



XÁC ĐỊNH ĐỒNG THỜI AMLODIPINE, HYDROCHLOROTHIAZIDE VÀ VALSARTAN TRONG DƯỢC PHẨM BẰNG PHƯƠNG PHÁP TRẮC QUANG – CHEMOMETRIC DÙNG PHỔ TOÀN PHẦN

Nguyễn Thị Quỳnh Trang^{1*}, Trần Thúc Bình¹, Ngô Văn Tú²

¹Đại học Khoa học, Đại học Huế

²Đại học Sư phạm Huế

Tóm tắt: Quy trình xác định đồng thời amlodipine (AML), hydrochlorothiazide (HYD) và valsartan (VAL) trong dược phẩm đã được xây dựng dựa trên phương pháp trắc quang – chemometric dùng phổ toàn phần kết hợp chương trình Simulan. Quy trình đáng tin cậy khi phân tích thực tế mẫu thuốc Exforge HCT với độ lặp lại (RSD) tốt (đối với cả AML, HYD và VAL là 2,2%- 2,3%, (n=3)) và độ thu hồi (Rev) cao (đối với AML là 90,2% - 94,6%, đối với HYD là 91,3% - 95,5%, đối với VAL là 102,1% - 104,5%, (n=3)). Kết quả thu được phù hợp với các số liệu được xác định theo phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao (HPLC).

Từ khóa: Phổ toàn phần, Simulan, Amlodipine, Hydrochlorothiazide, Valsartan

1 Mở đầu

Đối với những người lớn tuổi, bệnh tăng huyết áp và tim mạch là một trong những nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên thế giới và Việt Nam. Trên thị trường hiện nay, có khá nhiều loại thuốc được dùng để điều trị bệnh tăng huyết áp, trong đó các chế phẩm đa thành phần nhằm phối hợp tác dụng dược lý của các dược chất vẫn được ưu tiên nghiên cứu và bào chế. Ví dụ như thuốc viên nén Exforge, viên nén Exforge HCT, viên nén Co-Diovan (đều được sản xuất tại Novartis Farmaceutica S.A. Ronda Santa Maria 158, 08210 Barberà del Vallès, Barcelona, Tây Ban Nha.) v.v

Amlodipine besylate (có danh pháp là 2 - [(2 - amino ethoxy) - methyl] - 4 - (2- chloro phenyl) -1, 4-dihydro-6-methyl-3, 5-pyridin di-este 3-ethyl-5-methyl axit carboxylic, benzen sulfonat, viết tắt là AML) là một chất ngăn chặn kênh dihydro canxi mạnh. Có nhiều phương pháp phân tích đã được công bố khi xác định riêng AML hoặc kết hợp với các thành phần khác trong dược phẩm. Các phương pháp bao gồm quang phổ hấp thụ phân tử [4,8], sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) [7], phương pháp sắc ký lỏng ghép khối phổ LC - MS và LC - MS / MS [13].

Valsartan (có danh pháp là N - (1 - oxopentyl) - N - [(2' - (1H - tetrazol - 5 - yl) (1,1' - biphenyl) - 4 - YL) methyl] - L - valine, viết tắt là VAL) là chất ức chế chất chuyển angiotensin

* Liên hệ: trangntm@sgu.edu.vn

mạnh. Các phương pháp như HPLC [7], LC-MS [13], điện di mao quản và quang phổ UV-Vis [4,8] đã được dùng để định lượng riêng VAL hoặc kết hợp với các thành phần khác trong thuốc [3].

Hydrochlorothiazide (có danh pháp là 6 - chloro - 3, 4 - dihydro - 7 - sulfamoyl - 2H - 1, 2, 4 - benzothia - diazine - 1, 1 - dioxide, viết tắt là HYD) có tác dụng hạ huyết áp và lợi tiểu. Nhiều phương pháp định lượng riêng HYD hoặc kết hợp với các thành phần khác trong thuốc như phương pháp quang phổ [8] và LC-MS/MS cũng đã được công bố [13].

