

# Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng pantoprazol chứa trong vi cầu tan tại ruột bằng phương pháp UV-VIS

Nguyễn Huệ Minh\*, Nguyễn Thị Mai và Nguyễn Hữu Phúc  
 Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

## TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** Pantoprazol thuộc nhóm thuốc ức chế bơm proton  $H^+/K^+ - ATPase$  là giải pháp hiệu quả để điều trị các bệnh lý liên quan đến rối loạn sự tiết acid ở đường tiêu hóa, không ổn định trong dịch vị dạ dày [1 - 2]. Nhóm nghiên cứu đã bào chế được vi cầu pantoprazol tan trong ruột [3]. **Mục tiêu đề tài:** xây dựng và thẩm định quy trình định lượng pantoprazol qua 2 môi trường pH 1.2 và 6.8 là điều cần thiết để định lượng và thử hòa tan. **Đối tượng:** Các vi cầu pantoprazol được bao bọc bởi alginate và Eudragit L100 được nhóm nghiên cứu bào chế có khả năng chống chịu acid và giải phóng dược chất trong môi trường đệm pH 6.8 [3]. **Phương pháp nghiên cứu:** xây dựng và thẩm định quy trình định lượng pantoprazol trong vi cầu pantoprazol bằng phương pháp quang phổ tử ngoại khả kiến ở môi trường pH 1.2 với bước sóng hấp thụ cực đại là 331 nm và pH 6.8 với bước sóng hấp thụ cực đại là 288 nm. **Kết quả:** Đã xây dựng và thẩm định quy trình định lượng pantoprazol trong vi cầu pH 6,8 và môi trường pH 1.2 đạt yêu cầu thẩm định theo một số chỉ tiêu ICH 2005.

**Từ khóa:** vi cầu, pantoprazol, UV-Vis, pH 1,2, pH 6,8

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Pantoprazol thuộc nhóm thuốc ức chế bơm proton  $H^+/K^+ - ATPase$  là giải pháp hiệu quả để điều trị các bệnh lý liên quan đến rối loạn sự tiết acid ở đường tiêu hóa, không ổn định trong dịch vị dạ dày nên nhóm nghiên cứu đã bào chế được vi cầu microsphere tan trong ruột chứa pantoprazol [3]. Mục tiêu đề tài: xây dựng và thẩm định quy trình định lượng pantoprazol trong vi cầu ở môi trường pH 1.2 và pH 6.8. Bằng phương pháp đo UV là cần thiết để đáp ứng tiêu chuẩn kiểm nghiệm cho sản phẩm pantoprazol chứa trong vi cầu về tiêu chuẩn định lượng và độ hòa tan.

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng và vật liệu nghiên cứu

**Nguyên liệu:** Các vi cầu pantoprazol được bao bọc bởi alginate và Eudragit L100 được nhóm nghiên cứu bào chế có khả năng chống chịu acid và giải phóng dược chất trong môi trường đệm pH 6.8 [1].

**Dung môi, hóa chất và chất chuẩn:** Natri

pantoprazol sesquihydrat (Mac-Chem Product - USP41),  $KH_2PO_4$  (Việt Nam), NaOH (Việt Nam), HCl (Trung Quốc), Methanol (Trung Quốc). Tất cả đạt tiêu chuẩn phân tích.

**Trang thiết bị:** Bếp cách thủy (Memmert - Đức), bể siêu âm (Sonorex RK 510H - Đức), Cân kỹ thuật (Sartorius Te 412 - Đức), cân phân tích (Sartorius CPA 2245 - Đức), máy đo pH (Seven Excellence AG8603 - Thụy Sĩ), Máy đo quang phổ UV-Vis (Shimadzu UV-1800 - Nhật Bản), Máy khuấy đũa (Heidolph RZR 2051 - Đức).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng pantoprazol chứa trong vi cầu và dịch thử hòa tan trong môi trường ở pH 6,8

##### 2.2.1.1. Xây dựng quy trình định lượng

Khảo sát bước sóng hấp thụ cực đại trong môi trường pH 6.8 với cốc đo 1 cm.

