

**NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN PHƯƠNG PHÁP QUANG
PHỔ HỒNG NGOẠI GẦN ĐỊNH LƯỢNG NHANH HOẠT CHẤT
SULFAGUANIDIN TRONG THUỐC VIÊN NÉN**

Đến tòa soạn 23 - 3 - 2016

Đoàn Thị Huyền

Khoa Tự nhiên- Trường Cao đẳng sư phạm Hà Tây

Tạ Thị Thảo, Bùi Xuân Thành, Vũ Thị Huệ

Khoa Hóa học- Trường Đại học khoa học Tự nhiên- Đại học Quốc Gia Hà Nội

SUMMARY

**STUDY ON THE DEVELOPMENT OF NEAR INFRARED
SPECTROSCOPY FOR RAPID DETERMINATION OF SULFAGUANIDINE
IN TABLETS**

Near infrared spectroscopy (NIRS) method is now considered as a pharmaceutical manufacturing process. Quantitative NIRS give a fast acquisition, non-destructive, minimization of sample preparation step. In this study, content of sulfaguanidine in tablets was determined by using NIR spectra in $3600-3000\text{ cm}^{-1}$ combined with multivariate linear regression. Standards samples containing of different ratios of sulfaguanidine to excipients were also prepared for setting up multivariate calibration regression. A series of 10 test samples of formulation was also used to check the accuracy of the models. The results showed that classical least square (CLS) and inverse least square (ILS) based on raw data of absorbance could not be successfully applied for quantitative analysis by NIRS. Principal component regression (PCR) had been setup based on 3 PCs extracted from matrix of absorbance vs. wave number. The NIR data for sulfaguanidine content was precise and similar to the lab reference method followed by Vietnamese Pharmacopoeia IV 2009.

1. MỞ ĐẦU

Để kiểm định các thành phần hoạt chất trong thuốc, Dược điển Việt Nam

(DDVN) cũng như Dược điển các nước chủ yếu vẫn qui định riêng các phương pháp phân tích thể tích hoặc phương

pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Các phép phân tích đòi hỏi thực hiện trên các trang thiết bị hiện đại, đắt tiền, tốn dung môi và cần xử lý mẫu, tách chất phân tích ra khỏi nền mẫu phức tạp nên khá mất thời gian. Vì vậy, xu hướng tìm kiếm những phương pháp và thiết bị cho phép kiểm định nhanh thuốc đang lưu thông trên thị trường cũng như định lượng nhanh chất lượng thuốc ngay ở đầu ra của quá trình sản xuất đáng được hướng đến. So với phương pháp HPLC thì định lượng hoạt chất hữu cơ trong thuốc bằng phổ hồng ngoại gần (NIRS) có ưu điểm nổi trội vì đơn giản trong quá trình xử lý mẫu, phân tích nhanh, giá thành rẻ do không tốn dung môi để hòa tan mẫu [1]. Tuy nhiên, NIR cũng có một số nhược điểm như giới hạn phát hiện cao nên không phù hợp với các phép phân tích lượng vết. Mặt khác, do đặc tính của phương pháp phổ hồng ngoại là phổ dao động của các nhóm chức đặc trưng và các liên kết có trong phân tử hợp chất hóa học, nên rất khó khi đưa ra được các thông tin đặc trưng để định lượng nếu chỉ đo tại một bước sóng [2]. Hơn nữa, phổ hồng ngoại chịu ảnh hưởng mạnh của các thông số như điều kiện vật lý của mẫu, môi trường đo mẫu, độ dày của viên mẫu, tỷ lệ ép viên... nên khi được sử dụng để phân tích định lượng dựa trên tín hiệu đo trực tiếp. Vì thế NIR thường phải kết hợp với các phép phân tích hồi qui đa biến

để phân tích số liệu phổ thì mới có thể định lượng được hoạt chất mà không phải tách riêng các chất cũng như khắc phục được ảnh hưởng của các tá dược đi kèm trước khi phân tích cũng như có thể phân tích đồng thời các thuốc trong cùng nhóm thuốc. [3].

