

XÂY DỰNG VÀ THẨM ĐỊNH QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI AMLODIPIN BESILAT VÀ INDAPAMID BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO ĐẦU DÒ PDA

*Huỳnh Thị Mỹ Duyên**, *Mai Trọng Hoàng Long*, *Nguyễn Trần Vĩnh Khang*,
Phạm Võ Đại Tiến, *Võ Thành Thông*, *Nguyễn Mạnh Quân*, *Lê Thị Minh Ngọc*

Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

**Email: htmduyen@ctump.edu.vn*

Ngày nhận bài: 09/01/2024

Ngày phản biện: 10/02/2024

Ngày duyệt đăng: 26/02/2024

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Amlodipin besilat là thuốc thuộc nhóm chẹn kênh canxi, indapamid là một sulfonamid lợi tiểu, sự kết hợp giữa hai thuốc này trong cùng một dạng bào chế mang lại nhiều ưu điểm như dễ tuân thủ điều trị, cho sinh khả dụng cao, hạn chế tác dụng không mong muốn của từng loại thuốc giúp kiểm soát được huyết áp và làm giảm biến cố tim mạch. Do đó, việc nghiên cứu định lượng được đồng thời amlodipin besilat và indapamid cần được thực hiện để làm cơ sở để đánh giá hàm lượng hoạt chất trong sản phẩm bào chế. **Mục tiêu nghiên cứu:** Khảo sát điều kiện sắc ký, xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng đồng thời amlodipin besilat và indapamid bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao đầu dò PDA. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Phương pháp nghiên cứu thực nghiệm trên thành phẩm viên nén chứa đồng thời hoạt chất amlodipin besilat và indapamid. **Kết quả:** Phương pháp HPLC với đầu dò PAD, cột Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 pha đảo, pha động gồm Acetonitril:Methanol:đệm triethylamin 0,8% pH 3,0 điều chỉnh bằng acid phosphoric (tỉ lệ 25:30:45, tt/tt), tốc độ dòng 1 mL/phút, bước sóng phát hiện 242 nm. Khoảng nồng độ tuyến tính amlodipin là 4-20 µg/mL, phương trình hồi qui của amlodipin là $y = 106,45x$ với $R^2 = 0,9996$ và khoảng nồng độ tuyến tính là 0,6-3 µg/mL indapamid là $y = 137,27x$ với $R^2 = 0,999$. RSD của độ chính xác trong ngày amlodipin besilat và indapamid lần lượt là 1,63% và 1,56% và độ chính xác liên ngày lần lượt là 1,86% và 1,395%; độ đúng được thẩm định của amlodipin besilat và indapamid với RSD lần lượt là 1,41% và 1,38% và độ thu hồi trong khoảng 98-102%. **Kết luận:** Phương pháp HPLC với điều kiện sắc ký trên có thể được áp dụng để định lượng đồng thời amlodipin besilat và indapamid.

Từ khóa: Amlodipin besilat, indapamid, định lượng đồng thời, HPLC.

ABSTRACT

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF HPLC-PDA METHOD FOR THE SIMULTANEOUS DETERMINATION OF AMLODIPINE BESYLATE AND INDAPAMIDE

*Huynh Thi My Duyen**, *Mai Trong Hoang Long*, *Nguyen Tran Vinh Khang*,
Pham Vo Dai Tien, *Vo Thanh Thong*, *Nguyen Manh Quan*, *Le Thi Minh Ngoc*
Can Tho University of Medicine and Pharmacy

Background: Amlodipine besylate is a substance belonging to the group of calcium channel blockers; indapamide is a diuretic sulfonamide. Numerous benefits result from the combination of these two medications in the bilayer tablet, including simple treatment compliance, high bioavailability, a reduction in the adverse drug reactions associated with each medication, assistance in blood pressure control, and a decrease in cardiovascular events. Consequently, studies that simultaneously measure indapamide and amlodipine besylate must be conducted to assess the amount of active ingredients in tablets. **Objectives:** To analyze chromatographic conditions,

