

ĐÁNH GIÁ QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG LOSARTAN-K TRONG DƯỢC PHẨM BẰNG PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH SẮC KÝ LỎNG PHA ĐẢO HIỆU NĂNG CAO ĐẦU DÒ MẢNG ĐIỐT QUANG (RP-HPLC/PAD)

● DƯƠNG TÙNG BÁCH¹ - NGUYỄN THỊ HỒNG GẤM²
- NGUYỄN VĂN CƯỜNG¹ - NGUYỄN QUỐC THẮNG^{1*}

¹Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh

²Công ty Cổ phần Topcin

TÓM TẮT:

Nghiên cứu tập trung vào khảo sát điều kiện sắc ký và xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp phân tích định lượng Losartan-K trong mẫu dược phẩm trên thiết bị RP-HPLC/PAD, đánh giá tính xanh của quy trình phân tích. Kết quả cho thấy, Losartan-K được định lượng trên thiết bị RP-HPLC/PAD với pha động gồm MeOH: đệm KH_2PO_4 , 60 : 40, v/v, tốc độ dòng 1,4 ml/phút; đầu dò PAD đo ở bước sóng 230 nm, nhiệt độ cột 40°C. Thiết bị RP-HPLC/PAD tương thích để định lượng Losartan-K trong mẫu dược phẩm. Phương pháp định lượng được xác nhận giá trị sử dụng với khoảng tuyến tính, LOD, LOQ, độ đúng, độ lặp lại đạt yêu cầu. Quy trình phân tích có tính xanh khá tốt thông qua đánh giá 12 tiêu chí của Hoá học Phân tích xanh.

Từ khóa: Losartan-K, RP-HPLC/PAD, dược phẩm, điều kiện phân tích.

1. Đặt vấn đề

Losartan-K là một chất chống lại thụ thể angiotensin II không peptide, có khả năng làm giảm huyết áp. Losartan-K gắn một cách chọn lọc vào thụ thể angiotensin II và ngăn ngừa sự hoạt động của angiotensin II với thụ thể, từ đó giúp giãn các

mạch máu và chống lại tác dụng của aldosterone. Angiotensin II kích thích vỏ thượng thận hoạt động và tiết ra aldosterone, làm giảm bài tiết sodium và tăng bài tiết potassium, hoạt động như một chất co mạch ở cơ trơn mạch máu. Cơ chế hoạt động của Losartan-K là chống co cứng thành mạch máu, hạ

áp lực trong máu, từ đó giúp ngăn chặn nguy cơ nhồi máu cơ tim, đột tử, một số vấn đề đối với mắt và thận [1, 2]. Do đó, Losartan-K là dược phẩm dùng để điều trị các bệnh huyết áp cao, suy tim, mở rộng tâm thất trái, ngoài ra các bệnh nhân có các bệnh liên quan về thận như tiểu đường. Thuốc được sử dụng bằng đường uống hay dùng kèm với một số loại thuốc khác [3].

Với tầm quan trọng trong y học, hiện nay, Losartan-K có thể được định lượng bằng phương pháp trắc quang [4]. Dựa trên hiệu ứng tán xạ ánh sáng do huyền phù của các hạt, được tạo thành từ phản ứng của Losartan-K với ion Cu (II). Phương pháp này được tự động hóa bằng cách sử dụng phương pháp phân tích dòng chảy, được thực hiện bằng cách sử dụng máy bơm mini điện tử để đẩy chất lỏng và một quang kế dựa trên đèn LED [5]. Ngoài ra, Losartan-K còn được định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng [6-8]. Trong đó, RP-HPLC/PAD là một trong những kỹ thuật có ưu thế nổi bật nhờ độ nhạy cao, giới hạn phát hiện thấp, khoảng tuyến tính rộng, khả năng phân tích đồng thời nhiều dược chất. Tuy nhiên các phương pháp này thường cho thời gian phân tích dài, sử dụng tốc độ dòng lớn, nên sử dụng nhiều dung môi pha động dẫn đến tạo ra nhiều chất thải, hạn chế tính xanh của phương pháp phân tích.

Xu hướng phát triển phương pháp phân tích hiện nay còn chú trọng đến Hóa học Phân tích xanh. Một phương pháp phân tích hiện đại không chỉ yêu cầu độ chính xác và độ nhạy cao, mà còn cần giảm thiểu lượng mẫu, hạn chế hóa chất độc hại, giảm thiểu chất thải, rút ngắn thời gian phân tích và tối ưu hóa hiệu quả sử dụng thiết bị. Trong bối cảnh đó, việc đánh giá mức độ bền vững của phương pháp thông qua các công cụ như AGREE cung cấp cái nhìn bổ sung về tính bền vững của quy trình phân tích.

Nghiên cứu này nhằm khảo sát điều kiện phân tích và đánh giá quy trình định lượng Losartan-K trong dược phẩm trên thiết bị RP-HPLC/PAD nhằm tìm một phương pháp xanh hơn, thân thiện môi trường hơn thông qua xem xét đến các tiêu chí của Hóa học Phân tích xanh.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Hóa chất và thiết bị

- Chất chuẩn Losartan-K độ tinh khiết 98,79%.
- Dung dịch placebo tự pha.
- Dung môi pha động methanol (MeOH) độ tinh khiết 99,99% hãng Macron - Mỹ.
- Dung môi pha động acetonitrile (ACN) độ tinh khiết 99,99% hãng Macron - Mỹ.
- Nước deion hãng Macron - Mỹ.
- Potassium dihydrophosphate độ tinh khiết 100%, hãng Xilong - Trung Quốc.
- Phosphoric acid, hãng Xilong - Trung Quốc.
- Máy sắc ký lỏng RP-HPLC đầu dò PDA, hãng Jasco - Nhật Bản.

2.2. Khảo sát điều kiện phân tích Losartan-K trên RP-HPLC/PAD

Điều kiện phân tích Losartan-K trên RP-HPLC bao gồm: Pha động, tốc độ dòng, bước sóng hấp thu, nhiệt độ cột được khảo sát.

