

Xây dựng và thẩm định định lượng etoricoxib trong nguyên liệu và vi nhũ tương bằng HPLC-UV

Nguyễn Huệ Minh, Nguyễn Hữu Phúc*
 Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Vi nhũ tương (VNT) là hệ dẫn thuốc giúp cải thiện độ hòa tan của etoricoxib, một NSAID ức chế chọn lọc COX-2. Các nghiên cứu về phương pháp HPLC sử dụng pha động acetonitrile - nước chứa 0.1% acid formic cho định lượng etoricoxib trong hệ vi nhũ tương vẫn còn ít được báo cáo. **Mục tiêu:** Xây dựng và thẩm định phương pháp HPLC-UV để định lượng etoricoxib trong nguyên liệu và hệ VNT. **Phương pháp:** HPLC-UV được thực hiện trên hệ thống Agilent 1200 sử dụng cột Phenomenex C18 (150 × 4.6 mm; 5 μm). Pha động là hỗn hợp acetonitrile và nước, đều chứa 0.1% acid formic, với tỷ lệ 20:80 (v/v), tốc độ dòng 1.0 mL/phút. Thể tích tiêm mẫu là 10 μL và bước sóng phát hiện được lựa chọn là 233 nm. Việc thẩm định phương pháp được tiến hành theo hướng dẫn ICH Q2 (R1). **Kết quả:** Etoricoxib có thời gian lưu 9.64 phút, đường chuẩn tuyến tính trong khoảng 10 - 300 μg/mL ($R^2 = 0.9993$). LOD và LOQ thực tế lần lượt là 10.0 và 20.0 μg/mL. Độ phục hồi đạt 99.08 - 100.39 % với nguyên liệu và 98.98 - 100.44% với VNT, RSD ≤ 2%. **Kết luận:** Phương pháp HPLC-UV đã được thẩm định cho thấy độ chính xác và độ lặp lại đạt yêu cầu, cho phép áp dụng trong công tác kiểm nghiệm chất lượng etoricoxib.

Từ khóa: etoricoxib, HPLC, NSAID, vi nhũ tương

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Etoricoxib là NSAID ức chế chọn lọc COX-2, có tác dụng giảm đau, chống viêm và ít gây tác dụng phụ trên đường tiêu hóa, được dùng trong điều trị các bệnh viêm khớp và đau sau phẫu thuật [1, 2]. Về đặc tính lý - hóa, etoricoxib là tinh thể màu trắng ngà, tan tốt trong methanol, DMSO, DMF và chloroform, nhưng hầu như không tan trong nước, làm giảm sinh khả dụng. Etoricoxib có công thức phân tử $C_{18}H_{15}ClN_2O_2S$, khối lượng phân tử 358.8 g/mol, và hấp thụ cực đại ở 233 nm [3, 4]. Etoricoxib hiện chưa được ghi nhận trong các dược điển; tuy vậy, một số nghiên cứu đã đề cập đến việc áp dụng các phương pháp RP-HPLC để định lượng hoạt chất này trong các dạng bào chế khác nhau. Các phương pháp này thường sử dụng cột C18 với các hệ pha động như acetonitrile - đệm phosphate, methanol - đệm ammonium acetate hoặc methanol, và bước sóng phát hiện nằm trong khoảng 215 - 283 nm [5 - 8]. Cụ thể, Thimmaraju (2011) phát triển phương pháp RP-HPLC đơn giản với pha động acetonitrile : KH_2PO_4 0.05 M (50:50, v/v), phát hiện tại 283 nm [9]. Năm 2021, Sanjay Shetgar và cộng sự sử dụng phương pháp RP-UPLC định

lượng đồng thời etoricoxib và thicolchicoside trong viên nén, với độ tuyến tính $R^2 > 0.999$ và RSD < 2% [10]. Tuy nhiên, các báo cáo về phương pháp HPLC sử dụng pha động acetonitrile - nước có bổ sung 0.1% acid formic để định lượng etoricoxib trong hệ vi nhũ tương hiện còn hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm xây dựng và thẩm định một phương pháp RP-HPLC đơn giản, chính xác và tin cậy để định lượng etoricoxib trong nguyên liệu và vi nhũ tương, góp phần hỗ trợ công tác kiểm nghiệm chất lượng và phát triển dạng thuốc.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Chế phẩm vi nhũ tương chứa 1% etoricoxib của Khoa Dược, Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng.

2.2. Hóa chất, thiết bị

Chất chuẩn: Etoricoxib, số lô: QT413 0623, độ tinh khiết 99.9% do Viện kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh cung cấp.