develop, and validate a method to simultaneously quantify amlodipine besylate and indapamide using high-performance liquid chromatography. **Materials and methods:** Bi-layer tablets containing the active ingredients amlodipine besylate and indapamide, utilizing the experimental research method. **Results:** HPLC method with PAD detector, reversed-phase Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 column, mobile phase consisting of Acetonitrile: Methanol: triethylamine buffer 0.8% pH 3.0 adjusted with phosphoric acid (ratio 25:30:45, tt/tt), flow rate 1 mL/min, detection wavelength 242 nm. The linear concentration range of amlodipine is 4-20 $\mu\text{g/mL}$; the regression equation for amlodipine is $\hat{y} = 106.45x$ with $R^2 = 0.9996$; and the linear concentration range of 0.6-3 $\mu\text{g/mL}$ indapamide is $\hat{y} = 137.27x$ with $R^2 = 0.999$. The RSD of the intraday precision of amlodipine besylate and indapamide were 1.63% and 1.56%, respectively, and the interday precision was 1.86% and 1.39%, respectively. Accuracy was assessed for amlodipine besylate and indapamide with RSD of 1.41% and 1.38%, respectively, and recoveries in the range of 98-102%. **Conclusion:** The HPLC method with the above chromatographic conditions can be applied to simultaneously quantifying amlodipine besylate and indapamide.

Keywords: Amlodipine besylate, indapamide, simultaneously quantify, HPLC.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh tăng huyết áp (THA) đang trở thành vấn đề báo động ở Việt Nam cũng như các nước trên toàn thế giới khi mà số người mắc phải ngày càng tăng. Trong phác đồ điều trị bệnh tim mạch, việc phối hợp thuốc với liều cố định đang được chú trọng đầu tư nghiên cứu và chấp nhận rộng rãi. Trong đó có sự kết hợp giữa amlodipin besilat và indapamid để điều trị tăng huyết áp, sự kết hợp giữa hai thuốc này trong cùng một dạng bào chế mang lại nhiều ưu điểm như dễ tuân thủ trong điều trị, cho sinh khả dụng cao, hạn chế tác dụng không mong muốn của từng loại [1].

Nghiên cứu định lượng được đồng thời amlodipin besilat và indapamid cần được thực hiện để làm cơ sở đánh giá hàm lượng hoạt chất trong viên thị trường, khả năng giải phóng hoạt chất trong dạng chế phẩm sau từng khoảng thời gian nhất định. Hiện nay, trong ĐĐVN 5 và USP 44 chỉ có chuyên luận định lượng đơn thành phần amlodipin và indapamid [2], [3] chưa có chuyên luận định lượng đồng thời hai chất này. Trên thế giới, có nghiên cứu định lượng đồng thời hai thành phần này như nghiên cứu Patel D. B và cộng sự năm 2012 [4], Rashmita G. và cộng sự năm 2013 [5], Bhagat D. M và cộng sự năm 2016 [6]... Tuy nhiên, ở Việt Nam chưa có nghiên cứu được công bố về định lượng đồng thời amlodipin besilat và indapamid bằng HPLC-DAD. Xuất phát từ những vấn đề trên, đề tài thực hiện với hai mục tiêu: 1) Khảo sát điều kiện pha động tách amlodipin besilat và indapamid bằng phương pháp HPLC-PDA. 2) Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng đồng thời amlodipin besilat và indapamid.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Chất chuẩn: Amlodipin besilat số lô QT145 120122 (hàm lượng 103 % tính trên nguyên trạng), indapamid số lô QT264 020121 (hàm lượng 97,7 % tính trên nguyên trạng) do Viện Kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh cung cấp. Thuốc đối chứng Natrixam[®] (Công ty Les Laboratoires Servier Industrie-Pháp) số lô 6052969, còn hạn sử dụng 16 tháng, được mua tại nhà thuốc ở Cần Thơ có hóa đơn chứng minh nguồn gốc xuất xứ.

Dung môi và hóa chất: Acetonitril (ACN) và methanol (MeOH) đạt tiêu chuẩn sắc ký lỏng. Triethylamin (TEA), acid phosphoric và các dung môi dùng trong phân tích đạt tiêu chuẩn phân tích theo quy định.

