BÀI NGHIÊN CỨU

Định lượng đồng thời và thử độ hoà tan của tenofovir disoproxil fumarat và emtricitabin trong viên nén bằng phương pháp lấy đạo hàm phổ tử ngoại nhờ thuật toán biến đổi Fourier nhanh

Vũ Tùng Lâm[1], Trần Đình Nghĩa[2], Đoàn Thanh Xuân[3]*, Vũ Đặng Hoàng[1]*

[1] Bộ môn Hóa phân tích và Độc chất, Trường Đại học Dược Hà Nội

[2] Bộ môn Hóa đại cương - vô cơ, Trường Đại học Dược Hà Nội

[3] Bộ môn Cơ điện tử, Viện cơ khí, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội

** Tác giả liên hệ: xuan.doanthanh@hust.edu.vn; và hoangvd@hup.edu.vn*

(Ngày gửi đăng: 18/2/2022 – Ngày duyệt đăng: 25/02/2022)

SUMMARY

Derivative UV spectrophotometric analysis was investigated to resolve UV spectral overlapping of tenofovir disoproxil fumarate and emtricitabine in their binary mixtures. UV spectra were subjected to a combination of the fast Fourier transform-based first-order differentiation and 3 passes of 17-point triangular smooth to reveal zero-crossing working wavelengths. Linear calibration graphs were generated for drugs under study at the concentration range of 4 ÷ 52 mg/L with R2 > 0.990. The developed UV spectrophotometric method was validated in terms of accuracy and precision. It was also statiscally compared to a reference HPLC method (p > 0.05) when quantifying these two active principles in combined tablets. The proposed method proved eco-friendly, cost- and time-saving and successfully applicable to monitoring in vitro the drug release profile of tenofovir disoproxil fumarate-emtricitabine in combined tablets.

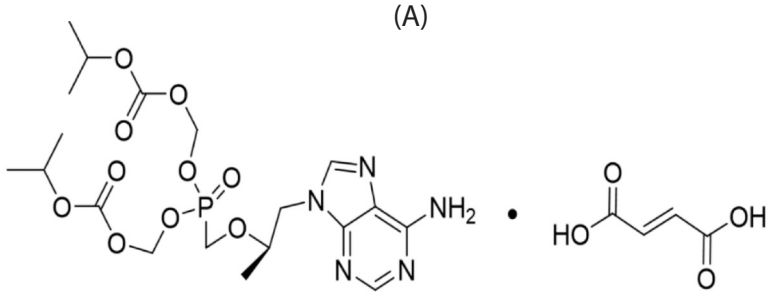
Từ khóa: *tenofovir disoproxil fumarat, emtricitabin, phổ tử ngoại, biến đổi Fourier nhanh, định lượng, thử độ hòa tan.*

Đặt vấn đề

Mục tiêu chính của liệu pháp kháng virus cho bệnh nhân nhiễm virus gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV) là ức chế sự nhân lên của virus. Để đạt được mục tiêu này, việc điều trị kết hợp với hai hoặc nhiều thuốc kháng virus đã được khuyến cáo từ thập niên 1990 [1].

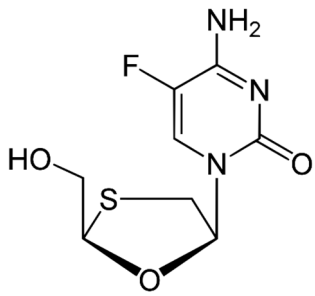
Tenofovir disoproxil (TEN), thường được bào chế ở dạng muối của acid furmaric (hình 1 A), là tiền chất (prodrug) đã được FDA Hoa Kỳ phê duyệt năm 2001 cho điều trị nhiễm HIV-1 và HIV-2 [2]. TEN thuộc nhóm thuốc kháng virus có thể ức chế enzym sao chép ngược loại nucleosid/nucleotid (nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitors - NRTIs). Sau khi hấp thu, TEN bị thuỷ phân diester và phosphoryl hoá tạo ra dạng diphosphat (có khả năng cạnh tranh với deoxyadenosin 5´-triphosphat gây ức chế enzym quyết định sự phát triển DNA của virus). Emtricitabin (EMT, hình 1 B) là một thuốc

