



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN  
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)  
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



**2-0002926**

(51) **A61K 9/08; A61K 47/10; A61P 7/02; A61P** (13) **Y**  
2020.01 25/28; A61P 29/00; A61K 31/365

(21) 2-2020-00422

(22) 17/05/2012

(67) 1-2014-03181

(86) PCT/CN2012/075631 17/05/2012

(87) WO2013/159411 A1 31/10/2013

(30) 201210120787.6 23/04/2012 CN

(45) 25/06/2022 411

(43) 25/11/2015 332A

(73) CHENGDU BAIYU TECHNOLOGY PHARMACY CO., LTD (CN)

LiuTai Road West 433, Chengdu Cross-Straits It-Industry Development Zone,  
Wenjiang District, Chengdu, Sichuan, China

(72) SUN, Yi (CN); ZHU, Yonghong (CN); TONG, Zhengbing (CN); WANG, Jie (CN).

(74) Công ty cổ phần Tư vấn S&B (S&B CONSULTANT., CORP.)

(54) DUNG DỊCH TIÊM CHỨA GINKGOLIT

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến dung dịch tiêm chứa ginkgolit. Dung dịch tiêm này chứa các thành phần sau đây: ginkgolit với lượng 5 mg/ml (tính theo hàm lượng terpen lacton); glyxerol với lượng 0,4 ml/ml; và etanol với lượng 0,6 ml/ml.

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp điều chế thuốc, cụ thể là đề cập đến dung dịch tiêm chứa ginkgolit và phương pháp điều chế ginkgolit, thuộc lĩnh vực thuốc phòng chữa bệnh.

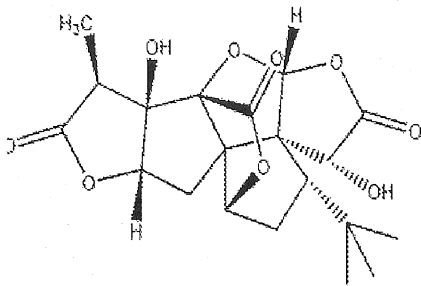
### **Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích**

Bắt đầu từ thập niên 60 của thế kỷ trước, nhiều quốc gia trên thế giới đã áp dụng kỹ thuật chiết tách hiện đại để tiến hành nghiên cứu các thành phần hóa học của lá bạch quả, qua thực nghiệm dược lý và thực chứng lâm sàng cho thấy, hoạt tính sinh vật đa phương diện của lá bạch quả có liên quan đến các thành phần hóa học riêng biệt của nó. Tiến sĩ Willar Schwabe người Đức lần đầu tiên đã đăng ký một loại chất chiết xuất đơn giản từ lá bạch quả, bằng độc quyền sáng chế năm 1972 (W Schwabe DE 176708 và DE 2117429), đặt tên là EGb 761, có hiệu quả điều trị rõ rệt trong điều trị các bệnh huyết quản tim, não và các bệnh thuộc hệ thần kinh. Các quốc gia đưa thuốc bào chế từ bạch quả vào danh mục thuốc điều trị là Đức, Pháp và Trung Quốc; các nước khác đều đưa vào thực phẩm chức năng hoặc thuốc dùng không theo toa; thực phẩm chức năng từ bạch quả do Mỹ tìm ra đã được Cục quản lý Dược phẩm và Thực phẩm Hoa Kỳ (Food and Drug Administration - FDA) phê chuẩn.

Ginkgolit là hợp chất tổng hợp loại Terpen, gọi là Terpen lacton, do sesquiterpen lacton và diterpenoit – là thành phần hoạt tính quan trọng trong lá bạch quả, hợp thành. Bilobalit là sesquiterpen lacton, do R.T. Major chiết tách được năm 1967 và K.Weinges chiết tách được năm 1969, hiện nay hợp chất tổng hợp duy nhất phát hiện trong lá bạch quả là hợp chất sesquiterpen lacton. Ginkgolit A, B, C, M, J là hợp chất tổng hợp terpenoit, được S.Furukawa lần đầu tiên chiết tách được từ lá bạch quả năm 1932, đến năm 1967 được K.Nakanish, M. Maruyama và K.Okabe tiếp tục chiết tách và xác định liên kết hóa học của chúng. Từ liên kết hóa học của chúng cho thấy, cấu tạo phân tử của bilobalit do 15 nguyên tử cacbonium cấu tạo thành 4 vòng dạng 5 cạnh đan xen với nhau, trong đó có 01 vòng cacbonium 5 cạnh, 03 vòng lacton cacbonium 5 cạnh, liên kết trên vòng 5 cạnh có một chất tertbutyl hiếm gặp trong các sản vật tự nhiên. Bilobalit có hoạt tính sinh học vô cùng mạnh, có tác dụng thúc đẩy thần kinh sinh trưởng, có thể cải thiện chức năng ngăn ngừa ứng kích oxy hóa ti thể (mitochondria) tế bào não gây nên, cải thiện chức năng ghi nhớ ở người cao tuổi, phòng tránh phát sinh bệnh đãng trí ở người già và tác dụng phòng chống bệnh mất myelin (demyelination) hệ thần kinh trung ương, tủy, tác dụng bảo vệ hệ thần kinh và dinh dưỡng thần kinh của nó mạnh hơn ginkgolit. Ginkgolit B có tác dụng kháng viêm, chống choáng, bảo vệ huyết quản tim và não, điều trị viêm tuyến tụy cấp. Cấu tạo phân tử của hợp chất trong hợp ginkgolit do 20 nguyên tử cacbonium tạo thành, có 6 vòng dạng 5 cạnh, trong đó có 2 vòng cacbonium 5 cạnh, 3 vòng lacton 5 cạnh và 1 vòng tetrahydrofuran; 2 vòng cacbonium 5 cạnh được liên kết

với nhau theo kiểu vòng xoắn, các vòng còn lại đều được liên kết theo kiểu đan xen, tạo ra một liên kết hóa học lập thể đặc biệt dạng lồng chắc chắn. Trong các phân tử ginkgolit đều có chất tertbutyl hiếm gặp trong sản vật tự nhiên. Ginkgolit gồm có diterpenoit và sesquiterpen lacton, diterpenoit chủ yếu có ginkgolit A, B, C, J và M; còn sesquiterpen lacton có bilobalit.

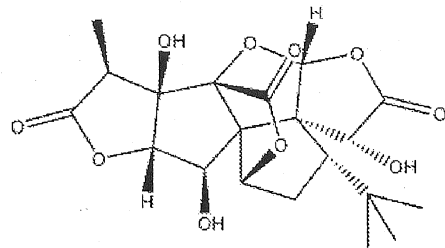
Đầu thập niên 70 của thế kỷ XX, sau khi phát hiện ra PAF, các nhà dược học đã tiến hành nghiên cứu đối với ginkgolit, xác định rõ ginkgolit là chất đối kháng (antagonist) nguyên tố làm tăng hoạt tính của tiểu cầu, có tác dụng bảo vệ hệ miễn dịch, hệ thần kinh trung khu, tổn thương thiếu máu, đồng thời có tác dụng chống choáng, chống dị ứng và kháng viêm. Sự khác biệt về liên kết của ginkgolit A, B, C, M và J ở chỗ số lượng gốc OH và vị trí liên kết gốc OH khác nhau. ginkgolit đều là chất đối kháng nhân tố làm tăng hoạt tính của tiểu cầu, là thành phần quan trọng với hoạt tính sinh lý đặc biệt trong lá bạch quả.



Kiểu liên kết của ginkgolit A

Công thức phân tử:  $C_{20}H_{24}O_9$

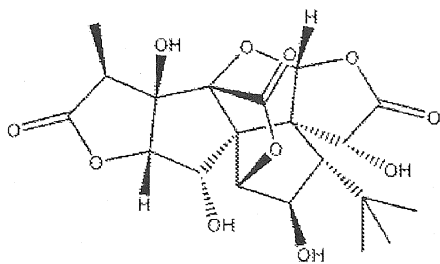
Phân tử lượng: 408,4



Kiểu liên kết của ginkgolit B

Công thức phân tử:  $C_{20}H_{24}O_{10}$

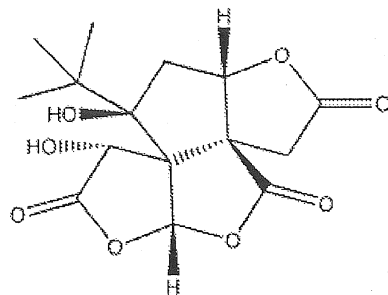
Phân tử lượng: 424,4



Kiểu liên kết của ginkgolit C

Công thức phân tử:  $C_{20}H_{24}O_{11}$

Phân tử lượng: 440,4



Kiểu liên kết của Bilobalit

Công thức phân tử:  $C_{15}H_{18}O_8$

Phân tử lượng: 326,3

Ginkgolit có tác dụng ức chế đặc biệt mạnh đối với thụ thể PAF nguyên tố hoạt

hóa của tiểu cầu, trong đó hoạt tính kháng PAF của ginkgolit cao nhất. PAF là một loại phospholipid nội sinh do nhiều loại tổ chức viêm bài tiết sản sinh ra, là chất dẫn dụ tập trung tiểu cầu có hiệu quả nhất mà đến nay mới phát hiện ra, nó có quan hệ mật thiết với việc phát sinh, phát triển của nhiều loại bệnh khác nhau. Ginkgolit hiện nay được cho là chất đối kháng thụ thể PAF thiên nhiên có triển vọng ứng dụng lâm sàng nhất, hoạt tính tác dụng đối kháng của nó có liên quan mật thiết với liên kết hóa học. Khi R3 trong liên kết lacton là gốc OH hoặc số lượng gốc OH tăng cao, thì hoạt tính đối kháng đối với PAF yếu đi; khi R2 là gốc OH và R3 là H, thì hoạt tính tăng lên rõ rệt, trong đó tác dụng đối kháng mà ginkgolit B sản sinh ra đối với PAF mạnh nhất.

Có nhiều cách để chiết xuất và tinh chế ginkgolit, nhưng chủ yếu là phương pháp chiết xuất bằng dung môi, phương pháp chiết xuất cột, phương pháp kết hợp chiết xuất bằng dung môi – cột, phương pháp chiết xuất siêu tới hạn, phương pháp tinh chế sắc ký phổ hoặc sắc ký cột. Những phương pháp này đều không thể chiết xuất một cách hiệu quả hợp chất tổng hợp ginkgolit hàm lượng cao, mặt khác lại cũng không xác định được các tỷ lệ hợp thành của ginkgolit, vì vậy, hiệu quả của thuốc cũng khác nhau trong sử dụng lâm sàng, do hàm lượng của nó không cao, cũng tồn tại những rủi ro an toàn nhất định, độc chất dược lý và số liệu thực nghiệm lâm sàng không hoàn chỉnh. Chính do vậy, các phương pháp nêu trên đều dừng ở giai đoạn thử nghiệm, chưa thực hiện áp dụng vào quá trình sản xuất thuốc. Ngay tại Trung Quốc, tuy có bằng độc quyền sáng chế đề cập đến dung dịch tiêm ginkgolit, nhưng kết cấu của nó đều không giống với giải pháp hữu ích này, qua tìm kiếm trên các trang web chính phủ các nước thành viên ICH, đến nay vẫn không có sản phẩm thuốc tiêm ginkgolit khác được đưa ra thị trường. Việc trắc định các thành phần trong ginkgolit hiện nay chủ yếu sử dụng phương pháp HPLC-UV, HPLC-MS và HPLS-ELSD. Các phương pháp này chỉ có thể tiến hành trắc định hàm lượng đối với các thành phần của ginkgolit, do thiếu sự kiểm soát chặt chẽ đối với các chất gây hại có trong sản phẩm, và không thể phản ánh một cách chân thực đặc tính chất lượng của dược phẩm, do vậy không thể tạo thành một hệ thống kiểm soát chất lượng dược phẩm hoàn thiện.

Trong các sáng chế khác có dùng meglumin hoặc natri hydroxit để làm chất trợ dung môi, do ginkgolit có liên kết vòng 5 cạnh đặc biệt, trong môi trường kiềm dễ làm cho lacton bị hở vòng và làm cho thuốc mất hiệu quả điều trị, không thể tránh được những hiểm họa ngầm mất an toàn cho việc dùng thuốc trong điều trị lâm sàng. Giải pháp hữu ích hy vọng đề xuất dung dịch tiêm ginkgolit bằng công nghệ sản xuất hoàn hảo với phương pháp kiểm soát chất lượng nghiêm ngặt.