Thiết bị: Máy HPLC Agilent với cột sắc ký pha đảo ZORBAX Eclipse Plus C18 (Mỹ), máy đo pH Hanna HI 2550, cân phân tích (04 số lẻ) KERN AES 220-4C.

Nghiên cứu được tiến hành tại Bộ môn Bào chế-Công nghiệp dược, Khoa Dược, Trường Đại học Y Dược Cần Thơ từ tháng 3/2023.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị mẫu

Dung dịch chuẩn gốc amlodipin besilat: dung dịch có nồng độ khoảng 200 µg/mL trong methanol.

Dung dịch chuẩn gốc indapamid: dung dịch có nồng độ khoảng 100 µg/mL trong methanol.

Dung dịch hỗn hợp chuẩn amlodipin và indapamid: sử dụng dung môi pha động pha loãng để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 10 µg/mL amlodipin và 1,5 µg/mL indapamid; lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Dung dịch mẫu thử: Cân 20 viên thuốc Natrixam[®] SR 10 mg/ 1,5 mg, xác định khối lượng trung bình của 01 viên, nghiền bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khối lượng trung bình 01 viên, cho vào bình định mức 50 mL; thêm lượng tối thiểu MeOH, lắc kỹ cho tan và siêu âm 30 phút; thêm pha động vừa đủ 50 mL, lắc đều, lọc qua giấy lọc, bỏ khoảng 10 mL dịch lọc đầu. Hút chính xác 500 µL dịch lọc, cho vào bình định mức 10 mL, thêm pha động vừa đủ 10 mL, lắc đều, thu được dung dịch có nồng độ khoảng 10 µg/mL amlodipin và 1,5 µg/mL indapamid; lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Dung dịch mẫu trắng: Dung môi pha mẫu MeOH, pha động.

Dung dịch giả dược (placebo): Cân chính xác khoảng hỗn hợp bột giả dược tương ứng 01 viên (thành phần nguyên liệu giả dược dựa theo patent của viên Natrixam[®] SR 10 mg/ 1,5 mg đã được công bố) [7], cho vào bình định mức 50 mL; thêm lượng tối thiểu MeOH, lắc kỹ cho tan và siêu âm 30 phút; thêm pha động vừa đủ 50 mL, lắc đều, lọc qua giấy lọc, bỏ khoảng 10 mL dịch lọc đầu. Hút chính xác 500 µL dịch lọc, cho vào bình định mức 10 mL; thêm pha động vừa đủ 10 mL, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.

2.2.2. Khảo sát điều kiện sắc ký

Sau khi tham khảo một số tài liệu nghiên cứu liên quan lựa chọn điều kiện sắc ký ban đầu như sau: Pha tĩnh: Cột sắc ký Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm); Chương trình rửa giải đẳng dòng; Thể tích tiêm mẫu: 50 µL; Tốc độ dòng: 1 mL/phút; Bước sóng: 242 nm.

Tiến hành khảo sát pha động theo trình tự: khảo sát loại pha động, khảo sát tỉ lệ pha động, khảo sát pH pha động. Dung môi sử dụng trong hệ pha động sẽ bao gồm những dung môi rửa giải tính phân cực từ trung bình đến cao như: ACN, MeOH, nước cất/hệ đệm phosphat - TEA 0,8%.

Yêu cầu: Đạt các thông số sắc ký $RSD \leq 2\%$; số đĩa lý thuyết $N > 2000$; hệ số bất đối $0,8 < A_s < 1,2$; hệ số phân giải $R_s > 1,5$; $1 < k' < 8$.

2.2.3. Thẩm định phương pháp định lượng đồng thời amlodipin besilat và indapamid

Tính tương thích hệ thống; Tính đặc hiệu; Tính tuyến tính; Độ chính xác, Độ đúng: thực hiện theo hướng dẫn và quy định ICH [8].

Độ chính xác: Thể hiện ở độ lặp lại kết quả và độ chính xác trung gian thể hiện độ lặp lại kết quả qua các ngày khác nhau hoặc kiểm nghiệm viên khác nhau.

