

DOI: <https://doi.org/10.59294/HIUJS.KHTT.2026.025>

XÂY DỰNG PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG AMLODIPIN-LOSARTAN TRONG ĐỘ HÒA TAN VIÊN NÉN BẰNG HPLC GHÉP CẶP ION

Võ Sỹ Nhật¹, Tạ Minh Thu², Nguyễn Hữu Sơn^{2,*}

¹Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

²Khoa Dược, Trường Đại học Tôn Đức Thắng

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Viên nén amlodipine camsylate-losartan kali đang là thuốc được sử dụng rất phổ biến để điều trị tăng huyết áp. Tuy nhiên, việc định lượng đồng thời hai hoạt chất trong thử nghiệm độ hòa tan vẫn gặp nhiều khó khăn do tính ion hóa mạnh. Hiện nay, sự kết hợp này chỉ có trong biệt dược gốc nên rất cần xây dựng một phương pháp phân tích tham khảo cho những thuốc generic sau này. *Mục tiêu nghiên cứu:* Phát triển và thẩm định phương pháp HPLC pha đảo ghép cặp ion để định lượng đồng thời hai hoạt chất trong mẫu độ hòa tan theo hướng dẫn ICH. *Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:* Đối tượng là viên nén bao phim và mẫu dung dịch độ hòa tan. Phương pháp HPLC sử dụng cột Phenomenex Luna C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), nhiệt độ 45°C, tốc độ dòng 1.5 mL/phút, thể tích tiêm 10 μL. Pha động gradient gồm methanol và dung dịch 6 mmol/L natri 1-heptansulfonat monohydrat trong acid phosphoric 0.05%. Đầu dò UV tại 250 nm (losartan kali) và 362 nm (amlodipine). *Nghiên cứu phát triển và thẩm định đầy đủ theo ICH.* *Kết quả:* Phương pháp đạt tất cả chỉ tiêu thẩm định. Thuốc thử ghép cặp natri 1-heptansulfonat khắc phục tính ion hóa mạnh, cho phép phân tách và định lượng đồng thời chính xác. *Kết luận:* Quy trình HPLC pha đảo ghép cặp ion được xây dựng thành công, có giá trị ứng dụng cao trong phát triển, kiểm nghiệm và đăng ký thuốc tương đương chứa amlodipine camsylate-losartan kali.

Từ khóa: amlodipine camsylate, Losartan kali, HPLC-DAD, ion ghép cặp

DEVELOPMENT OF AN ION-PAIR HPLC METHOD FOR QUANTITATION OF AMLODIPINE AND LOSARTAN IN TABLET DISSOLUTION TESTING

Vo Sy Nhat, Ta Minh Thu, Nguyen Huu Son

ABSTRACT

Background: Fixed-dose tablets containing amlodipine camsylate and losartan potassium are among the most widely prescribed combination therapies for the management of hypertension. Nevertheless, the simultaneous determination of these two active pharmaceutical ingredients in dissolution testing remains challenging owing to their strong ionization properties. At present, this combination is available exclusively as the innovator product, thereby highlighting the urgent need to develop and validate a reference analytical method to support future generic product registration and quality control. *Objectives:* To develop and validate an ion-pair reversed-phase HPLC method for simultaneous determination of both actives in dissolution samples according to ICH guidelines. *Materials and methods:* The study used film-coated tablets and dissolution samples. HPLC was performed on a Phenomenex Luna C18 column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) at 45°C, flow rate 1.5 mL/min, and injection volume 10 μL. The gradient mobile phase consisted of methanol and 6 mmol/L

* Tác giả liên hệ: Nguyễn Hữu Sơn, Email: nguyenhuuson@tdtu.edu.vn

(Ngày nhận bài: 31/3/2026; Ngày nhận bản sửa: 10/4/2026; Ngày duyệt đăng: 13/4/2026)

sodium 1-heptanesulfonate monohydrate in 0.05% phosphoric acid. UV detection was at 250 nm (losartan potassium) and 362 nm (amlodipine). The method was fully developed and validated per ICH parameters. Results: The method satisfied all validation criteria. The ion-pairing reagent sodium 1-heptanesulfonate overcame strong ionization, enabling accurate simultaneous separation and quantification. Conclusion: The ion-pair reversed-phase HPLC procedure was successfully established and offers high application value in the development, quality control, and registration of generic drugs containing amlodipine camsylate-losartan potassium.

