tương, tăng lượng dung môi chiết xuất từ 70 đến 100 lần, lượng diosmin và quercetin chiết được không tăng thêm. Vậy, tỷ lệ pha loãng VNT được chọn là 70 lần.

**Quy trình định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương**

**Chuẩn bị mẫu thử:** Cân chính xác khoảng 0,0714 g vi nhũ tương chứa diosmin và quercetin vào bình định mức 5 ml, thêm khoảng 4 ml dung môi methanol:DMSO (8:2), siêu âm 10 phút, bổ sung hỗn hợp dung môi tới vạch, lọc qua màng lọc 0,22 μm.

Điều kiện HPLC: Máy HPLC Azura detector UV- Vis, cột sắc ký C18 Synchronis™ (250 x 4,6 mm; 5 μm) và tiền cột HQ 105 C18 (10 x 4,6

mm; 5 μm), nhiệt độ cột 30 °C, bước sóng phát hiện 268 nm, thể tích tiêm mẫu 20 μl. Pha động gồm acetonitril và dung dịch acid formic 0,2 % tỷ lệ theo điều kiện IV (Bảng 1).

Hàm lượng diosmin hoặc quercetin (%) trong vi nhũ tương được tính theo công thức:

$$X (\%) = \frac{S_t \times C}{S_c \times 1000} \times \frac{5}{m} \times \text{độ tinh khiết chuẩn} \times 100$$

$S_t, S_c$ : Diện tích pic diosmin (hoặc quercetin) của mẫu thử và mẫu chuẩn

$C$ : Nồng độ dung dịch diosmin (hoặc quercetin) chuẩn (μg/ml)

$m$ : Khối lượng vi nhũ tương (mg)

**Thẩm định quy trình định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương**

**Tính tương thích hệ thống.** Kết quả khảo sát tính tương thích hệ thống được trình bày trong Bảng 3.

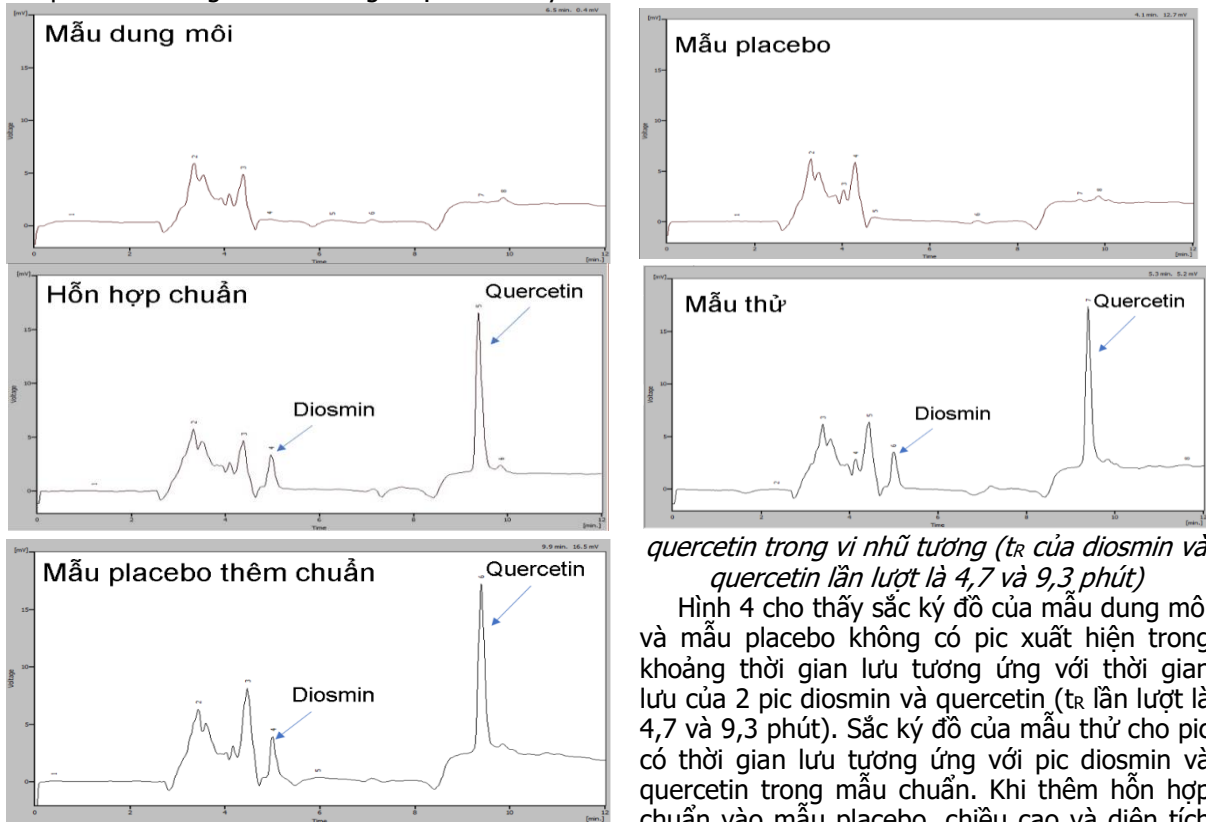
**Bảng 3. Tính tương thích hệ thống của phương pháp định lượng đồng thời diosmin và quercetin**

