

NGHIÊN CỨU ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI  
PARACETAMOL VÀ METHOCARBAMOL TRONG VIÊN NÉN  
BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

Nguyễn Thị Hồng Vân<sup>1\*</sup>, Cao Văn Ánh<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Bạch<sup>1</sup>

**Tóm tắt**

**Mục tiêu:** Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng đồng thời paracetamol (PAR) và methocarbamol (METH) trong viên nén bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (high-performance liquid chromatography - HPLC). **Phương pháp nghiên cứu:** Định lượng PAR và METH bằng phương pháp HPLC với cột sắc ký Luna<sup>R</sup> C<sub>18</sub> (4 × 250mm, 5µm), nhiệt độ cột 26°C, tốc độ dòng 1,0 mL/phút, đầu dò UV tại bước sóng 274nm, thể tích tiêm 10µL, pha động gồm acetonitril: Dung dịch acid formic (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 PAR và METH trong viên nén.

**Từ khóa:** Paracetamol; Methocarbamol; Sắc ký lỏng hiệu năng cao; Viên nén.

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF PARACETAMOL AND  
METHOCARBAMOL IN TABLETS BY A HIGH-PERFORMANCE  
LIQUID CHROMATOGRAPHY METHOD

**Abstract**

**Objectives:** To develop and validate a procedure for the simultaneous quantifying of paracetamol (PAR) and methocarbamol (METH) in tablets by high-performance liquid chromatography (HPLC). **Methods:** Quantify PAR and METH by HPLC method with Luna<sup>R</sup> C<sub>18</sub> (4 × 250mm, 5µm), column temperature of 26°C, flow rate of 1.0 mL/min, detector UV at 274nm, injection volume was 10µL,

<sup>1</sup>Học viện Quân y

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Hồng Vân (vannguyenhvqy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 03/12/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 13/01/2025

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v50i5.1109>

mobile phase consisting of acetonitrile and 0.2% formic 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 PAR and METH in tablets.

**Keywords:** Paracetamol; Methocarbamol; High-performance liquid chromatography; Tablet.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Dạng thuốc kết hợp giữa METH và PAR là thuốc giảm đau liên quan đến cơ thắt cơ xương, dùng trong một số trường hợp như bong gân, chấn thương, viêm khớp. Trong đó, METH là hoạt chất có tác động giãn cơ kéo dài trên các cơ xương bằng cách ức chế chọn lọc trên hệ thần kinh trung ương, ức chế co rút, giảm đau trung tâm, thuốc tác động nhanh (sau uống 30 phút), hiệu quả cao và kéo dài, không ảnh hưởng lên các neuron vận động, ít tác dụng phụ. PAR hoạt động như một thuốc giảm đau nhẹ và hạ sốt, ngăn chặn việc giải phóng các chất trung gian hóa học (prostaglandin) gây đau, viêm và sốt [1, 2].

Hiện nay, tại Việt Nam và trên thế giới đã có nhiều chế phẩm kết hợp METH và PAR (chủ yếu ở dạng viên nén) được nghiên cứu và đưa ra thị trường. Để kiểm nghiệm các chế phẩm này phục vụ cho công tác quản lý chất

lượng thuốc cần có một quy trình định lượng phù hợp, đảm bảo tính khoa học. Qua tham khảo các công trình nghiên cứu của các tác giả trong và ngoài nước về vấn đề này, chúng tôi nhận thấy, hiện nay, ở Việt Nam chưa nghiên cứu nào công bố quy trình định lượng đồng thời METH và PAR trong viên nén; Dược điển Mỹ USP 47 [3] chỉ có chuyên luận riêng của METH và PAR; một số tác giả trên thế giới cũng đã nghiên cứu, đề xuất một số phương pháp định lượng đồng thời như quang phổ đạo hàm, cảm biến điện hóa, HPLC [4, 5, 6], tuy nhiên, vẫn còn những tồn tại chưa phù hợp với điều kiện nghiên cứu của các phòng thí nghiệm tại Việt Nam. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm: *Xây dựng được một quy trình định lượng đồng thời hai hoạt chất PAR và METH, hỗ trợ công tác kiểm tra, kiểm soát chất lượng thuốc trên thị trường Việt Nam.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

