

# Nghiên cứu xác định định lượng dược phẩm bằng phương pháp quang phổ RAMAN

Nguyễn Thị Thúy Liễu\*

\*Học viện Công nghệ Bưu chính Viễn thông

Received: 8/8/2024; Accepted: 19/8/2024; Published: 29/8/2024

**Abstract:** With its advantages, Raman spectroscopy is being considered for applications in the pharmaceutical field. Acetaminophen and phenylpropanolamine hydrochloride are two main components of the cold medicine Decolsin. In this study, their contents were quantitatively determined by Raman spectroscopy, and compared with the results obtained by liquid chromatography. The results show the prospect of applying Raman spectroscopy to quantitatively analyze pharmaceutical ingredients.

**Keywords:** Raman spectroscopy, quantitative analysis, pharmaceutical products

## 1. Mở đầu

Quang phổ Raman dựa trên quá trình tán xạ ánh sáng không đàn hồi tự phát. Các photon tán xạ nhận được (tán xạ anti-Stokes) hoặc mất đi (tán xạ Stokes) một lượng năng lượng bằng năng lượng dao động của các nhóm chức năng trong phân tử. Vì tán xạ anti-Stokes tại nhiệt độ phòng có cường độ nhỏ nên tán xạ Stokes thường được sử dụng trong thực tế [1,2].

Với những ưu điểm như đo nhanh, có tính chọn lọc, định lượng hẹp, không phá hủy mẫu, nhạy và đáng tin cậy, quang phổ Raman đã trở thành kỹ thuật phổ biến được nghiên cứu triển khai ứng dụng trong lĩnh vực dược phẩm. Trên thực tế, phương pháp này đã được sử dụng để phân tích dạng thù hình của các thành phần thuốc, hiện tượng chuyển pha cấu trúc, kiểm soát chất lượng thuốc, nhận biết tá dược, định lượng các thành phần thuốc, và kiểm tra độ đồng nhất trong công thức dược phẩm [3,4]. Gần đây, phương pháp quang phổ Raman đã được áp dụng để nghiên cứu sự hòa tan và những thay đổi trạng thái rắn của thuốc trong quá trình tiêu hóa sữa và các chế phẩm từ sữa nhằm đánh giá hiệu quả của các chế phẩm này đối với các loại thuốc khó tan trong nước [5].

Mục đích của nghiên cứu này là xác định định lượng đồng thời các hàm lượng thành phần acetaminophen (ký hiệu là A) và phenylpropanolamine hydrochloride (ký hiệu là P) trong thuốc cảm Decolsin thương mại bằng phương pháp quang phổ Raman.

## 2. Nội dung nghiên cứu

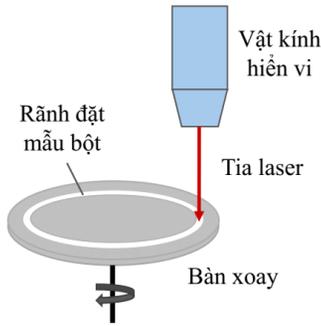
### 2.1. Thực nghiệm

Các bột A và P tinh khiết có độ sạch tương ứng bằng 100 và 98,8 % đã được sử dụng trong nghiên cứu này. Nhằm thiết lập đường chuẩn sự phụ thuộc

cường độ Raman tích phân vào nồng độ thuốc, các mẫu dung dịch A và các mẫu dung dịch P với các nồng độ khác nhau được tạo ra bằng cách hòa tan các lượng khác nhau của bột A và P trong hỗn hợp của acetone và nước cất 2 lần theo tỉ lệ 1:1 về thể tích. Trong trường hợp các mẫu dung dịch, acetone sẽ được sử dụng như chuẩn nội (được ký hiệu là S1) trong phân tích Raman. Đối với các mẫu thuốc dạng bột, đường chuẩn sự phụ thuộc cường độ Raman tích phân vào hàm lượng thuốc được xác định đối với các hỗn hợp bột A (hoặc P) và bột potassium nitrate (có vai trò là chuẩn nội và được ký hiệu S2) với các tỉ lệ khối lượng khác nhau. Để xác định đồng thời hàm lượng các thành phần A và P trong thuốc cảm Decolsin, 23 viên thuốc Decolsin đã được cân chính xác, sau đó được nghiền thành bột mịn. Một phần bột Decolsin được trộn đều với chuẩn nội S2, phần bột còn lại được sử dụng cho phép đo sắc ký lỏng.