STT	$t_R$ (phút)	S (mAU.s)	Diosmin			
			$Rs_1$	$Rs_2$	As	N
1	4,73	26,53	1,57	1,67	1,12	27074
2	4,63	26,19	1,56	1,54	1,13	22462
3	4,67	27,01	1,74	1,52	1,14	25096
4	4,62	26,74	1,61	2,03	1,15	27439
5	4,77	26,37	1,65	1,64	1,20	24764
6	4,70	26,76	1,53	1,89	1,13	22763
<b>TB</b>	4,69	26,60	1,61	1,72	1,15	24933
<b>%RSD</b>	1,24	1,12				

Quercetin						
STT	t <sub>R</sub> (phút)	S (mAU.s)	Rs <sub>1</sub>	Rs <sub>2</sub>	As	N
1	9,33	132,32	1,68	1,78	1,12	112280
2	9,57	127,11	1,67	1,72	1,14	112673
3	9,18	129,62	1,77	1,90	1,20	112280
4	9,28	128,82	1,68	1,75	1,15	112673
5	9,27	130,45	1,90	1,64	1,18	100421
6	9,10	130,03	1,74	1,51	1,16	111889
<b>TB</b>	9,29	129,73	1,74	1,72	1,16	110369,3
<b>% RSD</b>	1,71	1,34				
<b>Yêu cầu</b>	RSD < 2%	RSD < 2%	R <sub>s</sub> ≥ 1,5		0,8 ≤ A <sub>s</sub> ≤ 1,2	

Các thông số thời gian lưu, diện tích pic (S) có RSD ≤ 2 %. Hệ số bất đối (As), độ phân giải (Rs), số đĩa lý thuyết (N) đạt yêu cầu phân tích. Vậy, phương pháp HPLC định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương đạt yêu cầu tính tương thích hệ thống.

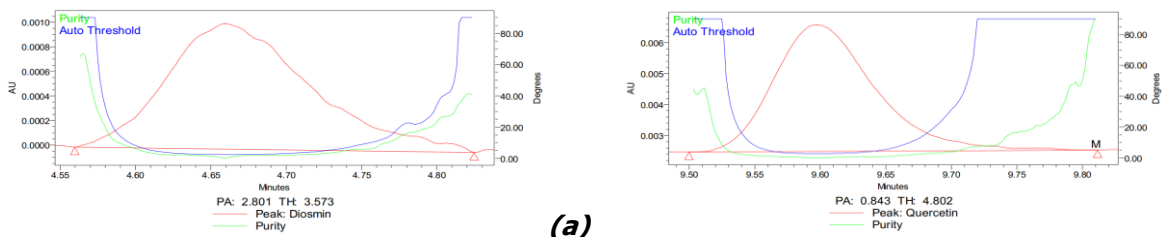
**Tính đặc hiệu.** Sắc ký đồ HPLC khảo sát tính đặc hiệu của quy trình định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương được trình bày ở Hình 4.



**Hình 4.** Sắc ký đồ HPLC khảo sát tính đặc hiệu của quy trình định lượng đồng thời diosmin và

quercetin trong vi nhũ tương (t<sub>R</sub> của diosmin và quercetin lần lượt là 4,7 và 9,3 phút)

Hình 4 cho thấy sắc ký đồ của mẫu dung môi và mẫu placebo không có pic xuất hiện trong khoảng thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của 2 pic diosmin và quercetin (t<sub>R</sub> lần lượt là 4,7 và 9,3 phút). Sắc ký đồ của mẫu thử cho pic có thời gian lưu tương ứng với pic diosmin và quercetin trong mẫu chuẩn. Khi thêm hỗn hợp chuẩn vào mẫu placebo, chiều cao và diện tích pic diosmin và quercetin tăng. Độ tinh khiết pic diosmin và quercetin đạt yêu cầu (Hình 5).

