

Xây dựng quy trình định tính và định lượng đồng thời một số hoạt chất thuốc thường dùng trong điều trị viêm loét dạ dày bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)

Mai Thanh Nhân^{1,2,*}, Nguyễn Thị Thu Thảo¹, Trần Nguyễn Ý Nhi¹

¹Khoa Dược, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Thành phố Hồ Chí Minh

²Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Hà Nội

*mtnhan@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Một phương pháp HPLC được phát triển và thẩm định để định tính, định lượng đồng thời các hoạt chất điều trị viêm loét dạ dày, gồm metronidazol, cimetidin, tinidazol, levofloxacin, esomeprazol, rabeprazol, pantoprazol và lansoprazol. Quá trình tách thực hiện trên cột C18 với pha động gồm đệm phosphat 20 mM (A) và acetonitril (B) theo chương trình rửa giải gradient. Tỷ lệ acetonitril tăng dần đến 28 % giúp rửa giải các hợp chất có độ phân cực cao đến trung bình như metronidazol, cimetidin, tinidazol và levofloxacin. Ở giai đoạn (46-54) phút, tỷ lệ acetonitril tăng nhanh từ 34 % đến 80 %, cho phép tách hoàn toàn các hoạt chất kém phân cực thuộc nhóm ức chế bơm proton gồm esomeprazol, rabeprazol, pantoprazol và lansoprazol. Phương pháp có tính tuyến tính tốt trong khoảng (10-150) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ đối với metronidazol, tinidazol, levofloxacin và lansoprazol, và (10-100) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ đối với cimetidin, esomeprazol, rabeprazol và pantoprazol. Độ đúng đạt (98,98-100,7) %, đáp ứng các tiêu chí của ICH về độ đúng, độ chính xác, độ lặp lại và độ tuyến tính. Phân tích thống kê cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa so với các phương pháp đã công bố, khẳng định độ tin cậy và khả năng ứng dụng của phương pháp HPLC đề xuất.

© 2026 Journal of Science and Technology - NTTU

Nhận 24/01/2026

Được duyệt 03/02/2026

Công bố 28/09/2026

Từ khóa

HPLC; rửa giải gradient; thuốc điều trị viêm loét dạ dày; định lượng đồng thời.

1 Đặt vấn đề

Theo thống kê mới nhất Bộ Y tế, khoảng 90 % các trường hợp viêm loét dạ dày – tá tràng có liên quan đến vi khuẩn *Helicobacter pylori* (HP). Do đó, các phác đồ điều trị đều hướng đến tiêu diệt HP bằng sự kết hợp giữa hai kháng sinh và một thuốc ức chế bơm proton (PPI) hoặc thuốc kháng histamin H₂. Sự phối hợp này giúp tiêu diệt vi khuẩn, kích thích quá trình lành vết loét, trung hòa acid dịch vị mà không làm tăng tiết acid. Các phác đồ điều trị HP gồm: hai kháng

sinh kết hợp với thuốc ức chế tiết acid, hoặc hai kháng sinh cùng một thuốc kháng acid. Trong đó, metronidazol và tinidazol là các kháng sinh nhóm nitroimidazol, hoạt động bằng cách ức chế tổng hợp DNA vi khuẩn. Levofloxacin là kháng sinh phổ rộng có tác dụng trên cả vi khuẩn gram dương và gram âm. Cimetidin là thuốc kháng histamin H₂ giúp giảm tiết acid dạ dày, còn nhóm PPIs như lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, esomeprazol có tác dụng ức chế enzym H⁺/K⁺-ATPase, giúp giảm acid và bảo vệ niêm mạc dạ dày [1-2].

Trong những năm gần đây, nhiều công trình nghiên cứu đã tập trung phát triển các phương pháp HPLC nhằm định lượng đồng thời các hoạt chất trong phác đồ điều trị HP. Năm 2019, Smerikarova và cộng sự đã xây dựng phương pháp HPLC để xác định đồng thời amoxicillin, tinidazol, esomeprazol và lansoprazol trên cột C18, pha động acetonitril – đệm phosphat (pH = 7,6) theo tỷ lệ 40:60 (v/v). Kết quả nghiên cứu đạt độ đúng và độ chính xác, tuy nhiên hình dạng như peak chưa tối ưu, hệ số kéo đuôi dao động từ 1,35 đến 1,76 [3]. Gần đây, năm 2024, nhóm tác giả đã định lượng đồng thời sáu hoạt chất (famotidin, metronidazol, levofloxacin, rabeprazol natri, pantoprazol natri và lansoprazol) bằng phương pháp HPLC, với khoảng tuyến tính (10-100) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ [4].