Gần đây, trên thế giới đã có một số nghiên cứu sử dụng phổ hồng ngoại gần để định lượng nhanh các hoạt chất như aminoglycosides [4], roxithromycin [5], neomycin sulphate [6], roxithromycin [8] trong thuốc. Phương pháp này cho phép rút ngắn thời gian phân tích xuống còn khoảng 3 phút nên rất phù hợp để áp dụng kiểm tra nhanh các mẫu.

Hiện tại, chưa có nghiên cứu nào trên thế giới được công bố về xác định các kháng sinh nhóm sunfamid bằng quang phổ hồng ngoại gần. Đây cũng là công trình đầu tiên ở Việt Nam về nghiên cứu ứng dụng thuật toán hồi qui đa biến trên cơ sở bộ số liệu phổ hồng ngoại gần phép đo truyền qua, áp dụng để xác định hoạt chất sulfaguanidin trong thuốc. Nghiên cứu này sẽ mở ra hướng nghiên cứu mới sử dụng các thiết bị đơn giản để xác định nhanh các chất trong mẫu đo phức tạp mà không cần phá mẫu.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, thiết bị

- Chất chuẩn Sulfaguanidin (viện kiểm nghiệm thuốc trung ương, chuẩn phòng thí nghiệm), số kiểm soát: 0100111.
Hàm lượng: 100,7% $C_7H_{10}N_4O_2S$

(khan). Độ ẩm: 7,89%. Hàm lượng nguyên trạng: 92,11%

- KBr dùng cho hồng ngoại gần (Merck)

- Tinh bột sắn (Nhà máy sản xuất tinh bột mì Quảng Ngãi), đạt tiêu chuẩn đã kiểm tra theo DDVN 4

- $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (Công ty cổ phần hóa dược Việt Nam), đạt tiêu chuẩn đã kiểm tra theo BP 2009.

- Maltodextrin (Yisui dadi Corn developing Co., LTD), đạt tiêu chuẩn đã kiểm tra theo BP 2009.

- Magie stearat (Peter Greven Asia SDN. BHD), đạt tiêu chuẩn đã kiểm tra theo USP34.

- Bột Talc (Công ty cổ phần hóa dược Việt Nam), đạt tiêu chuẩn đã kiểm tra theo DDVN 4

- Cân phân tích Sartorius độ chính xác $\pm 0,0001\text{g}$.

- Máy quang phổ hồng ngoại Agilent Technologies Cary 600 Series FTIR spectrometer, dải bước sóng đo $7500\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$, kỹ thuật đo truyền qua. Thiết bị được đặt trong phòng đo duy trì độ ẩm dưới 30%.

- Bộ dụng cụ ép viên: Agilent Technologies Standard sampling kit (part no: Pike-162-1000).

- Thư viện phổ chuẩn: ST- Japan spectral libraries (part no: K8159-1000).

- Phần mềm Matlab7.6: Chương trình hồi qui đa biến tuyến tính để phân tích

đồng thời các cấu tử trong cùng hỗn hợp.

2.2. Quy trình định lượng nhanh sulfaguanidin trong thuốc viên nén bằng NIR

Tiến hành xây dựng mô hình hồi quy đa biến tuyến tính xác định cả ba hoạt chất và các tá dược gồm 30 mẫu chuẩn trên nền tá dược và 15 mẫu kiểm tra bằng cách chuẩn bị các mẫu chuẩn, mẫu kiểm tra theo như quy trình như dưới đây:

- Bước 1: chuẩn bị các mẫu chuẩn rắn, mẫu chuẩn kiểm tra chứa hoạt chất sulfaguanidin cùng với ba tá dược là tinh bột sắn, maltodextrin, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ với tỷ lệ thay đổi trong khoảng nồng độ khảo sát sao cho tín hiệu độ hấp thụ thay đổi trong vùng tuyến tính.

- Bước 2: Nghiền nhỏ và trộn đều mẫu trong 15 phút để hỗn hợp được đồng nhất.

- Bước 3: Lấy 2 mg chất vừa trộn được trộn với 98 mg KBr rồi tiến hành nghiền mịn đồng nhất mẫu trong cối mã não trong 10 phút.

