

# ĐỊNH TÍNH, ĐỊNH LƯỢNG HYDROXYCARBAMID TRONG VIÊN NANG BẰNG PHƯƠNG PHÁP HPLC

TS. Lê Thị Hương Hoa

Trường Đại học Hòa Bình

Tác giả liên hệ: lthhoa@daihochoabinh.edu.vn

Ngày nhận: 08/5/2024

Ngày nhận bản sửa: 13/5/2024

Ngày duyệt đăng: 19/6/2024

## Tóm tắt

Một quy trình phân tích định tính, định lượng Hydroxycarbamid trong viên nang cứng (có các tá dược: Kollidon K90, Natri croscarmellose, Cellulose vi tinh thể (PH102), Colloidal silicon dioxyd, Magnesi stearat, Ethanol 96 %, Nước tinh khiết) bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) đã được thiết lập.

Xử lý mẫu bằng cách hòa tan hoạt chất trong nước cất rồi lọc qua màng lọc 0,45 $\mu$ m. Điều kiện sắc ký bao gồm: Cột Phenomenex C18, 5  $\mu$ m (250 mm x 4,6 mm); Pha động: Nước cất đã lọc qua màng 0,45  $\mu$ m; Tốc độ dòng: 0,5 ml/phút; Detector: PDA đặt ở bước sóng 214 nm; Thể tích tiêm mẫu: 20  $\mu$ l.

Kết quả thẩm định phương pháp cho thấy, phương pháp có độ đặc hiệu cao, khoảng tuyến tính từ 0,4 mg/ml đến 1,4 mg/ml với hệ số tương quan  $R^2 = 0,9992$ , có độ đúng cao (từ 98,3 - 100,1%), độ lặp lại tốt với các giá trị RSD (%) nhỏ (0,4% đến 0,8%), khoảng xác định của phương pháp là từ 0,8 mg/ml đến 1,2 mg/ml.

**Từ khóa:** Viên nang, định lượng Hydroxycarbamide trong viên nang, định lượng Hydroxycarbamid, Hydroxycarbamid - HPLC.

## Qualitative and Quantitative Analysis of Hydroxycarbamide in Hard Capsules using HPLC Method

Dr. Le Thi Huong Hoa

Hoa Binh University

Corresponding Authors: lthhoa@daihochoabinh.edu.vn

## Abstract

This study presents a developed procedure for the qualitative and quantitative analysis of Hydroxycarbamide in hard capsules, which contain various excipients including Kollidon K90, Croscarmellose Sodium, Microcrystalline Cellulose (PH102), Colloidal silicon dioxide, Magnesium stearate, Ethanol 96%, and Purified water. The analysis was performed using the High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method. The test sample was prepared by dissolving the active ingredient in distilled water and subsequently filtered through a 0.45 $\mu$ m membrane filter. The HPLC conditions involved the use of a Phenomenex C18 column with 5  $\mu$ m particle size (250 mm x 4.6 mm), employing distilled water filtered through a 0.45  $\mu$ m membrane as the mobile phase. The flow rate was set at 0.5 ml/min, and detection was carried out using a PDA

detector at a wavelength of 214 nm. The sample injection volume was 20  $\mu$ l.

The results of method validation demonstrated the method's high specificity, with a linear range of 0.4 mg/ml to 1.4 mg/ml and a correlation coefficient ( $R^2$ ) of 0.9992. The method exhibited high accuracy, with values ranging from 98.3% to 100.1%, and good repeatability, with low relative standard deviation (RSD) values ranging from 0.4% to 0.8%. The method's determination range was found to be between 0.8 mg/ml and 1.2 mg/ml.

**Keywords:** Hard capsules, Qualitative and quantitative analysis of Hydroxycarbamide, Hydroxycarbamide - HPLC.

## 1. Đặt vấn đề

Hydroxycarbamid ( $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}_2$ ) hay còn được gọi là hydroxyurea [1-2], là một dẫn chất của urê đầu tiên được sử dụng trên lâm sàng làm thuốc chữa ung thư (Hình 1).



Hình 1. Công thức cấu tạo của Hydroxycarbamide [1-2]

Hydroxycarbamide ức chế tổng hợp DNA, nhưng không ảnh hưởng đến sự tổng hợp RNA và protein. Cơ chế chủ yếu là hydroxycarbamid ức chế sự kết hợp của thymidin vào DNA. Ngoài ra, thuốc còn trực tiếp gây hư hại DNA. Hydroxycarbamide phá hủy gốc tự do tyrosyl.

