



Original Article

# Stability and Degradation Kinetic of l-tetrahydropalmatine under Stress Conditions of Temperature, Humidity, UV Light, pH, and Gastrointestinal Fluids

Pham Thi Phuong Dung<sup>1,2</sup>, Pham Thi Thuy<sup>2</sup>, Nguyen Tran Linh<sup>1</sup>, Nguyen Thach Tung<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Hanoi University of Pharmacy, 13-15 Le Thanh Tong, Cua Nam, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup>Dainam University, 1 Xom, Phu Lam, Hanoi, Vietnam

Received 20<sup>th</sup> January 2026

Revised 29<sup>th</sup> January 2026; Accepted 26<sup>th</sup> April 2026

**Abstract:** l-Tetrahydropalmatine (l-THP) is an alkaloid with potential application in anti-addiction treatment. However, the stability profile and degradation kinetics of l-THP have not been comprehensively explored for product development. This study was conducted to evaluate the solid-state and solution stability of l-THP in accordance with ICH guidelines and to characterize its degradation kinetics under various stress conditions. The solid-state stability of l-THP was investigated under accelerated thermal conditions (50 °C, 70 °C, and 90 °C), various moisture-protective storage conditions, and light exposure. The stability of l-THP in solution was evaluated under photolytic stress, oxidative stress, different pH conditions, and simulated gastrointestinal fluids. The results showed that solid-state l-THP was unstable when exposed to elevated temperature, humidity, and light. Temperature caused drug degradation followed a first-order Arrhenius kinetic model (type 3). Under high-temperature ( $40 \pm 2^\circ\text{C}$ ) and high-humidity ( $75 \pm 5\%$ ) storage conditions, the degradation of l-THP followed second-order kinetics. l-THP solutions also turned yellow and showed a reduction in drug content upon light exposure. Rapid oxidative degradation was observed in the presence of a strong oxidizing agent (30% hydrogen peroxide), with degradation following first-order kinetics. In addition, l-THP exhibited low stability in strong acidic media (1.0 M HCl), neutral to slightly alkaline conditions (pH 6.8), and simulated intestinal fluids. In these media, drug degradation followed second-order kinetics. Palmatine was identified as the major degradation product of l-THP in solution under oxidative, pH-dependent, and gastrointestinal stress conditions. These findings provide a scientific basis for proposing appropriate storage conditions, supporting formulation development, and establishing quality criteria for pharmaceutical preparations containing l-THP.

**Keywords:** l-tetrahydropalmatine, rotundine, stability, degradation kinetic, oxidation, gastrointestinal fluids.

\* Corresponding author.

E-mail address: [nguyenthachtung@hup.edu.vn](mailto:nguyenthachtung@hup.edu.vn)

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4887>

# Độ ổn định và động học phân hủy của l-tetrahydropalmatin dưới tác động của nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tác nhân oxy hóa, pH và dịch tiêu hóa

Phạm Thị Phương Dung<sup>1,2</sup>, Phạm Thị Thùy<sup>2</sup>, Nguyễn Trần Linh<sup>1</sup>, Nguyễn Thạch Tùng<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Dược Hà Nội, 13-15 Lê Thánh Tông, Cửa Nam, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Đại Nam, 1 phố Xóm, Phú Lãm, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 20 tháng 01 năm 2026

Chỉnh sửa ngày 29 tháng 01 năm 2026; Chấp nhận đăng ngày 26 tháng 4 năm 2026

**Tóm tắt:** l-Tetrahydropalmatin (l-THP) là một alkaloid có tiềm năng trong điều trị cai nghiện, tuy nhiên dữ liệu về độ ổn định và động học phân hủy của dược chất này còn hạn chế. Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá độ ổn định của l-THP dạng rắn và dạng dung dịch theo hướng dẫn ICH, đồng thời xác định động học phân hủy của l-THP dưới tác động của nhiệt độ (50°C, 70°C, 90°C), độ ẩm, ánh sáng, stress oxy hóa, pH và dịch tiêu hóa. Kết quả cho thấy dược chất rắn kém bền với nhiệt độ, độ ẩm và ánh sáng. Dưới tác động của nhiệt độ, sự giảm hàm lượng dược chất tuân theo mô hình Arrhenius bậc 1 (kiểu 3). Khi bảo quản ở nhiệt độ (40 ± 2°C), độ ẩm cao (75 ± 5%) dược chất phân hủy theo động học bậc 2. Dung dịch l-THP cũng rất dễ biến màu và giảm hàm lượng khi tiếp xúc với ánh sáng. Dược chất bị oxy hóa nhanh khi có mặt chất oxy hóa mạnh như hydroperoxid 30% với tốc độ phân hủy tuân theo động học bậc 1. Ngoài ra dược chất cũng kém bền trong các môi trường acid mạnh như acid hydrochloric 1,0 M, môi trường có pH trung tính đến hơi kiềm (pH 6,8) và môi trường dịch ruột, với quá trình phân hủy tuân theo động học bậc 2. Sản phẩm phân hủy chính của l-THP trong dung dịch dưới tác động của chất oxy hóa, pH và dịch tiêu hóa là palmatin. Kết quả nghiên cứu này là cơ sở để đề xuất điều kiện bảo quản, phát triển dạng bào chế và xây dựng tiêu chuẩn chất lượng cho các chế phẩm chứa l-THP.

**Từ khóa:** l-tetrahydropalmatin, rotundin, độ ổn định, động học phân hủy, oxy hóa, dịch tiêu hóa

## 1. Mở đầu

l-Tetrahydropalmatin (l-THP) là một isoquinolin alkaloid tìm thấy trong các loài thuộc chi *Stephania* và *Corydalis* [1; 2]. Tại Việt Nam và Trung Quốc, l-THP đã được sử dụng từ lâu với các tác dụng an thần, gây ngủ và giảm đau. Trong những năm gần đây, hoạt chất này thu hút sự quan tâm đặc biệt bởi tiềm năng trong điều trị cai nghiện, một số nghiên cứu lâm sàng đã bước đầu chứng minh tính an toàn và hiệu quả của l-THP ở người [3; 4]. Song song với đó, nhiều

dạng bào chế hiện đại đã được phát triển, bao gồm hệ tự nhũ hóa, pellet chứa hệ tự nhũ hóa [5], hệ phân tán rắn [6], pellet chứa hệ phân tán rắn [7], viên nén phân tán [8] và gel trị liệu qua da [9]. Đáng chú ý, hệ tự nhũ hóa và hệ phân tán rắn có khả năng cải thiện đáng kể sinh khả dụng [5; 6] và thời gian duy trì nồng độ l-THP trong mô não động vật [10]. Những dữ liệu này cho thấy l-THP là ứng viên tiềm năng để phát triển các chế phẩm điều trị cai nghiện.

Để phát triển sản phẩm, cần có dữ liệu đầy đủ về độ ổn định của l-THP. Theo Dược điển

\* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: nguyenthachtung@hup.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1132/vnumps.4887>

Việt Nam V, l-THP dễ bị biến màu khi tiếp xúc với ánh sáng và nhiệt độ [11]. Đối với dạng muối sulfat, ánh sáng gây suy giảm đáng kể hàm lượng và làm tăng mức độ chuyển màu ở cả dạng tinh thể và dung dịch 2%, mức suy giảm có tương quan chặt với thời gian chiếu sáng. Nhiệt độ cao ( $40 \pm 2^\circ\text{C}$ ) và oxy không khí cũng gây biến màu l-THP, mặc dù mức ảnh hưởng thấp hơn so với ánh sáng. Tuy nhiên, đây mới là các khảo sát mang tính mô tả, chưa xây dựng được phương trình động học phân hủy được chất theo cường độ ánh sáng hoặc theo nhiệt độ.

Bên cạnh đó, thông tin về độ ổn định của l-THP dạng base còn hạn chế hơn. Một nghiên cứu gần đây của Huanfeng Ye [12] cho thấy l-THP bền trong môi trường acid hơn so với môi trường trung tính và kiềm; hoạt chất hầu như không bị ảnh hưởng bởi nhiều ion kim loại thông dụng ( $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) nhưng kém bền khi có mặt  $\text{Fe}^{3+}$ . Dung dịch nước của l-THP tương đối ổn định với nhiệt độ song dễ bị quang phân, tạo thành palmatin. Mặc dù vậy, động học phân hủy trong các môi trường chưa được xác định và độ ổn định của l-THP dạng rắn chưa được nghiên cứu một cách có hệ thống.

Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá độ ổn định của l-THP dạng rắn và dạng dung dịch theo hướng dẫn ICH Q1A(R2) và ICH Q1B [13; 14], đồng thời xác định động học phân hủy của l-THP ở các điều kiện khảo sát. Kết quả thu được là cơ sở để đề xuất điều kiện bảo quản, phát triển dạng bào chế và xây dựng tiêu chuẩn chất lượng cho các chế phẩm chứa l-THP.

## 2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Nguyên liệu

Nguyên liệu l-tetrahydropalmatin (l-THP) hàm lượng 99,10%, số lô 210703, đạt tiêu chuẩn Dược điển Trung Quốc 2015, được mua từ công ty Sichuan Yuxin Pharmaceutical Ltd. (Trung Quốc). Chuẩn l-THP hàm lượng 99,54%, số kiểm soát CFS201902 và chuẩn palmatin hàm lượng 98,0%, số kiểm soát CFS202201 được mua từ công ty ChemFaces (Trung Quốc). Quinin monohydroclorid dihydrat, lecithin, natri

taurocholat do công ty Sigma-Aldrich (Hoa Kỳ) cung cấp. Các hóa chất thí nghiệm như natri hydroxyd, acid hydrocloric, natri dihydrophosphat, dinatri hydrophosphat, kali dihydrophosphat, natri clorid, hydroperoxid mua từ công ty Xilong Scientific Ltd. (Trung Quốc). Acetonitril, methanol đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích được cung cấp bởi công ty Fisher Scientific Ltd (Hoa Kỳ). Nước để pha các dung dịch là thẩm thấu ngược và nước để chuẩn bị pha động là nước cất hai lần.

