

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF PERINDOPRIL ARGININE, AMLODIPINE BESYLATE AND INDAPAMIDE IN TABLET BY A HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY METHOD

NGUYEN VAN BACH¹, NGUYEN THI HONG VAN¹, CAO VAN ANH¹, ✉

¹ Vietnam Military Medical University

✉ Corresponding author: caovananh12a1@gmail.com

Received July 30th, 2026

Accepted August 17th, 2026

Abstract: Objectives: To develop and validate a procedure for the simultaneous quantifying perindopril arginine (PER), amLodipine besylate (AML) và indapamide (IND) in tablet by high-performance liquid chromatography (HPLC). **Methods:** PER, AML and IND were simultaneously determined by HPLC using a Reliant C₁₈ Column (100 Å, 5 µm, 4,6 mm × 150 mm), column temperature of 26°C, flow rate of 1.0 mL/min, detector UV at 215 nm, injection volume was 20 µL, mobile phase consisting of acetonitrile and 0.2% phosphoric acid in water with a gradient program; validated according to ICH guideline. **Results:** The validation results for system suitability, specificity, linearity, precision, and accuracy showed that this method conformed to the ICH requirements. **Conclusion:** The quantitative method can be used to simultaneously quantify PER, AML and IND in tablet.

Keywords: Perindopril; AmLodipine; Indapamide; HPLC; Tablet.

NGHIÊN CỨU ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI PERINDOPRIL ARGININ, AMLODIPIN BESYLAT VÀ INDAPAMID TRONG VIÊN NÉN BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

NGUYỄN VĂN BẠCH¹, NGUYỄN THỊ HỒNG VÂN¹, CAO VĂN ANH¹, ✉

¹ Học viện Quân y

✉ Tác giả liên hệ: caovananh12a1@gmail.com

Nhận bài ngày 30 tháng 07 năm 2026

Chấp nhận đăng ngày 17 tháng 08 năm 2026

Tóm tắt: Mục tiêu: Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng đồng thời perindopril arginin (PER), amLodipin besylat (AML) và indapamid (IND) trong viên nén bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). **Phương pháp nghiên cứu:** Định lượng PER, AML và IND bằng phương pháp HPLC với cột sắc ký Reliant C₁₈ (100 Å, 5 µm, 4,6 mm × 150 mm), nhiệt độ cột 26°C, tốc độ dòng 1,0 mL/phút, detector UV tại bước sóng 215 nm, thể tích tiêm 20 µL, pha động gồm acetonitril: dung dịch acid phosphoric (0,2% trong nước) theo chương trình gradient; thẩm định phương pháp theo hướng dẫn của ICH. **Kết quả:** Phương pháp đảm bảo tính tương thích hệ thống, tính đặc hiệu, khoảng tuyến tính, độ chính xác và độ đúng theo quy định của ICH. **Kết luận:** Phương pháp định lượng đảm bảo các yêu cầu và có thể sử dụng để định lượng đồng thời PER, AML và IND trong viên nén.

Từ khóa: Perindopril; AmLodipin; Indapamid; HPLC; Viên nén.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay ở Việt Nam cũng như trên thế giới, dạng thuốc phối hợp giữa PER, AML và IND đã và đang được sử dụng rộng rãi trong điều trị tăng huyết áp, đặc biệt ở bệnh nhân cần phối hợp nhiều cơ chế hạ huyết áp hoặc chưa kiểm soát được huyết áp bằng đơn trị liệu. Sự phối hợp này tác động đồng thời lên hệ renin-angiotensin-aldosteron, cơ trơn thành mạch và tái hấp thu natri tại ống thận, giúp kiểm soát huyết áp hiệu quả, cải thiện tuân thủ điều trị và giảm nguy cơ biến cố tim mạch [1 – 3].