Tác dụng độc cho tế bào của Hydroxycarbamid chỉ giới hạn ở các mô có tốc độ tăng sinh cao và có tác dụng rõ rệt nhất ở những tế bào đang tổng hợp mạnh DNA.

Hydroxycarbamid có thể kích thích sản xuất và làm tăng nồng độ hemoglobin bào thai (Hb F), và như vậy, có tiềm năng làm giảm hồng cầu hình lưỡi liềm.

Hydroxycarbamid còn được dùng

hỗ trợ điều trị bệnh tăng hồng cầu vô căn, kết hợp với trích lấy máu tĩnh mạch gián đoạn, do thuốc có tác dụng ức chế tuỷ xương, làm giảm sản xuất thừa tiểu cầu và hồng cầu. Khi ngừng thuốc, bệnh lại trở lại; và dùng lâu dài, có nguy cơ gây ung thư. Hydroxycarbamid cũng có tác dụng chống virus.

Theo “*Dược thư Quốc gia Việt Nam - 2000*” [2], Hydroxycarbamid được chỉ định trong các dạng ung thư như bệnh bạch cầu hạt mạn dòng tuỷ kháng thuốc, ung thư biểu mô vảy (dạng biểu bì) vùng đầu và cổ (phối hợp với xạ trị), bệnh bạch cầu mạn dòng tuỷ không thể ghép tuỷ tự thân.

Hydroxycarbamid có độc tính cao, chỉ số điều trị thấp, nếu không có tai

biến thì không có đáp ứng điều trị. Dùng liều 40 mg/kg mỗi ngày, 2/3 bệnh nhân có tai biến độc; nếu liều gấp đôi, 100% có tai biến. Cần thông báo cho bệnh nhân về các độc tính có thể xảy ra. Cần phải có thầy thuốc chuyên khoa có kinh nghiệm sử dụng hoá trị liệu ung thư chỉ định điều trị và theo dõi trong suốt quá trình điều trị.

Trên thị trường có nhiều dạng thuốc chứa Hydroxycarbamid (Viên nén 1000 mg, Nang 200 mg, 300 mg, 400 mg, 500 mg). Để tiêu chuẩn hóa và kiểm tra chất lượng các dạng bào chế nêu trên, các phương pháp phân tích cần được thiết lập và áp dụng nhằm kiểm tra sự có mặt và hàm lượng của Hydroxycarbamid. Sau khi tham khảo các tài liệu (các được điền: Việt Nam, Anh - BP, Mỹ - USP,v.v.), chúng tôi xin giới thiệu kết quả nghiên cứu xây dựng phương pháp định tính, định lượng Hydroxycarbamid trong viên nang cứng CONDOVA (sản xuất ở trong nước) bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

## 2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Hoá chất và chất chuẩn

Loại tinh khiết dùng cho phép đo HPLC.

- Chất đối chiếu: Hydroxycarbamid, hàm lượng: 100 %; lô sản xuất: NG-16875; Nhà sản xuất: Chem service, Inc.

- Dung môi, hóa chất: Methanol tinh khiết HPLC (Merck, Đức); Acetonitril (ACN) tinh khiết HPLC (Merck).

### 2.2. Đối tượng nghiên cứu

**Các mẫu:** *Mẫu thử:* Viên nang cứng

CONDOVA (do công ty sản xuất cung cấp gồm các thành phần: Hydroxyure (Hydroxycarbamid); Kollidon K90; Natri croscarmellose; Cellulose vi tinh thể (PH102); Colloidal silicon dioxyd; Magnesi stearat; Ethanol 96%; Nước tinh khiết). *Mẫu Placebo:* Có công thức thành phần, bào chế giống mẫu thử nhưng không có hoạt chất Hydroxycarbamid). *Mẫu tự tạo:* Thêm chất chuẩn Hydroxycarbamid vào mẫu placebo, sử dụng trong phần thẩm định độ đúng của phương pháp.