### 2.2. Phương pháp định lượng l-tetrahydropalmatin bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao

Định lượng l-THP trong các mẫu nghiên cứu độ ổn định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (High Performance Liquid Chromatography - HPLC) đã được phát triển trước đó [15]. Phương pháp này còn có khả năng phát hiện các sản phẩm phân hủy của l-THP như palmatin với giới hạn phát hiện là  $0,0251 \mu\text{g/ml}$  và giới hạn định lượng dưới là  $0,126 \mu\text{g/ml}$ . Phương pháp cũng được thẩm định đạt yêu cầu về tính thích hợp của hệ thống, độ chọn lọc - đặc hiệu khi định lượng palmatin (Phụ lục).

Điều kiện sắc ký cụ thể như sau: sử dụng hệ thống HPLC Jasco LC4000 (Nhật Bản) tiêm mẫu thủ công, cột sắc ký pha đảo C18 kích thước  $250 \text{ mm} \times 4,8 \text{ mm}$ , đường kính hạt nhỏ  $5 \mu\text{m}$  (Thermo Hypersil GOLD, Hoa Kỳ) được duy trì ở nhiệt độ  $25^\circ\text{C}$  bằng bộ ổn nhiệt cột (Jasco CO-4060, Japan). Pha động là hỗn hợp acetonitril : dung dịch đệm phosphat  $0,05\text{M}$  pH 4,5 theo tỷ lệ 30 : 70, được đưa vào hệ thống nhờ bơm nhị phân (Jasco PU-4180, Japan) với tốc độ  $1,5 \text{ ml/phút}$ . Các mẫu phân tích được đưa vào hệ thống bằng cách tiêm thủ công, với thể tích tiêm mẫu là  $20 \mu\text{l}$ . Thời gian phân tích mỗi mẫu là 10 phút. Phát hiện l-THP ở bước sóng 281 nm và palmatin ở bước sóng 347 nm. Kết quả phân tích được xử lý bằng phần mềm ChromNAV 2.0 HPLC software (Jasco, Japan).

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu độ ổn định của l-tetrahydropalmatin dạng rắn

Để giảm ảnh hưởng của kích thước tiểu phân đến kết quả nghiên cứu, trước khi chuẩn bị mẫu, được chất được nghiền và rây qua rây 250.

### 2.3.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến độ ổn định của l-tetrahydropalmitin dạng rắn

Cân khoảng 2,0 g bột dược chất và trải đều lên các đĩa petri sao cho bề dày không quá 3 mm, sau đó sấy ở các điều kiện nhiệt độ khác nhau ( $50^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $70^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $90^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) trong 24 giờ. Tại các thời điểm 0, 1, 4, 8 và 24 giờ sau khi bắt đầu sấy, lấy khoảng 0,3 g dược chất, cho vào lọ thủy tinh tối màu 5 ml, đậy nắp kín. Xác định hàm ẩm, tính chất của mẫu, sau đó bảo quản mẫu ở  $5-10^{\circ}\text{C}$  cho tới khi định lượng bằng HPLC, thời gian bảo quản không quá 48 giờ.

### 2.3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ, độ ẩm đến độ ổn định của l-tetrahydropalmitin dạng rắn

Cho vào mỗi lọ thủy tinh tối màu dung tích 10 ml một lượng bột dược chất tương ứng khoảng 2/3 thể tích lọ, đậy nút cao su, siết nắp nhôm kín. Đồng thời chuẩn bị các mẫu l-THP đựng trong túi polyetylen, đóng kín. Bảo quản các mẫu ở các điều kiện nhiệt độ và độ ẩm khác nhau: (BQ1) mẫu đựng trong lọ thủy tinh tối màu, bảo quản ở nhiệt độ  $5-10^{\circ}\text{C}$ , độ ẩm 50-60%; (BQ2) mẫu đựng trong lọ thủy tinh tối màu, bảo quản ở  $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , độ ẩm  $75 \pm 5\%$  và (BQ3) mẫu đựng trong túi polyetylen (PE) bọc tránh ánh sáng, bảo quản ở  $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , độ ẩm  $75 \pm 5\%$ . Tại các thời điểm 1, 2 và 3 tháng, lấy mẫu để xác định hàm ẩm, tính chất và định lượng l-THP bằng phương pháp HPLC.

### 2.3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của ánh sáng đến độ ổn định của l-tetrahydropalmitin dạng rắn

Cân khoảng 2,0 g bột dược chất, trải đều lên đĩa petri trong suốt, không màu sao cho bề dày không quá 3 mm, đậy nắp kín. Mẫu chứng được chuẩn bị tương tự mẫu thử nhưng được bọc thêm màng nhôm để tránh ánh sáng.

Mẫu thử và mẫu chứng được bảo quản ở tủ vi khí hậu Binder KBF P240 (Binder GmbH, Đức) có hệ thống chiếu sáng được thiết kế phù hợp với hướng dẫn ICH Q1B, sử dụng kết hợp đèn huỳnh quang trắng (cool white) và đèn huỳnh quang UV (BINDER Q1B Synergy Light). Nguồn sáng này phát xạ trong vùng ánh sáng nhìn thấy (400–800 nm) và vùng UVA

(320–400 nm), đảm bảo phổ chiếu sáng theo Option 2 của ICH Q1B. Cường độ chiếu sáng trong buồng thử được kiểm soát đồng đều nhờ hệ thống cassette đèn và bộ phận xạ chuyên dụng. Điều kiện bảo quản được thiết lập ở nhiệt độ  $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , độ ẩm thực. Cường độ chiếu sáng được xác định gián tiếp bằng hệ đo quang hóa (actinometer) sử dụng dung dịch quinin monohydroclorid dihydrat 0,1% (kl/tt). Thời gian chiếu sáng được chọn là 21 ngày, đủ để làm tăng mật độ quang dung dịch quinin monohydroclorid dihydrat 0,1% (kl/tt) ở bước sóng 400 nm lên 0,755, chứng tỏ mẫu đã nhận đủ liều chiếu sáng theo yêu cầu của ICH.

### 2.4. Phương pháp nghiên cứu độ ổn định của l-tetrahydropalmitin trong dung dịch

#### 2.4.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của ánh sáng đến độ ổn định của l-tetrahydropalmitin trong dung dịch

Chuẩn bị dung dịch l-THP nồng độ 0,5 mg/ml trong acid hydrocloric 0,1 M và đóng vào các lọ thủy tinh trong suốt, không màu, đậy nút cao su, siết nắp nhôm. Mẫu chứng được chuẩn bị tương tự mẫu thử, tránh ánh sáng bằng cách bọc màng nhôm. Mẫu thử và mẫu chứng dạng lỏng này cũng được bảo quản ở điều kiện tương tự như các mẫu nghiên cứu độ ổn định của ánh sáng tới l-THP dạng rắn.

#### 2.4.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của chất oxy hóa đến độ ổn định của l-tetrahydropalmitin trong dung dịch

Chuẩn bị dung dịch l-THP nồng độ 0,2 mg/ml trong dung dịch hydroperoxid 30%, cho vào các lọ thủy tinh tối màu có nút cao su, siết nắp nhôm, và đun cách thủy ở  $80^{\circ}\text{C}$ . Lấy mẫu tại các thời điểm 0, 1, 4, 8, 24 giờ, hạ nhanh nhiệt độ về nhiệt độ phòng. Quan sát màu sắc dung dịch, pha loãng bằng pha động nếu cần, lọc qua màng 0,45  $\mu\text{m}$  và định lượng ngay bằng HPLC.

#### 2.4.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của pH đến độ ổn định của l-tetrahydropalmitin trong dung dịch

Chuẩn bị dung dịch l-THP trong các môi trường pH khác nhau theo hướng dẫn của ICH Q1A(R2) nhưng điều chỉnh nồng độ cho phù hợp

với độ tan của dược chất, gồm: dung dịch l-THP 0,5 mg/ml trong acid hydrocloric 1,0 M; dung dịch l-THP 0,5 mg/ml trong acid hydrocloric 0,1 M; dung dịch l-THP 0,1 mg/ml trong đệm phosphat (PBS) pH 4,5; dung dịch l-THP bão hòa trong PBS pH 6,8. Cho dung dịch đã chuẩn bị vào các lọ thủy tinh tối màu dung tích 10 ml, đậy nút cao su, siết nắp nhôm, sau đó đun cách thủy ở 80°C. Lấy mẫu tại các thời điểm 0, 1, 4, 8 và 24 giờ, hạ nhanh nhiệt độ về nhiệt độ phòng và định lượng bằng HPLC.

#### 2.4.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch tiêu hóa đến độ ổn định của l-tetrahydropalmatin trong dung dịch

Chuẩn bị các mẫu dung dịch l-THP trong acid hydrocloric 1,0 M; PBS pH 4,5; PBS pH 6,8 tương tự như mục 2.4.3. Chuẩn bị thêm dung dịch l-THP 0,5 mg/ml trong dịch dạ dày mô phỏng trạng thái đói (FaSSGF) và dung dịch l-THP bão hòa trong dịch ruột mô phỏng trạng thái đói (FaSSIF).

