

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR QUANTITATION OF CEFUROXIM AXETIL IN ZANIMEX TABLETS WITH UNKNOWN MANUFACTURING FORMULA USING RAMAN SPECTROSCOPY

BUI VAN TRUNG¹, PHI THI THANH HOA, TONG THI THANH VUONG², LE DINH CHI²,✉

¹National Institute of Medicinal Materials

²Hanoi University of Pharmacy

✉ Corresponding author: ledinhchi@gmail.com

Received October 10th, 2025

Accepted September 15th, 2026

Abstract: A fast, simple Raman spectroscopic method was developed for quantitation of cefuroxim axetil in Zanimex tablets with unknown manufacturing formula. The method employed assay model based on spectral data of reference mixture having mass ratio of cefuroxim axetil over total amount of cefuroxim axetil and internal standard from 30% to 70% (w/w) recorded in Raman shift zones from 845 cm^{-1} to 880 cm^{-1} , from 1460 cm^{-1} to 1505 cm^{-1} , and from 1560 cm^{-1} to 1615 cm^{-1} with PLS algorithm. The method was validated according to current requirements on performance of analytical methods, and was proven to have suitable specificity, linearity, accuracy, and precision for intended application.

Keywords: Cefuroxim axetil, Raman spectroscopy, tablet

XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG CEFUROXIM AXETIL TRONG VIÊN NÉN ZANIMEX CÓ THÀNH PHẦN CHƯA BIẾT BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ RAMAN

BÙI VĂN TRUNG¹, PHÍ THỊ THANH HOA, TÔNG THỊ THANH VƯỢNG², LÊ ĐÌNH CHI²,✉

¹Viện Dược liệu

²Trường Đại học Dược Hà Nội

✉ Tác giả liên hệ: ledinhchi@gmail.com

Nhận bài ngày 10 tháng 10 năm 2025

Chấp nhận đăng ngày 15 tháng 09 năm 2026

Tóm tắt: Một phương pháp phân tích nhanh, đơn giản, sử dụng thiết bị quang phổ Raman đã được phát triển để định lượng cefuroxim axetil trong viên nén Zanimex có thành phần công thức bào chế chưa biết. Phương pháp này sử dụng mô hình định lượng dựa trên dữ liệu phổ Raman đã tiền xử lý của hỗn hợp đối chiếu có tỷ lệ khối lượng cefuroxim axetil trên tổng khối lượng cefuroxim axetil và chuẩn nội từ 30% đến 70% (kl/kl) được ghi lại trong vùng dịch chuyển từ 845 cm^{-1} đến 880 cm^{-1} , 1460 cm^{-1} đến 1505 cm^{-1} và 1560 cm^{-1} đến 1615 cm^{-1} với thuật toán PLS. Phương pháp đã được thẩm định theo các yêu cầu quốc tế hiện hành về hiệu năng của phương pháp phân tích và xác nhận có độ đặc hiệu, độ tuyến tính, độ đúng, độ chính xác phù hợp cho ứng dụng dự kiến.

Từ khóa: Cefuroxim axetil, quang phổ Raman, PLS, viên nén

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cefuroxim axetil (CA) là dạng ester của cefuroxim, một kháng sinh thuộc nhóm cephalosporin [1]. Tại Việt Nam, hiện nay có 167 sản phẩm chứa hoạt chất CA đã được Bộ Y tế cấp số đăng ký lưu hành [2].

Phương pháp phổ biến để định lượng CA trong các chế phẩm hiện nay là sắc ký lỏng hiệu năng cao [3, 4]. Độ tin cậy và phổ biến của kỹ thuật này đã được khẳng định, tuy nhiên phương pháp vẫn đòi hỏi quá trình chuẩn bị mẫu phức tạp, sử dụng các dung môi hữu cơ kém thân thiện với môi trường và sức khỏe kiểm nghiệm viên. Quang phổ Raman là một kỹ thuật phân tích có nhiều đặc điểm phù hợp với xu hướng phát triển ứng dụng các phương pháp “xanh” trong kiểm nghiệm dược phẩm. Nhờ khả năng phân tích nhanh, đơn giản, có thể phân tích trực tiếp trên mẫu mà không cần chuyển dạng, hoà tan hay chiết riêng đối tượng cần phân tích là một kỹ thuật phân tích còn tiềm năng có thể khai thác được, để ứng dụng phát triển các phương pháp trong kiểm nghiệm thuốc. Trên thực tế, quang phổ Raman đã được ứng dụng để phát triển các phương pháp định lượng một dược chất trong thành phẩm thuốc như ibuprofen [5], rosuvastatin [6].

Đồng thời, thực tế kiểm nghiệm thuốc trong giám sát chất lượng hậu mại thường gặp trường hợp phải phân tích các mẫu chế phẩm thuốc thương mại lưu hành trên thị trường không rõ thành phần công thức bào chế. Nhằm đánh giá khả năng khai thác ưu điểm của kỹ thuật quang phổ Raman và hướng tới giải quyết các vấn đề thực tế của kiểm nghiệm, nghiên cứu này được thực hiện để xây dựng quy trình định lượng CA trong viên nén thương mại Zanimex 500 có công thức bào chế không biết chính xác sử dụng kỹ thuật quang phổ Raman.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Thiết bị, dụng cụ, hoá chất, chất chuẩn

2.1.1. Thiết bị, dụng cụ

Trong nghiên cứu này, phổ Raman được đo trên thiết bị quang phổ Raman truyền qua (transmission Raman spectrometer) QTRam của B&W TEK (Hoa Kỳ) có nguồn laser bước sóng 785 nm, công suất tối đa 420 mW, kích thước vết laser 4 mm, thiết bị được trang bị bộ giữ mẫu đo dưới dạng viên nén có thể đo mẫu ở chế độ truyền qua có độ dày tới 10 mm và đường kính viên mẫu tới 12 mm; các khối lượng cần cân chính xác được cân trên cân phân tích MS105 của Mettler Toledo (Thụy Sĩ, độ chính xác $d = 0,01$ mg). Để xác định hàm lượng cefuroxim axetil trong bột viên đối chiếu và để so sánh kết quả định

lượng trong mẫu thử với phương pháp định lượng dựa trên quang phổ Raman, CA được định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (high performance liquid chromatography – HPLC) theo các điều kiện của Dược điển Hoa Kỳ [3] sử dụng hệ thống sắc ký lỏng Agilent 1290 của Agilent Technologies (Hoa Kỳ) và cột sắc ký Hypersil SAS (250 × 4.6 mm, 5 μ m) gắn pha tĩnh L13 của Thermo Fisher Scientific (Hoa Kỳ). Các thiết bị được quản lý và hiệu chuẩn theo các quy định của ISO/IEC 17025 và GLP.