### 2.3. Trang thiết bị, dụng cụ

Các thiết bị, máy phân tích tại Viện Kiểm nghiệm Thuốc Trung ương được hiệu chuẩn theo qui định của chuẩn mực ISO/IEC 17025 [3] gồm:

- Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Shimadzu có trang bị detector PDA.
- Cân phân tích Mettler Toledo AB204S chính xác đến 0,1mg.

### 2.4. Phương pháp nghiên cứu

#### Xây dựng quy trình phân tích

**Xử lý mẫu:** Nghiên cứu lựa chọn dung môi, phương pháp phù hợp để hòa tan hoạt chất, lọc trong qua màng 0,45 µm.

**Tiến hành:** Sử dụng máy sắc ký lỏng hiệu năng cao để phân tích. Cần nhận dạng để phân biệt với Hydroxylamin hydroclorid (NH<sub>2</sub>OH.HCl).

**Đánh giá quy trình phân tích:** Dựa trên việc tham khảo các tài liệu sau: Thông tư số 32/2018/TT-BYT ngày 12/11/2018 của Bộ Y tế qui định về việc đăng ký thuốc, nguyên liệu làm thuốc [4], AOAC (2016), Appendix F: Guidelines

for Standard Method Performance Requirements [5], ICH Topic Q2B (1996), Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology [6], USP 43/NF 38 (2020). Validation of Compendial Procedure <1225> [7]. Các chỉ tiêu được đánh giá:

- Tính thích hợp của hệ thống sắc ký cần đạt yêu cầu:

+ Hệ số phân giải giữa Hydroxycarbamid và Hydroxylamin hydroclorid không nhỏ hơn 1.

+ Giá trị RSD của thời gian lưu của Hydroxycarbamid  $\leq 1,0\%$  và của diện tích pic Hydroxycarbamid phải  $\leq 2,0\%$ .

+ Số đĩa lý thuyết không nhỏ hơn 2000, hệ số đối xứng pic  $< 2,0$ .

- Tính đặc hiệu: Phải có tính đặc hiệu, nhận diện rõ ràng.

- Khoảng tuyến tính: Yêu cầu hệ số tương quan tuyến tính  $r \geq 0,998$ .

- Độ chính xác: Giá trị RSD (%) kết quả định lượng hàm lượng hoạt chất có trong các mẫu thử  $\leq 2,0\%$ ; Giá trị RSD (%) kết quả định lượng của mỗi kiểm nghiệm viên ( $n = 6$ )  $\leq 2,0\%$  và của cả hai kiểm nghiệm viên ( $n = 12$ ) phải  $\leq 3,0\%$ .

- Độ đúng: Tỷ lệ thu hồi trong định lượng: 98-102%; giá trị RSD (%) tỷ lệ thu hồi  $\leq 2,0\%$ .

- Khoảng xác định của phương pháp: Phải đạt theo qui định.

- Phương pháp xử lý số liệu: Bằng phương pháp thống kê.

### 3. Kết quả và bàn luận

#### 3.1. Xây dựng quy trình phân tích

##### 3.1.1. Điều kiện sắc ký

- Cột Phenomenex C18, 5  $\mu\text{m}$  (250 mm x 4,6 mm).

- Pha động: Nước cất đã lọc qua màng 0,45  $\mu\text{m}$ .

- Bước sóng: 214 nm.

- Tốc độ dòng: 0,5 ml/ phút.

- Thể tích tiêm: 20  $\mu\text{l}$ .

##### 3.1.2. Cách tiến hành

- *Dung dịch đánh giá tính thích hợp hệ thống*: Cân chính xác khoảng 10 mg chất chuẩn Hydroxycarbamid và 40 mg Hydroxylamin hydroclorid vào bình định mức 10 ml, thêm 7 ml nước, lắc cho tan hoàn toàn. Thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45  $\mu\text{m}$ .

- *Dung dịch thử*: Lấy 20 nang, xác định khối lượng trung bình thuốc trong nang. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 500 mg Hydroxycarbamid vào bình định mức 500 ml, thêm khoảng 300 ml nước, lắc siêu âm 30 phút. Để nguội, thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45  $\mu\text{m}$ .

- *Dung dịch chuẩn Hydroxycarbamid*: Cân chính xác khoảng 10 mg chất chuẩn Hydroxycarbamid vào bình định mức 10 ml, thêm 7 ml nước, lắc cho tan hoàn toàn. Thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45  $\mu\text{m}$ .

