

Thiết lập chất đối chiếu hóa học Molnupiravir và Favipiravir

Trịnh Hoàng Dương¹, Trần Hải Nam², Mai Hà Phương², Nguyễn Minh Hiền², Phan Nguyễn Trường Thắng¹, Trần Việt Hùng^{1,*}



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

TÓM TẮT

Hiện nay, các nhà khoa học trên khắp thế giới đang thử nghiệm các hợp chất khác nhau nhằm tìm kiếm những hợp chất có khả năng hỗ trợ điều trị và phục hồi cho bệnh nhân COVID-19. Favipiravir và Molnupiravir là hai trong số các hợp chất kháng virus đang được sử dụng phổ biến để điều trị COVID-19 cho các bệnh nhân nhẹ và trung bình trong 5-7 ngày ở Việt Nam và một số nước trên thế giới với kết quả thử nghiệm lâm sàng sơ bộ là khả quan, bao gồm giảm đáng kể tỷ lệ nhập viện cũng như tỷ lệ tử vong do COVID-19. Các thuốc này hiện đang trong giai đoạn thử nghiệm, vì vậy vẫn chưa có tiêu chuẩn tham chiếu hóa học chính thức. Chính vì vậy các nghiên cứu kiểm nghiệm chất lượng thuốc là rất quan trọng. Bài báo tiến hành nghiên cứu phương pháp thiết lập chất đối chiếu hóa học của Molnupiravir và Favipiravir để kiểm nghiệm chất lượng thuốc trong nghiên cứu thử nghiệm. Các phương pháp hiện đại như quang phổ hồng ngoại (IR), khối phổ (MS), cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) và sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) được sử dụng kết hợp để đánh giá độ tinh khiết và chất lượng của thuốc. Tiếp đến, các hợp chất này được đánh giá độ đồng nhất và xác định giá trị ấn định để thiết lập chất đối chiếu dựa trên TCVN ISO 17034:2017, phụ lục 3 của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO technical series 943:2007) kết hợp sử dụng phương pháp thống kê để đánh giá độ đồng nhất liên phòng thí nghiệm ISO 13528:2015.

Từ khóa: Favipiravir, Molnupiravir, chất chuẩn đối chiếu, đánh giá độ tinh khiết

MỞ ĐẦU

COVID-19 đã trở thành một đại dịch toàn cầu với hàng triệu ca tử vong do chưa phát triển phương pháp chữa trị hiệu quả. Hiện nay, một số loại vaccine hiệu quả đã được chấp thuận để phòng ngừa COVID-19. Tuy nhiên, vaccine cũng không đảm bảo khả năng miễn nhiễm hoàn toàn khỏi SARS-CoV-2. Do đó, các nhà nghiên cứu trên khắp thế giới đang thử nghiệm các hợp chất khác nhau để tìm kiếm những hợp chất có thể hỗ trợ điều trị và phục hồi bệnh nhân COVID-19. Molnupiravir là dẫn xuất của ribonucleosid N⁴-hydroxycytidin có khả năng kháng SARS-CoV-2 hiệu quả được công ty Merck Pharmaceuticals (Mỹ) và đối tác Ridgeback Biotherapeutics (Mỹ). Hiện nay, Molnupiravir đã được FDA cấp phép sử dụng khẩn cấp cũng như được EMA cấp phép lưu hành để điều trị COVID-19 từ nhẹ đến trung bình^{1,2}. Tại Việt Nam, Molnupiravir đã được sử dụng trong chương trình chăm sóc tại nhà cho các trường hợp nhiễm SARS-CoV-2 điều trị ngoại trú tại Thành phố Hồ Chí Minh². Kết quả thử nghiệm lâm sàng sơ bộ cho thấy Molnupiravir có thể giảm đáng kể số ca nhập viện và tử vong do COVID-19². Một thuốc khác là Favipiravir, dẫn xuất của pyrazinocarboxamid, là một chất ức chế phổ rộng đối với bệnh cúm A và virus RNA được phát triển bởi Toyama Chemical của Nhật Bản³.

Favipiravir đã được sử dụng trong điều trị bệnh nhân mắc COVID-19 ở một số nước trên thế giới như Mỹ, Nga, Nhật Bản và Ấn Độ⁴⁻⁷. Ở Việt Nam, Favipiravir được dùng điều trị bệnh nhân COVID-19 nhẹ và trung bình⁸. Để kiểm tra chất lượng thuốc thử nghiệm này cần thiết phải có chất đối chiếu hóa học, tuy nhiên chất đối chiếu nhập ngoại đang được bán với giá rất đắt và phải mua từ nước ngoài dẫn đến việc kiểm tra chất lượng các thuốc trên là tương đối khó khăn. Trong bài báo này chúng tôi nghiên cứu thiết lập chất đối chiếu hóa học Molnupiravir và Favipiravir theo hướng dẫn của Dược điển Quốc tế (IP) và Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) để phục vụ công tác kiểm nghiệm thuốc Favipiravir nhập khẩu và thuốc Molnupiravir được sản xuất ở Việt Nam.

HOÁ CHẤT, TRANG THIẾT BỊ, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Hóa chất, trang thiết bị và đối tượng nghiên cứu

Hoá chất

Molnupiravir được sản xuất tại Optimus Laboratories Private Limited Ấn Độ, Favipiravir của Opatrix Laboratories Private Limited, Ấn Độ.