Việc trộn đồng nhất bột viên đối chiếu với chuẩn nội paracetamol (PA) để tạo thành các hỗn hợp đối chiếu được thực hiện sử dụng cối chày mã não loại dùng cho phòng thí nghiệm.

2.1.2. Hóa chất, chất chuẩn

Chuẩn nội PA có hàm lượng 99,68% là nguyên liệu được dùng được xác định hàm lượng bằng phương pháp của Dược điển Việt Nam V [7], chuẩn CA có hàm lượng cefuroxim 80,3% (tương đương hàm lượng CA 96,59%) mua tại Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương.

Methanol tinh khiết sắc ký, acid orthophosphoric, amoni dihydrophosphat tinh khiết phân tích được mua tại Merck Việt Nam.

2.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đối tượng nghiên cứu

Viên nén Zanimex 500 (sau đây gọi tắt trong bài là “chế phẩm”) với thành phần công thức bào chế không biết chính xác của nhà sản xuất Imexpharm thuộc về 2 lô (số lô C49C015, sản xuất: 08/2024, hạn dùng: 08/2027 và lô C49C021, sản xuất: 10/2024, hạn dùng: 10/2027) được mua trên thị trường. Lô C49C015 được dùng để chuẩn bị bột viên đối chiếu, lô C49C021 được dùng để ứng dụng kiểm chứng phương pháp phân tích sau khi xây dựng, thẩm định.

Bột viên đối chiếu là một lượng bột của chế phẩm (số lô C49C015) được nghiền mịn và trộn đồng nhất từ 20 viên, có chứa 64,18% (kl/kl) CA (hàm lượng CA trong bột viên đối chiếu được xác định bằng phương pháp HPLC sử dụng các điều kiện theo Dược điển Hoa Kỳ 2024 [3]). Kết quả xác định hàm lượng CA trong bột viên đối chiếu được tóm tắt ở 3.1.

Để xây dựng phương pháp định lượng CA dựa trên dữ liệu phổ Raman, chuẩn bị các hỗn hợp đối chiếu có tỷ lệ giữa khối lượng CA và tổng khối lượng của CA và chuẩn nội (ký hiệu là T_{CA}) chính xác khoảng 30%, 40%, 50%, 60% và 70% bằng cách trộn đồng nhất các

khối lượng được cân chính xác của bột viên đối chiếu và chuẩn nội theo tỷ lệ thích hợp. Hai hỗn hợp đối chiếu được chuẩn bị độc lập ở mỗi mức giá trị T_{CA} . Thành

phần và giá trị T_{CA} cụ thể của các hỗn hợp đối chiếu được trình bày chi tiết trong Bảng 1.

Bảng 1. Thành phần và giá trị T_{CA} của các hỗn hợp đối chiếu

Ký hiệu hỗn hợp	Khối lượng bột viên đối chiếu (mg)	Khối lượng chuẩn nội (mg)	Giá trị thực T_{CA} (%)
30.1	188,43	280,23	30,21
30.2	190,07	281,02	30,34
40.1	250,21	240,54	40,11
40.2	251,13	240,71	40,18
50.1	312,26	200,02	50,13
50.2	314,35	200,92	50,18
60.1	379,05	160,47	60,33
60.2	378,36	160,61	60,27
70.1	440,05	120,04	70,24
70.2	442,46	120,44	70,29

Để thẩm định phương pháp, trộn đồng nhất các khối lượng được cân chính xác của bột viên đối chiếu và chuẩn nội theo tỷ lệ thích hợp để tạo thành các hỗn hợp thẩm định có giá trị T_{CA} chính xác ở 3 mức khoảng 35%, 50% và 65% (kl/kl), tương ứng với 70%, 100% và 130% mức giá trị làm việc dự kiến của T_{CA} (khoảng 50%). Sáu hỗn hợp thẩm định được chuẩn bị độc lập tại mỗi mức giá trị của T_{CA} .

Để định lượng CA trong mẫu thử chưa biết hàm lượng, lấy ngẫu nhiên tối thiểu 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên rồi nghiền thành bột mịn và trộn đồng nhất. Căn cứ vào hàm lượng CA công bố trên nhãn và khối lượng trung bình viên, trộn đồng nhất các khối lượng được cân chính xác của bột mẫu thử và chuẩn nội để có hỗn hợp thử có giá trị ước tính của T_{CA} khoảng 50% (kl/kl).

Để chuẩn bị mỗi hỗn hợp đem đo phổ Raman, các thành phần được cân chính xác sao cho tổng khối lượng của hỗn hợp không dưới 450 mg. Sau khi cân, các thành phần được trộn đều, đồng nhất bằng chày cối mã não, một khối lượng thích hợp bột đồng nhất được dập thành viên đường kính 9,5 mm, dày 2 mm để đo phổ Raman.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.2.1. Quy trình đo và xử lý phổ Raman

Phổ Raman của mỗi mẫu được đo bằng thiết bị quang phổ Raman truyền qua trong khoảng dịch chuyển từ 150 cm^{-1} – 2800 cm^{-1} trong thời gian quét 04 giây với độ phân

giải 4 cm^{-1} , cường độ nguồn laser đặt ở mức 90% công suất tối đa.

Phổ của mỗi hỗn hợp đối chiếu được ghi lặp lại ngẫu nhiên 10 lần để lấy dữ liệu xây dựng mô hình, trong đó chùm laser được chiếu vào mỗi mặt viên của hỗn hợp 5 lần tại 5 vị trí khác nhau lựa chọn ngẫu nhiên. Một trăm phổ Raman thô thu được từ 10 hỗn hợp đối chiếu được sử dụng để xây dựng mô hình định lượng CA theo quy trình ở 2.2.2.2.