Độ đúng: Được thực hiện bằng cách thêm chuẩn vào mẫu giả dược ở ba mức nồng độ 80%, 100% và 120% so với nồng độ đo của từng hoạt chất. Tính tỉ lệ thu hồi dựa trên lượng chuẩn thêm vào và lượng tìm được.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Khảo sát điều kiện sắc ký

3.1.1. Khảo sát loại pha động

Bảng 1. Khảo sát loại pha động và tỷ lệ pha động

STT	Hệ pha động	Tỉ lệ pha động (tt/tt)	Thời gian lưu (tR)		Hệ số phân giải (Rs)		Hệ số bất đối (As)		Diện tích đỉnh (mAu)		Tinh khiết pic
			AML	IND	AML	IND	AML	IND	AML	IND	
1	MeOH: Nước	50: 50	5,555	-	-	-	2,27	-	729,8	-	Không đạt
2	ACN: Nước	50: 50	4,286	4,631	6,03	1,13	1,15	1,16	1172,4	257,64	Không đạt
3	ACN: MeOH: Nước	25: 25: 50	7,112	4,241	6,13	-	2,44	2,38	930,70	168,78	Đạt
4		35: 15: 50	2,783	3,231	1,53	1,03	1,41	1,51	872,54	156,43	Không đạt
5		30: 20: 50	3,721	3,185	0,98	2,05	2,33	2,44	904,53	170,70	Không đạt
6		25: 30: 45	5,585	4,421	3,47	8,13	1,81	1,85	1026,23	190,43	Đạt

(-): không có dữ liệu pic.

Nhận xét: Hệ pha động (1) không ghi nhận tín hiệu pic của indapamid; Hệ pha động (2) thu được tín hiệu 2 pic dính nhau không đạt hệ số phân giải; Hệ pha động 4,5 không đạt độ phân giải; Hệ (3) và hệ (6) đạt độ phân giải > 1,5 trong đó hệ (6) cho thời gian lưu ngắn hơn, diện tích đỉnh lớn hơn. Tuy nhiên, hệ 6 vẫn chưa đạt hệ số bất đối (0,8-1,2). Do đó, tỷ lệ dung môi pha động (25: 30: 45) được chọn để thực hiện nghiên cứu tiếp theo.

3.1.2. Khảo sát pH pha động

Bảng 2. Khảo sát pH pha động

STT	Hệ pha động (25: 30: 45)	Thời gian lưu (tR)		Hệ số phân giải (Rs)		Hệ số bất đối (As)		Tinh khiết pic
		IND	AML	IND	AML	IND	AML	
1	ACN: MeOH: TEA 0,8% pH 2,5	4,319	5,406	10,92	5,09	1,2	1,19	Đạt
2	ACN: MeOH: TEA 0,8% pH 3,0	4,143	5,201	15,25	6,09	1,1	1,1	Đạt
3	ACN: MeOH: TEA 0,8% pH 3,5	4,424	5,609	9,31	3,77	1,29	1,47	Đạt

Nhận xét: Hệ (1) và hệ (2) đạt về hệ số bất đối tuy nhiên để hạn chế tối đa ảnh hưởng pH đến cột sắc ký, hệ pH 3 được chọn.

