

RESEARCH FOR DETECTING AND QUANTITATION OF PROHIBITED SUBSTANCE THEOPHYLLINE IN SOME COSMETIC MATRICES BY LIQUID CHROMATOGRAPHY

DO THU TRANG^{1,✉}, NGUYEN VAN HA¹

¹National Institute of Drug Quality Control

✉Corresponding author: dothutrangvkn@gmail.com

Received June 23rd, 2023

Accepted August 29th, 2024

ABSTRACT: A reverse-phase liquid chromatography method was developed to detect and assay theophylline in the cream and the lotion. Chromatographic conditions are as follows: The liquid chromatograph is equipped with a 270 nm detector; a 250 x 4.6 mm column that contains 5 μ m packing octadecyl silane, a mixture of methanol and water (25:75) as mobile phase, the flow rate of about 1.0 ml/min, injection volume is 20 μ l, temperature: ambient.

The method was validated about the specificity, linear range, precision, accuracy, range, detection limit, and quantitation limit and validation results proved that this method was suitable for the determination of theophylline in the cream and lotion.

Keywords: Theophylline, Lotion, cream, reverse-phase liquid chromatography(HPLC)

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUI TRÌNH XÁC ĐỊNH CHẤT CẤM THEOPHYLIN CÓ NGUY CƠ TRỘN TRÁI PHÉP TRONG MỘT SỐ NỀN MỸ PHẨM BẰNG PHƯƠNG PHÁP HPLC/DAD

ĐỖ THU TRANG^{1,✉}, NGUYỄN VĂN HÀ¹

¹Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung Ương

✉Tác giả liên hệ: dothutrangvkn@gmail.com

Nhận bài ngày 23 tháng 6 năm 2023

Chấp nhận đăng ngày 29 tháng 8 năm 2024

Tóm tắt: Trong nghiên cứu này, sử dụng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao pha đảo để phát hiện và định lượng Theophyllin trong các mẫu kem và các mẫu lotion. Điều kiện sắc ký như sau: Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao với detector 270 nm, cột sắc ký được nhồi pha tĩnh là octyldecyl silan, kích thước cột 250 x 4,6 mm, 5 μ m, pha động là hỗn hợp methanol-nước (75-25), tốc độ dòng 1ml/phút, thể tích tiêm 20 μ l, nhiệt độ cột ở nhiệt độ phòng.

Phương pháp đã được thẩm định về độ đặc hiệu, khoảng tuyến tính độ đúng, độ lặp lại, giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ). Kết quả đã chứng minh phương pháp hoàn toàn phù hợp để phát hiện và định lượng theophyllin trong các mẫu kem và lotion.

Từ khóa: Theophylline, Lotion, cream, reverse-phase liquid chromatography(HPLC)

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theophyllin thuộc nhóm giãn phế quản có tác dụng làm giãn cơ trơn phế quản, làm giảm co thắt phế quản và kích thích hô hấp. Ngoài ra, theophyllin còn kích thích cơ tim và hệ thần kinh trung ương, làm giảm sức cản ngoại vi và áp lực tĩnh mạch, lợi tiểu [2]. Theophyllin nằm trong danh mục chất có thành phần công thức không được phép sử dụng trong mỹ phẩm của Asean [3]. Trong mỹ phẩm Theophyllin có thể bị trộn trái phép để làm tác nhân chống lão hóa và chống oxy hóa [4].

Hiện nay số lượng phương pháp xác định chất cấm trong mỹ phẩm đã được xây dựng ở Việt Nam còn ít so với danh mục chất cấm ngày càng nhiều của Asean nên việc xây dựng quy trình phát hiện và định lượng các chất cấm sử dụng là một yêu cầu cần và cấp thiết trong việc quản lý chất lượng mỹ phẩm. Để góp phần nâng cao năng lực kiểm tra chất lượng mỹ phẩm trên thị trường chúng tôi tiến hành nghiên cứu: “Xây dựng quy trình xác định chất cấm theophyllin có nguy cơ trộn trái phép trong mỹ phẩm dạng kem và lotion bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao”.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Thiết bị, dụng cụ, hóa chất, chất chuẩn

2.1.1. Thiết bị, dụng cụ

Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Shimadzu, cân phân tích Mettler có độ chính xác 0,1 mg, các bình định mức, cốc có mỏ, pipet, đĩa thủy tinh, bơm tiêm, lọ đựng mẫu và các dụng cụ thủy tinh có độ chính xác phù hợp. Tất cả các thiết bị và dụng cụ phân tích đã được hiệu chuẩn theo quy định của ISO/IEC 17025 và GLP.