Việc sử dụng ngày càng rộng rãi các loại thuốc chứa ba hợp chất này đòi hỏi cần phát triển phương pháp định lượng đồng thời chúng trong hỗn hợp nhưng cho đến nay có rất ít công trình ở Việt Nam nghiên cứu về vấn đề này. Trong khi đó, các công trình nước ngoài chủ yếu công bố kết quả sử dụng phương pháp HPLC [7], phương pháp đạo hàm bậc nhất [5], phương pháp tỷ lệ độ hấp thụ [3, 4]. Trong bài báo này chúng tôi phát triển phương pháp trắc quang - chemometric dùng phổ toàn phần kết hợp với phần mềm Simulan [1] (phần mềm Simulan được viết trên cơ sở lý thuyết của phương pháp bình phương cực tiểu cổ điển) để xác định đồng thời AML, HYD và VAL trong dược phẩm.

2 Thực nghiệm

2.1 Thiết bị

Máy quang phổ UV - Vis hiệu V630 UV/Vis Spectrometer JASCO (Nhật);

Cân phân tích hiệu Precisa XB 2204 (Thụy Sĩ), độ chính xác 0,0001g;

Máy cất nước 2 lần hiệu Aquatron (Anh);

Các dụng cụ thủy tinh của HTL (Đức) như pipet, bình định mức, cốc thủy tinh, bình tam giác, đĩa thủy tinh, phễu lọc, giấy.

2.2 Hoá chất:

- Chất chuẩn AML (100,43%), VAL (98,38%) và HYD (99,55%) (Trung tâm kiểm nghiệm thuốc trung ương, Việt Nam);

- Dung môi: methanol (PA).

2.3 Chuẩn bị các dung dịch chuẩn:

Pha dung dịch chuẩn AML, HYD và VAL: Pha dung dịch gốc nồng độ 1000 µg/ml, dung dịch trung gian 50 µg/ml, 25 µg/ml và các dung dịch làm việc 10 µg/ml, 5 µg/ml bằng dung môi metanol.

2.4 Mẫu thuốc nghiên cứu

Thuốc viên nén Exforge HCT với hàm lượng ghi trên nhãn của AML là 10 mg, VAL là 160 mg và HYD là 12,5 mg, số lô: BK917, ngày sản xuất: 09/2016, hạn dùng: 08/2018, SĐK: VN-19287-15, thuốc được sản xuất tại Novartis Farmaceutica S.A. Ronda Santa Maria 158, 08210 Barberà del Vallès, Barcelona, Tây Ban Nha.

2.5 Phương pháp phân tích

Phương pháp trắc quang – chemometric dùng phổ toàn phần kết hợp với phần mềm Simulan [1] để xác định đồng thời AML, VAL và HYD.

Quy trình phân tích

Bước 1: Chuẩn bị các dung dịch chuẩn đơn các chất phân tích và hỗn hợp của chúng.

Bước 2: Đo phổ hấp thụ phân tử các chất phân tích trong vùng bước sóng thích hợp, lưu dữ liệu đo được vào file số liệu dạng .txt hoặc .dat.

Bước 3: Chạy chương trình đã lập bằng cách xuất file txt từ máy đo quang phổ sang chương trình để tính toán nồng độ các cấu tử trong dung dịch và sai số tương đối của chúng.

Chuẩn bị mẫu

Mẫu được chuẩn bị theo quy trình đề xuất của tác giả Varsha R. Galande và cộng sự [11].

Cân 20 viên thuốc, tính khối lượng trung bình của một viên (\bar{M}). Nghiền thuốc thành bột mịn và trộn đều. Cân chính xác m (g) bột thuốc tương đương với 1 viên thuốc (ứng với 10 mg AML; 12,5 mg HYD và 160 mg VAL) cho vào bình thủy tinh có nút nhám 250 mL. Thêm vào bình 50 mL dung môi methanol nguyên chất lắc đều. Siêu âm dung dịch trong 30 phút. Sau khi siêu âm, lọc dung dịch qua giấy lọc bằng xanh vào bình định mức 100 mL và định mức đến vạch bằng dung môi. Lấy chính xác 10 mL dung dịch này cho vào bình định mức 100 mL thứ 2, định mức đến vạch bằng dung môi, lắc đều. Lại lấy chính xác 10 mL dung dịch ở bình định

mức 2 cho vào bình định mức 100 mL thứ 3, định mức đến vạch bằng dung môi, lắc đều ta được dung dịch mẫu cần đo.