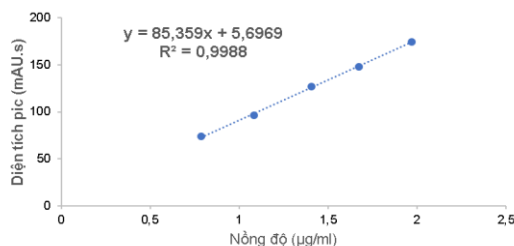
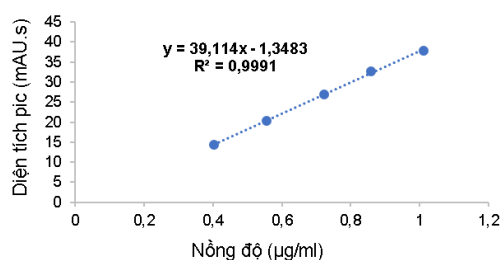


**Hình 5.** Độ tinh khiết (a) pic diosmin và (b) pic quercetin trong mẫu thử

**Tính tuyến tính.** Kết quả khảo sát mối tương quan giữa diện tích pic với nồng độ diosmin và quercetin được trình bày trong Bảng 4 và Hình 6.

**Bảng 4. Tương quan giữa nồng độ và diện tích pic của diosmin và quercetin**

Diosmin		Quercetin	
Nồng độ (µg/ml)	Diện tích pic (mAU.s)	Nồng độ (µg/ml)	Diện tích pic (mAU.s)
0,404	14,4	0,788	74,1
0,556	20,2	1,084	96,3
0,722	27,0	1,409	127,1
0,859	32,6	1,675	147,7
1,010	37,8	1,970	174,4



(a)

(b)

**Hình 6. Tương quan giữa nồng độ và diện tích pic của (a) diosmin và (b) quercetin**

Độ lặp lại và độ chính xác trung gian

Kết quả khảo sát độ lặp lại và độ chính xác trung gian của quy trình định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương được trình bày trong Bảng 5.

**Bảng 5. Độ lặp lại và độ chính xác trung gian của phương pháp định lượng**

	Ngày 1		Ngày 2	
	Diosmin			
STT	Diện tích pic	Hàm lượng diosmin(%)	Diện tích pic	Hàm lượng diosmin(%)
1	26,5	0,0047	26,0	0,0046
2	26,8	0,0048	26,9	0,0048
3	26,7	0,0048	26,7	0,0047
4	26,7	0,0048	25,5	0,0046
5	26,2	0,0047	26,4	0,0047
6	26,9	0,0048	26,3	0,0047
<b>TB</b>		0,0048		0,0047
<b>RSD (%)</b>		1,08		1,47
<b>Giá trị thống kê 2 ngày: TB = 0,0047%; RSD = 1,60 %</b>				
	Quercetin			
STT	Diện tích pic	Hàm lượng quercetin(%)	Diện tích pic	Hàm lượng quercetin(%)
1	129,2	0,0125	128,2	0,0124
2	128,3	0,0124	128,9	0,0125
3	128,9	0,0125	129,2	0,0125
4	128,8	0,0125	127,6	0,0123
5	129,9	0,0126	127,9	0,0124
6	128,5	0,0124	129,3	0,0125
<b>TB</b>		0,0125		0,0124
<b>RSD (%)</b>		0,60		0,60
<b>Giá trị thống kê 2 ngày: TB = 0,0125%; RSD = 0,60 %</b>				

Hàm lượng trung bình của diosmin và quercetin trong vi nhũ tương lần lượt là 0,0047% và 0,0125%, giá trị RSD của diosmin và quercetin đều nhỏ hơn 2%. Như vậy, quy trình định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương đạt yêu cầu về độ lặp lại.

**Độ đúng.** Độ đúng được tiến hành bằng cách

thêm chất chuẩn diosmin và quercetin vào mẫu placebo ở 3 mức 80%, 100% và 120% so với nồng độ diosmin và quercetin trong mẫu thử. Mỗi mẫu được lặp lại 3 lần. Kết quả khảo sát độ đúng được trình bày trong Bảng 6.

**Bảng 6. Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp định lượng**

Diosmin		
Mức nồng độ thêm vào	Tỉ lệ hồi phục (%)	Giá trị trung bình
80%	98,47	TB = 99,38% RSD = 1,58%
	101,19	
	98,47	
100%	103,40	TB = 102,63% RSD = 0,69%
	102,04	
	102,45	
120%	99,32	TB = 100,57% RSD = 1,30%
	101,93	
	100,45	
Quercetin		
80%	101,53	TB = 101,22% RSD = 0,53%
	100,60	
	101,53	
100%	100,41	TB = 100,52% RSD = 0,92%
	101,49	
	99,66	
120%	99,77	TB = 100,80% RSD = 0,88%
	101,42	
	101,19	

Theo yêu cầu về độ hồi phục và RSD tương ứng với nồng độ chất phân tích, tỉ lệ hồi phục cho phép phương pháp định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương nằm trong khoảng 95 - 105% (hàm lượng trung bình diosmin và quercetin trong vi nhũ tương lần lượt là 0,0047% và 0,0125%) [5]. Vậy, quy trình định lượng đạt yêu cầu về độ đúng.