2.1.2. Dung môi, hóa chất

Dung môi, hóa chất: Các hóa chất sử dụng trong kiểm nghiệm là tinh khiết dùng cho phân tích sắc ký gồm: methanol (MeOH), nước RO siêu sạch.

Chất chuẩn: Theophyllin: số kiểm soát 0101105; hàm lượng 99,98 % ; nơi sản xuất : Viện kiểm nghiệm thuốc Trung ương.

2.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đối tượng nghiên cứu

Kem dưỡng da (nền 1) : Evita, Lô SX : 0721, NSX : 02/10/2021 ; Hạn dùng : 02/10/2024, Nơi sản xuất: Công ty Cổ phần Dược phẩm Traphaco..

Lotion Tonique (nền 2), Lô : 151-V, NSX : 12/08/2021, Hạn dùng : 5/2024, Nơi sản xuất : Tây Ban Nha, nhập khẩu và phân phối: Công ty cổ phần SX và XNK Đức Nam.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.2.1. Điều kiện sắc ký

Cột C18 có kích thước (250 mm x 4,6 mm, 5 μ m) với pha động là methanol - nước tỷ lệ (25: 75) sử dụng bước sóng phát hiện ở 270 nm và tốc độ dòng: 1,0 ml/ phút với thể tích tiêm: 20 μ l; dung môi pha mẫu là hỗn hợp methanol-nước (75:25)

2.2.2.2. Phương pháp xử lý mẫu

Chuẩn bị mẫu thử: Cân chính xác 0,5 g chế phẩm vào cốc thủy tinh 50 ml, thêm khoảng 10 ml dung môi pha mẫu dùng đĩa thủy tinh khuấy kỹ, chuyển vào bình định mức 50 ml, tráng rửa cốc bằng 25 ml nước rồi chuyển vào bình định mức trên, lắc siêu âm 10 phút, để nguội đến nhiệt độ phòng, thêm hỗn hợp dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch, lắc đều. Để lạnh 30 phút, ly tâm ở tốc độ 5000 vòng/phút trong 10 phút, lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

Chuẩn bị mẫu chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg chất chuẩn theophyllin vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 30 ml methanol, lắc siêu âm khoảng 2 phút cho tan, làm nguội đến nhiệt độ phòng, vừa đủ đến vạch bằng methanol, lắc đều. Hút chính xác 5 ml dung dịch này vào bình định mức 50 ml, thêm vừa đủ bằng dung môi pha mẫu, lắc đều. Hút chính xác 1 ml dung dịch trên vào bình định mức 20 ml, vừa đủ đến vạch bằng dung môi pha mẫu, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

Chuẩn bị mẫu thử tự tạo: Cân chính xác 0,5 g chế phẩm không chứa theophyllin vào cốc thủy tinh 50 ml, thêm 1 ml dung dịch chuẩn gốc có nồng độ 250 μ g/ml, thêm khoảng 10 ml dung môi pha mẫu dùng đĩa thủy tinh khuấy kỹ, chuyển vào bình định mức 50 ml, tráng rửa cốc bằng 25 ml nước rồi chuyển vào bình định mức trên, lắc siêu âm 10 phút, để nguội đến nhiệt độ phòng, thêm hỗn hợp dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch, lắc đều. Để lạnh 30 phút, ly tâm ở tốc độ 5000 vòng/phút trong 10 phút, lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

2.2.2.3. Yêu cầu tính thích hợp của hệ thống sắc ký

Hệ số kéo đuôi của pic theophyllin lớn hơn 0,8 và nhỏ hơn 2. Số đĩa lý thuyết của pic chuẩn theophyllin phải lớn hơn 2000. Độ lệch chuẩn tương đối của thời gian lưu và diện tích pic 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn lần lượt là $RSD \leq 1\%$ và $RSD \leq 2\%$.