¹Viện Kiểm nghiệm Thuốc Thành phố Hồ Chí Minh

²Khoa Y, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Liên hệ

Trần Việt Hùng, Viện Kiểm nghiệm Thuốc Thành phố Hồ Chí Minh

Email: tran.viethung168@gmail.com

Lịch sử

- Ngày nhận: 04-01-2022
- Ngày chấp nhận: 21-7-2022
- Ngày đăng: 13-8-2022

DOI: 10.32508/stdjhs.v3i1.502



Bản quyền

© ĐHQG Tp.HCM. Đây là bài báo công bố mở được phát hành theo các điều khoản của the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Trích dẫn bài báo này: Dương T H, Nam T H, Phương M H, Hiền N M, Thắng P N T, Hùng T V. **Thiết lập chất đối chiếu hóa học Molnupiravir và Favipiravir.** *Sci. Tech. Dev. J. - Health Sci.* 2022; 3(1):393-402.

Hóa chất tinh khiết phân tích: Acid phosphoric, acid hydroclorid, natri hydroxyd, hydroperoxid, dikali hydrophosphat. Dung môi tinh khiết HPLC: Acetonitril, methanol; Cột sắc ký: Phenomenex, GL Sciences, Agilent.

Thiết bị

Bể siêu âm (Branson, Mỹ), Máy quang phổ hồng ngoại Nicolet iS50 FTIR (ThermoScientific, Mỹ), Máy quang phổ UV-Vis Shimadzu UV-2700 (Shimadzu, Nhật Bản), Máy NMR Bruker Avance II 400 MHz (Bruker, Mỹ), Tủ sấy (Binder, Đức), Lò nung (Carbolite, Anh), Máy chuẩn độ điện thế T90 (Mettler Toledo, Thụy Sĩ), Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Shimadzu CBM 20A (Shimadzu, Nhật Bản), Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao 1260 Infinity II LC (Agilent, Mỹ), Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Alliance (Water, Mỹ).

Đối tượng nghiên cứu

Molnupiravir và Favipiravir có cấu trúc hoá học được trình bày ở Hình 1 hiện đang được sử dụng thử nghiệm trong điều trị COVID-19 ở Việt Nam.

Phương pháp nghiên cứu

Xây dựng quy trình phân tích xác định độ tinh khiết sắc ký của Molnupiravir, Favipiravir bằng HPLC

Điều kiện sắc ký:

Pha động A: Thêm 1 mL acid phosphoric 85% vào 1000 mL nước; Pha động B: Acetonitril.

Cột: Inertsil C18, 250 x 4,6 mm, 5 μ m.

Detector: 220 nm.

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Thể tích tiêm: 10 μ L.

Chế độ chạy gradient dung môi theo chương trình thể hiện trong Bảng 1 với tốc độ dòng: 1 ml/phút.

Bảng 1: Chương trình gradient dung môi phân tích Molnupiravir và Favipiravir.

Thời gian (min)	Pha động A (%)	Pha động B (%)
0	100	0
50	0	90
60	0	90
61	100	0
70	100	0

Điều kiện sắc ký được sử dụng chung trong quy trình HPLC để xác định độ tinh khiết sắc ký riêng lẻ từng hoạt chất. Tiến hành phân tích các dung dịch theo điều kiện phân tích trên. Sau đó tiến hành đánh giá dữ

liệu thu được để xác định tính tương thích hệ thống (6 lần tiêm lặp lại dung dịch thử), độ đặc hiệu (dung dịch mẫu trắng, dung dịch thử, dung dịch phân hủy trong acid, dung dịch phân hủy trong kiềm, dung dịch phân hủy trong hydroperoxid), khoảng tuyến tính (các dung dịch thử độ tuyến tính) và độ chính xác (các dung dịch thử) của phương pháp. Độ tinh khiết sắc ký (ĐTKSK) được tính bằng công thức:

$ĐTKSK = 100\% - \text{tổng \% các pic tách ra khỏi pic chính, bỏ qua các pic trùng với mẫu trắng và các pic nhỏ hơn } 0,05\%$.

Thẩm định phương pháp HPLC xác định độ tinh khiết sắc ký

Chuẩn bị các dung dịch:

- Dung dịch mẫu trắng: sử dụng dung môi pha mẫu.
- Dung dịch thử Molnupiravir và Favipiravir: dung dịch có nồng độ hoạt chất 1 mg/mL lần lượt của Molnupiravir và Favipiravir trong dung môi pha mẫu.
- Dung dịch phân hủy trong acid: thêm 1 mL acid hydroclorid 37% vào 10 mL dung dịch thử của Molnupiravir và Favipiravir. Trộn đều, để yên 60 phút.
- Dung dịch phân hủy trong kiềm: Thêm 1 mL natri hydroxyd 40% vào 10 mL dung dịch thử Molnupiravir và Favipiravir. Trộn đều, để yên 60 phút.
- Dung dịch phân hủy trong peroxid: Thêm 1 mL hydroperoxid 30% vào 10 mL dung dịch thử Molnupiravir và Favipiravir. Trộn đều, để yên 60 phút.
- Các dung dịch thử độ tuyến tính: Sử dụng dãy dung dịch có nồng độ hoạt chất là 0,6; 0,8; 1,0; 1,2; 1,4 mg/mL của Molnupiravir và Favipiravir trong dung môi pha mẫu.
- Các dung dịch thử độ chính xác (độ lặp và độ chính xác trung gian): Sử dụng dung dịch Molnupiravir và Favipiravir có nồng độ hoạt chất 1,0 mg/mL.