- Bước 4: Lấy khoảng 15 mg lượng bột vừa nghiền được cho vào bộ ép viên để thu được viên mẫu đem đo phổ hồng ngoại trong vùng phổ nghiên cứu từ $3600\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$, ghi lại độ hấp thụ quang của từng mẫu, xuất số liệu thu được dưới dạng ASCII và chuyển toàn bộ dữ liệu vào phần mềm matlab để tính toán kết quả.

- Bước 5: Đường chuẩn đa biến và các bộ dữ liệu dự đoán được xây dựng trên ma trận độ hấp thụ quang của các mẫu

chuẩn và mẫu kiểm tra đã chuẩn bị ở phần trên. Nhập số liệu ma trận nồng độ các mẫu chuẩn, ma trận các mẫu kiểm tra và các ma trận tín hiệu đo tương ứng vào phần mềm Matlab, chạy chương trình tính toán ma trận hệ số hồi qui theo 3 phương pháp CLS, ILS, PCR trên phần mềm [9] và sử dụng ma trận này để tìm nồng độ mỗi hoạt chất trong từng mẫu. So sánh sai số tương đối của mỗi phương pháp, lựa chọn ra phương pháp tối ưu nhất để tiến hành định lượng các mẫu thực tế.

- Bước 6: Tiến hành định lượng các mẫu thực tế bằng cách trộn một lượng bột viên với tá dược để pha loãng nồng độ hoạt chất về nồng độ nằm trong ma trận chuẩn đã xây dựng, đo phổ của các mẫu này, ghi lại phổ và chuyển dữ liệu thu được vào phần mềm Matlab 6.5 để tính toán kết quả. Từ đó tiến hành tính toán hàm lượng hoạt chất trong các mẫu thuốc viên theo công thức dưới đây:

$$HL(mg / viên) = \frac{X \times m_{tb}}{m_t}$$

Trong đó: X: là số mg hoạt chất tìm được từ mô hình hồi qui đa biến; m_t là khối lượng cân của mẫu thử (mg)
 m_{tb} là khối lượng trung bình của 1 viên của thuốc (mg).

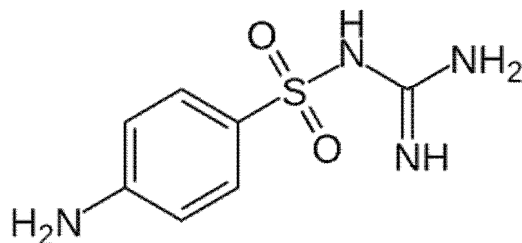
Hàm Sulfaguanidin trong mẫu được phân tích đối chứng theo phương pháp chuẩn độ thể tích với $NaNO_2$ bằng chuẩn độ theo ĐVN 4 [10].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