Khảo sát bước sóng hấp thu

Đo bước sóng hấp thu của các dung dịch chuẩn Losartan-K, dung dịch mẫu, placebo và blank trên thiết bị RP-HPLC với đầu dò PDA ở các điều kiện pha động sử dụng MeOH và đệm KH_2PO_4 tỷ lệ thể tích 60:40, tốc độ dòng 1 mL/ phút, nhiệt độ cột 30°C, thể tích tiêm mẫu 20 μL , đầu dò PDA đo ở bước sóng từ 190 đến 400 nm. Dựa vào các đồ thị bước sóng hấp thu của các dung dịch để xác định bước sóng hấp thu tối ưu.

Khảo sát pha động

Thành phần pha động ảnh hưởng đến khả năng rửa giải của chất phân tích. Trong đó, dung môi MeOH, ACN, dung dịch đệm phosphate được sử dụng để khảo sát.

- Pha động A gồm: 60% MeOH và 40% dung dịch đệm KH_2PO_4 , theo thể tích.

- Pha động B gồm: 60% ACN và 40% dung dịch đệm KH_2PO_4 , theo thể tích.

Sau khi chọn được loại pha động phù hợp, tiến hành khảo sát tỷ lệ các dung môi trong hệ pha động nhằm chọn được tỷ lệ tối ưu.

Khảo sát tốc độ dòng

Tốc độ dòng là một trong những thông số liên quan trực tiếp đến thời gian lưu của chất phân tích, và áp suất của hệ thống. Tiến hành khảo sát tốc độ dòng trong khoảng từ 0,8 mL/phút đến 1,6 mL/phút.

Khảo sát nhiệt độ cột

Nhiệt độ cột quyết định đến kết quả sắc ký Losartan-K. Một vài trường hợp ở nhiệt độ cao có thể gây mất mẫu, hoặc bay hơi làm tới sai lệch kết quả sắc ký. Nhiệt độ cột được khảo sát ở các mức 40°C, 45°C, 50°C.

Độ tương tích của hệ thống

Tiêm lặp lại 6 lần mẫu chuẩn Losartan-K 25 mg/L, xác định RSD% của diện tích peak và thời gian lưu, hệ số đối xứng. Nếu hệ số đối xứng, thời gian lưu, diện tích peak có $RSD\% \leq 2$, độ cân xứng ≤ 2 , và số đĩa lý thuyết ≥ 2000 thì các điều kiện đã chọn thích hợp cho việc phân tích.

2.3. Đánh giá hiệu năng của phương pháp*Tính đặc hiệu*

Khảo sát các dung dịch chuẩn Losartan-K nồng độ 25 mg/L, dung dịch mẫu tương ứng 25 mg/L, mẫu placebo, mẫu blank. Kiểm tra sự trùng khớp của thời gian lưu của dung dịch mẫu và chuẩn, sắc ký đồ của dung dịch placebo và blank không được xuất hiện peak có thời gian lưu trong sắc ký đồ của mẫu chuẩn.

Khoảng tuyến tính của phương pháp

Khoảng tuyến tính được xác định bằng cách phân tích dãy dung dịch chuẩn Losartan-K ở các nồng độ từ 3 đến 48 mg/L, tiến hành đo lặp lại ba lần đối với các mức nồng độ, sau đó xác định hệ số tương quan của nồng độ và diện tích peak trung bình.

Giới hạn định lượng, giới hạn phát hiện

Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) là 2 thông số quan trọng cho biết khả năng phát hiện ra chất tích trong nền mẫu cũng như giới hạn nhỏ nhất của chất cần xác định có thể được phân tích bằng phương pháp đang sử dụng. LOD, LOQ được tính theo độ lệch chuẩn (SD) của 11 lần đo mẫu thử ở nồng độ thấp.

$$LOD = 3 \times SD$$

$$LOQ = 10 \times SD$$

Đánh giá giá trị LOD vừa tính được qua đại lượng $R = \bar{x}/LOD$. Nếu R trong khoảng từ 4 - 10 thì nồng độ dung dịch phân tích đã chọn để xác định LOD, LOQ là phù hợp và LOD tính được có độ tin cậy.

Độ đúng

Chuẩn bị 3 mẫu tự tạo bằng cách cân khoảng 0,09 gam lượng bột dược phẩm A đã nghiền mịn cho vào bình định mức 50 mL, thêm các thể tích 1,92 mL, 2,40 mL, 2,88 mL dung dịch chuẩn Losartan-K 5000 mg/L, mỗi dung dịch pha lặp lại 3 lần. Sau đó thêm khoảng 30 mL MeOH vào các bình, lắc nhẹ để hoà tan hoàn toàn Losartan-K, thêm MeOH đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µL. Hút 0,5 mL dung dịch vừa lọc vào bình định mức 10 mL sau đó định mức tới vạch, đem các dung dịch tiến hành sắc ký.

Tính độ thu hồi theo công thức:

$$H\% = \frac{C_{m+c} - C_m}{C_c}$$

Trong đó:

- H% : Hiệu suất thu hồi.
- C_{m+c} : nồng độ của mẫu có thêm chuẩn.
- C_m : nồng độ của mẫu.
- C_c : nồng độ của chuẩn.

Độ lặp lại

Tiến hành phân tích 6 lần lặp lại mẫu dược phẩm A trong cùng điều kiện. Ghi lại sắc ký đồ để xác định thời gian lưu, diện tích peak, hàm lượng Losartan-K. RSD% của kết quả định lượng các chất trong mẫu nhỏ hơn 2% là đạt yêu cầu.

Phân tích mẫu

Cân ngẫu nhiên 20 viên chế phẩm của 2 loại được phẩm chứa Losartan-K được mua tại quầy thuốc tại Phường Gò Vấp, Thành phố Hồ Chí Minh (Mẫu dược phẩm ký hiệu A và B), tính trung bình khối lượng 1 viên, nghiền nhanh, thật mịn bằng cối sứ. Cân khoảng 0,09 gam lượng bột cho vào bình định mức 50 mL, cho vào bình khoảng 30 mL MeOH, lắc nhẹ để hòa tan hoàn toàn Losartan-K, thêm MeOH đến vạch, lắc đều. Pha loãng dung dịch

mẫu vừa được xử lý bằng cách hút 0,5 mL và cho vào bình định mức 10 mL, định mức bằng MeOH tới vạch, lọc qua màng 0,45 μm , tiến hành sắc ký trên thiết bị RP-HPLC/PAD ở các điều kiện tối ưu.