### **Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích**

Vấn đề kỹ thuật được giải quyết

Do ginkgolit là chất có tính tan trong lipit, và dường như không tan trong nước, dùng etanol và glycerin – tá dược có tính an toàn cao để làm chất trợ dung môi theo giải pháp hữu ích, kiểm soát chặt chẽ tỷ lệ chất trợ dung môi ở khoảng 1:1 ~ 5:1, liên kết của

ginkgolit không có thay đổi, đã giải quyết hiệu quả vấn đề hòa tan của thuốc, dùng axit xitrat hoặc axit clohydric làm chất điều chỉnh độ pH, có thể làm cho thuốc ổn định hơn, tránh được tách kết tinh trong quá trình lưu giữ thuốc làm cho độ trong và vi hạt không tan kém chất lượng, giải quyết được hiểm họa ngầm an toàn trong điều trị lâm sàng.

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất dung dịch tiêm ginkgolit với ưu điểm chất hợp thành rõ ràng và có tỷ lệ cố định, hơn nữa lại loại bỏ hiệu quả các đại phân tử, protein, tránh được phát sinh các phản ứng bất lợi. Thành phần hoạt tính của dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích là ginkgolit có độ tinh khiết cao, chất hợp thành rõ ràng, tỷ lệ cố định, hàm lượng hữu hiệu đạt trên 95%, trong đó 4 chất hợp thành gồm bilobalit ( $C_{15}H_{18}O_8$ ) là 25,0% ~ 50,0%, ginkgolit A ( $C_{20}H_{24}O_9$ ) là 20,0% ~ 45,0%, ginkgolit B ( $C_{20}H_{24}O_{10}$ ) là 10,0% ~ 30,0%, ginkgolit C ( $C_{20}H_{24}O_{11}$ ) là 5,0% ~ 15,0%.

Cách thức giải quyết vấn đề

Để đạt được mục đích trên đây, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất dung dịch tiêm ginkgolit theo giải pháp hữu ích gồm có các thành phần dưới đây:

- Ginkgolit (tính theo hàm lượng terpen lacton): 1 - 10 mg/ml (chọn phương án tối ưu là 5 mg/ml)
- Glyxerin: 0,2 - 0,5 ml/ml (chọn phương án tối ưu là 0,4 ml/ml)
- Etanol: 0,4 - 0,7 ml/ml (chọn phương án tối ưu là 0,6 ml/ml)
- Nước dùng để tiêm: 0 - 0,5 ml/ml (chọn phương án tối ưu là 0 ml/ml)

Trong công thức nêu trên, thực chất tồn tại hai tình huống:

1. Khi chọn phương án nước dùng để tiêm với lượng bằng 0ml/ml, sử dụng glyxerin hoặc etanol làm chất trợ dung môi.

Kiểm soát chặt chẽ tỷ lệ thể tích chất trợ dung môi ở khoảng 1:1 ~ 5:1, tức tỷ lệ thể tích giữa etanol và glyxerin là 1 - 5 phần etanol và 1 phần glyxerin.

Công thức lựa chọn tối ưu như sau:

|                                                  |          |
|--------------------------------------------------|----------|
| - Ginkgolit (tính theo hàm lượng terpen lacton): | 10 g     |
| - Glyxerin:                                      | 800 ml   |
| - Bổ sung etanol:                                | 2000 ml  |
| Chế thành:                                       | 1000 ống |

Như vậy, dung dịch tiêm ginkgolit theo giải pháp hữu ích gồm có các thành phần dưới đây:

- Ginkgolit (tính theo hàm lượng terpen lacton): 5 mg/ml
- Glyxerin: 0,4 ml/ml
- Etanol: 0,6 ml/ml

2. Khi chọn phương án nước dùng để tiêm với lượng khác 0ml/ml, sử dụng glycerin hoặc etanol làm chất trợ dung môi.

Kiểm soát chặt chẽ tỷ lệ thể tích chất trợ dung môi ở khoảng 1:1 ~ 5:1, tức tỷ lệ thể tích giữa etanol và glycerin là 1 - 5 phần etanol và 1 phần glycerin.

Công thức lựa chọn tối ưu như sau:

|                                                  |          |
|--------------------------------------------------|----------|
| - Ginkgolit (tính theo hàm lượng terpen lacton): | 10 g     |
| - Glycerin:                                      | 400 ml   |
| - Etanol:                                        | 1200 ml  |
| - Bổ sung nước dùng để tiêm:                     | 2000 ml  |
| Chế thành:                                       | 1000 ống |

Như vậy, mỗi một ml dung dịch tiêm ginkgolit theo giải pháp hữu ích gồm có các thành phần dưới đây:

|                                                  |           |
|--------------------------------------------------|-----------|
| - Ginkgolit (tính theo hàm lượng Terpen lacton): | 5 mg/ml   |
| - Glycerin:                                      | 0,2 ml/ml |
| - Etanol:                                        | 0,6 ml/ml |
| - Nước dùng để tiêm:                             | 0,2 ml/ml |

Etanol và glycerin cùng với nước dùng để tiêm có tính hòa tan trong nhau rất tốt, dung dịch sau khi đã được hòa vào nhau có tính ổn định tốt, với vai trò là chất dung môi nên có thể bảo đảm được liên kết hóa học vốn có của thuốc, có lợi cho cơ thể hấp thụ, phát huy tốt hiệu quả điều trị của thuốc. ginkgolit có tính hòa tan rất tốt trong etanol, nhưng hoàn toàn lấy etanol làm dung môi để tiêm sẽ tạo ra kích thích tương đối mạnh đối với cơ thể con người, vì vậy, dùng glycerin và một ít nước dùng để tiêm pha loãng etanol, có thể làm giảm một cách hiệu quả mức độ buốt nhức trong quá trình tiêm vào tĩnh mạch và khả năng chịu đựng của cơ thể người đối với etanol, đồng thời không thể thay đổi tính hòa tan của dung dịch đối với thuốc cũng như tính ổn định của dung dịch.

Phương pháp điều chế thuốc tiêm ginkgolit theo giải pháp hữu ích như sau:

a. Điều chế: Trộn etanol với glycerin (tỷ lệ chất trợ dung môi 1: 1 ~ 5:1), cho thêm ginkgolit, khuấy đều hòa tan, bổ sung etanol hoặc nước dùng để tiêm cho đến khi đủ liều lượng, lấy dung dịch axit citric 5 ~ 10% hoặc dung dịch axit clohydric 1 ~ 10% để điều chỉnh độ pH đến khoảng 2,5 ~ 6,5, độ pH ưu tiên lựa chọn trong khoảng 3,2 ~ 3,8.

b. Lọc và loại bỏ vi khuẩn

c. Đóng kín

d. Diệt khuẩn.

Phương pháp kiểm soát chất lượng dung dịch tiêm trong phát minh bao gồm:

- Tính trạng: Chất lỏng không màu trong suốt.
- Độ pH: 3,0 – 4,5. Độ pH ưu tiên lựa chọn trong khoảng 3,2 ~ 3,8.
- Màu của dung dịch: Ít hơn chất lỏng đo màu tiêu chuẩn số 4 màu vàng (Trung Quốc được điển).
- Tanin, Nhựa, Oxalat, Kali: Không được có.
- Độc tính khác thường: Trong mỗi một ml có 0,2 mg dung dịch, phù hợp với tiêm tĩnh mạch.
- Gây sốt: Liều lượng tiêm 5 ml dung dịch đạt chuẩn/mỗi kg trọng lượng thỏ nuôi (Trung Quốc được điển).
- Huyết tan (Hemolysis) và đông kết: Lấy 6 ml dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích pha loãng với 100 ml dung dịch tiêm clorua natri 0,9%, kiểm tra đạt tiêu chuẩn (Trung Quốc được điển).
- Thử nghiệm dị ứng thuốc: Lấy dung dịch tiêm, cho thêm dung dịch tiêm Clorua natri 0,9% pha loãng thành 0,4 mg/ml (tính theo hàm lượng terpen lacton), dung dịch thử được tiêm vào tĩnh mạch thỏ, chờ 30 phút sau, không được có hiện tượng phản ứng với thuốc.
- Thử nghiệm tính kích thích: Lấy dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích pha loãng với dung dịch tiêm clorua natri 0,9% thành dung dịch với nồng độ 0,5 mg/ml; dùng 3 con thỏ nuôi, không phân biệt đực cái, cân kiểm tra trọng lượng từng con, tiêm dung dịch vào tĩnh mạch tai phải của thỏ nuôi mỗi ngày với liều lượng 10 ml/kg, đồng thời tiêm dung dịch clorua natri 0,9% vào tĩnh mạch tai trái, tổng cộng 03 lần. Mỗi lần trước khi tiêm thuốc 01 tiếng, sau khi tiêm thuốc 06 tiếng và lần cuối cùng 48 tiếng sau khi tiêm thuốc, quan sát bằng mắt thường huyết quản tại vị trí tiêm xem có các triệu chứng phản ứng như xung huyết, xuất huyết, hoại tử hay không. 48 tiếng sau lần tiêm cuối cùng, chích máu tĩnh mạch cổ để giết thỏ, từ chỗ chọc kim tiêm gần cuối tim 1 cm, cắt lấy 2 cm vành tai, cố định trong dung dịch FAA, tách nước thông thường, nhúng mẫu cắt vào parafin, nhuộm màu HE, tiến hành kiểm tra bệnh học tổ chức huyết quản dưới kính hiển vi quang học để đánh giá có tính kích thích hay không. Mẫu vật thử nghiệm tiêm tĩnh mạch không được có phản ứng kích thích huyết quản.
- Tổng axit ginkgolic: Cột sắc ký C18, pha lưu động: Metanol – axit axetic 1% (90:10), bước sóng kiểm tra là 310 nm, tính tổng hàm lượng axit ginkgolic bằng phương pháp tiêu chuẩn ngoài vật đối chiếu axit ginkgolic, không được vượt quá 1ppm.
- Đồ thị dầu vân tay: Cột sắc ký C18; pha lưu động: Metanol – Tetrahydrofuran – nước (25:10:65); máy kiểm tra tán xạ bay hơi (ELSD); nhiệt độ ống chuyển động: 105<sup>0</sup>C; lưu tốc tải khí: 3,00 L/phút; nhiệt độ cột: 40<sup>0</sup>C. Vật tham chiếu gồm vật đối chiếu bilobalit, vật đối chiếu ginkgolit A, vật đối chiếu ginkgolit B, vật đối chiếu ginkgolit C; đánh giá hệ thống theo mức độ tương tự đồ thị dầu vân tay sắc ký thuốc Bắc, 4 chỉ tiêu

đều có đỉnh mức độ tương tự đồ thị dầu vân tay đối chiếu > 0,95.

- Vô khuẩn: Theo phương pháp lọc màng mỏng, lấy dung dịch clorua natri vô khuẩn 0,9% pha loãng để lọc, đồng thời dùng rửa màng lọc 3 lần bằng clorua natri vô khuẩn 0,9%, vô khuẩn đạt tiêu chuẩn (Trung Quốc được điền).

- Hàm lượng: Cột sắc ký C18; pha lưu động: Metanol – tetrahydrofuran – nước (25:10:65); máy kiểm tra tán xạ bay hơi (ELSD); nhiệt độ ống chuyển động: 105°C; lưu tốc tải khí: 3,00 L/phút; nhiệt độ cột: 40°C. Trắc định sau khi dùng cột Extrelut-20 hấp thụ xử lý vật mẫu, tính tổng lượng terpen lacton trong mỗi một ml là 4,5 – 5,5 mg (lấy theo bilobalit ( $C_{15}H_{18}O_8$ ), ginkgolit A ( $C_{20}H_{24}O_9$ ), ginkgolit B ( $C_{20}H_{24}O_{10}$ ) và ginkgolit C ( $C_{20}H_{24}O_{11}$ )).