Keywords: *amlodipine camsylate, Losartan kali, HPLC-DAD, ion-pairing*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viên nén phối hợp amlodipine camsylate và losartan kali là một trong những phác đồ hiện đại, mang lại hiệu quả hạ huyết áp vượt trội so với đơn trị liệu. Amlodipine (thuộc nhóm chẹn kênh canxi dihydropyridine) tác động bằng cách ức chế dòng Ca^{2+} vào tế bào cơ trơn mạch máu, gây giãn mạch ngoại vi và mạch vành, giảm sức cản mạch ngoại vi và hạ huyết áp mà ít ảnh hưởng đến nhịp tim [1]. Losartan kali (thuộc nhóm chẹn thụ thể angiotensin II - ARB) cạnh tranh gắn vào thụ thể AT_1 , ức chế tác dụng co mạch và tiết aldosterone của angiotensin II, từ đó giảm giữ nước - muối, hạ huyết áp và có tác dụng bảo vệ thận, giảm protein niệu [2]. Sự phối hợp hai cơ chế khác nhau giúp tăng cường hiệu quả kiểm soát huyết áp, giảm liều từng thuốc, hạn chế tác dụng phụ (như phù chân do amlodipine) và bảo vệ tốt hơn các cơ quan đích [3].

Amlodipine camsylate là dạng muối mới của amlodipine, được phát triển từ acid camphorsulfonic (độc tính thấp, an toàn dược phẩm) nhằm khắc phục nhược điểm của amlodipine besylate (độ hòa tan và độ ổn định kém hơn) [4]. Đây là lần đầu tiên amlodipine camsylate được kết hợp với losartan kali trong thuốc gốc Cozaar XQ. Với thuốc gốc sắp hết hạn bảo hộ bản quyền và hiện chưa có chuyên luận chính thức trong Dược điển Việt Nam V, cùng với việc độ hòa tan là chỉ tiêu chất lượng quan trọng của thuốc rắn uống (đánh giá tốc độ và mức độ giải phóng hoạt chất), việc xây dựng phương pháp kiểm tra độ hòa tan trở nên bắt buộc trước khi đưa thuốc generic vào lưu hành.

Amlodipine camsylate tồn tại dưới dạng ion mang điện tích dương, còn losartan kali tồn tại dưới dạng ion mang điện tích âm trong pha động, nên phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao ghép cặp ion đã được xây dựng nhằm tạo phức hợp trung tính với các chất tạo cặp ion phù hợp, từ đó cho phép định lượng đồng thời hai hoạt chất này trong thử nghiệm độ hòa tan.

Vì vậy, nghiên cứu được tiến hành nhằm mục đích: Xây dựng quy trình định lượng amlodipine camsylate và losartan kali trong chỉ tiêu độ hòa tan của viên nén bao phim kết hợp, góp phần thúc đẩy năng lực tự chủ của ngành Dược Việt Nam trong xu hướng gia tăng sản xuất thuốc generic chất lượng cao.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Viên nén bao phim kết hợp amlodipine/losartan kali hàm lượng 5 mg/50 mg.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xây dựng quy trình chuẩn bị mẫu

Thực hiện hai quy trình chuẩn bị mẫu riêng biệt nhưng sử dụng cùng điều kiện sắc ký. Điều kiện hòa tan như ở Bảng 1.

Bảng 6. Điều kiện độ hòa tan

Điều kiện độ hòa tan	Amlodipine	Losartan kali
Thiết bị	Kiểu cánh khuấy	Kiểu cánh khuấy
Tốc độ	100 ± 5 vòng/ phút	75 ± 5 vòng/ phút
Môi trường hòa tan	900 mL dung dịch HCl 0.01 M	900 mL nước
Thời gian quay	30 phút	30 phút

Amlodipine

Dung dịch thử amlodipine: Tiến hành đo độ hòa tan trên 6 cốc, mỗi cốc cho 1 viên. Sau khoảng thời gian quy định, hút 5 mL dung dịch từ mỗi cốc và lọc qua màng lọc cellulose acetate (CA) 0.45 μm , tráng lọc và bỏ dịch lọc đầu.

Dung dịch chuẩn gốc amlodipine: Cân chính xác 8.71 mg amlodipine camsylate vào bình định mức 100 mL. Thêm 4 ml methanol và lắc đều đến khi tan, thêm HCl 0,01 M đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn làm việc amlodipine: Hút chính xác 10 mL dung dịch chuẩn gốc amlodipine vào bình định mức 100 mL, pha loãng bằng HCl 0.01 M đến vạch, lắc đều. Lọc qua màng lọc CA 0.45 μm , tráng vài mL dịch đầu.

Dung dịch tương thích hệ thống amlodipine: Cân chính xác 5.55 mg chuẩn losartan kali vào bình định mức 100 mL, thêm chính xác 10 mL dung dịch chuẩn gốc amlodipine. Thêm HCl 0.01 M đến vạch, lắc đều. Lọc qua màng lọc CA 0.45 μm , tráng vài mL dịch đầu.

Mẫu trắng: HCl 0.01 M được lọc qua màng lọc CA 0.45 μm .