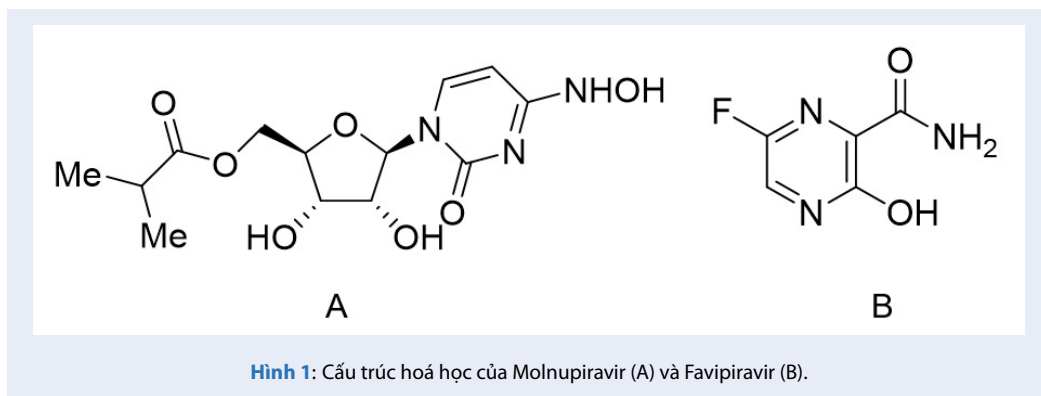
Đánh giá chất lượng nguyên liệu

Bảng 2

Thiết lập chất đối chiếu

Đóng lọ: Lượng mẫu nhất định được chia vào các lọ thủy tinh màu nâu trong môi trường khí trơ với độ ẩm < 30 %RH, sau đó đập nắp kín.

Xác định độ đồng nhất của quá trình đóng lọ ISO 17034⁹, xác định độ tinh khiết của các chất được tiến



Bảng 2: Đánh giá chất lượng nguyên liệu

Chỉ tiêu đánh giá	Nguyên liệu	
	Molnupiravir	Favipiravir
Tính chất	Cảm quan	Cảm quan
Định danh	<ul style="list-style-type: none"> • Phương pháp phổ IR • Phương pháp UV-Vis Có các cực đại hấp thu phù hợp với Molnupiravir. 	<ul style="list-style-type: none"> • Phương pháp phổ IR • Phương pháp UV-Vis Có các cực đại hấp thu phù hợp với Favipiravir.
Hàm lượng nước	Phương pháp Karl Fischer.	-
Xác định điểm chảy	-	Phương pháp đo điểm chảy.
Mất khối lượng do làm khô	-	Phương pháp mất khối lượng do làm khô (ĐDVN V, phụ lục 9.6). Sấy ở nhiệt độ 105 °C trong 4 giờ.
Xác định hàm lượng tạp vô cơ	Phương pháp Xác định tro sulfat (ĐDVN V, phụ lục 9.9 - phương pháp 2).	Phương pháp Xác định tro sulfat (ĐDVN V, phụ lục 9.9 - phương pháp 2).
Xác định độ tinh khiết sắc ký	Phương pháp HPLC đã xây dựng và thẩm định.	Phương pháp HPLC đã xây dựng và thẩm định.

hành theo phương pháp HPLC đã xây dựng và thẩm định, mỗi lọ được xác định hai lần. Việc xác định độ đồng nhất của quá trình đóng lọ được dựa trên hướng dẫn của ISO 13528¹⁰.

Đánh giá độ đồng nhất liên phòng thí nghiệm: Nguyên liệu sau khi đóng gói và đánh giá độ đồng nhất lọ đạt yêu cầu sẽ được lấy mẫu ngẫu nhiên và tiến hành xác định độ tinh khiết HPLC tại ba phòng thí nghiệm độc lập đạt GLP hoặc ISO/IEC 17025. Các phòng thí nghiệm được lựa chọn để gửi mẫu là Khoa Thiết lập chất chuẩn và chất đối chiếu (PTN1), Khoa nghiên cứu và phát triển (PTN2) và Khoa Kiểm nghiệm mỹ phẩm (PTN3). Việc đánh giá độ đồng nhất lọ liên phòng thí nghiệm sẽ được thực hiện bằng phép phân tích phương sai một yếu tố ANOVA¹⁰.

Xác định giá trị ấn định và độ không đảm bảo đo: Việc xác định giá trị ấn định trên phiếu kiểm nghiệm Molnupiravir, Favipiravir và độ không đảm bảo đo được

thực hiện theo hướng dẫn của ISO 13528:2015 dựa theo đánh giá kết quả của các phòng thí nghiệm¹⁰.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Thẩm định phương pháp xác định độ tinh khiết sắc ký

Tính tương thích hệ thống

Tiến hành sắc ký lặp lại sáu lần dung dịch thử của Molnupiravir và dung dịch thử Favipiravir vào hệ thống sắc ký. Kết quả sắc ký được trình bày trong Bảng 3.