Xây dựng quy trình định lượng bằng phương pháp đo UV-Vis.

Tác giả liên hệ: Nguyễn Huệ Minh

E-mail: [minhnh@hiu.vn](mailto:minhnh@hiu.vn)

Chuẩn bị mẫu:

Dung dịch đệm phosphat pH 6.8: hòa tan 6.8 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  và 0.9 g NaOH trong 1000 mL nước cất, điều chỉnh pH  $6.8 \pm 0.05$  bằng HCl 2 N hoặc NaOH 2 N.

Dung dịch chuẩn gốc: Cân chính xác khoảng 40 mg pantoprazol chuẩn cho vào bình định mức 100 mL. Thêm 10 mL dung dịch NaOH 0,1 N, hòa tan hoàn toàn. Thêm dung dịch đệm phosphat pH 6,8 đến vạch, lắc đều, thu được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ khoảng 400  $\mu\text{g/mL}$ , từ dung dịch chuẩn gốc pha 6 dung dịch chuẩn có nồng độ lần lượt là 4  $\mu\text{g/mL}$ , 8  $\mu\text{g/mL}$ , 16  $\mu\text{g/mL}$ , 24  $\mu\text{g/mL}$ , 32  $\mu\text{g/mL}$ , 40  $\mu\text{g/mL}$  trong đệm pH 6.8.

Mẫu thử: Nghiền mịn vi cầu chứa pantoprazol và cân chính xác khoảng 100 mg bột (tương đương khoảng 2.4 mg pantoprazol) cho vào bình định mức 50 mL, thêm 5 mL NaOH 0.1 N, siêu âm 45 phút, để nguội, sau đó thêm vừa đủ thể tích 50 mL bằng đệm pH 6.8, lắc đều, lọc qua giấy lọc milipore 0,45  $\mu\text{m}$ . Hút chính xác 5 mL dịch lọc cho vào bình định mức 10 mL và bổ sung thể tích đến vạch bằng đệm pH 6.8. Đo độ hấp thu ở bước sóng 288 nm.

Mẫu giả dược: thay lượng vi cầu pantoprazol bằng chính xác khoảng 100 mg các tá dược tương ứng tỷ lệ (không chứa pantoprazol).

Phần trăm hàm lượng pantoprazol trong vi cầu microsphere được tính theo công thức:

$$X (\%) = \frac{A_T}{a \times m_c \times 1000} \times D_t \times 50 \times 100$$

Trong đó:

$A_T$ : Độ hấp thu dung dịch mẫu thử

a: Hệ số góc phương trình đường tuyến tính

$D_t$ : Độ pha loãng dung dịch mẫu thử

50: Thể tích môi trường hòa tan (mL)

$m_c$ : Khối lượng cân thực tế (mg)

#### 2.2.1.2. Thẩm định quy trình định lượng

Theo hướng dẫn của ICH Q2R1 (2005), bao gồm khảo sát tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính, độ chính xác, độ đúng [4].

**Tính tương thích hệ thống:** Tiến hành đo 6 lần mẫu chuẩn có nồng độ 24  $\mu\text{g/mL}$ . Ghi nhận giá trị độ hấp thu mẫu đo. Giá trị RSD (%) hàm lượng 6 lần đo lặp lại không quá 2.0%.

**Tính đặc hiệu:** Quét phổ UV xác định  $\lambda_{\text{max}}$  mẫu

placebo, mẫu chuẩn, mẫu thử. Ghi nhận phổ UV của mẫu thử có  $\lambda_{\text{max}}$  tương tự  $\lambda_{\text{max}}$  mẫu chuẩn; mẫu placebo không có độ hấp thu tại  $\lambda_{\text{max}}$  đó.

**Tính tuyến tính:** Pha loãng dung dịch chuẩn gốc bằng đệm phosphat pH 6.8 thành các dung dịch có nồng độ 4-40  $\mu\text{g/mL}$ . xây dựng phương trình hồi quy giữa nồng độ và độ hấp thu, xác định hệ số tương quan  $R^2 \geq 0.995$ .