Dung dịch placebo: Cân chính xác 357.5 mg placebo (tương ứng với lượng placebo trong 1 viên chế phẩm) và 50.0 mg chuẩn losartan kali vào bình định mức 100 mL. Cho HCl 0.01 M đến vạch, lắc đều và lọc qua màng lọc CA 0.45 μm , bỏ vài mL dịch lọc đầu.

Losartan kali

Dung dịch thử losartan kali: Tiến hành đo độ hòa tan trên 6 cốc, mỗi cốc cho 1 viên. Sau khoảng thời gian quy định, hút 5 mL dung dịch từ mỗi cốc và lọc qua màng lọc CA 0.45 μm ngay, tráng lọc và bỏ dịch đầu.

Dung dịch chuẩn gốc losartan kali: Cân chính xác 55.0 mg losartan kali vào bình định mức 100 mL, thêm nước đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn làm việc losartan kali: Hút chính xác 10 mL dung dịch chuẩn gốc vào bình định mức 100 mL, pha loãng bằng nước đến vạch, lắc đều. Lọc qua màng lọc CA 0.45 μm , tráng vài mL dịch đầu.

Dung dịch tương thích hệ thống losartan kali: Cân chính xác 0.86 mg amlodipine camsylate vào bình định mức 100 mL. Thêm 4 ml methanol và lắc đều đến khi tan. Thêm 10 mL dung dịch chuẩn gốc losartan kali, thêm nước đến vạch, lắc đều. Lọc qua màng lọc CA 0.45 μm , tráng vài mL dịch đầu.

Mẫu trắng: Nước được lọc qua màng lọc CA 0.45 μm .

Dung dịch placebo: Cân chính xác 357.5 mg placebo và 7.84 mg chuẩn amlodipine camsylate (tương đương 5 mg amlodipine) vào bình định mức 100 mL. Cho nước cất đến vạch, lắc đều và lọc qua màng lọc CA 0.45 μm , bỏ vài mL dịch lọc đầu.

2.2.2. Khảo sát điều kiện sắc ký

Hệ thống sắc ký: HPLC Agilent 1260 Infinity II. Cột sắc ký: Khảo sát các cột sắc ký pha đảo C8 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm) và C18 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm). Khảo sát để chọn bước sóng. Nhiệt độ buồng cột: Khảo sát các nhiệt độ buồng cột 37°C, 45°C, 60°C và không kiểm soát nhiệt độ. Khảo sát các trình sắc ký gradient và các thuốc thử ghép cặp ion: Sử dụng hệ dung môi gồm methanol kết hợp các dung dịch 6 mmol/L natri 1-hexanesulfonate monohydrate trong dung dịch H₃PO₄ 0.05% (v/v) và 6 mmol/L natri 1-heptanesulfonate monohydrate trong dung dịch H₃PO₄ 0.05 % (v/v). Tốc độ dòng: Khảo sát các tốc độ dòng 0.5 mL/phút, 1.0 mL/phút, 1.5 mL/phút. Thể tích tiêm: Khảo sát các thể tích tiêm 5 μL , 10 μL , 20 μL .

2.2.3. Thẩm định quy trình định lượng

Quy trình định lượng được thẩm định theo hướng dẫn của ICH, bao gồm các chỉ tiêu tính đặc hiệu,

tính phù hợp của hệ thống, tính tuyến tính, độ chính xác, độ đúng [1].

2.2.4. Xử lý số liệu

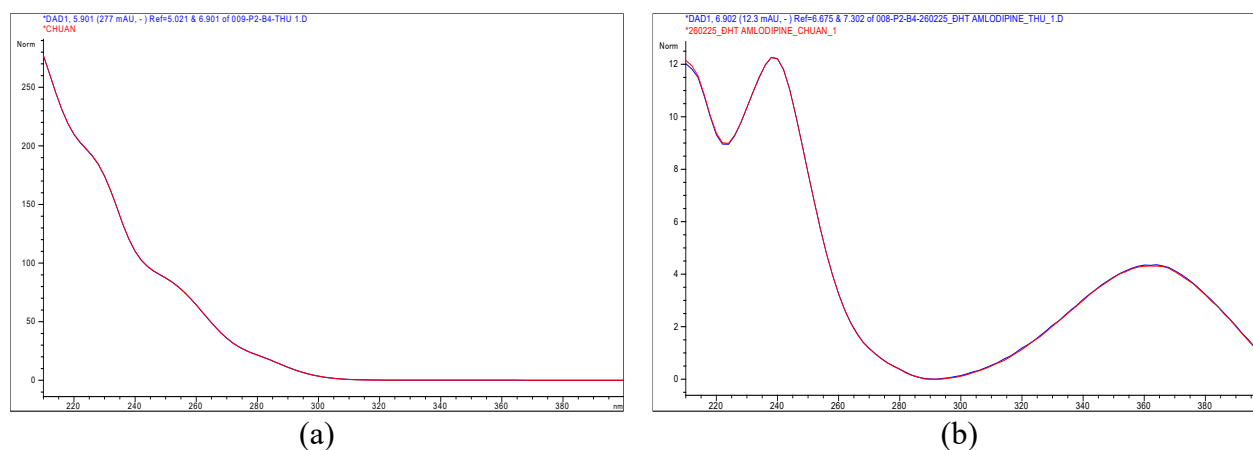
Số liệu được xử lý bằng Microsoft Excel.