2.2.2.4. Đánh giá kết quả phân tích

Phát hiện dựa vào hai tiêu chí:

- Thời gian lưu: So sánh thời gian lưu của pic thu được từ dung dịch thử tự tạo và pic thu được từ các dung dịch chuẩn theophyllin.

- Phổ UV-VIS: Chồng phổ UV-VIS của pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn: 2 phổ phải tương ứng với nhau (đánh giá bằng hệ số tương đồng phổ $\geq 0,98$).

Định lượng: Dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử với diện tích pic thu được từ dung dịch chuẩn, lượng cân mẫu chuẩn, mẫu thử, hàm lượng chất chuẩn để tính ra lượng theophyllin có trong mẫu thử.

2.2.3. Thẩm định phương pháp

Phương pháp được thẩm định các tiêu chí theo tài liệu hướng dẫn của Asean, ICH và USP [5], [6] bao gồm: Tính thích hợp của hệ thống, độ đặc hiệu, độ tuyến tính, độ đúng, độ chính xác, khoảng xác định, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Xây dựng qui trình phân tích

Chúng tôi tiến hành khảo sát trên các cột khác nhau C8 và C18 (250 x 4,5; 5µm). Kết quả thực nghiệm cho thấy: khi tiêm dung dịch chuẩn theophyllin nồng độ khoảng 5µg/ml vào hệ thống sắc ký với tỷ lệ pha động methanol - nước (25:75) thì cột C8 cho pic theophyllin có thời gian lưu khoảng 4 phút, cột C18 cho pic theophyllin có thời gian lưu khoảng 8 phút. Mẫu mỹ phẩm thường có nền phức tạp vì vậy để tách được theophyllin ra khỏi nền mẫu thì cần lựa chọn cột có thời gian lưu của pic chất cần nghiên cứu không quá ngắn. Vì vậy chúng tôi đã lựa chọn cột C18 cho nghiên cứu này.

Theophyllin là dược chất dễ tan trong nước và methanol nên trong nghiên cứu sử dụng methanol, nước và hỗn hợp methanol - nước với các tỷ lệ khác nhau để làm dung môi pha mẫu. Kết quả nghiên cứu cho thấy khi dùng nước làm dung môi pha mẫu, chế phẩm tạo thành dạng nhũ dịch, dung dịch đục, khó lọc. Dung môi pha mẫu là methanol, kem phân tán đều nhưng pic theophyllin tù đầu, không cân đối. Vì vậy nghiên cứu đã tiến hành pha mẫu bằng hỗn hợp methanol- nước ở các tỷ lệ (90: 10); (80:20) và (75:25). Kết quả cho thấy lựa chọn dung môi pha mẫu là hỗn hợp methanol- nước (75:25) chế phẩm phân tán đều trong dung môi pha mẫu, dung dịch dễ lọc và pic theophyllin cân đối, pic của các thành phần khác được tách hoàn toàn ra khỏi nền mẫu.

3.2. Lựa chọn điều kiện sắc ký

Sau khi lựa chọn được cột C18, chúng tôi tiến hành chạy sắc ký với các tỷ lệ pha động methanol - nước (35 : 65), 25 : 75 và 15 : 85. Kết quả cho thấy tỷ lệ pha động methanol - nước (35:65) pic theophyllin cho thời gian lưu khoảng 5 phút, tỷ lệ pha động methanol - nước (15 : 85)

pic theophyllin ra chậm và không cân đối, tỷ lệ pha động methanol - nước (25 : 75) pic theophyllin cho thời gian lưu khoảng 8,4 phút, pic cân đối. Vì vậy chúng tôi lựa chọn tỷ lệ pha động methanol - nước (25 : 75) cho nghiên cứu này. Pic theophyllin cho cực đại hấp thụ ở bước sóng 271 nm, sau khi tham khảo tài liệu [1] chúng tôi lựa chọn bước sóng phân tích ở 270 nm.

3.4. Thẩm định quy trình phân tích

Theophyllin được trộn trái phép để chống lão hóa và chống oxy hóa nên thường cho vào sản phẩm dạng kem và lotion hay toner dưỡng da. Vì vậy, trong nghiên cứu này sẽ tiến hành thẩm định trên nền mẫu kem và nền mẫu dưới dạng dung dịch là lotion dưỡng da.

