

# DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A METHOD FOR SIMULTANEOUS QUANTIFICATION OF CHLORHEXIDINE AND THE PRESERVATIVE NIPAZOL IN ORAL RINSE BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

DOAN CAO SON<sup>1,✉</sup>, NGO QUANG MINH<sup>1</sup>, NGUYEN HOANG QUAN<sup>1</sup>,  
CAO NGOC ANH<sup>1</sup>, NGUYEN LAM HONG<sup>2</sup>, VU KHOI NGUYEN<sup>2</sup>,  
NGUYEN TIEN TRUNG<sup>3</sup>

<sup>1</sup>National Institute of Drug Quality Control

<sup>2</sup>Hanoi University of Pharmacy

<sup>3</sup>Hanoi College of Pharmacy

✉ Corresponding author: doancaoson.nidqc@gmail.com

Received October 3<sup>rd</sup>, 2025

Accepted December 15<sup>th</sup>, 2025

**Summary:** This study has developed a method for simultaneous quantification of chlorhexidine and nipazole in oral rinse by reversed-phase HPLC. The method was performed on a C18 column (4.6 mm x 250 mm, 5 μm), using a mobile phase of a mixture of phosphate buffer pH 3.0 – acetonitrile with a gradient program. The injection volume was 50 μL. The UV detector was set at 256 nm. The developed method was validated for the requirements of specificity, system suitability, linearity, accuracy, precision (repeatability and intermediate precision) of both active ingredients and limit of quantification (LOQ) of nipazole according to ICH guidelines-(Q2R2). The validation results indicated that the developed procedure is suitable for the simultaneous quantification of chlorhexidine and nipazole in the oral rinse under study and can be applied in the laboratory.

**Keywords:** Simultaneous quantification, chlorhexidine, nipazole, oral rinse, HPLC.

## XÂY DỰNG VÀ THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI CLORHEXIDIN VÀ CHẤT BẢO QUẢN NIPAZOL TRONG NƯỚC SÚC MIỆNG BẰNG SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

ĐOÀN CAO SON<sup>1,✉</sup>, NGÔ QUANG MINH<sup>1</sup>, NGUYỄN HOÀNG QUÂN<sup>1</sup>,  
CAO NGỌC ANH<sup>1</sup>, NGUYỄN LÂM HỒNG<sup>2</sup>, VŨ KHÔI NGUYỄN<sup>2</sup>,  
NGUYỄN TIẾN TRUNG<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương

<sup>2</sup> Trường Đại học Dược Hà Nội

<sup>3</sup> Trường Cao đẳng Dược Hà Nội

✉ Tác giả liên hệ: doancaoson.nidqc@gmail.com

Nhận bài ngày 03 tháng 10 năm 2025

Chấp nhận đăng ngày 15 tháng 12 năm 2025

**Tóm tắt:** Nghiên cứu đã xây dựng được phương pháp định lượng đồng thời clorhexidin và nipazol trong nước súc miệng bằng HPLC pha đảo. Phương pháp được thực hiện trên cột C18 (4,6 mm x 250 mm, 5  $\mu$ m), sử dụng pha động là hỗn hợp dung môi gồm đệm phosphat pH 3,0 và acetonitril chạy chương trình gradient. Thể tích tiêm là 50  $\mu$ L. Đầu dò UV được đặt ở bước sóng 256 nm. Phương pháp đã xây dựng được thẩm định về độ đặc hiệu, độ thích hợp hệ thống, độ tuyến tính, độ đúng, độ chính xác (độ lặp lại và độ chính xác trung gian) của cả 2 hoạt chất và giới hạn định lượng (LOQ) của nipazol theo hướng dẫn của ICH-(Q2R2). Kết quả thẩm định chỉ ra rằng quy trình đã xây dựng phù hợp để định lượng đồng thời clorhexidin và nipazol trong nước súc miệng nghiên cứu và có thể được áp dụng trong phòng thí nghiệm.