Các môi trường dịch tiêu hóa mô phỏng được chuẩn bị như phương pháp của Klein và cộng sự [16]. Với FaSSGF, hòa tan 2,0 g natri clorid và 3,2 g bột pepsin trong nước, sau đó thêm 80 ml

Mô hình bậc 0:

$$C_t = C_0 - k_0 t \quad (1)$$

Mô hình bậc 1:

$$\ln C_t = \ln C_0 - k_1 t \quad (2)$$

Mô hình bậc 2:

$$\frac{1}{C_t} - \frac{1}{C_0} = k_2 t \quad (3)$$

Mô hình Arrhenius bậc 0

$$C_t = b_0 - \text{Exp}(b_1 + b_2 \times \text{Arrhenius}(X)) \times t \quad (4)$$

Mô hình Arrhenius bậc 1 (kiểu 3)

$$C_t = b_0 + b_1 \times \text{Exp}(-b_2 \times \text{Exp}(b_3 \times (\text{Arrhenius}(X_0) - \text{Arrhenius}(X)))) \times t \quad (5)$$

Mô hình Arrhenius bậc 1 (kiểu 4)

$$C_t = b_0 \times \text{Exp}(-b_1 \times \text{Exp}(b_2 \times (\text{Arrhenius}(X_0) - \text{Arrhenius}(X)))) \times t \quad (6)$$

Trong đó:  $C_0$  và  $C_t$  là hàm lượng dược chất ban đầu và còn lại ở thời điểm  $t$ ;  $k_0$ ,  $k_1$ ,  $k_2$  là hằng số tốc độ phản ứng phân hủy bậc 0, bậc 1 và bậc 2;  $b_0$ ;  $b_1$ ;  $b_3$  là các tham số của mô hình;  $X_0$  là nhiệt độ chuẩn tham chiếu (30°C);  $X$  là nhiệt độ bảo quản mẫu,  $t$  là thời gian bảo quản mẫu ở nhiệt độ  $X$ .

acid hydrocloric 1,0 M rồi pha loãng với nước vừa đủ 1000 ml. Với FaSSIF, hòa tan 0,348 g natri hydroxyd, 3,438 g natri dihydrophosphat khan và 6,186 g natri clorid trong khoảng 900 ml nước tinh khiết, điều chỉnh về pH 6,5 bằng dung dịch natri hydroxyd 1,0 M hoặc acid hydrocloric 1,0 M và bổ sung nước tinh khiết vừa đủ 1000 ml được dung dịch FaSSIF trắng. Sau đó cân 1,65 g natri taurocholat cho vào 200 ml FaSSIF trắng, khuấy từ cho đến khi natri taurocholat hòa tan hoàn toàn, rồi thêm 0,59 g lecithin và tiếp tục khuấy khoảng 4 giờ cho đến khi tạo thành dung dịch micel trong suốt, bổ sung thể tích vừa đủ 1 lít bằng dung dịch FaSSIF trắng.

#### 2.5. Phương pháp xác định động học phân hủy

Động học phân hủy của l-THP dưới các điều kiện stress khác nhau được đánh giá bằng phần mềm JMP Pro 17.0.0 (SAS Institute Inc., Hoa Kỳ) nhờ công cụ Degradation và Destructive Degradation. Hàm lượng l-THP còn lại theo thời gian trong các điều kiện stress được phân tích bằng các mô hình động học phân hủy phổ biến, bao gồm bậc 0, bậc 1, bậc 2 và mô hình Arrhenius.

Mô hình được chọn dựa vào các tiêu chí đánh giá mức độ phù hợp, gồm -2 Log-likelihood (-2LL), tiêu chuẩn thông tin Akaike (AIC), tiêu chuẩn thông tin Bayesian (BIC) và tổng bình phương sai số (SSE), kết hợp với các biểu đồ xác suất của phần dư và đồ thị P-P của phần dư Cox-Snell.

## 2.6. Xử lý số liệu

Các thí nghiệm đều được lặp lại 3 lần. Số liệu thực nghiệm được xử lý thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel 365 (Microsoft Corporation, Hoa Kỳ) và biểu diễn dưới dạng đồ thị bằng phần mềm GraphPad-Prism 8.4.3 (GraphPad Software, LLC, Hoa Kỳ). Ảnh hưởng của ánh sáng đến hàm lượng l-THP còn lại ở mẫu chứng và mẫu thử được phân tích thống kê theo mô hình ANOVA, so sánh giá trị trung bình giữa hai nhóm dựa vào kiểm định t-test với mức ý nghĩa p-value là 0,05. Trong một số nghiên cứu không định lượng được hàm lượng dược chất ban đầu, quy ước hàm lượng này là 100%.

## 3. Kết quả

### 3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và độ ẩm đến độ ổn định của l-tetrahydropalmitin dạng rắn

Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và độ ẩm đến độ ổn định của dược chất dạng rắn là hoạt động quan trọng trong phát triển thuốc. Kết quả nghiên cứu là cơ sở để xác định điều kiện bảo quản nguyên liệu và phương pháp bảo chế các dạng thuốc rắn.

### 3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Ảnh hưởng của nhiệt độ đến l-THP dạng rắn được nghiên cứu ở 3 mức nhiệt độ là 50°C, 70°C và 90°C. Kết quả (Hình 1) cho thấy nhiệt độ có ảnh hưởng tới độ ổn định của l-THP, nhiệt độ càng cao dược chất càng dễ bị phân hủy. Ở 50°C, dược chất tương đối bền; sau khi sấy 24 giờ không quan sát thấy sự thay đổi về màu sắc và thể chất, hàm lượng tăng nhẹ so với giá trị ban đầu. Điều này có thể giải thích do thao tác pha chế chậm và không được thực hiện trong điều kiện kiểm soát ẩm tốt, dược chất bị hút ẩm nhanh sau khi sấy dẫn tới sai lệch trong quá trình định lượng. Ở 70°C, dược chất kém bền hơn, sau khi sấy 4 giờ đã chuyển sang màu hơi vàng, sau 24 giờ màu vàng đậm hơn và hàm lượng hoạt chất giảm còn  $92,36 \pm 1,75$  %. Ở 90°C, dược chất bị

phân hủy nhanh. Sau 4 giờ sấy, dược chất chuyển sang màu vàng với mức độ tương đương mẫu sấy ở 70°C trong 24 giờ, cường độ màu vàng tiếp tục tăng lên theo thời gian tiếp xúc với nhiệt độ. Tuy nhiên, trên sắc ký đồ của các mẫu phân tích đều không quan sát thấy pic của các tạp chất phân hủy.

Phân tích độ giảm hàm lượng dược chất theo nhiệt độ và thời gian với sự hỗ trợ của phần mềm JMP Pro 17, công cụ Destructive Degradation bằng các mô hình Arrhenius (Phương trình 4, 5 và 6). Các mô hình động học phân hủy dạng Arrhenius được lựa chọn vì chúng cho phép mô tả đồng thời ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ đến tốc độ phân hủy của hoạt chất. Việc tích hợp yếu tố Arrhenius vào hằng số tốc độ giúp dự đoán tuổi thọ sản phẩm ở điều kiện bảo quản thông thường từ dữ liệu thử nghiệm ở điều kiện khắc nghiệt, phù hợp với hướng dẫn ICH Q1E [17] về xử lý dữ liệu độ ổn định.

Giá trị AIC khi khớp dữ liệu thực nghiệm với các mô hình Arrhenius bậc 0, bậc 1 (kiểu 3) và bậc 1 (kiểu 4) lần lượt là 101,43; 82,80 và 99,54. Với mô hình Arrhenius bậc 1 (kiểu 3), biến đổi hàm lượng dược chất còn lại sang logarit hoặc căn bậc 2, AIC tiếp tục được cải thiện và đạt giá trị thấp nhất (61,17) khi chuyển dạng căn bậc 2. Khi AIC càng nhỏ, mô hình càng phù hợp với dữ liệu thực nghiệm. Biểu đồ xác suất của phân dư chuẩn hóa (Hình 1D) cho thấy các điểm dữ liệu nằm gần đường kỳ vọng và trong vùng tin cậy, chúng tỏ phân dư phân bố chuẩn và mô hình không có sai lệch hệ thống. Điều này cho thấy sai số giữa giá trị dự đoán và giá trị thực là ngẫu nhiên và ổn định. Trong khi đó, đồ thị phân dư Cox-Snell (Hình 1DE) cho thấy mối quan hệ gần tuyến tính giữa phân phối quan sát và phân phối lý thuyết, mô hình được chọn không chỉ mô tả tốt xu hướng phân hủy mà còn phù hợp với phân bố của toàn bộ dữ liệu. Sự kết hợp của hai phép kiểm tra cho thấy mô hình Arrhenius bậc 1 (kiểu 3) (Phương trình 7) là đáng tin cậy và có thể dùng để dự đoán hành vi phân hủy của l-THP ở các điều kiện nhiệt độ khác nhau.