## V. KẾT LUẬN

Quy trình định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương gồm quy trình xử lý mẫu thử và quy trình HPLC định lượng đồng thời diosmin và quercetin trong vi nhũ tương được xây dựng và thẩm định. Kết quả thẩm định đạt các yêu cầu về tính tương thích hệ thống, tính tuyến tính, độ đặc hiệu. Độ chính xác trung gian ứng với diosmin và quercetin lần lượt là 1,60% và 0,60%. Độ đúng đạt yêu cầu với độ phục hồi của diosmin và quercetin lần lượt trong khoảng 98,47-103,40 % và 99,66 – 101,53%.

**LỜI CẢM ƠN.** Công trình nghiên cứu nhận được kinh phí tài trợ bởi Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Quan Nghiệm, Huỳnh Văn Hóa, Bào chế và sinh dược học tập 2, NXB Giáo dục Việt Nam, 2014.
2. Corsale I, Carrieri P, Martellucci J, Piccolomini A, Verre L, Rigutini M, Panucci S, "Flavonoid mixture (diosmin, troxerutin, rutin, hesperidin, quercetin) in the treatment of I-III degree hemorrhoidal disease: a double-blind multicenter prospective comparative study", Int J Colorectal Dis, 2018, 33(11), pp. 1595-1600.
3. Freag MS, Elnaggar YS, Abdallah OY, "Development of novel polymer-stabilized diosmin nanosuspensions: in vitro appraisal and ex vivo permeation", Int J Pharm, 2013, 454(1), pp. 462-471.
4. Kitagawa S, Tanaka Y, Tanaka M, Endo K, Yoshii A, "Enhanced skin delivery of quercetin by microemulsion", J Pharm Pharmacol, 2009, 61(7), pp. 855-860.
5. Ludwig Huber, Validation and qualification in analytical laboratories, New York: Informa Healthcare, 2007.

## KẾT QUẢ ĐIỀU TRỊ BỆNH NHÂN KHÔ MẮT MẮC HỘI CHỨNG SJÖGREN NGUYÊN PHÁT

Phạm Ngọc Đông<sup>1,2</sup>, Trần Thị Hương Trà<sup>1</sup>, Đặng Thị Minh Tuệ<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Đánh giá kết quả điều trị khô mắt trên bệnh nhân mắc hội chứng Sjögren nguyên phát. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu tiến cứu, mô tả chùm ca bệnh trên nhóm bệnh nhân khô mắt có OSDI $\geq$ 13, TBUT $\leq$ 10, có xét nghiệm SSA (+) và/hoặc SSB (+). Các chỉ số nghiên cứu: OSDI,

Shirmer I, TBUT, điểm nhuộm kết mạc, điểm nhuộm giác mạc. **Kết quả:** Chúng tôi tiến hành nghiên cứu kết quả điều trị trên 20 bệnh nhân mắc hội chứng Sjögren nguyên phát với 40 mắt cho kết quả: OSDI thay đổi sau 4 tuần (64,7 $\pm$ 14,03; 49,03 $\pm$ 14,16), TBUT thay đổi sau 4 tuần (0,7 $\pm$ 1,16; 1,58 $\pm$ 1,58), điểm bắt màu kết mạc thay đổi sau 2 tuần (10,28 $\pm$ 3,42; 8,53 $\pm$ 2,92), điểm bắt màu giác mạc thay đổi sau 2 tuần (12,5  $\pm$  2,41; 11,15  $\pm$  2,27), Shirmer I không thay đổi trong 8 tuần điều trị. **Kết luận:** Điều trị khô mắt trên bệnh nhân SS còn hạn chế. Với phác đồ phối hợp 3 loại thuốc điều trị khô mắt ( Restasis, Diquas, Cationorm), kết hợp với điều trị toàn thân, các triệu chứng cơ năng và thực thể cải thiện chậm. Sau 8 tuần điều trị, chỉ có 30% số mắt được điều trị cải thiện các triệu chứng cơ năng.

**Từ khóa:** Khô mắt, hội chứng Sjögren

<sup>1</sup>Bệnh viện Mắt Trung ương

<sup>2</sup>Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Phạm Ngọc Đông

Email: dongpn69@gmail.com

Ngày nhận bài: 27.7.2022

Ngày phản biên khoa học: 19.9.2022

Ngày duyệt bài: 27.9.2022