Để kiểm soát chất lượng các chế phẩm phối hợp, cần có phương pháp định lượng đồng thời ba hoạt chất bảo đảm độ đặc hiệu, độ chính xác và độ đúng. USP và BP hiện mới có chuyên luận riêng cho từng hoạt chất, chưa có chuyên luận định lượng đồng thời trong viên nén. Với một số nghiên cứu trước đây đã áp dụng HPTLC hoặc HPLC-UV để định lượng đồng thời ba hoạt chất này trong chế phẩm, các phương pháp này vẫn tồn tại một số hạn chế nhất định. HPTLC tuy tối ưu cho việc sàng lọc nhanh và tiết kiệm chi phí [4], nhưng HPLC-UV vẫn là lựa chọn bắt buộc trong thẩm định chính thức, thử nghiệm độ ổn định và định lượng tạp chất theo yêu cầu của các cơ quan quản lý nhờ độ chính xác và độ tin cậy cao. Đối với các quy trình HPLC-UV đã công bố, việc sử dụng đệm muối phosphate làm tăng rủi ro kết tủa, gây tắc nghẽn và giảm tuổi thọ hệ thống/cột phân tích [5]. Ngoài ra, việc dùng tỉ lệ dung môi hữu cơ cao để rửa giải nhanh dẫn đến số đĩa lý thuyết thấp và hệ số kéo đuôi lớn, có thể ảnh hưởng đến độ ổn định của kết quả định lượng [5]. Từ các nguyên nhân đó, chúng tôi phát triển một phương pháp có quy trình xử lý mẫu và điều kiện phân tích đơn giản, thân thiện với thiết bị nhưng vẫn đáp ứng đầy đủ các tiêu chuẩn thẩm định của ICH và Dược điển Việt Nam, phù hợp cho kiểm nghiệm thường quy chế phẩm kết hợp ba hoạt chất này.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu chế phẩm viên nén dạng kết hợp của perindopril, amLodipin và indapamid đang lưu hành trên thị trường: T1 và T2 đều có hàm lượng PER, AML và IND lần lượt là 5 mg, 5 mg và 1,25 mg.

2.2. Nguyên vật liệu, thiết bị nghiên cứu

2.2.1. Thiết bị, dụng cụ

- Hệ thống HPLC Alliance Waters 2695D; Cột sắc ký pha đảo Reliant C18 (100 Å, 5 µm, 4,6 mm × 150 mm).
- Cân phân tích Mettler Toledo độ chính xác 0,1 mg.

- Các thiết bị, dụng cụ khác: máy siêu âm, micropipet, dụng cụ thủy tinh cần thiết (bình định mức, pipet, ống đong, phễu lọc...).

2.2.2. Hóa chất và chất chuẩn:

- Dung môi, hóa chất: Acetonitril, ethanol, acid phosphoric (HPLC, Merck - Đức), nước cất 2 lần đạt tiêu chuẩn tinh khiết dùng cho phân tích sắc ký.
- Chất chuẩn: Perindopril arginin ($C_{23}H_{34}N_2O_5 \cdot C_6H_{14}N_4O_2$), hàm lượng: 94,9% (nguyên trạng), SKS: QT4250125 và amLodipin besylat ($C_{20}H_{25}ClN_2O_5 \cdot C_6H_6O_3S$), hàm lượng: 99,9% (nguyên trạng), SKS: QT1450124 của Viện Kiểm nghiệm thuốc TP. Hồ Chí Minh; indapamid ($C_{16}H_{16}ClN_3O_3S$), hàm lượng: 98,4% (nguyên trạng), SKS: C0321244 của Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương.

2.3. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

* Phương pháp chuẩn bị mẫu

- Mẫu dung môi: Dung dịch ethanol 70%.

- Dung dịch chuẩn gốc: Cân chính xác khoảng 100 mg PER, 100 mg AML và 25 mg IND vào bình định mức 100 mL, thêm EtOH 70% đến vạch để thu được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ tương ứng 1000 µg/mL, 1000 µg/mL và 250 µg/mL.

- Dung dịch chuẩn làm việc: Pha loãng dung dịch chuẩn gốc bằng EtOH 70% thu được dãy chuẩn có nồng độ PER và AML 50 – 150 µg/mL, IND 12,5 – 37,5 µg/mL.