Khối lượng trung bình của một viên: $\bar{M} = 4,1252$ g.

Để tính hàm lượng chất phân tích trong một viên thuốc (x), ta sử dụng công thức:

$$x = \frac{C.V.K.\bar{M}}{m.1000} \text{ (mg/viên)} \quad (1)$$

Trong đó:

\bar{M} : khối lượng trung bình 1 viên (g);

m: khối lượng mẫu cân để phân tích (g);

C: nồng độ chất đo được trong dung dịch mẫu ($\mu\text{g/mL}$);

V: thể tích định mức ban đầu (100 mL);

K: hệ số pha loãng (K=100).

Từ quy trình xử lý mẫu, với $m = \bar{M}$ ta có công thức tính hàm lượng chất rút gọn là:

$$x = C.10 \text{ (mg/viên)} \quad (2)$$

2.6 Phương pháp thống kê xử lý số liệu

Sai số tương đối (RE% – relative error)

$$\text{RE}(\%) = \frac{C - C_0}{C_0} . 100 \quad (3)$$

trong đó C: nồng độ của chất xác định được ($\mu\text{g/mL}$); C_0 : nồng độ của chất đã biết trước ($\mu\text{g/mL}$)

Độ lặp lại [2,10]

Độ lặp lại được đánh giá qua giá trị độ lệch chuẩn tương đối (RSD).

$$\text{RSD}(\%) = \frac{S.100}{\bar{x}} \quad (4)$$

trong đó, S: độ lệch chuẩn; \bar{x} : giá trị trung bình của nồng độ sau n lần đo ($\mu\text{g/mL}$);

Khi phân tích chất có nồng độ C trong nội bộ phòng thí nghiệm, nếu đạt được độ lặp lại với $RSD(\%) \leq \frac{1}{2} RSD_{Horwitz}$ là đạt yêu cầu [9], trong đó, $RSD_{Horwitz}$ có công thức:

$$RSD_{Horwitz} = 2^{(1 - 0.5 \lg C)} \quad (5)$$

C : nồng độ (được biểu diễn dưới dạng thập phân)

Độ đúng [2,9]

Độ đúng của phương pháp được đánh giá thông qua độ thu hồi bằng cách thêm chất phân tích vào mẫu và được tính theo công thức:

$$Re v(\%) = \frac{C_T - C_a}{a} \cdot 100 \quad (6)$$

trong đó, a : nồng độ của chất chuẩn thêm vào mẫu ($\mu\text{g/mL}$); C_T : nồng độ chất xác định được trong mẫu sau khi thêm chuẩn ($\mu\text{g/mL}$); C_a : nồng độ chất xác định được trong mẫu khi chưa thêm chuẩn ($\mu\text{g/mL}$)