Dung dịch ginkgolit có tác dụng hoạt huyết hóa ứ, thông kinh hoạt lạc, dùng để trị chứng ứ huyết trở lạc giai đoạn phục hồi kinh lạc (tắc nghẽn mức độ nhẹ và trung bình) do trúng gió, bán thân bất toại, méo miệng, khàn tiếng, tê mỏi tứ chi.

Dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích sử dụng ginkgolit có độ tinh khiết cao, chất hợp thành rõ ràng và có tỷ lệ cố định, hàm lượng chất có hiệu quả lên tới trên 95%, trong đó trong đó 4 chất hợp thành gồm bilobalit ( $C_{15}H_{18}O_8$ ) là 25,0% ~ 50,0%, ginkgolit A ( $C_{20}H_{24}O_9$ ) là 20,0% ~ 45,0%, ginkgolit B ( $C_{20}H_{24}O_{10}$ ) là 10,0% ~ 30,0%, ginkgolit C ( $C_{20}H_{24}O_{11}$ ) là 5,0% ~ 15%, tổng axit ginkgo dưới 5 ppm, đạt yêu cầu của EU. Toàn bộ công nghệ sản xuất đã đảm bảo được tính ổn định tỷ lệ thành phần terpen lacton và hiệu quả điều trị lâm sàng; đồng thời phương pháp sắc ký gel và kỹ thuật sắc ký lỏng ghép khối phổ (HLPC-MS) được ứng dụng vào trong lĩnh vực kiểm tra, đã giải quyết được các chất đại phân tử và tồn dư polyme và protein trong công nghệ sản xuất thuốc tiêm Trung được thường thấy, giảm bớt việc phát sinh các phản ứng xấu, 4 chỉ tiêu đồ thị dầu vân tay đều có đỉnh mức độ tương tự > 0,95. Tính chất không tan trong nước của terpen lacton, chất trợ dung môi hiệu quả cao được chọn – dung môi hỗn hợp etanol và glycerin, cũng đã giải quyết được vấn đề nan giải về kỹ thuật của công nghệ thông thường, tránh phải dùng các nguyên liệu phụ có tính axit kiềm khác khiến ginkgolit bị hờ vòng mà phá vỡ liên kết thành phần, làm cho các thành phần hữu hiệu càng ổn định hơn, đồng thời cũng đã đạt được yêu cầu vô khuẩn dung dịch tiêm. Chỉ tiêu kiểm soát chất lượng sản phẩm được thực hiện từ nhiều góc độ và toàn diện, đã thiết lập hữu hiệu phương pháp kiểm soát tạp chất hoàn thiện, đã áp dụng các kỹ thuật và công nghệ kiểm tra thuốc tiêm Trung được nghiêm ngặt nhất hiện nay như đồ thị dầu vân tay, độc tính khác thường, thử nghiệm tính kích thích, huyết tan (Hemolysis) và đông kết, thử nghiệm dị ứng thuốc để kiểm soát chất lượng sản phẩm, tính an toàn trong sử dụng lâm sàng được nâng cao rõ rệt, kỹ thuật kiểm soát chất lượng đã vượt xa hơn hẳn phương pháp điều chế dung dịch tiêm từ lá bạch quả được thế giới công nhận hiện nay, đạt đến trình độ tiên tiến đẳng cấp quốc tế.

Giải pháp hữu ích là dung dịch tiêm Trung được có hiệu quả cao, đã loại bỏ hữu hiệu các đại phân tử và protein, ngăn ngừa và tránh được việc phát sinh các phản ứng xấu,

đồng thời có các ưu điểm như tiêu hao năng lượng thấp, hiệu quả điều trị chắc chắn, kiểm soát chất lượng dễ dàng, giá thành sản xuất thấp, tính an toàn cao hơn so với dung dịch tiêm Ginkgo khác.

#### **Mô tả vắn tắt các hình vẽ**

Hình 1: Đồ thị sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS) của 1 lô dung dịch tiêm ginkgolit (phân tử lượng 400~1000)

Hình 2: Đồ thị sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS) của 1 lô dung dịch tiêm ginkgolit (phân tử lượng 400~3000)

Hình 3: Đồ thị sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS) của 2 lô dung dịch tiêm ginkgolit (phân tử lượng 400~1000)

Hình 4: Đồ thị sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS) của 2 lô dung dịch tiêm ginkgolit (phân tử lượng 400~3000)

Hình 5: Đồ thị sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS) của 3 lô dung dịch tiêm ginkgolit (phân tử lượng 400~1000)

Hình 6: Đồ thị sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS) của 3 lô dung dịch tiêm ginkgolit (phân tử lượng 400~3000)

Hình 7: Đồ thị quan hệ tuyến tính của axit ginkgolic

Hình 8: Đồ thị dấu vân tay đối chiếu dung dịch tiêm ginkgolit, trong đó đỉnh 2 là ginkgolit C, đỉnh 3 là Bilobalit, đỉnh 4 là ginkgolit A và đỉnh 5 là ginkgolit B.

#### **Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích**

Nguyên liệu theo giải pháp hữu ích – ginkgolit chứa 25,0% ~ 50,0% bilobalit ( $C_{15}H_{18}O_8$ ), 20,0% ~ 45,0% ginkgolit A ( $C_{20}H_{24}O_9$ ), 10,0% ~ 30,0% ginkgolit B ( $C_{20}H_{24}O_{10}$ ), 5,0% ~ 15,0% ginkgolit C ( $C_{20}H_{24}O_{11}$ ), tổng lượng bilobalit, ginkgolit A, ginkgolit B và ginkgolit C > 95%.

Dưới đây là căn cứ lựa chọn chất trợ dung môi và chất điều chỉnh độ pH:

1. Lựa chọn chất trợ dung môi: Căn cứ vào tính chất nguyên liệu, phụ liệu và yêu cầu công nghệ điều chế dung dịch tiêm, tỷ lệ liều lượng dung môi và chất trợ dung môi lựa chọn.

Thử nghiệm 1: Lấy 1200 ml etanol và 800 ml glycerin, khuấy đều, cho thêm 10 g ginkgolit, khuấy tan, điều chỉnh độ pH đến khoảng giá trị 3,2 ~ 3,8, vật trung gian sau khi được kiểm tra đạt tiêu chuẩn, lọc trong, đóng kín và diệt khuẩn.

Thử nghiệm 2: Lấy 400 ml etanol và 1600 ml glycerin, khuấy đều, cho thêm 10 g ginkgolit, khuấy tan, điều chỉnh độ pH đến khoảng giá trị 3,2 ~ 3,8, vật trung gian sau khi được kiểm tra đạt tiêu chuẩn, lọc trong, đóng kín và diệt khuẩn.

Thử nghiệm 3: Lấy 300 ml etanol và 1700 ml glycerin, khuấy đều, cho thêm 10 g

ginkgolit, khuấy tan, điều chỉnh độ pH đến khoảng giá trị 3,2 ~ 3,8, vật trung gian sau khi được kiểm tra đạt tiêu chuẩn, lọc trong, đóng kín và diệt khuẩn.

Thử nghiệm 4: Lấy 1200 ml etanol và 400 ml glycerin, khuấy đều, cho thêm 10 g ginkgolit, khuấy tan, điều chỉnh độ pH đến khoảng giá trị 3,2 ~ 3,8, vật trung gian sau khi được kiểm tra đạt tiêu chuẩn, lọc trong, đóng kín và diệt khuẩn.

Thử nghiệm 5: Lấy 400 ml etanol và 1000 ml glycerin, khuấy đều, cho thêm 10 g ginkgolit, khuấy tan, điều chỉnh độ pH đến khoảng giá trị 3,2 ~ 3,8, vật trung gian sau khi được kiểm tra đạt tiêu chuẩn, lọc trong, đóng kín và diệt khuẩn.

Mang những vật mẫu trên thực hiện 3 lần tuần hoàn thử nghiệm ở nhiệt độ thấp, lần lượt kiểm tra tính trạng của dung dịch, thay đổi độ pH của dung dịch và vi hạt không tan, đồng thời quan sát sau khi thử nghiệm có tách kết tinh hay không. Kết quả thử nghiệm được thể hiện ở bảng 1 dưới đây.

Bảng 1: Kết quả thử nghiệm lựa chọn chất trợ dung môi

| Tên thử nghiệm                           | Thử nghiệm 1                                       | Thử nghiệm 2                                       | Thử nghiệm 3                                       | Thử nghiệm 4                                       | Thử nghiệm 5                                       |
|------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Mức độ hòa tan khi trộn dung dịch        | Tan nhanh sau khi khuấy trộn                       | Tan nhanh sau khi khuấy trộn                       | Tan chậm sau khi khuấy trộn                        | Tan nhanh sau khi khuấy trộn                       | Tan chậm sau khi khuấy trộn                        |
| Tính trạng ngoại quan sau khi thử nghiệm | Thể lỏng trong không màu<br>Không bị tách kết tinh | Thể lỏng trong không màu<br>Không bị tách kết tinh | Thể lỏng trong không màu<br>Không bị tách kết tinh | Thể lỏng trong không màu<br>Không bị tách kết tinh | Thể lỏng trong không màu<br>Không bị tách kết tinh |
| Vi hạt không tan                         | Đạt tiêu chuẩn                                     | Đạt tiêu chuẩn                                     | Đạt tiêu chuẩn                                     | Đạt tiêu chuẩn                                     | Đạt tiêu chuẩn                                     |
| Độ pH của dung dịch                      | Cơ bản không thay đổi                              | Hơi có thay đổi                                    | Tăng cao 0,5                                       | Cơ bản không thay đổi                              | Tăng cao 0,6                                       |

Khi không cho thêm nước dùng để tiêm, tỷ lệ thể tích giữa etanol và glycerin trong dung dịch thuốc là 1:1 ~ 5:1, tỷ lệ tốt nhất là 3:2; tỷ lệ tốt nhất khi thêm nước dùng để tiêm là 4:1. Tỷ lệ etanol càng lớn thì tốc độ hòa tan của ginkgolit càng nhanh. Độ pH, vi hạt không tan và tính trạng ngoại quan của dung dịch thuốc sau khi thử nghiệm ở đồng đều phù hợp với quy định Dược điển.

2. Lựa chọn chất điều chỉnh độ pH: Do ginkgolit tương đối ổn định trong môi trường kiềm yếu, lần lượt dùng axit xitric 5 ~ 10% và axit clohydric 1 ~ 10% để tiến hành sàng lọc lựa chọn.

Thử nghiệm 1: Lấy 1200 ml etanol và 800 ml glycerin, khuấy đều, cho thêm 10 g ginkgolit, khuấy tan, điều chỉnh độ pH đến khoảng giá trị 3,2 ~ 3,8 bằng axit clohydric 5%, vật trung gian sau khi được kiểm tra đạt tiêu chuẩn, lọc trong, đóng kín và diệt khuẩn.

Thử nghiệm 2: Lấy 400 ml etanol và 1600 ml glycerin, khuấy đều, cho thêm 10 g ginkgolit, khuấy tan, điều chỉnh độ pH đến khoảng giá trị 3,2 ~ 3,8 bằng axit clohydric 10%, vật trung gian sau khi được kiểm tra đạt tiêu chuẩn, lọc trong, đóng kín và diệt khuẩn.

Thử nghiệm 3: Lấy 1200 ml etanol và 400 ml glycerin, khuấy đều, cho thêm 10 g ginkgolit, khuấy tan, điều chỉnh độ pH đến khoảng giá trị 3,2 ~ 3,8 bằng axit xitric 10%, vật trung gian sau khi được kiểm tra đạt tiêu chuẩn, lọc trong, đóng kín và diệt khuẩn.

Thử nghiệm 4: Lấy 1200 ml etanol và 800 ml glycerin, khuấy đều, cho thêm 10 g ginkgolit, khuấy tan, điều chỉnh độ pH đến khoảng giá trị 3,2 ~ 3,8 bằng axit xitric 10%, vật trung gian sau khi được kiểm tra đạt tiêu chuẩn, lọc trong, đóng kín và diệt khuẩn.