3.2. Xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng đồng thời amlodipin besilat và indapamid

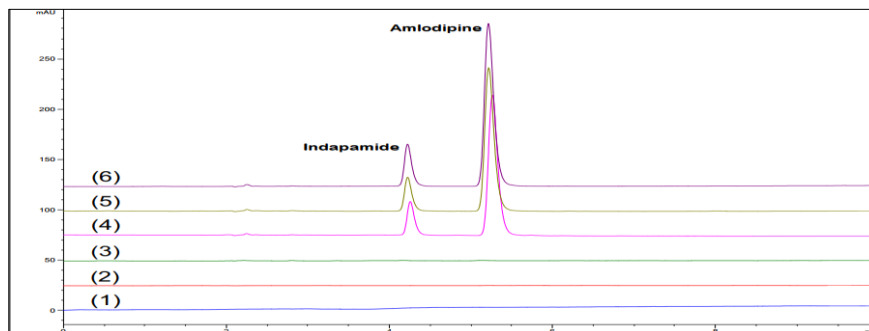
3.2.1. Tính tương thích hệ thống

Bảng 3. Kết quả thẩm định tính tương thích hệ thống

		tR (phút)	S (mAU)	N	As	Rs	k'
Amlodipin	Trung bình	5,37	992,01	9572	1,11	5,36	1,59
	RSD %	0,15	0,21	1,18	0,00	0,58	0,27
Indapamid	Trung bình	4,32	205,76	9916	1,11	13,04	1,08
	RSD %	0,09	0,34	1,45	0,48	0,59	0,37

Nhận xét: Các thông số sắc ký đều đạt trong khoảng cho phép: $RSD \leq 2\%$; $0,8 < A_s < 1,2$; $R_s > 1,5$; $N \geq 2000$, $1 < k' < 8$. Như vậy, quy trình đạt tính tương thích hệ thống.

3.2.2. Tính đặc hiệu



Hình 3. Overlay sắc ký đồ thể hiện tính đặc hiệu: (1) mẫu MeOH; (2) mẫu pha động; (3) mẫu thử giả dược; (4) mẫu chuẩn (5) mẫu thử; (6) mẫu thử thêm chuẩn

Nhận xét:

- Sắc ký đồ mẫu pha động và mẫu giả dược không xuất hiện pic ở trong khoảng thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của chất chuẩn trong sắc ký đồ hỗn hợp chuẩn.
- Sắc ký đồ mẫu thử xuất hiện pic có thời gian lưu tương tự với pic của chất chuẩn trong sắc ký đồ hỗn hợp chuẩn. Trên sắc ký đồ mẫu thử pic của hoạt chất tách hoàn toàn.
- Sắc ký đồ mẫu thử thêm chuẩn có sự tăng lên về chiều cao và diện tích của các pic có thời gian lưu tương đương với thời gian lưu của các pic trong mẫu chuẩn;
- Phổ UV-Vis tại thời gian lưu của pic hoạt chất trong sắc ký đồ mẫu thử giống với phổ UV-Vis tại thời gian lưu của pic hoạt chất trong sắc ký đồ hỗn hợp chuẩn. Pic hoạt chất trong sắc ký đồ mẫu thử tinh khiết.

Như vậy, quy trình phân tích đạt tính đặc hiệu.

3.2.3. Tính tuyến tính, miền giá trị, độ chính xác, độ đúng

Bảng 4. Kết quả khảo sát tính tuyến tính, miền giá trị, độ chính xác và độ đúng

		Amlodipin				Indapamid			
Phương trình hồi quy		$\hat{y} = 106,45x$				$\hat{y} = 137,27x$			
Khoảng tuyến tính ($\mu\text{g/mL}$)		4-20				0,6-3			
		Amlodipin				Indapamid			
Hệ số tương quan (r)		0,9996				0,9990			
Độ chính xác		Độ lặp lại (n=6)		Độ chính xác trung gian (n=12)		Độ lặp lại (n=6)		Độ chính xác trung gian (n=12)	
		% so với nhãn	RSD (%)	% so với nhãn	RSD (%)	% so với nhãn	RSD (%)	% so với nhãn	RSD (%)
		99,93	1,63	99,94	1,86	98,37	1,56	98,23	1,39
Độ đúng (n=9)	Mức nồng độ	Tỷ lệ thu hồi TB (%)		RSD (%)		Tỷ lệ thu hồi TB (%)		RSD (%)	
	80%	100,51		0,41		100,31		1,14	
	100%	99,61		1,87		98,58		0,37	
	120%	99,5		1,2		100,74		1,36	
Miền giá trị ($\mu\text{g/mL}$)		8-12				1,2-1,8			

Nhận xét: Quy trình đạt độ đúng, độ lặp lại và độ chính xác trung gian với RSD \leq 2%. Sau khi xử lý thống kê bằng trắc nghiệm F, giá trị F thực nghiệm đều lớn hơn $F_{0,05}$ nên phương trình hồi quy tương thích. Kiểm tra ý nghĩa của hệ số b trong phương trình hồi quy bằng trắc nghiệm t cho thấy hệ số a có ý nghĩa và hệ số b không có ý nghĩa. Như vậy, phương trình hồi quy của amlodipin và indapamid lần lượt là $\hat{y} = 106,45x$ và $\hat{y} = 137,27x$ với $r^2 \geq 0,998$ và tuyến tính trong khoảng nồng độ amlodipin từ 4-20 $\mu\text{g/mL}$ và indapamid từ 0,6-3 $\mu\text{g/mL}$.