2.4. Đánh giá mức độ xanh của phương pháp

Mức độ xanh của phương pháp RP-HPLC/PAD được đánh giá bằng công cụ AGREE dựa trên 12 nguyên tắc của Hóa học phân tích xanh [9]. Các tiêu chí được xem xét bao gồm (1) phân tích trực tiếp không qua xử lý mẫu, (2) lượng mẫu sử dụng, (3) phân tích tại hiện trường, (4) tích hợp quy trình phân tích, (5) mức độ tự động hóa, (6) không cần tạo dẫn xuất, (7) lượng chất thải phát sinh, (8) khả năng phân tích đa nguyên tố, (9) mức tiêu thụ năng lượng, (10) sử dụng các chất thu được từ nguồn tài nguyên tái tạo, (11) các chất phản ứng độc hại cần được loại bỏ hoặc thay thế và (12) tính an toàn cho người sử dụng [10].

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả khảo sát điều kiện phân tích Losartan-K trên RP-HPLC/PAD

Phổ hấp thu của các dung dịch chuẩn, mẫu và placebo

Phổ hấp thu của các dung dịch chuẩn, mẫu và placebo được trình bày trên Hình 1. Bước sóng

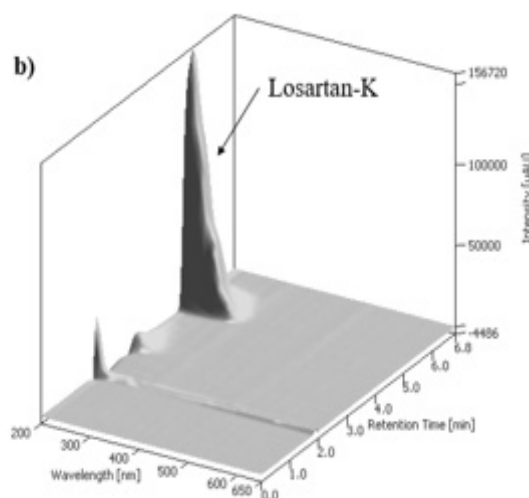
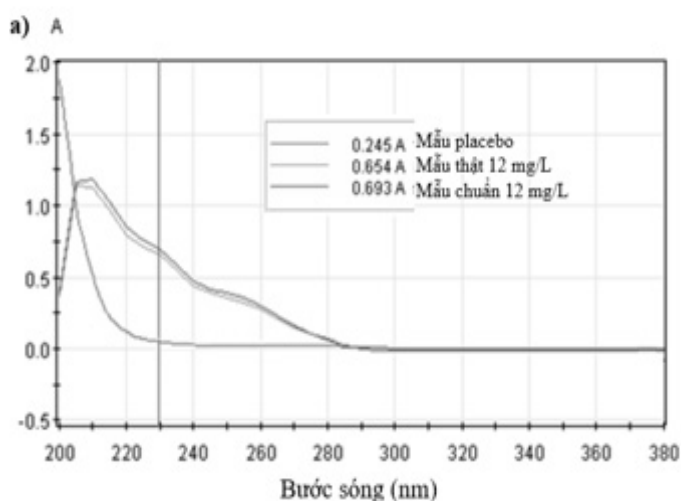
hấp thu của dung dịch chuẩn và mẫu là từ 200 nm đến 290 nm, bước sóng hấp thu cực đại tại 217 nm. Dung dịch placebo hấp thu trong khoảng bước sóng 200 nm đến 230 nm. Vì vậy, để tránh sự ảnh hưởng của placebo khi phân tích, 230 nm được chọn làm bước sóng tối ưu.

Kết quả khảo sát thành phần pha động

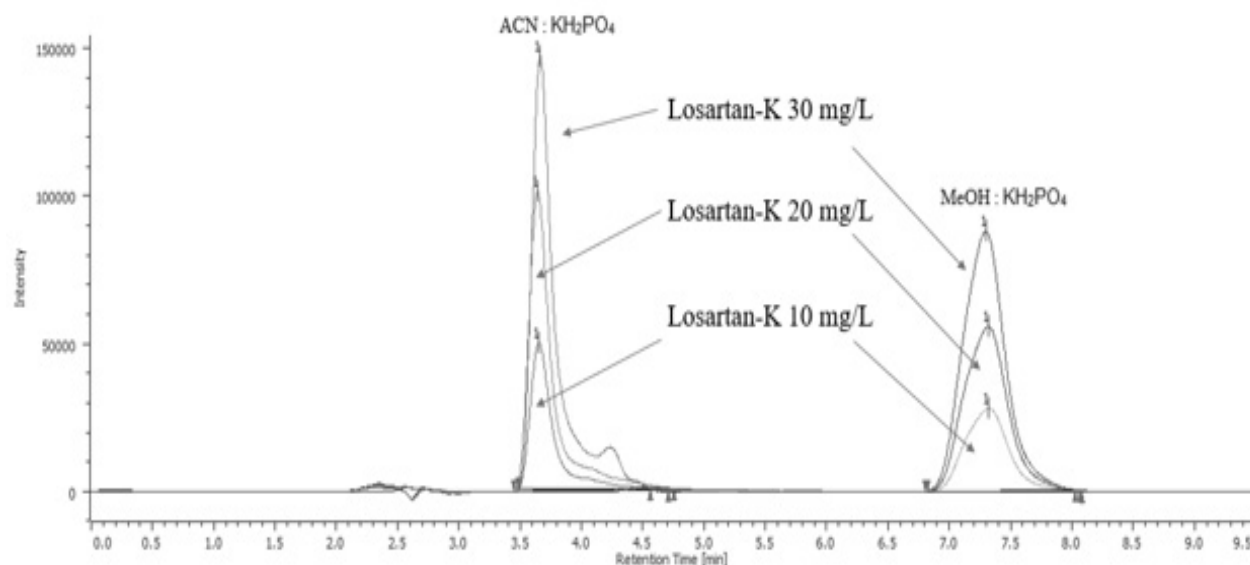
Kết quả khảo sát thành phần pha động được trình bày trên Hình 2. Pha động gồm hỗn hợp ACN và đệm có tốc độ rửa giải nhanh, chiều cao tín hiệu peak tốt hơn hẳn so với pha động gồm MeOH và đệm, tuy nhiên độ đối xứng của peak không đạt yêu cầu (độ đối xứng khoảng 2,5) và có hiện tượng peak kéo đuôi nhiều. Đối với hỗn hợp pha động gồm MeOH và đệm thì peak có độ đối xứng tốt (1,121) và ít bị kéo đuôi. Do đó pha động MeOH và đệm KH_2PO_4 được chọn làm pha động.