Lần lượt kiểm tra thay đổi tính trạng, vi hạt không tan của dung dịch và độ pH của dung dịch trước và sau diệt khuẩn, bảo quản sản phẩm 03 ngày ở nhiệt độ thấp (0~6°C), quan sát có bị tách kết tinh ở môi trường nhiệt độ thấp hay không. Kết quả thử nghiệm được thể hiện ở bảng 2 dưới đây:

Bảng 2: Kết quả thử nghiệm sàng lọc lựa chọn chất điều chỉnh độ pH

| Tên thử nghiệm                         | Thử nghiệm 1                                       | Thử nghiệm 2                                       | Thử nghiệm 3                                       | Thử nghiệm 4                                       |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Tính trạng ngoại quan                  | Thể lỏng trong không màu<br>Không bị tách kết tinh | Thể lỏng trong không màu<br>Không bị tách kết tinh | Thể lỏng trong không màu<br>Không bị tách kết tinh | Thể lỏng trong không màu<br>Không bị tách kết tinh |
| Vi hạt không tan                       | Đạt tiêu chuẩn                                     | Đạt tiêu chuẩn                                     | Đạt tiêu chuẩn                                     | Đạt tiêu chuẩn                                     |
| Độ pH của dung dịch sau khi diệt khuẩn | pH tăng cao 0,2                                    | pH tăng cao 0,3                                    | Cơ bản không thay đổi                              | Cơ bản không thay đổi                              |

Qua thử nghiệm sàng lọc lựa chọn chất điều chỉnh độ pH, có thể dùng dung dịch axit xitric 5 ~ 10% hoặc dung dịch axit clohydric 1 ~ 10% để làm chất điều chỉnh độ pH trong sản phẩm, điều chỉnh độ pH bằng dung dịch axit clohydric, hơi có tăng cao sau khi diệt khuẩn, nhưng thay đổi đó không lớn, còn điều chỉnh độ pH bằng axit xitric ổn định hơn (vì axit xitric là axit yếu). Axit clohydric và axit xitric đều có thể dùng làm chất điều chỉnh độ pH của dung dịch.

### Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Tác giả đã tiến hành nghiên cứu và mô tả nội dung giải pháp hữu ích nêu trên để chứng minh hiệu quả kỹ thuật của giải pháp hữu ích. Thử nghiệm dưới đây sẽ thuyết minh và giải thích thêm cho giải pháp hữu ích nhưng không làm giới hạn giải pháp hữu ích.

Ví dụ thử nghiệm 1: Kiểm soát chất lượng ginkgolit – Trắc định hàm lượng.

Thử nghiệm tính phù hợp hệ thống và điều kiện sắc ký: Dùng Octadexylsilyl-silica gel (ODS) làm chất bổ sung; dùng Metanol – Tetrahydrofuran – nước (25:10:65) là pha lưu động; máy kiểm tra tán xạ bay hơi (ELSD); nhiệt độ ống chuyển động: 105°C; lưu tốc tải khí: 3,00 L/phút; nhiệt độ cột: 40°C; số phần lý thuyết tính theo đỉnh bilobalit không thấp dưới 2500. Độ tách rời giữa đỉnh bilobalit và đỉnh ginkgolit C phải lớn hơn 1,5.

Điều chế dung dịch đối chiếu: Lần lượt cân chính xác vật đối chiếu bilobalit, vật đối chiếu ginkgolit A, vật đối chiếu ginkgolit B và vật đối chiếu ginkgolit C với lượng thích hợp, cho thêm metanol để pha loãng, pha loãng định lượng chế thành dung dịch hỗn hợp mỗi một ml lần lượt chứa 0,15 mg, 0,12 mg, 0,1 mg và 0,1 mg, khuấy đều là được.

Điều chế dung dịch thử nghiệm: Lấy 6 mg ginkgolit, cân chính xác, cho vào trong bình dung tích 10 ml, cho thêm 1 ml metanol để hòa tan, thêm pha lưu động pha loãng đến độ khắc, khuấy đều là được.

Phương pháp trắc định: Lần lượt lấy chính xác 10  $\mu$ l, 20  $\mu$ l dung dịch vật đối chiếu và 10 ~ 20  $\mu$ l dung dịch thử nghiệm, bơm vào máy sắc ký lỏng hiệu năng cao, ghi lại đồ thị sắc ký, tính hàm lượng bilobalit, ginkgolit A, ginkgolit B và ginkgolit C bằng phương trình logarit biện chứng (luồng điểm pháp) ngoại tiêu.

Tính theo vật liệu khô, hàm lượng bilobalit ( $C_{15}H_{18}O_8$ ) là 25,0% ~ 50,0%, ginkgolit A ( $C_{20}H_{24}O_9$ ) là 20,0% ~ 45,0%, ginkgolit B ( $C_{20}H_{24}O_{10}$ ) là 10,0% ~ 30,0%, ginkgolit C ( $C_{20}H_{24}O_{11}$ ) là 5,0% ~ 15,0%, tổng lượng bilobalit, ginkgolit A, ginkgolit B và ginkgolit C không dưới 95,0%.

Ví dụ thử nghiệm 2: Kiểm soát chất lượng ginkgolit – Kiểm tra chất liên quan.

(1). Protein: Lấy 2 ml dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích, cho thêm nước chế thành 50 ml để làm dung dịch thử nghiệm. Lấy khoảng 50 mg Coomassiebrilliantblue G-250, hòa tan vào 25 ml Etanol, rồi cho thêm 50 ml axit phosphoric 85% (w/v), cho thêm nước pha loãng thành 500 ml, khuấy đều, lọc, lấy chính xác 5 ml dung dịch lọc cho vào ống nghiệm, rồi cho thêm 1 ml dung dịch chất thử nghiệm dử trữ, khuấy đều, để yên 3 phút. Tương tự, dưới bước sóng 595 nm, trắc định độ hấp thụ ánh sáng, độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử nghiệm nhỏ dưới 0,05.

(2). Tanin: Lấy 1 ml dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích, cho thêm 1 giọt axit axetic loãng, khuấy đều, để yên 10 phút, không thấy xuất hiện vẩn đục hoặc kết tủa.

(3). Nhựa: Lấy 5 ml dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích, cho thêm 1 giọt axit

clohydric, để yên 30 phút, không có hiện tượng nhựa tách ra.

(4). Oxalat: Lấy 2 ml dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích, điều chế pH đến 1 ~ 2 bằng axit clohydric loãng, lọc, điều chỉnh độ pH dung dịch lọc 5 ~ 6 bằng dung dịch Amoni, cho thêm 3 giọt dung dịch Canxi clorua 3%, để yên 10 phút, không thấy xuất hiện vẩn đục hoặc kết tủa.

(5). Ion kali: Lấy 2 ml dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích, để vào trong ống đo màu Nessler 10 ml, cho thêm 0,6 ml dung dịch formaldehyt tính kiềm, 2 giọt dung dịch EDTA 3%, 0,5 ml dung dịch natri tetraphenylborat 3%, cho thêm nước pha loãng thành 10 ml, lấy thêm 0,8 ml dung dịch canxi clorua tiêu chuẩn, thử nghiệm tương tự, mức độ đục của dung dịch thử nghiệm thấp hơn dung dịch đối chiếu.

Ví dụ thử nghiệm 3: Kiểm soát chất lượng ginkgolit – Kiểm tra độc tính khác thường.

Điều chế dung dịch thử nghiệm: Lấy dung dịch theo giải pháp hữu ích và cho thêm dung dịch tiêm canxi clorua chế thành dung dịch chứa 0,2 mg/ mỗi ml.

Phương pháp kiểm tra: Lấy 5 con chuột nhắt 17 ~ 20g, lần lượt tiêm 0,5 ml dung dịch thử nghiệm vào tĩnh mạch đuôi chuột nhắt, trong vòng 48 tiếng chuột không chết.

Ví dụ thử nghiệm 4: Kiểm soát chất lượng ginkgolit – Kiểm tra gây sốt.

Điều chế dung dịch thử nghiệm: Lấy 2 ml dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích, khuấy đều trong 50 ml dung dịch tiêm canxi clorua 0,9%.

Phương pháp kiểm tra: Dùng 3 con thỏ nuôi, 15 phút sau khi kiểm tra nhiệt độ bình thường cơ thể thỏ, tiêm chậm dung dịch thử nghiệm vào tĩnh mạch tai theo liều lượng 5 ml/mỗi kg thể trọng, 30 phút kiểm tra nhiệt độ cơ thể thỏ 1 lần, tổng cộng kiểm tra 6 lần, thân nhiệt tăng đều thấp dưới 0,6°C, tổng cộng thân nhiệt tăng của cả 3 con dưới 1,3°C.

Ví dụ thử nghiệm 5: Kiểm soát chất lượng ginkgolit – Kiểm tra huyết tan (Hemolysis) và đông kết.

Điều chế dung dịch thử nghiệm: Lấy 6 ml dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích, khuấy đều trong 10 ml dung dịch tiêm canxi clorua 0,9%.

Phương pháp kiểm tra: Lấy 5 ống nghiệm thủy tinh sạch và đánh số, ống số 1 và số 2 là ống đựng dung dịch thử nghiệm, ống số 3 là ống đối chiếu âm tính, ống số 4 là ống đối chiếu dương tính, ống số 5 là ống đối chiếu dung dịch thử nghiệm. Lần lượt cho dung dịch vẩn đục hồng cầu 2%, dung dịch canxi clorua 0,9%, nước cất như bảng 3 thể hiện, sau khi khuấy đều nhanh chóng tiến hành ủ trong tủ nhiệt độ ổn định 37°C ± 0,5°C.

Liều lượng cho thêm của dung dịch thử nghiệm thể hiện tại bảng 3.

Bảng 3: Liều lượng cho thêm dung dịch thử nghiệm huyết tan và đông kết

| Ký hiệu ống nghiệm | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--------------------|---|---|---|---|---|
|--------------------|---|---|---|---|---|

|                                      |     |     |     |     |     |
|--------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| Dung dịch vẫn đục<br>hồng cầu 2%/ ml | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 |     |
| Dung dịch Canxi<br>clorua 0,9%       | 2,2 | 2,2 | 2,5 |     | 4,7 |
| Nước cất/ ml                         |     |     |     | 2,5 |     |
| Dung dịch thuốc thử                  | 0,3 | 0,3 |     |     | 0,3 |

Nếu dung dịch trong ống nghiệm có màu hồng trong suốt, phần đáy ống không có tế bào tồn dư hoặc có ít hồng cầu tồn dư, chứng tỏ có phát sinh hiện tượng huyết tan; nếu hồng cầu lắng xuống dưới hoàn toàn, dung dịch phần trên trong suốt không màu hoặc dung dịch trong ở trên tuy trong suốt có màu, nhưng quan sát bằng mắt thường ống số 1, 2 và 5 không có khác nhau rõ rệt, chứng tỏ không phát sinh hiện tượng huyết tan. Nếu trong dung dịch có màu nâu đỏ hoặc kết tủa dạng sợi màu nâu đỏ, lắc nhẹ 3 lần vẫn không tan, chứng tỏ có thể phát sinh hiện tượng đông kết hồng cầu.

Sau 3 tiếng quan sát, không có phản ứng huyết tan và đông kết.

Ví dụ thử nghiệm 6: Kiểm soát chất lượng ginkgolit – Kiểm tra chất đại phân tử và polyme.

a. Máy móc thử nghiệm và thuốc thử:

Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1200, máy kiểm tra tia tử ngoại, máy kiểm tra khúc xạ vi sai. Cột sắc ký gel Phenomenex BioSep-SEC-S2000.

Vật đối chiếu dextran D2000 (blue dextran 2000), Sở kiểm định sản phẩm sinh học dược phẩm Trung Quốc, lô số 140646-2000-01.

Vật đối chiếu glucoza (DO), hàm lượng 99,5%, lô số 086K0166, SIGMA.

Nước dùng siêu sạch chế từ hệ thống lọc nước siêu sạch Millipore-Q.

Chất thử còn lại là thuần phân tích.

Nguồn gốc vật mẫu: dung dịch tiêm ginkgolit, lô số 100501, 100502 và 100503, đều có quy cách 2 ml.

b. Lựa chọn pha lưu động: Lựa chọn dung dịch natri sulfat 0.71% (chứa natri azit 0,02%) là pha lưu động.

c. Lựa chọn máy kiểm tra: Chọn dùng máy đo khúc xạ vi sai – máy đo loại thông dụng, loại máy này đều có phản ứng rất tốt đối với các chất có khác nhau hệ số khúc xạ.

d. Điều kiện sắc ký muốn xác định:

Cột sắc ký: Phenomenex BioSep-SEC-S2000, 300 x 7,8 mm, 5  $\mu$ m.