Dung môi hóa chất: Đạt tiêu chuẩn tinh khiết phân tích. Dung môi dùng cho sắc ký lỏng hiệu năng cao

Tác giả liên hệ: Nguyễn Hữu Phúc

Email: phucnh2@hiu.vn

đạt tiêu chuẩn cho HPLC: Methanol (Merck - Đức), Acetonitril (Merck - Đức), Acid formic (Merck - Đức), nước cất 2 lần được lọc qua màng lọc 0.45 μm . Tất cả các dung môi được siêu âm khử khí trước khi phân tích trên hệ thống HPLC.

Thiết bị nghiên cứu: Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1260 Infinity (Mỹ), đầu dò UV. Máy quang phổ UV-Vis Shimadzu UV1800 (Nhật). Cột sắc ký C18 (150 x 4.6 mm; 5 μm), Phenomenex (Mỹ). Cân phân tích Mettler Toledo MS205 (Thụy Sĩ). Bể siêu âm Elma S10H (Đức). Vial, đầu lọc mẫu, xi lanh và các dụng cụ thủy tinh thông thường.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Chuẩn bị

Dung dịch chuẩn gốc etoricoxib (1 mg/mL): Cân chính xác 100.0 mg etoricoxib vào bình định mức 10 mL, thêm 5 mL methanol, siêu âm 10 phút, thêm methanol đến vạch. Hút 1.0 mL dung dịch này vào bình định mức 10 mL, thêm methanol đến vạch. Lọc qua màng lọc 0.45 μm .

Dung dịch chuẩn etoricoxib (100 $\mu\text{g/mL}$): Hút 1.0 mL dung dịch chuẩn gốc vào bình định mức 10 mL, thêm methanol đến vạch. Quét phổ UV-Vis để xác định bước sóng hấp thụ cực đại của etoricoxib.

Pha dung dịch thử (100 $\mu\text{g/mL}$): Cân chính xác 10.0 mg etoricoxib nguyên liệu vào bình định mức 10 mL, thêm khoảng 5 mL methanol, siêu âm 10 phút, sau đó bổ sung methanol đến vạch và lắc đều. Hút 1.0 mL dung dịch, pha loãng bằng methanol đến 10 mL, lắc đều và lọc qua màng 0.45 μm .

Hàm lượng etoricoxib được tính theo công thức (1) sau:

$$X\% = \frac{S_t}{S_c} \times \frac{HLNT}{100} \times \frac{DPL_t}{DPL_c} \times \frac{m_c}{m_t} \times 100\% \quad (1)$$

Trong đó:

X%: hàm lượng etoricoxib thực có trong mẫu so với hàm lượng lý thuyết.

S_t ; S_c : Diện tích pic etoricoxib trên sắc ký đồ của mẫu thử và mẫu chuẩn.

m_c ; m_t (mg): Khối lượng cân của mẫu chuẩn và mẫu thử.

HLNT (%): Hàm lượng nguyên trạng của chuẩn etoricoxib là 99.9.

DPL_t ; DPL_c : Độ pha loãng của mẫu thử và mẫu chuẩn.

Pha dung dịch vi nhũ tương: Cân chính xác lượng vi nhũ tương tương ứng 10 mg etoricoxib vào bình định mức 10 mL, thêm 5 mL methanol, siêu âm 20

phút, bổ sung methanol đến vạch, lắc đều và lọc qua màng 0.45 μm . Hút 1.0 mL dịch lọc, pha loãng bằng methanol đến 10 mL, lắc đều và lọc qua màng 0.22 μm trước khi phân tích.

Hàm lượng etoricoxib trong VNT được tính theo công thức (2) sau:

$$\text{Hàm lượng etoricoxib (\%)} = \frac{C_p \times DPL_p}{m_p} \times 100\% \quad (2)$$

C_p ($\mu\text{g/mL}$): Nồng độ etoricoxib quy đổi từ phương trình đường tuyến tính.

m_p (μg): Khối lượng cân của vi nhũ tương.

DPL_p : Độ pha loãng của mẫu vi nhũ tương.

2.3.2. Khảo sát và tối ưu hoá điều kiện sắc ký

Quy trình phân tích được tối ưu hóa thông qua việc khảo sát và điều chỉnh các điều kiện sắc ký, nhằm đảm bảo thời gian phân tích ngắn, đỉnh sắc ký có hệ số đối xứng đạt yêu cầu và số đĩa lý thuyết phù hợp. Các thông số được khảo sát bao gồm tốc độ dòng, thành phần pha động.