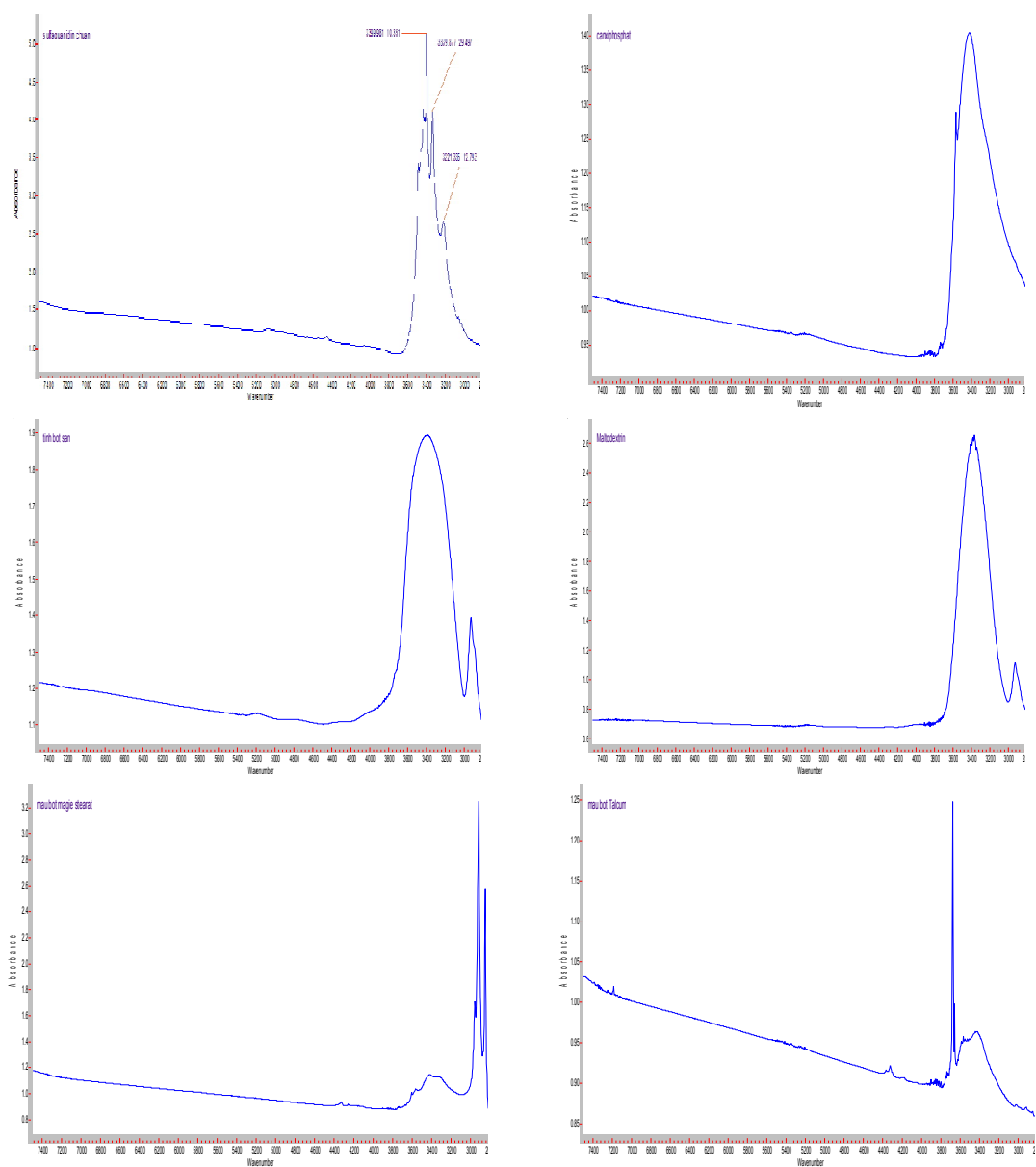
3.1. Khảo sát điều kiện tối ưu phép đo NIR mẫu thuốc viên nén

3.1.1. Phổ hấp thụ của sulfaguanidin trong vùng hồng ngoại gần

Sulfaguanidin có công thức phân tử $C_7H_{10}N_4O_2S$ và công thức cấu tạo như sau:



Trong thành phần thuốc viên nén, ngoài hoạt chất còn có tá dược, phổ hấp thụ của các liên kết phân cực đều ảnh hưởng đến tín hiệu đo. Dạng phổ hấp thụ của Sulfaguanidin và tá dược trong vùng hồng ngoại gần từ 7800 đến 3000 cm^{-1} có dạng như ở hình 2. Sulfaguanidin có phổ hấp thụ mạnh trong vùng phổ 3600- 3000 cm^{-1} mẫu bột talc hấp thụ mạnh trong vùng hồng ngoại 3750-3650 cm^{-1} , mẫu bột magie stearat hấp thụ mạnh trong vùng phổ hồng ngoại từ 2950-2800 cm^{-1} , năm tá dược thường gặp trong bào chế thuốc viên nén là Canxiphosphat, Tinh bột sắn, Maltodextrin, Magie Stearat, Talcum đều cho phổ hấp thụ hồng ngoại hấp thụ mạnh trong vùng phổ khảo sát từ 3600- 3000 cm^{-1} . Do đó không thể xác định riêng rẽ các hoạt chất khi có mặt của các loại tá dược trên. Ảnh hưởng của các tá dược trong vùng khảo sát sẽ được loại trừ bằng cách phân tích đồng thời cả tá dược và hoạt chất trong mẫu sử dụng thuật toán hồi qui đa biến tuyến tính.