**Độ chính xác:** Đo độ hấp thu của 6 mẫu thử có nồng độ khoảng 24  $\mu\text{g/mL}$  như mô tả, ghi nhận kết quả. Giá trị RSD (%) của hàm lượng 6 mẫu thử không quá 2.0%.

**Độ đúng:** Thêm vào mẫu thử một lượng chất chuẩn có hàm lượng bằng 80%, 100% và 120% hàm lượng pantoprazol có trong mẫu thử. Mỗi mẫu thực hiện 3 lần, xác định hàm lượng bằng phương pháp dự kiến và tính tỷ lệ phục hồi. Phương pháp đạt độ đúng khi tỷ lệ phục hồi nằm trong khoảng 98-102% và  $RSD \leq 2.0\%$ .

#### 2.2.2. Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng pantoprazol trong vi cầu ở môi trường acid pH 1.2

Dung dịch chuẩn gốc: Cân chính xác khoảng 20 mg pantoprazol chuẩn cho vào bình định mức 100 mL. Thêm 10 mL dung dịch NaOH 0.1 N, hòa tan hoàn toàn. Thêm dung dịch đệm HCl pH 1.2 đến vạch, lắc đều thu được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ khoảng 200  $\mu\text{g/mL}$ . Từ dung dịch chuẩn gốc pha 6 dung dịch chuẩn có nồng độ lần lượt là 2  $\mu\text{g/mL}$ , 4  $\mu\text{g/mL}$ , 6  $\mu\text{g/mL}$ , 8  $\mu\text{g/mL}$ , 10  $\mu\text{g/mL}$ , 12  $\mu\text{g/mL}$  trong đệm pH 1.2.

Mẫu chuẩn nồng độ 8  $\mu\text{g/mL}$  pha trong đệm HCl pH 1.2. Tiến hành đo liên tiếp 6 lần mẫu chuẩn nồng độ 8  $\mu\text{g/mL}$ . Tính giá trị RSD (%) của các thông số xác định tính tương thích hệ thống. Tính tuyến tính thực hiện với nồng độ chuẩn 2 - 12  $\mu\text{g/mL}$ , xây dựng phương trình hồi quy và hệ số tương quan  $R^2$ . Độ đúng được xác định bằng tỷ lệ phục hồi của các giá trị tìm thấy với giá trị thực thêm vào mẫu thử với tỷ lệ 80%, 100% và 120%. Tỷ lệ phục hồi nằm trong khoảng 98-102%. Tính đặc hiệu: Quét phổ UV xác định  $\lambda_{\text{max}}$  mẫu placebo, mẫu chuẩn, mẫu thử hòa tan, ghi nhận kết quả, yêu cầu: Phương pháp đạt tính đặc hiệu khi phổ UV của mẫu thử có  $\lambda_{\text{max}}$  tương tự  $\lambda_{\text{max}}$  mẫu chuẩn; mẫu placebo không có độ hấp thu tại  $\lambda_{\text{max}}$  đó. Độ chính xác đo độ hấp thu của 6 mẫu

thử độ hòa tan sau 2 giờ, ghi nhận kết quả. Tính RSD (%) của hàm lượng 6 mẫu thử, yêu cầu:  $RSD (\%) \leq 2.0\%$ .