Tổng hợp các kết quả trên cho thấy, các nghiên cứu đã công bố trong và ngoài nước chủ yếu tập trung phát triển phương pháp HPLC để định lượng riêng lẻ hoặc đồng thời một số hoạt chất thường dùng trong phác đồ điều trị HP như amoxicillin, omeprazol, metronidazol hay tinidazol. Tuy nhiên, các nghiên cứu này vẫn còn hạn chế về số lượng hoạt chất được phân tích đồng thời, hoặc sử dụng điều kiện sắc ký đẳng dòng, dẫn đến khả năng tách kém và hiện tượng kéo đuôi đáng kể. Bên cạnh đó, các hoạt chất như cimetidin, esomeprazol và rabeprazol – những thuốc phổ biến trong các phác đồ điều trị viêm loét dạ dày tá tràng hiện nay chưa được nghiên cứu xác định đồng thời trong cùng một điều kiện sắc ký. Trên cơ sở đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng và tối ưu một phương pháp HPLC, dùng kiểu rửa giải gradient có khả năng định tính và định lượng đồng thời các hoạt chất dùng trong phác đồ điều trị HP gồm metronidazol, tinidazol, levofloxacin, cimetidin, esomeprazol và rabeprazol natri. Phương pháp hướng đến nâng cao độ phân giải, rút ngắn thời gian phân tích và đảm bảo các tiêu chí thẩm định theo hướng dẫn ICH, góp phần cung cấp công cụ kiểm nghiệm chính xác và hiệu quả trong đánh giá chất lượng thuốc điều trị HP.

2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên vật liệu

2.1.1 Hóa chất

Dung môi triethylamin, acid photphoric (H_3PO_4), kali dihydrophosphat, acetonitril (tất cả đều của Germany); chất chuẩn hàm lượng nguyên trạng metronidazol (99,4 %), cimetidin (99,46 %), tinidazol (99,46 %), levofloxacin (97 %), esomeprazol (99,46 %), rabeprazol (96,4 %), pantoprazol (92,8 %), lansoprazol (99,79 %) (Viện Kiểm nghiệm Thuốc Trung ương).

2.1.2 Thiết bị

Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (Shimadzu), cân phân tích Shimadzu (Japan), máy đo pH Metler Toledo S20 (USA).

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Khảo sát điều kiện tối ưu cho quy trình phân tích

2.2.1.1 Khảo sát chương trình rửa giải gradient

Tối ưu chương trình rửa giải gradient HPLC để tách đồng thời các hoạt chất trong phác đồ điều trị viêm loét dạ dày. Tiêm hỗn hợp chuẩn vào hệ thống HPLC.

2.2.1.2 Khảo sát pH đệm phosphat

Chuẩn bị các đệm phosphat pH = (3,0-7,5) bằng cách hòa tan 2,72 g KH_2PO_4 và 3 mL triethylamin, thêm nước vừa đủ 1000 mL, sau đó điều chỉnh pH bằng H_3PO_4 đến giá trị yêu cầu.

2.2.2 Thẩm định quy trình phân tích

2.2.2.1 Tính tương thích hệ thống

Chuẩn bị hỗn hợp chuẩn gồm cimetidin (20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), metronidazol, levofloxacin, tinidazol, lansoprazol (30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) và esomeprazol, rabeprazol, pantoprazol (40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$).

2.2.2.2 Tính đặc hiệu

Chuẩn bị mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu thử thêm chuẩn và mẫu thử phân hủy trong các điều kiện: HCl 2 M, NaOH 2 M, H_2O_2 3 %, chiếu UV (254 nm) trong 8 giờ và gia nhiệt 60 °C trong 3 giờ.

2.2.2.3 Tính tuyến tính

Chuẩn bị các dung dịch chuẩn gồm metronidazol, tinidazol, levofloxacin và lansoprazol có nồng độ (10-150) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ và cimetidin, esomeprazol, rabeprazol và pantoprazol (10-100) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

2.2.2.4 Độ đúng

Độ đúng xác định bằng cách thêm ở các mức (80, 100 và 120) % so với nồng độ lý thuyết, chất chuẩn vào mẫu thử đã biết về hàm lượng.

2.2.2.5 Độ chính xác

Độ lặp lại

Tiến hành phân tích mẫu theo quy trình đã xây dựng và đánh giá trên sáu mẫu thử độc lập.

Độ chính xác trung gian

Tiến hành thí nghiệm tương tự độ lặp lại, nhưng thực hiện trong hai ngày khác nhau.