IV. BÀN LUẬN

Khảo sát điều kiện sắc ký để thu được điều kiện phù hợp cần khảo sát qua nhiều bước chuẩn hóa từng điều kiện của hệ thống sắc ký, điều kiện thực tế... trên cơ sở kiến thức sẵn có và hiểu biết về đặc tính lý hóa của chất cần phân tích. Xét về mặt cấu trúc hoá học, nhận thấy cả hai hoạt chất được nghiên cứu amlodipin và indapamid đều có log P đều nằm trong khoảng từ 1-5 do đó cột sắc ký được lựa chọn là cột C18 pha đảo (ZORBAX Eclipse Plus C18) bởi khả năng tách tốt các chất có tính phân cực từ kém đến trung bình. Indapamid có bước sóng hấp thụ cực đại lần lượt là 240 nm và 279 nm và đối với amlodipin lần lượt là 238 nm và 362 nm, kết quả khảo sát cho thấy cả hai hoạt chất hấp thụ đáng kể ở bước sóng 242 nm tương đồng với nghiên cứu của Patel D.B và cộng sự năm 2012 [4], bước sóng 242 nm được lựa chọn.

Trong quá trình khảo sát loại pha động, nhận thấy việc chỉ sử dụng MeOH hoặc ACN độ tinh khiết pic không đạt. Vì vậy, hệ pha động bao gồm cả ACN và MeOH được tiến hành khảo sát với các tỷ lệ khác nhau, trong đó chỉ có hệ ACN: MeOH: Nước (25: 30: 45, tt/tt) cho thông số phù hợp nhất với yêu cầu cần khảo sát, tuy nhiên hệ số bất đối của các pic vẫn chưa đạt. Dựa vào các nghiên cứu [4], [6], [9], [10], [11] đều sử dụng hệ đệm phosphat trong hệ pha động và tham khảo nghiên cứu năm 2014 của Manish Sharma và cộng sự [9] cho thấy TEA là một chất điều chỉnh pH đã được thêm vào trong hệ đệm nhờ góp phần làm tăng độ phân cực pha động, giảm sức căng bề mặt và cải thiện hiệu suất tách. Hệ đệm phosphat-TEA 0,8% đã được thay thế cho nước cất trong hệ pha động và tiến hành khảo sát khoảng pH từ 2,5 đến 3,5. Kết quả cho thấy pH 2,5 và pH 3 đều cho thông số pic đạt yêu cầu. Tuy nhiên pH 3 đã được lựa chọn do có thông số tốt hơn, ổn định và an toàn hơn cho cột pha tĩnh sử dụng điều này cũng tương tự với pH pha động được sử dụng trong các nghiên cứu Patel D.B và cộng sự [4], Rashmita G. và cộng sự [5], Karunakar N và cộng sự [10].

Dựa trên hàm lượng viên đối chứng trên thị trường nhóm xác định miền giá trị cần phải định lượng hàm lượng viên. Tham khảo các nghiên cứu của Karunakar N và cộng sự năm 2012 [10], nghiên cứu Kirtan P. Patel và cộng sự năm 2020 [11] đã được chứng minh về tính tuyến tính của amlodipin và indapamid ở các mức nồng độ thấp. Nhóm tiến hành thẩm định tính tuyến tính của amlodipin và indapamid ở nồng độ lần lượt là 4-20 $\mu\text{g/mL}$ và 0,6-3 $\mu\text{g/mL}$ và đã chứng minh được quy trình đạt tính tuyến tính. Từ đó nhóm tiếp tục tiến hành thẩm định các yêu cầu còn lại.