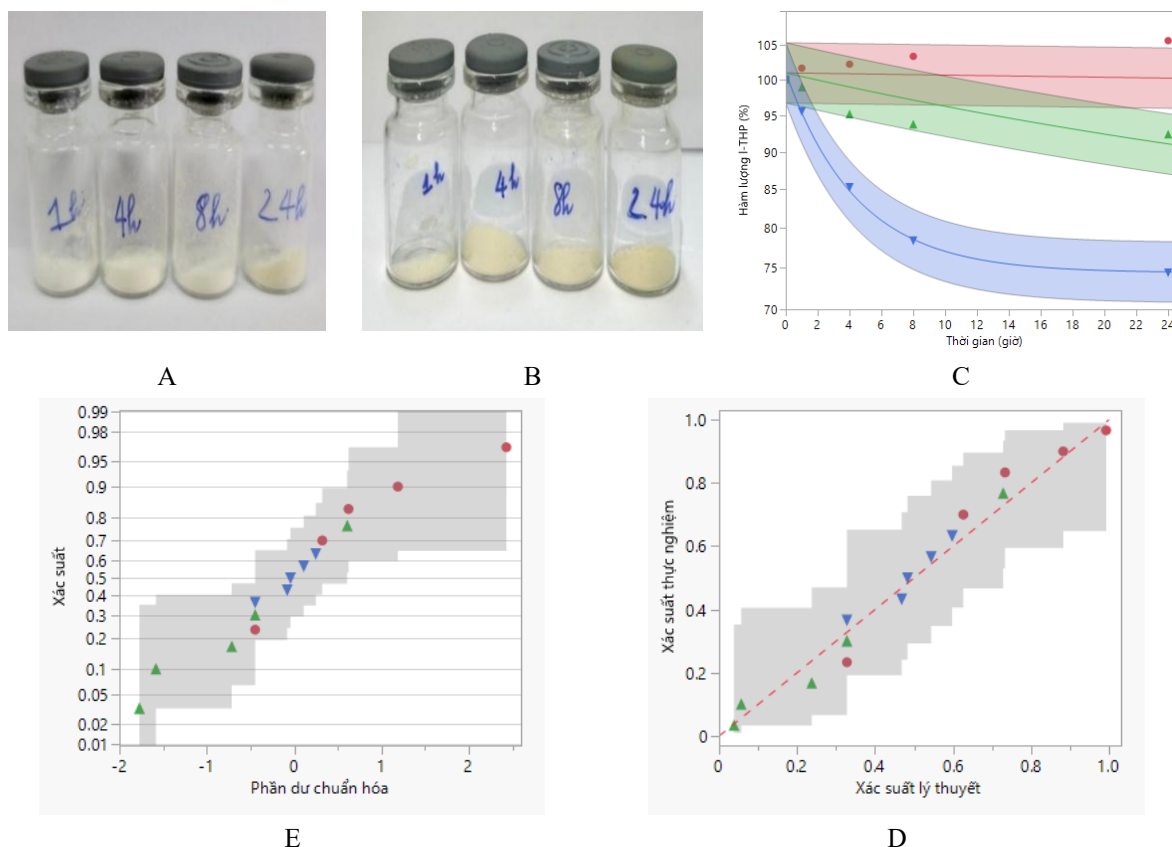
Mô hình động học phân hủy của l-THP theo thời gian ở nhiệt độ xác định được là:

$$\sqrt{C_t} = b_0 + b_1 \times \text{Exp} \left( -b_2 \times \text{Exp} \left( b_3 \times (\text{Arrhenius}(X_0) - \text{Arrhenius}(X)) \right) \right) \times t \quad (7)$$

Trong đó  $b_0 = 8,62 \pm 0,11$ ;  $b_1 = 1,42 \pm 0,12$ ;  $b_3 = 1,34 \pm 0,15$ .

Sử dụng mô hình để tính toán thời gian mà hàm lượng dược chất còn lại 90% ở hai mức nhiệt độ bảo quản là 30°C và 25°C. Với xác suất 95%, mô hình dự đoán sau 1,85 năm ở 30°C và

sau 4,38 năm ở 25°C hàm lượng dược chất trong nguyên liệu sẽ giảm còn 90%. Do vậy, để đảm bảo độ ổn định của nguyên liệu, trong sản xuất dược chất cần bảo quản ở nhiệt độ dưới 25°C.



Hình 1. Độ ổn định nhiệt của l-THP dạng rắn: Thể chất và màu sắc của bột l-THP sau khi sấy 1, 4, 8 và 24 giờ ở 70°C (A) và 90°C (B); Sự thay đổi hàm lượng l-THP theo thời gian khi sấy ở các nhiệt độ khác nhau, trong đó các điểm biểu thị giá trị thực nghiệm trung bình ( $n = 3$ ), đường cong biểu thị giá trị dự đoán từ mô hình phân hủy, và vùng tô màu biểu thị khoảng tin cậy 95% (C); Biểu đồ xác suất của phần dư chuẩn hóa của mô hình dự đoán (D); Biểu đồ P-P phần dư Cox-Snell của mô hình dự đoán (E); Màu đỏ tương ứng với 50°C, màu xanh lá tương ứng với 70°C, màu xanh da trời tương ứng với 90°C.

### 3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ và độ ẩm

Ảnh hưởng đồng thời của nhiệt độ và độ ẩm tới l-THP được nghiên cứu bằng cách sử dụng các điều kiện bảo quản khác nhau: (BQ1) dược chất đựng trong lọ thủy tinh tối màu và bảo quản ở nhiệt độ 5 - 10°C, độ ẩm 50 - 60%; (BQ2) dược chất đựng trong lọ thủy tinh tối màu và bảo

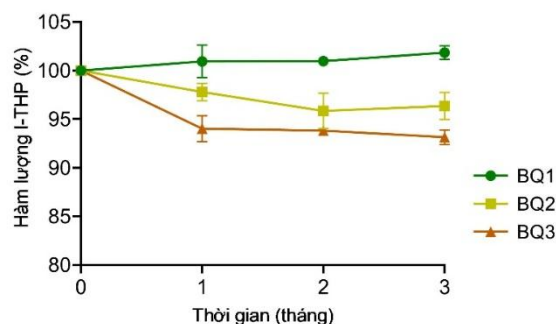
quản ở nhiệt độ  $40 \pm 2^\circ\text{C}$ , độ ẩm  $75 \pm 5\%$  và (BQ3) dược chất đựng trong túi PE bọc tránh ánh sáng và bảo quản ở nhiệt độ  $40 \pm 2^\circ\text{C}$ , độ ẩm  $75 \pm 5\%$ . Do bao bì thủy tinh có khả năng chống thấm ẩm tốt, nên có thể coi ở điều kiện BQ1 và BQ2 dược chất chỉ chịu tác động của nhiệt độ. Do khả năng chống thấm khí của túi PE kém nên

ở điều kiện bảo quản BQ3, dược chất chịu tác động của cả nhiệt độ và độ ẩm.

Sự thay đổi hàm lượng dược chất sau 3 tháng bảo quản ở các điều kiện BQ1, BQ2 và BQ3 được trình bày ở Hình 2.

Khi bảo quản ở nhiệt độ thấp (5-10°C) và tránh ẩm như BQ1, hàm lượng dược chất được duy trì gần như hằng định, hàm lượng thay đổi không đáng kể. Ở điều kiện bảo quản BQ2, dược chất không chịu tác động bởi ẩm nhưng bị tác động bởi nhiệt độ cao trong thời gian dài, hàm lượng dược chất giảm từ 100% xuống còn 96,35 ± 1,39%. Khi chịu tác động đồng thời của nhiệt độ và độ ẩm trong thời gian dài (BQ3), hàm lượng dược chất giảm từ 100% xuống còn 93,14 ± 0,74%. Tuy nhiên, về cảm quan các mẫu không

có sự khác biệt, trên sắc ký đồ cũng không phát hiện pic tạp palmatin.



Hình 2. Hàm lượng l-THP trong các mẫu bảo quản ở các điều kiện khác nhau (n=3, trung bình ± SD).

Bảng 1. Các thông số đánh giá độ phù hợp (-2LL, AIC, BIC, SSE) khi sử dụng mô hình động học bậc 0, bậc 1 và bậc 2 mô tả dữ liệu độ ổn định của l-THP dưới các điều kiện bảo quản khác nhau (A); Ước tính tham số của mô hình động học bậc hai mô tả dữ liệu độ ổn định của l-THP dưới các điều kiện bảo quản khác nhau (B)

(A)	STT	Mô hình	-2LL	AIC	BIC	SSE	DF
	1	Bậc 0	33,26	62,06	48,17	11,23	6
	2	Bậc 1	-96,67	-67,87	-81,76	0.0002	6
	3	Bậc 2	-186,55	-157,75	-171,64	1,25e-7	6

(B)	Điều kiện bảo quản	Tham số	Ước tính	SE	t Ratio	p-value
	BQ1	a	-0,01	0,0001	-82,88	<0,0001*
		k <sub>2</sub>	5,45e-5	6,44e-5	0,85	0,4301
	BQ2	a	-0,01	0,0001	-83,45	<0,0001*
		k <sub>2</sub>	-0,00013	6,44e-5	-2,09	0,0819
	BQ3	a	-0,01	0,0001	-84,40	<0,0001*
		k <sub>2</sub>	-0,00022	6,443e-5	-3,46	0,0134*

Dữ liệu hàm lượng l-THP còn lại theo thời gian ở các điều kiện bảo quản BQ1, BQ2 và BQ3 được khớp với các mô hình động học phân hủy bậc 0, bậc 1 và bậc 2. Kết quả (Bảng 1) cho thấy mô hình động học bậc 2 mô tả tốt nhất dữ liệu độ ổn định của l-THP, thể hiện qua các giá trị -2LL, AIC, BIC và SSE đều nhỏ nhất so với các mô hình còn lại. Chỉ số -2LL phản ánh mức độ sai lệch giữa mô hình và dữ liệu thực nghiệm. Tuy nhiên, do -2LL có xu hướng giảm khi số tham số của mô hình tăng, việc đánh giá đồng thời các tiêu chí AIC và BIC là cần thiết nhằm cân bằng giữa độ khớp và tính tinh gọn của mô hình. Trong khi AIC ưu tiên khả năng dự đoán, BIC

phạt nặng hơn đối với các mô hình dư thừa tham số. Bên cạnh đó, SSE được sử dụng để kiểm soát nguy cơ quá khớp, với giá trị càng nhỏ cho thấy khả năng dự đoán càng tốt. Dựa trên các tiêu chí đánh giá nêu trên, mô hình động học phân hủy bậc 2 được xác định là mô hình phù hợp nhất để mô tả và dự đoán sự phân hủy của l-THP trong các điều kiện bảo quản đã khảo sát, đồng thời không cho thấy dấu hiệu quá khớp hay dư thừa tham số.