Tiêu chí lựa chọn điều kiện sắc ký:

- Pic hẹp và có hệ số đối xứng (As) trong khoảng 0.8 - 1.5.

- Thời gian lưu (t_R) ngắn, không quá 15 phút.

- Số đĩa lý thuyết (N) cao ($N \geq 2,000$).

2.3.3. Thẩm định quy trình phân tích etoricoxib

Phương pháp HPLC được thẩm định theo tiêu chuẩn ICH Q2.

Tính tương thích hệ thống được đánh giá thông qua 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn, với độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của các thông số sắc ký $\leq 2.0\%$.

Tính đặc hiệu được xác nhận bằng cách tiêm mẫu trắng, mẫu chuẩn và mẫu thử; mẫu trắng không xuất hiện pic tại thời gian lưu của etoricoxib, và pic trong mẫu thử trùng khớp về thời gian lưu và phổ UV với mẫu chuẩn.

Tính tuyến tính được khảo sát trong khoảng nồng độ 10 - 300 $\mu\text{g/mL}$, xây dựng đường chuẩn theo mô hình hồi quy tuyến tính ($y = bx + a$) với $R^2 \geq 0.998$.

Độ chính xác được đánh giá thông qua độ lặp lại (phân tích 06 dung dịch mẫu chuẩn bị độc lập trong cùng điều kiện) và độ chính xác trung gian (thực hiện vào ngày khác và bởi kiểm nghiệm viên khác) ($n = 18$), với $RSD \leq 2.0\%$.

Độ đúng được xác định bằng phương pháp thêm chuẩn tại các mức 80%, 100% và 120% (n = 9), với tỷ lệ thu hồi trong khoảng 98.0 - 102.0% và RSD ≤ 2.0%.

Dữ liệu được xử lý bằng Microsoft Excel. Phương pháp sau thẩm định được áp dụng để định tính dựa trên thời gian lưu và phổ UV, và định lượng dựa trên diện tích pic so với dung dịch chuẩn.

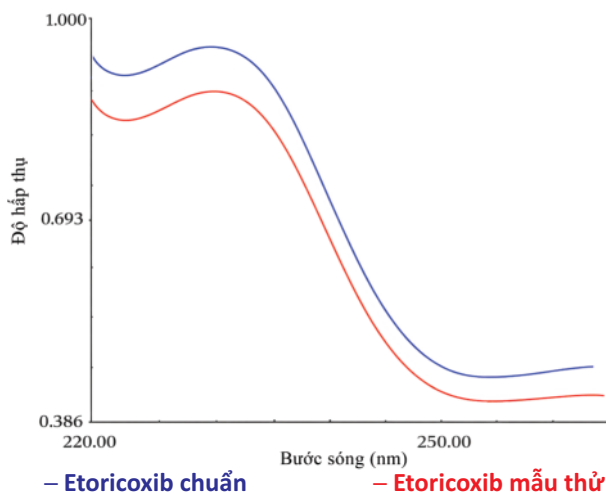
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Khảo sát và tối ưu điều kiện sắc ký

3.1.1. Khảo sát phổ hấp thụ quang

Tiến hành quét phổ dung dịch chuẩn etoricoxib bằng máy quang phổ UV-Vis để xác định bước sóng phát hiện. Kết quả được trình bày trong Hình 1.

Kết quả cho thấy cả mẫu chuẩn và mẫu thử đều xuất hiện tín hiệu hấp thụ đặc trưng tại bước sóng 233 nm, trong khi mẫu trắng không ghi nhận tín hiệu hấp thụ, chứng tỏ phương pháp có độ đặc hiệu.



Hình 1. Phổ hấp thụ UV-Vis của mẫu chuẩn và mẫu thử etoricoxib

3.1.2. Tối ưu điều kiện sắc ký

Các điều kiện sắc ký được tối ưu để đảm bảo hiệu suất tách và thời gian phân tích phù hợp. Kết quả được trình bày trong Bảng 1 cho thấy điều kiện sắc ký số 6 đáp ứng các tiêu chí đánh giá và được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 1. Các điều kiện sắc ký được khảo sát và thông số sắc ký tương ứng

Điều kiện sắc ký	Pha động	Tỷ lệ pha động	Tốc độ dòng (mL/phút)	t _R (phút)	Hệ số đối xứng (A _s)	Số đĩa lý thuyết (N)
1	ACN - H ₂ O	6:94	1.2	17.991	0.862	14,726
2	ACN - H ₂ O	18:82	1.0	16.903	0.743	9,262
3	ACN - H ₂ O	20:80	1.0	13.730	0.764	9,030
4	ACN - H ₂ O	24:76	1.0	5.661	1.295	7,014
5	ACN - H ₂ O	25:75	1.0	5.054	1.350	6,989
6	ACN + FA 0.1% - Nước cát + FA 0.1%	20:80	1.0	9.635	1.012	7,592

Điều kiện sắc ký hoàn chỉnh

Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent-1200, đầu dò UV.

