

**XÂY DỰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ KHÍ ĐỂ ĐỊNH LƯỢNG
ĐỒNG THỜI MENTHOL, CAMPHOR, METHYL SALICYLATE
TRONG KEM COBRATOFOR**

Đàm Huy Hoàng^{1*}, Bùi Việt Cường¹, Nguyễn Duy Chí², Đào Hồng Loan²

Tóm tắt

Mục tiêu: Xây dựng được phương pháp sắc ký khí kết nối detector ion hoá ngọn lửa (GC-FID) để định lượng đồng thời menthol (MEN), camphor (CAM), methyl salicylate (MET) trong thuốc kem Cobratofor. **Phương pháp nghiên cứu:** Khảo sát lựa chọn điều kiện sắc ký dựa vào tài liệu tham khảo. Thăm định phương pháp phân tích theo hướng dẫn chung của ICH. **Kết quả:** Đã lựa chọn được điều kiện sắc ký với cột HP5 (0,32mm x 30m x 0,25 μ m); khí mang nitơ ở tốc độ dòng 1,1 mL/phút; nhiệt độ buồng tiêm là 250°C; nhiệt độ FID là 270°C; thể tích tiêm là 1 μ L; tỷ lệ chia dòng là 10:1; chương trình làm nóng lò: Nhiệt độ cột ban đầu duy trì ở 100°C trong 3 phút, tăng 5°C/phút đến 150°C, sau đó tăng 25°C/phút đến 250°C và duy trì nhiệt độ này trong 3 phút. Kết quả thăm định cho thấy đối với cả ba chất thành phần nghiên cứu, phương pháp có độ đặc hiệu cao; độ tuyến tính tốt với hệ số tương quan cao ($R^2 > 0,999$); độ đúng cao với % tìm lại đều nằm trong khoảng 98,0 - 102,0%; độ lặp lại tốt với độ lệch chuẩn tương đối (relative standard deviation - RSD) < 1,0% ; giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng lần lượt nằm trong khoảng 0,48 - 3,84 μ g/mL và 1,58 - 12,67 μ g/mL. **Kết luận:** Đã xây dựng và thăm định được phương pháp GC-FID để định lượng đồng thời MEN, CAM, MET trong thuốc kem Cobratofor. Phương pháp phân tích này đã đáp ứng đầy đủ các yêu cầu thăm định theo hướng dẫn của ICH.

Từ khoá: Menthol; Camphor; Methyl salicylate; GC-FID.

¹Trung tâm Nuôi trồng Nghiên cứu Chế biến Dược liệu, Cục Hậu cần, Quân khu 9

²Viện Kiểm nghiệm, Nghiên cứu Dược và Trang Thiết bị Y tế Quân đội

*Tác giả liên hệ: Đàm Huy Hoàng (damhuyhoang121@gmail.com)

Ngày nhận bài: 10/9/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 15/11/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v50i1.1014>

DEVELOPMENT OF THE GAS CHROMATOGRAPHY METHOD FOR THE SIMULTANEOUS QUANTIFICATION OF MENTHOL, CAMPHOR, AND METHYL SALICYLATE IN COBRATOFOR CREAM

Abstract

Objectives: To develop the gas chromatography (GC-FID) method for the simultaneous quantification of menthol (MEN), camphor (CAM), and methyl salicylate (MET) in Cobratofor cream. **Methods:** Chromatographic conditions were selected based on references. The analytical method was validated according to ICH guidelines. **Results:** Chromatographic conditions were chosen, including HP5 column (0.32mm x 30m x 0.25 μ m); nitrogen carrier gas with a flow rate of 1.1 mL/minute; inlet temperature of 250°C; FID temperature of 270°C; injection volume of 1 μ L; a split ratio of 10:1; for a program of the heating oven, the initial temperature was 100°C and maintained for 3 minutes, raised to 150°C at a rate 5°C/minute, then to 250°C at a rate 25°C/minute and maintained for 3 minutes. Validation results showed that, for the target components, the method had high specificity; good linearity with high correlation coefficient ($R^2 > 0.999$); high accuracy with a recovery rate in the range of 98.0 - 102.0%; good repeatability with RSD < 1.0%; limits of detection and limits of quantitation were in ranges of 0.48 - 3.84 μ g/mL and 1.58 - 12.67 μ g/mL, respectively. **Conclusion:** The GC-FID method for simultaneous quantification of MEN, CAM, and MET in the Cobratofor cream has been developed and validated. This analytic method met all validation requirements according to ICH guidelines.