- Dung dịch thử: Cân chính xác 20 viên nén, tính khối lượng trung bình viên và nghiền mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương đương khoảng 10 mg PER, 10 mg AML và 2,5 mg IND vào bình định mức 100 mL, hòa tan và định mức đến vạch bằng dung dịch EtOH 70% thu được dung dịch thử. Lọc qua giấy lọc, bỏ 10 mL dịch lọc đầu, thu được dung dịch có nồng độ cuối cùng là 100 µg/mL PER, 100 µg/mL AML và 25 µg/mL IND.

* Khảo sát, lựa chọn điều kiện sắc ký

Dựa trên các tài liệu tham khảo và các trang thiết bị, dung môi có sẵn, chúng tôi đã tiến hành khảo sát lựa chọn một số thông số của điều kiện sắc ký gồm: khảo sát lựa chọn bước sóng phát hiện, khảo sát pha động (thay đổi thành phần và tỷ lệ các dung môi trong pha động).

* Thẩm định phương pháp đã lựa chọn

Phương pháp phân tích phải đạt yêu cầu của ICH [6] về thẩm định phương pháp định lượng bao gồm chỉ tiêu về đánh giá tính tương thích hệ thống, độ đặc hiệu, đường chuẩn và khoảng tuyến tính, độ đúng và độ chính xác.

* Xử lý số liệu

Các kết quả thực nghiệm được tính toán và xử lý thống kê trên Microsoft Excel với các hàm thống kê thông dụng.

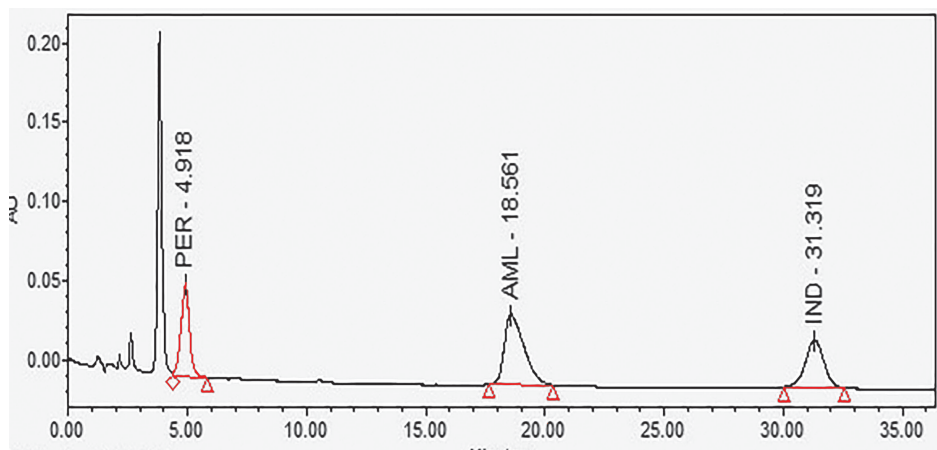
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát điều kiện sắc ký

*Lựa chọn pha động:

Trong quá trình tối ưu hóa điều kiện sắc ký, khả năng phân tách của các hệ pha động đẳng dòng gồm

acetonitrile (ACN) và dung dịch acid phosphoric (H_3PO_4) 0,2% trong nước đã được khảo sát đầu tiên. Kết quả cho thấy khi sử dụng tỷ lệ ACN 35% và 30%, amLodipin và perindopril bị rửa giải rất nhanh, các pic chất phân tích không tách rời khỏi tín hiệu của nền mẫu. Khi giảm tỷ lệ ACN xuống 25%, mặc dù tổng thời gian phân tích kéo dài lên đến khoảng 35 phút, pic perindopril vẫn chưa tách hoàn toàn khỏi đường nền và pic của ion besylate (Hình 1).



Hình 1. Khảo sát điều kiện sắc ký đẳng dòng ACN : H_3PO_4 0,2% (25 : 75).