Tiêm các dung dịch trên vào hệ thống sắc ký, ghi lại các sắc ký đồ.

#### 3.2. Đánh giá quy trình phân tích Hydroxycarbamid trong mẫu

##### 3.2.1. Độ thích hợp của hệ thống sắc ký

Kết quả thể hiện ở Bảng 1 dưới đây:

Bảng 1. Kết quả khảo sát độ thích hợp của hệ thống

<i>STT</i>	<i>Thời gian lưu (min.)</i>	<i>Diện tích pic (mAU.s)</i>
1	5,933	3724,686
2	5,935	3775,874
3	5,935	3797,679
4	5,934	3809,776
5	5,932	3819,990
6	5,935	3807,910
<b>Trung bình</b>	5,934	3789,319
<b>RSD %</b>	0,02	0,92
<b>Hệ số bất đối</b>	1,4	
<b>Hệ số phân giải</b>	1,82	
<b>Số đĩa lý thuyết</b>	> 8000	

*Nguồn: Kết quả nghiên cứu của tác giả.*

Vậy hệ thống đạt yêu cầu của hệ sắc ký:

- Hệ số phân giải  $R_s > 1,0$ .
- RSD thời gian lưu  $< 1 \%$ .
- RSD diện tích pic  $< 2 \%$ .
- Hệ số bất đối  $< 2$ .
- Số đĩa lý thuyết  $> 2000$ .

### 3.2.2. Độ đặc hiệu của phương pháp

Đây cũng là dữ liệu thẩm định của chỉ tiêu định tính Hydroxycarbamid.

**a) Tiến hành:** Chạy sắc ký các loại mẫu sau đây theo quy trình phân tích:

- *Dung dịch mẫu trắng:* Là dung môi pha mẫu (nước) được lọc qua màng lọc 0,45  $\mu\text{m}$ .

- *Dung dịch mẫu placebo:* Cân chính xác khoảng 0,16 g mẫu placebo (tương ứng với lượng placebo có chứa trong 1 viên 500 mg Hydroxycarbamid) vào bình định mức 500 ml, thêm khoảng 300 ml nước, lắc siêu âm 30 phút. Để nguội, thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45  $\mu\text{m}$ .

- *Dung dịch mẫu thử:* Lấy 20 nang, xác định khối lượng trung bình thuốc trong nang. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 500 mg Hydroxycarbamid vào bình định mức

500 ml, thêm khoảng 300 ml nước, lắc siêu âm 30 phút. Để nguội, thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45  $\mu\text{m}$ .

- *Dung dịch chuẩn Hydroxycarbamid:* Cân chính xác khoảng 10 mg chất chuẩn Hydroxycarbamid vào bình định mức 10 ml, thêm 7 ml nước, lắc cho tan hoàn toàn. Thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45  $\mu\text{m}$ .

Tiêm riêng biệt các dung dịch mẫu trắng, mẫu placebo, dung dịch thử và dung dịch chuẩn vào hệ thống sắc ký, ghi lại sắc ký đồ.

### b) Kết quả

- Thời gian lưu của pic Hydroxycarbamid trên sắc ký đồ của mẫu chuẩn là 5,9 phút, mẫu thử là 5,9 phút.

- Mẫu trắng và mẫu placebo không có pic tại thời gian lưu  $t_R = 5,9$  phút tương ứng với pic Hydroxycarbamid nên không ảnh hưởng tới phép thử, phương pháp có tính đặc hiệu cao.

### 3.2.3. Khoảng tuyến tính

- *Dung dịch chuẩn gốc Hydroxycarbamid:* Cân chính xác 252,15 mg chuẩn Hydroxycarbamid vào

bình định mức 50 ml, thêm 30 ml nước, lắc cho tan hoàn toàn, thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều.

- Các dung dịch chuẩn Hydroxycarbamid: Từ dung dịch chuẩn gốc, tiến hành pha dãy các dung dịch chuẩn theo bảng sau:

**Bảng 2.** Các dung dịch dãy chuẩn

TT	Nồng độ Hydroxycarbamid (mg/ml)	Thể tích dung dịch chuẩn gốc (ml)	Thêm nước vừa đủ (ml)
1	0,403	2,0	50
2	0,605	3,0	50
3	0,807	4,0	50
4	1,009	5,0	50
5	1,210	6,0	50
6	1,412	7,0	50

Nguồn: Kết quả nghiên cứu của tác giả.