Pha lưu động: Dung dịch natri sulfat 0,71% (chứa natri azit 0,02%).

Nhiệt độ cột: 35°C; nhiệt độ náy kiểm tra: 35°C; tốc độ dòng chảy: 0,5 ml/phút.

e. Phân tử lượng của ginkgolit:

| Ginkgolit         | Ginkgolit A       | Ginkgolit B          | Ginkgolit C          | Bilobalit         | Ginkgolit J          |
|-------------------|-------------------|----------------------|----------------------|-------------------|----------------------|
| Công thức phân tử | $C_{20}H_{24}O_9$ | $C_{20}H_{24}O_{10}$ | $C_{20}H_{24}O_{11}$ | $C_{15}H_{18}O_8$ | $C_{20}H_{24}O_{10}$ |
| Phân tử lượng     | 408,4             | 424,4                | 440,4                | 326,3             | 424,4                |

f. Nghiên cứu phương pháp luận:

1. Mang vật đối chiếu dextran và glucoza lần lượt cho thêm pha lưu động chế thành dung dịch 10 mg/ml, lần lượt lấy chính xác dung dịch đối chiếu mỗi loại 20  $\mu$ l, bơm vào máy sắc ký, ghi lại đồ thị sắc ký, kết quả là dextran xuất hiện đỉnh ở thời gian bảo lưu 9,816', glucoza xuất hiện đỉnh ở thời gian bảo lưu 18,712', chứng tỏ sử dụng phương pháp sắc ký gel, chất có phân tử lượng lớn xuất hiện đỉnh trước, chất có phân tử lượng nhỏ xuất hiện đỉnh sau.

2. Lấy 2 ml dung dịch tiêm ginkgolit, khuấy đều với 1 ml dung dịch đối chiếu dextran (10 mg/ml), lấy chính xác 10  $\mu$ l, bơm vào máy sắc ký, ghi lại đồ thị sắc ký, kết quả là kiểm tra thấy dextran ở thời gian bảo lưu 9,698', đỉnh thành phần dung dịch tiêm ginkgolit xuất hiện đỉnh sau 18 phút, chứng tỏ thời gian xuất hiện đỉnh 180 ~ 450 của phân tử lượng ở khoảng 18 phút, thời gian xuất hiện đỉnh 5000 ~ 2000000 của phân tử lượng ở khoảng 9 phút, chứng tỏ áp dụng phương pháp sắc ký gel để kiểm tra chất đại phân tử là hoàn toàn khả thi.

Để nghiệm chứng một lần nữa trong sản phẩm không chứa đại phân tử và polymer, lại tiếp tục tiến hành thử nghiệm sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS).

a. Điều kiện sắc ký:

Pha lưu động: Metanol – nước 990:10; cột sắc ký: Agilent RX- $C_{18}$  (2,1 x 50 mm).

Nhiệt độ cột: 25°C; tốc độ dòng chảy: 0,3 ml/phút.

b. Điều chế dung dịch thử nghiệm: Lấy chính xác 2 ml dung dịch tiêm ginkgolit theo giải pháp hữu ích cho vào trong bình dung tích 10 ml, thêm pha lưu động pha loãng đến độ khắc, khuấy đều, được sản phẩm dung dịch thử nghiệm.

c. Kiểm tra sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS): căn cứ vào phương pháp thử nghiệm đã xác định, lần lượt lấy 3 lô dung dịch thử nghiệm, mỗi loại 10  $\mu$ l, bơm vào máy sắc ký, kiểm tra phân tử lượng trong giới hạn phân tử lượng 400 ~ 1000 và 400 ~ 3000, kết quả thử nghiệm thể hiện ở bảng 4 dưới đây:

Bảng 4: Kết quả trắc định phân tử lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS)

|                     |       |       |       |       |       |       |       |       |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| [M+Na] <sup>+</sup> | 419,1 | 431,5 | 447,4 | 463,3 | 475,7 | 532,2 | 588,8 | 701,8 |
| M                   | 369,1 | 408,5 | 424,4 | 440,3 | 452,7 | 509,2 | 678,8 |       |

Từ kết quả trắc định phân tử lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS) có thể thấy, lần lượt kiểm tra thấy ginkgolit A (phân tử lượng 408,5), ginkgolit B (phân tử lượng 424,4), ginkgolit C (phân tử lượng 440,4), hoàn toàn thống nhất với phân tử lượng hợp chất hữu hiệu của ginkgolit. Do giới hạn phân tử lượng kiểm tra lần lượt ở khoảng 400 ~ 1000 và 400 ~ 3000, nên không tiến hành kiểm tra phân tử lượng của Bilobalit (326,3), không kiểm tra thất chất có phân tử lượng lớn trên 700 trong dung dịch ở giải pháp hữu ích, việc tồn tại chất có phân tử lượng thấp số lượng ít khác không hề ảnh hưởng đến chất lượng của dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích, qua kiểm tra phân tử lượng đối với các thành phần khác nhau trong ginkgolit bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS), đã giải thích rõ trong sản phẩm này không chứa đại phân tử hoặc polyme.

Giới hạn trắc định phân tử lượng của 3 lô dung dịch tiêm ginkgolit lần lượt ở khoảng 400 ~ 1000 và 400 ~ 3000, đồ thị LC-MS xem từ hình 1 ~ 6.

Ví dụ thử nghiệm 7: Kiểm soát chất lượng ginkgolit – Kiểm tra tổng axit Ginkgolic.

Thử nghiệm tính phù hợp hệ thống và điều kiện sắc ký: Dùng Octadexylsilyl-silica gel (ODS) làm chất bổ sung; dùng Metanol – axit glacial axetic 1% là pha lưu động; tốc độ dòng chảy 1,0 ml/phút; bước sóng kiểm tra là 310nm. Số phần lý thuyết tính theo đỉnh bilobalit không thấp dưới 4000.

Điều chế dung dịch đối chiếu: Lấy vật đối chiếu axit ginkgolic với lượng vừa phải, cân chính xác, cho thêm metanol chế thành mỗi ml dung dịch chứa 5 µg để làm dung dịch đối chiếu; lấy vật đối chiếu tổng axit Ginkgolic với lượng vừa phải, cân chính xác, cho thêm metanol chế thành mỗi ml dung dịch chứa 100 µg để làm dung dịch đối chiếu định vị.

Điều chế dung dịch thử nghiệm: Lấy 1 ml dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích, thêm nước pha loãng thành 10 ml, khuấy đều, chất lọc 3 lần (20 ml, 15 ml, 15 ml) bằng n-hexan, hợp nhất n-hexan, chưng khô theo phương pháp tăng nhiệt bằng môi giới truyền nhiệt nước (bể nước), chất cặn được hòa tan bằng metanol và pha loãng thành 2 ml, khuấy đều để làm dung dịch thử nghiệm.

Phương pháp trắc định: Lấy chính xác dung dịch thử nghiệm, dung dịch đối chiếu và dung dịch đối chiếu dùng định vị, mỗi loại 20 µl, bơm vào máy sắc ký lỏng, tính tổng diện tích đỉnh của đỉnh sắc ký tương ứng với vật đối chiếu tổng axit ginkgolic trong dung dịch thử nghiệm, tính tổng hàm lượng axit ginkgolic theo phương pháp ngoại tiêu vật đối chiếu axit ginkgolic. Tổng axit ginkgolic thấp dưới 1 ppm.

Nghiên cứu phương pháp luận:

## a. Thử nghiệm tuyến tính:

Điều chế dung dịch đối chiếu: Lấy vật đối chiếu axit ginkgolic, cho thêm metanol chế thành mỗi ml dung dịch chứa 0,104 mg axit ginkgolic để làm dung dịch đối chiếu (1); Lấy chính xác 0,5 ml dung dịch đối chiếu (1) cho vào bình 100 ml, pha loãng bằng metanol đến độ khắc, khuấy đều để làm dung dịch đối chiếu (2).

Phương pháp trắc định: Lần lượt lấy chính xác 2,5 µl, 5 µl, 10 µl, 20 µl dung dịch đối chiếu (1) và 10 µl dung dịch đối chiếu (2), bơm vào máy sắc ký lỏng, ghi lại đồ thị sắc ký trong môi trường sắc ký nêu trên. Kết quả thử nghiệm thể hiện ở bảng 5 dưới đây.

Bảng 5: Kết quả thử nghiệm tuyến tính axit ginkgolic

| Lượng lấy mẫu (ng) | 5,2  | 260    | 520    | 1040   | 2080   |
|--------------------|------|--------|--------|--------|--------|
| Diện tích đỉnh     | 2545 | 102162 | 213093 | 426512 | 843249 |

Lượng lấy mẫu là tọa độ trục tung, diện tích đỉnh là tọa độ trục hoành, tiến hành hồi quy tuyến tính sẽ được phương trình hồi quy:  $Y = 0,0025X - 0,6448$   $r = 0,9999$ .

Kết quả thử nghiệm cho thấy, lượng lấy mẫu axit ginkgolic ở khoảng 5,2 ~ 2080 ng, lượng lấy mẫu và diện tích đỉnh có quan hệ tuyến tính rất tốt.

Đồ thị quan hệ tuyến tính axit ginkgolic thể hiện như hình 7.

## b. Thử nghiệm giới hạn kiểm tra giới hạn định lượng:

Phương pháp trắc định: lần lượt lấy chính xác 5 µl và 2 µl dung dịch đối chiếu (2) ở mục Thử nghiệm tuyến tính, bơm vào máy sắc ký lỏng, ghi lại đồ thị sắc ký, tính giới hạn kiểm tra và giới hạn định lượng của axit ginkgolic, giới hạn định lượng axit ginkgolic là 2,24 ng, giới hạn kiểm tra là 0,69 ng.

## c. Thử nghiệm độ chính xác:

Phương pháp trắc định: Lấy chính xác 2 µl dung dịch đối chiếu (2) của axit ginkgolic, liên tục lấy mẫu 5 lần, ghi lại đồ thị sắc ký, tính giá trị RSD. Kết quả thử nghiệm được thể hiện ở bảng 6 dưới đây.

Bảng 6: Kết quả thử nghiệm độ chính xác

| STT            | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    |
|----------------|------|------|------|------|------|
| Diện tích đỉnh | 4850 | 4874 | 4845 | 4873 | 4837 |

Giá trị RSD diện tích đỉnh dung dịch đối chiếu là 0,35%, kết quả thử nghiệm chứng tỏ độ chính xác rất tốt.

## d. Thử nghiệm tính ổn định:

Phương pháp trắc định: Lấy chính xác 20  $\mu$ l dung dịch đối chiếu (2) của axit ginkgolic, bơm vào máy sắc ký lỏng lần lượt 0, 2, 4, 8, 12 tiếng, ghi lại đồ thị sắc ký trong điều kiện sắc ký nói trên, tính giá trị RSD. Kết quả thử nghiệm được thể hiện ở bảng 7 dưới đây.

Bảng 7: Kết quả thử nghiệm tính ổn định của dung dịch đối chiếu

| Thời gian (tiếng) | 0    | 2    | 4    | 8    | 12   |
|-------------------|------|------|------|------|------|
| Diện tích đỉnh    | 4861 | 4853 | 4865 | 4843 | 4870 |

Kết quả thử nghiệm chứng tỏ, dung dịch đối chiếu ổn định trong khoảng 12 tiếng.

e. Thử nghiệm tỷ lệ thu hồi:

Điều chế dung dịch đối chiếu: Lấy chính xác 5,03 mg vật đối chiếu dung dịch axit Ginkgolic cho vào bình dung tích 10 ml, hòa tan bằng metanol và pha loãng đến độ khắc, khuấy đều để làm dung dịch đối chiếu.

Điều chế dung dịch thử nghiệm: Lấy 9 phần dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích, từng 3 phần một cho thêm 1,6 ml, 2,0 ml và 2,4 ml dung dịch đối chiếu, khuấy đều, chất lọc 3 lần (20 ml, 15 ml, 15 ml) bằng n-hexan, hợp nhất n-hexan, chưng khô theo phương pháp tăng nhiệt bằng môi giới truyền nhiệt nước (bể nước), chất cặn được hòa tan bằng chloroform và pha loãng định lượng thành 2 ml, khuấy đều để làm dung dịch thử nghiệm.