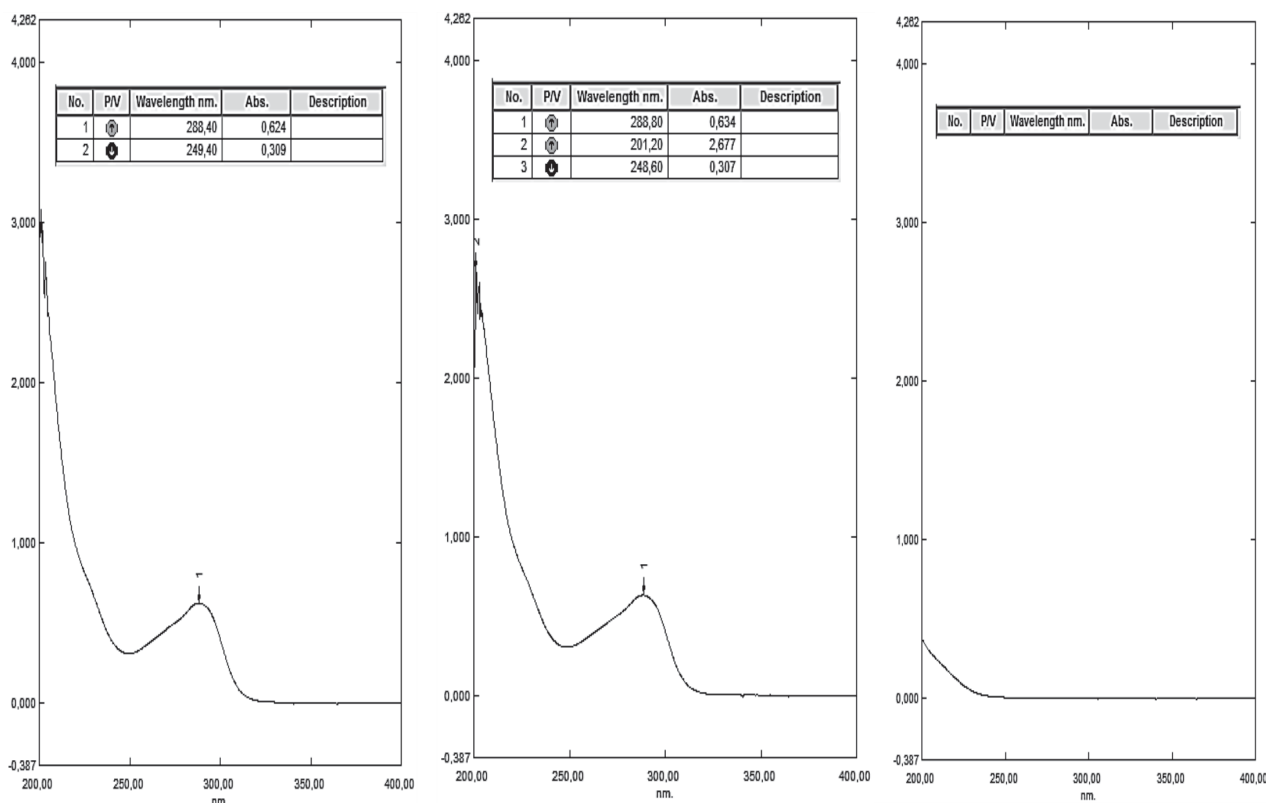
### 3. KẾT QUẢ

#### 3.1. Thẩm định quy trình định lượng pantoprazol chứa trong vi cầu ở pH 6,8

- Tính tương thích hệ thống được trình bày trong Bảng 1:  $RSD (\%) = 0.85\%$ . Như vậy, quy trình đạt tính tương thích hệ thống.
- Tính đặc hiệu được trình bày trong Hình 1: phổ UV của mẫu thử từ chế phẩm có đỉnh hấp thụ tại bước sóng 288 nm tương tự mẫu chuẩn, độ hấp thụ của mẫu giả dược không đáng kể. Quy trình đạt tính đặc hiệu:
- Tính tuyến tính: kết quả xây dựng đường tính tuyến tính pantoprazol trong vi cầu ở pH 6.8 được trình bày trong Bảng 2 và Hình 2.