**Từ khóa:** Định lượng đồng thời, clorhexidin, nipazol, nước súc miệng, HPLC.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Clorhexidin là một bisbiguanid kháng khuẩn và khử khuẩn phổ rộng, có hiệu quả trên cả các vi khuẩn Gram dương và Gram âm, nấm men, nấm da và các virus ưa lipid. Clorhexidin thường được sử dụng trong nước súc miệng để phòng ngừa viêm nướu, viêm nha chu, sâu răng [1]. Để đảm bảo độ ổn định và an toàn, công thức thường phối hợp thêm chất bảo quản nipazol. Kiểm soát hàm lượng đồng thời của hai thành phần này có ý nghĩa quan trọng trong đảm bảo chất lượng chế phẩm. Tuy nhiên, Dược điển Việt Nam và các Dược điển tham chiếu chưa có quy trình định lượng đồng thời cho 2 chất này [2 – 7]. Cũng chưa có bài báo về quy trình định lượng đồng thời 2 chất này được công bố.

Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu xây dựng phương pháp định lượng đồng thời clorhexidin và nipazol trong nước súc miệng bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Phương pháp đã được thẩm định theo hướng dẫn hiện hành của ICH và AOAC [9, 10].

## 2. THỰC NGHIỆM

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

#### 2.1.1. Thiết bị, dụng cụ

Các thiết bị, dụng cụ đã được hiệu chuẩn, đáp ứng yêu cầu của ISO/IEC 17025 và GLP, bao gồm: Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Waters kết nối detector PDA; Máy đo pH Excellent Mettler Toledo; Cân phân tích Mettler MS105, độ chính xác 0,01 mg; máy lắc siêu âm, micropipet 200  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L và 5000  $\mu$ L, các dụng cụ thủy tinh chính xác class A.

#### 2.1.2. Hóa chất, chất chuẩn

- Chất chuẩn: clorhexidin hydroclorid ( $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2HCl$ ) hàm lượng: 99,7%, SKS: BCCN, NSX: Sigma-Aldrich; p-cloroanilin hàm lượng 99,7% ( $C_6H_6ClN$ ), SKS: 1-F-13E của CATO Research Chemical Inc. và propyl paraben (nipazol) ( $C_{10}H_{12}O_3$ ), hàm lượng:

100,3%, SKS: C0423138 của Viện Kiểm nghiệm Thuốc Trung ương (VKNTTW).

- Hóa chất, dung môi: triethylamin, acid phosphoric (Scharlau), natri dihydrophosphat (Supelco), acetonitril (HPLC) (J.T.Baker), nước RO (VKNTTW).

### 2.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Mẫu nước súc miệng nghiên cứu chứa clorhexidin gluconat 20% (CL) 2,52 g; nipazol (Nip) 0,06 g và tá dược (gồm: sorbitol, menthol, PEG-40 hydrogenated castor oil, propylen glycol, saccharin, xilitol, tinh dầu bạc hà, ethanol, màu, glycerin, nước) trong vừa đủ 400 mL nước súc miệng.

- Các mẫu placebo được chuẩn bị tương tự mẫu thử nhưng không có chất phân tích: Placebo 1 không có clorhexidin, nipazol, Placebo 2 không có clorhexidin, Placebo 3 không có nipazol.

#### 2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

##### 2.2.2.1. Phương pháp chuẩn bị mẫu

- Dung môi pha mẫu: Dung dịch đệm phosphat pH 3,0 – Acetonitril (70 : 30). Dung dịch đệm phosphat pH 3,0: Hòa tan 27,6 g natri dihydrophosphat vào 1,5 L nước, thêm 10 mL triethylamin, chỉnh pH về 3,0 bằng acid phosphoric, thêm nước vừa đủ 2 L.

- Các dung dịch chuẩn gốc: Pha riêng biệt 03 dung dịch chuẩn gốc, dung dịch chuẩn gốc clorhexidin hydroclorid (0,3 mg/mL), dung dịch chuẩn gốc p-cloroanilin (0,1 mg/mL) và dung dịch chuẩn gốc nipazol (0,75 mg/mL) trong dung môi pha mẫu.

- Dung dịch chuẩn clorhexidin: Pha loãng 10 lần dung dịch chuẩn clorhexidin gốc trong dung môi pha mẫu.

- Dung dịch chuẩn p-cloroanilin: Pha loãng 100 lần dung dịch chuẩn p-cloroanilin gốc trong dung môi pha mẫu.

- Dung dịch chuẩn nipazol: Pha loãng 100 lần dung dịch chuẩn nipazol gốc trong dung môi pha mẫu.