Phổ của mỗi hỗn hợp thẩm định, hỗn hợp thử được đo lặp 5 lần, trong đó nguồn laser được chiếu 3 lần vào một mặt viên của hỗn hợp, 2 lần vào mặt còn lại, mỗi lần chiếu nguồn laser vào một mặt viên ở một vị trí khác nhau chọn ngẫu nhiên.

Toàn bộ các phổ được tiền xử lý bằng các công cụ: đạo hàm bậc 1 dữ liệu phổ (Savitzky – Golay 1st Differential), standard normal variate (SNV) và lấy giá trị trung bình trung tâm (center) để loại bỏ sự ảnh hưởng của sự sai khác quang trình trong kỹ thuật đo Raman. Dữ liệu phổ sau tiền xử lý tương ứng với các dịch chuyển Raman thu được tại các vùng từ 845 cm^{-1} đến 880 cm^{-1} , 1460 cm^{-1} đến 1505 cm^{-1} và 1560 cm^{-1} đến 1615 cm^{-1} được sử dụng để xây dựng mô hình định lượng, thẩm định phương pháp và định lượng CA trong mẫu thử.

Kết quả T_{CA} trung bình tính toán được từ mô hình từ dữ liệu phổ sau khi tiền xử lý của 5 phổ đo được với mỗi hỗn

hợp thẩm định được dùng để đánh giá độ thu hồi, với mỗi hỗn hợp thử được dùng để tính toán hàm lượng CA trong mẫu thử theo công thức ở 2.2.2.3. Giá trị RSD (%) của độ thu hồi theo T_{CA} trung bình thu được trên 6 hỗn hợp thẩm định tại mỗi mức giá trị T_{CA} danh định được dùng để đánh giá độ lặp và độ chính xác trung gian của phương pháp định lượng CA.

2.2.2.2. Xây dựng mô hình định lượng từ dữ liệu phổ Raman

Mô hình định lượng được xây dựng từ dữ liệu các phổ Raman sau khi tiền xử lý tại các vùng dịch chuyển từ 845 cm^{-1} đến 880 cm^{-1} , 1460 cm^{-1} đến 1505 cm^{-1} và 1560 cm^{-1} đến 1615 cm^{-1} thu được với 10 hỗn hợp đối chiếu có thành phần và giá trị T_{CA} chính xác như trong Bảng 1. Các mức giá trị T_{CA} này tương ứng từ 60% đến 140% so với mức giá trị làm việc của T_{CA} trong hỗn hợp mẫu thử (khoảng 50%). Các phổ đối chiếu thu được tại mỗi mức giá trị của T_{CA} (20 phổ từ 02 hỗn hợp đối chiếu) được chia ngẫu nhiên làm 2 phần, 16 phổ (80%) đưa vào tập huấn luyện mô hình (calibration set) và 04 phổ (20%) đưa vào tập đánh giá nội mô hình (validation set). Như vậy, tập huấn luyện bao gồm dữ liệu của 80 phổ Raman đối chiếu, còn tập đánh giá nội mô hình bao gồm dữ liệu của 20 phổ Raman đối chiếu.

Dữ liệu phổ trong tập huấn luyện mô hình được sử dụng để thiết lập mô hình định lượng sử dụng thuật toán bình phương tối thiểu một phần (Partial Least Square – PLS). Mô hình định lượng được tối ưu hóa thông qua việc lựa chọn số lượng thành phần chính (factor) đáp ứng các tiêu chí sau:

- Tính tuyến tính của mô hình: hệ số tương quan R giữa các giá trị T_{CA} thực và giá trị T_{CA} tính toán lại từ mô hình của các hỗn hợp đối chiếu khi sử dụng dữ liệu phổ của tập huấn luyện (R_c) và của tập đánh giá nội mô hình (R_v) phải gần 1.

- Khả năng dự đoán: giá trị RMSE (độ lệch chuẩn của phần dư) giữa các giá trị T_{CA} thực và giá trị T_{CA} tính toán lại từ mô hình của các hỗn hợp đối chiếu khi sử dụng dữ liệu phổ của tập huấn luyện (RMSEC) và của tập đánh giá nội mô hình (RMSEV) phải thấp và gần nhau nhất có thể.

Sau khi tối ưu hóa, mô hình định lượng được thiết lập với số factor là 4 (quá trình thiết lập mô hình được trình bày ở phần 3.2).

2.2.2.3. Tính toán hàm lượng CA trong mẫu thử từ mô hình định lượng

Khi dữ liệu phổ của hỗn hợp thử được đưa vào mô hình định lượng, mô hình sẽ trả ra giá trị T_{CA} chính xác

của mẫu thử. Từ giá trị T_{CA} , khối lượng bột mẫu thử, khối lượng chuẩn nội, hàm lượng chuẩn nội sử dụng để chuẩn bị hỗn hợp thử sẽ tính ra được hàm lượng CA (% , kl/kl) trong mẫu thử (C_{CA}) theo công thức sau:

$$C_{CA} = \frac{T_{CA} \times m_{PA} \times p_{PA}}{(100\% - T_{CA})m_{tab}} \times 100\%$$

Trong đó m_{tab} , m_{PA} (tính theo cùng đơn vị khối lượng) lần lượt là khối lượng bột viên thử, khối lượng chuẩn nội dùng để chuẩn bị hỗn hợp thử; T_{CA} là giá trị T_{CA} của hỗn hợp thử tính toán từ mô hình định lượng; p_{PA} là hàm lượng (% , kl/kl) của chuẩn nội sử dụng.

2.2.2.4. Điều kiện HPLC

Để xác định hàm lượng chính xác của CA trong bột viên đối chiếu phục vụ tính toán giá trị T_{CA} cho các hỗn hợp đối chiếu trong Bảng 1 cũng như đánh giá độ tin cậy của phương pháp định lượng CA dựa trên phổ Raman, quy trình định lượng CA bằng HPLC sử dụng điều kiện trong chuyên luận Viên nén Cefuroxim Axetil (Cefuroxime axetil tablets), cụ thể như sau: cột sắc ký Hypersil SAS (250 × 4.6 mm, 5 μm), pha động là hỗn hợp methanol và dung dịch amoni dihydrophosphat 23 g/L chỉnh pH về 2,4 (38 : 62, tt/tt) duy trì ở tốc độ dòng 1,2 mL/phút, thể tích tiêm mẫu 20 μL , phát hiện pic bằng detector PDA ở bước sóng 278 nm [3].