**Bảng 1.** Kết quả tính tương thích hệ thống

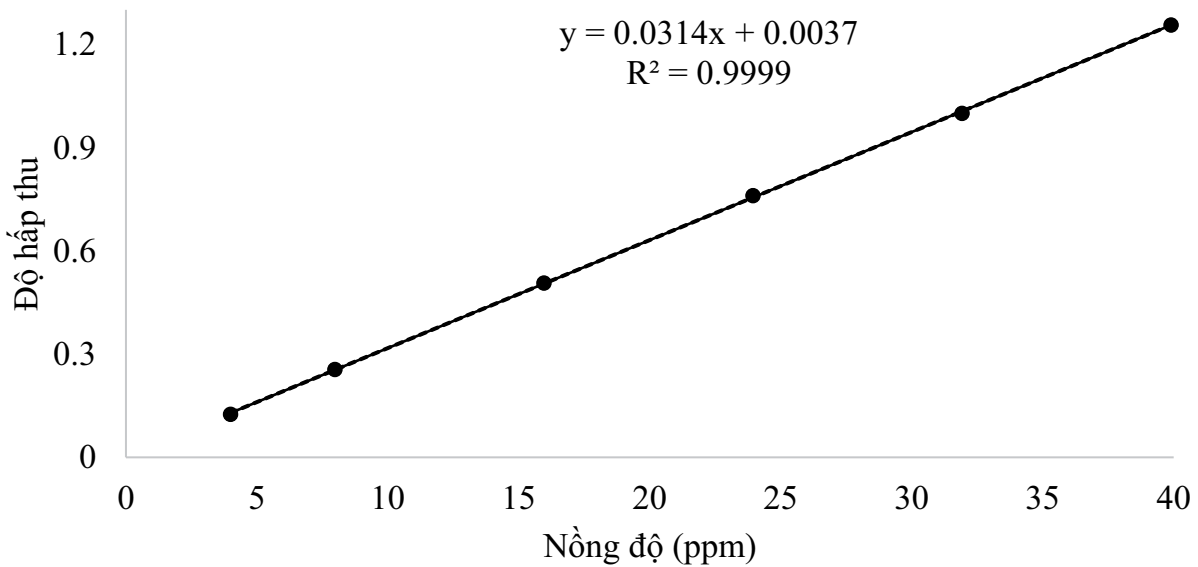
Lần đo mẫu	Độ hấp thụ A
1	0.7718
2	0.7623
3	0.7607
4	0.7692
5	0.7547
6	0.7689
<b>Trung bình</b>	0.7646
<b>SD</b>	0.00648
<b>RSD</b>	<b>0.85%</b>



**Hình 1.** Phổ UV lần lượt của mẫu thử, mẫu chuẩn và mẫu giả dược ở pH 6.8

**Bảng 2.** Số liệu tính tuyến tính của quy trình hồi quy định lượng pantoprazol trong vi cầu ở pH 6.8

Nồng độ (µg/mL)	4	8	16	24	32	40
Độ hấp thụ	0.1257	0.2552	0.5064	0.7603	0.9992	1,256.7



**Hình 2.** Đồ thị biểu diễn tương quan nồng độ pantoprazol và độ hấp thụ trong pH 6.8

Nhận xét: sử dụng trắc nghiệm F để kiểm tra tính tương thích của phương trình hồi quy và trắc nghiệm t để kiểm tra ý nghĩa của hệ số  $b_1$ .  
 Kết quả: phương trình  $\hat{y} = 0.0314x + 0.0037$  là

tương thích, hệ số  $b_1$  có ý nghĩa ( $p > 0.05$ ), hệ số  $b_0$  không có ý nghĩa ( $p < 0.05$ ).

- Độ chính xác được trình bày trong Bảng 3

**Bảng 3.** Kết quả độ chính xác

Mẫu thử	Độ hấp thụ	Nồng độ (ppm)	% hàm lượng pantoprazol	Kết quả (n = 6)
1	0.7353	23.42	2.34	TB = 2.32 RSD = 1.07
2	0.7189	22.89	2.28	
3	0.7356	23.43	2.34	
4	0.7282	23.19	2.31	
5	0.7348	23.40	2.34	
6	0.7323	23.32	2.32	

Nhận xét: RSD (%) của phần trăm hàm lượng pantoprazol < 2.0%. Do đó, quy trình định

lượng pantoprazol trong chế phẩm bằng phương pháp UV đạt độ chính xác.