3.4.1. Tính thích hợp của hệ thống sắc ký

Tiến hành tiêm lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn được chuẩn bị như trong mục 2.2.2.2 vào hệ thống sắc ký, ghi lại các sắc ký đồ, kết quả tính thích hợp của hệ thống sắc ký được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Tính thích hợp của hệ thống sắc ký

	Chuẩn 1 (mAU.s)	Chuẩn 2 (mAU.s)
Thời gian lưu	8,608	8,612
RSD %	0,17	0,15
Diện tích pic trung bình	361828,2	358756
Hệ số đáp ứng của 2 chuẩn	1,002	
RSD %	0,05	0,07
Hệ số kéo đuôi	1,263	1,248
Số đĩa lý thuyết	3332	3264

Kết quả trong Bảng 1 cho thấy: Độ lặp lại về thời gian lưu, diện tích pic, hệ số kéo đuôi, số đĩa lý thuyết của theophyllin đều đạt yêu cầu. Như vậy phương pháp đưa ra đạt yêu cầu về tính thích hợp hệ thống.

3.4.2. Tính đặc hiệu

Chuẩn bị các dung dịch tiêm sắc ký:

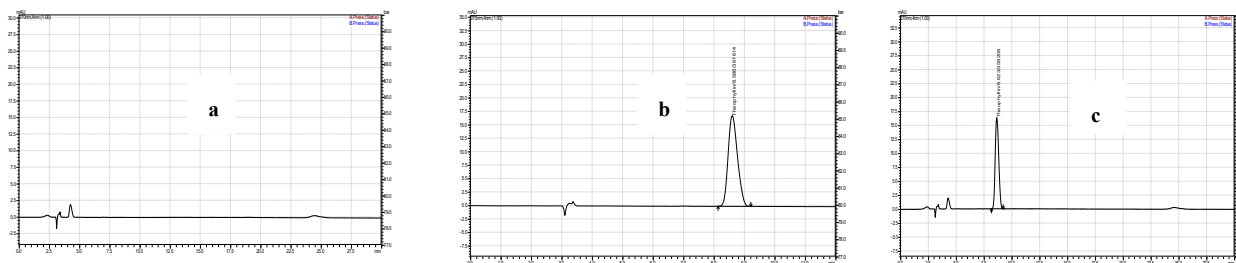
- Dung dịch thử tự tạo, dung dịch chuẩn: Chuẩn bị như ở mục 2.2.2.2

- Dung dịch placebo nền 1- (kem dưỡng da): Cân 0,5021 g mẫu placebo của theophyllin vào cốc thủy tinh 50 ml, xử lý như mục 2.2.2.2.

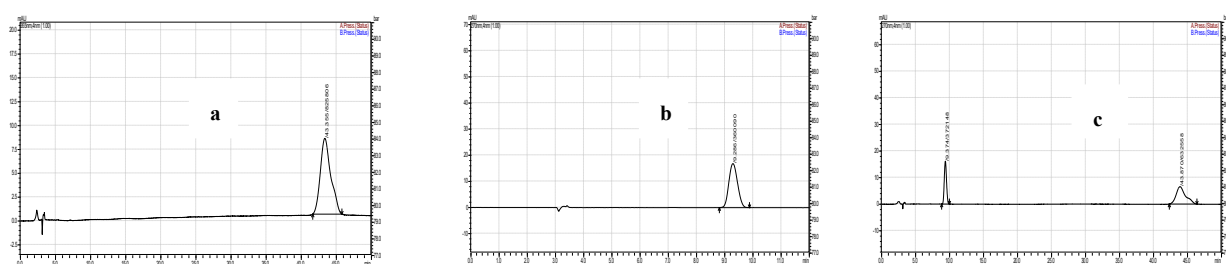
- Dung dịch placebo nền 2- (Lotion Tonique): Cân 0,5032 g mẫu placebo của theophyllin vào cốc thủy tinh 50 ml, xử lý như mục 2.2.2.2.