- Dung dịch chuẩn hỗn hợp: Hút chính xác lần lượt 2500 µL dung dịch chuẩn clorhexidin gốc, 250 µL dung dịch chuẩn p-cloroanilin gốc và 250 µL dung dịch chuẩn nipazol gốc vào bình định mức 25 mL, thêm dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch, lắc đều thu được dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ clorhexidin hydroclorid 30 µg/mL, p-cloroanilin 1 µg/mL, nipazol 7,5 µg/mL.

- Dung dịch thử: Hút 1,0 mL chế phẩm vào bình định mức 20 mL, thêm dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch, lắc đều.

- Các dung dịch placebo được chuẩn bị tương tự như dung dịch thử.

Các dung dịch được lọc qua màng lọc 0,45 µm trước khi tiêm vào hệ thống sắc ký.

#### 2.2.2.2. Phương pháp phân tích

Sử dụng sắc ký lỏng pha đảo với cột sắc ký C18 (250 x 4,6 mm; 5µm); pha động là hỗn hợp acetonitril và dung dịch đệm phosphat pH 3,0 ± 0,05.

**Kiểm tra tính thích hợp của hệ thống:** Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn hỗn hợp; yêu cầu độ phân giải giữa pic clorhexidin và p-cloroanilin không nhỏ hơn 3,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic clorhexidin, p-cloroanilin và nipazol từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn hỗn hợp lần lượt không được lớn hơn 0,73%; 5,0% và 2,0%.

Tiêm 50 µL các dung dịch placebo, dung dịch chuẩn hỗn hợp và dung dịch thử vào hệ thống sắc ký. Ghi lại

sắc ký đồ và đáp ứng của các pic chính trong dung dịch chuẩn hỗn hợp và dung dịch thử.

### 3. KẾT QUẢ

#### 3.1. Lựa chọn điều kiện sắc ký

##### 3.1.1. Lựa chọn cột sắc ký

Qua nghiên cứu các tài liệu về định lượng clorhexidin và nipazol, cùng các đặc điểm về tính chất lý hóa và công thức cấu tạo của các chất, với điều kiện hiện có của phòng thí nghiệm, tiến hành khảo sát với cột sắc ký C18 (4,6 x 250 mm, 5 µm).

##### 3.1.2. Lựa chọn pha động, tốc độ dòng

Qua các tài liệu nghiên cứu được kết hợp với sự phổ biến của hóa chất, dung môi hiện có của phòng thí nghiệm, nhóm nghiên cứu lựa chọn pha động gồm acetonitril (ACN) và đệm phosphat pH 3,0 để tiến hành khảo sát ban đầu. Các chương trình pha động đã được khảo sát gồm:

+ Chương trình A: Chương trình định lượng clorhexidin trong chuyên luận “Chlorhexidine Gluconate Oral rinse” Dược điển Mỹ (USP), pha động gồm dung dịch A và acetonitrile theo chương trình gradient.

Dung dịch A: Hòa tan 27,6 g natri phosphat monobasic và 10 mL triethylamine trong 1,5 L nước. Điều chỉnh tới pH 3,0 bằng acid photphoric và pha loãng bằng nước đến 2000 mL. Trộn đều dung dịch thu được với acetonitrile theo tỷ lệ 70 : 30.

Chương trình pha động theo USP được trình bày trong Bảng 1:

**Bảng 1.** Chương trình gradient pha động theo USP

Thời gian (phút)	Tốc độ dòng (mL/phút)	Dung dịch A (% , tt/tt)	Acetonitril (% , tt/tt)
0 – 9	1,5	100	0
10 – 15	1,5	45	55
26 – 21	1,5	100	100