Pha động có tỷ lệ thể tích MeOH càng lớn thì tốc độ rửa giải càng nhanh, các tỷ lệ dung môi 80:20, 70:30, 60:40 của MeOH và đệm KH_2PO_4 cho chiều cao peak cao, thời gian lưu nhỏ hơn hẳn so với tỷ lệ dung môi 50:50. Do Losartan-K tương tác mạnh với MeOH nên khi rửa giải ở tỷ lệ dung môi MeOH lớn sẽ giúp rửa giải nhanh hơn. Tỷ lệ pha động 60:40, v/v, được lựa chọn làm pha động khi sắc ký Losartan-K.

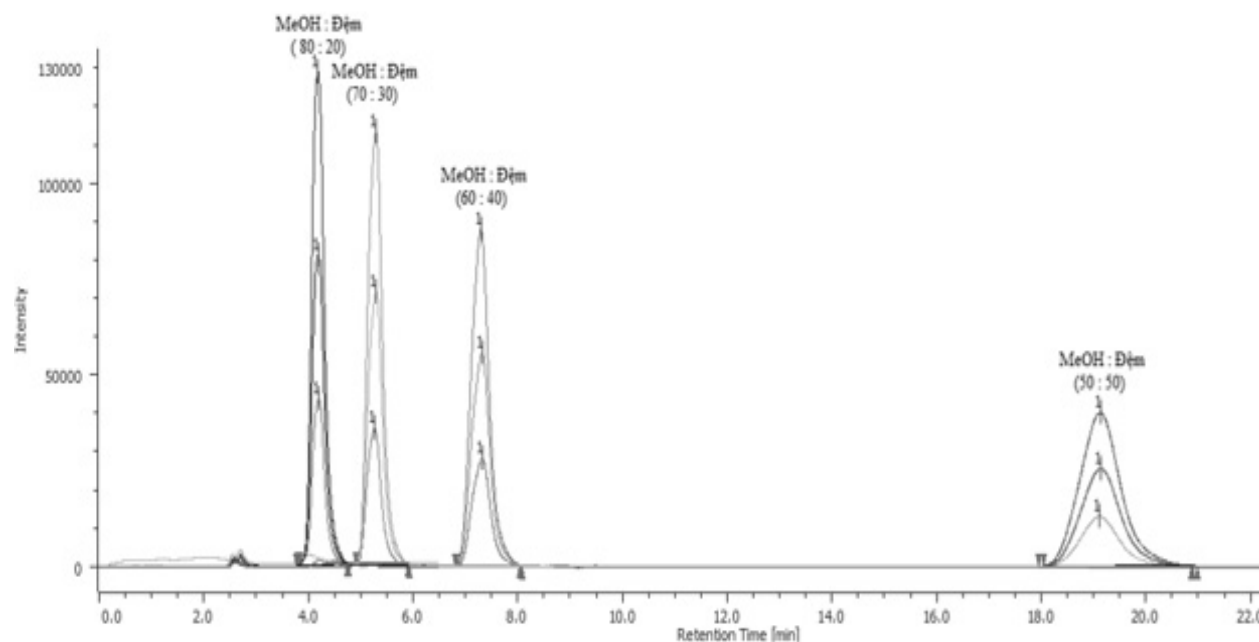
Hình 1: a) Phổ hấp thu của các dung dịch chuẩn, mẫu và placebo; b) Phổ hấp thu 3D của Losartan-K



Hình 2: Sắc ký đồ với 2 hệ pha động ACN: đệm KH_2PO_4 và MeOH: đệm KH_2PO_4



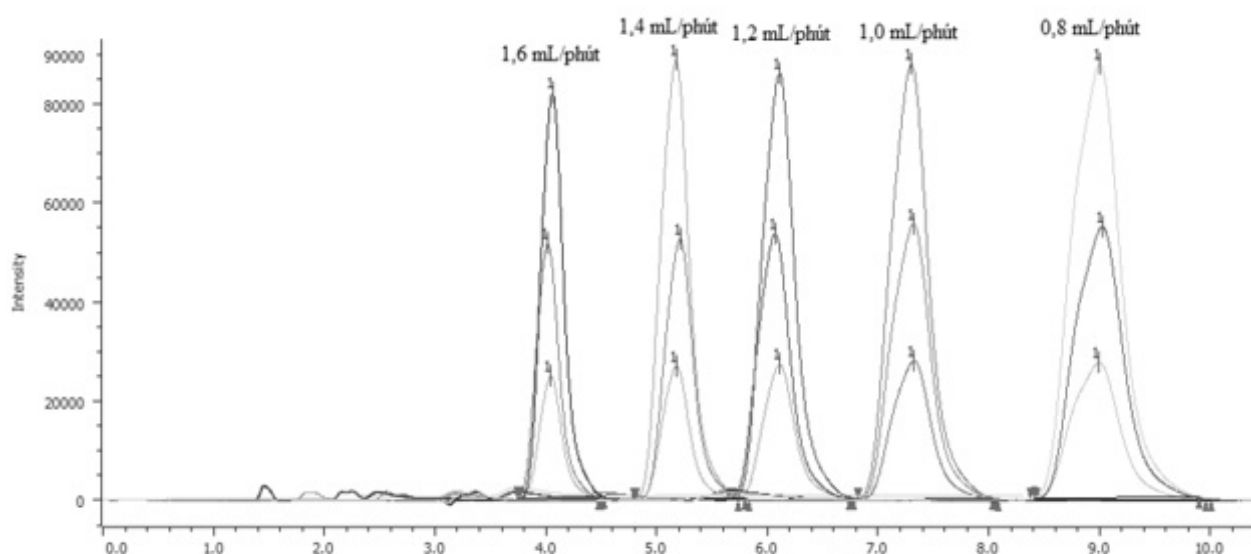
Hình 3: Sắc ký đồ với pha động MeOH: đệm KH_2PO_4 ở các tỷ lệ khác nhau