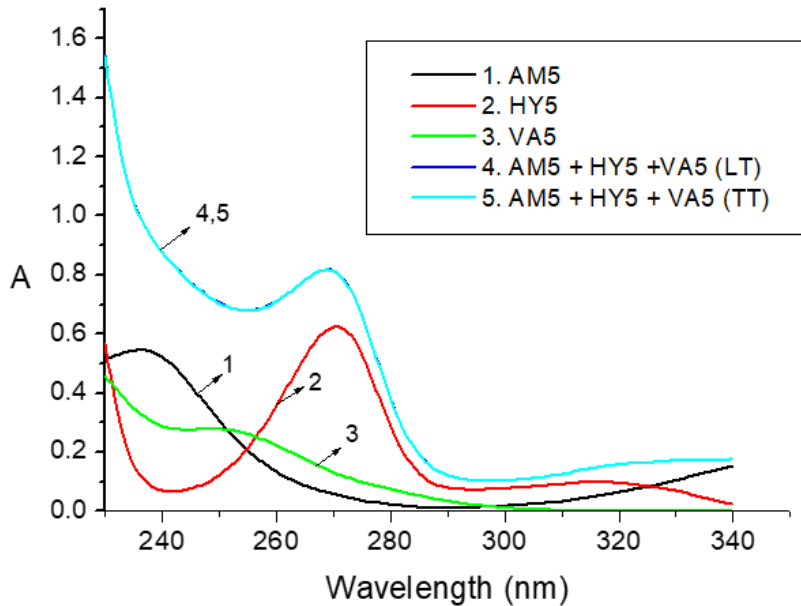
3 Kết quả và thảo luận

3.1 Khảo sát phổ hấp thụ của AML, VAL và HYD

Quét phổ của 4 dung dịch AML $5\mu\text{g/mL}$, HYD $5\mu\text{g/mL}$, VAL $5\mu\text{g/mL}$ và dung dịch hỗn hợp chứa AML $5\mu\text{g/mL}$, HYD $5\mu\text{g/mL}$ và VAL $5\mu\text{g/mL}$ trong dung môi metanol, ở khoảng bước sóng 230 – 340 nm, phổ hấp thụ của các dung dịch được biểu diễn ở hình 1.

Từ hình 1 cho thấy phổ hấp thụ của các dung dịch chuẩn của AML, HYD và VAL trong dung môi methanol xen phủ nhau ở khoảng bước sóng từ 230 – 340 nm.

Trong khoảng bước sóng từ 230 – 340 nm phổ của hỗn hợp theo thực tế đo và theo lý thuyết (tính theo định luật cộng tính) gần trùng khít lên nhau nên có thể xem độ hấp thụ của dung dịch hỗn hợp chứa ba cấu tử AML, HYD và VAL có tính chất cộng tính. Vì vậy, chúng tôi có thể xác định đồng thời hàm lượng của AML, HYD và VAL bằng phương pháp trắc quang – chemometric dùng phổ toàn phần.



Hình 1. Phổ hấp thụ của các dung dịch chuẩn AML 5 µg/mL (1), HYD 5 µg/mL (2), VAL 5µg/mL (3) và hỗn hợp AML 5 µg/mL, HYD 5µg/mL, VAL 5 µg/mL đo được (4) trong dung môi methanol. Đường tính theo lý thuyết của định luật cộng tính là số (5)

3.2 Đánh giá độ tin cậy của phương pháp khi phân tích dung dịch chuẩn phòng thí nghiệm hỗn hợp AML, HYD và VAL

Sai số của phương pháp

Khảo sát các tỷ lệ khác nhau của ba hoạt chất nghiên cứu nhằm đánh giá khả năng đáp ứng của phương pháp, tiến hành pha 4 dung dịch hỗn hợp có tỉ lệ nồng độ (µg/mL) AML:HYD:VAL lần lượt là

H1: 0,250: 0,325: 4,000

H2: 0,500: 0,650: 8,000

H3: 1,000: 1,300: 16,000

H4: 5,000: 5,000: 5,000

Quét phổ của các dung dịch trên trong khoảng bước sóng từ 230 – 340 nm, dùng phần mềm Simulan để xác định nồng độ của từng cấu tử trong các dung dịch hỗn hợp, sau đó xác định giá trị sai số tương đối RE của phép phân tích cho từng chất (xem mục 2.6.1). Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả xác định nồng độ AML, HYD, VAL trong hỗn hợp và sai số tương đối của phương pháp

Kí hiệu dung dịch	$C_{AMLchuẩn}$ ($\mu\text{g/mL}$)	AML		$C_{HYDchuẩn}$ ($\mu\text{g/mL}$)	HYD		$C_{VALchuẩn}$ ($\mu\text{g/mL}$)	VAL	
		C_{AMLxd} ($\mu\text{g/mL}$)	RE%		C_{HYDxd} ($\mu\text{g/mL}$)	RE%		C_{VALxd} ($\mu\text{g/mL}$)	RE%
H1	0,25	0,253	1,3	0,325	0,320	-1,6	4,00	3,99	-0,2
H2	0,50	0,511	2,2	0,65	0,645	-0,7	8,00	8,06	0,7
H3	1,00	1,017	1,7	1,30	1,284	-1,2	16,0	16,04	0,2
H4	5,00	4,841	-3,2	5,00	5,109	2,2	5,00	4,87	-2,5

$C_{AMLchuẩn}$: nồng độ AML của dung dịch chuẩn; C_{AMLxd} : nồng độ AML xác định được

$C_{HYDchuẩn}$: nồng độ HYD của dung dịch chuẩn; C_{HYDxd} : nồng độ HYD xác định được