Keywords: Menthol; Camphor; Methyl salicylate; GC-FID.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Trung tâm Nuôi trồng Nghiên cứu Chế biến Dược liệu, Cục Hậu cần, Quân khu 9 là đơn vị hàng đầu của Quân đội và cả nước về nuôi và khai thác nọc rắn hổ mang làm nguyên liệu sản xuất thuốc. Từ nguồn nọc rắn hổ mang sản xuất được, Trung tâm tiến hành nghiên cứu bào chế kem bôi da Cobratofor chứa nọc rắn hổ mang,

MET, MEN, CAM, tinh dầu bạc hà, tinh dầu quế. Trong đó, việc xây dựng được phương pháp định lượng các hoạt chất là cần thiết để kiểm soát chất lượng của chế phẩm trong quá trình nghiên cứu phát triển sản phẩm. Hiện nay, Dược điển Việt Nam và Dược điển các nước chưa có chuyên luận định lượng đồng thời MEN, CAM, MET. Mặc dù trên thế giới đã có một

số nghiên cứu về định lượng đồng thời ba chất này nhưng chưa phù hợp với điều kiện thực tế ở trong nước về cột chạy sắc ký và chương trình chạy sắc ký [1, 3, 4]. Do vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm: *Xây dựng phương pháp GC-FID để định lượng đồng thời MEN, CAM, MET trong kem Cobratofor để chủ động trong công tác xây dựng tiêu chuẩn và kiểm soát chất lượng của sản phẩm.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Chất chuẩn do Viện Kiểm nghiệm Thuốc Trung ương cung cấp gồm: MET (SKS: C0219324.02, hàm lượng: 98,5%); CAM (SKS: C0220326.02, hàm lượng: 96,5%); MEN (SKS: C0221325, hàm lượng: 98,8%). Hoá chất và dung môi: n-hexan PA (Merck), biphenyl (Số lô: S6295090622; Merck). Kem bôi da Cobratofor do Trung tâm Nuôi trồng Nghiên cứu Chế biến Dược liệu sản xuất (Số lô: TN0123), thành phần gồm: Nọc rắn hổ mang 0,5mg, MET 2,4g, MEN 0,6g, CAM 0,2g, tinh dầu quế 0,2g, tinh dầu bạc hà 0,2g, tá dược vừa đủ 20g.

Thiết bị và dụng cụ: Máy sắc ký khí GC-6890N (Agilent, Mỹ), cân phân tích AB 265S độ chính xác 0,1mg (Mettler -Toledo, Thụy Sĩ), các dụng cụ khác đạt tiêu chuẩn phân tích.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Chuẩn bị mẫu:*

Dung dịch chuẩn nội: Cân chính xác khoảng 250mg biphenyl vào bình định mức 100mL, thêm 50mL n-hexan, lắc siêu âm trong 10 phút, để nguội, thêm n-hexan vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn gốc CAM: Cân chính xác khoảng 20mg chuẩn CAM vào bình định mức 50mL, thêm 20mL n-hexan, lắc siêu âm trong 10 phút, để nguội, thêm n-hexan vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn gốc MEN: Cân chính xác khoảng 60mg chuẩn MEN vào bình định mức 50mL, thêm 20mL n-hexan, lắc siêu âm trong 10 phút, để nguội, thêm n-hexan vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn gốc MET: Cân chính xác khoảng 120mg chuẩn MET vào bình định mức 25mL, thêm 15mL n-hexan, lắc siêu âm trong 10 phút, để nguội, thêm n-hexan vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn hỗn hợp: Hút chính xác 4,0mL dung dịch chuẩn gốc CAM + 4,0mL dung dịch chuẩn gốc MEN + 4,0mL dung dịch chuẩn gốc MET + 2,0mL dung dịch chuẩn nội vào bình định mức 20mL, thêm n-hexan vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc dung dịch qua màng lọc 0,45µm.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,4g chế phẩm vào bình định

mức 50mL, thêm 20mL n-hexan, lắc siêu âm trong 10 phút, để nguội, thêm chính xác 5,0mL dung dịch chuẩn nội, thêm n-hexan vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc dung dịch qua màng lọc 0,45µm.