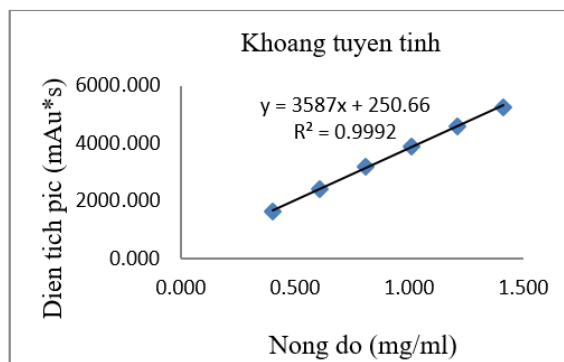
- Tiến hành tiêm lần lượt các dung dịch chuẩn vào hệ thống sắc ký, ghi lại sắc ký đồ.

- Kết quả được thể hiện ở Bảng 3, Hình 1.

**Bảng 3.** Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của phương pháp

Dung dịch chuẩn	1	2	3	4	5	6
Nồng độ (mg/ml)	0,403	0,605	0,807	1,009	1,210	1,412
Diện tích pic (mAU*s)	1654,067	2423,846	3189,635	3897,975	4607,595	5267,109
Phương trình hồi qui: $y = 3587x + 250,6$						
Hệ số tương quan $r = 0,9996$						

Nguồn: Kết quả nghiên cứu của tác giả.



**Hình 1.** Khoảng tuyến tính của phương pháp

Nguồn: Kết quả nghiên cứu của tác giả.

Kết quả cho thấy hệ số tương quan  $R^2 = 0,9992$ , chứng tỏ có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích pic của Hydroxycarbamid trong khoảng nồng độ 0,4 mg/ml đến 1,4 mg/ml

### 3.2.4. Độ chính xác của phương pháp

Hai người phân tích ở 2 ngày khác nhau, mỗi người thực hiện 6 lần phân tích độc lập trên cùng mẫu thử viên nang, kết quả được thể hiện ở Bảng 4.

**Bảng 4.** Khảo sát độ chính xác của phương pháp

STT	Người phân tích: 1 Lượng cân chuẩn: 9,87 mg Diện tích pic mẫu chuẩn: 3789,319 KLTB viên = 0,5885 g			Người phân tích: 2 Lượng cân chuẩn: 10,27 mg Diện tích pic mẫu chuẩn: 3910,333 KLTB viên = 0,5867 g		
	Khối lượng mẫu thử (g)	Diện tích pic	Hàm lượng (%)	Khối lượng mẫu thử (g)	Diện tích pic	Hàm lượng (%)
	0,6204	3960,348	97,9	0,6250	3957,372	97,6
	0,6345	4048,706	97,8	0,6086	3840,953	97,2
	0,6075	3875,531	97,8	0,6221	3911,772	96,9
	0,6215	3957,320	97,6	0,6135	3920,511	98,5
	0,6289	4031,777	98,3	0,6006	3819,275	98,0
	0,6006	3865,294	98,7	0,6071	3896,119	98,9
<b>Trung bình: 98,0 %</b> <b>RSD: 0,4 %</b>			<b>Trung bình: 97,8 %</b> <b>RSD: 0,8 %</b>			
<b>Kết quả định lượng trung bình (n =12): 97,9 %; RSD: 0,6 %</b>						

Nguồn: Kết quả nghiên cứu của tác giả.

Kết quả cho thấy phương pháp có độ lặp lại và độ chính xác trung gian cao với hàm lượng Hydroxycarbamid đạt từ 96,9% đến 98,9% so với hàm lượng trên nhãn, giá trị RSD từ 0,4% đến 0,8%. Như vậy, phương pháp đã xây dựng có độ chính xác phù hợp để định lượng Hydroxycarbamid trong chế phẩm.

**3.2.5. Độ đúng của phương pháp**

- Mẫu chuẩn Hydroxycarbamid: sử dụng dung dịch chuẩn từ phần tính thích hợp hệ thống.

- Các mẫu tự tạo: Tiến hành trên 9 bình chia làm 3 nhóm:

+ Mẫu tự tạo 80%: Cân chính xác

khoảng 30 mg mẫu placebo và 80 mg chất chuẩn Hydroxycarbamid vào bình định mức 100 ml, tiến hành xử lý mẫu theo quy trình phân tích.