(A)



[[(2R)-1-(6-aminopurin-9-yl)propan-2-yl]oxymethyl-(propan-2-yloxycarbonyloxymethoxy)phosphoryl]oxymethyl propan-2-yl carbonate

(B)



(-)-(2R,5S)-5-Fluoro-1-[2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolan-5-yl]cytosine

Hình 1. Cấu trúc hoá học và danh pháp IUPAC của (A) TEN và (B) EMT.

NRTI khác [3] có khả năng ức chế quá trình sao chép ngược của HIV-1 nhờ cạnh tranh với deoxycytidin 5'-triphosphat. Nhằm giảm thiểu hiện tượng kháng NRTI, biệt dược Truvada® (phối hợp TEN và EMT) đã được kê đơn ở Hoa Kỳ từ năm 2004 cho điều trị HIV-1 ở người lớn và thanh thiếu niên cũng như dự phòng trước phơi nhiễm HIV-1 qua đường tình dục ở những người có nguy cơ cao [4].

Theo quy định của Dược điển quốc tế [5], TEN và EMT trong viên nén hỗn hợp được định lượng bằng phương pháp HPLC sử dụng cột C18 (250 × 4,6 mm, 5 µm) và chương trình gradient 19 phút với pha động A (kali dihydrophosphat 27,2 g/L – nước (5 : 95, tt/tt)) và B (acetonitril – kali dihydrophosphat 27,2 g/L – nước (70 : 5 : 25, tt/tt/tt)). Việc định lượng đồng thời hai hoạt chất này trong chế phẩm cũng có thể được tiến hành với các kỹ thuật sắc ký khác như HPTLC [6] và HPLC đẳng dòng [7]. Ngoài ra, một số phương pháp quang phổ tử ngoại cũng có thể được sử dụng để định lượng TEN và EMT trong hỗn hợp hai hoặc ba thành phần (ví dụ: phổ tỉ đối đỉnh-tới-đỉnh [8], phổ đạo hàm và kết hợp toán hoá [9]). So với HPLC và HPTLC, định lượng đồng thời TEN và EMT bằng các phương pháp quang phổ đã nêu có ưu điểm nổi bật là thời gian phân tích ngắn hơn và chỉ sử dụng các dung môi thân thiện môi trường.

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đề xuất phép định lượng đồng thời TEN và EMT trong hỗn hợp hai thành phần bằng phép lấy đạo hàm bậc nhất phổ tử ngoại nhờ thuật toán biến đổi Fourier nhanh. Tính khả thi của phương pháp quang phổ xây dựng được đánh giá qua phép định lượng và thử độ hoà tan hai hoạt chất này trong một chế phẩm viên nén hiện đang lưu hành trên thị trường.

Cơ sở lý thuyết

Đạo hàm bằng phép biến đổi Fourier nhanh [10]

Theo nguyên tắc, có thể khai triển một hàm tuần hoàn *y(x)* với chu kỳ *L* như một chuỗi Fourier:

$$y(x) = \sum_{k=-\infty}^{\infty} Y_k e^{\frac{2\pi i}{L}kx}$$

(Phương trình 1)

Trong đó các hệ số Fourier được định nghĩa là $Y_k = \frac{1}{L}\int_0^L e^{-\frac{2\pi i}{L}kx}\, y(x)dx$

Về mặt toán học, chuỗi Fourier có thể được tính gần đúng bằng cách sử dụng phép biến đổi Fourier rời rạc (Discrete Fourier transform - DFT). Do vậy, *y(x)* có thể đươc thay thế bởi *N* mẫu rời rạc $y_n = y(nL/N)$ với *n = 0, 1, …, N – 1*, và Y_k được tính gần đúng như sau: $Y_k = \frac{1}{N}\sum_{n=0}^{N-1} y_n e^{-\frac{2\pi i}{N}nk}$. Trong phép toán Θ(N log N), có thể thực hiện việc tính các giá trị Y_k ($0 \le k < N$) khi sử dụng phép biến đổi Fourier nhanh (Fast Fourier transform – FFT).