Độ đặc hiệu

Các sắc ký đồ thu được được trình bày ở Hình 2 và Hình 3. Kết quả cho thấy mẫu trắng không có pic trùng với pic Molnupiravir của dung dịch, thử pic Molnupiravir trong dung dịch thử có độ tinh khiết

Bảng 3: Tính phù hợp hệ thống sắc ký HPLC của Molnupiravir và Favipiravir

	Molnupiravir	Favipiravir
Thời gian lưu	Khoảng 16 phút	Khoảng 10 phút
Số đĩa lý thuyết	8220	5300
Hệ số đối xứng	0,98	0,99
Độ lệch chuẩn thời gian lưu %RSD	0,2%	0,3%
Độ lệch chuẩn diện tích pic %RSD	0,2%	0,2%

pic = 1,000. Tương tự ở Favipiravir, mẫu trắng không có pic trùng với pic Favipiravir của dung dịch thử pic Favipiravir trong dung dịch thử có độ tinh khiết pic = 1,000. Các pic phụ trong dung dịch thử và các dung dịch phân hủy tách hẳn ra khỏi pic chính.

Độ tuyến tính

Tiến hành sắc ký dãy dung dịch thử độ tuyến tính của Molnupiravir và dung dịch thử tuyến tính của Favipiravir. Kết quả thu được phương trình hồi quy của mẫu Molnupiravir: $y = 21521299x$, hệ số tương quan: $R = 0,9999$. Đồng thời xác định được $LOD = 0,2 \mu\text{g/mL}$; $LOQ = 0,6 \mu\text{g/mL}$.

Phương trình hồi quy của mẫu Favipiravir: $y = 37123273x$, hệ số tương quan: $R = 0,9996$. Từ phương trình hồi quy tính được $LOD = 0,1 \mu\text{g/mL}$; $LOQ = 0,3 \mu\text{g/mL}$.

Độ chính xác

Sau khi loại pic của dung môi pha mẫu và các pic có $S/N < 2$, kết quả xác định độ tinh khiết sắc ký của Molnupiravir và Favipiravir dung dịch thử được trình bày ở Bảng 4. Độ lệch chuẩn tương đối %RSD độ tinh khiết sắc ký của nguyên liệu thiết lập chuẩn Molnupiravir ứng với mỗi phòng thí nghiệm ($n = 6$) có giá trị $0,04\% < 2,0\%$ và của cả hai phòng thí nghiệm ($n = 12$) là $0,04\% < 3,0\%$. Độ lệch chuẩn tương đối %RSD độ tinh khiết sắc ký của nguyên liệu thiết lập chuẩn Favipiravir ứng với mỗi phòng thí nghiệm ($n = 6$) có giá trị $0,03\% < 2,0\%$ và của cả hai phòng thí nghiệm ($n = 12$) là $0,03\% < 3,0\%$.

Thông qua việc đánh giá các tiêu chí thẩm định, có thể thấy phương pháp được đề xuất đạt yêu cầu để áp dụng phân tích độ tinh khiết sắc ký của nguyên liệu Molnupiravir và Favipiravir.

Đánh giá chất lượng nguyên liệu Molnupiravir và Favipiravir

Kết quả đánh giá chất lượng của Molnupiravir và Favipiravir được trình bày trong Bảng 5. Dữ liệu cho thấy các chất có độ tinh khiết $> 99,50\%$, đủ điều kiện để thiết lập chất đối chiếu.

Thiết lập chất đối chiếu

Trong số 200 lọ Molnupiravir và 200 lọ Favipiravir, lấy ngẫu nhiên 10 lọ mỗi loại để đánh giá độ đồng nhất. Dữ liệu phân tích độ đồng nhất lọ được trình bày trong Bảng 6. Dựa vào kết quả phân tích ANOVA cho thấy các lọ đóng gói có hàm lượng không khác biệt về mặt thống kê ($F < F_{crit}$) chứng tỏ các lọ đồng nhất và tiếp tục gửi đến các phòng thí nghiệm để đánh giá liên phòng.

Bảng 7 trình bày kết quả phân tích của các phòng thí nghiệm. Kết quả phân tích ANOVA của các phòng thí nghiệm không khác biệt về mặt thống kê, quy trình phân tích có độ lặp lại cao, độ tinh khiết các chất phân tích không phụ thuộc vào phòng thí nghiệm tham gia đánh giá. Quy trình phân tích có độ lặp lại cao, hàm lượng chất phân tích không phụ thuộc vào phòng thí nghiệm tham gia đánh giá.