Từ các kết quả này, chế độ rửa giải đẳng dòng được xác định là không đáp ứng mục tiêu tách đồng thời 3 chất phân tích trong thời gian dưới 30 phút. Do đó, chương trình rửa giải gradient đã được nghiên cứu và áp dụng; qua quá trình khảo sát, điều chỉnh chương trình gradient (Bảng 1), điều kiện sắc ký tối ưu đã được thiết

lập. Ở điều kiện này, cả 3 chất phân tích được rửa giải hoàn toàn trong khoảng 22 phút với đường nền ổn định, các pic tách hoàn toàn khỏi nhau và khỏi các thành phần nền, đồng thời đáp ứng đầy đủ các tiêu chuẩn về tính tương thích hệ thống như hệ số kéo đuôi và số đĩa lý thuyết N.

Bảng 1. Chương trình pha động

Thời gian (phút)	Tốc độ dòng (mL/phút)	Pha động (%)	
		Acetonitril	Acid phosphoric 0,2%
0	1,0	10	90
25	1,0	48	52
26	1,0	10	90

* Lựa chọn bước sóng phát hiện:

Qua tham khảo dược điển Mỹ [7] và các nghiên cứu đã công bố, bước sóng 215 nm cho độ nhạy tốt đối với PER, đồng thời AML và IND cũng có đáp ứng tốt, ổn định nên được lựa chọn làm bước sóng phát hiện cho cả ba hoạt chất.

3. 2. Kết quả thẩm định phương pháp định lượng

3.2.1. Tính tương thích của hệ thống

Tiến hành phân tích 6 lần mẫu chuẩn hỗn hợp có nồng PER, AML và IND tương ứng khoảng 100, 100 và 25 $\mu\text{g/mL}$. Kết quả được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Kết quả khảo sát độ tương thích của hệ thống sắc ký

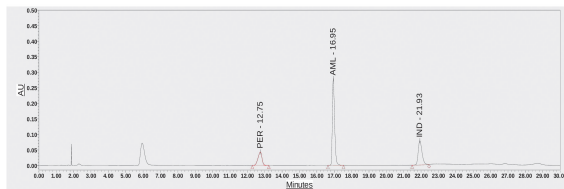
STT		1	2	3	4	5	6	TB	RSD %
PER	tR (phút)	12,85	12,79	12,75	12,72	12,70	12,67	12,75	0,49
	Spic (μV.s)	700114	698505	692958	692191	695700	696133	695934	0,44
	Tf	0,86	0,86	0,85	0,86	0,86	0,86	0,86	-
	N	14463	14107	14069	13914	13965	13856	14062	-
AML	tR (phút)	17,03	16,97	16,95	16,92	16,90	16,87	16,94	0,33
	Spic (μV.s)	2568201	2581079	2559349	2568614	2597274	2570511	2574171	0,52
	Tf	1,39	1,41	1,38	1,38	1,39	1,38	1,39	-
	N	82161	82319	80059	80465	79679	79132	80636	-
IND	tR (phút)	21,93	21,93	21,93	21,92	21,93	21,91	21,93	0,03
	Spic (μV.s)	1231768	1230295	1245619	1214801	1209891	1220087	1225410	1,07
	Tf	1,27	1,31	1,29	1,3	1,28	1,25	1,28	-
	N	51078	50627	49595	49341	49846	49775	50044	-

(t_R : Thời gian lưu; S_{pic} : Diện tích pic; T_f : Hệ số bất đối; N : Số đĩa lý thuyết; TB : Trung bình)

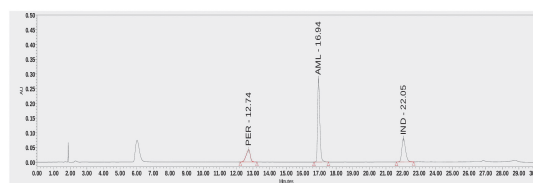
Độ lệch chuẩn tương đối RSD (%) của thời gian lưu, diện tích pic của PER, AML và IND trong 6 phép thử đều trong khoảng cho phép (< 2%), hệ số bất đối lần lượt là 0,86; 1,39 và 1,28; số đĩa lý thuyết cao. Như vậy, hệ thống phù hợp và đảm bảo ổn định cho phép phân tích định lượng.