Cột sắc ký Phenomenex C18 (150 x 4.6 mm; 5 μm).

Pha động: Acetonitril chứa 0.1% acid formic - nước acid formic 0.1% (20:80).

Bước sóng phát hiện: 233 nm.

Tốc độ dòng: F = 1.0 mL/min.

Nhiệt độ cột: Không điều chỉnh, tiến hành ở nhiệt

độ phòng.

Thể tích tiêm mẫu: 10 μL.

Thời gian phân tích: 12 phút.

3.2. Thẩm định quy trình phân tích etoricoxib

3.2.1. Tính tương thích hệ thống

Kết quả tiêm lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn trình bày trong Bảng 2 cho thấy RSD của các thông số sắc ký đều < 2.0%, chứng tỏ hệ thống ổn định và đáp ứng yêu cầu tính tương thích hệ thống.

Bảng 2. Kết quả đánh giá tính tương thích hệ thống

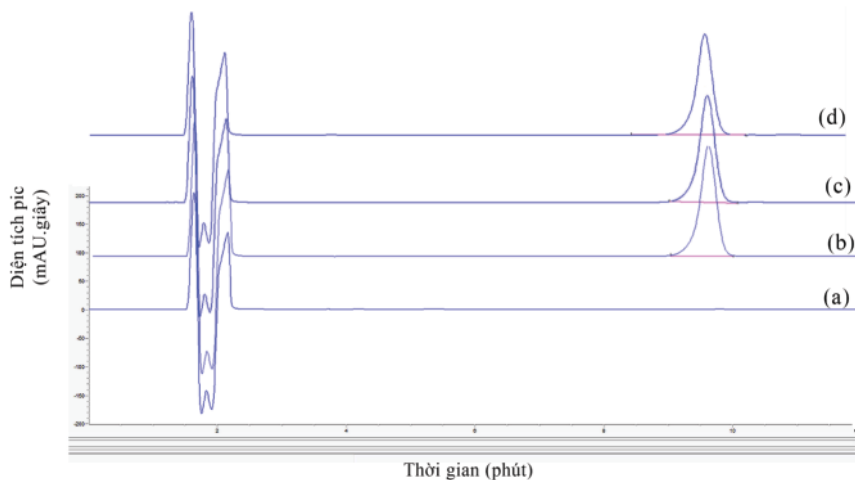
Lần bơm	t _R (phút)	S (mAU.giây)	A _s	N	Độ phân giải (R _s)
1	9.642	3,104.650	1.177	7,507	18.56
2	9.653	3,157.630	1.198	7,538	17.93
3	9.642	3,174.970	1.203	7,542	18.40

Lần bơm	t _R (phút)	S (mAU.giây)	A _s	N	Độ phân giải (R _s)
4	9.630	3,173.640	1.185	7,541	18.21
5	9.632	3,088.250	1.212	7,557	17.90
6	9.613	3,153.130	1.206	7,538	18.37
Trung bình	9.64	3,142.045	1.197	7,537.17	18.23
SD	0.014	36.72	0.013	16.39	0.267
RSD (%)	0.142	1.168	1.112	0.22	1.47

3.2.2. Tính đặc hiệu

Tính đặc hiệu được đánh giá bằng cách tiêm mẫu trắng, dung dịch chuẩn, mẫu nguyên liệu và mẫu vi nhũ tương chứa ETO vào hệ thống HPLC theo điều kiện tối ưu. Sắc ký đồ thu được được trình

bày ở Hình 2. Kết quả cho thấy không có pic tại thời gian lưu của etoricoxib trong mẫu trắng, trong khi mẫu nguyên liệu và thành phẩm trùng khớp với mẫu chuẩn, xác nhận tính đặc hiệu của phương pháp.