3. KẾT QUẢ

3.1. Khảo sát điều kiện sắc ký

3.1.1. Khảo sát bước sóng

Dựa trên phổ UV của amlodipine và losartan kali và trong dung dịch chuẩn được trình bày ở Hình 1. Đối với viên nén kết hợp 2 hoạt chất phải chọn bước sóng hấp thu cực đại mà tại đó ít bị ảnh hưởng bởi độ hấp thu của hoạt chất còn lại để hạn chế hiện tượng chồng lấp phổ. Chọn bước sóng 362 nm cho amlodipine và bước sóng 250 nm cho losartan kali.



Hình 1. Phổ UV của dung dịch chuẩn (a) losartan kali và (b) amlodipine

3.1.2. Khảo sát cột sắc ký

Kết quả khảo sát cột sắc ký C8 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) và cột sắc ký C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) được trình bày trong Bảng 2.

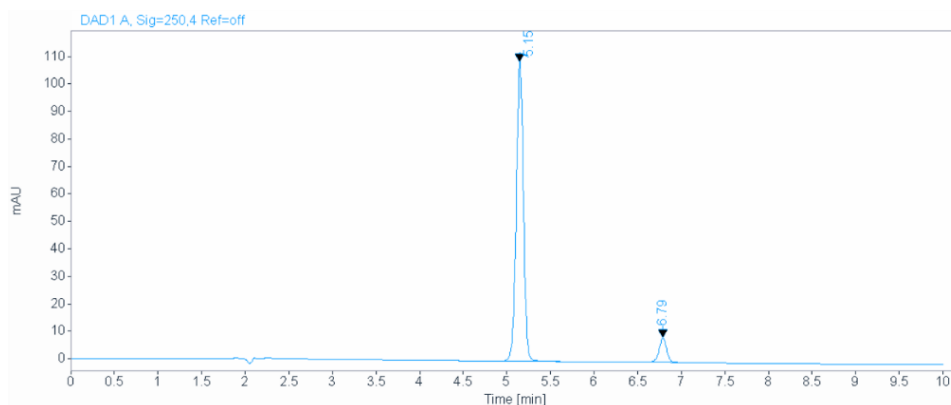
Bảng 2. Kết quả khảo sát cột sắc ký

		Cột C8	Cột C18
Pic amlodipine	t_R (phút)	6.790	7.142
	S_{pic}	54.20856	54.93679
	A_S	1.00	0.92
Pic losartan kali	t_R (phút)	5.150	5.876
	S_{pic}	622.54431	614.73291
	A_S	1.00	0.95
R_S		10.8	6.3

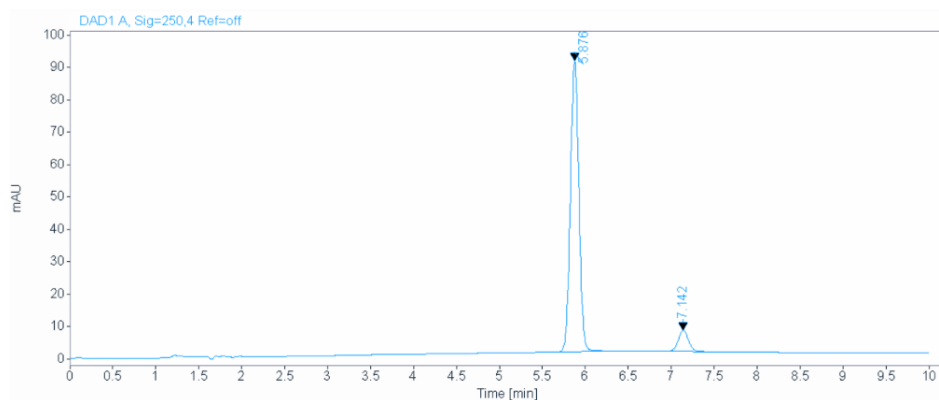
t_R : Thời gian lưu, S_{pic} : Diện tích pic, R_S : Độ phân giải, A_S : Hệ số đối xứng

Cả 2 cột đều đáp ứng yêu cầu độ phân giải giữa 2 pic hoạt chất ≥ 1.5 . Hệ số đối xứng của 2 pic hoạt chất khi sử dụng cả 2 cột đều nằm trong khoảng yêu cầu từ 0.8 - 1.5.