\* *Nguyên vật liệu:* Chất chuẩn Paracetamol (Acetaminophen), SKS: C0924019, hàm lượng 99,7% do Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương cung cấp. Chất chuẩn METH, số lô: C16837156, hàm lượng 98%, xuất xứ Macklin (Trung Quốc). Thuốc thử: Viên nén kết hợp METH và PAR. Acetonitril, acid formic đạt tiêu chuẩn HPLC.

\* *Thiết bị nghiên cứu:* Hệ thống HPLC Alliance Waters 2695D; Detector PDA (Mỹ), cân phân tích, máy siêu âm.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Phương pháp chuẩn bị mẫu chuẩn, mẫu thử, mẫu trắng:*

Dung dịch chuẩn hỗn hợp gốc ( $S_0$ ): Hòa tan 100mg chất chuẩn METH và 81,2mg chất chuẩn PAR bằng ethanol (EtOH) 70% để thu được dung dịch chuẩn hỗn hợp gốc có nồng độ METH và PAR tương ứng là 1.000 và 812  $\mu\text{g/mL}$ .

Dãy dung dịch chuẩn hỗn hợp: Pha loãng dung dịch  $S_0$  bằng EtOH 70% để thu được dãy dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ METH và PAR lần lượt là 80 - 120  $\mu\text{g/mL}$  và 65 - 97,5  $\mu\text{g/mL}$ .

Dung dịch thử: Cân chính xác và nghiền thành bột 20 viên nén. Hòa tan

một lượng bột viên tương đương với khoảng 100mg METH và 81,2mg PAR bằng EtOH 70%. Tiếp tục pha loãng để thu được dung dịch thử có nồng độ METH và PAR tương ứng khoảng 100 và 81,2  $\mu\text{g/mL}$ . Lọc qua màng lọc 0,45 $\mu\text{m}$ .

Mẫu trắng: EtOH 70%.

\* *Điều kiện sắc ký:* Hệ thống sắc ký: HPLC Alliance Waters 2695D. Cột sắc ký pha đảo Luna<sup>R</sup> C<sub>18</sub> (4 × 250mm, 5 $\mu\text{m}$ ). Detector: UV bước sóng 274nm. Tốc độ dòng: 1,0 mL/phút. Nhiệt độ cột: 26°C. Pha động: Khảo sát thành phần và tỷ lệ pha động: ACN:H<sub>2</sub>O (25:75, tt/tt); ACN:Acid formic 0,2% (25:75, 13:87 và chương trình gradient, tt/tt). Thể tích tiêm: Khảo sát các thể tích tiêm 5 $\mu\text{L}$ , 10 $\mu\text{L}$ , 20 $\mu\text{L}$ .

\* *Thẩm định phương pháp:* Tiến hành thẩm định theo các chỉ tiêu của ICH [7].

\* *Xử lý số liệu:* Số liệu được xử lý bằng Microsoft Excel.