3.2.2. Độ đặc hiệu

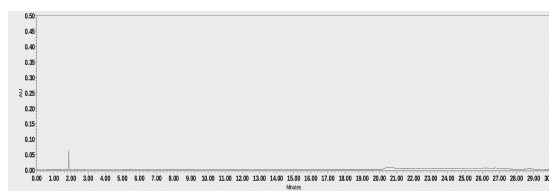
Phân tích mẫu dung môi, dung dịch chuẩn hỗn hợp và dung dịch thử có nồng độ PER, AML và IND tương ứng 100; 100 và 25 μg/mL. Kết quả sắc ký đồ, phổ UV được ghi ở hình 2 và hình 3.



Mẫu chuẩn

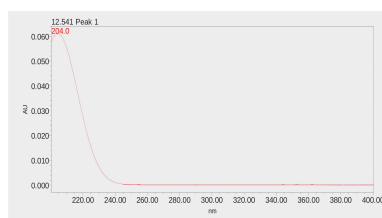


Mẫu thử

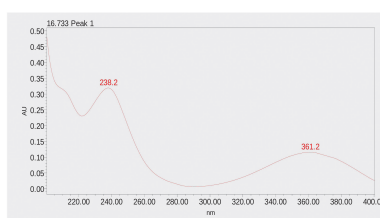


Mẫu dung môi

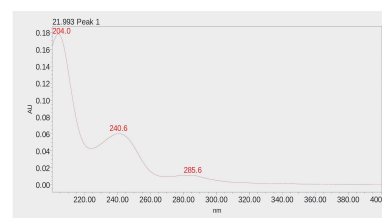
Hình 2. Sắc ký đồ thẩm định độ đặc hiệu



PER

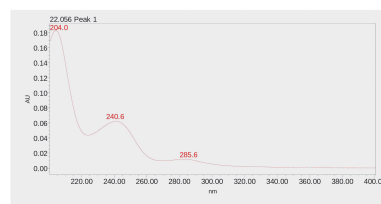
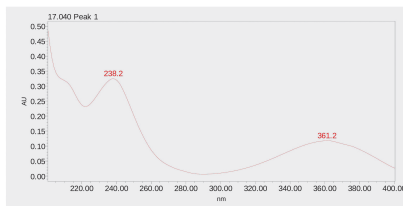
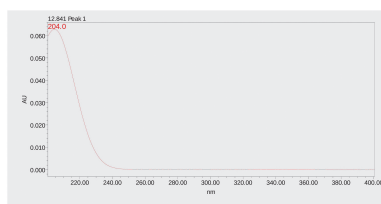


AML



IND

Mẫu chuẩn



Mẫu thử

Hình 3. Phổ UV của mẫu chuẩn và mẫu thử.

Sắc ký đồ mẫu dung môi không xuất hiện pic tại thời gian lưu của PER, AML và IND. Sắc ký đồ mẫu chuẩn và mẫu thử có các pic tương ứng tại khoảng 12,75; 16,95 và 21,93 phút với phổ UV và thời gian lưu phù hợp, chứng tỏ phương pháp đáp ứng yêu cầu về độ đặc hiệu.