Chọn cột sắc ký tùy vào tính áp dụng thực tế và cột C18 phổ biến hơn cột C8 trong phân tích dược phẩm nên chọn cột pha đảo C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 μm) cho quy trình.



Cột C8



Cột C18

Hình 2. Sắc ký đồ khảo sát cột sắc ký

3.1.3. Khảo sát quy trình gradient

Độ phân giải là tiêu chí quan trọng. Yêu cầu độ phân giải của pic amlodipine và pic losartan kali phải ≥ 1.5 . Sau khi khảo sát, quy trình gradient tối ưu thu được theo Bảng 3.

Bảng 3. Quy trình gradient tối ưu

Thời gian (phút)	Dung dịch A (%)	Methanol (%)
0	45	55
4	35	65
8	35	65
8.1	45	55
10	45	55

3.1.4. Khảo sát thuốc thử ghép cặp ion

Bảng 4. Kết quả khảo sát thuốc thử ghép cặp ion natri 1-hexanesulfonate monohydrate

STT	t_R (phút)		S_{pic}		R_s
	Amlodipine	Losartan kali	Amlodipine	Losartan kali	
1	6.098	5.746	386.812	920.587	2.0
2	6.085	5.743	370.912	918.278	1.9
3	6.069	5.739	383.670	918.657	1.9
4	6.074	5.750	369.646	916.934	1.8
5	6.064	5.747	380.034	919.439	1.8
6	6.068	5.753	374.014	918.511	1.8
Trung bình	6.076	5.746	377.515	918.734	
RSD (%)	0.211	0.086	1.867	0.133	

Bảng 5. Kết quả khảo sát thuốc thử ghép cặp ion natri 1-heptanesulfonate monohydrate

STT	t_R (phút)		S_{pic}		R_s
	Amlodipine	Losartan kali	Amlodipine	Losartan kali	
1	7.101	5.708	369.494	930.143	7.4
2	7.095	5.710	369.240	926.926	7.4
3	7.096	5.716	369.515	927.612	7.3
4	7.099	5.716	370.143	928.951	7.4
5	7.091	5.716	369.351	928.862	7.3
6	7.095	5.72	369.841	926.026	7.3
Trung bình	7.096	5.714	369.597	928.087	
RSD (%)	0.003	0.004	0.336	1.510	

Cả 2 muối đều là các thuốc thử ghép cặp ion mang điện tích âm trong pha động, chỉ khác nhau về độ dài dây alkyl. Muối natri 1-heptanesulfonate monohydrate kỵ nước hơn nên có khả năng lưu giữ chất phân tích có điện tích trái dấu tốt hơn, do đó amlodipine mang điện tích dương khi tồn tại trong pha động, tạo thành cặp ion được lưu giữ trên pha tĩnh lâu hơn so với khi dùng muối natri 1-hexanesulfonate monohydrate. Vì vậy, làm tăng thời gian lưu pic amlodipine, đồng thời cải thiện độ phân giải giữa 2 pic của hoạt chất. Chọn thuốc thử ghép cặp ion natri 1-heptanesulfonate monohydrate.

3.1.5. Khảo sát tốc độ dòng

Bảng 6. Kết quả khảo sát tốc độ dòng

Tốc độ dòng (mL/ phút)		0.5	1.0	1.5
t_R (phút)	Amlodipine	-	9.677	7.133
	Losartan kali	-	8.052	5.868
S_{pic}	Amlodipine	-	79.462	56.352
	Losartan kali	-	937.739	615.259
A_s	Amlodipine	-	0.92	0.85
	Losartan kali	-	0.90	0.96
R_s		-	6.5	6.3

Tốc độ dòng 0.5 mL/phút: 2 hoạt chất amlodipine và losartan kali vẫn chưa được rửa giải ra khỏi cột. Tốc độ dòng 1 mL/phút: 2 pic của hoạt chất không kịp rửa giải hoàn toàn ra khỏi cột trong thời gian sắc ký 10 phút. Tốc độ dòng 1.5 mL/phút: 2 pic của hoạt chất được rửa giải hoàn toàn ra khỏi cột. Vì vậy, chọn tốc độ dòng 1.5 mL/phút cho quy trình.