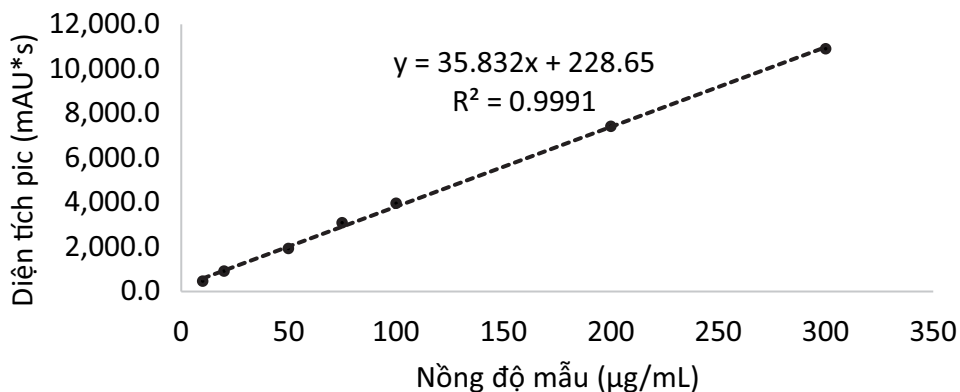
Hình 2. Sắc ký đồ HPLC-UV kiểm chứng tính đặc hiệu của phương pháp định lượng etoricoxib: (a) mẫu trắng; (b) chuẩn ETO ; (c) nguyên liệu ETO ; (d) VNT chứa ETO

3.2.3. Tính tuyến tính

Các dung dịch chuẩn được pha ở các nồng độ như trình bày trong Bảng 3 và phân tích bằng HPLC để thu thập các thông số sắc ký.

Bảng 3. Tương quan nồng độ và diện tích pic chuẩn etoricoxib

Nồng độ (µg/ mL)	10	20	50	75	100	200	300
Diện tích pic (mAU.giây)	463.1	906.3	1,931.0	3,087.1	3,959.2	7,407.0	10,900.0



Hình 3. Đồ thị mối tương quan tuyến tính giữa diện tích pic và nồng độ của mẫu chuẩn ETO

Kết quả phân tích tính tương quan bằng phần mềm MS Excel như sau:

Trắc nghiệm tính tương thích: $p = 9.45 \times 10^{-9} < 0.05 \rightarrow$ pt có tính tương thích.

Trắc nghiệm ý nghĩa của hệ số: $p = 0.025 < 0.05 \rightarrow$ hệ số a có ý nghĩa.

Hệ số tương quan của đường chuẩn là $R^2 = 0.9991$.

Như vậy, ở khoảng nồng độ 10 - 300 $\mu\text{g/mL}$ có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ và diện tích pic, với pt tuyến tính:

$$\hat{y} = 35.832x + 228.65$$

3.2.4. Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

Thông số LOD và LOQ được tính toán dựa trên độ lệch chuẩn của đáp ứng ($\sigma = 25.608$) và độ dốc của đường chuẩn ($S = 35.832$).

$$\text{LOD} = 3.3 \times \frac{\sigma}{S} = 11.80 \mu\text{g/mL};$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \frac{\sigma}{S} = 35.74 \mu\text{g/mL}$$

Kết quả thực nghiệm được trình bày trong Bảng 4 cho thấy giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) lần lượt là 10.0 $\mu\text{g/mL}$ và 20.0 $\mu\text{g/mL}$.

Bảng 4. Kết quả LOD và LOQ của mẫu chuẩn ETO thực nghiệm

C ($\mu\text{g/mL}$)	tR (phút)	S (mAU.giây)	As	N	Rs	S/N
10	10.448	463.1	1.249	7,760	18.70	7.0
20	10.456	906.3	1.085	7,690	18.56	11.9

Nhận xét: Sự phù hợp giữa LOD và LOQ thực nghiệm và lý thuyết khẳng định phương pháp có độ nhạy cao, đáp ứng yêu cầu phân tích ở nồng độ thấp.

chính xác trung gian ($n = 18$), với $\text{RSD} \leq 2.0\%$.

Kết quả trình bày trong Bảng 5, Bảng 6 cho thấy %etoricoxib nguyên liệu và trong vi nhũ tương nằm trong giới hạn cho phép (90.0 - 110.0%) và $\text{RSD} < 2\%$.

3.2.5. Độ chính xác

Độ chính xác được đánh giá qua độ lặp lại và độ

Kết luận: Phương pháp đạt độ chính xác.