*Hình 2: Phổ hấp thụ của hoạt chất sulfaguanidin và các tá dược
Canxiphosphat, Tinh bột sắn, Maltodextrin, Magie Stearat, Talcum
(từ trái qua phải, từ trên xuống dưới)*

3.1.2. Khảo sát tỷ lệ khối lượng mẫu và KBr

Tiến hành trộn bột thuốc của mẫu thuốc viên Sulfaguanidin 500 mg của TV. Pharm ngoài thị trường với KBr theo tỷ lệ khối lượng mẫu so với KBr thay đổi từ tỉ lệ 1/99; 2/98; 3/97. Thực nghiệm cho thấy, khi tỷ lệ khối lượng mẫu/ KBr

tăng thì độ hấp thụ quang của các mẫu viên cũng tăng lên. Tuy nhiên khi độ hấp thụ quang càng cao thì độ lặp lại của phép đo càng kém. Mặt khác, nếu lượng mẫu đưa vào quá nhỏ thì dễ gây sai số trong quá trình cân, do đó chúng tôi đã lựa chọn tỷ lệ khối lượng mẫu/

KBr là 2/98 cho những nghiên cứu tiếp theo.

3.1.3. Khảo sát độ lặp lại của quá trình ép viên

Độ lặp lại của quá trình ép viên được đánh giá bằng cách trộn hỗn hợp sulfaguanidin và KBr với tỷ lệ khối lượng (2:98), nghiền mịn đồng nhất mẫu trong cối mã não trong 10 phút. Tiến hành chuẩn bị các mẫu viên bằng cách ép lặp lại 5 lần mẫu của hỗn hợp vừa thu được. Thực nghiệm cho thấy độ hấp thụ quang tại một số sóng xác định thay đổi sau mỗi lần ép viên với cùng mẫu ban đầu. Do vậy, không thể dùng phương pháp định lượng thông thường dựa trên mối quan hệ tuyến tính giữa độ hấp thụ quang và nồng độ để định lượng chất phân tích mà phải xác định theo mối tương quan về độ hấp thụ quang tại các bước sóng bằng các thuật toán như PCR hoặc bình phương tối thiểu từng phần (PLS).

3.2. Phương pháp hồi quy đa biến tuyến tính xác định hoạt chất sulfaguanidin khi có mặt các tá dược

3.2.1. Xây dựng mô hình hồi quy đa biến gồm hoạt chất sulfaguanidin và các tá dược

Mô hình phương trình đường chuẩn xác định hoạt chất sulfaguanidin và các tá dược dựa trên các thuật toán bình phương tối thiểu sử dụng phổ toàn phần và PCR. Ma trận gồm 25 mẫu chuẩn dạng bột chứa 4 chất (SFG và 3 tá dược) trong đó sulfaguanidin có khối

lượng khác nhau trong các mẫu trong khoảng từ 8g đến 45g và 3 tá dược thường sử dụng trong thành phần viên thuốc là tinh bột sắn có khối lượng trong các mẫu trong khoảng từ 25g đến 55g, maltodextrin có khối lượng trong các mẫu trong khoảng từ 10g đến 20g và canxiphosphat có khối lượng trong các mẫu trong khoảng từ 5g đến 20g. Đo phổ hồng ngoại của các mẫu này trong vùng phổ từ $3600-3000\text{ cm}^{-1}$, ghi lại độ hấp thụ quang của từng mẫu. Lưu lại kết quả dưới dạng ma trận tín hiệu đo có kích thước (25x312) và chuyển dữ liệu vào phần mềm Matlab để tính toán kết quả. Các thuật toán dùng cho phương pháp CLS, ILS và PCR như ở tài liệu [10].