3.1.6. Khảo sát thể tích tiêm

Bảng 7. Kết quả khảo sát thể tích tiêm

Thể tích tiêm (μ L)		5	10	20
t_R (phút)	Amlodipine	7.127	7.133	7.112
	Losartan kali	5.812	5.868	5.784
S_{pic}	Amlodipine	27.277	56.352	107.637
	Losartan kali	310.420	615.259	1249.102
A_s	Amlodipine	0.88	0.85	0.90
	Losartan kali	0.90	0.96	0.92
R_s		6.5	6.3	6.6

Cả 3 thể tích tiêm khảo sát đều có độ phân giải và hệ số đối xứng đạt yêu cầu. Chọn thể tích tiêm 10 μ L cho quy trình vì đây là thể tích thường dùng trong phân tích HPLC.

3.1.7. Khảo sát nhiệt độ buồng cột

Bảng 8. Kết quả khảo sát nhiệt độ buồng cột

Nhiệt độ (°C)		Không kiểm soát	37	45	60
t_R (phút)	Amlodipine	7.541	7.389	7.133	6.488
	Losartan kali	6.050	5.978	5.868	5.468
S_{pic}	Amlodipine	53.623	52.867	56.352	55.569
	Losartan kali	641.061	627.90	615.26	622.38
A_S	Amlodipine	0.89	0.90	0.85	0.81
	Losartan kali	0.88	0.89	0.96	0.92
R_S		6.8	6.5	6.3	5.9
Áp suất hệ thống (bar)		285	263	250	235

Tăng nhiệt độ buồng cột giúp làm giảm thời gian phân tích và giảm áp suất hệ thống. Chọn nhiệt độ buồng cột 45°C có áp suất ổn định cho hệ thống là 250 bar.

3.2. Thẩm định quy trình định lượng

3.2.1. Tính tương thích hệ thống

Tiến hành phân tích 6 lần dung dịch tương thích hệ thống amlodipine và 6 lần dung dịch tương thích hệ thống losartan kali. Kết quả được trình bày trong Bảng 9 và Bảng 10.

Bảng 9. Kết quả tương thích hệ thống amlodipine

STT	t _R (phút)	S _{pic}	A _S	R _S
1	7.015	35.59484	0.94	NA
2	6.990	35.71663	0.92	NA
3	7.009	35.61373	0.92	NA
4	7.076	34.62868	0.90	NA
5	7.069	35.12001	0.87	NA
6	7.052	35.29342	0.89	NA
TB	7.035	35.32789	0.91	
RSD (%)	0.50	1.16		

Bảng 10. Kết quả tương thích hệ thống losartan kali

STT	t _R (phút)	S _{pic}	A _S	R _S
1	5.865	614.59766	0.95	6.4
2	5.868	615.25983	0.96	6.3
3	5.876	614.73291	0.95	6.3
4	5.791	620.10925	0.86	6.3
5	5.802	615.51837	0.87	6.2
6	5.806	618.64545	0.85	6.2
TB	5.835	616.47725	0.91	6.3
RSD (%)	0.67	0.38		1.13

RSD của thời gian lưu và diện tích pic thu được từ các pic amlodipine và pic losartan kali đều $\leq 2.0\%$. Hệ số đối xứng của các pic amlodipine và losartan kali đều trong khoảng yêu cầu từ 0.8 đến 1.5. Vì vậy, cả 2 quy trình định lượng độ hòa tan đạt tương thích với hệ thống.

3.2.2. Tính đặc hiệu

Tiến hành phân tích dung dịch trắng, dung dịch thử độ hòa tan amlodipine và losartan kali, dung dịch chuẩn làm việc amlodipine và losartan kali, dung dịch placebo amlodipine và losartan kali. Kết quả

quả được trình bày trong Bảng 11 (cột trái).

Kết quả thu được phương trình hồi quy $y = 6.2841x + 0.1569$ với hệ số tương quan $R = 0.9999$. Đánh giá tính tương thích của phương trình hồi quy và ý nghĩa của các hệ số a và b với độ tin cậy 95%. Significance F = 0.0000000082 < 0.05 nên phương trình hồi quy tương thích.

Losartan kali

Đánh giá tính tuyến tính qua 6 nồng độ khác nhau nằm trong khoảng xác định từ 25% đến 150%. Kết quả được trình bày trong Bảng 11 (cột phải).

Kết quả thu được phương trình hồi quy $y = 11.171x + 10.173$ với hệ số tương quan $R = 0.9996$. Đánh giá tính tương thích của phương trình hồi quy và ý nghĩa của các hệ số a và b với độ tin cậy 95%. Significance F = 0.00000018 < 0.05 nên phương trình hồi quy tương thích.

Vì vậy, quy trình đạt tính tuyến tính.

Bảng 11. Kết quả tính tuyến tính amlodipine

STT	Mẫu	Nồng độ amlodipine ($\mu\text{g}/\text{mL}$) - x	$S_{pic} - y$
1	25 %	1.23	8.04613
2	50 %	2.45	15.52383
3	75 %	3.68	23.20539
4	100 %	4.91	30.71785
5	125 %	6.14	38.86185
6	150 %	7.36	46.51794
$y = 6.2841x + 0.1569$ với $R = 0.9999$			
P-value hệ số a = 0.0000000082 < 0.05 nên hệ số a có ý nghĩa thống kê.			
P-value hệ số b = 0.44 > 0.05 nên hệ số b không có ý nghĩa thống kê.			