Kết quả khảo sát tốc độ dòng

Từ sắc ký đồ khảo sát tốc độ dòng trình bày trên Hình 4, dễ dàng nhận thấy tốc độ dòng càng lớn thời gian lưu càng ngắn, tốc độ rửa giải nhanh chóng dẫn tới sắc ký đồ nhọn hơn, chiều cao peak, độ đối xứng peak ở các tốc độ dòng không có sự khác biệt quá lớn, các peak vẫn có sự kéo đuôi. Tuy

nhien, khi tốc độ dòng lớn, áp suất hệ thống tăng, ảnh hưởng không tốt đến thiết bị. Tốc độ dòng 1,4 mL/phút được chọn vì có thời gian lưu ngắn, không tốn quá nhiều dung môi và thời gian vận hành máy. Với tốc độ dòng 1,4 mL/phút, tổng thời gian phân tích khoảng 7 phút, quy trình phân tích tiêu tốn 9,8 mL pha động. Lượng pha động sử dụng ở nghiên

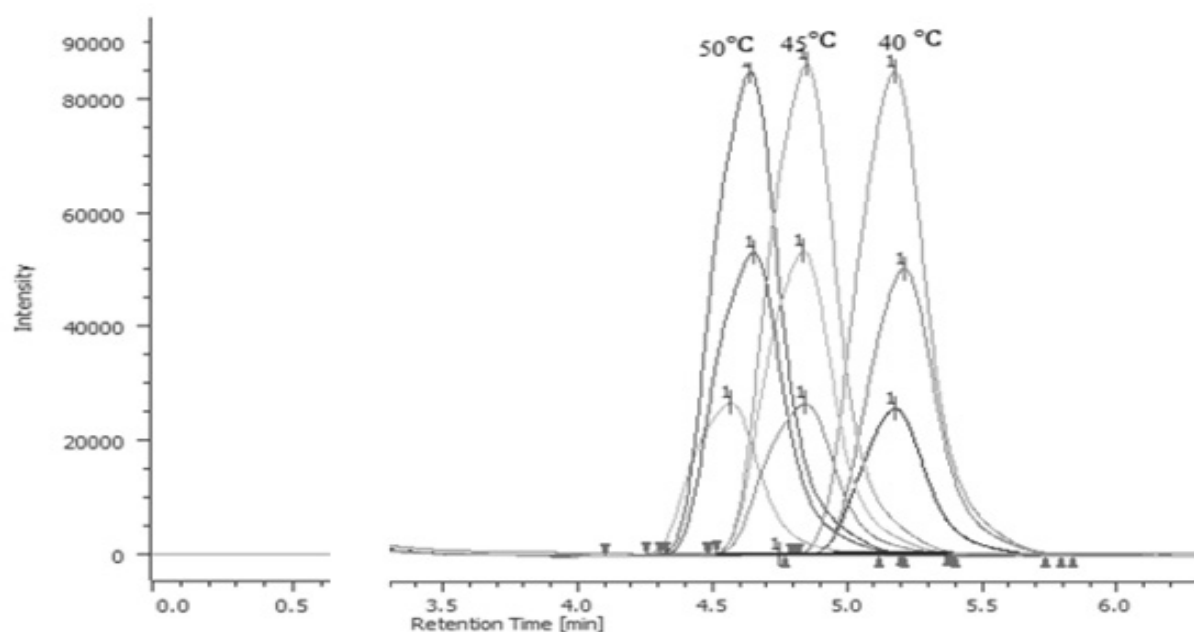
Hình 4: Sắc ký đồ với các tốc độ dòng khác nhau

cứ này tương đương với lượng pha động sử dụng ở các nghiên cứu khác khi phân tích Losartan-K trên thiết bị HPLC, thể tích pha động sử dụng là 9,6 mL [11], 15 mL [12].

Kết quả khảo sát nhiệt độ cột

Kết quả trình bày trên Hình 5 cho thấy, khi nhiệt độ cột tăng, thời gian lưu giảm, các thông số như

diện tích peak, chiều cao peak hay độ đối xứng không có sự khác biệt nhiều. Do đó, nhiệt độ cột 40°C được lựa chọn để có thời gian lưu vừa phải, dung môi ít bay hơi hơn tránh gây sai số trong phân tích so với ở khoảng nhiệt độ cao, ngoài ra pha tĩnh ở hoạt động ở nhiệt độ cao trong thời gian dài sẽ bị ảnh hưởng không tốt.

Hình 5: Sắc ký đồ với các nhiệt độ cột khác nhau

Kết quả khảo sát tính tương thích hệ thống

Kết quả khảo sát tính tương thích hệ thống được trình bày trong Bảng 1. Hệ số đối xứng trung bình khoảng 1,32, %RSD của thời gian lưu, chiều cao peak và diện tích peak cho các lần tiêm lặp lại đều nhỏ hơn 2%. Số đĩa lý thuyết trung bình lớn hơn 2000. Quy trình định lượng Losartan-K đạt yêu cầu về tính phù hợp của hệ thống.