Bảng 5. Kết quả độ chính xác đối với mẫu nguyên liệu chứa etoricoxib

Giá trị	KL nguyên liệu (mg)	S (mAU.giây)	Nồng độ ETO ($\mu\text{g/mL}$)	% ETO
Trung bình ($n = 18$)	10.173	3,800.417	99.681	99.58
SD	0.187	36.792	1.027	1.026
RSD (%)	1.842	0.968	1.03	1.03
Lớn nhất	10.6	3,874.7	101.8	101.7
Nhỏ nhất	9.8	3,744.2	98.1	98.0

Bảng 6. Kết quả độ chính xác đối với VNT chứa etoricoxib

Giá trị	KL cân VNT (g)	S (mAU.giây)	Nồng độ ETO ($\mu\text{g/mL}$)	% ETO
Trung bình ($n = 18$)	1.0093	3,834.3	100.6	99.70
SD	0.0114	44.85	1.25	0.010
RSD (%)	1.128	1.170	1.244	1.047
Lớn nhất	1.0455	3,945.6	103.7327	101.82
Nhỏ nhất	0.9955	3,783.4	99.2060	98.28

3.2.6. Độ đúng

Thực hiện phương pháp thêm chuẩn ở các mức 80%, 100%, 120% (mỗi mức 3 mẫu, tổng 9 lần tiêm)

để tính % phục hồi và đánh giá độ đúng. Kết quả đánh giá độ đúng nguyên liệu etoricoxib và VNT được trình bày trong Bảng 7.

Bảng 7. Kết quả độ đúng đối với nguyên liệu và VNT chứa etoricoxib

Giá trị	Nguyên liệu ETO	VNT ETO
Trung bình %ETO thu hồi ($n = 9$)	99.80%	99.76%
SD	0.0046	0.0051
RSD (%)	0.458%	0.509%
%ETO thu hồi lớn nhất	100.39%	100.44%
%ETO thu hồi nhỏ nhất	99.08%	98.98%

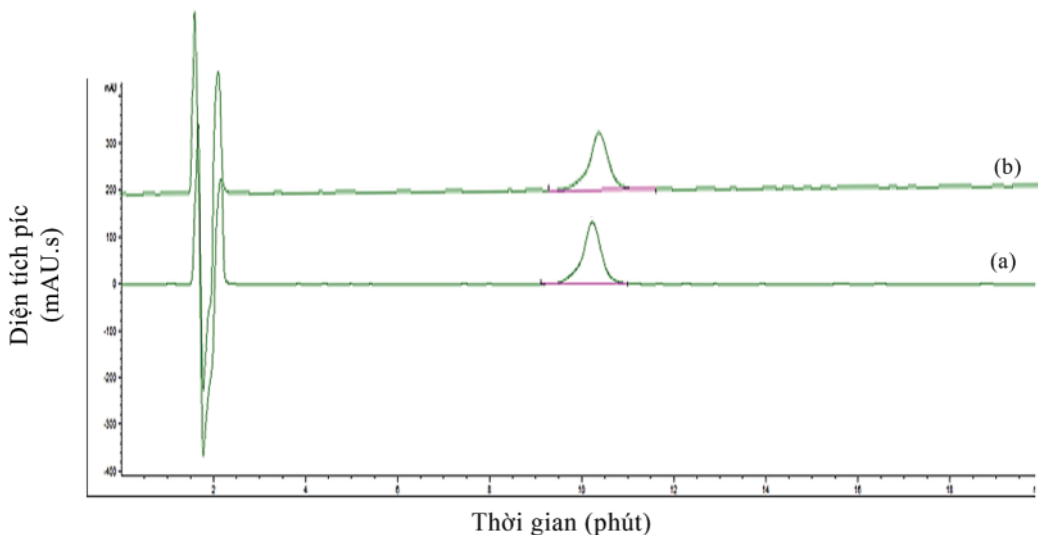
Nhận xét: Kết quả % phục hồi trung bình của nguyên liệu etoricoxib (99.80%) và VNT ETO (99.76%) đều nằm trong khoảng chấp nhận theo ICH Q2(R1). Giá trị RSD lần lượt là 0.458% và 0.509%, thấp hơn giới hạn 2.0%, cho thấy phương

pháp đạt yêu cầu về độ đúng theo hướng dẫn ICH. Tóm tắt, kết quả phân tích được thẩm định thông qua các chỉ tiêu gồm khoảng tuyến tính, LOD, LOQ, độ chính xác, độ đúng được trình bày trong Bảng 8.