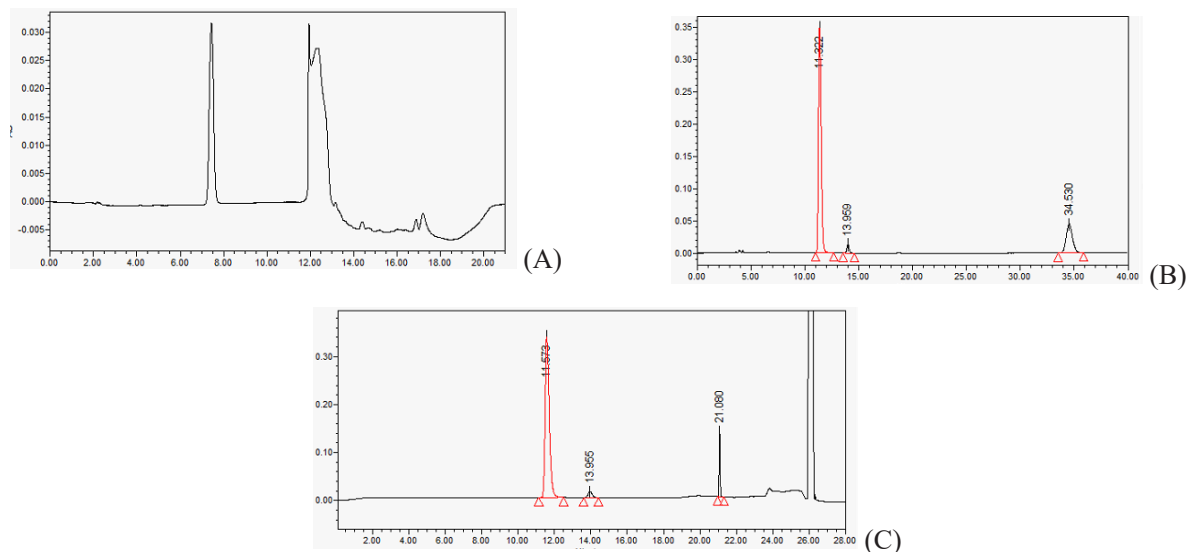
+ Chương trình B: ACN – Đệm phosphat pH 3,0 tỷ lệ 30 : 70; tốc độ dòng 0,8 mL/phút

+ Chương trình C: Dựa trên kết quả chạy theo chương trình A và chương trình B để xây dựng chương trình C, được thể hiện trong Bảng 2:

**Bảng 2.** Chương trình gradient pha động C

Thời gian (phút)	Tốc độ dòng (mL/phút)	Đệm phosphat pH 3,0 (% , tt/tt)	Acetonitril (% , tt/tt)
0 – 16	0,8	70	30
16 – 22	1,5	70 – 20	30 – 80
22 – 28	0,8	70	30

Kết quả thu được thể hiện trong Hình 1, Bảng 3.



**Hình 1.** Các sắc ký đồ khi chạy theo các chương trình pha động khác nhau  
(A) Chương trình pha động A; (B) Chương trình pha động B; (C) Chương trình pha động C

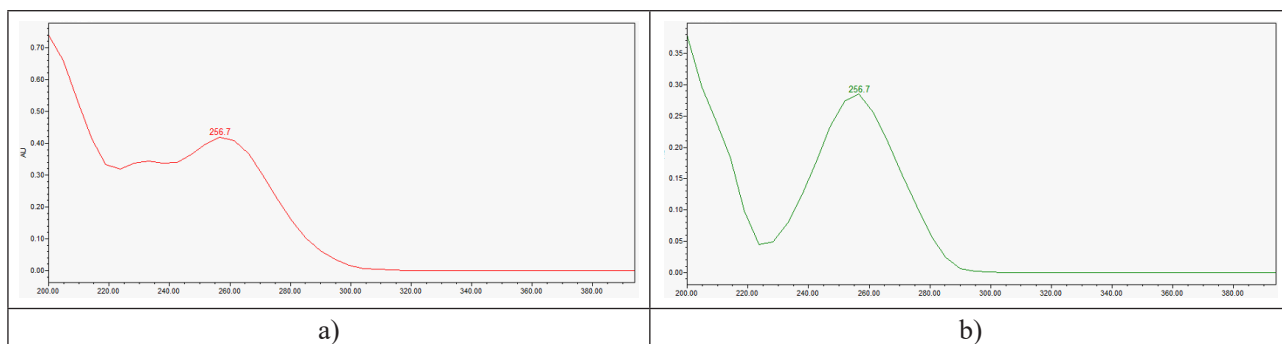
**Bảng 3.** Kết quả khảo sát lựa chọn pha động

Pha động	Hệ số đối xứng			Độ phân giải
	Pic clorhexidin	Pic p-cloroanilin	Pic nipazol	
Chương trình A	1,04	-	-	-
Chương trình B	1,44	1,17	1,12	6,02 & 27,63
Chương trình C	1,44	1,13	1,12	5,85 & 27,73