+ Mẫu tự tạo 100%: Cân chính xác khoảng 30 mg mẫu placebo và 100 mg chất chuẩn Hydroxycarbamid vào bình định mức 100 ml, tiến hành xử lý mẫu theo quy trình phân tích.

+ Mẫu tự tạo 120%: Cân chính xác khoảng 30 mg mẫu placebo và 120 mg chất chuẩn Hydroxycarbamid vào bình định mức 100 ml, tiến hành xử lý mẫu theo quy trình phân tích.

Kết quả thể hiện ở Bảng 5.

**Bảng 5.** Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp

STT	Khối lượng mẫu placebo (g)	Lượng chuẩn thêm (mg)	Diện tích pic (mAu.s)	Lượng tìm lại (mg)	% Thu hồi	% Thu hồi trung bình	% RSD
1.	0,0512	81,1	3060,575	79,718	98,3	98,4	0,1
2.	0,0523	80,0	3020,095	78,664	98,3		
3.	0,0536	81,1	3068,990	79,938	98,6		
4.	0,0547	100,1	3811,977	99,290	99,2	99,7	0,5
5.	0,0579	104,8	4028,137	104,920	100,1		
6.	0,0595	100,9	3867,232	100,729	99,8		
7.	0,0581	117,8	4458,079	116,119	98,6	99,0	0,5
8.	0,0578	117,5	4459,053	116,144	98,8		
9.	0,0547	116,8	4459,564	116,158	99,5		
Chuẩn		0,00987	3789,319				

Nguồn: Kết quả nghiên cứu của tác giả.

Kết quả cho thấy phương pháp có độ thu hồi tốt ở cả 3 mức nồng độ khảo sát (RSD lớn nhất là 0,5 %, tỷ lệ thu hồi từ 98,3 % đến 100,1%). Do vậy, phương pháp định lượng đạt yêu cầu về độ đúng.

#### 3.2.6. Khoảng xác định của phương pháp

Từ số liệu nghiên cứu về khoảng tuyến tính, độ chính xác và độ đúng đã nêu, khoảng xác định của phương pháp là: Từ 0,8 mg/ml đến 1,2 mg/ml.

#### 4. Kết luận

Đã xây dựng được phương pháp định tính, định lượng Hydroxycarbamid trong viên nang Condova bằng phương pháp HPLC.

Quy trình định tính, định lượng

Hydroxycarbamid trong viên nang Condova được thẩm định chặt chẽ về độ đặc hiệu, tính thích hợp hệ thống, độ lặp lại, độ chính xác trung gian và độ đúng. Kết quả chỉ ra rằng phương pháp có tính đặc hiệu, độ lặp lại và độ đúng cao, đạt các yêu cầu qui định của ICH, USP và Thông tư số 32/2018/TT-BYT ban hành ngày 12/11/2018 quy định việc đăng ký lưu hành thuốc, nguyên liệu làm thuốc do Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành, để định lượng Hydroxycarbamid trong chế phẩm này. Với kết quả nghiên cứu này, chúng tôi hy vọng có thể áp dụng định lượng Hydroxycarbamid trong các chế phẩm có thành phần tương tự.

#### Tài liệu tham khảo

- [1]. <https://vi.wikipedia.org/wiki/Hydroxycarbamide>
- [2]. Bộ Y tế, *Dược thư Quốc gia Việt Nam*, lần xuất bản thứ hai. Hà Nội, NXB Y học, 2018.
- [3]. Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, “*Các hướng dẫn hiệu chuẩn, kiểm tra thiết bị*” từ VKN/HDHC/20.01 đến VKN/HDHC/20.19, Tài liệu Viện dẫn STCL, 2012.
- [4]. Bộ Y tế, *Thông tư 32/2018/TT-BYT*, ngày 12/11/2018, quy định việc đăng ký lưu hành thuốc, nguyên liệu làm thuốc, 2018.
- [5]. AOAC International, “*Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements*”, 2016.
- [6]. ICH Topic Q2B (1996), “*Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*”, 1996.
- [7]. USP 43/ NF 38 (2020). “*Validation of Compendial Procedure <1225>*”, 2020.