Giá trị ước tính của các tham số trong mô hình động học phân hủy bậc 2 được trình bày ở Bảng 1B. Trong ba điều kiện bảo quản khảo sát, điều kiện BQ3 gây suy giảm hàm lượng l-THP

rõ rệt nhất, thể hiện qua hằng số tốc độ phản ứng bậc 2 ( $k_2$ ) có giá trị  $-0,00022$  và có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,013 < 0,05$ ). Kết quả này cho thấy quá trình phân hủy của l-THP tuân theo động học bậc 2 và chịu ảnh hưởng đáng kể của các yếu tố môi trường, đặc biệt là nhiệt độ và độ ẩm.

Việc mô hình bậc 2 mô tả tốt dữ liệu thực nghiệm gợi ý rằng tốc độ phân hủy của l-THP không chỉ phụ thuộc vào hàm lượng dược chất còn lại mà còn liên quan đến sự hiện diện của tác nhân phản ứng trong môi trường, đặc biệt là hơi ẩm. Do đó, để hạn chế quá trình phân hủy và nâng cao độ ổn định của l-THP, cần kiểm soát chặt chẽ độ ẩm trong cả quá trình sản xuất và bảo quản, ưu tiên các phương pháp sản xuất không sử dụng nước và điều kiện bảo quản khô, tránh ẩm.

#### 2.4. Ảnh hưởng của ánh sáng đến độ ổn định của l-tetrahydropalmitin dạng rắn và dạng dung dịch

Đối với dạng rắn, sau 21 ngày phơi nhiễm ánh sáng, mẫu chứng không ghi nhận sự thay đổi màu sắc, hàm lượng dược chất giảm nhẹ còn  $95,08 \pm 0,04\%$ . Trong khi đó, mẫu thử chuyển từ màu trắng sang màu vàng (Hình 3A), kèm theo sự suy giảm hàm lượng l-THP xuống  $92,73 \pm 0,57\%$ . So sánh hàm lượng dược chất còn lại giữa mẫu thử và mẫu chứng bằng kiểm định t-test cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,0431 < 0,05$ ), chứng tỏ ánh sáng ảnh hưởng đáng kể đến độ ổn định của l-THP dạng rắn trong điều kiện khảo sát. Ngoài ra, trên sắc ký đồ của mẫu thử quan sát thấy sự xuất hiện của pic tạp palmitin.



Hình 3. Sự thay đổi màu sắc của bột l-THP và dung dịch l-THP sau khi chiếu sáng 21 ngày.

Bảng 2. Sự thay đổi hàm lượng l-THP sau khi chiếu sáng 21 ngày

Mẫu	Hàm lượng l-THP (%)			p-value
	Ban đầu	Sau phơi sáng 21 ngày		
		Mẫu chứng	Mẫu thử	
l-THP rắn	100	$95,08 \pm 0,04$	$92,73 \pm 0,57$	0,0431
l-THP dung dịch	100	$94,63 \pm 0,79$	$91,97 \pm 0,97$	0,0094

Đối với dạng dung dịch, sau 21 ngày phơi nhiễm ánh sáng, dung dịch chuyển từ không màu sang màu vàng (Hình 3B). Hàm lượng l-THP giảm từ 100% xuống còn  $94,63 \pm 0,79\%$  đối với mẫu chứng và  $91,97 \pm 0,97\%$  đối với mẫu thử. Kết quả kiểm định t-test cho thấy sự suy giảm hàm lượng l-THP ở mẫu thử so với mẫu chứng có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,0094 < 0,05$ ). Tương tự dạng rắn, sắc ký đồ của mẫu thử cũng ghi nhận sự xuất hiện của pic tạp palmitin.

Như vậy, ánh sáng gây phân hủy l-THP ở cả dạng rắn và dạng dung dịch tạo ra sản phẩm phân hủy palmitin trong các điều kiện khảo sát.

#### 3.5. Ảnh hưởng của chất oxy hóa đến độ ổn định của l-tetrahydropalmitin trong dung dịch

Ảnh hưởng của chất oxy hóa (dung dịch hydroperoxid 30%) đến độ ổn định của l-THP được trình bày ở Bảng 3. Quá trình oxy hóa diễn

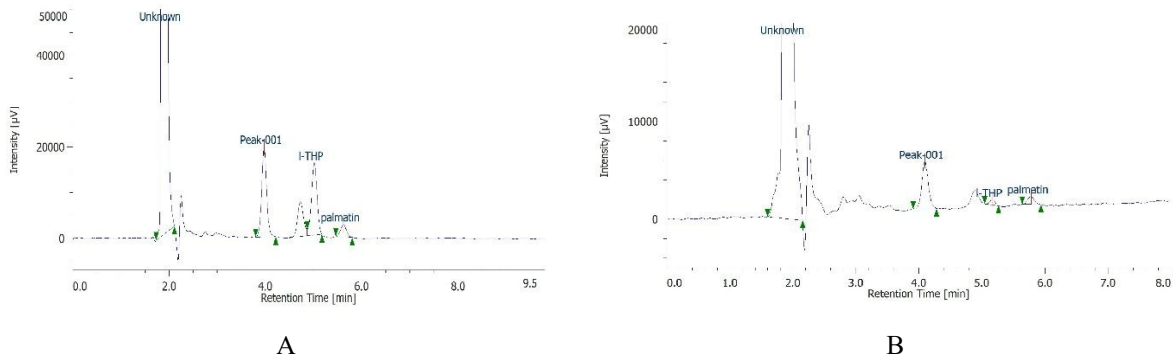
ra ngay khi l-THP tiếp xúc với dung dịch hydroperoxid nên sau 5 phút hàm lượng dược chất đã giảm xuống còn  $82,68 \pm 0,62\%$ . Có thể thấy hàm lượng l-THP giảm nhanh, sau 24 giờ

dược chất gần như đã bị oxy hóa hết. Trên sắc ký đồ của các mẫu phân tích đều quan sát thấy có nhiều pic tạp, trong đó có pic tương ứng với thời gian lưu của palmatin (Hình 4).

Bảng 3. Ảnh hưởng của chất oxy hóa đến độ ổn định của l-THP ở 80°C

Thời gian (h)	Tính chất	Màu sắc	Hàm lượng l-THP (%)	Số lượng tạp	Thời gian lưu của tạp (phút)
0,083	Dung dịch trong suốt	Vàng	$82,68 \pm 0,62$	3	4,1; 4,9; 5,6
1		Vàng	$66,63 \pm 0,36$	3	4,1; 4,9; 5,6
4		Vàng+	$37,87 \pm 0,58$	3	4,1; 4,9; 5,6
8		Vàng++	$25,32 \pm 0,33$	3	4,1; 4,9; 5,6
24		Vàng+++	$1,45 \pm 0,12$	5	2,8; 3,3; 4,1; 4,9; 5,6

Ghi chú: Dấu + biểu diễn cường độ màu.



Hình 4. Sắc ký đồ HPLC của các mẫu l-THP trong dung dịch hydroperoxid 30% ở 80°C sau 8 h (A) và 24 h (B).

Bảng 4. Các thông số đánh giá độ phù hợp (-2LL, AIC, BIC, SSE) của mô hình động học bậc 0, bậc 1 và bậc 2 khi mô tả dữ liệu độ ổn định của l-THP dưới tác động của chất oxy hóa (dung dịch hydroperoxid 30%)

STT	Mô hình	-2LL	AIC	BIC	SSE	DF
1	Bậc 0	43,34	53,34	46,56	1703,47	3
2	Bậc 1	-15,66	-5,66	-12,44	0,01	3
3	Bậc 2	-11,68	-1,68	-8,46	0,03	3

Phân tích dữ liệu hàm lượng l-THP còn lại theo thời gian bằng các mô hình bậc 0, bậc 1 và bậc 2. Kết quả (Bảng 4) cho thấy mô hình bậc 1 mô tả tốt nhất dữ liệu độ ổn định của l-THP trong môi trường hydroperoxid 30% với các giá trị -2LL, AIC, BIC và SSE là thấp nhất. Hằng số tốc độ phản ứng ước tính được là  $k_1 = -0,0739$  ( $p = 0,0002$ ).

Kết quả này cho thấy trong môi trường oxy hóa mạnh với lượng tác nhân oxy hóa dư (dung dịch hydroperoxid 30%), quá trình phân hủy của

l-THP tuân theo động học bậc 1, trong đó tốc độ phản ứng chủ yếu phụ thuộc vào nồng độ l-THP.

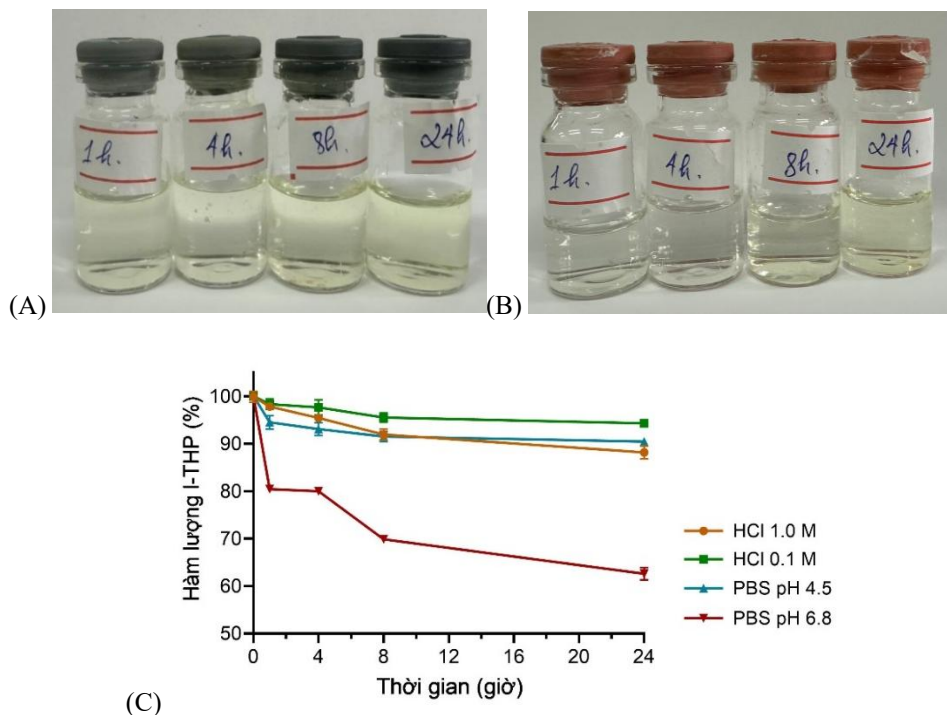
### 3.6. Ảnh hưởng của pH đến độ ổn định của l-tetrahydropalmatin trong dung dịch

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của pH đến độ ổn định của l-THP được trình bày ở Hình 5.