Bảng 12. Kết quả tính tuyến tính Losartan kali

STT	Mẫu	Nồng độ losartan kali ($\mu\text{g}/\text{mL}$) - x	$S_{pic} - y$
1	25 %	13.77	167.74635
2	50 %	27.53	308.07986
3	75 %	41.30	482.88574
4	100 %	55.07	618.91937
5	125 %	68.84	777.71606
6	150 %	82.60	935.29053
$y = 11.171x + 10.173$ với $R = 0.9996$			
P-value hệ số a = 0.00000018 < 0.05 nên hệ số a có ý nghĩa thống kê.			
P-value hệ số b = 0.26 > 0.05 nên hệ số b không có ý nghĩa thống kê.			

3.2.4. Độ chính xác (độ lặp lại, độ chính xác trung gian)

Thử nghiệm độ chính xác được thực hiện bằng cách so sánh hàm lượng amlodipine và losartan kali được xác định trong hai ngày khác nhau bởi các kiểm nghiệm viên khác nhau. Kết quả trình bày trong Bảng 13 cho thấy giá trị RSD trong ngày và giữa các ngày của cả hai chất đều nhỏ hơn hoặc bằng 2.0%. Do đó, phương pháp được xây dựng có độ chính xác đạt yêu cầu khi thực hiện trong hai ngày.

Bảng 13. Kết quả khảo sát độ chính xác

	Lần	Hàm lượng	
		Amlodipine	Losartan kali
Kết quả	1	96.1	94.38
	2	96.2	95.08
	3	97.12	96.22
	4	98.73	96.78
	5	98.99	97.92
	6	100.8	98.62
Độ lặp lại (n = 6)	Trung bình	97.99	96.50
	RSD (%)	1.88	1.68
Kết quả	7	94.55	94.50
	8	94.98	94.70
	9	95.63	94.90
	10	96.14	95.10
	11	96.47	95.30
	12	97.45	95.50
Độ chính xác trung gian (n = 12)	Trung bình	96.93	95.75
	RSD (%)	1.59	1.43

3.2.5. Độ đúng

Độ đúng của phương pháp được đánh giá bằng cách thêm vào mẫu placebo một lượng chính xác của mỗi chất chuẩn tương ứng. Chuẩn bị các mức theo bảng, mỗi mức thực hiện 3 mẫu riêng biệt. Sau đó, dung dịch mẫu thử được chuẩn bị theo quy trình đã xây dựng. Kết quả phép thử độ đúng được trình bày trong Bảng 14.

Bảng 14. Kết quả khảo sát độ đúng

Mức	Amlodipine			Losartan kali		
	Tỷ lệ thu hồi (%)	Trung bình (%)	RSD (%)	Tỷ lệ thu hồi (%)	Trung bình (%)	RSD (%)
25% (n = 3)	101.11	99.39	1.50	101.20	101.06	0.14
	98.53			100.91		
	98.53			101.06		
50% (n = 3)	98.95	98.46	0.44	98.65	98.75	0.22
	98.29			99.00		
	98.13			98.61		
75% (n = 3)	98.97	98.50	0.41	99.38	100.25	1.20
	98.33			99.75		
	98.21			101.63		
100% (n = 3)	99.04	98.98	0.55	99.87	100.00	0.91
	98.41			100.97		
	99.49			99.17		
125% (n = 3)	99.23	98.43	0.70	101.10	100.72	0.38
	98.00			100.74		
	98.07			100.33		
150% (n = 3)	98.66	98.82	0.16	101.13	101.56	0.37
	98.83			101.80		
	98.97			101.75		

Kết quả phép thử độ đúng được trình bày cho thấy tỷ lệ thu hồi của amlodipine và losartan kali nằm

trong khoảng 98 - 102%, với giá trị RSD nhỏ hơn 2.0%.

3.2.5. Khoảng xác định

Dựa theo dữ liệu về độ đúng và tính tuyến tính, khoảng xác định của phương pháp cho amlodipine là 1.23 $\mu\text{g/mL}$ - 7.36 $\mu\text{g/mL}$, cho losartan kali là 13.77 $\mu\text{g/mL}$ - 82.60 $\mu\text{g/mL}$.