3 Kết quả nghiên cứu

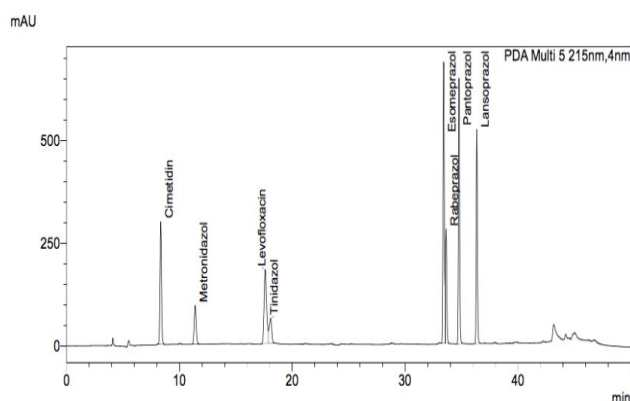
3.1 Khảo sát điều kiện tối ưu cho quy trình phân tích

3.1.1 Khảo sát kiểu rửa giải gradient

Thí nghiệm tiến hành trên hệ thống HPLC, đầu dò PDA, cột C18, nhiệt độ cột 25 °C, tốc độ dòng 1,0 mL·phút⁻¹. Bước sóng phát hiện lần lượt là cimetidin (215 nm), esomeprazol (301 nm), rabeprazol, pantoprazol, lansoprazol (284 nm), levofloxacin (290 nm), metronidazol và tinidazol (320 nm). Chương trình rửa giải gradient như sau [4].

Bảng 1 Chương trình gradient 1

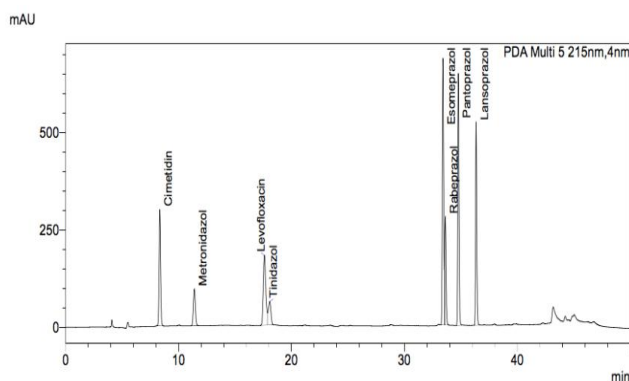
Thời gian (phút)	Tỷ lệ dung môi	
	Dung dịch đệm phosphat 20 mM (A)	Acetonitril (B)
0,1	90	10
25	40	60
27	40	60
28	90	10
35	90	10



Hình 1 Sắc ký đồ các hợp chất phát hiện tại 215 nm theo chương trình gradient 1

Ở chương trình gradient 1 tại Hình 1, các hợp chất tách, tuy nhiên esomeprazol và rabeprazol đồng rửa giải. Để cải thiện độ phân giải, nhóm nghiên cứu điều

chỉnh tốc độ dòng xuống 0,75 mL·phút⁻¹, tăng nhiệt độ cột lên 35 °C.

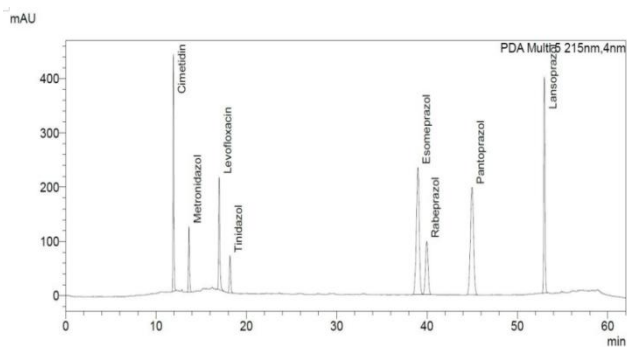


Hình 2 Sắc ký đồ các hợp chất phát hiện tại 215 nm theo chương trình gradient 2

Chương trình gradient 2 ở Hình 2 cho thấy hai peak esomeprazol và rabeprazol bắt đầu tách ($R_s = 0,96$) nhưng chưa đạt yêu cầu, trong khi levofloxacin và tinidazol có xu hướng chồng lấn ($R_s = 1,12$). Do đó, cần tiếp tục tối ưu tỷ lệ dung môi. Ở gradient 3, nhóm nghiên cứu giảm tỷ lệ ACN ban đầu từ 10 % xuống 5 %, đồng thời kéo dài thời gian để tăng khả năng phân tách các hợp chất. Đặc biệt, tại vùng thời gian (20-41) phút, ACN chỉ tăng 4 %, giúp tăng thời gian tương tác giữa các hợp chất PPIs với pha tĩnh.