Hình 5A và 5B thể hiện sự thay đổi màu sắc của dung dịch l-THP trong môi trường acid hydrochloric 1,0 M và 0,1 M theo thời gian. Có thể quan sát thấy hiện tượng chuyển màu vàng

xảy ra sớm hơn và rõ hơn trong dung dịch acid hydrochloric 1,0 M so với dung dịch acid hydrochloric 0,1 M. Chứng tỏ nồng độ acid ảnh hưởng đến mức độ biến màu của dung dịch. Nhìn

chung trong các môi trường acid, sự suy giảm hàm lượng l-THP thấp hơn đáng kể so với môi trường pH 6,8 (Hình 5C).



Hình 5. Độ ổn định của l-THP ở các pH khác nhau: Sự thay đổi màu sắc của dung dịch l-THP trong môi trường HCl 1,0 M (A) và HCl 0,1 M (B) sau 1, 4, 8 và 24 giờ ở nhiệt độ 80°C; Sự suy giảm hàm lượng l-THP trong các môi trường pH khác nhau ở nhiệt độ 80°C.

Bảng 5. Các thông số đánh giá độ phù hợp (-2LL, AIC, BIC, SSE) khi sử dụng mô hình động học bậc 0, bậc 1 và bậc 2 mô tả dữ liệu độ ổn định của l-THP ở các pH khác nhau (A); Ước tính tham số của mô hình động học bậc hai mô tả dữ liệu độ ổn định của l-THP ở các pH khác nhau (B)

(A)	STT	Mô hình	-2LL	AIC	BIC	SSE	DF
	1	Bậc 0	112,25	141,34	136,22	320,66	12
	2	Bậc 1	-101,23	-72,134	-77,26	0,0074	12
	3	Bậc 2	-247,81	-218,72	-223,84	4,87e-6	12

(B)	Môi trường	Thông số	Ước tính	SD	t Ratio	p-value
	HCl 1,0 M	a	-0,01	0,0004	-27,35	<0,0001*
		k <sub>2</sub>	-5,14e-5	3,25e-5	-1,58	0,1405
	HCl 0,1 M	a	-0,01	0,0004	-27,16	<0,0001*
		k <sub>2</sub>	-2,19e-5	3,254e-5	-0,67	0,5133
	PBS 4,5	a	-0,01	0,0004	-27,96	<0,0001*
		k <sub>2</sub>	-3,11e-5	3,25e-5	-0,95	0,3584
	PBS 6,8	a	-0,01	0,0004	-30,95	<0,0001*
		k <sub>2</sub>	-0,0002	3,25e-5	-6,24	<0,0001*

Sự suy giảm hàm lượng dược chất trong các môi trường tuân theo động học bậc 2 (Bảng 5). Hằng số tốc độ phân hủy trung bình của dược chất trong các môi trường acid hydrochloric 1,0 M; acid hydrochloric 0,1 M; PBS pH 4,5; PBS pH 6,8 lần lượt là -0,000051; -0,000022; -0,000031 và -0,0002. Các giá trị hằng số tốc độ này cho thấy l-THP kém bền nhất trong môi trường pH 6,8 và dung dịch acid mạnh (acid hydrochloric 1,0 M), tiếp đó là môi trường pH 4,5. Trong môi trường acid hydrochloric 0,1 M, dược chất ổn định hơn cả.

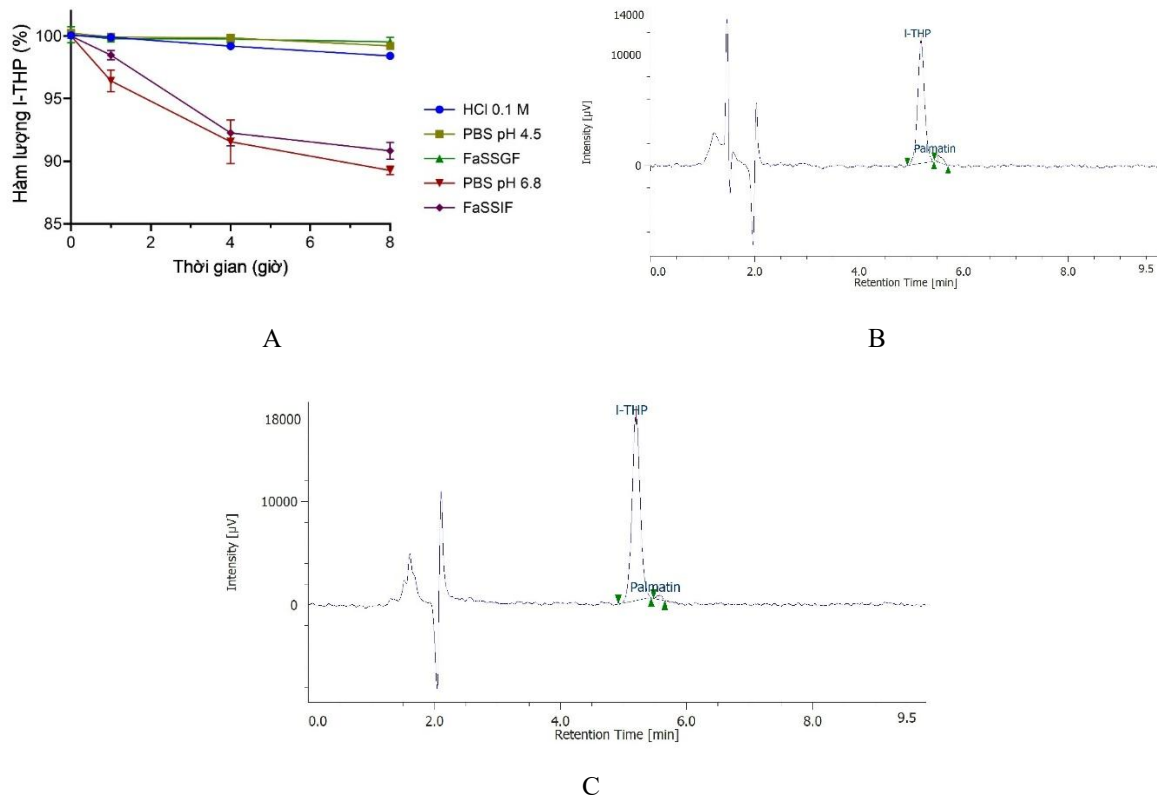
Ngoài ra, trên sắc ký đồ của tất cả các mẫu thử đều ghi nhận sự xuất hiện của pic tạp palmatin. Kết quả này cho thấy palmatin là sản phẩm phân hủy của l-THP dưới tác động đồng thời của pH và nhiệt độ trong các điều kiện khảo sát.

Các kết quả trên gợi ý khả năng l-THP có thể bị phân hủy trong môi trường đường tiêu hóa. Do

đó, nhằm đánh giá đầy đủ hơn độ ổn định của l-THP khi dùng đường uống, tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của các loại dịch tiêu hóa đến độ ổn định của dược chất ở nhiệt độ sinh lý ( $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ).

### 3.7. Ảnh hưởng của dịch tiêu hóa đến độ ổn định của l-tetrahydropalmatin trong dung dịch

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của pH và dịch tiêu hóa đến độ ổn định của l-THP được trình bày ở Hình 6. Nhìn chung, xu hướng ảnh hưởng của pH đến độ ổn định của l-THP ở nhiệt độ cơ thể ( $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ) tương tự như tại nhiệt độ cao ( $80^\circ\text{C}$ ), tuy nhiên tốc độ suy giảm hàm lượng dược chất chậm hơn đáng kể. Dược chất kém bền trong môi trường pH 6,8 và dịch ruột mô phỏng (FaSSIF), hàm lượng dược chất giảm xuống còn tương ứng còn  $89,26 \pm 0,35\%$  và  $90,83 \pm 0,67\%$  sau 24 giờ.



Hình 6. Độ ổn định của l-THP trong các môi trường dịch tiêu hóa: Sự suy giảm hàm lượng l-THP trong các môi trường pH khác nhau ở nhiệt độ  $37 \pm 2^\circ\text{C}$ ; Sắc ký đồ của dung dịch l-THP trong môi trường PBS pH 6,8 (B) và FaSSIF (C) sau 8 giờ ở  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .

Bảng 6. Các thông số đánh giá độ phù hợp (-2LL, AIC, BIC, SSE) khi sử dụng mô hình động học bậc 0, bậc 1 và bậc 2 mô tả dữ liệu độ ổn định của l-THP trong các môi trường dịch tiêu hóa (A); Ước tính tham số của mô hình động học bậc hai mô tả dữ liệu độ ổn định của l-THP trong các môi trường dịch tiêu hóa (B)

(A)	STT	Mô hình	-2LL	AIC	BIC	SSE	DF
	1	Bậc 0	49,95	94,40	79,91	14,23	10
	2	Bậc 1	-166,67	-122,22	-136,71	0,0002	10
	3	Bậc 2	-316,57	-272,13	-286,62	1,564e-7	10

(B)	Môi trường	Thông số	Ước tính	SD	t Ratio	p-value
	HCl 0,1 M	a	-0,01	9,04e-5	-110,53	<0,0001*
		k <sub>2</sub>	-2,13e-5	0,00002	-1,06	0,31
	PBS pH 4,5	a	-0,01	9,04e-5	-110,41	<0,0001*
		k <sub>2</sub>	-1,15e-5	0,00002	-0,57	0,58
	FaSSGF	a	-0,01	9,04e-5	-110,62	<0,0001*
		k <sub>2</sub>	-5,83e-6	0,00002	-0,29	0,78
	PBS pH 6,8	a	-0,01	9,04e-5	-112,35	<0,0001*
		k <sub>2</sub>	-0,00014	0,00002	-7,16	<0,0001*
	FaSSIF	a	-0,01	9,04e-5	-111,44	<0,0001*
		k <sub>2</sub>	-0,00013	0,00002	-6,52	<0,0001*

Tốc độ giảm hàm lượng dược chất trong các môi trường dịch tiêu hóa tuân theo động học bậc 2 (Bảng 6A) với hằng số tốc độ phân hủy trung bình trong các môi trường acid hydrochloric 0,1 M; PBS pH 4,5; PBS pH 6,8; FaSSGF và FaSSIF (Bảng 6B) lần lượt là -0,000021; -0,000012; -0,000140; -0,000006; -0,000130. Các giá trị hằng số tốc độ này cho thấy dược chất bền trong môi trường dịch dạ dày mô phỏng (FaSSGF), pH tá tràng (pH 4,5), pH dạ dày (acid hydrochloric 0,1 M), kém bền hơn trong môi trường pH dịch ruột (pH 6,8) và dịch ruột mô phỏng (FaSSIF).

Ngoài ra, trên sắc ký đồ của các mẫu phân tích tại thời điểm 4 và 8 giờ (Hình 6B, 6C) trong môi trường pH 6,8 và dịch ruột mô phỏng đều ghi nhận sự xuất hiện của pic tạp palmatin, gợi ý rằng palmatin là sản phẩm phân hủy của l-THP trong các môi trường này.

#### 4. Bàn luận

Nghiên cứu này đã đánh giá độ ổn định của l-THP dạng rắn và dạng dung dịch theo hướng dẫn ICH nhằm hiểu rõ hơn động học phân hủy và các con đường phân hủy của l-THP.

Dược chất rắn kém bền với nhiệt độ, độ ẩm và ánh sáng. Tuy nhiên con đường phân hủy và

sản phẩm phân hủy của dược chất bởi nhiệt độ và độ ẩm vẫn chưa được biết rõ. Trên sắc ký đồ các mẫu không quan sát thấy sự xuất hiện của palmatin, gợi ý rằng sự phân hủy l-THP rắn bởi nhiệt độ không tạo ra palmatin hoặc lượng palmatin tạo ra quá nhỏ, thấp hơn giới hạn phát hiện của phương pháp HPLC. Về cảm quan các mẫu bột đều chuyển sang màu vàng đặc trưng của palmatin, tuy nhiên cường độ màu vàng thấp hơn rất nhiều so với mẫu bị chiếu sáng. Trên sắc ký đồ mẫu phơi sáng có xuất hiện palmatin, gợi ý rằng sự quang phân l-THP tạo ra palmatin và lượng palmatin phải đủ lớn mới quan sát thấy trên sắc ký đồ.

Dược chất dạng dung dịch kém bền trong môi trường acid mạnh (acid hydrochloric 1,0 M) và pH 6,8 ở nhiệt độ cao (80°C), dễ bị oxy hóa bởi chất oxy hóa mạnh (hydroperoxyd). Ở nhiệt độ cơ thể, dược chất bền hơn trong môi trường pH dịch dạ dày (acid hydrochloric 0,1 M), dịch dạ dày mô phỏng (FaSSGF), pH tá tràng (PBS pH 4,5), kém bền trong môi trường pH ruột non (PBS pH 6,8) và dịch ruột mô phỏng (FaSSIF). l-THP ở dạng hòa tan cũng kém bền với ánh sáng. Đặc biệt trên sắc ký đồ của các mẫu này đều quan sát thấy sự xuất hiện của palmatin. Sự phân hủy l-THP bởi ánh sáng thông qua phản ứng oxy hóa – khử hydro tạo ra palmatin đã được

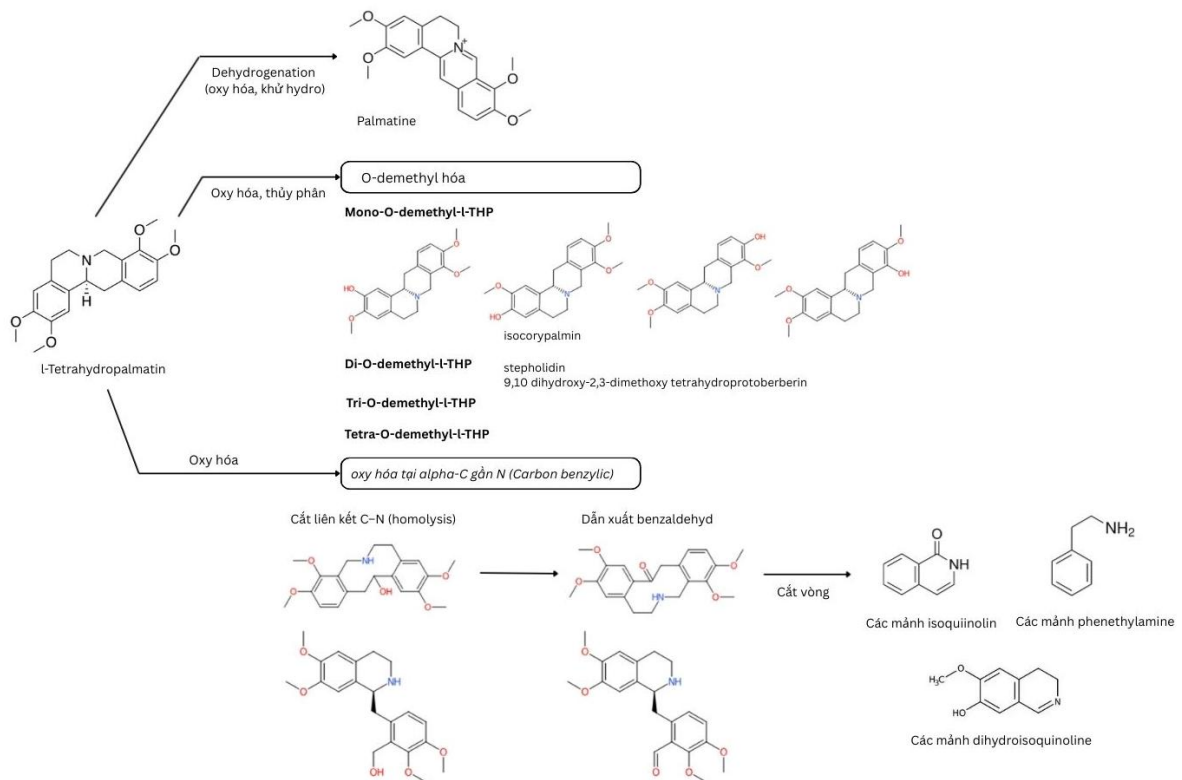
chứng minh bởi Huanfeng Ye và cộng sự [12]. Ngoài palmatin, trên sắc ký đồ của các mẫu stress oxy hóa còn quan sát thấy các pic tạp có thời gian lưu ngắn hơn so với l-THP (5,4 phút) và palmatin (5,6 phút), gợi ý rằng các sản phẩm oxy hóa tạo ra có độ phân cực cao hơn.

Căn cứ vào cấu trúc hóa học của l-THP và các kết quả nghiên cứu ở trên, có thể dự đoán rằng l-THP trải qua nhiều con đường phân hủy khác nhau (Hình 7) dưới tác động của các yếu tố môi trường như oxy hóa, pH, ánh sáng, nhiệt độ và độ ẩm.

Thứ nhất, con đường oxy hóa – khử hydro (dehydrogenation) đóng vai trò quan trọng. Theo đó, l-THP bị oxy hóa tại khung tetrahydroisoquinolin để tạo thành palmatin. Con đường này phù hợp với kết quả thực nghiệm khi palmatin được xác định là sản phẩm phân hủy chính trong các điều kiện stress oxy hóa, pH và dịch tiêu hóa. Như vậy oxy hóa là cơ chế phân hủy chính của l-THP trong dung dịch.

Thứ hai, phản ứng O-demethyl hóa tại các nhóm methoxy (-OCH<sub>3</sub>) có thể xảy ra thông qua cơ chế thủy phân hoặc oxy hóa, dẫn đến sự hình thành các dẫn xuất mono-, di-, tri- và tetra-O-demethyl-l-THP. Các sản phẩm này phản ánh tính nhạy cảm của các nhóm methoxy trên vòng thơm của l-THP đối với điều kiện pH và nhiệt độ, đặc biệt trong môi trường acid và trung tính-kiềm nhẹ.

Thứ ba, trong điều kiện oxy hóa mạnh, l-THP có thể bị oxy hóa tại vị trí carbon benzylic ( $\alpha$ -C gắn với nguyên tử N), làm suy yếu liên kết C-N và dẫn đến cắt liên kết C-N (homolysis). Quá trình này có thể tiếp tục gây cắt vòng, tạo thành các mảnh cấu trúc nhỏ hơn như dẫn xuất benzaldehyd, các mảnh isoquinolin, dihydroisoquinolin và phenethylamin. Các chất tạo ra có độ phân cực cao hơn so với l-THP phù hợp với hiện tượng các pic tạp quan sát được trên sắc ký đồ của các mẫu stress oxy hóa có thời gian lưu ngắn hơn so với l-THP và palmatin.