Nghiên cứu thẩm định quy trình đã đạt tất cả các yêu cầu về tính tương thích hệ thống, độ đặc hiệu, tính tuyến tính, miền giá trị, độ đúng và độ chính xác. Đồng thời các yếu tố như dung môi pha mẫu MeOH, pha động, tá dược không ảnh hưởng đến kết quả định lượng đồng thời amlodipin besilat và indapamid.

V. KẾT LUẬN

Kết quả khảo sát thành công sự tách amlodipin besilat và indapamid, đồng thời xây dựng và thẩm định quy trình định lượng đồng thời amlodipin besilat và indapamid từ điều kiện sắc ký khảo sát trên chế phẩm chứa amlodipin besilat 10 mg và indapamid 1,5 mg bằng phương pháp HPLC cho thấy quy trình đạt tính tương thích với hệ thống sắc ký, đảm bảo tính chọn lọc đặc hiệu, có độ đúng trong khoảng 98-102%, độ chính xác cao ($RSD \leq 2\%$) và đạt độ chính xác trung gian theo hướng dẫn quy định ICH.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hội Tim mạch học quốc gia Việt Nam. Khuyến cáo của phân hội tăng huyết áp - hội tim mạch quốc gia Việt Nam (vsh/vnha) về chẩn đoán & điều trị tăng huyết áp. 2022.
2. Dược điển Việt Nam V. Nhà xuất bản Y học Hà Nội. 2017. 74-75, 505-508.
3. United States Pharmacopoeial Convention. The United States Pharmacopoeia 44/ National Formulary-39. Inc. Rockville, MD. 2021. “USP-NF Amlodipine Besylat” and “USP-NF Indapamide”.
4. Patel D.B., Mehta F.A., and Bhatt K.K. Simultaneous Estimation of amlodipine besylate and indapamide in a Pharmaceutical Formulation by a High Performance Liquid Chromatographic (RP-HPLC) Method. *Scientia Pharmaceutica*. 2012. 80(3), 581-590, <https://doi.org/10.3797/scipharm.1203-07>.
5. Rashmita G., Vasanth P.M., Ramesh T., and Ramesh M. Simultaneous estimation and forced degradation studies of amlodipine besylate and indapamide in tablet dosage form by RP-HPLC method. *Der Pharma Chemica*. 2013. 5(6), 347-352.
6. Mahant B. D., Rajoriya V., Jain R. K., and Kashaw V. UV-Spectrophotometric and Stability Indicating RP-HPLC Method for the Simultaneous Estimation of amlodipine besylate and indapamide. *Analytical Chemistry Letters*. 2016. 6(4), 354-370, <https://doi.org/10.1080/22297928.2016.1217787>.
7. Health Products Regulatory Authority, Package leaflet: Information for the patient. NATRIXAM 1.5 mg/10 mg modified-release tablets, https://www.hpra.ie/img/uploaded/swedocuments/2146556.PA0568_026_002.227af6c5-7646-43f3-a178-bfba81acf48f.000001PIL.141127.pdf
8. ICH Harmonised Guideline Q2(R2). Validation of Analytical procedures. 2022. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b_en.pdf
9. Sharma M., Kothari C., Sherikar O., and Mehta P. Concurrent estimation of amlodipine besylate, hydrochlorothiazide and valsartan by RP-HPLC, HPTLC and UV-spectrophotometry. *Journal of chromatographic science*. 2014. 52(1), 27-35, <https://doi.org/10.1093/chromsci/bms200>.
10. Karunakar N., Puranik S.B., Kumar G.V.S., Masood M.D., and Sridhar K.A. Development and Validation of RP-HPLC Method for Simultaneous Estimation of amlodipine. *Asian journal of biomedical and pharmaceutical*. 2012. 2(12), 55-58.
11. Patel K.P., Chhalotiya U.K., Kachhiya H.M., and Patel J.K. A new RP-HPLC method for simultaneous quantification of perindopril erbumine, indapamide, and amlodipine besylate in bulk and pharmaceutical dosage form. *Futur J Pharm Sci*. 2020. 6(80), 1-9, <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00092-4>.