Bảng 2 Chương trình gradient 3

Thời gian (phút)	Tỷ lệ dung môi (v/v)	
	Dung dịch đệm phosphat 20 mM (A)	Acetonitril (B)
0,1	95	5
2	95	5
6	85	15
12	78	22
20	74	26
30	72	28
37	70	30
41	70	30
46	66	34
50	45	55
54	20	80
55	20	80
56	95	5
62	95	5

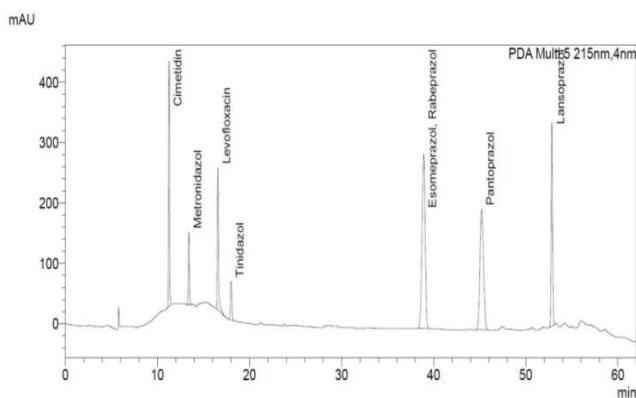


Hình 3 Sắc ký đồ các hợp chất phát hiện tại 215 nm theo chương trình gradient 3

Với chương trình gradient 3 ở Hình 3, các hợp chất tách hoàn toàn. Độ phân giải giữa esomeprazol và rabeprazol natri đạt 1,83, cao hơn đáng kể so với chương trình 2 (R_s 0,96), đồng thời levofloxacin và tinidazol có R_s 4,71, cải thiện vượt trội so với chương trình trước. Do đó, chương trình gradient 3 được chọn cho nghiên cứu tiếp theo.

3.1.2 Ảnh hưởng của pH pha động đến quá trình rửa giải

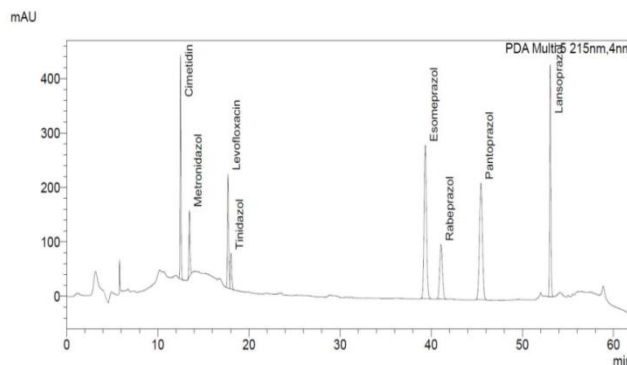
Khi khảo sát pH pha động từ 3,0 đến 7,5, sự thay đổi trạng thái ion hóa ảnh hưởng đến khả năng phân tách các hợp chất. Ở pH = (3,0-4,5), nhiều chất tồn tại chủ yếu ở dạng proton hóa (BH^+), làm giảm tương tác với pha tĩnh C18. Thứ tự rửa giải là cimetidin, metronidazol, levofloxacin, tinidazol, esomeprazol/rabeprazol (đồng rửa giải), lansoprazol, pantoprazol. Cimetidin ($pK_a = 6,8$) bị proton hóa mạnh nên rửa giải sớm, trong khi các PPI có tính kỵ nước cao nên được lưu giữ lâu hơn.



Hình 4 Sắc ký đồ khảo sát đệm phosphat tại pH = 4,5

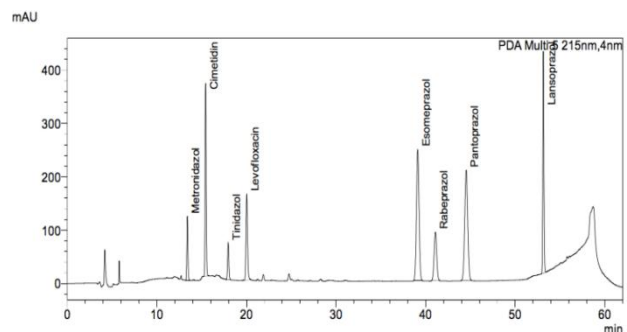
Khi pH tăng lên 5,0-5,5, mức độ ion hóa của esomeprazol và rabeprazol giảm, làm tăng tương tác

với C18 và cải thiện độ phân giải, mức độ proton hóa của esomeprazol giảm từ 37,06 % xuống 15,69 % và rabeprazol từ 14,80 % xuống 5,20 %, làm tăng tính kỵ nước và độ lưu giữ. Do đó, R_s tăng từ 1,73 lên 3,37. Ngược lại, R_s giữa levofloxacin và tinidazol giảm từ 4,85 xuống 1,29 do levofloxacin ($pK_a = 6,1$ và $pK_a = 8,1$) chuyển dần sang dạng zwitterion, trong khi tinidazol ($pK_a = 4,7$) hầu như không ion hóa, làm giảm sự khác biệt về độ phân cực và tương tác với pha tĩnh.