Kết quả cho thấy, chương trình pha động A (theo USP) với tốc độ dòng 1,5 mL/phút, tỷ lệ ACN – đệm phosphat pH 3,0 ban đầu là 30 : 70 chỉ xuất hiện 1 pic, khi giảm tốc độ dòng xuống 0,8 mL/phút (chương trình B), xuất hiện 2 pic clorhexidin và p-cloroanilin. Do đó, chương trình theo USP pic clorhexidin và p-cloroanilin đã bị gộp thành 1 pic. Tuy nhiên, khi chạy chương trình B, pic nipazol có thời gian lưu dài, nên nhóm nghiên cứu đã tiến hành khảo sát chương trình gradient (C) bằng cách tăng tốc độ dòng lên 1,5 mL/phút sau khi pic p-cloroanilin được rửa giải, đồng thời tăng tỷ lệ ACN – đệm phosphat pH 3,0 thành 80 : 20 theo chương trình gradient tuyến tính, kết quả thu được pic nipazol có thời gian lưu ngắn hơn, pic gọn hơn. Do đó, chương trình gradient (C) được lựa chọn để tiếp tục khảo sát và thẩm định.

### 3.1.3. Lựa chọn bước sóng phát hiện

Thực hiện quét phổ UV mẫu chuẩn đơn của hai chất ở dải bước sóng 200 – 400 nm. Kết quả được thể hiện trên Hình 2.



**Hình 2.** Phổ UV của dung dịch chuẩn clorhexidin (a) và nipazol (b)

Kết quả cho thấy clorhexidin và nipazol có cực đại hấp thụ tại bước sóng khoảng 256 nm. Do đó nhóm nghiên cứu chọn bước sóng 256 nm là bước sóng để xây dựng phương pháp định lượng đồng thời clorhexidin và nipazol.

Sau khi khảo sát và đánh giá các chương trình, chúng tôi lựa chọn chương trình phân tích sau:

Điều kiện sắc ký:

- Cột sắc ký Phenomenex C<sub>18</sub> (4,6 mm x 250 mm, 5 µm); Nhiệt độ cột: 40°C

- Pha động: Acetonitril - đệm phosphat pH 3,0 chạy chương trình gradient như mục 3.1.2

- Bước sóng: 256 nm. Thể tích tiêm: 50 µL

### 3.2. Thẩm định phương pháp phân tích

Theo hướng dẫn của ICH và AOAC, phương pháp phân tích cần được thẩm định các chỉ tiêu: Độ đặc hiệu, độ thích hợp hệ thống, độ tuyến tính, độ chính xác, độ đúng và khoảng xác định trên cả 2 chất và LOQ với nipazol.

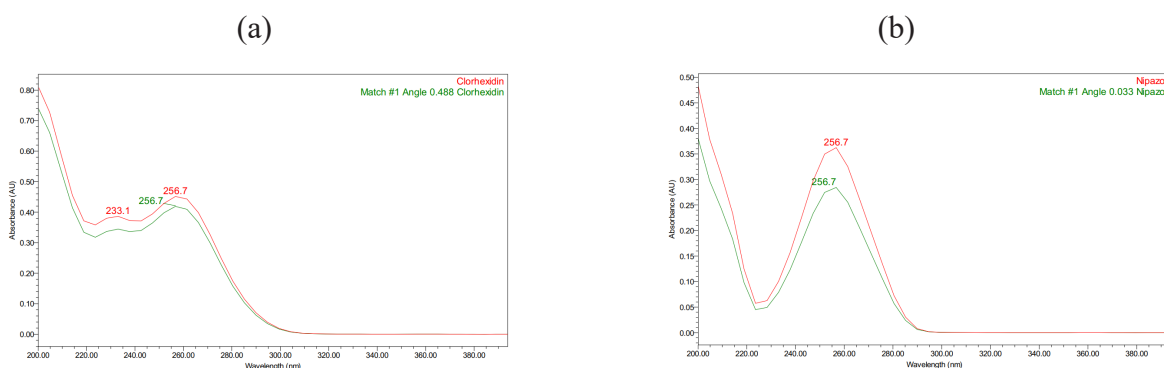
#### 3.2.1. Độ đặc hiệu

Tiến hành tiêm vào hệ thống sắc ký lần lượt các dung dịch placebo; dung dịch thử và dung dịch chuẩn hỗn hợp. Kết quả được trình bày trong Bảng 4.