$C_{VALchuẩn}$: nồng độ VAL của dung dịch chuẩn; C_{VALxd} : nồng độ VAL xác định được

RE: sai số tương đối (relative error), được tính theo (3)

Bảng 1 cho thấy rằng với các tỉ lệ nồng độ khác nhau, giữa nồng độ dung dịch chuẩn và nồng độ xác định được mắc sai số RE% nhỏ. Cụ thể, đối với AML, sai số từ -3,2% đến 2,2%; đối với HYD, sai số từ -1,6% đến 2,2%; đối với VAL, sai số từ -2,5% đến 0,7%. Phương pháp cho kết quả chấp nhận với sai số RE(%) nhỏ do đó có độ đúng tốt.

Đánh giá độ lặp lại của phương pháp qua phân tích mẫu phòng thí nghiệm

Tiến hành thí nghiệm như mục 3.2.1, với mỗi dung dịch hỗn hợp được chuẩn bị và phân tích lặp lại 3 lần. Sử dụng chương trình Simulan để xác định nồng độ của AML, HYD, VAL trong các dung dịch hỗn hợp và từ đó độ lặp lại của phương pháp được đánh giá thông qua giá trị RSD tương ứng khi so sánh với $\frac{1}{2} RSD_{Horwitz}$ (xem mục 2.6.2). Kết quả tính toán được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2 cho thấy: Giá trị RSD_{PTN} của AML và VAL cả 3 lần đo lặp lại cho các mẫu từ H1 đến H4 là 0,4% , của HYD từ 0,4% đến 0,5%. Khi phân tích trong nội bộ PTN, nếu các giá trị RSD thu được nhỏ hơn $\frac{1}{2}RSD_H$ thì độ lặp lại của phương pháp đạt yêu cầu [9]. Như vậy, phương pháp này có độ lặp lại tốt với cả ba cấu tử.

Bảng 2. Kết quả xác định độ lặp của phương pháp

Ký hiệu mẫu	Thông số	AML			HYD			VAL		
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 1	Lần 2	Lần 3
H1	C (µg/mL)	0,253	0,253	0,254	0,319	0,319	0,321	3,993	3,981	4,009
	C _{TB} (µg/mL)	0,253			0,319			3,994		
	RSD _{PTN} (%)	0,4			0,4			0,4		
	½RSD _H (%)	9,9			9,5			6,5		
H2	C(µg/mL)	0,511	0,510	0,514	0,645	0,644	0,649	8,059	8,043	8,107
	C _{TB} (µg/mL)	0,512			0,646			8,07		
	RSD _{PTN}	0,4			0,5			0,4		
	½ RSD _H (%)	6,3			8,6			5,9		
H3	C (µg/mL)	1,017	1,013	1,021	1,284	1,279	1,290	16,037	15,980	16,101
	C _{TB} (µg/mL)	1,017			1,284			16,040		
	RSD _{PTN}	0,4			0,5			0,4		
	½ RSD _H (%)	8,0			7,7			5,3		
H4	C (µg/mL)	4,841	4,831	4,865	5,109	5,099	5,135	4,873	4,864	4,898
	C _{TB} (µg/mL)	4,846			5,114			4,878		
	RSD _{PTN}	0,4			0,4			0,4		
	½ RSD _H (%)	6,3			6,3			6,3		

RSD_H ở đây là RSD tính theo hàm Horwitz.

3.3 Độ lặp lại và độ đúng của phương pháp khi phân tích mẫu thuốc thực tế

Độ lặp lại

Áp dụng quy trình phân tích đã được trình bày ở mục 2.5.2 để xác định đồng thời hàm lượng AML, HYD và VAL trong mẫu thuốc. Theo quy trình xử lý mẫu ở mục 2.5.2 và theo hàm

lượng các thành phần ghi trên nhãn thuốc thì dung dịch mẫu sau khi xử lý có nồng độ AML là 1,00 μ g/mL, HYD là 1,25 μ g/mL và VAL là 16,00 μ g/mL, và được xem là nồng độ thực.