2.2.2.5. Thẩm định phương pháp

Phương pháp định lượng CA sử dụng mô hình định lượng xây dựng từ dữ liệu phổ Raman được thẩm định về độ đặc hiệu, độ tuyến tính, độ đúng, độ lặp lại và độ chính xác trung gian theo các hướng dẫn, yêu cầu về thẩm định phương pháp phân tích và hiệu năng của phương pháp phân tích của ICH Q2(R2) [8], AOAC International [9].

2.2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Tính toán và đánh giá kết quả bằng phần mềm BWIQ version 4.1.4 (gồm các thuật toán tiền xử lý phổ và các mô hình định tính, định lượng bằng các thuật toán toán hoá thích hợp) và Microsoft Excel version 2019.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

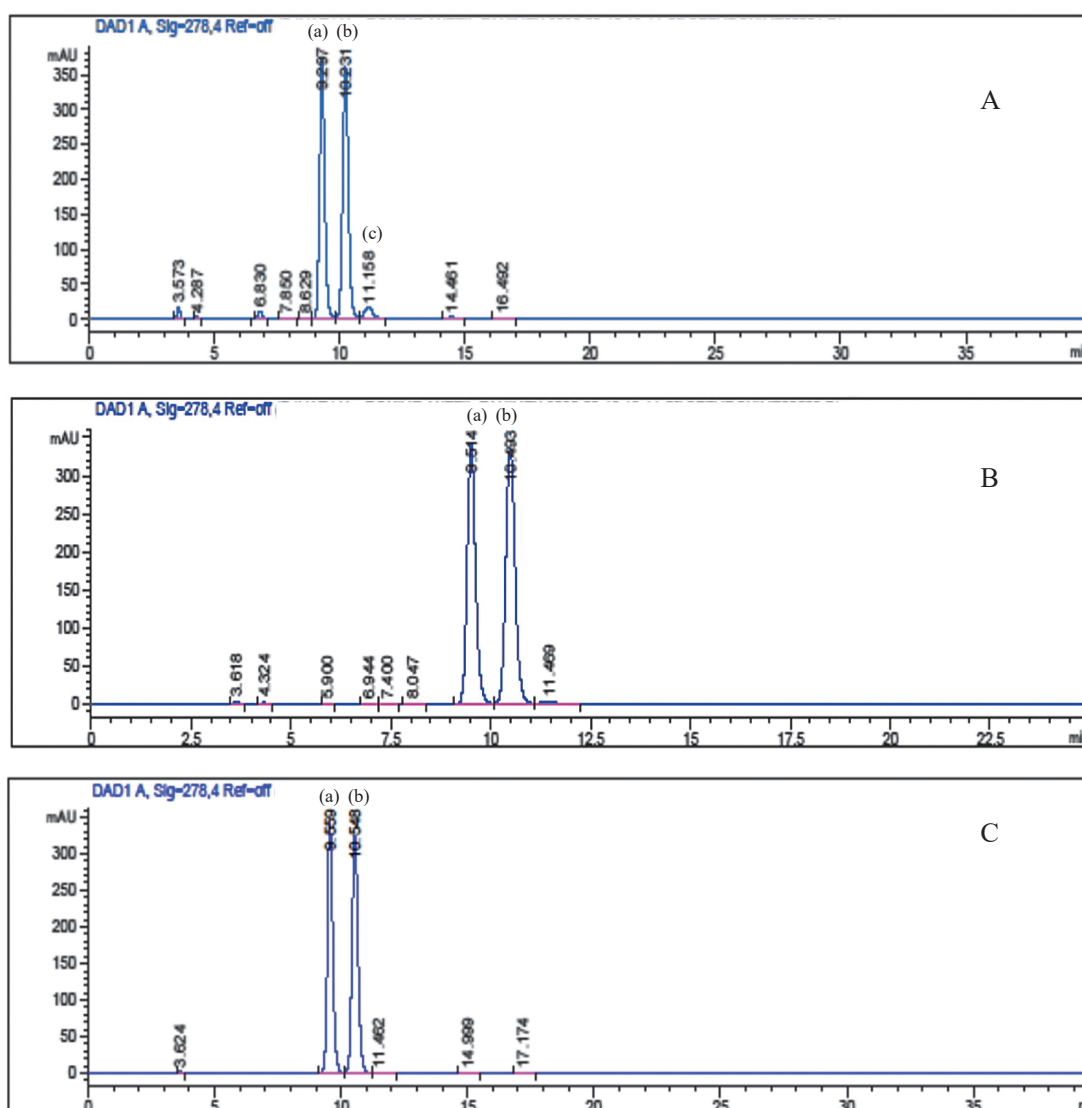
3.1. Xác định hàm lượng CA trong bột viên đối chiếu

Hàm lượng CA trong bột viên đối chiếu được xác định chính xác bằng phương pháp HPLC sử dụng điều kiện sắc ký ở 2.2.2.4 so sánh với hàm lượng của chất đối chiếu CA. Để đảm bảo độ tin cậy của hàm lượng CA xác định được, độ thích hợp hệ thống được đánh giá đảm bảo đạt các yêu cầu riêng trong chỉ tiêu định lượng của chuyên luận Viên

nén Cefuroxim Axetil của USP và các quy định chung trong định lượng bằng HPLC (Bảng 2). Một số sắc ký đồ đại diện của quá trình định lượng được cung cấp trong Hình 1.