Xác định giá trị ổn định - giá trị công bố

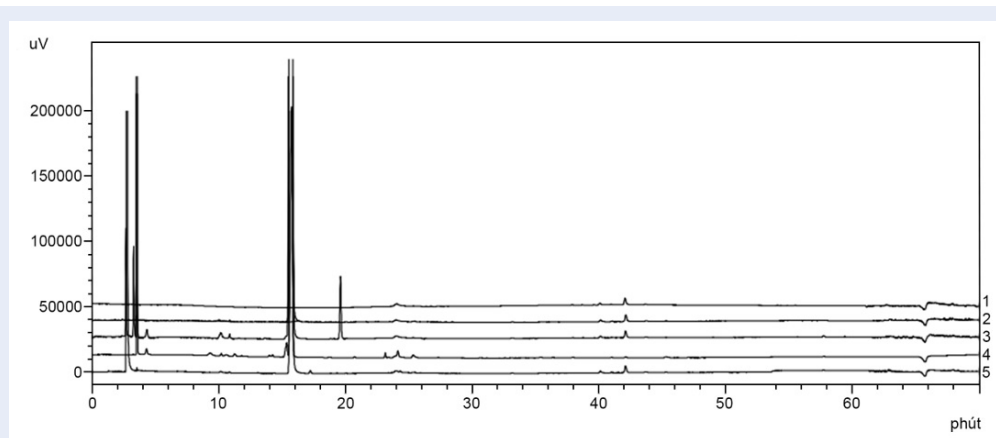
Xử lý dữ liệu thu được bằng phân tích Robustness theo hướng dẫn ISO 13528:2015 thu được kết quả trình bày trong Bảng 8. Chu kỳ tính toán các giá trị mới của x^* và s^* được lặp lại cho đến khi các giá trị này không thay đổi ở số thứ ba sau dấu phẩy (không tính số “0”) thì dừng.

Ở chất đối chiếu Molnupiravir, sau hai lần lặp lại chu kỳ tính, giá trị $s^* = 0,0374$ và $x^* = 99,70\%$ không thay đổi. Đối với chất đối chiếu Favipiravir, sau ba lần lặp lại chu kỳ tính, giá trị $s^* = 0,0435$ và $x^* = 99,60\%$ không thay đổi. Vậy thu được giá trị ổn định độ tinh khiết sắc ký của Molnupiravir là 99,70% và Favipiravir là 99,60%.

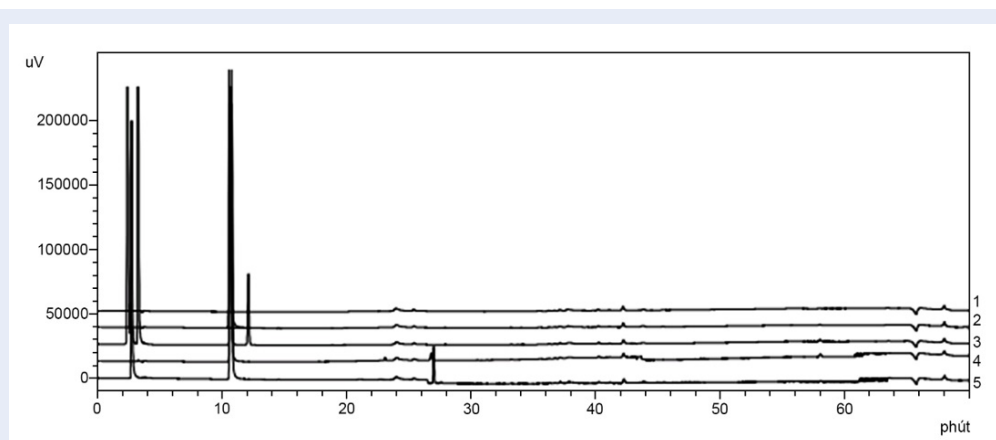
Độ không đảm bảo đo được tính theo công thức: $U_x = \frac{1,25s^*}{\sqrt{p}}$
 Trong đó:

- s^* : độ lệch chuẩn thực thu được khi tính giá trị ổn định.
- p : số kết quả định lượng từ ba phòng thí nghiệm.

Từ đó tính được độ không đảm bảo đo của Molnupiravir là 0,011. Độ không đảm bảo đo của Favipiravir là 0,013.



Hình 2: Sắc ký đồ các dung dịch Molnupiravir, trong đó: 1. Dung dịch mẫu trắng, 2. Dung dịch thử Molnupiravir, 3. Dung dịch phân hủy trong acid, 4. Dung dịch phân hủy trong kiềm, 5. Dung dịch phân hủy trong peroxid.



Hình 3: Sắc ký đồ các dung dịch Favipiravir. Trong đó: 1. Dung dịch mẫu trắng, 2. Dung dịch thử Favipiravir, 3. Dung dịch phân hủy trong acid, 4. Dung dịch phân hủy trong kiềm, 5. Dung dịch phân hủy trong peroxid.

Theo ISO 13528:2015, đánh giá độ lệch giữa kết quả của các phòng thí nghiệm so với giá trị ấn định (z -score), được tính theo công thức: $z_i = \frac{x_i - x_{pt}}{\sigma_{pt}}$

Trong đó:

x_i : giá trị thu được từ đánh giá liên phòng thí nghiệm.

x_{pt} : giá trị ấn định.

σ_{pt} : độ lệch chuẩn đích để đánh giá (tương ứng với giá trị s^*).

Tất cả các giá trị từ kết quả đánh giá liên phòng thí nghiệm của cả hai hóa chất đều có $|z| < 2,0$ được thể hiện trong Hình 4 và sắp xếp theo giá trị tăng dần.

Hàm lượng chất đối chiếu tính trên nguyên trạng = Độ tinh khiết sắc ký \times (100 - % tạp bay hơi - % tạp vô cơ). Từ đó tính được được giá trị ấn định hàm lượng trên chế phẩm nguyên trạng của Molnupiravir là 99,60% và Favipiravir là 99,50%.