Công thức tính đạo hàm của y_n ($0 \le n < N$) sử dụng FFT để tính hệ số nội suy lượng giác (trigonometric interpolation coefficients) như sau.

Đạo hàm bậc nhất của *y(x)* và y_n sẽ cho kết quả tương ứng:

$$y'(x) = \sum_{0<k<\frac{N}{2}} \frac{2\pi i}{L} k \left(Y_k e^{+\frac{2\pi i}{L}kx} - Y_{N-k} e^{-\frac{2\pi i}{L}kx}\right) - \frac{\pi}{L} N Y_{N/2} \sin(\frac{\pi}{L} Nx)$$

(Phương trình 2)

$$y'_n = y'(nL/N) = \sum_{0<k<\frac{N}{2}} \frac{2\pi i}{L} k \left(Y_k e^{+\frac{2\pi i}{L}kx} - Y_{N-k} e^{-\frac{2\pi i}{L}kx}\right) = \sum_{k=0}^{N-1} Y'_k\, e^{\frac{2\pi i}{N}nk}$$

(Phương trình 3)

Để tính Y'_k, Y_k được nhân với $\frac{2\pi i}{L}k$ với *k < N/2*, nhân với $\frac{2\pi i}{L}(k-N)$ với *k > N/2*, và nhân với 0 với *k = N/2* nếu *N* là số nguyên chẵn. y'_n sau đó được tính từ Y'_k thông qua phép nghịch đảo FFT.

Đạo hàm bậc hai của *y(x)* và y_n sẽ cho kết quả tương ứng:

$$y''(x) = -\sum_{0<k<\frac{N}{2}} \left[\frac{2\pi}{L}k\right]^2 \left(Y_k e^{+\frac{2\pi i}{L}kx} + Y_{N-k} e^{-\frac{2\pi i}{L}kx}\right) - \left[\frac{\pi}{L}N\right]^2 Y_{N/2} \cos(\frac{\pi}{L} Nx)$$

(Phương trình 4)

$$y''_n = y''(nL/N) = -\sum_{0<k<\frac{N}{2}} \left[\frac{2\pi}{L}k\right]^2 \left(Y_k e^{+\frac{2\pi i}{N}nk} - Y_{N-k} e^{-\frac{2\pi i}{N}nk}\right) - \left[\frac{\pi}{L}N\right]^2 Y_{N/2}(-1)^n$$
$$= \sum_{k=0}^{N-1} Y''_k\, e^{\frac{2\pi i}{N}nk}$$

(Phương trình 5)

Để tính Y''_k, Y_k được nhân với $-\left[\frac{2\pi i}{L}k\right]^2$ với *k ≤N/2* và nhân với $-\left[\frac{2\pi i}{L}(k-N)\right]^2$ với *k > N/2*. y''_n sau đó được tính từ Y''_k thông qua phép nghịc đảo FFT.

Cần chú ý rằng đạo hàm bậc hai sẽ không cho kết quả tương đương với hai lần đạo hàm bậc một liên tiếp trừ khi *N* là số nguyên lẻ (vì số hạng $Y_{N/2}$ sẽ hoàn toàn triệt tiêu). Đạo hàm bậc cao hơn có thể tiến hành tương tự đạo hàm bậc một (với bậc đạo hàm lẻ) hoặc tương tự đạo hàm bậc hai (với bậc đạo hàm chẵn).

Thuật toán làm trơn [11]

Hầu hết các thuật toán làm trơn đều dựa trên kỹ thuật "dịch chuyển và nhân": lựa chọn một cửa sổ phổ có *m* điểm (thường là các số nguyên lẻ); lần lượt nhân từng điểm của một cửa sổ phổ này với một bộ các hệ số; sau đó, lấy tổng đại số của các phép nhân này đem chia cho tổng số các hệ số đã sử dụng để có được một điểm phổ làm trơn. Toàn bộ quá trình này được lặp lại khi cửa số phổ lựa chọn được dịch chuyển đi một điểm cho đến khi toàn bộ dải phổ được làm trơn.