Kết quả phân tích thuốc Exforge HCT được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả xác định đồng thời AML, HYD và VAL trong mẫu thuốc bằng phương pháp trắc quang – chemometric dùng chương trình Simulan

Thông số/Đại lượng	AML		HYD		VAL	
	C_{AML} (mg/mL)	Hàm lượng (mg/viên)	C_{HYD} (mg/mL)	Hàm lượng (mg/viên)	C_{VAL} (mg/mL)	Hàm lượng (mg/viên)
B1	0,967	9,67	1,171	11,71	17,086	170,86
B2	0,981	9,81	1,189	11,89	17,340	173,40
B3	0,939	9,39	1,137	11,37	16,589	165,89
C_{TB} (mg/mL)	0,962	9,62	1,166	11,66	17,005	170,05
S	0,021	0,21	0,026	0,26	0,382	3,82
RSD%	2,2	2,2	2,2	2,2	2,3	2,3
$\frac{1}{2} RSD_H(\%)$	8		5,5		5,3	

trong đó B1, B2, B3 là mẫu thuốc được xử lí ở mục 2.5.2 và lặp lại 3 lần

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, hàm lượng trung bình xác định được trong mẫu thuốc của AML là 9,67 mg/viên với giá trị RSD là 2,2%, nhỏ hơn $\frac{1}{2}RSD_H$ (8%); của HYD là 11,71 mg/viên với giá trị RSD là 2,2%, nhỏ hơn $\frac{1}{2}RSD_H$ (5,5%); của VAL là 170,05 mg/viên với giá trị RSD là 2,3%, nhỏ hơn $\frac{1}{2}RSD_H$ (5,3%). Như vậy quy trình phân tích đã áp dụng để xác định đồng thời AML, HYD và VAL trong mẫu thuốc cho độ lặp lại tốt.

Độ đúng

Trong nghiên cứu này, độ đúng của phương pháp được đánh giá qua hai thí nghiệm, đó là (1) xác định độ thu hồi và (2) so sánh kết quả phân tích với kết quả xác định được từ phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)

Đánh giá độ đúng qua độ thu hồi

Tiến hành xử lý mẫu thuốc Exforge HCT (làm lặp lại 3 lần với ký hiệu các mẫu lặp lại là B1, B2, B3) theo quy trình ở mục 2.5.2, được các dung dịch mẫu cần đo. Tiến hành thêm chuẩn ở các mức nồng độ khác nhau của AML, HYD và VAL như được trình bày ở bảng 4. Quét phổ của các dung dịch chuẩn và các dung dịch mẫu trong khoảng bước sóng 230 – 340 nm với mỗi điểm cách nhau 0,5 nm. Dữ liệu độ hấp thụ được phân tích và xử lý bằng chương trình Simulan để tính toán nồng độ của 3 chất trong các dung dịch mẫu. Kết quả xác định độ thu hồi được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Kết quả xác định độ đúng của phương pháp thông qua độ thu hồi khi phân tích mẫu thực tế

Mẫu	AML			HYD			VAL		
	C _{thêm} (µg/mL)	C _{tính} (µg/mL)	REV (%)	C _{thêm} (µg/mL)	C _{tính} (µg/mL)	REV (%)	C _{thêm} (µg/mL)	C _{tính} (µg/mL)	REV (%)
Mẫu B1	0	0,967		0	1,171		0	17,086	
	0,25	1,202	94,0	0,30	1,457	95,3	4,0	21,251	104,1
	0,50	1,418	90,2	0,60	1,719	91,3	8,0	25,067	99,8
Mẫu B2	0	0,981		0	1,189		0	17,340	
	0,25	1,217	94,4	0,30	1,474	95,0	4,0	21,505	104,2
	0,50	1,454	94,6	0,60	1,762	95,5	8,0	25,697	104,5
Mẫu B3	0	0,939		0	1,137		0	16,589	
	0,25	1,173	93,6	0,30	1,422	95,0	4,0	20,736	103,7
	0,50	1,400	92,2	0,60	1,697	93,3	8,0	24,754	102,1
REV _{tb} (%)	93,2			94,2			103,0		

Độ thu hồi trung bình của AML là 93,2%, của HYD là 94,2% và của VAL là 103,0%. Theo AOAC, khi phân tích nồng độ cỡ 1 ppm - 10 ppm, độ thu hồi cần đạt được từ 80% đến 110% [9]. Điều này cho thấy phương pháp phân tích có độ đúng tốt với cả ba thành phần AML, HYD và VAL, đồng thời cũng cho biết tá dược của thuốc hầu như không ảnh hưởng đến kết quả phân tích ba chất này trong thuốc.