- Độ đúng được trình bày trong Bảng 4

**Bảng 4.** Kết quả độ đúng

Mẫu	Mức hàm lượng	Lượng thêm vào (mg)	Lượng tìm thấy (mg)	Tỷ lệ phục hồi (%)	TB (%)
1	80%	16.2	15.9	98.14	98.76
2	80%	16.3	16.1	98.77	
3	80%	16.2	16.1	99.38	

Mẫu	Mức hàm lượng	Lượng thêm vào (mg)	Lượng tìm thấy (mg)	Tỷ lệ phục hồi (%)	TB (%)
4	100%	20.2	20.5	101.49	99.84
5	100%	20.4	20	98.04	
6	100%	20.1	20.3	100	
7	120%	24.2	24.5	101.24	99.45
8	120%	24.2	23.9	98.76	
9	120%	24.4	24	98.36	

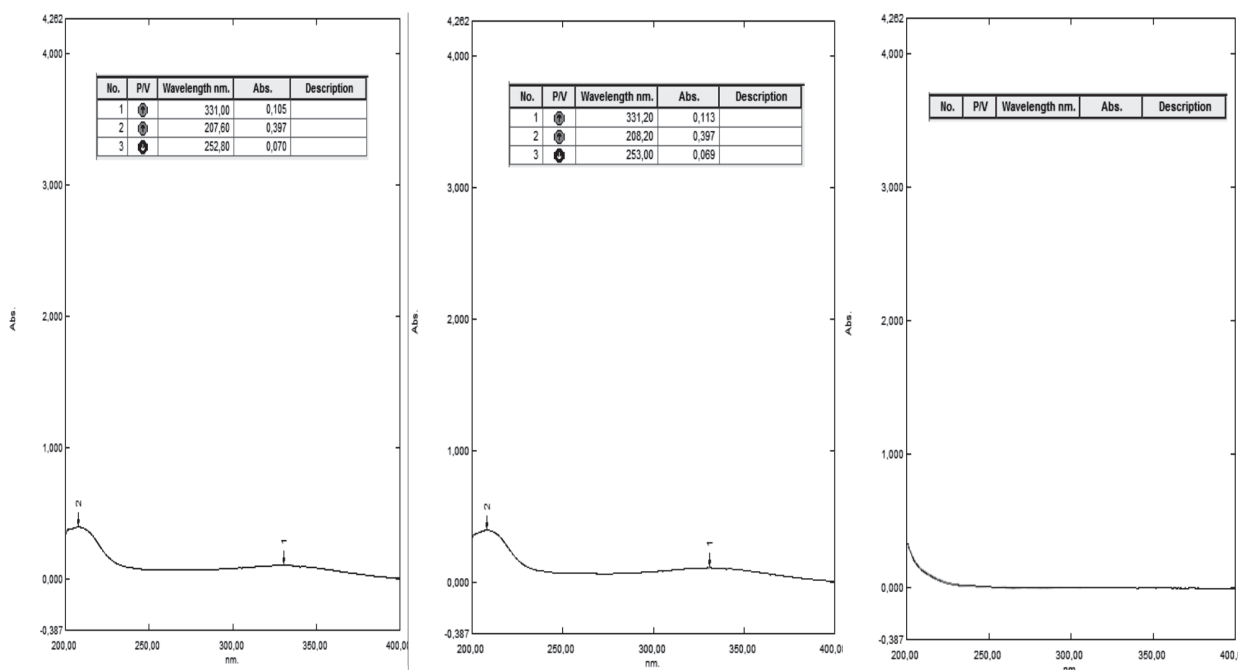
Nhận xét: Tỷ lệ hồi phục pantoprazol chuẩn nằm trong khoảng 98-102%. Do đó, quy trình định lượng pantoprazol bằng phương pháp UV ở pH 6.8 đạt độ đúng.

Vậy quy trình định lượng pantoprazol trong vi cầu bằng phương pháp đo UV ở pH 6.8 đạt các yêu cầu về tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, độ chính xác, độ đúng nằm trong khoảng

4-40 µg/mL.