Hình 5 Sắc ký đồ khảo sát đệm phosphat tại pH = 5,5

Trong khoảng pH = (6,0-7,5), các PPI tiếp tục chuyển dần sang dạng trung hòa, làm tăng tương tác kỵ nước và kéo dài thời gian lưu. Trong khi đó, metronidazol ($pK_a = 2,38$) và tinidazol ($pK_a = 4,7$) hầu như không ion hóa nên thời gian lưu ít thay đổi. Khi pH tăng, thứ tự rửa giải thay đổi: metronidazol rửa trước cimetidin và tinidazol rửa trước levofloxacin. Điều này liên quan đến sự thay đổi trạng thái điện tích của các chất: levofloxacin chuyển dần sang dạng zwitterion, còn cimetidin giảm mức độ proton hóa từ 95,22 % ở pH = 5,5 xuống 38,68 % ở pH = 7,0, làm tăng tính kỵ nước.



Hình 6 Sắc ký đồ khảo sát đệm phosphat tại pH = 6,5

Ở pH $\geq 7,5$, rabeprazol và pantoprazol có xu hướng đồng rửa giải do tương đồng về trạng thái ion hóa và độ phân cực. Nhìn chung, pH tác động đồng thời đến trạng thái ion hóa, độ phân cực và khả năng lưu giữ, từ đó chi phối độ phân giải và thứ tự rửa giải. Vì vậy, pH = 6,5 được lựa chọn là điều kiện tối ưu, đảm bảo phân tách tốt các hợp chất.

Thẩm định phương pháp phân tích

Bảng 3 Kết quả khảo sát tính tương thích hệ thống

Tên hoạt chất	Thời gian lưu ($n = 6$)		Diện tích peak (m.Au)		Hệ số kéo đuôi	Số đĩa lý thuyết	Độ phân giải
	Trung bình (phút)	RSD (%)	Trung bình	RSD (%)			
Metronidazol	13,40	0,078	2.846.381,16	0,15	1,12	68.654	
Cimetidin	15,44	0,092	3.185.950,83	0,10	1,13	87.301	12,94
Tinidazol	17,96	0,053	1.754.674,17	0,13	1,08	72.045	7,73
Levofloxacin	20,03	0,049	3.389.261,00	0,025	1,13	72.250	7,14
Esomeprazol	39,12	0,016	2.525.342,50	0,093	1,01	84.105	45,67
Rabeprazol	41,49	0,020	1.972.256,67	0,10	1,02	89.963	3,73
Pantoprazol	44,83	0,028	2.086.710,83	0,061	1,02	87.973	4,16
Lansoprazol	53,13	0,020	1.840.675,50	0,022	1,08	87.635	24,08

(*) n: số lần thí nghiệm, RSD (%): % độ lệch chuẩn tương đối

Kết quả khảo sát cho thấy RSD thời gian lưu $\leq 0,092\%$, số đĩa lý thuyết > 3000 và độ phân giải giữa các peak liên kề $> 2,0$, đều đáp ứng yêu cầu của USP. Hệ thống HPLC vận hành ổn định, đảm bảo độ tin cậy của phép phân tích.

Bảng 4 Kết quả khảo sát tính tuyến tính

Chất chuẩn	Khoảng nồng độ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Phương trình hồi quy $S = aC_x + b$	R^2
Metronidazol	10-150	$S = 90.643 \cdot C_x + 792,51$	0,9996
Cimetidin	10-100	$S = 149.325 \cdot C_x + 1.038,6$	0,9999
Tinidazol	10-150	$S = 59.201 \cdot C_x - 547,46$	0,9996
Levofloxacin	10-150	$S = 117.631 \cdot C_x + 735,56$	0,9992
Esomeprazol	10-100	$S = 61.230 \cdot C_x + 858,63$	0,9998
Rabeprazol	10-100	$S = 24.636 \cdot C_x + 1.240,4$	1,0000
Pantoprazol	10-100	$S = 51.835 \cdot C_x + 214,68$	0,9996
Lansoprazol	10-150	$S = 60.637 \cdot C_x + 609,61$	1,0000

Kết quả khảo sát cho thấy bình phương hệ số tương quan (R^2) $\geq 0,9992$, chứng tỏ mối quan hệ tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích peak trong khoảng nồng độ khảo sát.

Quy trình phân tích thẩm định theo hướng dẫn của ICH [5].