Đánh giá độ đúng khi so sánh kết quả của phương pháp nghiên cứu với phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)

Để đánh giá thêm độ đúng của phương pháp nghiên cứu, chúng tôi tiến hành gửi mẫu thuốc Exforge HCT cho Trung tâm Kiểm nghiệm thuốc, mỹ phẩm, thực phẩm Tỉnh Thừa Thiên - Huế phân tích định lượng bằng phương pháp tiêu chuẩn HPLC (AML theo ĐĐVN IV, VAL theo USP 38, HYD theo USP 38).

Do kết quả ở phương pháp tiêu chuẩn HPLC chỉ công bố giá trị trung bình của hàm lượng các chất trong thuốc nên chúng tôi xem đó như là giá trị thực μ . Để đánh giá độ đúng của phương pháp nghiên cứu, chúng tôi so sánh giá trị trung bình của phương pháp nghiên cứu với giá trị thực này, dựa vào phân phối t-Student [12]. Các kết quả xử lý số liệu bằng phương pháp thống kê để so sánh kết quả phân tích của hai phương pháp được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Kết quả so sánh hàm lượng AML, HYD và VAL trong thuốc Exforge HCT của phương pháp trắc quang- chemometric kết hợp chương trình Simulan với phương pháp HPLC

Lần đo	Hàm lượng các chất xác định được theo phương pháp Simulan (mg/viên)		
	AML	HYD	VAL
1	9,67	11,71	170,86
2	9,81	11,89	173,40
3	9,39	11,37	165,89
Các đại lượng thống kê			
	AML	HYD	VAL
\bar{x} (mg/viên)	9,62	11,66	170,05
S (mg/viên)	0,21	0,26	3,82
t(f=2, p = 0,05)	4,303	4,303	4,303
$\frac{tS}{\sqrt{n}}$	0,522	0,646	9,49
μ (mg/viên) Theo HPLC	9,509	11,735	167,664
$ \bar{x} - \mu $	0,111	0,075	2,39

Kết quả bảng 5 cho thấy: đối với cả ba chất AML, HYD và VAL đều có $|\bar{x} - \mu| < \frac{tS}{\sqrt{n}}$ nên

có thể kết luận: Kết quả phân tích AML, HYD và VAL của hai phương pháp là đồng nhất. Không có sự sai khác giá trị trung bình về mặt thống kê khi xác định hàm lượng AML, HYD và VAL trong mẫu thuốc theo phương pháp trắc quang – chemometric dùng phổ toàn phần kết hợp chương trình Simulan và phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao. Như vậy kết quả phương pháp nghiên cứu có độ đúng tốt.

4 Kết luận:

Kết quả phân tích mẫu phòng thí nghiệm và mẫu thuốc thực tế cho thấy các số liệu thu được có độ tin cậy cao, có thể sử dụng phương pháp trắc quang - chemometric dùng phổ toàn phần kết hợp với chương trình Simulan để xác định đồng thời amlodipine (AML), hydrochlorothiazide (HYD) và valsartan (VAL) trong hỗn hợp mà không phải tách chúng ra khỏi nhau. Ưu điểm của phương pháp là tiến hành đơn giản, thời gian xác định nhanh, ít tốn kém. Các kết quả thu được có độ lặp, độ tin cậy cao. Kết quả phân tích trên mẫu thực tế thuốc Exforge HCT cho thấy phương pháp này phù hợp với phương pháp tiêu chuẩn HPLC.