3.2.3. Đường chuẩn và khoảng tuyến tính

Phân tích dãy dung dịch chuẩn làm việc, kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Mối liên quan giữa nồng độ PER, AML và IND với diện tích pic

STT	PER		AML		IND	
	Nồng độ (µg/mL)	S _{pic} (µV.s)	Nồng độ (µg/mL)	S _{pic} (µV.s)	Nồng độ (µg/mL)	S _{pic} (µV.s)
1	48,4	355715	51,95	1295552	12,04	585951
2	72,6	531643	77,93	1959620	18,06	917126
3	96,8	696133	103,9	2580459	24,08	1242397
4	121,0	892059	129,88	3265469	30,10	1573620
5	145,2	1022736	155,85	3923014	36,12	1938212
KQ	Y = 7001,9X + 21874 R = 0,9986		Y = 25258X + 19486 R = 0,9999		Y = 55831X + 92945 R = 0,9997	

(S_{pic}: Diện tích pic; KQ: Kết quả; STT: Số thứ tự)

Có sự tương quan tuyến tính giữa diện tích pic và nồng độ chất phân tích trong khoảng nồng độ khảo sát với hệ số tương quan (R) của PER, AML và IND đều lớn hơn 0.998. Phương pháp đạt yêu cầu về độ tuyến tính.

3.2.4. Độ chính xác

- Độ lặp lại: Tiêm lần lượt 6 mẫu dung dịch thử cùng nồng độ vào hệ thống sắc ký.
- Độ chính xác trung gian: Tiêm 6 mẫu dung dịch thử được chuẩn bị bởi 2 nghiên cứu viên khác nhau vào các ngày khác nhau. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả khảo sát độ lặp lại và độ chính xác trung gian.

NCV	STT	KL mẫu (g)	PER		AML		IND	
			S _{pic} (µV.s)	HL % so với nhãn	S _{pic} (µV.s)	HL % so với nhãn	S _{pic} (µV.s)	HL % so với nhãn
NCV1	1	0,3064	701110	96,73	2550501	101,889	1288784	99,13
	2	0,3082	721864	99,01	2522397	100,178	1264297	96,68
	3	0,3016	719044	100,78	2542120	103,171	1268128	99,09
	4	0,3102	717603	97,79	2541460	100,284	1291864	98,15
	5	0,2992	717865	101,42	2513289	102,819	1276503	100,55
	6	0,3004	720577	101,4	2521002	102,722	1269877	99,63
	TB			99,52		101,84		98,87
	RSD (%)			1,99		1,29		1,34

NCV	STT	KL mẫu (g)	PER		AML		IND	
			S _{pic} (μV.s)	HL % so với nhãn	S _{pic} (μV.s)	HL % so với nhãn	S _{pic} (μV.s)	HL % so với nhãn
NCV2	1	0,3042	712856	99,06	2548902	102,56	1285254	99,58
	2	0,2976	698765	99,26	2498902	102,78	1259874	99,78
	3	0,3028	710234	99,15	2508902	101,42	1279654	99,60
	4	0,302	724132	101,36	2518902	102,09	1287251	100,46
	5	0,2994	695879	98,25	2488902	101,75	1268574	99,86
	6	0,303	709857	99,03	2514902	101,59	1287865	100,18
TB				99,44		101,94		99,39
RSD (%)				1,53		0,95		1,08

(NCV: Nghiên cứu viên; KL: Khối lượng; HL: Hàm lượng; STT: Số thứ tự)

Kết quả thẩm định độ thu hồi của 3 dược chất đều nằm trong khoảng 98 – 102% với RSD < 2%. Như vậy, phương pháp đạt yêu cầu về độ chính xác theo ICH.

3.2.5. Độ đúng

Chuẩn bị các mẫu thử thêm chuẩn theo bảng 5, pha loãng 2 lần và tiêm vào hệ thống sắc ký. Đánh giá độ thu hồi và RSD % của độ thu hồi. Kết quả trình bày ở Bảng 6.