3.2.2. Đánh giá phương pháp phân tích sulfaguanidin

Một ma trận 10 mẫu kiểm tra với hàm lượng các cấu tử biết trước nằm trong khoảng đường chuẩn đã xây dựng để kiểm chứng tính phù hợp của các mô hình hồi quy và đánh giá sai số tương đối giữa kết quả hàm lượng biết trước và kết quả xác định được theo mô hình đường chuẩn.

• Kiểm chứng tính phù hợp của các mô hình CLS, ILS

Thực hiện tính toán trên phần mềm Matlab với các phương pháp dùng phổ toàn phần là CLS và ILS. Các kết quả hàm lượng SFG, Tbot, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, Malt trong 10 mẫu tự tạo và sai số của các phương pháp (tính theo giá trị tuyệt đối)

dao động trong khoảng lần lượt là từ 5,9 - 146,0% (đối với phương pháp CLS) và 74,8- 279,8% đối với phương pháp ILS. Hai mô hình này mắc sai số lớn có thể giải thích việc tính toán trên cơ sở tập số liệu thô ban đầu, kết quả tính cuối cùng là kết quả tính trung bình trên toàn phổ phụ thuộc vào giá trị tuyệt đối của độ hấp thụ quang A mà giá trị này lại thay đổi theo từng phép đo và bị ảnh hưởng rất lớn của nền mẫu ngay cả KBr. Trong phương pháp ILS, sai số lớn còn do chỉ sử dụng một số giá trị độ hấp thụ quang tại các số sóng đặc trưng mà không phải toàn dải phổ. Do đó, có thể kết luận với phép đo mẫu rắn thì không thể sử dụng được các thuật toán CLS và ILS để phân tích đồng thời sunfaguanidin và ba tá dược bằng NIR.

• *Kiểm chứng tính phù hợp của các mô hình PCR*

Kỹ thuật PCR được thực hiện trên tập dữ liệu mới thu được trong phép chiếu tập dữ liệu lên các vector đơn vị của không gian mới dựa trên các thành phần chính (PC – principal components).

Trước tiên, cần chuyển tập số liệu độ hấp thụ quang theo bước sóng (25x312) sang tập dữ liệu mới, chứa một số ít các yếu tố quan trọng, cần thiết. Về nguyên tắc khi dùng PCA từ ma trận tín hiệu độ hấp thụ sẽ thu được 312 cấu tử chính (PC) nhưng kết quả cho thấy cấu tử 1 (PC1) đã chiếm 97,9% lượng thông tin của tập dữ liệu, nếu thêm cấu tử thứ hai (PC2) thì phương sai tích lũy đã đạt

99,5%. Khi thêm một cấu tử nữa (PC3) thì 3 cấu tử đầu này đã chiếm 100% lượng thông tin tập dữ liệu. Do đó chỉ với 3 cấu tử ban đầu đã chứa toàn bộ thông tin chứa trong tập số liệu và sử dụng các bước tính toán trong PCR để phân tích tập dữ liệu mới này. Kết quả hàm lượng các mẫu đối chứng và sai số tương đối của các mẫu kiểm tra xác định theo phương pháp PCR dao động trong khoảng từ 0,2 % đến 11,9 %, tốt hơn rất nhiều so với các phương pháp hồi quy đa biến khác đã sử dụng. Phương pháp này đã cho phép loại bỏ sai số nhiễu phổ và sai số ngẫu nhiên trong quá trình đo khi lựa chọn được số PC phù hợp.

Trong quá trình thực tế khi phân tích các mẫu dược phẩm chúng ta chỉ quan tâm nhiều đến hàm lượng các hoạt chất đưa vào có đúng và đủ hàm lượng như nhà sản xuất công bố trên thị trường hay không. Do đó, khi lập ma trận nồng độ có thể gộp các thành phần tá dược thành một biến và một biến là hàm lượng sunfaguanidin để quá trình tính toán không quá cồng kềnh. Kết quả thu được không khác với kết quả ban đầu, trong khi đó sai số của thành phần tá dược gộp lại sai khác không đáng kể so với nồng độ ban đầu

3.3. Phân tích nhanh hoạt chất sunfaguanidin trong thuốc viên nén

Các mẫu thuốc viên nén sunfaguanidin 500 mg của các nhà sản xuất khác nhau được thu thập trên thị trường. Tiến hành

cân 20 viên thuốc, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột mẫu (m_t) và thêm một lượng tá dược là tinh bột để pha loãng hàm lượng hoạt chất trong các mẫu thực tế về khoảng hàm lượng

đã khảo sát trong đường chuẩn, tiến hành như quy trình phân tích trong mục 2.2. Kết quả thu được hàm lượng sunfaguanidin bằng phương pháp NIR và phương pháp đối chứng như ở bảng 1.