Dung dịch placebo: Cân chính xác khoảng 0,4g placebo (không chứa CAM, MEN, MET) vào bình định mức 50mL, thêm 20mL n-hexan, lắc siêu âm trong 10 phút, để nguội, thêm chính xác 5,0mL dung dịch chuẩn nội, thêm n-hexan vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc dung dịch qua màng lọc 0,45µm

* *Lựa chọn điều kiện sắc ký:* Trên cơ sở tham khảo tài liệu để lựa chọn điều kiện sắc ký gồm: Cột, tốc độ khí mang, nhiệt độ buồng tiêm, tỷ lệ chia dòng, detektor ion hóa ngọn lửa và nhiệt độ lò.

* *Thẩm định phương pháp định lượng:* Phương pháp định lượng được thẩm định theo hướng dẫn của ICH dựa trên các chỉ tiêu: Độ đặc hiệu, độ tương thích hệ thống, độ tuyến tính, độ đúng, độ lặp lại, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp [5].

Công thức tính: Hàm lượng % (kl/kl) của MEN (hoặc CAM, MET) trong chế phẩm được tính theo công thức:

$$X (\% \text{ kl/kl}) = \frac{F_t \times m_c \times HL_c \% \times d_t}{F_c \times m_t \times d_c} \times 100$$

Trong đó: F_t , F_c : Tỷ số diện tích giữa pic MEN (hoặc CAM, MET) so

với pic chuẩn nội biphenyl trên sắc ký đồ của dung dịch thử và trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn tương ứng; m_c , m_t : Khối lượng cân chuẩn và khối lượng cân thử (mg); HL_c : Hàm lượng chất chuẩn (%); d_c , d_t : Độ pha loãng dung dịch chuẩn và độ pha loãng dung dịch thử.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ các quy định hiện hành. Số liệu được Trung tâm Nuôi trồng Nghiên cứu Chế biến Dược liệu, Cục Hậu cần, Quân khu 9 cho phép sử dụng và công bố. Nhóm tác giả cam kết không có bất kỳ xung đột lợi ích cá nhân hay tập thể nào liên quan đến nội dung bài báo và hoàn toàn chịu trách nhiệm về những vấn đề xung đột lợi ích trong nghiên cứu (nếu có).

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Kết quả lựa chọn điều kiện sắc ký

Từ tài liệu tham khảo [2, 3, 4], lựa chọn điều kiện sắc ký sau: Cột: HP-5 (0,32mm x 30m x 0,25µm); khí mang N_2 , tốc độ 1,1 mL/phút; buồng tiêm: 250°C, chia dòng 10:1; detektor ion hóa ngọn lửa: 270°C; nhiệt độ lò theo chương trình: Ban đầu duy trì ở 100°C trong 3 phút, sau đó tăng 5°C/phút đến 150°C, tăng 25°C/phút đến 250°C và duy trì ở nhiệt độ này trong 3 phút; thể tích tiêm: 1,0µL; thời gian phân tích: 20 phút.

2. Kết quả thẩm định phương pháp định lượng

* *Thẩm định tính tương thích hệ thống:*

Tiêm vào hệ thống sắc ký 6 lần dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ của CAM, MEN, MET lần lượt là 0,08 mg/mL, 0,24 mg/mL và 0,96 mg/mL. Tiến hành phân tích theo điều kiện đã chọn. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả khảo sát tính tương thích của hệ thống.