Các phép đo phổ Raman được thực hiện trong cấu hình tán xạ ngược khi sử dụng thiết bị LabRam HR Evolution (Horiba) với bước sóng kích thích 632,8 nm của laser He-Ne. Các mẫu dung dịch được đựng trong cuvette thạch anh, còn các mẫu bột được nén trong rãnh của bàn xoay như được chỉ ra trên hình 2.1. Bàn xoay sẽ quay đều trong suốt thời gian đo phổ Raman để trung bình hóa độ mấp mô trên bề mặt mẫu.

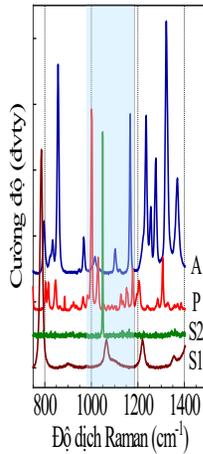
Kết quả xác định định lượng thuốc bằng phương pháp quang phổ Raman sẽ được kiểm chứng khi so sánh với kết quả nhận được bằng phương pháp sắc ký lỏng trên thiết bị Xevo G3 Qtof (Waters Corporation). Đây là phương pháp đã được Bộ Y tế cho phép sử dụng để kiểm nghiệm dược phẩm.



Hình 2.1. Bộ phận đặt mẫu đo dạng bột.

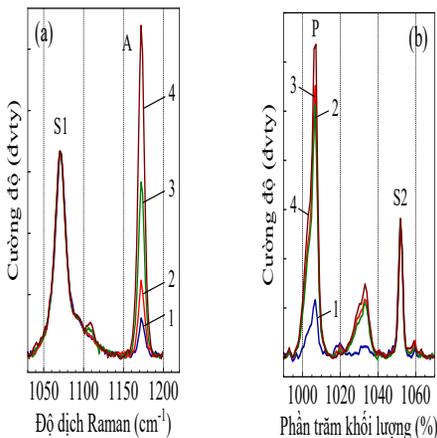
### 2.2. Kết quả và thảo luận

Hình 2.2 trình bày các phổ Raman của các mẫu bột A, P, S2, và mẫu lỏng S1 trong khoảng 750 - 1400  $\text{cm}^{-1}$ . Khoảng số sóng này chứa đỉnh có cường độ lớn nhất của P tại 1002  $\text{cm}^{-1}$ , và đỉnh cường độ mạnh của A tại 1167  $\text{cm}^{-1}$ . Các đỉnh của S1 (tại 1049  $\text{cm}^{-1}$ ) và S2 (tại 1065  $\text{cm}^{-1}$ ) nằm giữa hai đỉnh trên của A và P. Do độ nhạy detector của phổ kế Raman thay đổi không nhiều trong khoảng số sóng hẹp nên các đỉnh Raman này được sử dụng trong phép phân tích định lượng.



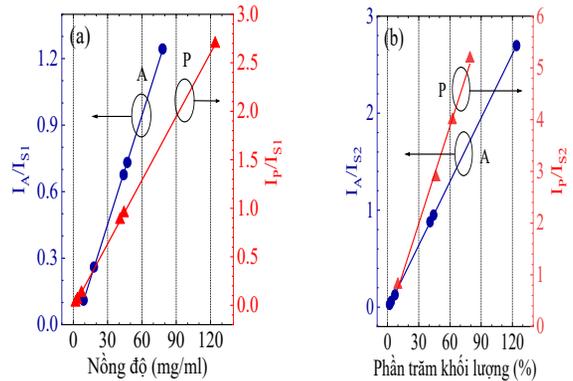
Hình 2.2. Phổ Raman của các mẫu bột A, P, S2, và mẫu lỏng S1.