4. BÀN LUẬN

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao ghép cặp ion pha đảo đã được xây dựng và thẩm định nhằm khắc phục hạn chế về khả năng lưu giữ của hai hoạt chất trên pha tĩnh kém phân cực. Amlodipine camsylate tồn tại dưới dạng ion mang điện tích dương của base yếu, trong khi losartan kali tồn tại dưới dạng ion mang điện tích âm của acid yếu trong pha động. Cả hai hoạt chất này đều có tính chất ion trái ngược, nên tương tác yếu với pha tĩnh C18, dẫn đến thời gian lưu ngắn và bị rửa giải sớm khỏi cột. Do đó, kỹ thuật sắc ký ghép cặp ion đã được lựa chọn kết hợp với RP-HPLC, sử dụng natri 1-heptanesulfonate monohydrat làm tác nhân ghép cặp ion. Khi bổ sung natri 1-heptanesulfonate monohydrat vào pha động, chuỗi alkyl kỵ nước của tác nhân tương tác mạnh với pha tĩnh C18 kém phân cực, trong khi nhóm sulfonat mang điện tích âm hướng ra ngoài để ghép cặp ion với amlodipine cation mang điện tích dương trong pha động, hình thành cặp ion trung tính có khả năng lưu giữ tốt trên pha tĩnh RP-HPLC. Ngược lại, ion mang điện tích âm của losartan có cùng dấu điện tích với nhóm sulfonate của chất tạo cặp ion, nên không hình thành phức hợp mà bị đẩy theo lực tĩnh điện và được rửa giải ra khỏi cột sớm hơn amlodipin. Nhờ đó, quy trình phân tích sử dụng natri 1-heptanesulfonate monohydrat cho phép đạt thời gian sắc ký nhanh chóng, đáp ứng yêu cầu kiểm nghiệm chất lượng.

Một hạn chế cần lưu ý của phương pháp là muối natri 1-heptanesulfonate monohydrat có đuôi alkyl kỵ nước mạnh, khiến tác nhân này khó được rửa trôi hoàn toàn khỏi cột sắc ký sau khi phân tích. Do đó, cần thực hiện quy trình rửa cột kỹ lưỡng và có hệ thống sau mỗi chu kỳ phân tích nhằm tránh hiện tượng nhiễm chéo và duy trì hiệu suất cột lâu dài.

5. KẾT LUẬN

Đề tài xây dựng thành công quy trình định lượng độ hòa tan thành phẩm cho 2 hoạt chất trong viên nén bao phim kết hợp amlodipine/losartan kali hàm lượng 5 mg/50 mg bằng cách sử dụng thuốc thử ghép cặp ion là natri 1-heptanesulfonate. Các chỉ tiêu thẩm định phương pháp đạt yêu cầu. Đề tài nghiên cứu ứng dụng phương pháp sắc ký ghép cặp ion vào kỹ thuật HPLC giúp mở rộng phạm vi ứng dụng của sắc ký pha đảo, đặc biệt với các hoạt chất thuốc có đặc tính ion hóa mạnh có khả năng lưu giữ kém trên cột pha tĩnh kém phân cực. Quy trình đã xây dựng là cơ sở để xây dựng các phương pháp kiểm nghiệm trong tiêu chuẩn thành phẩm của các thuốc generic kết hợp 2 hoạt chất này trong tương lai, mở ra hướng đi về kiểm nghiệm chất lượng các chế phẩm viên nén có chứa dạng muối amlodipine camsylate.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bộ Y tế, “Amlodipine” in Dược thư quốc gia Việt Nam, Hà Nội, Việt Nam: Nhà xuất bản Y học, 2022, pp. 203-204.
- [2] Bộ Y tế, “Losartan” in Dược thư quốc gia Việt Nam, Hà Nội, Việt Nam: Nhà xuất bản Y học, 2022, pp. 1057-1059.
- [3] J. W. Shin, H. M. Kwon, J. S. Lim, Y. H. Hong, Y. S. Lee, and H. Nam, “Comparison of the effects of amlodipine and losartan on blood pressure and diurnal variation in hypertensive stroke patients: A prospective, randomized, double-blind, comparative parallel study,” *Clin. Ther.*, vol. 35, pp. 1975-1982, 2013.
- [4] European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, “Amlodipine Besilate,” in European Pharmacopoeia 11.0, Strasbourg, France: EDQM, 2022.

- [5] Cục Quản lý Dược - Bộ Y tế, “Phụ lục 8: Thảm định quy trình phân tích bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC-DAD),” Sổ tay hướng dẫn đăng ký thuốc, Hà Nội, Việt Nam, 2018.
- [6] AOAC International, “Appendix F: Guidelines for standard method performance requirements” in Official Methods of Analysis of AOAC International, Rockville, MD, USA, 2016.
- [7] International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (2005) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1).
- [8] United States Pharmacopeial Convention, “General chapter <1092> The dissolution procedure: Development and validation” in United States Pharmacopeia 44-National Formulary 39, Rockville, MD, USA, 2025.