Bảng 8. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính, LOD, LOQ, độ chính xác, độ đúng

Chỉ tiêu	Nguyên liệu ETO	VNT ETO
Phương trình hồi quy	$\hat{y} = 35.832x + 228.65$	
Khoảng tuyến tính	10 - 300 $\mu\text{g/mL}$, $R^2 = 0.9991$	
Giá trị LOD - LOQ	10 - 20 $\mu\text{g/mL}$	
Độ chính xác ($n = 18$), RSD	99.58% (1.03%)	99.70% (1.047%)
Độ đúng ($n = 9$), RSD	99.80% (0.458%)	99.76% (0.509%)

3.3. Ứng dụng quy trình phân tích etoricoxib trong định lượng nguyên liệu và thành phẩm



Hình 4. Sắc ký đồ của mẫu nguyên liệu và thành phẩm VNT ETO: (a) nguyên liệu; (b) VNT ETO

Mẫu nguyên liệu ETO và VNT được lấy ngẫu nhiên, áp dụng phương pháp đã nghiên cứu, kết quả phân tích định lượng lần lượt là 101.21% và 100.89%. Mẫu thêm 100% chuẩn đạt độ thu hồi lần lượt là 100.58% và 100.12%.

4. BÀN LUẬN

Tổng quan nghiên cứu Etoricoxib là hoạt chất kháng viêm được quan tâm rộng rãi với nhiều phương pháp định lượng bằng RP-HPLC đã được công bố. Các nghiên cứu của Sharma (2014) và El-Sayed Almosallamy đã thiết lập các quy trình sử dụng pha động hỗn hợp methanol-nước hoặc đệm phosphate kết hợp dung môi hữu cơ để phân tích hoạt chất này trong dạng viên nén và các công thức phối hợp [11, 12]. Năm 2023, Mukthinuthalapati Mathrusri Annapurna đã phát triển phương pháp HPLC định lượng etoricoxib trong viên nén sử dụng cột Agilent C18, pha động acid formic-acetonitril

(52:48, v/v), tốc độ dòng 0.8 mL/phút và bước sóng phát hiện 247 nm. Phương pháp thể hiện tính tuyến tính trong khoảng 0.5 - 100 $\mu\text{g/mL}$ ($R^2 = 0.9998$), với LOD và LOQ lần lượt là 0.1557 và 0.4791 $\mu\text{g/mL}$ [13]. Tuy nhiên, các công trình này chủ yếu tập trung vào đối tượng dược phẩm truyền thống, để lại một khoảng trống nghiên cứu về việc định lượng etoricoxib trong hệ mang thuốc vi nhũ tương. Điểm mới của nghiên cứu này nằm ở việc ứng dụng pha động chứa 0.1% acid formic, thay thế cho các hệ đệm phosphate hay ammonium truyền thống thường gây ra rủi ro kết tủa muối và tắc nghẽn hệ thống. Việc sử dụng acid formic không chỉ giúp ổn định pH, cải thiện độ đối xứng của pic sắc ký mà còn đảm bảo tính tương thích cao với cả đầu dò UV và MS, đồng thời kéo dài tuổi thọ cột thông qua quy trình vệ sinh đơn giản hơn. So với hệ dung môi methanol-nước trước đây, phương pháp cải tiến sử dụng acetonitrile-

nước (0.1% acid formic) theo tỷ lệ 20:80 (v/v) tại bước sóng 233 nm cho thời gian phân tích dưới 15 phút với tín hiệu sắc nét và ổn định. Kết quả thẩm định theo ICH Q2 (R1) cho thấy phương pháp đạt độ tin cậy cao với khoảng tuyến tính 10 - 300 µg/mL ($R^2 = 0.9991$), LOD và LOQ lần lượt là 10.0 và 20.0 µg/mL, độ thu hồi và độ lặp lại cao với $RSD \leq 2\%$, chứng tỏ phương pháp hoàn toàn đáp ứng yêu cầu thẩm định theo hướng dẫn ICH Q2 (R1).

5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Nghiên cứu đã phát triển và thẩm định thành công phương pháp RP-HPLC-UV để định lượng etoricoxib trong hệ vi nhũ tương theo hướng dẫn

ICH Q2 (R1). Phương pháp thể hiện độ tuyến tính tốt trong khoảng 10 - 300 µg/mL ($R^2 = 0.9991$), độ đúng và độ lặp lại cao ($RSD \leq 2\%$), cùng độ thu hồi đạt 98 - 102%. Việc sử dụng pha động acetonitril-nước thêm 0.1% acid formic cải thiện tính đối xứng pic, độ ổn định và tính thực tiễn trong vận hành. Phương pháp có tiềm năng mở rộng ứng dụng cho các hệ nano và tối ưu hóa thêm bằng kỹ thuật UHPLC.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng cấp kinh phí thực hiện dưới mã số đề tài GVTC18.58.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] P. Brooks and P. Kubler, "Etoricoxib for arthritis and pain management," *Ther Clin Risk Manag*, vol. 2, no. 1, pp. 45-57, 2006.