### 3. Đạo đức nghiên cứu

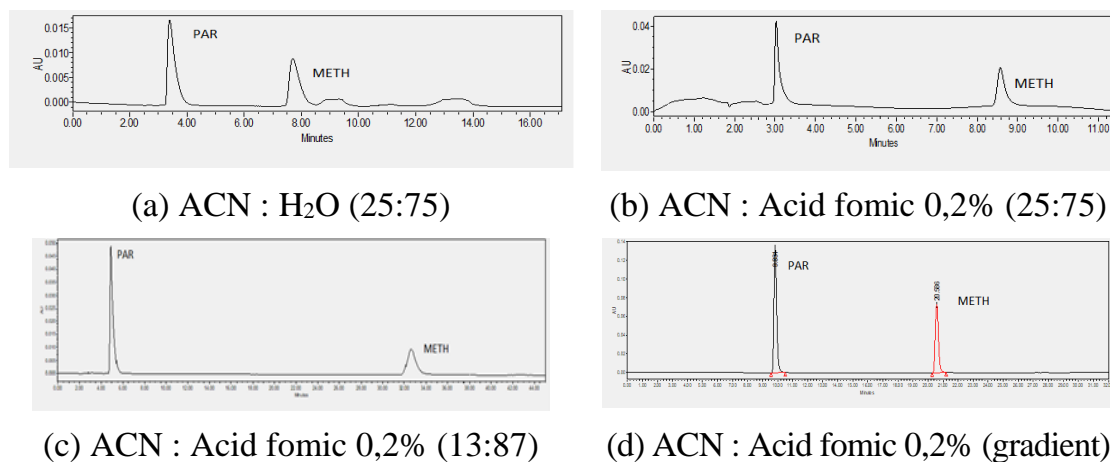
Bài báo là sản phẩm của đề tài khoa học và công nghệ cấp Học viện được thực hiện theo quyết định số 569/QĐ-HVQY ngày 27/02/2025. Số liệu được Viện Đào tạo Dược, Học viện Quân y cho phép sử dụng và công bố. Nhóm tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Kết quả khảo sát điều kiện sắc ký

\* Kết quả khảo sát pha động:

Tiến hành khảo sát một số hệ pha động. Kết quả được trình bày ở hình 1.



Hình 1. Sắc ký đồ ở các pha động khảo sát.

Với hệ pha động thứ nhất, ACN:H<sub>2</sub>O (25:75) đẳng dòng, pic của METH không tách được ra khỏi nền mẫu. Với hệ pha động thứ hai, nước được thay bằng dung dịch acid formic 0,2%, pic của 2 chất bị kéo đuôi. Với hệ pha động thứ ba, tỷ lệ ACN giảm xuống 13%, thời gian lưu của METH lên tới 33 phút, PAR vẫn bị rửa giải sớm, pic mất cân đối nên hệ pha động đẳng dòng không phù hợp. Do đó, chọn chương trình gradient ACN:H<sub>2</sub>O với tỷ lệ ACN tăng từ 3 - 35% trong thời gian từ 0 - 25 phút. Kết quả 2 chất được rửa giải trong khoảng 20 phút, pic đạt yêu cầu về hệ

số bất đối xứng trong khoảng 0,8 - 1,5 và số đĩa lý thuyết  $\geq 3.000$ .

\* Kết quả khảo sát thể tích tiêm:

Tiến hành khảo sát thể tích tiêm mẫu ở 5, 10 và 20 $\mu$ L. Với thể tích tiêm mẫu là 20 $\mu$ L, pic của cả 2 chất bị kéo đuôi. Khi giảm xuống 10 $\mu$ L, pic của PAR và METH thu được đều cân xứng, không còn hiện tượng kéo đuôi, pic cân xứng. Tiếp tục giảm xuống còn 5 $\mu$ L thì pic của PAR và METH thu được cũng cân xứng, tuy nhiên, khi tiêm lặp lại 6 lần để đánh giá tính tương thích hệ thống thì không đạt. Do vậy, lựa chọn thể tích tiêm là 10 $\mu$ L để xây dựng điều kiện sắc ký.

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

\* *Kết quả thẩm định tính tương thích của hệ thống:*

Tiến hành phân tích 6 lần mẫu chuẩn hỗn hợp có nồng độ METH và PAR tương ứng 100 µg/mL và 81,2 µg/mL. Kết quả được trình bày trong bảng 1.