Công thức tính cho thuật toán làm trơn đơn giản nhất {có tên gọi: hình hộp chữ nhật (rectangular boxcar) - hoặc trượt trung bình không trọng số (unweighted sliding-average)} cho cửa sổ phổ 3 điểm ($m = 3$) như sau:

$$S_j = \frac{Y_{j-1}+Y_j+Y_{j+1}}{3}$$

(Phương trình 6)

Trong đó S_j và Y_j lần lượt là tính hiệu được làm trơn và ban đầu của điểm thứ j ($j = 2 \div n - 1$, và n tổng số điểm của toàn dải phổ ban đầu).

Với thuật toán làm trơn tam giác (triangular), hàm làm trơn có trọng số (weighted) được sử dụng là (ví dụ cho cửa sổ phổ 5 điểm ($m = 5, j = 3 \div n - 2$):

$$S_j = \frac{Y_{j-2}+2Y_{j-1}+3Y_j+2Y_{j+1}+Y_{j+2}}{9}$$

(Phương trình 7)

Tín hiệu sẽ ít nhiễu hơn nếu được làm trơn nhiều lần. Thông thường, khi tiến hành làm trơn n lần với cửa số phổ có độ rộng w tín hiệu thu được sẽ tương đương với khi làm trơn với của sổ phổ là $n \times w - n + 1$. Ví dụ, làm trơn bằng thuật toán tam giác một lần với cửa sổ phổ 5 điểm cũng giống như làm trơn bằng thuật toán hình hộp chữ nhật hai lần với cửa số phổ 3 điểm.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Các chế phẩm viên nén có chứa đồng thời hai thành phần TEN 245 mg (tương đương với 300 mg dạng fumarat) và EMT 200 mg được nghiên cứu gồm có: Emtricitabine/Tenofovir disoproxil (Mylan Laboratories Limited - Ấn Độ; SĐK: VN2-644-17, số lô: 3123184). Chất chuẩn TEN (99,96 %) và EMT (100,1 %) có nguồn gốc từ LGC Standards (Anh). Acid hydrocloric 0,1M được sử dụng làm dung môi hòa tan mẫu. Các dung dịch chuẩn được pha từ các dung dịch chuẩn riêng rẽ TEN và EMT 100 mg/L trong bình định mức 50 mL.

Để định lượng hoạt chất trong chế phẩm, 20 viên nén được nghiền mịn, trộn đều và cân chính xác một lượng (tương ứng với khối lượng trung bình của một viên) cho vào bình định mức 50 mL, thêm khoảng 30-40 mL acid hydrocloric 0,1M, lắc, siêu âm khoảng 15 phút và thêm tiếp dung môi này cho tới vạch. Lọc, loại bỏ khoảng 10 mL dịch lọc đầu; tiến hành pha loãng 10 lần trong bình định mức 50 mL được dung dịch đem đo quang với mẫu trắng là acid hydrocloric 0,1M.

Phép thử độ hòa tan được tiến hành trên máy thử độ hòa tan Erweka DT 626 (Erweka GmbH, Đức) với thiết bị cánh khuấy đặt ở tốc độ 50 vòng/phút ở nhiệt độ 37 °C. Môi trường thử độ hòa tan là 900 mL dung dịch HCl 0,1M. Tại các thời điểm xác định trong khoảng thời gian 0 – 60 phút, lấy 3 mL mẫu để lọc; pha loãng với tỉ lệ thích hợp bằng acid hydrocloric 0,1M trong bình định mức 10 mL rồi đem đo quang.