Kết quả phân tích cho thấy: Trên sắc ký đồ các mẫu placebo không xuất hiện pic ở thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic theophyllin trong dung dịch chuẩn.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử tự tạo cho pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic theophyllin thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn theophyllin ($t_R = 8,6$ phút với nền 1 và $t_R = 9,3$ phút với nền 2), Hình 1, Hình 2.



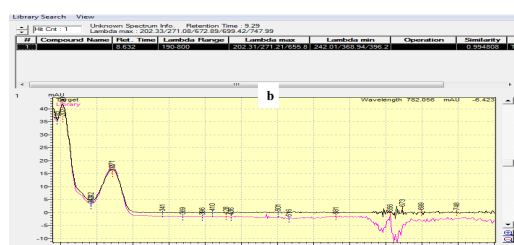
Hình 1. Sắc ký đồ các mẫu nền 1: mẫu placebo (a), mẫu chuẩn (b), mẫu thử tự tạo (c)



Hình 2. Sắc ký đồ các mẫu nền 2: mẫu placebo (a), mẫu chuẩn (b), mẫu thử tự tạo (c)

Phổ UV-VIS của theophyllin trong dung dịch thử tương ứng với phổ theophyllin trong dung dịch chuẩn. Hệ

số tương đồng trên nền 1 và nền 2 lần lượt là 0,9914 và 0,99948 như chỉ ra trong Hình 3.



Hình 3. Hình ảnh phổ UV-VIS của theophyllin trên mẫu thử tự tạo và mẫu chuẩn: a) nền 1; b) nền 2

3.4.3. Độ tuyến tính

Tiến hành pha dung dịch chuẩn gốc trong methanol có nồng độ khoảng 100 $\mu\text{g/ml}$. Từ dung dịch chuẩn gốc pha loãng trong methanol - nước (75:25) thành dãy dung dịch chuẩn có nồng độ theophyllin lần lượt là: 0,4 $\mu\text{g/ml}$ (LOQ); 4,94 $\mu\text{g/ml}$; 7,9 $\mu\text{g/ml}$; 9,88 $\mu\text{g/ml}$ và 19,76 $\mu\text{g/ml}$ (400 % nồng độ định lượng).

Tiến hành chạy sắc ký các dung dịch trên. Xác định phương trình hồi qui tuyến tính, hệ số tương quan tuyến tính giữa nồng độ chất chuẩn theophyllin và đáp ứng pic bằng phương pháp bình phương tối thiểu. Kết quả được thể hiện ở Bảng 2 và Hình 4.

Bảng 2. Kết quả khảo sát độ tuyến tính của Theophyllin

Stt	% so với nồng độ định lượng	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)	Diện tích pic (mAU.s)
1	8 (LOQ)	0,40	29428
2	100	4,94	361767
3	160	7,90	574774
4	200	9,88	718412
5	400	19,76	1436929

Phương trình hồi qui: $y = 72662x + 1252$
 Hệ số tương quan: $r = 0,999998$;
 hệ số chắn $Y = 0,35\%$

Kết quả trong Bảng 2 cho thấy trong khoảng nồng độ từ 0,4 µg/ml đến 19,76 µg/ml có sự tương quan chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic theophylin với hệ số tương quan bằng 0,9999, phần trăm hệ số chẵn tại nồng độ 100 % là 0,35 %, nhỏ hơn 2 %.

3.4.4. Độ chính xác

3.2.4.1. Độ lặp lại

Độ lặp lại của phương pháp được đánh giá dựa trên độ lệch chuẩn tương đối của 6 mẫu thử tự tạo được phân

tích riêng biệt theo qui trình phân tích ở mục 2.2.2.1 và 2.2.2.2.

Kết quả % RSD trên 2 nền lần lượt là 0,15 % và 0,82 %.