**Bảng 4.** Kết quả đánh giá độ đặc hiệu dung dịch placebo, chuẩn, thử

Sắc ký đồ	Lượng	Thời gian lưu (t <sub>R</sub> ) của pic clorhexidin (phút)	Thời gian lưu (t <sub>R</sub> ) của pic nipazol (phút)	Ảnh hưởng của placebo
Chuẩn hỗn hợp 1.1 Clorhexidin Nipazol p-cloroanilin	15,78 mg 13,52 mg 10,03 mg	11,553	21,082	
Thử 1	1 mL	11,549	21,087	
Placebo 1	1 mL	Không có	Không có	Không ảnh hưởng
Placebo 2	1 mL	Không có	21,059	Không ảnh hưởng
Placebo 3	1 mL	11,564	Không có	Không ảnh hưởng

So sánh phổ dung dịch thử trên với phổ các chuẩn clorhexidin, nipazol thu được kết quả như Hình 3:



**Hình 3.** Chồng phổ định tính clorhexidin (a) với hệ số Match Angle = 0,488 và Match Threshold = 1,010, nipazol (b) với hệ số Match Angle = 0,033 và Match Threshold = 1,066

Kết quả cho thấy phương pháp có tính đặc hiệu để định tính và định lượng đồng thời clorhexidin và nipazol trong chế phẩm.

#### 3.2.2. Độ thích hợp hệ thống

Tiêm lặp lại 06 lần chuẩn hỗn hợp chứa clorhexidin hydroclorid (30 µg/mL), p-cloroanilin (khoảng 1 µg/mL) và nipazol (7,5 µg/mL) vào hệ thống sắc ký theo chương trình đã được lựa chọn ở trên. Kết quả đánh giá độ thích hợp của hệ thống được trình bày ở Bảng 5:

**Bảng 5. Kết quả đánh giá độ thích hợp hệ thống**

STT	Pic clorhexidin		Pic p-cloroanilin		Độ phân giải*	Pic nipazol	
	t <sub>R</sub> (phút)	Diện tích (μAU.s)	t <sub>R</sub> (phút)	Diện tích (μAU.s)		t <sub>R</sub> (phút)	Diện tích (μAU.s)
Trung bình	11,581	6506465,8	13,957	81398,0	5,84	21,084	1105723,5
RSD (%)	0,05	0,07	0,02	0,76		0,01	0,11

Hệ thống thích hợp để định lượng đồng thời clorhexidin và nipazol.

**3.2.3. Độ tuyến tính**

Từ các dung dịch chuẩn gốc clorhexidin hydroclorid (0,3 mg/mL) và nipazol (0,75 mg/mL), pha loãng bằng dung môi pha mẫu để thu được 05 dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ clorhexidin chính xác khoảng 15, 24,

30, 36 và 45 μg/mL, tương ứng với 50%, 80%, 100%, 120%, 150% so với nồng độ định lượng, nồng độ nipazol khoảng 0,75 μg/mL, 3,75 μg/mL, 7,5 μg/mL, 11,25 μg/mL, 18,75 μg/mL tương ứng với 10%, 50%, 100%, 150%, 250% so với nồng độ định lượng. Tiến hành sắc ký theo điều kiện phân tích đã chọn. Kết quả được trình bày trong **Bảng 6**.

**Bảng 6. Kết quả đánh giá độ tuyến tính**

Tên hoạt chất	Clorhexidin	Nipazol
Phương trình hồi quy	$y = 212085,48x - 108520,62$	$y = 160821,46x + 12000,55$
Hệ số tương quan	$r = 1,0000 (> 0,998)$	$r = 0,99998 (> 0,998)$
% Hệ số chặn	1,66	1,08

Kết quả cho thấy có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa diện tích pic và nồng độ từng chất phân tích trong khoảng nồng độ khảo sát với hệ số tương quan  $r > 0,998$ .

**3.2.4. Độ lặp lại và độ chính xác trung gian**

Chuẩn bị mẫu chuẩn và mẫu thử theo quy trình phân tích, tiến hành 2 ngày khác nhau, mỗi ngày tiến hành định lượng trên 06 thử độc lập. Kết quả được trình bày trong **Bảng 7**.