Tài liệu tham khảo

1. Trần Thúc Bình, Trần Tú Hiếu, *Định lượng đồng thời paracetamol và ibuprofen trong thuốc viên nén bằng phương pháp phân tích toàn phổ*, Tuyển tập Hội nghị Phân tích Hóa, Lý và Sinh học toàn quốc lần thứ II, 2005, tr, 80-85.
2. AOAC International (2012). AOAC® Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals.
3. Alnajjar AO. (2011), *Validation of a capillary electrophoresis method for the simultaneous determination of amlodipine besylate and valsartan in pharmaceuticals and human plasma*, Journal of AOAC International, 94(2), pp.498-502.
4. Anandakumar K, Jayamariappan M, *Absorption Correction Method for the Simultaneous Estimation of Amlodipine Besylate, Valsartan and Hydrochlorothiazide in Bulk and in Combined Tablet Dosage Form*, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Vol 3, Issue 1, 2011, pp.23-27.
5. Arash Bouromandnasr, L.Saida Naik, *Absorption Correction Method for the Simultaneous Estimation of Amlodipine Besylate, Valsartan and Hydrochlorothiazide in Bulk and in Combined Tablet Dosage Form*, International Journal of Scientific Engineering and Technology Research, Vol.03, Issue.34, 2014, pp.6821-6825.
6. Mariusz Stolarczyk, Anna Maslanka, Jan Krzek and Joanna Milczarek(2008), *Application of Derivative Spectrophotometry for Determination of Enalapril, Hydrochlorothiazide and Valsartan in complex Pharmaceutical Preparations*, Acta Poloniae Pharmaceutica, 65(3), pp.275-281.

7. Moussa BA, El-Zaher AA, Mahrouse MA, Ahmed MS(2013), *Simultaneous determination of amlodipine besylate and atorvastatin calcium in binary mixture by spectrofluorimetry and HPLC coupled with fluorescence detection*, *Analytical Chemistry Insights*, 8, pp.107-115.
8. Jothieswari, Anandakumar.K, Vijaya Santhi. D, Vijayakumar.B, Priya.D, Stephen Rathinaraj.B, *A Validated UV Spectrophotometric Method for the Simultaneous Estimation of Amlodipine Besylate, Valsartan and Hydrochlorothiazide in Combined Tablet Dosage Form*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences (JPBMS)*, Vol. 05, Issue 05, 2010, pp.5-13.
9. Taverniers, I.; De Loose, M.; Van Bockstaele, E. (2004). Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*,23(8), pp. 535-552.
10. Thompson, M.; Lowthian, P. J. (1995), A Horwitz-like function describes precision in a proficiency test, *Analyst*,120(2), pp. 271-272.
11. Varsha R. Galande, K. G. Baheti, S.Indraksha and M.H.Deaghan, *Estimation of Amlodipine Besylat, Valsartan and Hydrochlorothiazide in Bulk Mixture and Tablet by UV Spectrophotometry*, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2012, pp.18-23.
12. Larry G Hargis, *Analytical chemistry*, Printon press, Philippines, 1988, pp.50-53.
13. Shankar Ganesh Gadepalli, Pragney Deme, Madhusudana Kuncha, Ramakrishna Sistla (2014), *Simultaneous determination of amlodipine. Valsartan and hydrochlorothiazide by LC-ESI-MS/MS and its application to pharmacokinetics in rats*, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 4(6), pp.399-406.

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF AMLODIPINE, HYDROCHLOROTHIAZIDE AND VALSARTAN IN PHARMACEUTICAL PRODUCTS BY SPECTROPHOTOMETRIC - CHEMOMETRIC METHOD USING FULL SPECTRA.

Nguyen Thi Quynh Trang^{1*}, Tran Thuc Binh¹, Ngo Van Tu²

¹ Hue University of Sciences

² Hue University of Education

Abstract: A procedure for simultaneous determination of amlodipine (AML), hydrochlorothiazide (HYD) and valsartan (VAL) in pharmaceutical products was established basing on spectrophotometric – chemometric method using full spectra combined with Simulan program. The procedure was proved with good repeatability (relative standard deviation (RSD) values fluctuated from 2,2% to 2,3% for AML, HYD and VAL n = 3) and good trueness (recovery variations were 90,2% - 94,6% for AML, 91,3% - 95,5% for HYD, and 102,1-104,5% for VAL, n = 3) in terms of AML, HYD and VAL analysis in pharmaceutical product *Exforge HCT*. The results obtained by the developed method were agreed with those by high performance liquid chromatography (HPLC).

Keywords: Phổ toàn phần, Simulan, Amlodipine, Hydrochlorothiazide, Valsartan