Phương pháp trắc định: Lần lượt lấy chính xác dung dịch đối chiếu và dung dịch thử nghiệm, mỗi loại 20  $\mu$ l, ghi lại đồ thị sắc ký trong điều kiện sắc ký nói trên, tính tỷ lệ thu hồi. Kết quả thử nghiệm được thể hiện ở bảng 8 dưới đây.

Bảng 8: Kết quả thử nghiệm tỷ lệ thu hồi

| STT | Lượng cho vào ( $\mu$ l) | Lượng đo được ( $\mu$ l) | Tỷ lệ thu hồi (5) | Tỷ lệ thu hồi bình quân (5) | RSD (%) |
|-----|--------------------------|--------------------------|-------------------|-----------------------------|---------|
| 1   | 0,8046                   | 0,780                    | 96,95             | 98,04                       | 1,41    |
| 2   |                          | 0,797                    | 98,97             |                             |         |
| 3   |                          | 0,778                    | 96,97             |                             |         |
| 4   | 1,006                    | 1,007                    | 100,05            |                             |         |
| 5   |                          | 0,997                    | 99,06             |                             |         |
| 6   |                          | 1,001                    | 99,46             |                             |         |
| 7   | 1,272                    | 1,161                    | 96,18             |                             |         |

|   |  |       |       |  |  |
|---|--|-------|-------|--|--|
| 8 |  | 1,173 | 97,16 |  |  |
| 9 |  | 1,181 | 97,85 |  |  |

Tỷ lệ thu hồi bình quân là 98,04, RSD là 1,41%, Kết quả thử nghiệm cho thấy, hạn lượng trắc định axit ginkgolic của phương pháp hoàn toàn chính xác và tin cậy.

Ví dụ thử nghiệm 8: Kiểm soát chất lượng ginkgolit – Kiểm tra đồ thị dầu vân tay.

Thử nghiệm tính phù hợp hệ thống và điều kiện sắc ký: Dùng Octadexylsilyl-silica gel (ODS) làm chất bổ sung; dùng metanol – tetrahydrofuran – nước (25:10:65) là pha lưu động; máy kiểm tra tán xạ bay hơi (ELSD); nhiệt độ ống chuyển động: 105°C; lưu tốc tải khí: 3,00 L/phút; nhiệt độ cột: 40°C; số phần lý thuyết tính theo đỉnh bilobalit không thấp dưới 2500. Độ tách rời giữa đỉnh Bilobalit và đỉnh ginkgolit C phải lớn hơn 1,5.

Điều chế dung dịch vật tham chiếu: Lần lượt lấy chính xác vật đối chiếu bilobalit, vật đối chiếu ginkgolit A, vật đối chiếu ginkgolit B, vật đối chiếu ginkgolit C với lượng vừa phải, cho thêm metanol chế thành mỗi ml dung dịch hỗn hợp lần lượt chứa 0,15 mg, 0,12 mg, 0,1 mg, 0,1 mg, khuấy đều để làm dung dịch tham chiếu.

Điều chế dung dịch thử nghiệm: Lấy chính xác 1 ml dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích, cho 14 ml dung dịch hoãn xung phosphat (pH 6,5), khuấy đều, hấp phụ 15 phút qua cột Extrelut-20, dùng 100 ml etyl axetat để tẩy tách, thu gom dung dịch tẩy tách, chưng khô theo phương pháp tăng nhiệt bằng môi giới truyền nhiệt nước (bể nước), chất cặn được hòa tan bằng pha lưu động và chuyển sang bình dung tích 10 ml, cho thêm pha lưu động pha loãng đến độ khác, khuấy đều, vi lọc bằng màng kích thước lỗ 0,45  $\mu\text{m}$  để làm dung dịch thử nghiệm.

Phương pháp trắc định: Lần lượt lấy chính xác dung dịch tham chiếu và dung dịch thử nghiệm, mỗi loại 20  $\mu\text{l}$ , bơm vào máy sắc ký lỏng, ghi đồ thị sắc phổ 60 phút.

Đánh giá hệ thống theo mức độ tương tự đồ thị dầu vân tay sắc ký thuốc Bắc, tính mức độ tương tự đồ thị dầu vân tay vật thử nghiệm với đồ thị dầu vân tay vật đối chiếu lớn hơn 0,95.

Tác giả đã tiến hành nghiên cứu và thuyết minh nội dung giải pháp hữu ích nêu trên để chứng minh hiệu quả kỹ thuật của giải pháp hữu ích. Thử nghiệm dưới đây sẽ thuyết minh và giải thích thêm cho giải pháp hữu ích nhưng không làm giới hạn giải pháp hữu ích.

Trong đồ thị dầu vân tay ginkgolit, trong đó đỉnh 2 là ginkgolit C, đỉnh 3 là bilobalit, đỉnh 4 là ginkgolit A, đỉnh 5 là ginkgolit B, 4 đỉnh đặc trưng trong dung dịch tiêm ở phát minh này đều có thể đối ứng 1 – 1 trong đồ thị dầu vân tay. Đồ thị dầu vân tay đối chiếu của dung dịch tiêm ginkgolit được thể hiện ở bảng 8.

Trước tiên dùng phần mềm chỉ định đồ thị dầu vân tay năm 2004 của Ủy ban Dược điển – bản A hệ thống đánh giá mức độ tương tự đồ thị dầu vân tay sắc ký thuốc

Bắc, tạo sinh đồ thị dấu vân tay đối chiếu đối với 10 lô dung dịch tiêm ginkgolit, rồi tính mức độ tương tự đồ thị dấu vân tay vật thử nghiệm và đồ thị dấu vân tay đối chiếu của ginkgolit theo bản B hệ thống đánh giá mức độ tương tự đồ thị dấu vân tay sắc ký thuốc Bắc. Kết quả thử nghiệm được thể hiện ở bảng 9 dưới đây.

Bảng 9: Kết quả mức độ tương tự 10 lô ginkgolit

| Số lô  | Mức độ tương tự |
|--------|-----------------|
| 100501 | 0,991           |
| 100502 | 0,987           |
| 100503 | 0,995           |
| 100504 | 0,996           |
| 110201 | 0,993           |
| 110202 | 0,989           |
| 110203 | 0,992           |
| 110701 | 0,989           |
| 110702 | 0,993           |
| 110703 | 0,991           |

Mức độ tương tự 4 chỉ tiêu có đỉnh đồ thị dấu vân tay của 10 lô dung dịch tiêm ginkgolit theo giải pháp hữu ích với đồ thị dấu vân tay đối chiếu đều lớn hơn 0,95.

Ví dụ thử nghiệm 9: Kiểm soát chất lượng ginkgolit – Trắc định hàm lượng.

Thử nghiệm tính phù hợp hệ thống và điều kiện sắc ký: Dùng Octadecylsilyl-silica gel (ODS) làm chất bổ sung; dùng metanol – tetrahydrofuran – nước (25:10:65) là pha lưu động; máy kiểm tra tán xạ bay hơi (ELSD); nhiệt độ ống chuyển động: 105°C; lưu tốc tải khí: 3,00 L/phút; nhiệt độ cột: 40°C; số phần lý thuyết tính theo đỉnh Bilobalit không thấp dưới 2500. Độ tách rời giữa đỉnh Bilobalit và đỉnh ginkgolit C phải lớn hơn 1,5.

Điều chế dung dịch đối chiếu: Lần lượt lấy chính xác vật đối chiếu bilobalit, vật đối chiếu ginkgolit A, vật đối chiếu ginkgolit B, vật đối chiếu ginkgolit C với lượng vừa phải, cho thêm metanol chế thành mỗi ml dung dịch hỗn hợp lần lượt chứa 0,15 mg, 0,12 mg, 0,1 mg, 0,1 mg, khuấy đều để làm dung dịch đối chiếu.

Điều chế dung dịch thử nghiệm: Lấy chính xác 1 ml dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích, cho 14 ml dung dịch hoãn xung phosphat (pH 6,5), khuấy đều, hấp phụ 15 phút qua cột Extrelut-20, dùng 100 ml etyl axetat để tẩy tách, thu gom dung dịch tẩy tách,

chúng khô theo phương pháp tăng nhiệt bằng môi giới truyền nhiệt nước (bể nước), chất cần được hòa tan bằng pha lưu động và chuyển sang bình dung tích 10 ml, cho thêm pha lưu động pha loãng đến độ khắt, khuấy đều, vi lọc bằng màng kích thước lỗ 0,45  $\mu\text{m}$  để làm dung dịch thử nghiệm.

Phương pháp trắc định: Lần lượt lấy chính xác 10  $\mu\text{l}$ , 20  $\mu\text{l}$  dung dịch vật đối chiếu và 15  $\mu\text{l}$  dung dịch thử nghiệm, bơm vào máy sắc ký lỏng hiệu năng cao, ghi lại đồ thị sắc ký, tính hàm lượng bilobalit, ginkgolit A, ginkgolit B và ginkgolit C bằng phương trình logarit biện chứng (lưỡng điểm pháp) ngoại tiêu.

Tính tổng lượng chứa ginkgo terpen lacton (lấy theo bilobalit ( $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_8$ ), ginkgolit A ( $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_9$ ), ginkgolit B ( $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ ), ginkgolit C ( $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$ ) trong mỗi ml dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích, hàm lượng là 1 – 10 mg/ml, lựa chọn phương án tối ưu là 4,25 ~ 5,75 mg.

Dưới đây là ví dụ cụ thể điều chế dung dịch tiêm theo giải pháp hữu ích:

Ví dụ 1:

Công thức toa thuốc:

|                                                  |          |
|--------------------------------------------------|----------|
| - ginkgolit (tính theo hàm lượng terpen lacton): | 10 g     |
| - Glyxerin:                                      | 600 ml   |
| - Bổ sung etanol:                                | 2000 ml  |
| Chế thành:                                       | 1000 ống |

Lấy glyxerin và 80% tổng lượng etanol theo công thức toa thuốc, khuấy đều, cho thêm ginkgolit, khuấy tan, cho thêm etanol đến khi đủ liều lượng, khuấy đều, điều chỉnh độ pH đến khoảng giá trị 3,2 ~ 3,8 bằng axit clohydric 1 ~ 10%, vật trung gian sau khi được kiểm tra đạt tiêu chuẩn, lọc trong, đóng kín và diệt khuẩn.

Ví dụ 2:

Công thức toa thuốc:

|                                                  |          |
|--------------------------------------------------|----------|
| - Ginkgolit (tính theo hàm lượng terpen lacton): | 10 g     |
| - Glyxerin:                                      | 800 ml   |
| - Bổ sung etanol:                                | 2000 ml  |
| Chế thành:                                       | 1000 ống |

Lấy glyxerin và 80% tổng lượng etanol theo công thức toa thuốc, khuấy đều, cho thêm ginkgolit, khuấy tan, cho thêm etanol đến khi đủ liều lượng, khuấy đều, điều chỉnh độ pH đến khoảng giá trị 3,2 ~ 3,8 bằng axit xitric 5 ~ 10%, vật trung gian sau khi được kiểm tra đạt tiêu chuẩn, lọc trong, đóng kín và diệt khuẩn.

Ví dụ 3:

Công thức toa thuốc:

|                                                  |          |
|--------------------------------------------------|----------|
| - Ginkgolit (tính theo hàm lượng terpen lacton): | 10 g     |
| - Glyxerin:                                      | 1000 ml  |
| - Bỏ sung etanol:                                | 2000 ml  |
| Chế thành:                                       | 1000 ống |

Lấy glyxerin và 80% tổng lượng etanol theo công thức toa thuốc, khuấy đều, cho thêm ginkgolit, khuấy tan, cho thêm etanol đến khi đủ liều lượng, khuấy đều, điều chỉnh độ pH đến khoảng giá trị 3,2 ~ 3,8 bằng axit xitric 5 ~ 10%, vật trung gian sau khi được kiểm tra đạt tiêu chuẩn, lọc trong, đóng kín và diệt khuẩn.