**Bảng 7. Kết quả đánh giá độ lặp lại và độ chính xác trung gian**

Tên hợp chất	Độ lặp lại (n = 6)		Độ chính xác trung gian (n = 12)	
	Hàm lượng so với nhãn (%)	RSD	Hàm lượng so với nhãn (%)	RSD
Clorhexidin	94,83	0,68% (< 2%)	94,65	0,60% (< 3%)
Nipazol	107,08	0,50% (< 2%)	106,96	0,38% (< 3%)

Kết quả cho thấy phương pháp có độ lặp lại, độ chính xác trung gian tốt với cả 2 hoạt chất (RSD của hàm lượng các chất trong mẫu không lớn hơn các giá trị tham chiếu theo hướng dẫn của AOAC) [10].

**3.2.5. Giới hạn định lượng (LOQ) của nipazol**

Pha loãng dần dung dịch chuẩn nipazol gốc bằng dung dịch placebo 3 (không có nipazol), tiến hành sắc ký để tìm giới hạn định lượng (LOQ) mà tại nồng độ đó, pic nipazol có giá trị S/N ~ 10.

Khi pha loãng đến nồng độ khoảng 0,75 μg/mL, pic nipazol thu được có giá trị S/N khoảng 10, do đó, có thể coi LOQ = 0,75 μg/mL. Tiêm lặp lại 6 lần dung dịch này, kết quả độ lặp lại tại LOQ của nipazol được trình bày trong **Bảng 8**.

**Bảng 8. Kết quả độ lặp lại tại LOQ của nipazol**

STT	Diện tích pic nipazol
1	60206
2	61544
3	60837
4	55099
5	55398
6	55641
<b>Trung bình</b>	<b>58120,83</b>
<b>RSD (%) (n = 6)</b>	<b>5,23</b>

RSD của diện tích pic là  $5,23\% \leq 7,3\%$ .

Giới hạn định lượng (LOQ) của nipazol là nồng độ 0,75 μg/mL tương đương 10% nồng độ định lượng.



**3.2.6. Độ đúng**

Chuẩn bị các mẫu tự tạo bằng cách thêm chính xác thể tích dung dịch chuẩn gốc của chất cần phân tích vào các bình định mức 20 mL chứa 1,0 mL mẫu placebo, thêm dung môi vừa đủ, lắc đều. Ở mỗi mức nồng độ chuẩn bị

03 mẫu độc lập.

Tiến hành xử lý mẫu và sắc ký theo các điều kiện đã chọn. Tính lượng thu hồi của các chất phân tích. Kết quả được trình bày trong Bảng 9.

**Bảng 9. Kết quả đánh giá độ đúng của phương pháp**

<b>Độ đúng trong định lượng clorhexidin</b>							
TT	Mức nồng độ	Lượng chuẩn thêm vào* (µg)	Diện tích pic (µAU.s)	Lượng tìm lại (µg)	Độ thu hồi (%)	Trung bình (%)	RSD (%)
1	80%	624,89	5293616	635,51	101,70	100,82	1,12
2	80%	648,65	5378819	645,73	99,55		
3	80%	625,28	5271539	632,86	101,21		
<i>Yêu cầu</i>						90 - 107	≤ 5,3
1	100%	781,11	6533778	784,39	100,42	100,09	0,38
2	100%	810,81	6767053	812,39	100,20		
3	100%	781,61	6489080	779,02	99,67		
<i>Yêu cầu</i>						90 - 107	≤ 5,3
1	120%	937,33	7821993	939,04	100,18	99,01	1,16
2	120%	972,97	7933080	952,38	97,88		
3	120%	937,93	7731532	928,18	98,96		
<i>Yêu cầu</i>						90 - 107	≤ 5,3
<b>Độ đúng trong định lượng nipazol</b>							
TT	Mức nồng độ	Lượng chuẩn thêm vào * (µg)	Diện tích pic (µAU.s)	Lượng tìm lại (µg)	Độ thu hồi (%)	Trung bình (%)	RSD (%)
1	LOQ	16,90	115014	17,63	104,33	105,15	1,18
2	LOQ	16,89	115163	17,65	104,54		
3	LOQ	16,99	118100	18,10	106,58		
<i>Yêu cầu</i>						80 - 110	≤ 7,3
1	50%	84,50	573087	87,85	103,97	102,14	1,62
2	50%	84,44	554883	85,06	100,74		
3	50%	84,94	563560	86,39	101,71		
<i>Yêu cầu</i>						90 - 107	≤ 5,3
1	100%	169,00	1113877	170,76	101,04	100,49	0,48
2	100%	168,88	1104172	169,27	100,23		
3	100%	169,88	1110249	170,20	100,19		
<i>Yêu cầu</i>						90 - 107	≤ 5,3
1	150%	253,50	1693766	259,65	102,43	102,01	3,05
2	150%	253,31	1733034	265,67	104,88		
3	150%	254,81	1640746	251,53	98,71		
<i>Yêu cầu</i>						90 - 107	≤ 5,3