### 3.2. Thẩm định quy trình định lượng vi cầu microsphere chứa pantoprazol ở pH 1,2

- Tính đặc hiệu được trình bày trong hình 3: Phổ UV của mẫu thử, mẫu chuẩn trong môi trường pH 1.2 có đỉnh hấp thu tại bước sóng 331 nm, độ hấp thu của mẫu giả được không đáng kể. Quy trình đạt tính đặc hiệu:

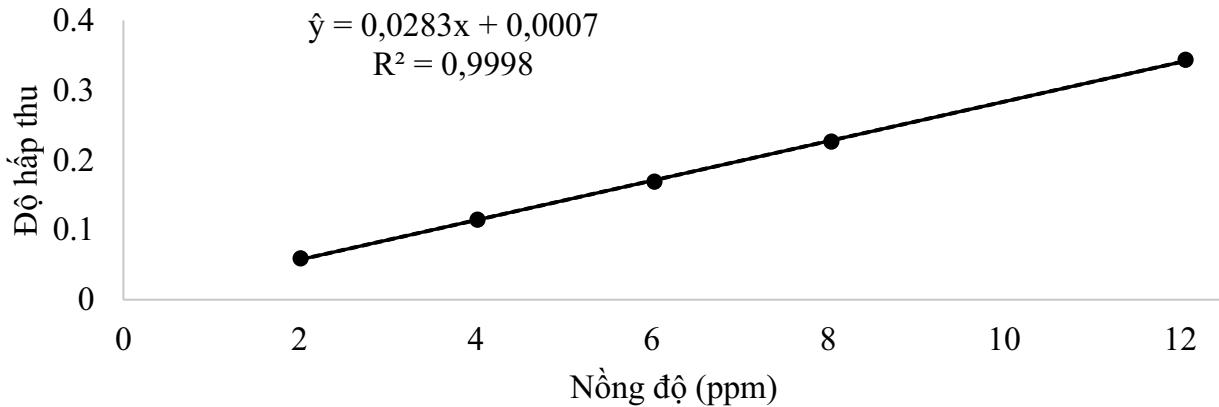


Hình 3. Phổ UV lần lượt của mẫu thử, mẫu chuẩn và placebo trong pH 1.2.

- Tính tuyến tính: kết quả xây dựng đường tính tuyến tính pantoprazol trong vi cầu ở pH 1.2 được trình bày trong Bảng 5 và Hình 4.

Bảng 5. Số liệu tính tuyến tính của quy trình hồi quy định lượng pantoprazol trong vi cầu ở pH 1.2

Nồng độ (µg/mL)	2	4	6	8	10	12
Độ hấp thu	0.0591	0.1147	0.1692	0.2267	0.2878	0.3435



**Hình 4.** Đồ thị biểu diễn tương quan nồng độ pantoprazol và độ hấp thu trong pH 1.2.

Nhận xét: Sử dụng trắc nghiệm F để kiểm tra tính tương thích của phương trình hồi quy và trắc nghiệm t để kiểm tra ý nghĩa của hệ số b<sub>1</sub>. Kết quả đạt: phương trình  $\hat{y} = 0.0283x +$

0.0003 là tương thích, hệ số b<sub>1</sub> có ý nghĩa ( $p > 0.05$ ), hệ số b<sub>0</sub> không có ý nghĩa ( $p < 0.05$ ).

• Độ chính xác được trình bày trong Bảng 6

**Bảng 6.** Kết quả độ chính xác trong quy trình định lượng pantoprazol ở pH 1.2

Mẫu thử	Độ hấp thu	Nồng độ (ppm)	% Phóng thích pantoprazol	Kết quả (n = 6)  TB = 9.41% RSD = 1.80%
1	0.1081	9.59	2.34	
2	0.1072	9.47	2.28	
3	0.1059	9.26	2.34	
4	0.1067	9.38	2.31	
5	0.1049	9.18	2.34	
6	0.1086	9.60	2.32	

Nhận xét: RSD (%) của phần trăm phóng thích pantoprazol < 2,0%. Do đó, quy trình định lượng pantoprazol dịch thử hòa tan môi trường

acid bằng phương pháp UV đạt độ chính xác.

• Độ đúng được trình bày trong Bảng 7

**Bảng 7.** Kết quả độ đúng trong quy trình định lượng pantoprazol ở pH 1.2

Mẫu	Mức hàm lượng	Lượng thêm vào (mg)	Lượng tìm thấy (mg)	Tỷ lệ phục hồi (%)	TB (%)
1	80%	15.9	16.2	101.89	100.63
2	80%	15.9	16.1	101.26	
3	80%	16.1	15.9	98.76	
4	100%	20.4	20.5	100.49	99.01
5	100%	20.4	20.2	99.02	
6	100%	20.3	19.8	97.54	
7	120%	24.1	24.3	100.83	99.72
8	120%	23.8	23.6	99.16	
9	120%	24.3	24.1	99.18	

Nhận xét: Tỷ lệ hồi phục pantoprazol chuẩn nằm trong khoảng 98-102%. Do đó, quy trình định lượng pantoprazol ở pH 1,2 bằng

phương pháp UV đạt độ đúng.