3.2.1 Tính tương thích hệ thống

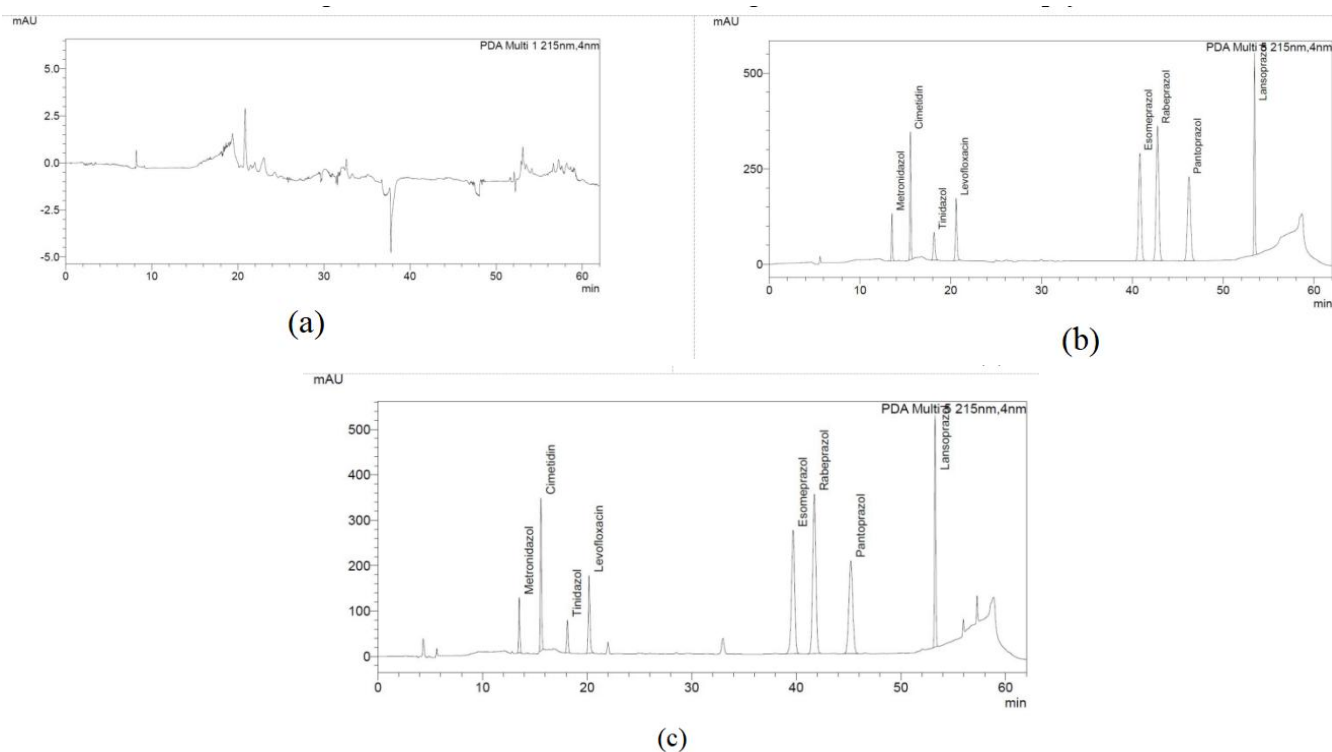
Tính tương thích hệ thống được đánh giá bằng cách tiêm lặp 6 lần hỗn hợp dung dịch chuẩn vào hệ thống HPLC, sau đó ghi nhận sắc ký đồ. Các thông số đặc trưng được trình bày ở Bảng 3.

3.2.2 Khoảng tuyến tính

Kết quả đánh giá độ tuyến tính phương pháp được trình bày Bảng 4.

3.2.3 Tính đặc hiệu

Tiến hành chuẩn bị mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử để đánh giá tính chọn lọc của quy trình.



Hình 8 Sắc ký đồ mẫu trắng (a), chuẩn (b), thử (c)

Kết quả cho thấy mẫu trắng không xuất hiện peak tại thời gian lưu của các hoạt chất; các peak trong mẫu thử phù hợp với chuẩn đối chiếu. Ở các mẫu phân hủy, các peak phân tích được tách hoàn toàn khỏi tạp và đạt độ tinh khiết peak. Như vậy, quy trình có tính đặc hiệu, phù hợp cho định tính và định lượng đồng thời các hoạt chất.

3.2.3 Độ đúng

Kết quả khảo sát độ đúng ở ba mức nồng độ cho thấy độ thu hồi của 8 hoạt chất nằm trong khoảng (98,98-100,96) %, với RSD = (0,70-0,99) %. Các kết quả đều đáp ứng yêu cầu, chứng tỏ phương pháp có độ đúng tốt.