Bảng 2. Tóm tắt kết quả xác định hàm lượng CA trong bột viên đối chiếu bằng HPLC

Chỉ tiêu	Yêu cầu	Kết quả
Độ phân giải giữa các diastereoisomer A và B của CA	$\geq 1,5$ [3]	2,4
Độ phân giải giữa diastereoisomer A và CA delta-3-isomer	$\geq 1,5$ [3]	1,8
Độ lặp tổng diện tích pic của diastereoisomer A và B của CA (n = 6)	$RSD \leq 2,0\%$	$RSD = 0,2\%$
Hệ số đáp ứng giữa 2 chuẩn	98 – 102%	100,7%
Hàm lượng CA trong bột viên đối chiếu (% , n = 6)	TB: 64,18%, $RSD = 0,5\%$	

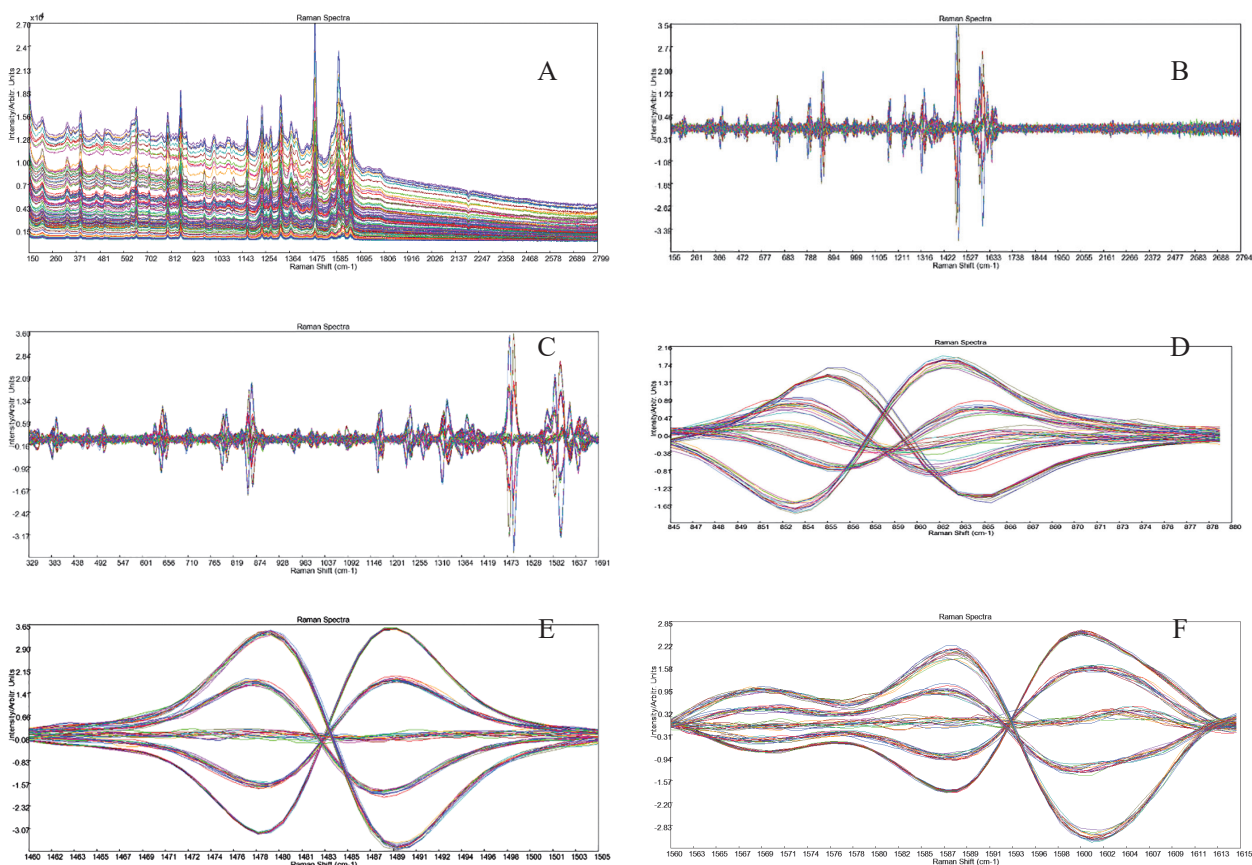


Hình 1. Sắc ký đồ đại diện xác định hàm lượng CA trong bột viên đối chiếu

(A: dung dịch đánh giá độ phân giải, B: dung dịch chuẩn, C: dung dịch thử, (a)(b)-pic của các diastereoisomer A,B của CA, (c)-pic của CA delta-3-isomer).

3.2. Tiền xử lý dữ liệu phổ

Các phổ Raman thô đo được với các hỗn hợp đối chiếu có giá trị T_{CA} khác nhau (Hình 2A) chưa thể hiện quy luật thay đổi rõ ràng về cường độ theo thay đổi của T_{CA} . Do vậy, để xây dựng mô hình định lượng CA không thể sử dụng trực tiếp dữ liệu của phổ Raman thô mà cần tiến hành tiền xử lý phổ để thu được dữ liệu phổ sau tiền xử lý có cường độ thay đổi tuyến tính theo giá trị T_{CA} .



Hình 2. Phổ Raman của các hỗn hợp đối chiếu ở các mức giá trị T_{CA} khác nhau trước khi biến đổi (A) và sau tiền xử lý phổ và biến đổi bằng PLS (B: dịch chuyển từ 150 cm^{-1} đến 2800 cm^{-1} ; C: dịch chuyển từ 329 cm^{-1} đến 1691 cm^{-1} ; D: dịch chuyển từ 845 cm^{-1} đến 880 cm^{-1} ; E: dịch chuyển từ 1460 cm^{-1} đến 1505 cm^{-1} ; F: dịch chuyển từ 1560 cm^{-1} đến 1615 cm^{-1}).