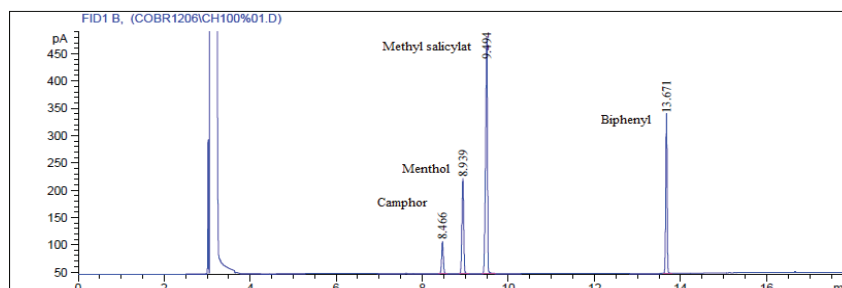
TT	CAM		MEN		MET		Biphenyl		Tỷ số DT của píc chất so với píc biphenyl		
	T _R (phút)	DT píc (pA.s)	T _R (phút)	DT píc (pA.s)	T _R (phút)	DT píc (pA.s)	T _R (phút)	DT píc (pA.s)	CAM	MEN	MET
1	8,466	166,67	8,939	490,55	9,494	1285,17	13,671	642,57	0,2594	0,7634	2,0000
2	8,461	165,90	8,935	486,90	9,49	1278,41	13,670	625,01	0,2654	0,7790	2,0454
3	8,468	167,16	8,941	493,08	9,496	1291,71	13,673	646,57	0,2585	0,7626	1,9978
4	8,471	161,58	8,944	475,76	9,488	1244,52	13,676	615,47	0,2625	0,7730	2,0221
5	8,472	163,19	8,946	480,39	9,501	1258,68	13,677	626,96	0,2603	0,7662	2,0076
6	8,477	165,85	8,950	488,41	9,504	1278,89	13,680	635,06	0,2612	0,7691	2,0138
TB	8,469	165,06	8,943	485,85	9,496	1272,90	13,675	631,94	0,261	0,769	2,014
RSD (%)	0,06	1,33	0,06	1,35	0,07	1,40	0,03	1,85	0,95	0,81	0,87

(DT: Diện tích)

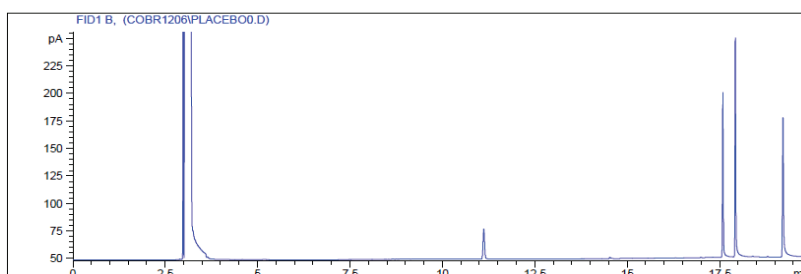
Kết quả bảng 1 cho thấy độ lệch chuẩn tương đối của thời gian lưu và diện tích píc đều < 2%. Píc của 4 chất đều nhọn và tách khỏi nhau hoàn toàn. Như vậy, hệ thống sắc ký có tính tương thích cao và phù hợp để sử dụng phân tích mẫu nghiên cứu.

* *Thẩm định độ đặc hiệu:*

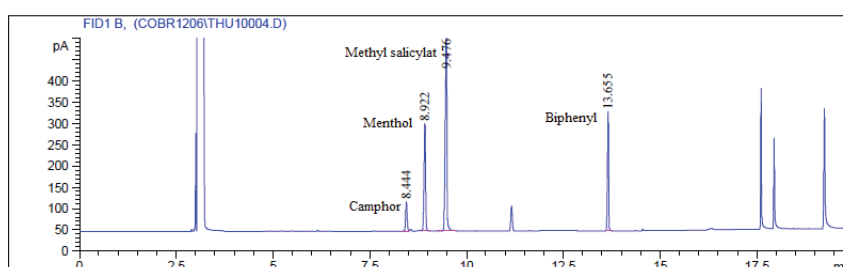
Tiêm vào hệ thống sắc ký mẫu placebo, dung dịch chuẩn và dung dịch thử theo điều kiện sắc ký đã lựa chọn. Kết quả được thể hiện ở hình 1, 2 và 3.