3.2.4 Độ chính xác

Phân tích trên sáu mẫu độc lập cho thấy hàm lượng các hoạt chất đạt (99,76-100,94) % trong ngày và

(99,01-101,00) % giữa các ngày, với RSD (%) lần lượt (0,33-0,84) % và (0,11-0,89) %. Các kết quả đều đáp ứng giới hạn (90-110) % và RSD (%) < 2,0 % theo ICH, chứng tỏ phương pháp đạt độ chính xác và độ ổn định.

3.3 Đánh giá kết quả phân tích

Độ đúng và độ chính xác của phương pháp đề xuất được so sánh với phương pháp tham chiếu bằng kiểm định *t*-Student và *F*-test ở mức tin cậy 95 %. Kết quả cho thấy các giá trị *t* và *F* tính đều nhỏ hơn giá trị tới hạn, chứng tỏ không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai phương pháp. Như vậy, phương pháp HPLC đề xuất có độ đúng và độ chính xác phù hợp, đáp ứng yêu cầu định lượng các hoạt chất trong chế phẩm thuốc.

Bảng 5 Phân tích thống kê kết quả thu được bằng phương pháp đề xuất so với phương pháp tham chiếu

Thông số	Metronidazol		Cimetidin		Tinidazol		Levofloxacin	
	Phương pháp đề xuất	Phương pháp tham chiếu [6]	Phương pháp đề xuất	Phương pháp tham chiếu [7]	Phương pháp đề xuất	Phương pháp tham chiếu [8]	Phương pháp đề xuất	Phương pháp tham chiếu [9]
n	6	3	6	3	6	3	6	3
%TB	100,44	100,08	100,47	101,00	99,59	99,31	100,58	101,02
SD	0,48	0,57	0,72	1,35	0,49	0,19	0,66	0,30

<i>t</i> -Student	$t_{TN} = 0,93 < t_{0,95,7} = 2,36$	$t_{TN} = 0,63 < t_{0,95,7} = 2,36$	$t_{TN} = 1,23 < t_{0,95,7} = 2,36$	$t_{TN} = 1,39 < t_{0,95,7} = 2,36$
<i>F</i> -test	$F_{TN} = 0,72 < F_{0,95,5,2} = 19,3$	$F_{TN} = 3,49 < F_{0,95,5,2} = 5,79$	$F_{TN} = 6,76 < F_{0,95,5,2} = 9,3$	$F_{TN} = 4,92 < F_{0,95,5,2} = 19,3$

Thông số	Esomeprazol		Rabeprazol		Pantoprazol		Lansoprazol	
	Phương pháp đề xuất	Phương pháp tham chiếu [10]	Phương pháp đề xuất	Phương pháp tham chiếu [4]	Phương pháp đề xuất	Phương pháp tham chiếu [4]	Phương pháp đề xuất	Phương pháp tham chiếu [8]
n	6	3	6	6	6	6	6	6
%TB	100,41	100,46	99,88	99,60	100,19	99,90	99,66	99,80
SD	0,41	0,19	0,45	0,33	0,49	0,28	0,51	0,36
<i>t</i> -Student	$t_{TN} = 0,26 < t_{0,95,7} = 2,36$		$t_{TN} = 1,26 < t_{0,95,10} = 2,23$		$t_{TN} = 1,28 < t_{0,95,10} = 2,23$		$t_{TN} = 0,55 < t_{0,95,10} = 2,23$	
<i>F</i> -test	$F_{TN} = 4,68 < F_{0,95,5,2} = 19,3$		$F_{TN} = 1,82 < F_{0,95,5,2} = 5,05$		$F_{TN} = 3,06 < F_{0,95,5,5} = 5,05$		$F_{TN} = 2,01 < F_{0,95,5,5} = 5,05$	

5 Kết luận

Phương pháp HPLC đã được xây dựng và thẩm định để định tính, định lượng đồng thời 8 hoạt chất điều trị HP gồm metronidazol, tinidazol, levofloxacin, cimetidin, esomeprazol, rabeprazol, lansoprazol và pantoprazol. Các chất thể hiện tuyến tính tốt với $R^2 \geq 0,999$ trong khoảng $(10-150) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (metronidazol, tinidazol, levofloxacin, lansoprazol) và $(10-100) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (các chất còn lại). Phương pháp cho độ đúng (98,98-100,74) %, peak đối xứng ($A_s \approx 1,0$) và độ phân giải $R_s \geq 1,5$. Nghiên cứu pH pha động trong khoảng pH = (3,0-7,5), ảnh hưởng đến khả năng tách,

trong đó pH = 6,5 được xác định là điều kiện tối ưu cho quá trình phân tích. Kết quả kiểm định thống kê bằng *t*-Student và *Fisher* cho thấy không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê so với phương pháp tham chiếu, khẳng định tính chính xác, độ lặp lại và độ tin cậy của phương pháp. Do đó, phương pháp có thể được ứng dụng hiệu quả trong kiểm nghiệm chất lượng các thuốc điều trị HP.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, mã số đề tài 2026.01.36/HĐ-KHCN.