**Bảng 1.** Kết quả khảo sát độ tương thích của hệ thống sắc ký.

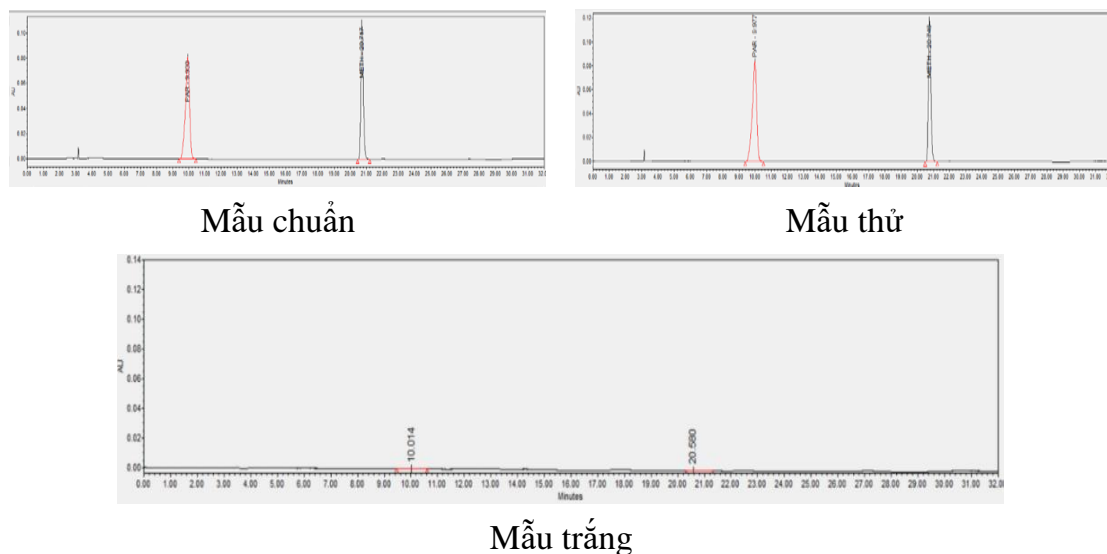
Mẫu	PAR				METH			
	t <sub>R</sub> (phút)	S <sub>pic</sub> (µV.s)	T <sub>f</sub>	N	t <sub>R</sub> (phút)	S <sub>pic</sub> (µV.s)	T <sub>f</sub>	N
1	9,98	1427081	0,86	8016	20,73	1601027	1,22	87123
2	9,98	1431295	0,86	7798	20,74	1597029	1,21	87284
3	9,97	1431600	0,85	7860	20,72	1605760	1,23	89195
4	9,96	1433294	0,86	7831	20,73	1602945	1,19	86433
5	9,96	1427825	0,86	7698	20,73	1608412	1,22	86070
6	9,95	1430967	0,86	7613	20,72	1608700	1,22	85689
TB	9,97	1430344	0,86	7802	20,73	1603979	1,23	86966
RSD (%)	0,1	0,18			0,13	0,04		

(N: Số đĩa lý thuyết; S<sub>pic</sub>: Diện tích pic; t<sub>R</sub>: Thời gian lưu; T<sub>f</sub>: Hệ số bất đối; TB: Trung bình)