Hình 1. Sắc ký đồ dung dịch chuẩn hỗn hợp.



Hình 2. Sắc ký đồ dung dịch placebo.



Hình 3. Sắc ký đồ dung dịch thử của thuốc kem Cobratofor.

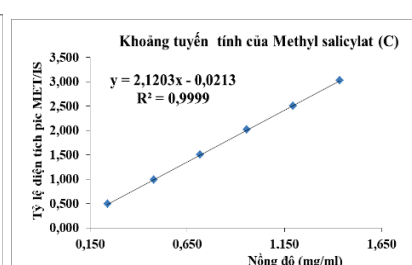
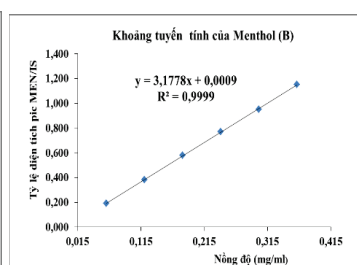
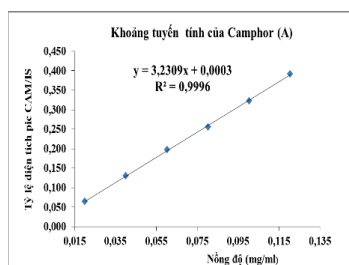
Kết quả trên cho thấy: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử có các pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của các pic CAM (khoảng 8,4 phút), MEN (khoảng 8,9 phút), MET (khoảng 9,4 phút) thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn. Đồng thời, trên sắc ký đồ của dung dịch placebo không xuất hiện các pic tại thời gian lưu tương ứng với các pic CAM, MEN, MET và biphenyl. Như vậy, phương pháp định lượng đảm bảo độ đặc hiệu.

* *Thẩm định khoảng nồng độ tuyến tính:*

Pha một dãy các dung dịch chuẩn hỗn hợp trong n-hexan để được các dung dịch có nồng độ CAM, MEN, MET lần lượt bằng 25%, 50%, 75%, 100%, 125% và 150% so với nồng độ định lượng. Nồng độ của chất chuẩn nội cố định là 0,25 mg/mL. Tiến hành sắc ký theo điều kiện lựa chọn, kết quả được thể hiện ở bảng 2 và hình 4.

Bảng 2. Kết quả xác định khoảng tuyến tính giữa nồng độ và tỷ số diện tích của các pic CAM, MEN, MET với pic chuẩn nội.

Mẫu		1	2	3	4	5	6
Nồng độ (mg/mL)	CAM	0,0201	0,0401	0,0602	0,0803	0,1004	0,1204
	MEN	0,0602	0,1204	0,1807	0,2409	0,3011	0,3613
	MET	0,2391	0,4782	0,7172	0,9563	1,1954	1,4345
Tỷ số diện tích pic	CAM/IS	0,0649	0,1305	0,1973	0,2561	0,323	0,3916
	MEN/IS	0,1916	0,382	0,5787	0,7689	0,9512	1,1516
	MET/IS	0,4882	0,986	1,5041	2,0145	2,4967	3,0282



Hình 4. Đồ thị biểu diễn mối tương quan giữa nồng độ và tỷ số diện tích của pic CAM (A), MEN (B), MET (C) so với pic chuẩn nội biphenyl.

Kết quả trên cho thấy có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa tỷ số diện tích pic của CAM, MEN, MET so với của chuẩn nội biphenyl và nồng độ của các chất trong khoảng nồng độ khảo sát.

** Thẩm định độ đúng:*

Thêm những lượng chuẩn khác nhau vào cùng một nền mẫu (kem Cobratofor có nồng độ khoảng 25% so với nồng độ định lượng). Lượng chuẩn thêm vào là 25%, 75%, 100% để thu được dung dịch tương ứng với 3 mức nồng độ 50%, 100% và 125% so với nồng độ định lượng. Kết quả được thể hiện ở bảng 3, bảng 4 và bảng 5.

Bảng 3. Kết quả xác định độ đúng của phương pháp đối với hợp chất CAM.