Vậy quy trình định lượng pantoprazol trong vi cầu bằng phương pháp đo UV ở pH 1.2

đạt các yêu cầu về tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, độ chính xác, độ đúng nằm trong khoảng 2-12 µg/mL.

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu xây dựng và thẩm định được quy trình định lượng pantoprazol chứa trong vi cầu bằng phương pháp đo quang phổ tử ngoại khả kiến bằng cách pha mẫu với dung dịch NaOH 0.1N, đệm HCl pH 1.2 hoặc đệm phosphat pH 6.8. Đối với thẩm định quy trình ở pH 6.8 có tính tương thích hệ thống RSD = 0.85% < 2%, phương trình hồi quy  $y = 0.0314x$  tương thích và có sự

tương quan tuyến tính trong khoảng nồng độ khảo sát 4-40 µg/ml, độ đúng với tỷ lệ phục hồi 98-102%. Ngoài ra, thẩm định quy trình ở pH 1,2 cho phương trình hồi quy  $y = 0.0283x$  tương thích và tương quan tuyến tính trong khoảng nồng độ 2-12 µg/mL, các giá trị khảo sát về tính đặc hiệu, độ chính xác đạt giá trị yêu cầu. Kết quả thẩm định định lượng pantoprazol trong vi cầu ở môi trường pH 1.2 và 6.8 được dùng làm tiêu chuẩn cơ sở để định lượng và xác định độ hòa tan của công thức bào chế vi cầu chứa pantoprazol tan trong ruột.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Cheer S, et al., "Pantoprazole: an update of its pharmacological properties and therapeutic use in the among the proton pump inhibitors in terms of management of acid-related disorders", *Drugs*, 63, pp.101-132, 2003.

[2]. Mathews S, et al. (2010), "An update on the use of pantoprazole as a treatment for gastroesophageal reflux disease", *Clinical and experimental gastroenterology*, 3, pp 11, 2010.

[3]. Xuan Truong Le, Hue Minh Nguyen, Ngoc Quynh Le, Thi Thu Loan Trinh, Van Thanh Tran, "Formulation of enteric coated microspheres containing pantoprazole", *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, 63(3), pp.56-62, 2022.

[4]. ICH, *Validation of analytical procedures Text and methodology*, Q2R1, 2005.

## Development and validation method for the quantification of microsphere containing pantoprazole by ultraviolet-visible spectroscopy

Nguyen Hue Minh, Nguyen Thi Mai  
and Nguyen Huu Phuc

#### ABSTRACT

*Background: Pantoprazole, the group of proton pump inhibitors  $H^+/K^+$  ATPase, is effective in the disorder of acid secretion in the gastrointestinal tract [1 - 2]. The pantoprazole microspheres formula is prepared, stable in an acid medium, and dissolvable at pH 6.8 [3]. Research objectives: To design and validate the process of quantifying pantoprazole at pH 1.2 and 6.8 is essential for quantification and dissolution testing. Research subject: Pantoprazole microspheres were coated by alginate-Eudragit L100 to resist acids and release drugs in a buffered environment of pH 6.8 [3]. Research method: To validate the quantitative process of pantoprazole in microspheres by ultraviolet-visible spectroscopy at pH 1.2 with a maximum absorption wavelength of 331 nm and pH 6.8 with a maximum*

*absorption wavelength of 288 nm. Result: The study has validated the quantification process of pantoprazol in microspheres with pH 6.8 and pH 1,2 according to ICH 2005.*

**Keywords:** *microspheres, pantoprazole, UV-Vis, pH 1,2, pH 6,8*

---

Received: 19/04/2023

Revised: 16/05/2023

Accepted for publication: 19/05/2023