[2] B. Su and J. O'Connor, "NSAID Therapy Effects on Healing of Bone, Tendon, and the Enthesis,"

Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985), vol. 115, 2013.

[3] S. Vasava, N. Chotai, and H. Patel, "Formulation and evaluation of nanosuspension drug delivery system of etoricoxib," 2025.

[4] P. Rathi, M. Kale, S. Jagdale, and A. Jouyban, "Thermodynamic modeling and solubility behavior of etoricoxib in different mono-solvents at different temperatures," *Journal of Molecular Liquids*, vol. 432, p. 127748, 2025.

[5] S. Topalli, T. Chandrashekhar, and M. A. Mukthinuthalapati, "Validated RP-HPLC Method for the Assay of Etoricoxib (A Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug) in Pharmaceutical Dosage Forms - Topalli - 2012," *Journal of Chemistry - Wiley Online Library*, vol. 9, 2012.

[6] M. Alzweiri, M. Sallam, W. Al-Zyoud, and K. Aiedeh, "Stability Study of Etoricoxib a Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitor by a New Single and Rapid Reversed Phase HPLC Method," *Symmetry*, vol. 10, p. 288, 2018.

[7] S. Shahi *et al.*, "Development and validation of UV spectrophotometric method for the determination of etoricoxib in bulk and tablet

formulation," vol. 1, 2008.

[8] U. Mandal, S. Dharmalingam, A. Bose, K. Gowda, A. Ghosh, and T. Pal, "Development and validation of an HPLC method for analysis of etoricoxib in human plasma," *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 68, 2006. DOI: 10.1016/j.jchromb.2004.11.034

[9] V. R. Manish Kumar Thimmaraju, Hemanth. K, Siddartha.P, "RP HPLC method for the determination of Etoricoxib in bulk and pharmaceutical formulations " *Scholars Research Library*, vol. 3 (5), 2011.

[10] S. Shetgar, D. RamaDevi, R. Mallikarjuna, and K. Basavaiah, "RP-UPLC method development and validation for simultaneous estimation of Etoricoxib and Thiocolchicoside in tablets," *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2022.

[11] A. A. Bansal, "Development and validation of an analytical method for the estimation of etoricoxib tablets by Reverse Phase HPLC," *Journal of Pharma Research*, vol. 3, pp. 1-6, 2014.

[12] N. Alzaghal, G. O. El-sayed, and E.-S. J. B. J. o. A. S. Almosallamy, "HPLC validation and stress degradation behavior of Etoricoxib in tablets dosage form," 2023.

[13] D. M. M. Annapurna, "Development and Validation of a New Stability-indicating RP-HPLC Method for the Quantification of Etoricoxib in Tablets," *Asian Journal of Pharmaceutics (AJP)*, vol. 17, no. 03, 2023.

Development and validation of an HPLC assay for etoricoxib in active ingredient and microemulsion

Nguyen Hue Minh, Nguyen Huu Phuc

ABSTRACT

Background: Microemulsions are drug delivery systems that enhance the solubility of etoricoxib, a selective COX-2-inhibiting NSAID. Studies on HPLC methods employing an acetonitrile-water mobile phase containing 0.1% formic acid for the quantification of etoricoxib in microemulsion systems remain limited. Objective: To develop and validate an HPLC-UV method for the quantification of etoricoxib in bulk drug and microemulsion systems. Methods: The analysis was carried out on an Agilent 1200 HPLC system equipped with a Phenomenex C18 column (150 × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of acetonitrile and water, both containing 0.1% formic acid, in a ratio of 20:80 (v/v), with a flow rate of 1.0 mL/min. The injection volume was 10 μL, and detection was performed at a wavelength of 233 nm. The method was developed and validated in accordance with the ICH Q2 (R1) guidelines. Results: Etoricoxib exhibited a retention time of 9.64 minutes, with a linear calibration curve over the concentration range of 10 - 300 μg/mL ($R^2 = 0.9991$). The LOD and LOQ were 10.0 and 20.0 μg/mL, respectively. Recovery was 99.08 - 100.39% for the raw material and 98.98 - 100.44% for the microemulsion, with RSD ≤ 2%. Conclusion: The validated HPLC-UV method demonstrated acceptable accuracy and repeatability, allowing its application in the quality control of etoricoxib.

Keywords: etoricoxib, HPLC, NSAID, microemulsion

Received: 10/10/2025

Revised: 30/01/2026

Accepted for publication: 08/02/2026