Tài liệu tham khảo

- Bộ Y tế. (2017). *Dược điển Việt Nam V*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
- Bộ Y tế. (2011). *Hóa dược I*. Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, Hà Nội.
- Smerikarova, M., Bozhanov, S., & Maslarska, V. (2019). Development and validation of a RP-HPLC method to quantify amoxicillin, tinidazole, esomeprazole and lansoprazole in a mixture. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81(6), 1122-1125. <https://doi.org/10.36468/pharmaceutical-sciences.611>.
- Mai Thanh Nhân, Nguyễn Thị Thu Thảo. (2024). Định lượng đồng thời các loại thuốc trong phác đồ điều trị nhiễm trùng *Helicobacter pylori* bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). *Tạp chí Khoa học và Công nghệ – Đại học Nguyễn Tất Thành*, 7(4), 72-81. <https://doi.org/10.55401/aw3bxe58>.
- International Conference on Harmonization. (2023). *Guideline on validation of analytical procedures*. European Medicines Agency.
- Maslarska, V. (2023). Development and validation of analytical procedure for analysis of amoxicillin, metronidazole and omeprazole used as anti-*Helicobacter pylori* agents alone and in mixture. *Pharmacia*. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e109211>.

7. Arayne, M. S., et al. (2010). Simultaneous determination of metformin, cimetidine, famotidine, and ranitidine in human serum and dosage formulations using HPLC with UV detection. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 48(9), 721-725. <https://doi.org/10.1093/chromsci/48.9.721>.
8. Kapoor, D. U. (2021). Development and validation of an RP-HPLC method for the simultaneous estimation of clarithromycin, tinidazole and lansoprazole in fixed dose combinations. *Tropical Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*, 8(4). <https://doi.org/10.61280/tjpls.v8i4.69>.
9. Murumulla, J. (2018). New RP-HPLC method development and validation for simultaneous estimation of levofloxacin and ornidazole in bulk and pharmaceutical dosage form. *International Journal of Advanced Research in Medical & Pharmaceutical Sciences*, 3(2). ISSN: 2455-6998.
10. Mustafa, A. (2021). Simultaneous determination of amoxicillin, clarithromycin and esomeprazole in mice plasma after oral administration by reverse phase HPLC method. *Journal of Chromatography and Separation Techniques*, 12(1). ISSN: 2157-7064.

Development of a Simultaneous Qualitative and Quantitative Analytical Method for Selected Active Pharmaceutical Ingredients Commonly used in the Treatment of Gastric Ulcer by High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Mai Thanh Nhan^{1,2,*}, Nguyen Thị Thu Thao¹, Tran Nguyen Y Nhi¹

¹Faculty of Pharmacy, Nguyen Tat Thanh University, Ho Chi Minh City, Viet Nam

²Graduate University of Science and Technology (VAST), Vietnam Academy of Science and Technology, Ha Noi

*mtnhan@ntt.edu.vn

Abstract A new gradient HPLC method was developed and validated for the simultaneous qualitative and quantitative analysis of active pharmaceutical ingredients commonly used in the treatment of peptic ulcer disease, including metronidazole, cimetidine, tinidazole, levofloxacin, esomeprazole, rabeprazole, pantoprazole, and lansoprazole. Chromatographic separation was achieved on a reversed-phase C18 column using a gradient elution program with a mobile phase consisting of 20 mM phosphate buffer (A) and acetonitrile (B). The acetonitrile content was gradually increased to 28%, allowing efficient elution of moderately to highly polar compounds such as metronidazole, cimetidine, tinidazole, and levofloxacin. In the later stage (46-54) min, the acetonitrile ratio was rapidly increased from 34% to 80%, enabling complete separation of less polar compounds belonging to the proton pump inhibitor (PPI) group, including esomeprazole, rabeprazole, pantoprazole, and lansoprazole. The method demonstrated excellent linearity over the concentration ranges of (10-150) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for metronidazole, tinidazole, levofloxacin, and lansoprazole, and (10-100) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for cimetidine, esomeprazole, rabeprazole, and pantoprazole, with correlation coefficients (R^2) ≥ 0.999 . The accuracy ranged from 98.98% to 100.74%, meeting the ICH guideline requirements for accuracy, precision, repeatability, and linearity. Statistical evaluation revealed no significant difference compared with previously reported methods, confirming the robustness, reliability, and high practical applicability of the proposed gradient HPLC method for the simultaneous determination of anti-ulcer drugs.

Keywords HPLC; gradient elution; anti-ulcer drugs; simultaneous quantification.