Qua khảo sát sơ bộ, quá trình tiền xử lý phổ Raman thô sử dụng kết hợp các công cụ đạo hàm bậc 1 (Savitzky – Golay 1st Differential), standard normal variate (SNV) và lấy giá trị trung bình trung tâm (center) đã giúp phổ sau tiền xử lý của các hỗn hợp đối chiếu có giá trị T_{CA} khác nhau tách biệt khỏi nhau và cường độ phổ thay đổi tỷ lệ thuận với giá trị T_{CA} (hình 2B). Quá trình tiền xử lý phổ cũng chỉ ra vùng dịch chuyển Raman từ 329 cm^{-1} đến 1691 cm^{-1} (hình 2C) là vùng tín hiệu phổ có cường độ thay đổi rõ rệt nhất theo giá trị T_{CA} . Trong vùng dịch chuyển này, tín hiệu phổ sau tiền xử lý thuộc các khoảng dịch chuyển từ 845 cm^{-1} đến 880 cm^{-1} (hình 2D), 1460

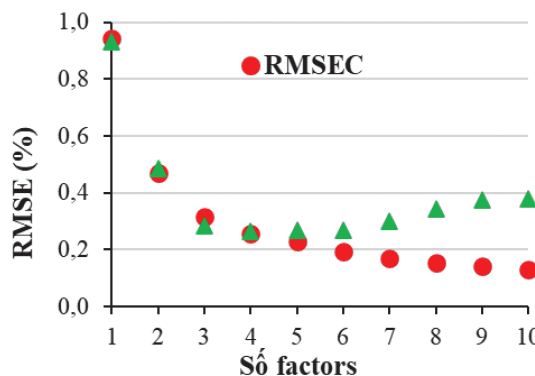
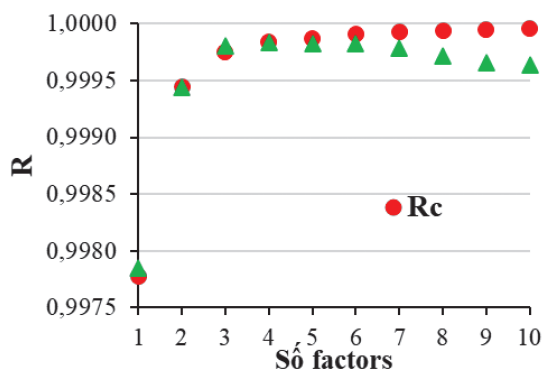
cm^{-1} đến 1505 cm^{-1} (hình 2E), 1560 cm^{-1} đến 1615 cm^{-1} (hình 2F) có cường độ lớn, ổn định tại mỗi mức giá trị T_{CA} và có sự thay đổi cường độ rõ rệt giữa các mức giá trị T_{CA} khác nhau được lựa chọn cho các bước tiếp theo của việc xây dựng và áp dụng phương pháp định lượng CA trong viên nén. Dữ liệu phổ của các hỗn hợp đối chiếu được dùng để xây dựng mô hình định lượng, dữ liệu phổ từ các hỗn hợp thăm định được dùng để thăm định phương pháp định lượng CA dựa vào mô hình, còn dữ liệu phổ của hỗn hợp thử được nạp vào mô hình để tính toán giá trị T_{CA} của hỗn hợp thử, từ đó suy ra hàm lượng CA trong mẫu thử.

3.3. Xây dựng mô hình định lượng CA từ dữ liệu phổ Raman đã qua tiền xử lý

Dữ liệu phổ đã qua tiền xử lý theo quy trình ở mục 3.2 của 80 phổ thuộc tập huấn luyện được sử dụng để tối ưu hóa mô hình định lượng CA trong chế phẩm sử dụng thuật toán bình phương tối thiểu một phần (PLS) với số lượng

factor sử dụng khác nhau.

Để có được mô hình tối ưu, số lượng factor đã được khảo sát từ 1 đến 10, tại mỗi số factor được sử dụng, mô hình được dùng để tính toán lại giá trị T_{CA} của các hỗn hợp đối chiếu dựa vào dữ liệu của các phổ thuộc tập huấn luyện và tập đánh giá nội mô hình.



Hình 3. Biến đổi của giá trị R (A) và RMSE (B) theo số factor sử dụng trong mô hình.

Về độ tuyến tính, các giá trị R_c , R_v đều đạt cao hơn 0,999 khi sử dụng từ 2 factor trở lên. Tuy nhiên, trong khi giá trị R_c duy trì xu hướng tăng lên sát 1 hơn khi nhiều factor hơn được sử dụng, thì giá trị R_v có xu hướng giảm xuống khi sử dụng từ 5 factor trở lên (hình 3A). Điều này cho thấy khi dùng từ 5 factor trở lên, mô hình thu được trở nên ngày càng đặc trưng cục bộ hơn cho khối dữ liệu được dùng để xây dựng mô hình (tập huấn luyện), trong khi cho tương quan tuyến tính giữa giá trị thực và giá trị dự đoán kém hơn trên khối dữ liệu “lạ” (tập đánh giá nội mô hình).

Tương tự như vậy, sai số giữa giá trị thực và giá trị tính lại của T_{CA} thể hiện qua RMSE giảm xuống với cả tập huấn luyện (RMSEC) và tập đánh giá nội mô hình (RMSEV) khi số factor sử dụng tăng dần từ 1 đến 4, và chênh lệch giữa RMSEC và RMSEV giảm xuống, đồng thời RMSEV đạt giá trị thấp nhất với 4 factor. Tuy nhiên, khi sử dụng từ 5 factor trở lên, RMSEV lại có xu hướng tăng lên trong khi RMSEC tiếp tục giảm, chênh lệch giữa RMSEC và RMSEV tăng lên (hình 3B). Như vậy, khả năng dự đoán của mô hình tăng lên trên cả tập huấn luyện và tập đánh giá nội mô hình khi số factor tăng từ 1 tới 4 và giảm đi trên tập đánh giá nội mô hình khi sử dụng từ 5 factor trở lên.