Bảng 5. Chuẩn bị mẫu thẩm định độ đúng

Mẫu thử thêm chuẩn	m _{thử} (g)	V _{S0} thêm (mL)	V _{EtOH 70%} (mL)
80%	0,3086	8,0	Vừa đủ 100 mL
	0,2994		
	0,3062		
100%	0,3105	10,0	
	0,3082		
	0,3023		
120%	0,3084	12,0	
	0,3121		
	0,3174		

Bảng 6. Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp

Mẫu		PER				AML				IND			
		NĐC TV (μg/mL)	S _{pic} TTC (μV.s)	NĐ C TH (μg/mL)	Độ TH (%)	NĐC TV (μg/mL)	S _{pic} TTC (μV.s)	NĐ C TH (μg/mL)	Độ TH (%)	NĐC TV (μg/mL)	S _{pic} TTC (μV.s)	NĐ C TH (μg/mL)	Độ TH (%)
80%	1	77,44	638598	76,08	98,3	83,12	2317595	85,12	102,4	19,264	1142388	18,90	98,1
	2		634936	78,09	100,8		2259333	83,45	100,4		1129934	19,18	99,6
	3		638320	76,80	99,2		2300043	84,49	101,7		1153198	19,52	101,3
	TB (%)				99,4				101,5				99,7
	RSD (%)				1,32				0,99				1,61

Mẫu		PER				AML				IND			
		NĐC TV (µg/mL)	S _{pic} TTC (µV.s)	NĐ C TH (µg/mL)	Độ TH (%)	NĐC TV (µg/mL)	S _{pic} TTC (µV.s)	NĐ C TH (µg/mL)	Độ TH (%)	NĐC TV (µg/mL)	S _{pic} TTC (µV.s)	NĐ C TH (µg/mL)	Độ TH (%)
100%	1	96,8	708133	94,80	97,9	103,9	2565070	104,42	100,5	24,08	1266923	23,58	97,9
	2		711780	95,57	99,8		2529561	102,32	98,5		1264643	23,68	98,3
	3		710904	98,27	101,5		2499369	101,83	98,0		1259662	23,97	99,5
	TB (%)				99,8			99,0				98,6	
	RSD (%)				1,80			1,34				0,86	
120%	1	116,16	791051	118,55	102,1	124,68	2811290	124,94	100,2	28,896	1386236	28,37	98,2
	2		789296	116,84	100,6		2808544	123,50	99,1		1408261	28,92	100,1
	3		801481	118,49	102,0		2799936	121,07	97,1		1404292	28,33	98,1
	TB (%)				101,6			98,8				98,8	
	RSD (%)				0,82			1,59				1,16	

(S_{pic}: Diện tích pic; NĐC TV: Nồng độ chuẩn thêm vào; TTC: Thử thêm chuẩn; NĐC TH: Nồng độ chuẩn thu hồi; TH: Thu hồi; TB: Trung bình)

Tỷ lệ thu hồi ở tất cả các mẫu đều nằm trong khoảng 98,0 – 102% với RSD ≤ 2%. Phương pháp đáp ứng yêu cầu về độ đúng của ICH.

3.3. Ứng dụng xác định hàm lượng PER, AML và IND trong chế phẩm

Áp dụng phương pháp định lượng 2 chế phẩm viên nén T1 và T2 với tỷ lệ kết hợp của PER, AML và IND là 5/5/1,25. Kết quả thể hiện trong bảng 7.

Bảng 7. Kết quả định lượng chế phẩm

Mẫu	Lượng cân (g)	PER			AML			IND		
		S _{pic} (µV.s)	Hàm lượng		S _{pic} (µV.s)	Hàm lượng		S _{pic} (µV.s)	Hàm lượng	
			mg	% so với nhãn		mg	% so với nhãn		mg	% so với nhãn
T1.1	0,3005	704587	9,8	99,12	2499745	10,07	101,82	1276643	2,47	100,13
T1.2	0,3102	712651	9,91	97,12	2504879	10,09	98,84	1285272	2,49	97,65
T1.3	0,3073	712321	9,91	97,99	2574201	10,37	102,54	1274371	2,47	97,74
TB				98,07				101,01		
RSD %				1,0				1,96		
T2.1	0,3086	720154	10,01	98,65	2538735	10,22	100,7	1287843	2,50	98,36
T2.2	0,3012	718597	9,99	100,85	2518647	10,14	102,35	1301272	2,52	101,82
T2.3	0,2985	698735	9,72	98,95	2507846	10,10	102,84	1274201	2,47	100,61
TB				99,48				101,96		
RSD %				1,19				1,12		

Kết quả: Hàm lượng PER, AML và IND trong các chế phẩm đều từ 98,07 – 101,9% so với hàm lượng ghi trên nhãn, đạt yêu cầu về hàm lượng.