Phép đo độ hấp thụ quang được thực hiện với máy quang phổ hai chùm tia UV-1800 Shimadzu (Nhật Bản) được kết nối với máy tính (chạy hệ điều hành Window XP). Chế độ đo độ hấp thụ: quét phổ từ 200 nm đến 400 nm; độ rộng khe sáng: 1,0 nm; tốc độ quét: chậm; khoảng cách giữa hai điểm trên phổ: 0,05 nm; cuvet thạch anh 1 cm.

Biến đổi đạo hàm sử dụng bộ lọc Savitzky-Golay được tiến hành với phần mềm UVProbe phiên bản 2.4 (Shimadzu, Nhật). Biến đổi đạo hàm bằng thuật toán biến đổi Fourier nhanh được thực hiện với phần mềm MATLAB 2015a (MathWorks, Mĩ), làm trơn được thực hiện với phần mềm EXCEL 2016 (Microsoft, Mĩ) với các thuật toán được xây dựng dựa vào các phương trình ở mục "Cơ sở lý thuyết".

Phương pháp phân tích đối chứng HPLC theo nghiên cứu được công bố [7] được thực hiện trên hệ thống Agilent 1200 Series HPLC – PDA (Mỹ) với cột Luna® C18 (250 × 4,6 mm, 5 µm) – Phenomenex; pha động là hỗn hợp acetonitril : 0,03 M kali dihydrophosphat được

điều chỉnh với acid phosphoric để được pH 3,5 (60 : 40, tt/tt); bước sóng phát hiện: 270 nm; tốc độ dòng: 1,0 mL/phút; thể tích tiêm: 20 µL. Dung môi pha động, mẫu thử và chuẩn đều được lọc qua màng 0,45 µm trước khi phân tích trên hệ thống sắc ký.

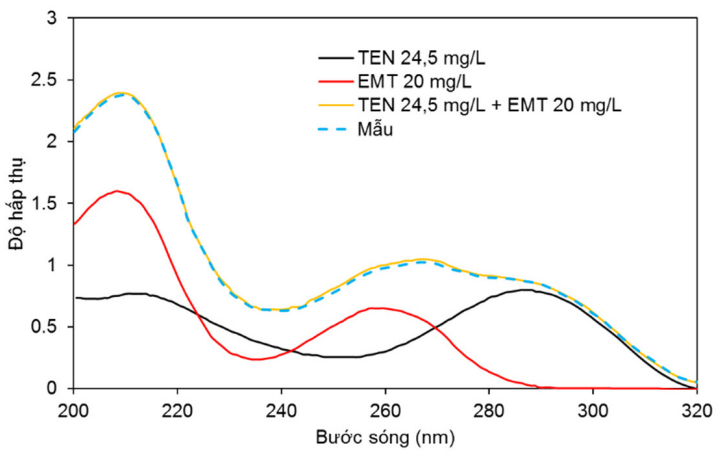
Kết quả nghiên cứu

Tiến hành lần lượt đo phổ hấp thụ của các dung dịch chuẩn một thành phần TEN 24,5 mg/L, EMT 20 mg/L, hỗn hợp chuẩn hai thành phần (TEN 24,5 mg/L + EMT 20 mg/L) và mẫu (giả thiết đạt hàm lượng công bố) (hình 2). Phổ hấp thụ UV của TEN và EMT lần lượt có các cực đại tù tại các bước sóng 209,6 và 258,8 nm (TEN), và 287,1 nm (EMT).