3.2. Kết quả thẩm định quy trình phân tích Losartan-K trên RP-HPLC/PAD*Kết quả xác định tính đặc hiệu*

Cả 2 peak sắc ký của dung dịch mẫu và chuẩn đều có thời gian lưu trùng nhau tại 5 phút, diện tích peak, chiều cao peak và độ đối xứng xấp xỉ nhau (Bảng 2). Bên cạnh đó, mẫu placebo và blank không có các peak lạ trong thời gian lưu từ 4,5 - 6,0 phút. Thêm vào đó, từ đồ thị kết quả khảo sát bước sóng tối ưu cho thấy đường biểu diễn độ hấp thu bước sóng từ 200 - 400 nm của dung dịch mẫu và chuẩn Losartan-K có sự tương đồng (Hình 1a). Do đó phương pháp có tính đặc hiệu cao.

Kết quả xác định khoảng tuyến tính

Trong khoảng nồng độ từ 3 đến 48 mg/L, phương trình đường chuẩn có dạng $\text{Area} = 51079 C (\text{mg/L}) - 27870$, với $R^2 = 0,999$. Kết quả cho thấy, có sự tương quan cao giữa nồng độ Losartan-K và diện tích peak, RSD% của mỗi dung dịch chuẩn lặp lại đều nhỏ hơn 2% nên có thể sử dụng đường chuẩn $\text{Area} = 51079 C (\text{mg/L}) - 27870$ để định lượng mẫu.

Kết quả xác định LOD, LOQ

Tiến hành quá trình sắc ký lặp lại 11 lần mẫu thử có nồng độ thấp và tính hàm lượng của Losartan-K thông qua đường chuẩn đã xây dựng trước đó, tìm được độ lệch chuẩn của kết quả hàm lượng của 11 lần phân tích, từ đó tính toán LOD, LOQ. Xác định được $\text{LOD} = 0,0579 \text{ mg/L}$ và $\text{LOQ} = 0,1737 \text{ mg/L}$ với giá trị $R = 6,1$, giá trị R này nằm trong khoảng từ 4 tới 10, phù hợp với quy định AOAC [13].

Kết quả xác định độ đúng

Kết quả xác định độ thu hồi bằng cách thêm chuẩn ở 3 mức 80, 100, 120% so với mức hàm lượng Losartan-K của mẫu được phẩm A được trình

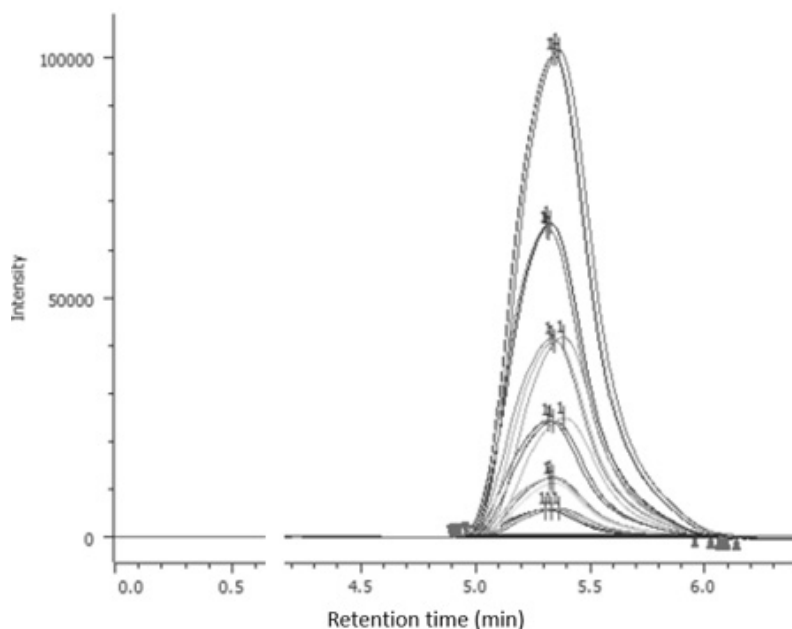
Bảng 1. Kết quả xác định tính tương thích hệ thống

Mẫu	Thời gian lưu (phút)	Diện tích peak ($\mu\text{V}.\text{sec}$)	Chiều cao peak (μV)	Hệ số đối xứng	NTP
1	5,31	587108	24124	1,312	2018
2	5,34	560150	24719	1,520	2023
3	5,33	568344	24012	1,285	2037
4	5,38	583590	24564	1,306	2100
5	5,36	572148	25071	1,345	2051
6	5,31	581026	24562	1,281	2055
Trung bình	5,34	575394	24509	1,344	2047
SD	0,028	10283	390	-	30
RSD%	0,5	1,8	1,6	-	1,4

Bảng 2. Kết quả xác định độ đặc hiệu

Mẫu	Thời gian lưu (phút)	Diện tích peak ($\mu\text{V}.\text{sec}$)	Chiều cao peak (μV)	Độ đối xứng
Mẫu 50 ppm	5,08	2302477	119253	1,128
Chuẩn 50 ppm	5,03	2279448	124231	1,122

Hình 6: Sắc ký đồ lặp lại của các dung dịch chuẩn Losartan-K có nồng độ từ 3 đến 48 mg/L



bày trong Bảng 3. Hiệu suất thu hồi của phương pháp bằng cách thêm chuẩn vào mẫu thử đạt trong khoảng từ 99,0 - 105,1% và giá trị RSD% từ 0,6 đến 2,0. Khi thêm hàm lượng chuẩn nhỏ, khả năng thu hồi sai lệch cao hơn đối với khi thêm chuẩn với hàm lượng cao. Hiệu suất thu hồi của phương pháp định lượng đạt yêu cầu [13].

Kết quả xác định độ lặp lại

RSD% của thời gian lưu và hàm lượng của mẫu đều nhỏ hơn 2%, chứng tỏ phương pháp sử dụng có độ lặp lại tốt [13] [14].

Kết quả phân tích Losartan-K trong một số mẫu được phẩm

Kết quả phân tích 2 mẫu được phẩm chứa Losartan-K trên thiết bị RP-HPLC/PAD được trình bày trong Bảng 5.