4. BÀN LUẬN

Cột pha đảo C_{18} dài 15 cm và 25 cm (5 μ m) được sử dụng phổ biến trong HPLC. So với cột 25 cm, cột 15 cm giúp giảm áp suất hệ thống, tiết kiệm dung môi và rút ngắn thời gian phân tích, trong khi vẫn bảo đảm độ phân giải và hình dạng pic đạt yêu cầu. Vì vậy, cột C_{18} (150 $\times$ 4,6 mm; 5 μ m) được lựa chọn cho nghiên cứu này.

Do PER có hệ số hấp thụ UV thấp, bước sóng 215 nm được lựa chọn theo chuyên luận USP. Khảo sát phổ UV (Hình 3) cho thấy AML và IND cũng hấp thụ tốt tại bước sóng này, cho phép định lượng đồng thời ba hoạt chất với độ nhạy cao trên hệ thống HPLC sử dụng đầu dò UV.

Do PER, AML và IND có độ phân cực khác nhau, chương trình rửa giải gradient với hệ ACN – pha nước được lựa chọn nhằm bảo đảm khả năng tách và rút ngắn thời gian phân tích. ACN có độ nhớt thấp hơn methanol, góp phần giảm áp suất hệ thống. Điều kiện sắc ký tối ưu

đáp ứng yêu cầu Dược điển, đồng thời nâng cao hiệu quả phân tích.

Quy trình được xây dựng có thể áp dụng cho các chế phẩm phối hợp chứa PER, AML và IND với tỷ lệ hàm lượng khác so với trong nghiên cứu sau khi điều chỉnh bước chuẩn bị mẫu và đường chuẩn.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng và thẩm định được phương pháp HPLC định lượng đồng thời PER, AML và IND trong viên nén sử dụng cột Reliant C_{18} (100 Å, 5 μ m, 4,6 mm $\times$ 150 mm), tốc độ dòng 1,0 mL/phút, đầu dò UV tại bước sóng 215 nm, thể tích tiêm 20 μ L, pha động gồm acetonitril: dung dịch acid phosphoric (0,2% trong nước) theo chương trình gradient. Kết quả thẩm định chứng tỏ phương pháp có độ đặc hiệu tốt, độ đúng và độ chính xác cao trong khoảng tuyến tính của cả 3 chất, có thể sử dụng để định lượng một số chế phẩm đang lưu hành trên thị trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Williams B, Mancia G, Spiering W, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J*. 2018; 39(33):3021-3104.
- Whelton PK, Carey RM, Aronow WS, et al. 2017 ACC/AHA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults. *Hypertension*. 2018; 71(6):e13-e115.
- Gupta AK, Arshad S, Poulter NR. Compliance, safety, and effectiveness of fixed-dose combinations of antihypertensive agents. *Hypertension*. 2010; 55(2):399-407.
- Patel K, Chhalotiya UK, Kacchiya H, Patel J, Shah D, Nagda D. Simultaneous quantification of perindopril erbumine, indapamide and amlodipine besylate in newer combination of anti-hypertensive drugs in pharmaceutical dosage form by thin layer chromatography method. *Sep Sci Plus*. 2020;3(5):175-184.
- Özsar SA, et al. Developing and Validation of a HighPerformance Liquid Chromatography Method for the Determination of Combined Perindopril, Indapamide and Amlodipine from Pharmaceutical Preparations. *Hacettepe Univ J Fac Pharm*. 2024;44(4):306-317.
- ICH. Validation of analytical procedures, Q2(R2). 2023.
- USP 47-NF 42. Monograph: Perindopril Erbumine Tablets.