3.2.4.2. Độ chính xác trung gian

Độ chính xác trung gian được đánh giá dựa trên độ lệch chuẩn tương đối của 12 mẫu thử tự tạo được phân tích riêng biệt ở 2 ngày khác nhau, trên 2 thiết bị, khác kiểm nghiệm viên. Kết quả trên nền 1 và nền 2 được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả khảo sát độ chính xác của phương pháp trên 2 nền mẫu

Nền	Kết quả trung bình KNV 1	Kết quả trung bình KNV 2	Kết quả trung bình 2 KNV
Nền 1	TB: 99,5 %, RSD: 0,15 %, n = 6	TB: 99,5 %, RSD: 1,11 %, n = 6	TB: 99,3 %, RSD: 0,81 %, n = 12
Nền 2	TB: 101,5 %, RSD: 0,82 %, n = 6	TB: 101,7 %, RSD: 1,39 %, n = 6	TB: 101,6 %, RSD: 1,10 %, n = 12

Kết quả cho thấy phương pháp có độ chính xác cao, độ lặp lại trong ngày trên nền 1 lần lượt là 0,15 % và 1,11 %, trên nền mẫu 2 là 0,85 % và độ lặp lại khác ngày trên nền 1 và nền 2 là 0,81 % và 1,99 %, đều nhỏ hơn 2 %. Như vậy phương pháp xây dựng đạt yêu cầu về độ chính xác.

3.4.5. Độ đúng

Độ đúng của phương pháp được khảo sát bằng cách thêm chuẩn vào nền mẫu placebo xử lý theo qui trình phân tích, nồng độ dung dịch cuối cùng của theophylin đem tiêm sắc ký phải nằm trong khoảng LOQ 200 % so với nồng độ định lượng. Tiến hành ở 3 mức nồng độ khác nhau, mỗi nồng độ thực hiện 3 lần. Kết quả được thể hiện ở Bảng 4.

Bảng 4. Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp trên 2 nền mẫu

Nền	% Thu hồi tại LOQ	% Thu hồi ở nồng độ 100 %	% Thu hồi ở nồng độ 200 %
Nền 1	TB: 102,6 % RSD: 0,48 %	TB: 99,0 % RSD: 0,27 %	TB: 100,8 RSD: 0,14 %
Nền 2	TB: 101,8 % RSD: 0,81 %	TB: 101,2 % RSD: 1,11 %	TB: 99,6 % RSD: 0,77 %

Từ kết quả khảo sát ở Bảng 4 cho thấy phương pháp có tỷ lệ thu hồi cao đạt yêu cầu của AOAC. Vậy phương pháp có độ đúng tốt khi định lượng mẫu ở nồng độ thấp và nền mẫu mỹ phẩm phức tạp. Theo AOAC độ đúng nằm trong khoảng từ 80 - 110 % khi định lượng ở nồng độ thấp.

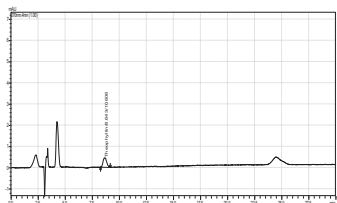
3.4.6. Khoảng xác định

Từ kết quả về khoảng tuyến tính, độ chính xác, độ đúng của phương pháp, khoảng xác định của phương pháp từ: 0,40-9,88 µg/ml với nền 1; 0,40-10,06 µg/ml với nền 2.

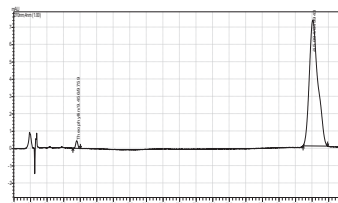
3.4.7. Giới hạn phát hiện

Pha loãng dần dung dịch chuẩn theophylin ở mục

2.2.2.2 đến nồng độ thấp nhất sao cho khi tiêm vào hệ thống sắc ký cho tín hiệu gấp 3 lần so với nhiễu đường nền, thu được dung dịch có nồng độ theophylin 0,12 µg/ml. Cân chính xác khoảng 0,5 g mẫu placebo của nền 1 và nền 2, tiến hành pha mẫu tự tạo theophylin trên nền các mẫu placebo để được các dung dịch mẫu thử tự tạo có nồng độ theophylin là 0,12 µg/ml, tiêm các dung dịch này vào hệ thống sắc ký ở mục 2.2.2.1. Kết quả cho thấy các dung dịch mẫu thử tự tạo cho đáp ứng gấp 3 lần so với nhiễu đường nền. Vậy giới hạn phát hiện của phương pháp là 0,12 µg/ml (tương ứng 12 µg/g). Kết quả thu được thể hiện ở hình 5a, 5b.