Bảng 1: Kết quả phân tích hàm lượng sunfaguanidin trong mẫu thực tế.

Kí hiệu mẫu	Tên mẫu	Nhà sản xuất	Lô sản xuất	Hạn sử dụng	Phương pháp hồng ngoại (mg/viên)	Phương pháp đối chứng (mg/viên)
S1	Sulfaganin 500 mg	CTCP Hóa - Dược phẩm Mekophar	12008AN	10/07/16	465,9±2,2	483,5±0,4
S2	Sulfaguanidin 500 mg	CTCP Dược phẩm TW1 - Pharbaco	14004	03/06/17	464,1±0,8	486,1±0,3
S3	Sulfaguanidin 500 mg	CTCP Dược phẩm Hà Tây	711012	18/10/15	454,0±1,2	494,4±0,3
S4	Sulfaguanidin 500 mg	CTCP Dược phẩm TW2- Dopharma	00113	22/07/16	460,6±0,5	490,8±0,2

Kết quả phân tích cho thấy hàm lượng các hoạt chất thu được theo phương hồi quy đa biến với phương pháp phân tích tiêu chuẩn trong dược điển sai khác không đáng kể. Độ chệch tương đối hàm lượng sulfaguanidin giữa phương pháp hồng ngoại và phương pháp đối chứng lần lượt là: 3,6%; 4,5%; 8,2% và 6,2 %. Do đó, phương pháp phổ hồng ngoại gần kết hợp với thuật toán hồi quy đa biến tỏ ra khá ưu việt khi áp dụng vào phân tích hoạt chất nhóm sulfamid, chuẩn bị mẫu khá đơn giản, không cần phá hủy mẫu phân tích chi phí thấp do không tổn dung môi hóa chất (như phương pháp phân tích truyền

thống HPLC), hạn chế được các sai số trong quá trình chuẩn bị mẫu. Do đó, hoàn toàn có thể áp dụng phổ biến để phân tích nhanh hàm lượng các mẫu thuốc ngoài thị trường.

4. KẾT LUẬN

Phương pháp NIR cho phép định lượng nhanh sunfaguanidin trong thuốc viên nén dựa trên dữ liệu phổ truyền qua toàn phần trong khoảng 3600-3000 cm^{-1} . Bằng cách phân tích đơn giản trực tiếp mẫu rắn, nhờ chỉ cần trộn mẫu với KBr theo tỷ lệ khối lượng là (2:98), dựa trên ma trận xây dựng từ mẫu chuẩn dạng bột có lẫn 3 thành phần tá dược chính là tinh bột, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, Maltoza.

Kỹ thuật ép viên ảnh hưởng nhiều đến độ lặp lại tín hiệu đo. Với dữ liệu phổ toàn phần vùng NIR thì các thuật toán đa biến như CLS và ILS sẽ mắc sai số rất lớn. Do vậy, chỉ có thể phân tích được các chất trên nên tá dược khi sử dụng thuật toán PCR hoặc PLS. Các kết quả phân tích hàm lượng sunfaguanidin trong viên nén cho thấy có sự phù hợp tốt với kết quả phân tích đối chứng theo được điển Việt Nam trong khi thời gian phân tích rất ngắn và xử lý mẫu đơn giản.