Ví dụ 4:

Công thức toa thuốc:

|                                                  |          |
|--------------------------------------------------|----------|
| - Ginkgolit (tính theo hàm lượng terpen lacton): | 10 g     |
| - Glyxerin:                                      | 400 ml   |
| - Etanol:                                        | 1200 ml  |
| - Bỏ sung nước dùng để tiêm:                     | 2000 ml  |
| Chế thành:                                       | 1000 ống |

Lấy glyxerin và etanol theo công thức toa thuốc, khuấy đều, cho thêm ginkgolit, khuấy tan, cho thêm Etanol đến khi đủ liều lượng, khuấy đều, điều chỉnh độ pH đến khoảng giá trị 3,2 ~ 3,8 bằng axit xitric 5 ~ 10%, vật trung gian sau khi được kiểm tra đạt tiêu chuẩn, lọc trong, đóng kín và diệt khuẩn.

Ví dụ 5:

Công thức toa thuốc:

|                                                  |          |
|--------------------------------------------------|----------|
| - Ginkgolit (tính theo hàm lượng terpen lacton): | 10 g     |
| - Glyxerin:                                      | 1000 ml  |
| - Etanol:                                        | 300 ml   |
| - Bỏ sung nước dùng để tiêm:                     | 5000 ml  |
| Chế thành:                                       | 1000 ống |

Lấy glyxerin và etanol theo công thức toa thuốc, khuấy đều, cho thêm ginkgolit, khuấy tan, cho thêm etanol đến khi đủ liều lượng, khuấy đều, điều chỉnh độ pH đến khoảng từ 3,2 đến 3,8 bằng axit clohydric 1% đến 10%, vật trung gian sau khi được kiểm tra đạt tiêu chuẩn, lọc trong, đóng kín và diệt khuẩn.

Hàm lượng thành phần hoạt tính và chất lượng dung dịch tiêm trong các ví dụ từ 1 đến 5 nêu trên đều đạt yêu cầu chất lượng thuốc tiêm ginkgolit theo giải pháp hữu ích.

**YÊU CẦU BẢO HỘ**

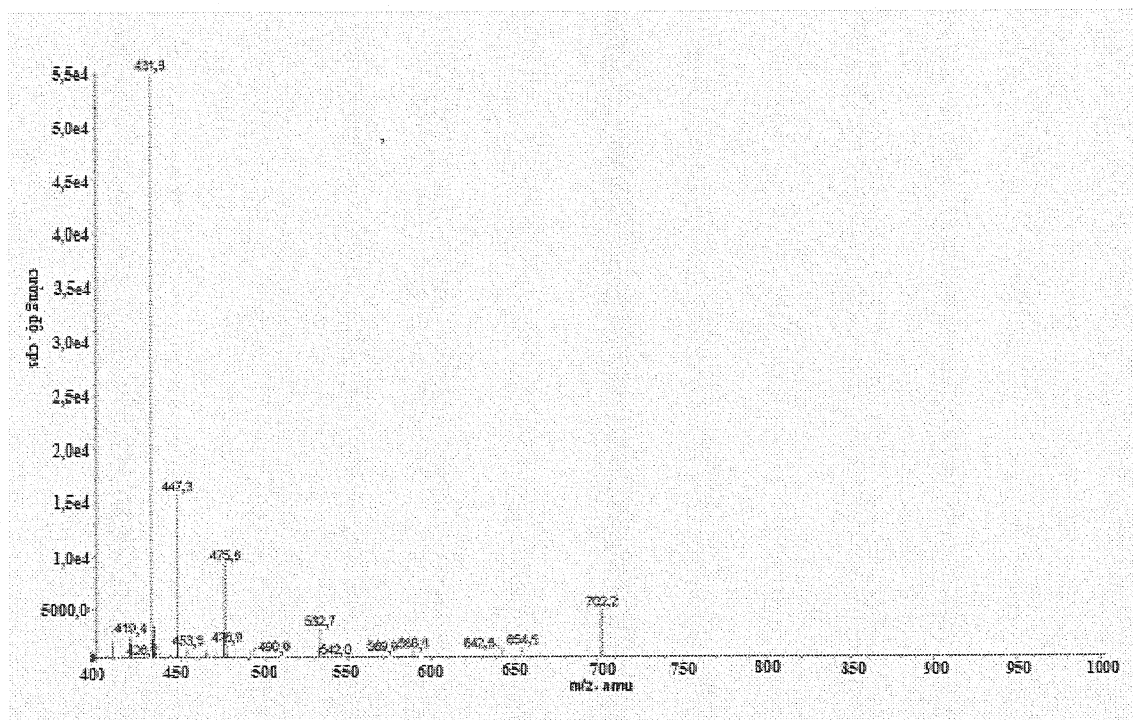
1. Dung dịch tiêm chứa ginkgolit, khác biệt ở chỗ dung dịch tiêm này chứa các thành phần sau đây:

ginkgolit với lượng 5 mg/ml (tính theo hàm lượng terpen lacton);

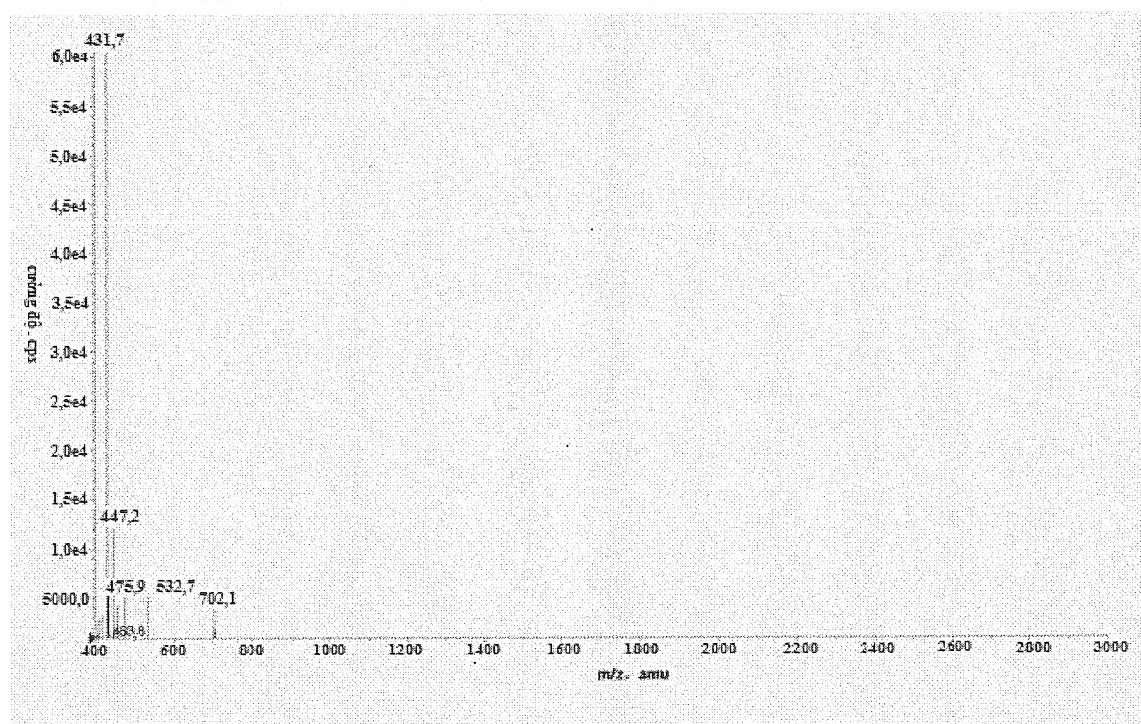
glyxerol với lượng 0,4 ml/ml; và

etanol với lượng 0,6 ml/ml.

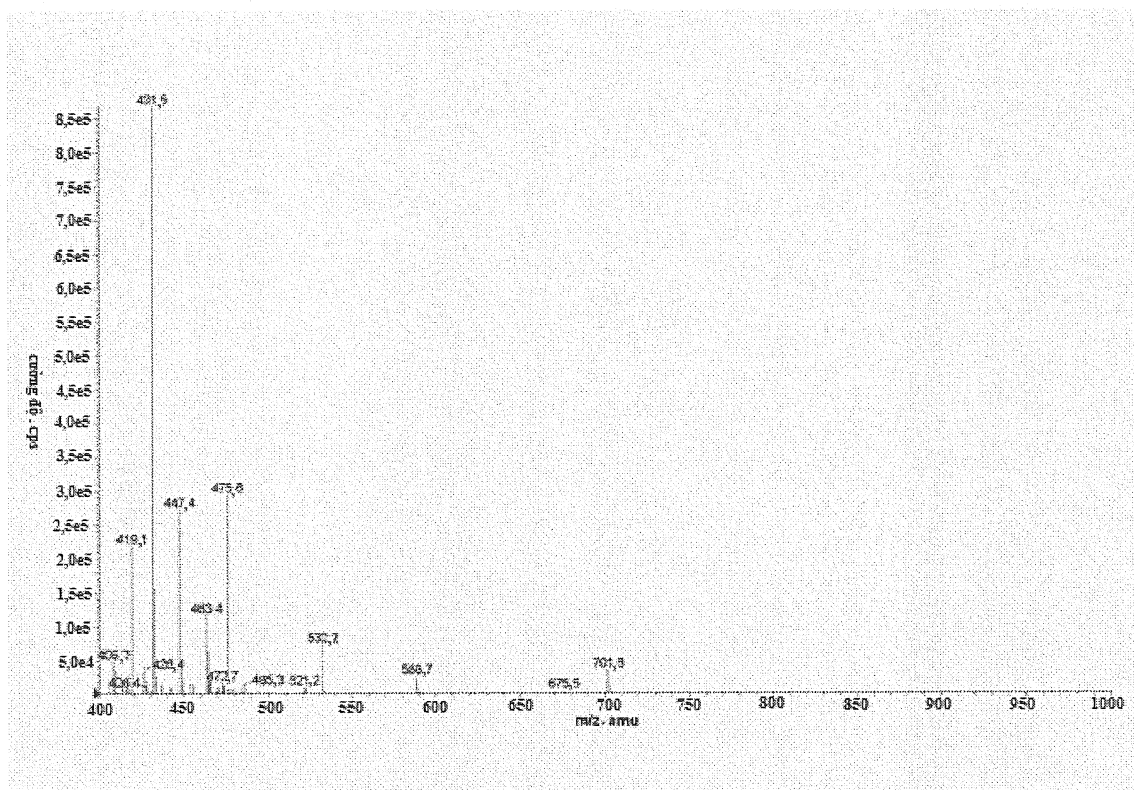
2. Dung dịch tiêm chứa ginkgolit theo điểm 1, khác biệt ở chỗ ginkgolit chứa 25,0 - 50,0% bilobalit, 20,0% – 45,0% ginkgolit A, 10,0% – 30,0% ginkgolit B và 5,0% – 15,0% ginkgolit C; và tổng lượng của bilobalit, ginkgolit A, ginkgolit B và ginkgolit C không dưới 95,0%.