Hàm lượng Losartan-K trong hai chế phẩm lưu hành trên thị trường được xác định bằng phương pháp này nằm trong khoảng 100% tới 103% đối với mẫu A và 94,8% tới 109,6% đối với mẫu B. Với viên nén có hàm lượng ghi trên nhãn dưới 50 mg thì phần trăm

chênh lệch cho phép là $\pm 10\%$. Do đó, hàm lượng Losartan-K trong 2 chế phẩm đạt yêu cầu theo quy định của Dược điển Việt Nam V [15].

3.3. Đánh giá tính xanh của phương pháp

Mức độ xanh của phương pháp RP HPLC-PAD được đánh giá bằng công cụ AGREE dựa trên 12 nguyên tắc của Hóa học phân tích xanh. Kết quả

Bảng 3. Bảng tổng hợp kết quả độ thu hồi

Mức hàm lượng thêm	STT	Khối lượng mẫu cân (g)	Lượng chất từ mẫu cân (mg)	Lượng chất chuẩn thêm vào (mg)	Lượng tích được (mg)	Lượng chất chuẩn tìm được (mg)	Tỷ lệ thu hồi (%)	%RSD
80%	1	0,0942	12,7	9,6	22,7	10,0	104,2	0,6
	2	0,0928	12,5	9,6	22,6	10,1	105,1	
	3	0,0921	12,4	9,6	22,4	10,0	104,0	
100%	1	0,0920	12,4	12,0	25,0	12,6	104,8	2,0
	2	0,0932	12,5	12,0	24,7	12,2	101,5	
	3	0,0918	12,3	12,0	24,5	12,2	101,0	
120%	1	0,0926	12,6	14,4	26,4	13,9	99,8	0,8
	2	0,0906	12,2	14,4	26,3	14,1	100,7	
	3	0,0915	12,3	14,4	26,2	13,9	99,0	

Bảng 4. Kết quả xác định độ lặp lại của phương pháp

Mẫu	Khối lượng mẫu cân (g)	Diện tích peak (μV.s)	Thời gian lưu (phút)	Hàm lượng Losartan-K trong viên thuốc (mg)
1	0,0987	656557	5,29	25,04
2	0,0964	658059	5,35	25,69
3	0,0912	614023	5,31	25,40
4	0,0978	662415	5,27	25,49
5	0,0924	620522	5,30	25,33
6	0,0990	638406	5,31	24,30
TB			5,3	25,20
SD			0,5022	0,4947
% RSD				1,96

Bảng 5. Kết quả xác định Losartan-K trong hai mẫu dược phẩm

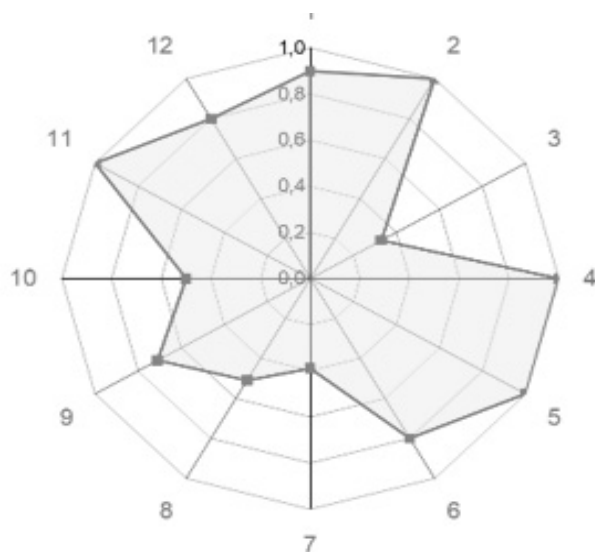
Mẫu	Mẫu dược phẩm A			Mẫu dược phẩm B		
	1	2	3	1	2	3
Khối lượng cân (g)	0,0987	0,0964	0,0912	0,0985	0,0943	0,0939
Hàm lượng Losartan-K trong 1 viên thuốc (mg)	25,69	25,40	25,49	25,89	26,08	24,70
Kết quả	25,52 ± 0,37			25,56 ± 1,86		

Bảng 6. So sánh hiệu quả của phương pháp định lượng Losartan-K trong nghiên cứu này với các phương pháp khác

Thời gian phân tích (phút)	Lượng dung môi sử dụng (mL)	LOD (mg/L)	Độ lặp lại %RSD	Hiệu suất thu hồi	Tài liệu tham khảo
6	6,0	0,07	0,58%	99,91%	[16]
8	9,6	0,029	1,34 – 1,88%	99,9 – 100,4%	[11]
10	15,0	-	0,4%	99,0 – 100,0%	[12]
7	9,8	0,058	1,96%	99,0 – 105,1%	Nghiên cứu này

cho thấy, phương pháp có mức độ xanh khá tốt với số điểm 0,75 (Hình 7). Phương pháp RP-HPLC/PAD định lượng Losartan-K trong mẫu dược phẩm có nhiều ưu điểm như phân tích trực tiếp không qua xử lý mẫu, lượng mẫu sử dụng ít, mức độ tự động hóa cao, không cần tạo dẫn xuất, ít tiêu thụ năng

lượng và an toàn cho người sử dụng. Tuy nhiên, phương pháp vẫn có hạn chế do không thể phân tích tại hiện trường, lượng chất thải tương đối nhiều (khoảng 9,8 mL), sử dụng chất hữu cơ độc hại như methanol và phân tích chỉ Losartan-K trong quy trình, không sử dụng các chất từ nguồn tài nguyên

Hình 7: Mức độ xanh của phương pháp

tái tạo. Những nhược điểm này cần được nghiên cứu cải tiến để phương pháp phân tích trở nên xanh hơn trong tương lai. Chẳng hạn như phân tích đồng thời dược chất Losartan-K với các dược chất khác, điều này thuận lợi do thiết bị HPLC sử dụng đầu dò PAD, có khả năng phân tích đồng thời nhiều chất. Ngoài ra, nghiên cứu sử dụng các dung môi pha động thân thiện môi trường hơn, hạ tốc độ dòng để lượng pha động sử dụng ít hơn, hạn chế lượng chất thải. Tất cả những cải tiến này có thể thực hiện được trong tương lai.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã khảo sát điều kiện phân tích và xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp phân tích, đồng thời đánh giá mức độ xanh của phương pháp RP-HPLC/PAD định lượng Losartan-K trong dược phẩm. Kết quả cho thấy, phương pháp có độ tuyến tính tốt. Giá trị LOD và LOQ đạt mức phù hợp. Độ đúng và độ chụm của phương pháp nhìn chung đáp ứng yêu cầu đối với phân tích dược chất trong mẫu dược phẩm. Phương pháp sau khi được đánh giá hiệu năng đã được ứng dụng để phân tích Losartan-K trong hai mẫu dược phẩm. Kết quả cho thấy, hàm lượng Losartan-K phù hợp với công bố của nhà sản xuất và theo quy định của Dược điển Việt Nam V.