Như ví dụ minh họa, hình 2.3 so sánh sự thay đổi phổ Raman khi thay đổi nồng độ A trong dung dịch acetone - nước (hình 2.3a), và khi thay đổi phần trăm khối lượng P trong hỗn hợp bột P - S2 (hình 2.3b). Như có thể thấy, sự tăng nồng độ A và phần trăm khối lượng P gây ra sự tăng cường độ của các đỉnh Raman tại 1170 và 1004  $\text{cm}^{-1}$ .



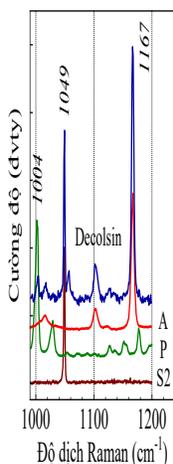
Hình 2.3. Phổ Raman của: a) các mẫu dung dịch có hàm lượng A khác nhau (các phổ 1, 2, 3, và 4 tương ứng với các nồng độ 9,03; 18,08; 44,04; và 78,1 mg/ml); b) các mẫu bột có phần trăm khối lượng P khác nhau (các phổ 1, 2, 3, và 4 tương ứng với các phần trăm khối lượng 9,96; 46,5; 62,37; và 79,25 %).

Trên thực tế, các thông số công nghệ chế tạo dược phẩm khác nhau có thể gây ra sự khác nhau về đặc trưng của phổ Raman. Để nhận được kết quả chính xác, cường độ tích phân của đỉnh Raman (ký hiệu là I) đã được sử dụng trong các phân tích định lượng. Cường độ tích phân của các đỉnh Raman được xác định khi phân tích phổ Raman bằng tổ hợp hàm Gauss - Lorentz. Các Hình 4a và 4b chỉ ra sự phụ thuộc tỉ số cường độ Raman tích phân của các đỉnh A, P và các chuẩn nội tương ứng trong mẫu dung dịch và mẫu bột. Như đã trình bày ở trên, vì độ sạch của bột P là 98,8 % nên các giá trị nồng độ/phần trăm khối lượng của P trên các hình 2.4a và 2.4b đã được nhân với hệ số 100/98,8. Sự thay đổi tuyến tính của các điểm thực nghiệm với hệ số hồi qui xấp xỉ bằng 1 cho thấy trong khoảng nồng độ/hàm lượng khảo sát thì các đường chuẩn trên hình 2.4 có thể sử dụng để xác định định lượng A và P trong hỗn hợp dung dịch acetone - nước và trong dạng bột mịn.



Hình 2.4. Đường chuẩn sự phụ thuộc tỉ số cường độ Raman tích phân của các đỉnh A, P và chuẩn nội vào nồng độ thuốc trong mẫu dung dịch (a), và vào phần trăm khối lượng thuốc trong mẫu bột (b).

Hình 2.5 trình bày phổ Raman trong khoảng số sóng 990 - 1200  $\text{cm}^{-1}$  của hỗn hợp thuốc cảm Decolsin và chuẩn nội S2 đã được nghiền và trộn đều. Khi so sánh với các phổ Raman của A, P và S2 trên hình 2.2 có thể qui các đỉnh Raman của mẫu hỗn hợp Decolsin - S2 tại 1002, 1049, và 1167  $\text{cm}^{-1}$  lần lượt cho các thành phần P, S2, và A có trong mẫu.



Hình 2.5. Phổ Raman của các mẫu bột hỗn hợp Decolsin

Phần trăm khối lượng của các thành phần P và A trong thuốc cảm Decolsin được xác định dựa trên giá trị của các tỉ số cường độ Raman tích phân  $I_P/I_{S2}$  và  $I_A/I_{S2}$  và các đường chuẩn trên Hình 4b. Bảng 2.1 trình bày kết quả xác định hàm lượng các thành phần P và A trong thuốc cảm Decolsin bằng phương pháp quang phổ Raman và phương pháp sắc ký lỏng. Hàm lượng trung bình của các thành phần P và A xác định bởi phương pháp quang phổ Raman tương ứng bằng 5,27 và 67,67 %, phù hợp tốt với các giá trị hàm lượng P và A xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (5,36 và 67,97 %). Độ lệch chuẩn tương đối của các số liệu Raman hơi cao hơn so với độ lệch chuẩn tương đối của số liệu sắc ký lỏng, nhưng nằm trong giới hạn chấp nhận được.