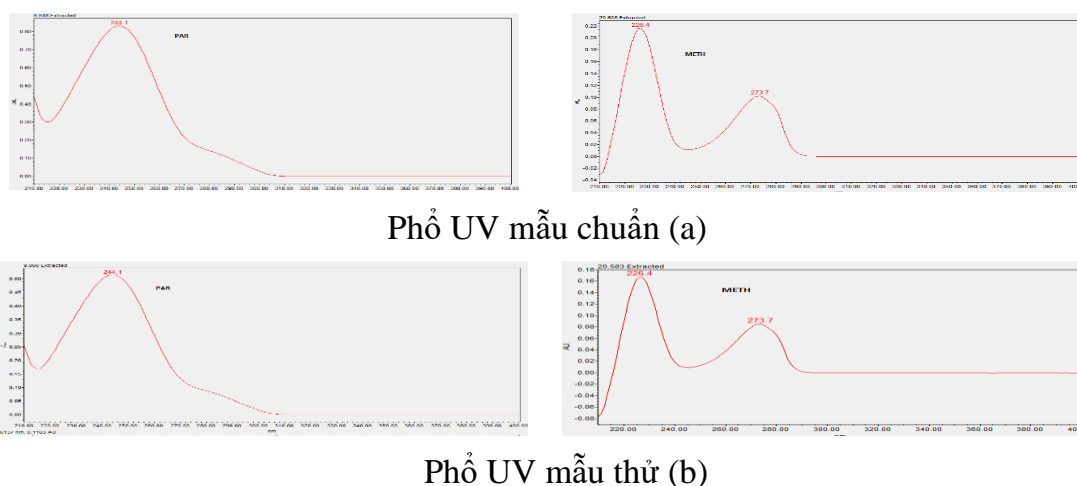
Độ lệch chuẩn tương đối RSD (%) của thời gian lưu, diện tích pic của PAR và METH trong 6 phép thử đều trong khoảng cho phép (< 2%), hệ số bất đối lần lượt là 0,86 và 1,23; số đĩa lý thuyết cao. Như vậy, hệ thống phù hợp và đảm bảo ổn định cho phép phân tích định lượng.

\* *Kết quả thẩm định độ đặc hiệu của phương pháp:*

Tiến hành phân tích mẫu trắng, dung dịch chuẩn hỗn hợp và dung dịch thử có nồng độ METH và PAR tương ứng 100 µg/mL và 81,2 µg/mL. Kết quả sắc ký đồ, phổ UV được ghi ở hình 2 và hình 3.



**Hình 2.** Sắc ký đồ thẩm định độ đặc hiệu.



**Hình 3.** Phổ UV của PAR và METH trong mẫu chuẩn (a) và mẫu thử (b).

Sắc ký đồ của mẫu trắng (EtOH 70%) không xuất hiện pic trong khoảng thời gian tương ứng với pic của các chất chuẩn. Sắc ký đồ của mẫu chuẩn, mẫu thử có pic PAR và METH ở thời gian lưu khoảng 9,9 và 20,7 phút. Hình dạng phổ của pic PAR và METH trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn tại thời gian lưu trên là phù hợp. Điều này chứng tỏ phương pháp có tính đặc hiệu cao.

\* *Kết quả thẩm định độ tuyến tính của phương pháp:*

Tiến hành sắc ký dãy các dung dịch chuẩn hỗn hợp của PAR và METH đã chuẩn bị (mục 2) theo quy trình đã lựa chọn. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

**Bảng 2.** Mối liên quan giữa nồng độ PAR và METH với diện tích pic.

Mẫu	PAR		METH	
	Nồng độ (µg/mL)	S <sub>pic</sub> (µV.s)	Nồng độ (µg/mL)	S <sub>pic</sub> (µV.s)
1	64,85	1169286	77,38	946285
2	72,95	1314648	87,05	1059426
3	81,06	1448018	96,72	1168383
4	89,16	1588209	106,4	1279728
5	97,27	1725101	116,06	1388762
KQ	Y = 17171X + 56544, R <sup>2</sup> = 0,9997		Y = 11478X + 57831, R <sup>2</sup> = 0,9999	

(S<sub>pic</sub>: 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<sup>2</sup> của PAR và METH lần lượt là 0,9997 và 0,9999.

\* Kết quả thẩm định độ chính xác:

Độ chính xác của phương pháp: 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 người phân tích (NPT) khác nhau vào các ngày khác nhau. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

**Bảng 3.** Kết quả khảo sát độ chính xác của phương pháp và độ chính xác trung gian.

NPT	Mẫu	KL mẫu (g)	PAR		METH	
			S <sub>pic</sub> (µV.s)	HL % so với nhãn	S <sub>pic</sub> (µV.s)	HL % so với nhãn
NPT1	1	0,2081	1393062	102,52	1095636	96,89
	2	0,2054	1360440	101,44	1083091	97,04
	3	0,2001	1310978	100,34	1032580	94,96
	4	0,2018	1337496	101,51	1057221	96,41
	5	0,2082	1388161	102,11	1097194	96,98
	6	0,2123	1384558	99,88	1097667	95,14
	TB			101,30		96,24
	RSD (%)			1,00		0,98