	Lượng chuẩn thêm vào (mg)	Tỷ số DT pic CAM/IS ở mẫu nền	Tỷ số DT pic CAM/IS ở mẫu thêm chuẩn	Nồng độ tìm lại (mg/mL)	Lượng chuẩn tìm lại (mg)	% tìm lại
Dung dịch 50%	10,73	0,0742	0,1421	0,0210	10,51	101,52
	11,97	0,0742	0,1502	0,0235	11,76	101,80
	11,09	0,0742	0,1440	0,0216	10,80	100,95
	Trung bình					101,42
	RSD (%)					0,42
Dung dịch 100%	10,73	0,0742	0,2770	0,0628	10,46	101,03
	11,97	0,0742	0,2994	0,0697	11,62	100,59
	11,09	0,0742	0,2799	0,0637	10,61	99,17
	Trung bình					100,26
	RSD (%)					0,97
Dung dịch 125%	10,73	0,0742	0,3459	0,0841	10,51	101,54
	11,97	0,0742	0,3692	0,0913	11,41	98,80
	11,09	0,0742	0,3474	0,0846	10,57	98,79
	Trung bình					99,71
	RSD (%)					1,59

(DT: Diện tích)

Bảng 4. Kết quả xác định độ đúng của phương pháp đối với hợp chất MEN.

	Lượng chuẩn thêm vào (mg)	Tỷ số DT píc MEN/IS ở mẫu nền	Tỷ số DT píc MEN/IS ở mẫu thêm chuẩn	Nồng độ tìm lại (mg/mL)	Lượng chuẩn tìm lại (mg)	% tìm lại
Dung dịch 50%	31,34	0,2757	0,4747	0,0626	31,31	101,12
	34,07	0,2757	0,4917	0,0680	33,98	100,95
	31,75	0,2757	0,4752	0,0628	31,40	100,09
	Trung bình					100,72
	RSD (%)					0,55
Dung dịch 100%	31,34	0,2757	0,8618	0,1844	30,74	99,27
	34,07	0,2757	0,9120	0,2002	33,37	99,15
	31,75	0,2757	0,8707	0,1873	31,21	99,49
	Trung bình					99,30
	RSD (%)					0,17
Dung dịch 125%	31,34	0,2757	1,0637	0,2480	31,00	100,11
	34,07	0,2757	1,1483	0,2746	34,32	101,97
	31,75	0,2757	1,0713	0,2503	31,29	99,76
	Trung bình					100,61
	RSD (%)					1,18

(DT: Diện tích)

Bảng 5. Kết quả xác định độ đúng của phương pháp đối với hợp chất MET.

	Lượng chuẩn thêm vào (mg)	Tỷ số DT píc MET/IS ở mẫu nền	Tỷ số DT píc MET/IS ở mẫu thêm chuẩn	Nồng độ tìm lại (mg/mL)	Lượng chuẩn tìm lại (mg)	% tìm lại
Dung dịch 50%	49,55	0,5650	1,0742	0,2402	48,03	98,41
	48,27	0,5650	1,0632	0,2350	47,00	98,84
	49,75	0,5650	1,0742	0,2402	48,04	98,02
	Trung bình					98,43
	RSD (%)					0,42
Dung dịch 100%	49,55	0,5650	2,1456	0,7454	49,70	101,82
	48,27	0,5650	2,0820	0,7155	47,70	100,32
	49,75	0,5650	2,1537	0,7493	49,95	101,94
	Trung bình					101,36
	RSD (%)					0,89
Dung dịch 125%	49,55	0,5650	2,6550	0,9857	49,29	100,98
	48,27	0,5650	2,6178	0,9682	48,41	101,81
	49,75	0,5650	2,6718	0,9936	49,68	101,38
	Trung bình					101,39
	RSD (%)					0,41

(DT : Diện tích)

Kết quả trên cho thấy phương pháp định lượng có độ đúng cao, % tìm lại của phương pháp đối với định lượng các hợp chất CAM từ 98,79 - 101,54%, MEN từ 99,15 - 101,97% và MET từ 98,02 - 101,81% với giá trị độ lệch chuẩn thấp ($RSD < 2\%$).