Kết quả thu được từ nghiên cứu này mở ra hướng nghiên cứu mới sử dụng các thiết bị đơn giản để xác định nhanh các chất trong mẫu đo phức tạp mà không cần phá mẫu hoặc xử lý nhanh tại chỗ, tạo điều kiện đưa phép phân tích ra khỏi phòng thí nghiệm.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện nhờ hỗ trợ kinh phí và thiết bị đo hồng ngoại gần Agilent Technologies Cary 600 Series FTIR spectrometer của đề tài nghị định thư với Cộng hòa Pháp Lotus 2014- 2016, mã số 39/2014/HD- NĐT.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1].Emil W.Ciurczak (2002), *Pharmaceutical and Medical Applications of Near-Infrared Spectroscopy*, Marcel Dekker

[2].J. Luypaert, D.L. Massart, Y. Vander Heyden (2006), “Review Near-infrared spectroscopy applications in

pharmaceutical analysis”, *Talanta*, 72 , pp. 865-883.

[3].Di Wu, Jianyang Chen, Baiyi Lu, Lina Xiong, Yong He, Ying Zhang (2012), “Application of near infrared spectroscopy for the rapid determination of antioxidant activity of bamboo leaf extract”, *Food Chemistry*, 135, pp. 2147-2156.

[4].Mafalda Cruz Sarraguc, a, Sandra Oliveira Soares, João Almeida Lopes (2011), “ A near-infrared spectroscopy method to determine aminoglycosides in pharmaceutical formulations”, *Vibrational Spectroscopy*, 56, pp. 184-192.

[5].S.T.H. Sherazi, M. Ali, S.A. Mahesar (2011), “Application of Fourier-transform infrared (FT-IR) transmission spectroscopy for the estimation of roxithromycin in pharmaceutical formulations”, *Vibrational Spectroscopy*, 55, pp. 115-118.

[6].Padmarajaiah Nagaraja, Hemmige S Yathirajan, Kallanchira R Sunitha, Ramanathapura A Vasantha (2002), “A new, sensitive, and rapid spectrophotometric method for the determination of sulfa drugs”, *J AOAC Int* 2002 Jul-Aug, 85(4), pp. 869-874.

[7]. E. Jungman, C. Laugel, D.N. Rutledge, P. Dumas, A. Baillet-Guffroy (2013), “Development of a percutaneous penetration predictive model by SR-FTIR”, *International*

Journal of Pharmaceutics, 441, pp. 628– 635.

[8]. Payal Roychoudhury, Brian McNeil, Linda M. Harvey (2007), “Simultaneous determination of glycerol and clavulanic acid in an antibiotic bioprocess using attenuated total reflectance mid infrared spectroscopy”, *Analytica Chimica Acta*, 585, pp. 246-252.

[9]. Phạm Hồng Chuyên, Tạ Thị Thảo, Nguyễn Thị Thu Hằng (2012), *Nghiên cứu xác định đồng thời các dạng arsen vô cơ và hữu cơ bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng kỹ thuật*

hidrua hóa (HVG-AAS) kết hợp với thuật toán hồi qui đa biến. (Phần 2). Tạp chí Khoa học, Đại học Quốc Gia Hà Nội số 28(4), trang 7-13.

[10]. Bộ Y Tế (2009), *Dược điển Việt Nam tái bản lần thứ 4*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.

NGHIÊN CỨU KỸ THUẬT CHIẾT PHA RẮN (Tiếp theo trang 152)

5. Fabiana S. Felix, Maria S.M. Quintino, Alexandre Z. Carvalho, Lúcia H.G. Coelho, Claudimir L. do Lago, Lúcio Angnes (2006), “*Determination of Salbutamol in syrups by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection (CE-C⁴D)*”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 40, pp. 1288–1292.

6. Thi Anh Huong Nguyen et. al (2014), *Simple semi-automated portable capillary electrophoresis instrument with contactless conductivity detection for the determination of β -agonists in pharmaceutical and pig-feed samples,*

Journal of Chromatography A, Vol. 1360, pp. 305-311.

7. Tomasz ‘Sniegocki, Andrzej Posyniak and Jan Zmudzki (2005), “*Improved gas chromatography – mass spectrometry method for the determination of clenbuterol and salbutamol in animal urine*”, *Bull vet Inst Pulawy* 49, pp. 443-447.