\* Lượng chuẩn thêm vào được tính toán từ lượng cân chuẩn, hàm lượng chuẩn và thể tích hút dung dịch chuẩn gốc thêm vào mẫu placebo

Kết quả ở trên cho thấy, phương pháp đạt yêu cầu về độ đúng với phần trăm tỷ lệ thu hồi, RSD ở mỗi mức nồng độ đều nằm trong khoảng yêu cầu AOAC [10]. Do đó, đảm bảo cho việc định lượng clorhexidin và nipazol trong chế phẩm.

### 3.2.7. Khoảng xác định

Từ kết quả khảo sát độ tuyến tính và độ đúng, suy ra khoảng xác định của quy trình định lượng đã xây dựng là từ 24 – 36 µg/mL clorhexidin và 0,75 – 11,25 µg/mL nipazol.

## 4. BÀN LUẬN

Ở Việt Nam cũng như thế giới chưa có công bố về quy trình định lượng đồng thời clorhexidin và nipazol, mà chỉ có các quy trình định lượng riêng clorhexidin trong một số dược điển [3 – 7], quy trình định lượng các paraben [8]. Tuy nhiên, các quy trình công bố còn chưa thực sự phù hợp với nhu cầu phân tích mẫu (nền mẫu khác, mẫu chỉ có 1 thành phần), điều kiện đặc biệt. Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành khảo sát để xây dựng phương pháp phù hợp với

mẫu phân tích và điều kiện phòng thí nghiệm. Trong quy trình này, chúng tôi đã điều chỉnh tỷ lệ pha động, tốc độ dòng, bước sóng phát hiện để đạt được kết quả phân tích tốt nhất. Quy trình xử lý mẫu, điều kiện sắc ký đơn giản nhưng có khả năng phân tích hiệu quả với độ phân giải của các pic trên 3, thời gian phân tích phù hợp (28 phút/mũi tiêm, rút ngắn 12 phút/mũi so với thời gian cần thiết nếu chạy theo phương pháp tham khảo), độ tuyến tính cao, độ đúng và độ lặp tốt.

## 5. KẾT LUẬN

Qua thực nghiệm, chúng tôi đã xây dựng được phương pháp định lượng đồng thời clorhexidin và nipazol trong dung dịch xúc miệng bằng phương pháp HPLC với điều kiện sắc ký đơn giản có thể áp dụng rộng rãi ở các phòng thí nghiệm có máy HPLC. Phương pháp được thẩm định đạt yêu cầu theo hướng dẫn của ICH [9] và AOAC [10], có độ chính xác cao, độ đúng tốt, khoảng tuyến tính rộng để có thể phân tích đồng thời clorhexidin và nipazol trong các chế phẩm nước súc miệng đang lưu hành trên thị trường.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trung tâm Dược điển – Dược thư (2022), *Dược thư Quốc gia Việt Nam, Tập 1*, trang 491 – 492.
2. Bộ Y tế (2018), *Dược Điển Việt Nam V*, NXB Y học.
3. European Pharmacopoeia Commission (2022), *European Pharmacopoeia 11*.
4. United States Pharmacopoeial Convention (2025), *The United States Pharmacopoeia 2025*.
5. Council of Europe, *British Pharmacopoeia 2024*.
6. World Health Organization (2022), *Pharmacopoeia Internationalis 11th Edition*.
7. Japan Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (2021), *Japanese Pharmacopoeia 18*.
8. Nguyễn Thị Minh Đức, Nguyễn Huỳnh Kim Ngân, Nguyễn Thị Ngọc Vân (2019), “Xây dựng quy trình định lượng đồng thời chín paraben trong mỹ phẩm bằng phương pháp UPLC – đầu dò UV-VIS”, *Tạp chí dược học*, Tập 59, số 8 (2019) trang 76 - 80.
9. ICH (2023), *Q2R2 Validation of Analytical Procedures*.
10. AOAC (2016), *Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements*.