Hàm lượng các thành phần P và A ghi trên vỏ hộp thuốc cảm Decolsin tương ứng là 25 và 325 mg/viên. Để có thể so sánh các giá trị này với các giá trị nhận được bằng phương pháp quang phổ Raman và phương pháp sắc ký lỏng, khối lượng của 23 viên thuốc Decolsin đã được khảo sát bằng cân chính xác. Khối lượng của 23 viên thuốc thay đổi trong khoảng 481,3 - 497,3 mg, và khối lượng trung bình của mỗi viên bằng 488,0 mg. Do đó, hàm lượng trung bình của các thành phần P và A trong mỗi viên thuốc tương ứng bằng 5,12 và 66,6 %. Các giá trị này là phù hợp với các giá trị trung bình được xác định bằng phương pháp quang phổ Raman và phương pháp sắc ký lỏng (bảng 2.1).

Bảng 2.1. Hàm lượng của phenylpropanolamine hydrochloride và acetaminophen trong thuốc cảm Decolsin được xác định bằng phương pháp quang phổ Raman và phương pháp sắc ký lỏng.

Mẫu	Raman		Sắc ký lỏng	
	P (%)	A (%)	P (%)	A (%)
1	5,22	67,52	5,42	68,43
2	5,36	67,82	5,38	67,65
3	5,27	66,85	5,33	67,50
4	5,34	67,69	5,32	67,96
5	5,15	68,47	5,33	68,33
Trung bình	5,27	67,67	5,36	67,97
Độ lệch chuẩn tương đối (%)	1,64	0,86	0,80	0,60

### 3. Kết luận

Các đường chuẩn sự phụ thuộc cường độ Raman tích phân vào nồng độ A, P trong dung dịch acetone - nước, và vào hàm lượng A, P trong hỗn hợp bột với chuẩn nội S2 đã được thiết lập. Sự tuyến tính với hệ số hồi qui xấp xỉ bằng 1 cho phép định lượng chính xác A và P cả đối với mẫu dung dịch và mẫu bột. Kết quả phân tích định lượng thuốc cảm Decolsin bằng phương pháp quang phổ Raman phù hợp tốt với kết quả nhận được bằng phương pháp truyền thống là sắc ký lỏng, đồng thời khẳng định hàm lượng các thành phần A và P được ghi trên vỏ hộp.

Cùng với những ưu điểm như đo nhanh, có tính chọn lọc, định Raman hẹp, không phá hủy mẫu, nhạy và đáng tin cậy, các kết quả nhận được cho thấy triển vọng ứng dụng của phương pháp quang phổ Raman trong lĩnh vực dược phẩm.

### Tài liệu tham khảo

1. A. Silge, K. Weber, D. Cialla-May c, L. Müller-Botticher, D. Fischer, J. Popp, Trends in Analytical Chemistry 153 (2022) 116623.
2. K.A. Esmonde-White, M. Cuellar, I.R. Lewis, Analytical and Bioanalytical Chemistry 414 (2022) 969.
3. J. Bajwa, H. Nawaz, M.I. Majeed, A.I. Hussain, S. Farooq, N. Rashid, M.A. Bakkar, Sh. Ahmad, H. Hyat, S. Bashir, S. Ali, M. Kashif, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 238 (2020) 118446.
4. M.A. Bakkar, H. Nawaz, M.I. Majeed, A. Naseem, A. Ditta, N. Rashid, S. Ali, J. Bajwa, S. Bashir, Sh. Ahmad, H. Hyat, K.Sh. Bukhari, Fr. Bonnier, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 245 (2021) 118900.
5. M. Salim, S.J. Fraser-Miller, K. Berzins, J.J. Sutton, G. Ramirez, A.J. Clulow, A. Hawley, S. Beilles, K.C. Gordon, B.J. Boyd, Molecular Pharmaceutics 17 (2020) 885.