Hình 7. Dự đoán các con đường phân hủy l-THP.

Nhìn chung, oxy hóa được xem là cơ chế trung tâm trong các con đường phân hủy của l-THP, trong khi các quá trình O-demethyl hóa và cắt liên kết C–N đóng vai trò thứ cấp nhưng góp phần làm gia tăng mức độ phân hủy của dược chất trong các điều kiện bất lợi. Các con đường phân hủy này được dự đoán dựa trên đặc điểm cấu trúc hóa học của l-THP và cần được kiểm chứng trong các nghiên cứu tiếp theo. Các kỹ thuật phân tích hiện đại như LC–MS/MS, các phương pháp phổ ( $^1\text{H}$  NMR,  $^{13}\text{C}$  NMR, FTIR), cũng như các kỹ thuật phân tích nhiệt (DSC) cần sử dụng để xác nhận và làm rõ cơ chế phân hủy đã nêu. Bên cạnh đó, cần tiếp tục nghiên cứu xác định bước sóng chiếu sáng và khoảng pH ổn định của l-THP làm cơ sở xây dựng công thức và quy trình bào chế các chế phẩm chứa l-THP.

Từ các đặc điểm phân hủy đã được xác định, có thể rút ra một số định hướng về điều kiện bảo quản và bào chế các chế phẩm chứa l-THP. Thứ nhất, nguyên liệu l-THP dạng rắn nên được bảo quản ở nhiệt độ dưới  $25^\circ\text{C}$  trong bao bì kín, tránh ẩm và tránh ánh sáng. Thứ hai, khi bào chế các dạng thuốc rắn chứa l-THP, cần hạn chế tối đa tác động của ẩm và nhiệt, như sử dụng tá dược dính không chứa nước, ưu tiên các phương pháp tạo hạt khô hoặc dập thẳng, đồng thời kiểm soát chặt chẽ hàm ẩm của môi trường sản xuất. Thứ ba, đối với các dạng thuốc lỏng chứa l-THP, cần bổ sung chất chống oxy hóa, sử dụng hệ đệm duy trì pH acid, loại bỏ oxy hòa tan trong dung dịch cũng như sục khí nitrogen để loại oxy đầu ống khi đóng lọ. Thứ tư, không nên áp dụng phương pháp tiệt khuẩn bằng nhiệt đối với dung dịch tiêm l-THP; thay vào đó, phương pháp lọc tiệt khuẩn được xem là phù hợp hơn. Cuối cùng, các dung dịch chứa l-THP cần được bảo quản trong bao bì tránh ánh sáng nhằm hạn chế quá trình quang phân.

## 5. Kết luận

Độ ổn định của l-THP dạng rắn dưới tác động của nhiệt độ, độ ẩm và ánh sáng, cũng như độ ổn định của l-THP dạng dung dịch dưới tác động của ánh sáng, chất oxy hóa, pH và dịch tiêu hóa đã được đánh giá theo các hướng dẫn của

ICH. Kết quả cho thấy l-THP dạng rắn kém bền khi tiếp xúc với nhiệt độ, độ ẩm cao và ánh sáng. Do đó, nguyên liệu dược chất nên được bảo quản ở nhiệt độ dưới  $25^\circ\text{C}$  trong bao bì tránh ẩm và tránh ánh sáng. Dung dịch l-THP dễ bị chuyển màu và suy giảm hàm lượng khi tiếp xúc với ánh sáng. Trong môi trường oxy hóa mạnh như hydroperoxid 30%, l-THP bị phân hủy nhanh theo động học bậc 1. Ngoài ra, dược chất cũng kém bền trong môi trường pH trung tính đến hơi kiềm (pH 6,8), trong dịch ruột mô phỏng (FaSSIF) và môi trường acid mạnh (HCl 1,0 M), quá trình phân hủy tuân theo động học bậc 2. Palmatin được xác định là sản phẩm phân hủy chính của l-THP trong dung dịch dưới tác động của oxy hóa, pH và dịch tiêu hóa. Tuy nhiên, cần thực hiện thêm các nghiên cứu chuyên sâu nhằm làm rõ cơ chế phân hủy, xác định đầy đủ các sản phẩm phân hủy và thiết lập vùng pH cũng như điều kiện ổn định tối ưu cho dược chất này. Trên cơ sở các kết quả thu được, khi pha chế các dạng thuốc lỏng chứa l-THP cần bổ sung chất chống oxy hóa, kiểm soát pH và tránh các điều kiện oxy hóa để nâng cao độ ổn định. Các chế phẩm chứa l-THP nên được bảo quản trong bao bì tránh ánh sáng. Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học để đề xuất điều kiện bảo quản, phát triển dạng bào chế và xây dựng tiêu chuẩn chất lượng cho các chế phẩm chứa l-THP.

## Tài liệu tham khảo

- [1] Q. Du, X. Meng, S. Wang, A Comprehensive Review on the Chemical Properties, Plant Sources, Pharmacological Activities, Pharmacokinetic and Toxicological Characteristics of Tetrahydropalmatine, *Frontiers in Pharmacology*, Vol. 13, 2022, pp. 890078, <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.890078>.
- [2] D. H. Bich, D. Q. Chung, B. X. Chuong et al., *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang, Medicinal Plants and Animals in Vietnam, Science and Technics Publishing House, Hanoi, 2004, pp. 1016-1017 (in Vietnamese).
- [3] Z. Yang, Y. C. Shao, S. J. Li et al., Medication of l-Tetrahydropalmatine Significantly Ameliorates Opiate Craving and Increases The Abstinence Rate in Heroin Users: A Pilot Study, *Acta Pharmacologica Sinica*, Vol. 29, No. 7, 2008,

- pp. 781-788,  
<https://doi.org/10.1111/j.1745-7254.2008.00817.x>.
- [4] H. E. Hassan, D. Kelly, M. Honick et al., Pharmacokinetics and Safety Assessment of l-Tetrahydropalmatine in Cocaine Users: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study, *The Journal of Clinical Pharmacology*, Vol. 57, No. 2, 2017, pp. 151-160, <https://doi.org/10.1002/jcph.789>.
- [5] N. T. Tung, C. S. Tran, T. M. Pham et al., Development of Solidified Self-microemulsifying Drug Delivery Systems Containing l-Tetrahydropalmatine: Design of Experiment Approach and Bioavailability Comparison, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 537, No. 1-2, 2018, pp. 9-21, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.12.027>.
- [6] N. T. Tung, C. S. Tran, T. L. Nguyen et al., Effect of Surfactant on The In Vitro Dissolution and The Oral Bioavailability of A Weakly Basic Drug From An Amorphous Solid Dispersion, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 162, 2021, pp. 105836, <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2021.105836>.
- [7] N. T. Tung, L. N. Tran, T. P. D. Pham et al., Establishment of Level A In Vitro - In Vivo Correlation and Application of Design of Experiment Approach to Formulate Multiparticulate Sustained Release System Containing l-Tetrahydropalmatine-Loaded Amorphous Solid Dispersion, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, Vol. 115, 2026, pp. 107646, <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2025.107646>.
- [8] L. C. Wu, Z. Shuo, G. H. Qing et al., Determination of l-Tetrahydropalmatine in Human Plasma by HPLC and Pharmacokinetics of Its Disintegrating Tablets in Healthy Chinese, *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, Vol. 36, No. 4, 2011, pp. 257-262, <https://doi.org/10.1007/s13318-011-0045-x>.
- [9] C. Li, C. Liu, J. Liu et al., Correlation Between Rheological Properties, In Vitro Release, and Percutaneous Permeation of Tetrahydropalmatine, *AAPS PharmSciTech*, Vol. 12, No. 3, 2011, pp. 1002-1010, <https://doi.org/10.1208/s12249-011-9664-4>.
- [10] Y. Li, T. Zhang, J. Huai et al., Pharmacokinetic Study of Three Different Formulations of L-Tetrahydropalmatine in Brain Tissues of Rats, *Biomedical Chromatography*, Vol. 35, No. 5, 2021, p. e5066, <https://doi.org/10.1002/bmc.5066>.
- [11] Vietnamese Ministry of Health, *Rotundin, Vietnamese Pharmacopoeia V*, Medical Publishing House, Hanoi, 2017, pp. 842-843 (in Vietnamese).
- [12] H. Ye, Y. Ding, H. Chen et al., Chemical Stability and Degradation of Levo-Tetrahydropalmatine in Aqueous Solution: Effect of pH, Metal Ions, Temperature, UV, *Journal of Molecular Structure*, Vol. 1349, 2026, pp. 143946, <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2025.143946>.
- [13] International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, *Stability Testing of New Drug Substances and Products Q1A(R2)*, 2003.
- [14] International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, *Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products Q1B*, 2003.
- [15] T. P. D. Pham, P. T. Tran, T. T. Nguyen, et al., Development and Validation of A High-Performance Liquid Chromatography Method for The Quantification of l-Tetrahydropalmatine in Extended-Release Tablets, *Vietnam Journal of Science and Technology*, Vol. 67, No. 11DB, 2025, pp. 12-20, <https://doi.org/10.31276/VJST.2025.3340>.
- [16] S. Klein, The Use of Biorelevant Dissolution Media to Forecast The In Vivo Performance of A Drug, *AAPS Journal*, Vol. 12, No. 3, 2010, pp. 397-406, <https://doi.org/10.1208/s12248-010-9203-3>.
- [17] International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, *Evaluation of Stability Data: ICH Q1E*, 2003.