Đánh giá mức độ xanh của phương pháp định lượng Losartan-K theo hệ thống AGREE cho thấy, phương pháp có mức độ xanh khá tốt nhờ khả năng phân tích trực tiếp không qua xử lý mẫu, lượng mẫu sử dụng ít, mức độ tự động hóa cao, không cần tạo dẫn xuất, mức tiêu thụ năng lượng thấp, ít sử dụng các chất phản ứng độc hại và an toàn cho người sử dụng.

Nhìn chung, phương pháp RP-HPLC/PAD trong nghiên cứu này có hiệu năng tốt, độ tin cậy cao và phù hợp cho phân tích Losartan-K trong mẫu dược phẩm ■

TÀI LIỆU TRÍCH DẪN VÀ THAM KHẢO:

- [1] Barreiro E.J, Fraga C.A.M (2001). Química Medicinal As Bases Moleculares Da Açã Dos Fármacos, São Paulo/ Porto Alegre, Artmed.
- [2] Korolkovas A. (2007). Dicionário terapêutico Guanabara, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.
- [3] Bộ Y tế (2018). Dược thư Quốc gia Việt Nam, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
- [4] Olga C.L, Igor G.L, Hugo J.S et al (2003). Development and validation of an UV derivative spectrophotometric determination of Losartan potassium in tablets. J. Pharm. Biomed. Anal., 33(2), 175-180.
- [5] Manoel J.A.L, Boaventura F.R (2017). A clean photometric method for the determination of losartan potassium in pharmaceuticals exploiting light scattering effect and employing a multicommuted flow analysis approach. Talanta, 164, 183-188.
- [6] Rao K.S and Srinivas K., (2010). RP-HPLC Method for the Determination of Losartan Potassium and Ramipril in Combined Dosage Form. Indian J. Pharm. Sci., 72 (1), 108-111.
- [7] Pawar H.A and Lalitha K.G (2014). Development and Validation of a Novel RP-HPLC Method for Estimation of Losartan Potassium in Dissolution Samples of Immediate and Sustained Release Tablets. Chromatogr. Res. Int., 2014(1), 736761.

- [8] Rudy B., César Ricardo Teixeira T., Gislaine R.P et al (2009). Multivariate optimization and validation of an analytical methodology by RP-HPLC for the determination of losartan potassium in capsules. *Talanta*, 80(1), 236-241.
- [9] Lei Y., Luyao Y., Yingxia G. et al (2024). Green analytical chemistry metrics for evaluating the greenness of analytical procedures. *J. Pharm. Anal.*, 14(11), 101013.
- [10] Gałuszka A., Migaszkowski Z., and Namieśnik J. (2013). The 12 Principles of Green Analytical Chemistry and the SIGNIFICANCE Mnemonic of Green Analytical Practices. *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 50, 78.
- [11] Sivakumar T., Venkatesan P., Manavalan R. et al (2007). Development of a HPLC Method for the Simultaneous Determination of Losartan Potassium and Atenolol in tablets. *Indian J. Pharm. Sci.*, 69(1), 154-157.
- [12] Kathiresan K., Gothandaraman S., Swamivel Manickam M. et al (2008). Analytical method development and validation of losartan potassium tablet by RP-HPLC. *Rasayan J. Chem.*, 1(3), 521-525.
- [13] AOAC Official Methods of Analysis (2016). Guidelines for Standard Method Performance Requirements, Appendix F.
- [14] Trần Tử An và cộng sự (2005). *Kiểm nghiệm Dược phẩm*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
- [15] Bộ Y tế (2017). *Dược điển Việt Nam V*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
- [16] Mahmoud M.S, Sobhy M El-Adl, Mohamed M.B et al (2020). Developing a highly validated and sensitive HPLC method for simultaneous estimation of losartan and spironolactone in tablets and human plasma. *Trends in Res.*, 3(1-2).

Ngày nhận bài: 24/4/2026

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 8/5/2026

Ngày chấp nhận đăng bài: 25/5/2026

EVALUATION OF THE QUANTIFICATION PROCESS OF LOSARTAN-K IN PHARMACEUTICALS USING RP-HPLC/PAD ANALYSIS

● **DUONG TUNG BACH¹**
● **NGUYEN THI HONG GAM²**
● **NGUYEN VAN CUONG¹**
● **NGUYEN QUOC THANG^{1*}**

¹ Industrial University of Ho Chi Minh City

² Topcin Joint Stock Company

ABSTRACT:

This study investigates chromatographic conditions and validates the applicability of an RP-HPLC/PAD method for quantifying Losartan-K in pharmaceutical samples, while also assessing the environmental friendliness of the analytical procedure. The results show that Losartan-K can be effectively quantified using a mobile phase of MeOH: KH₂PO₄ buffer (60:40, v/v), a flow rate of 1.4 mL/min, detection at 230 nm, and a column temperature of 40°C. The method demonstrates acceptable linearity, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), accuracy, and repeatability. Furthermore, the analytical procedure exhibits relatively good green chemistry performance based on evaluation across 12 green analytical chemistry criteria.

Keywords: Losartan-K, RP-HPLC/PAD, pharmaceutical analysis, analytical conditions.