Như vậy cả Molupiravir và Favipiravir đủ điều kiện để đăng ký chuẩn quốc gia với hàm lượng được xác định lần lượt là 99,60% và 99,50% tính theo chế phẩm nguyên trạng, độ không đảm bảo đo là 0,011 và 0,013, độ lệch chuẩn thực là 0,0374 và 0,0435 ($n = 18$). Tiến hành lập hồ sơ chất chuẩn, dán nhãn lọ chuẩn và kèm theo phiếu kiểm nghiệm. Bảo quản các lọ chuẩn ở nhiệt độ 2 - 8 $^{\circ}\text{C}$, tránh ánh sáng.

KẾT LUẬN

Molnupiravir và Favipiravir là hai thuốc hứa hẹn sẽ được lưu hành trong tương lai trong điều trị bệnh nhân mắc COVID-19 có triệu chứng nhẹ, trung bình hoặc không triệu chứng ở Việt Nam. Nghiên cứu này đã xây dựng và thẩm định phương pháp xác định độ tinh khiết của Molnupiravir và Favipiravir có độ đặc hiệu, độ chính xác cao, nghiên cứu đã tiến hành thiết

Bảng 4: Kết quả xác định độ lặp lại và độ chính xác trung gian.

	Molnupiravir				Favipiravir			
	Ngày 1		Ngày 2		Ngày 1		Ngày 2	
	Độ tinh khiết sắc ký (%)	Tổng tạp (%)	Độ tinh khiết sắc ký (%)	Tổng tạp (%)	Độ tinh khiết sắc ký (%)	Tổng tạp (%)	Độ tinh khiết sắc ký (%)	Tổng tạp (%)
1.	99,72	0,28	99,75	0,25	99,63	0,37	99,64	0,37
2.	99,69	0,31	99,65	0,35	99,66	0,34	99,62	0,38
3.	99,66	0,34	99,71	0,29	99,66	0,34	99,62	0,38
4.	99,65	0,35	99,73	0,27	99,57	0,44	99,58	0,42
5.	99,71	0,29	99,74	0,26	99,64	0,37	99,56	0,44
6.	99,76	0,24	99,66	0,34	99,62	0,38	99,64	0,36
TB	99,70	0,30	99,71	0,29	99,63	0,37	99,61	0,39
%RSD	0,04%		0,04%		0,03%		0,03%	
	Trung bình (n = 12) 99,71% %RSD (n = 12) 0,04%				Trung bình (n = 12) 99,62% %RSD (n = 12) 0,03%			

Bảng 5: Kết quả đánh giá Molnupiravir và Favipiravir.

Chỉ tiêu	Phương pháp	Kết quả	
		Molnupiravir	Favipiravir
Tính chất	Cảm quan	Bột trắng	Bột trắng
Định tính	Phổ IR	Phù hợp với phổ IR Molnupiravir từ thư viện	Phù hợp với phổ IR Favipiravir
	Phổ UV-Vis	Có các cực đại hấp thu phù hợp với Molnupiravir	Có các cực đại hấp thu phù hợp với Favipiravir
Hàm lượng nước	Karl Fischer	0,10%	-
Điểm chảy	Máy đo điểm chảy	-	190 °C
Mất khối lượng do làm khô	Phương pháp sấy	-	0,10%
Tro sulfat	Phương pháp nung	0,04%	0,04 %
Độ tinh khiết sắc ký	Phương pháp HPLC	99,71%	99,62%

lập thành công chất đối chiếu hóa học Molnupiravir và Favipiravir góp phần vào danh mục chất đối chiếu quốc gia nhằm sử dụng trong kiểm nghiệm chất lượng thuốc Molnupiravir và Favipiravir trong phác đồ điều trị COVID-19 của Bộ Y tế.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi muốn gửi lời cảm ơn đến Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã giao nhiệm vụ cho Viện Hóa sinh biển và Viện Kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh phối hợp thực hiện nghiên cứu.

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

COVID-19: Bệnh viêm đường hô hấp cấp tính do virus Corona 2019 - Coronavirus disease of 2019

ĐĐVN: Dược điển Việt Nam

HPLC: Sắc ký lỏng hiệu năng cao - High Performance Liquid Chromatography

IP: Dược điển Quốc tế - International Pharmacopoeia

IR: Quang phổ hồng ngoại - Infrared

LOD: Giới hạn phát hiện - Limit of Detection

MS: Khối phổ - Mass Spectroscopy

NMR: Cộng hưởng từ hạt nhân - Nuclear magnetic resonance

RSD: Độ lệch chuẩn - Relative Standard Deviation

Bảng 6: Kết quả đánh giá đồng nhất lô Molnupiravir và Favipiravir.