NPT	Mẫu	KL mẫu (g)	PAR		METH	
			S <sub>píc</sub> ( $\mu$ V.s)	HL % so với nhãn	S <sub>píc</sub> ( $\mu$ V.s)	HL % so với nhãn
NPT2	1	0,2107	1410200	102,50	1114340	97,32
	2	0,2084	1393882	102,44	1090936	96,33
	3	0,2092	1408356	103,10	1112517	97,86
	4	0,2106	1409119	102,47	1113493	97,30
	5	0,2112	1415455	102,64	1117256	97,35
	6	0,2109	1416214	102,84	1116678	97,44
TB				101,98	96,75	
RSD (%)				0,98	0,93	

(S<sub>píc</sub>: Diện tích pic; NPT: Người phân tích; KL: Khối lượng; HL: Hàm lượng; TB: Trung bình; STT: Số thứ tự)

RSD (%) so với nhãn ở các mẫu đều  $\leq 2\%$ . Như vậy, độ chính xác của phương pháp và độ chính xác trung gian đạt yêu cầu của ICH.

\* Kết quả thẩm định độ đúng của phương pháp:

Phân tích các mẫu thêm chuẩn (80%, 100% và 120% nồng độ dung dịch thử). Đánh giá độ thu hồi và RSD (%) của độ thu hồi. Kết quả trình bày ở bảng 4.

**Bảng 4.** Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp.

Mẫu (%)	Mẫu	KL mẫu (g)	PAR				METH			
			KLC TV (mg)	S <sub>píc</sub> DDTTC ( $\mu$ V.s)	KLC TH (mg)	Độ TH (%)	KLC TV (mg)	S <sub>píc</sub> DDTTC ( $\mu$ V.s)	KLC TH (mg)	Độ TH (%)
80	1	0,2215	65,6	1301856	64,79	98,8	76,0	1051607	74,47	98,1
	2	0,2186	64,8	1299054	65,54	101,1	76,6	1049784	75,47	98,5
	3	0,2164	64,9	1300886	66,55	102,5	77,3	1047480	76,08	98,4
	TB (%)				100,8		98,3			
	RSD (%)				1,88		0,23			
100	1	0,2232	79,4	1453044	81,09	102,4	96,2	1176614	94,40	98,1
	2	0,2192	80,7	1451018	82,33	102,3	95,7	1161754	93,74	98,0
	3	0,2194	80,1	1441401	81,18	101,7	95,7	1162698	93,80	98,1
	TB (%)				102,1		98,1			
	RSD (%)				0,42		0,05			



Mẫu (%)	Mẫu	KL mẫu (g)	PAR				METH			
			KLC TV (mg)	S <sub>píc</sub> DDTTC (μV.s)	KLC TH (mg)	Độ TH (%)	KLC TV (mg)	S <sub>píc</sub> DDTTC (μV.s)	KLC TH (mg)	Độ TH (%)
120	1	0,2172	96,9	1579189	97,41	100,8	115,6	1275026	113,39	98,1
	2	0,2196	97,1	1588055	97,53	100,7	115,5	1280738	113,27	98,0
	3	0,2151	96,8	1585104	98,84	102,4	115,2	1266615	112,94	98,1
			TB (%)			101,3			98,1	
			RSD (%)			0,93			0,03	

(S<sub>píc</sub>: Diện tích pic; KL: Khối lượng; KLCTV: Khối lượng chuẩn thêm vào; DDTTC: Dung dịch thử thêm chuẩn; KLCTH: Khối lượng chuẩn thu hồi; TH: Thu hồi; TB: Trung bình; STT: Số thứ tự)

Tỷ lệ thu hồi ở tất cả các mẫu đạt từ 98,0 - 102,5% so với lượng chuẩn thêm vào; RSD ≤ 2%. Chứng tỏ phương pháp đã xây dựng có độ đúng cao.