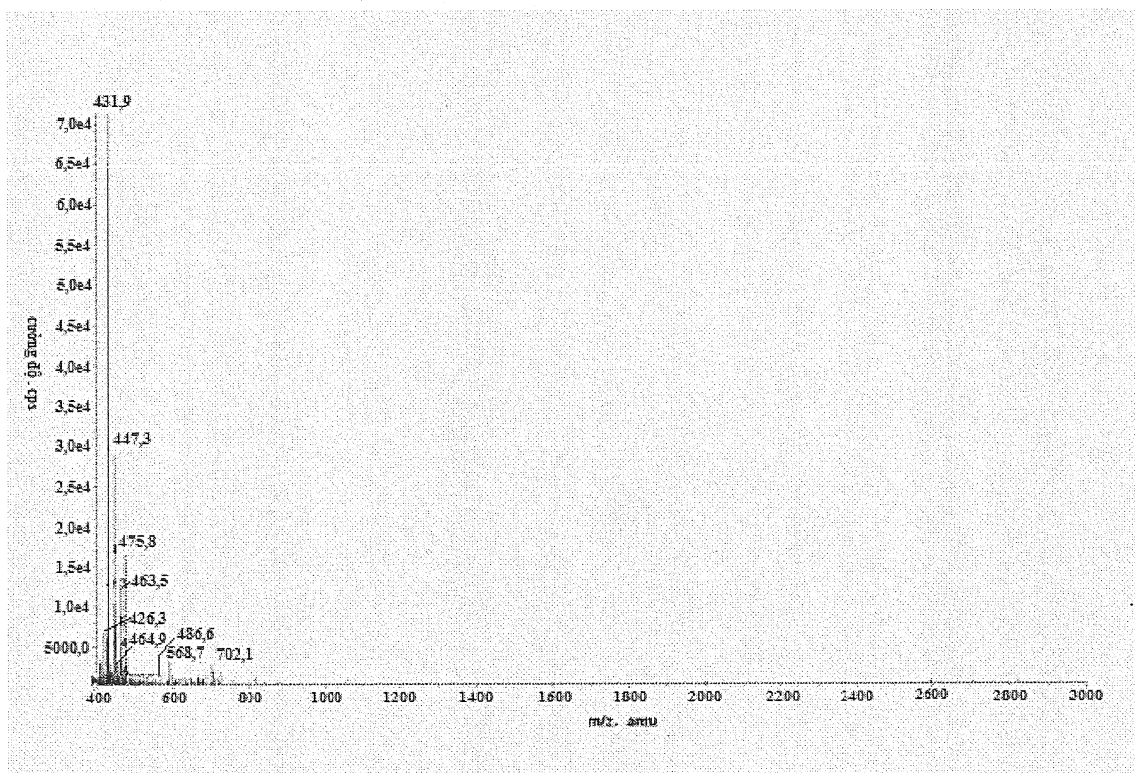
Hình 1



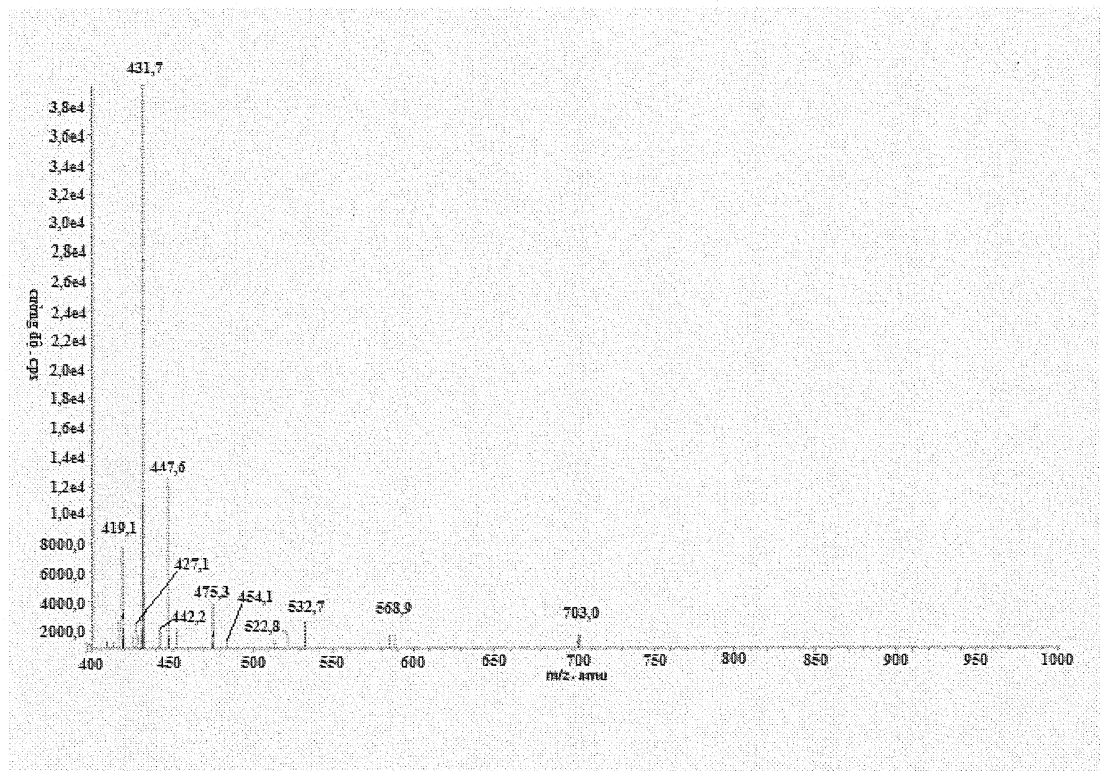
Hình 2



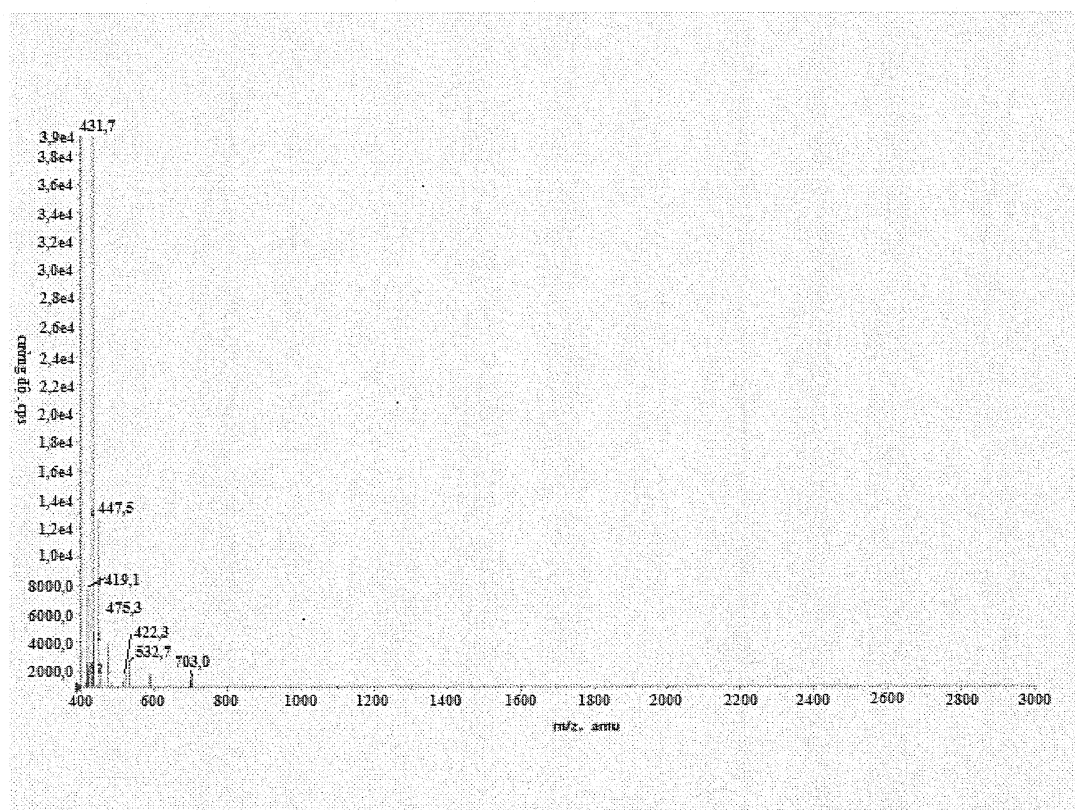
Hình 3



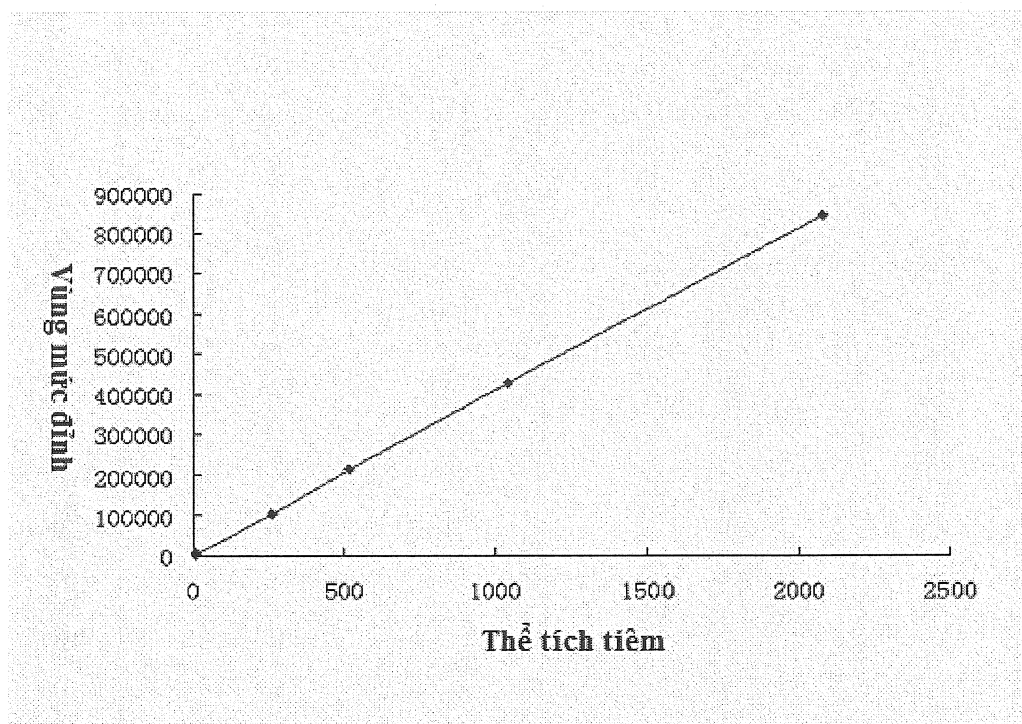
Hình 4



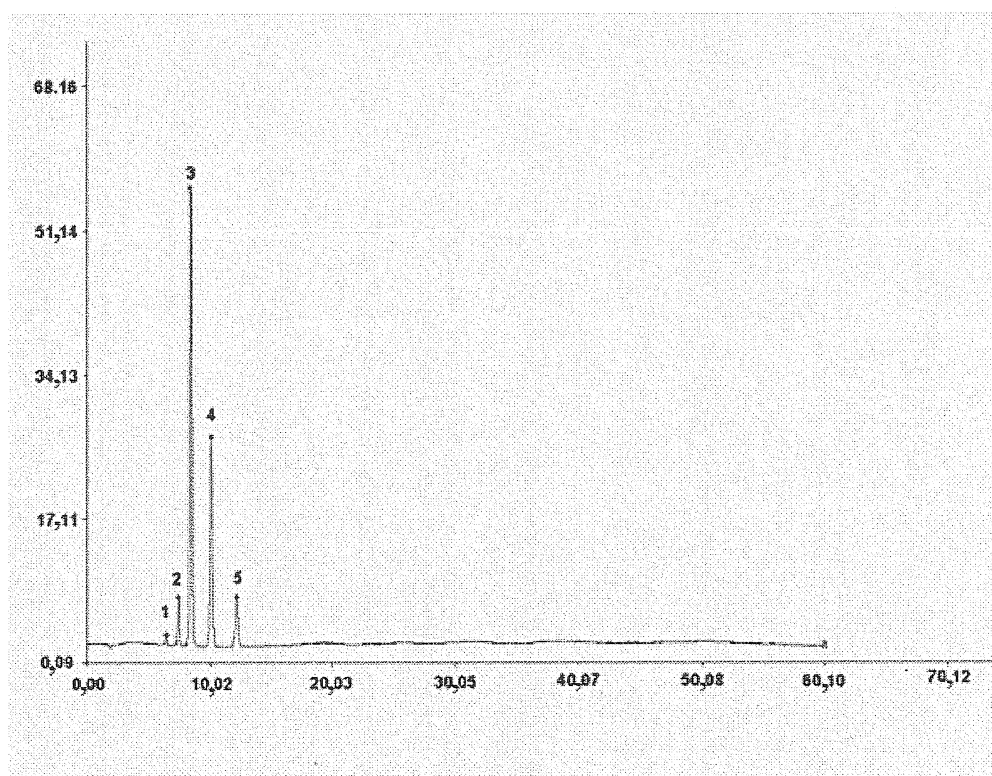
Hình 5



Hình 6



Hình 7: Đồ thị quan hệ tuyến tính của axit ginkgolic



Hình 8: Đồ thị dấu vân tay đối chiếu dung dịch tiêm ginkgolit, trong đó đỉnh 2 là ginkgolit C, đỉnh 3 là bilobalit, đỉnh 4 là ginkgolit A và đỉnh 5 là ginkgolit B