Hình 5a. Giới hạn phát hiện trên nền mẫu 1

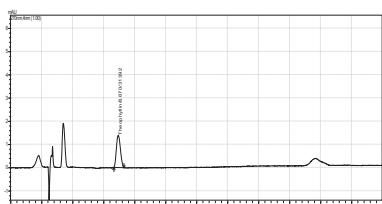


Hình 5b. Giới hạn phát hiện trên nền mẫu 2

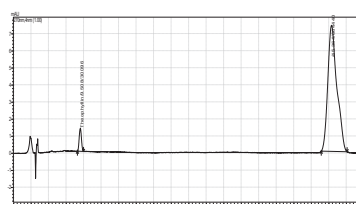
3.4.8. Giới hạn định lượng

Pha loãng dần dung dịch chuẩn theophyllin ở mục 2.2.2.2 đến nồng độ thấp nhất sao cho khi tiêm vào hệ thống sắc ký cho tín hiệu gấp 10 lần so với nhiễu đường nền, thu được dung dịch có nồng độ theophyllin 0,40 µg/ml. Cân chính xác khoảng 0,5 g mẫu placebo của nền 1 và nền 2, tiến hành pha mẫu tự tạo theophyllin trên nền

các mẫu placebo để được các dung dịch mẫu thử tự tạo có nồng độ theophyllin là 0,40 µg/ml, tiêm dung dịch này vào hệ thống sắc ký ở mục 2.2.2.1. Kết quả cho thấy các dung dịch mẫu thử tự tạo cho đáp ứng gấp 10 lần so với nhiễu đường nền. Vậy giới hạn định lượng của phương pháp là 0,4 µg/ml (tương ứng 40 µg/g). Kết quả thu được thể hiện ở hình 6a, 6b.



Hình 6a. Giới hạn định lượng trên nền mẫu 1



Hình 6b. Giới hạn định lượng trên nền mẫu 2

3.5. Áp dụng quy trình để kiểm tra mẫu trên thị trường

Sau khi xây dựng và thẩm định quy trình, chúng tôi tiến hành kiểm tra trên 14 nền mẫu kem dưỡng da, chống oxy hóa; 6 nền mẫu sản phẩm dưỡng da dạng lỏng là toner và lotion. Kết quả cho thấy trên 20 mẫu kiểm tra chưa phát hiện thấy theophyllin trên các sản phẩm.

4. KẾT LUẬN

Đã xây dựng được phương pháp định tính, định lượng theophyllin trên nền mẫu kem và sản phẩm dưỡng da dạng lỏng bằng phương pháp HPLC với detector UV.

Phương pháp định tính, định lượng theophyllin được thẩm định chặt chẽ về tính đặc hiệu, độ chính xác, độ đúng, khoảng xác định, giới hạn định lượng và giới hạn phát hiện. Kết quả thẩm định cho thấy phương pháp xây dựng hoàn toàn phù hợp để định tính, định lượng theophyllin trong kem dưỡng da và các sản phẩm dưỡng da dạng lỏng.

Đã áp dụng quy trình xây dựng được để kiểm tra theophyllin trong 20 mẫu mỹ phẩm kem dưỡng da và sản phẩm dưỡng da dạng lỏng. Kết quả cho thấy chưa phát hiện thấy theophyllin trên các sản phẩm đã kiểm tra.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hội đồng Dược điển Việt Nam (2017), Viên nén Theophyllin, *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
- Hội đồng Dược thư quốc gia Việt Nam (2018), *Dược thư quốc gia Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
- Association of South East Asian nations- ASEAN (2022), Annex II- List of substances which must not form part of the composition of cosmetic products.
- Bertolini M., et. al. (2020), Theophylline exerts complex anti-ageing and anti-cytotoxicity effects in human skin *ex vivo*, *Int J Cosmet Sci*; 42(1), pp. 79-88.
- International Conference on Harmonization (2005), Validation of Analytical Procedure: Text and Methodology Q2(R1).
- The United States Pharmacopeial Convention (2021), *The United States Pharmacopoeia 43 and the national Formulary 38*, The USA.