### 3. Ứng dụng xác định hàm lượng PAR và METH trong chế phẩm

Áp dụng phương pháp định lượng 3 chế phẩm viên nén với tỷ lệ kết hợp của PAR và METH là 325mg/400mg. Kết quả thể hiện trong bảng 5.

**Bảng 5.** Kết quả định lượng chế phẩm.

Mẫu	Lượng cân (g)	PAR			METH		
		S <sub>píc</sub> (μV.s)	Hàm lượng (mg)	Hàm lượng (%)	S <sub>píc</sub> (μV.s)	Hàm lượng (mg)	Hàm lượng (%)
1	0,2105	1423447	79,68	103,6	1116643	92,44	97,6
2	0,2102	1424789	79,76	105,1	1115272	92,32	97,7
3	0,2073	1399153	78,32	104,7	1074201	88,92	95,4
TB (%)		104,4			96,9		
RSD (%)		0,79			1,31		

Kết quả: Hàm lượng PAR và METH trong các chế phẩm lần lượt là 104,4 (± 0,79)% và 96,9 (± 1,31)% so với hàm lượng ghi trên nhãn.

### BÀN LUẬN

So sánh với một số công bố quốc tế khác sử dụng hệ dung môi pha động là MeOH:H<sub>2</sub>O, thời gian lưu của cả 2 chất cũng tương đối ngắn (< 10 phút), tuy nhiên, pic thu được không cân xứng, hệ số kéo đuôi không đạt so với yêu cầu của Dược điển Việt Nam 5 (0,8 - 1,5). USP 47 phân tích METH sử dụng dung dịch đệm KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,05M làm giảm tuổi thọ của hệ thống sắc ký. Do đó, chúng tôi lựa chọn hệ pha động đơn giản gồm ACN và acid formic 0,2%, áp suất trong quá trình phân tích cũng thấp hơn so với hệ MeOH:H<sub>2</sub>O. Do đó, quy trình định lượng này phù hợp với điều kiện trang thiết bị tại nhiều phòng thí nghiệm ở Việt Nam hơn.

Phương pháp xây dựng với dạng viên phối hợp METH/PAR 400mg/325mg. Với các chế phẩm có tỷ lệ kết hợp khác như 500mg/400mg, 300mg/380mg; vẫn có thể áp dụng được quy trình định lượng này sau khi điều chỉnh phương pháp chuẩn bị mẫu và xây dựng lại đường chuẩn.

### KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng và thẩm định được phương pháp HPLC định lượng đồng thời PAR và METH trong viên nén sử dụng cột Luna<sup>R</sup> C<sub>18</sub> (4 × 250mm, 5μm), tốc độ dòng 1,0 mL/phút, đầu dò UV tại bước sóng 274nm, thể tích tiêm 10μL, pha động

gồm acetonitril:dung dịch acid formic 0,2% 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 2 chất, có thể sử dụng để định lượng một số chế phẩm đang lưu hành trên thị trường.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Pubchem. Monograph: *Methocarbamol*.
2. Pubchem. Monograph: *Acetaminophen*.
3. USP 47 - N42. Monograph: *Methocarbamol Tablets*.
4. Murat PALABIYIK, et al. Simultaneous spectrophotometric determination of paracetamol and methocarbamol in a pharmaceutical preparation using chemometric techniques. *Turk J Pharm Sci*. 2004; 1(1):1-15.
5. N Erk, et al. Simultaneous determination of paracetamol and methocarbamol in tablets by ratio spectra derivative spectrophotometry and LC. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2001; 24:469-475.
6. Sobhy MEI-Adl, et al. HPLC method for determination of Methocarbamol and Paracetamol in their pharmaceutical formulation. *Analytical Chemistry Letters*. 2016; 6(5):622-630.
7. ICH. Validation of analytical procedures Q2(R1), Q2 (R2). 2022.