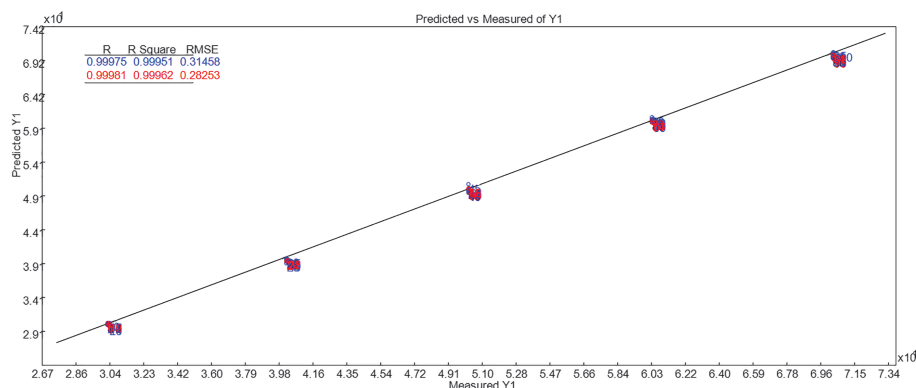
Những kết quả thu được với R và RMSE đều chỉ ra rằng sử dụng từ 5 factor trở lên sẽ khiến mô hình bị hiện

tượng overfitting, trở nên quá đặc trưng cục bộ cho dữ liệu trong tập huấn luyện, dẫn tới độ đúng sẽ kém đi khi dùng xác định T_{CA} của các hỗn hợp thử. Do đó, sử dụng 4 factor là phù hợp nhất, cho khả năng dự báo tốt nhất trên tập đánh giá nội mô hình, không bị hiện tượng overfitting. Từ quá trình tối ưu hóa, mô hình định lượng CA từ dữ liệu phổ Raman của các hỗn hợp đối chiếu thuộc tập huấn luyện sử dụng 4 factor đã được lựa chọn cho phương pháp định lượng CA trong chế phẩm.

3.4. Thẩm định phương pháp định lượng cefuroxim axetil sử dụng mô hình dựa trên dữ liệu phổ Raman

Để đáp ứng các yêu cầu của mô hình định lượng thường quy, mô hình định lượng CA đã xây dựng sẽ được thẩm định các chỉ tiêu về độ đặc hiệu, độ tuyến tính, độ đúng, độ chính xác (độ lặp lại và độ chính xác trung gian).

Về độ đặc hiệu, phần dữ liệu phổ Raman được sử dụng để xây dựng mô hình và định lượng CA trong mẫu thử đều được chọn ở vùng có cường độ tín hiệu dao động tỷ lệ thuận theo giá trị T_{CA} , tức là tỷ lệ khối lượng giữa CA và chuẩn nội, trong hỗn hợp đo phổ, đảm bảo độ đặc hiệu. Mặt khác, mức độ đặc hiệu của một phương pháp định lượng còn thể hiện qua độ tuyến tính, độ đúng, độ chụm. Các kết quả thẩm định những chỉ tiêu này cũng đều đạt yêu cầu của ICH, AOAC International (cụ thể trong các phần dưới) cho thấy phương pháp đảm bảo độ đặc hiệu.



Hình 4. Tương quan tuyến tính giữa các giá trị thực (Measured Y1) và giá trị dự đoán từ mô hình (Predicted Y1) của TCA trên hỗn hợp đối chiếu.

Độ tuyến tính của phương pháp được đánh giá thông qua khả năng mô hình định lượng cho kết quả xác định lại giá trị T_{CA} của các hỗn hợp đối chiếu và hỗn hợp thẩm định có tương quan tuyến tính chặt chẽ với giá trị thực T_{CA} biết trước của các hỗn hợp này trong toàn bộ dải giá trị T_{CA} của các hỗn hợp đối chiếu sử dụng để huấn luyện và đánh giá nội mô hình. Kết quả thực nghiệm cho thấy mô hình đã xây dựng cho phương pháp định lượng CA có độ tuyến tính tốt trên toàn dải giá trị T_{CA} từ 30% đến 70% các hệ số tương quan R_c , R_v tương ứng với tập huấn luyện và tập đánh giá nội mô hình đều cao hơn 0,999 (hình 4). Khoảng giá trị T_{CA} này tương ứng 60% đến 140% mức giá trị làm việc của T_{CA} (50%).

Độ chính xác và độ đúng của phương pháp được đánh giá trên các hỗn hợp thẩm định có giá trị T_{CA} biết trước tương ứng 70%, 100% và 130% mức giá trị làm việc, kết quả tập hợp trong bảng 4. Về độ đúng, độ thu hồi ở cả 3 mức thẩm định đều nằm trong khoảng 98 – 102% với RSD đều dưới 1,0%. Về độ chính xác, đánh giá độ lặp lại và độ chính xác trung gian đều cho RSD dưới 1,0%. Như vậy, kết quả thẩm định độ đúng, độ chính xác của phương pháp đều đạt yêu cầu của AOAC International [9]. Khoảng làm việc của phương pháp do đó nằm trong dải giá trị T_{CA} từ 70% đến 130%, đáp ứng yêu cầu của ICH Q2(R2) [8].

Bảng 4. Kết quả thẩm định độ đúng, độ chính xác

Mức giá trị T_{CA} thẩm định (n = 6 cho mỗi mức)	Khoảng tỷ lệ thu hồi (%)	Độ thu hồi (TB ± SD) (n = 6 cho mỗi mức)	RSD (%) (n = 6 cho mỗi mức)
Độ đúng			
70% mức làm việc ($T_{CA} = 35\%$)	98,9 – 101,4	100,5 ± 0,9	0,9
100% mức làm việc ($T_{CA} = 50\%$)	98,9 – 101,2	100,3 ± 0,9	0,9
130% mức làm việc ($T_{CA} = 65\%$)	99,5 – 101,1	100,4 ± 0,6	0,5
Độ lặp lại (n = 6), độ chính xác trung gian (2 KNV, n = 12)			
100% mức làm việc ($T_{CA} = 50\%$) (KNV1, ngày 1, n = 6)			0,9
100% mức làm việc ($T_{CA} = 50\%$) (KNV2, ngày 2, n = 6)			0,6
100% mức làm việc ($T_{CA} = 50\%$) (2 KNV, 2 ngày, n = 12)			0,7

3.5. Áp dụng trên mẫu thực

Phương pháp định lượng CA trong chế phẩm dựa trên dữ liệu phổ Raman đã được áp dụng trên một lô khác của sản phẩm này và so sánh với kết quả phân tích sử dụng phương pháp HPLC của Dược điển Hoa Kỳ [3] (Bảng 5). Hàm lượng trung bình của CA trong lô này khi phân tích bằng phương pháp Raman và phương pháp HPLC khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Bảng 5. Kết quả định lượng CA trong chế phẩm và so sánh với kết quả HPLC

Số lô	Hàm lượng CA (% , kl/kl) (TB $\pm$ SD)	
	Raman (n = 6)	HPLC (n = 6)
C49C021	64,8 $\pm$ 0,9	64,6 $\pm$ 0,7
Kết quả ANOVA single factor	$P = 0,51 > 0,05$ $F_{\text{thực nghiệm}} = 0,47 < F_{\text{critical}} = 4,96$	

3.6. Bàn luận

Một trong những khó khăn lớn nhất khi xây dựng phương pháp định lượng dược chất trong các thành phẩm thuốc bằng các kỹ thuật quang phổ như quang phổ Raman là không chế được ảnh hưởng từ nền mẫu. Khi biết trước thành phần chính xác của công thức bào chế, mô hình định lượng có thể được xây dựng từ dữ liệu phổ Raman của các mẫu đối chiếu được chuẩn bị bằng cách phối trộn dược chất với hỗn hợp tá dược theo đúng thành phần công thức bào chế.