** Thẩm định độ lặp lại:*

Tiến hành phân tích sắc ký các mẫu dung dịch chuẩn và dung dịch thử, lặp lại 6 lần riêng biệt. Tính hàm lượng % của CAM, MEN, MET trong mẫu thử và xác định độ lệch chuẩn tương đối của kết quả. Kết quả được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Kết quả thẩm định độ lặp lại của phương pháp.

TT	KL mẫu (mg)	Tỷ số diện tích			Nồng độ (mg/mL)			Hàm lượng (%)		
		CAM/IS	MEN/IS	MET/IS	CAM	MEN	MET	CAM	MEN	MET
1	460,74	0,3064	1,1229	2,3765	0,0942	0,3518	1,1282	1,02	3,82	12,24
2	443,42	0,2960	1,0875	2,2478	0,0910	0,3407	1,0671	1,03	3,84	12,03
3	450,16	0,3057	1,1176	2,3293	0,0940	0,3501	1,1058	1,04	3,89	12,28
4	502,14	0,3390	1,2424	2,5781	0,1042	0,3892	1,2239	1,04	3,88	12,19
5	465,52	0,3123	1,1508	2,4014	0,0960	0,3605	1,1400	1,03	3,87	12,24
6	447,78	0,2992	1,1063	2,3033	0,0920	0,3466	1,0934	1,03	3,87	12,21
Trung bình								1,03	3,86	12,20
RSD (%)								0,78	0,68	0,72

(KL: Khối lượng)

Kết quả bảng 6 cho thấy độ lệch chuẩn tương đối của 6 lần phân tích riêng biệt đối với các hợp chất CAM, MEN, MET trong mẫu phân tích lần lượt là 0,78%, 0,68% và 0,72%. Kết quả này chứng tỏ phương pháp có độ lặp lại tốt.

** Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng:*

Kết quả xác định LOD và LOQ của CAM là 0,8 và 2,64 $\mu\text{g/mL}$, của MEN là 0,48 và 1,58 $\mu\text{g/mL}$, của MET là 3,84 và 12,67 $\mu\text{g/mL}$.

KẾT LUẬN

Đã xây dựng và thẩm định được phương pháp GC-FID để định lượng đồng thời CAM, MEN, MET trong kem Cobratofor. Phương pháp định lượng này đã đáp ứng đầy đủ các yêu cầu thẩm định theo hướng dẫn của ICH

về độ đặc hiệu, khoảng tuyến tính, độ đúng, độ lặp lại, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng. Vì vậy, có thể ứng dụng phương pháp này trong xây dựng tiêu chuẩn và kiểm soát chất lượng của chế phẩm Cobratofor hoặc các chế phẩm cùng dạng bào chế có chứa 3 hợp chất CAM, MEN và MET.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin cảm ơn Bộ Quốc phòng đã hỗ trợ kinh phí để thực hiện nội dung nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế. Dược điển Việt Nam V. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 2017.

2. Nguyễn Thị Lan Phương, Nguyễn Việt Thúy, Nguyễn Anh Tuấn, Đoàn Cao Sơn. Nghiên cứu định tính, định lượng đồng thời camphor và menthol trong thuốc bôi ngoài da Rhomatic extra gel bằng phương pháp GC. *Tạp chí Kiểm nghiệm Thuốc*. 2015; 4, 13(50):10-13

3. Bachute MT, Shanbhag SV. Analytical method development for simultaneous estimation of methyl

salicylate, menthol, thymol and camphor in an ointment and its validation by gas chromatography. *Int. J. Chem. Pharm. Ana.* 2016; 3:1-11.

4. Pauwels J, D'Autry W, Van den Bossche L, et al. Optimization and validation of liquid chromatography and headspace-gas chromatography based methods for the quantitative determination of capsaicinoids salicylic acid, glycol monosalicylate, methyl salicylate, ethyl salicylate, camphor and l-menthol in a topical ointment. *J Pharm Biomed Anal.* 2012; 60:51-58.

5. ICH harmonised tripartite guideline. Guidelines for validation of analytical procedures: Q2 (R1). *Text and Methodology*. 2005.