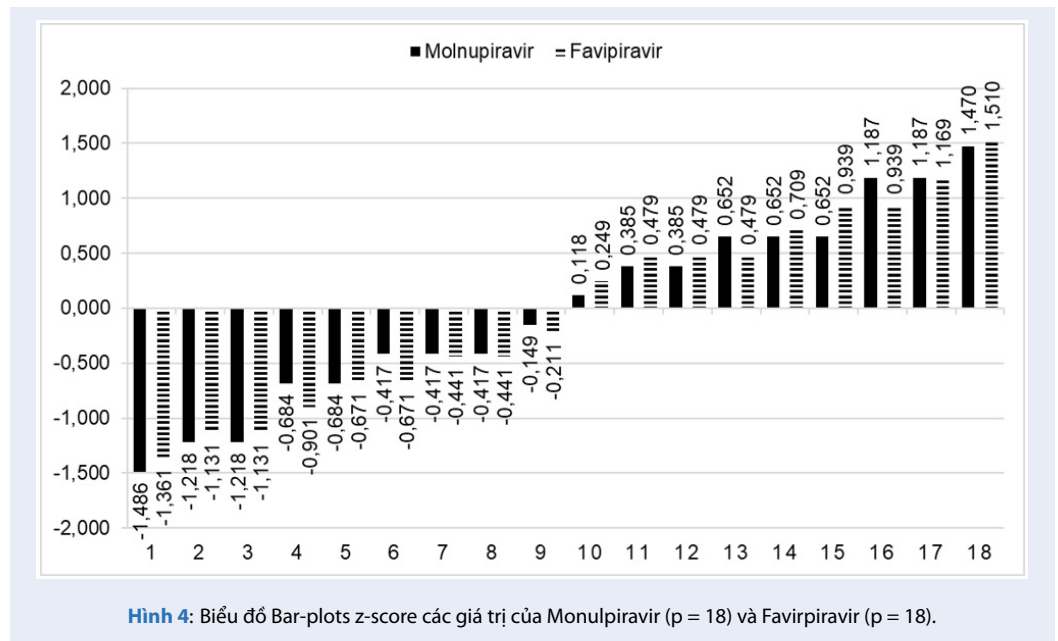
STT	Molnupiravir		Favipiravir	
	Mã lọ	Độ tinh khiết (%)	Mã lọ	Độ tinh khiết (%)
1	9	99,72	1	99,63
2	14	99,69	19	99,64
3	57	99,66	28	99,66
4	62	99,73	52	99,56
5	72	99,75	80	99,64
6	114	99,75	91	99,62
7	137	99,69	123	99,63
8	169	99,67	129	99,57
9	187	99,66	156	99,56
10	192	99,74	174	99,64
ANOVA 1 yếu tố		F = 0,003; Fcrit = 4,413		F = 0,003; Fcrit = 4,413

Bảng 7: Kết quả đánh giá liên phòng thí nghiệm.

STT	Độ tinh khiết sắc ký (%)					
	Molnupiravir			Favipiravir		
	PTN1	PTN2	PTN3	PTN1	PTN2	PTN3
1	99,72	99,68	99,67	99,62	99,62	99,57
2	99,68	99,71	99,64	99,59	99,55	99,54
3	99,67	99,76	99,74	99,61	99,65	99,64
4	99,72	99,65	99,72	99,58	99,58	99,62
5	99,70	99,74	99,71	99,64	99,67	99,55
6	99,69	99,68	99,65	99,63	99,57	99,56

Bảng 8: Giá trị ấn định của chất đối chiếu Molnupiravir (p = 18) và Favipiravir (p = 18).

Số lần thay đổi	Ban đầu	Molnupiravir			Favipiravir		
		Lần 1	Lần 2	Ban đầu	Lần 1	Lần 2	Lần 3
1,5s*	-	0,0556	0,0562	-	0,0667	0,0655	0,0652
x* - 1,5s*	-	99,64	99,64	-	99,53	99,53	99,53
x* + 1,5s*	-	99,75	99,75	-	99,67	99,66	99,66
Trung bình	99,70	99,70	99,70	99,60	99,60	99,60	99,60
Độ lệch s	0,0340	0,0330	0,0330	0,0389	0,0385	0,0383	0,0383
x* mới	99,70	99,70	99,70	99,60	99,60	99,60	99,60
* mới	0,0371	0,0374	0,0374	0,0445	0,0437	0,0435	0,0435



SARS-CoV-2: Virus gây hội chứng suy hô hấp cấp tính nặng 2 - Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

TCVN: Tiêu chuẩn Việt Nam

UV-Vis: Quang phổ tử ngoại - khả kiến - Ultra violet - Visible Spectroscopy

WHO: Tổ chức Y tế Thế giới - World Health Organization

XUNG ĐỘT LỢI ÍCH

Nhóm tác giả cam kết rằng không có xung đột lợi ích khi thực hiện nghiên cứu này.

ĐÓNG GÓP CỦA CÁC TÁC GIẢ

Tác giả Trần Việt Hùng đưa ra ý tưởng, hình thành và thiết kế tất cả các thí nghiệm.

Các tác giả Trịnh Hoàng Dương, Trần Hải Nam, Mai Hà Phương, Phan Trường Việt Thắng, Trần Việt Hùng tiến hành các thí nghiệm.

Các tác giả Trịnh Hoàng Dương, Trần Hải Nam, Mai Hà Phương, Phan Trường Việt Thắng, Trần Việt Hùng thu thập, phân tích và xử lý số liệu.

Các tác giả Trịnh Hoàng Dương, Trần Hải Nam, Mai Hà Phương, Phan Trường Việt Thắng, Trần Việt Hùng, Nguyễn Minh Hiến tham gia viết bản thảo và chỉnh sửa nội dung bản thảo.