Tuy nhiên, với trường hợp không biết công thức bào chế chính xác (thành phần tá dược, tỷ lệ khối lượng giữa các thành phần, nhất là tỷ lệ khối lượng giữa các tá dược có vai trò quan trọng trong việc tạo ra đáp ứng phổ tổng hợp của nền mẫu) sẽ không thể sử dụng cách tiếp cận kể trên. Trong nghiên cứu này, để khắc phục khó khăn khi không biết thành phần chính xác của nền mẫu, các hỗn hợp đối chiếu có tỷ lệ % (kl/kl) chính xác của CA trên tổng khối lượng CA và chuẩn nội (T_{CA}) được tạo ra bằng cách trộn bột đối chiếu đã biết hàm lượng CA với chuẩn nội, sau đó mô hình định lượng được xây dựng dựa trên quan hệ giữa giá trị T_{CA} và dữ liệu phổ nhằm hạn chế ảnh hưởng của các thành phần nền mẫu không biết chính xác.

Kết quả thẩm định phương pháp và áp dụng định lượng CA trong mẫu thử đã cho thấy phương pháp định lượng dựa trên dữ liệu phổ Raman đáp ứng các yêu cầu về hiệu năng của phương pháp phân tích của ICH Q2(R2) [8] và AOAC International [9], như vậy cách tiếp cận sử dụng paracetamol làm chuẩn nội để xây dựng mô hình định lượng CA đã cho phép khắc phục ảnh hưởng từ nền mẫu không biết thành phần để đảm bảo độ tin cậy của kết quả định lượng. Bên cạnh đó, kết quả định lượng CA trên cùng lô mẫu chế phẩm bằng phương pháp Raman tương đồng

với phương pháp HPLC của Dược điển Hoa Kỳ (Bảng 5) chứng tỏ phương pháp sử dụng quang phổ Raman có thể là giải pháp kỹ thuật thay thế phù hợp cho phương pháp của Dược điển Hoa Kỳ, đồng thời khẳng định tính khả thi của việc ứng dụng quang phổ Raman để định lượng các dược chất có hiệu ứng Raman, như đã được chứng minh trên một số dược chất khác [5, 6].

Đồng thời, kết quả thu được trong nghiên cứu này cũng cho thấy việc sử dụng chuẩn nội cho phép khắc phục ảnh hưởng từ nền mẫu không biết rõ để xây dựng phương pháp định lượng CA trong chế phẩm cho kết quả tin cậy từ dữ liệu phổ Raman. Như vậy cách tiếp cận được sử dụng trong nghiên cứu này có thể sử dụng để xây dựng phương pháp định lượng CA, và xa hơn là cả các dược chất khác có tín hiệu phổ Raman, trong chế phẩm thuốc có thành phần công thức bào chế không biết chính xác.

4. KẾT LUẬN

Phương pháp định lượng CA trong chế phẩm viên nén Zanimex 500 có công thức bào chế không biết chính xác được xây dựng sử dụng mô hình được thiết lập từ dữ liệu phổ Raman của hỗn hợp đối chiếu chứa chuẩn nội paracetamol đã tiền xử lý ở các vùng dịch chuyển 845 cm^{-1} - 880 cm^{-1} , 1460 cm^{-1} đến 1505 cm^{-1} , 1560 cm^{-1} đến 1615 cm^{-1} với thuật toán hồi quy bình phương tối thiểu một phần (PLS). Nguyên tắc tiền xử lý phổ và thiết lập mô hình đơn giản, sử dụng các thuật toán hoá, tiện ích sẵn có tích hợp trên phần mềm xử lý phổ thương mại, thuận lợi cho áp dụng thường quy mà không cần hiểu biết quá sâu về toán hoá hay sử dụng các phần mềm chuyên dụng cho toán hoá. Phương pháp định lượng đã được thẩm định theo các yêu cầu của ICH Q2(R2), AOAC International, kết quả thẩm định cho thấy phương pháp đảm bảo độ tin cậy và hiệu năng cần thiết cho ứng dụng dự kiến.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Harding SM, Williams PE, Ayrton J (1984), Pharmacology of Cefuroxime as the 1-acetoxyethyl ester in volunteers, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 25 (1), 78 - 82.
2. Cục Quản lý Dược, Bộ Y tế, truy cập ngày 04/10/2025, tại trang web <https://dichvucong.dav.gov.vn/congbothuoc/index>.
3. United States Pharmacopoeia (2023), Cefuroxime axetil tablets, USP-NF 2023 (electronic edition).
4. British Pharmacopoeia (2023), Cefuroxime axetil tablets, BP 2023 (electronic edition).
5. Bui BD, Ho MK, Tran T, Le TBT, Dao TCM (2025), Determination of ibuprofen content in tablets using Raman spectroscopy, *Hue Journal of Medicine and Pharmacy*, 15 (4), 19 – 26.
6. Razaaq R, Zulfiqar A, Majeed MI et al. (2025), Raman spectroscopy and chemometric tools for the qualitative and quantitative analysis of pharmaceutical formulations of rosuvastatin, *Plasmonics*, <https://doi.org/10.1007/s11468-025-03050-z>.
7. Bộ Y tế (2017), Paracetamol, *Dược điển Việt Nam V*, Tập 1, tr.726 – 728.
8. ICH (2022), Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R2).
9. AOAC International (2016), Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements, AOAC Official Methods.