Tất cả các tác giả đã đọc và duyệt bản thảo cuối cùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Administration USFaD. Coronavirus (COVID-19) Update: FDA Authorizes Additional Oral Antiviral for Treatment of COVID-19 in Certain Adults. [Internet]. [cited 2021];Available from:

<https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-authorizes-additional-oral-antiviral-treatment-covid-19-certain>.

- Agency EM. EMA receives application for marketing authorisation for Lagevrio (molnupiravir) for treating patients with COVID 19. [Internet]. [cited 2021];Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-receives-application-marketing-authorisation-lagevrio-molnupiravir-treating-patients-covid-19>.

- Furuta Y, Takahashi K, Fukuda Y, Kuno M, Kamiyama T, Kozaki K, et al. In vitro and in vivo activities of anti-influenza virus compound T-705. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46(4):977-981. Available from: <https://doi.org/10.1128/aac.46.4.977-981.2002>; PMID: 11897578. Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC.46.4.977-981.2002>.

- Chen C, Huang J, Cheng S, Wu J, Chen S, Zhang Y, et al. Favipiravir versus arbidol for COVID-19: a randomized clinical trial. MedRxiv. 2020;Available from: <https://doi.org/10.1101/2020.03.17.20037432>.

- Ivashchenko AA, Dmitriev KA, Vostokova NV, Azarova VN, Blinow AA, Egorova AN, et al. AVIFAVIR for Treatment of Patients With Moderate Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Interim Results of a Phase II/III Multicenter Randomized Clinical Trial. Clinical Infectious Diseases. 2020;73(3):531-534;Available from: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1176>.

- Doi Y, Hibino M, Hase R, Yamamoto M, Kasamatsu Y, Hirose M, et al. A prospective, randomized, open-label trial of early versus late favipiravir therapy in hospitalized patients with COVID-19. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2020;64(12):e01897-01820;Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC.01897-20>.

- Agrawal U, Raju R, Udawadia ZF. Favipiravir: A new and emerging antiviral option in COVID-19. Medical Journal Armed Forces India. 2020;76(4):370-376;Available from: <https://dx.doi.org/10.1016/j.mjafi.2020.08.004>.

- Bộ Y tế: Thuốc kháng virus Favipiravir được dùng điều trị bệnh nhân COVID-19 nhẹ và trung bình trong 5-7 ngày. [Internet]. Bộ Y tế. 2021 Dec [cited 2021 Dec 31];Available from: https://moh.gov.vn/tin-lien-quan/-/asset_publisher/vjYyM7O9aWnX/content/bo-y-te-thuoc-khang-virus-favipiravir-uoc-dung-ieu-tri-benh-nhan-covid-19-nhe-va-trung-binh-trong-5-7-ngay.

9. Tiêu chuẩn Việt Nam. Yêu cầu chung về năng lực của nhà sản xuất mẫu chuẩn TCVN ISO 17034:20172017;
10. Standardization IOf. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison. ISO 13528:20152015;

The establishment of Chemical Reference Substances for Molnupiravir and Favipiravir

Trinh Hoang Duong¹, Tran Hai Nam², Mai Ha Phuong², Nguyen Minh Hien², Phan Nguyen Trung Thang¹, Tran Viet Hung^{1,*}



Use your smartphone to scan this QR code and download this article

ABSTRACT

Currently, scientists around the world are testing different compounds to find those that have the potential to aid in the treatment and recovery of COVID-19 patients. Favipiravir and Molnupiravir are two antiviral compounds commonly used to treat COVID-19 for mild and moderate patients in 5-7 days in Vietnam and some countries around the world. Preliminary clinical trials are positive, including significant reductions in hospitalization rates and mortality from COVID-19. These drugs are currently in the experimental phase, so no official chemical reference standard exists. That is why drug quality control studies are critical. The article studies establishing chemical comparators of Molnupiravir and Favipiravir to test drug quality in experimental studies. Modern methods such as infrared spectroscopy (IR), mass spectrometry (MS), nuclear magnetic resonance (NMR), and high-performance liquid chromatography (HPLC) are used in combination to evaluate the purity and quality of the drug. These compounds were then evaluated for homogeneity and assigned values to establish a reference substance based on ISO 17034:2017, World Health Organization Annex 3 (WHO technical series 943: 2007) combines suitable statistical methods to assess interlaboratory homogeneity ISO 13528:2015.

Key words: Favipiravir, Molnupiravir, chemical reference standard, purity determination

¹Institute of Drug Quality Control Ho Chi Minh City, Vietnam

²School of Medicine, Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

Correspondence

Tran Viet Hung, Institute of Drug Quality Control Ho Chi Minh City, Vietnam

Email: tran.viethung168@gmail.com

History

- Received: 04-01-2022
- Accepted: 21-7-2022
- Published: 13-8-2022

DOI : 10.32508/stdjhs.v3i1.502



Copyright

© VNUHCM Press. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International license.



Cite this article : Duong T H, Nam T H, Phuong M H, Hien N M, Thang P N T, Hung T V. **The establishment of Chemical Reference Substances for Molnupiravir and Favipiravir.** *Sci. Tech. Dev. J. - Health Sci.* 2022; 3(1):393-402.