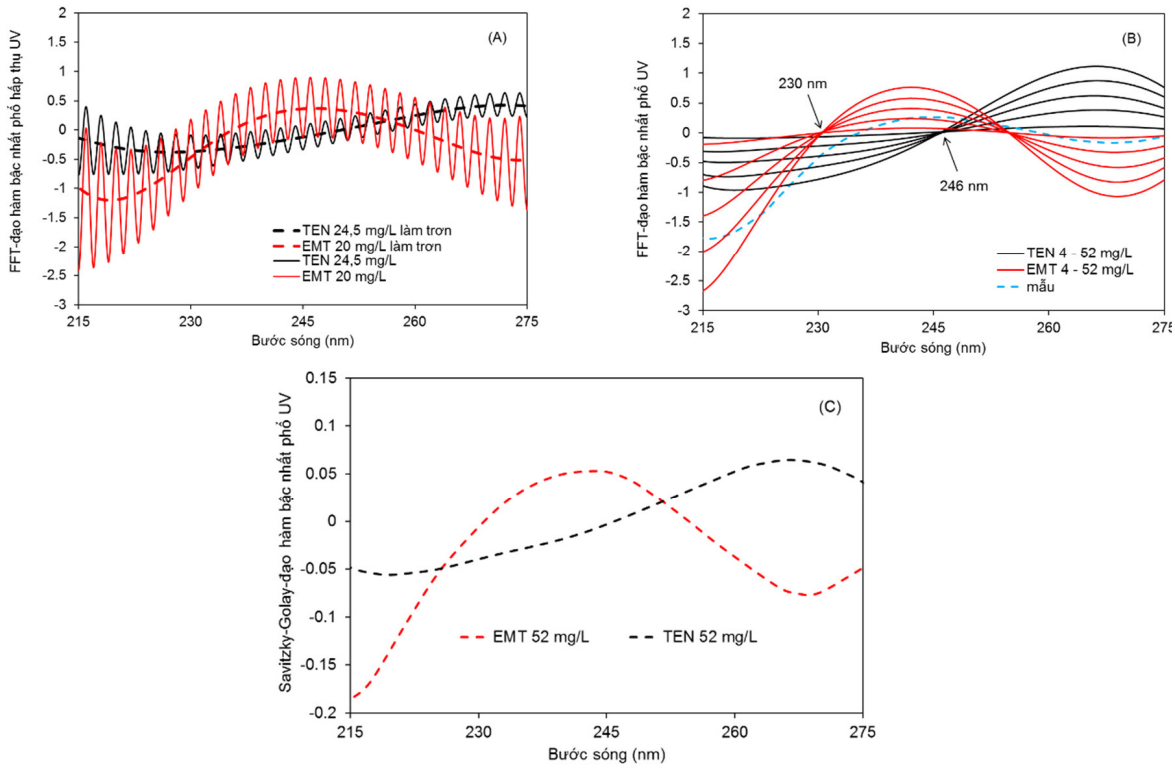
Hình 3A biểu diễn phổ đạo hàm thu được bằng phép biến đổi Fourier nhanh phổ UV của các dung dịch TEN và EMT ở nồng độ định lượng, không được và được làm trơn 3 lần bằng thuật toán làm trơn tam giác với cửa sổ phổ có 17 điểm. Phổ đạo hàm bậc nhất của hai dãy dung dịch chuẩn được trình bày ở hình 3 B cho thấy ta có thể định lượng đồng thời TEN và EMT lần lượt tại các bước sóng giao điểm không (zero-crossing point): 230 và 246 nm. Bảng 1 biểu diễn kết quả khảo sát tuyến tính của phép định lượng TEN và EMT tại các bước sóng này. Hình 3B cho thấy cường độ tính hiệu đạo hàm tại vị trí cực đại của dung dịch TEN và EMT 52 mg/L thu được bằng thuật toán Savitzky-Golay (phần mềm UV Probe) giảm khoảng 15 lần so với phép biến đổi Fourier nhanh.

Kết quả định lượng một số chế phẩm hiện đang lưu hành trên thị trường trình bày ở bảng 2 cho thấy phương pháp quang phổ có độ lặp tốt với RSD < 2 %. Độ đúng của phương pháp này được đánh giá bằng kỹ thuật thêm chuẩn (20 % so với hàm lượng ghi trên nhãn). Kết quả cho thấy các % tìm lại với hai hoạt chất TEN và EMT trong khoảng 98,8 – 101,6 %. Kiểm định thống kê t-test ($t_{tính} < t_{bảng} = 2,228$) và F-test ($F_{tính} < F_{bảng} = 3,452$) xác nhận không có sự khác biệt đáng kể khi so sánh kết quả định lượng ($n = 6$, $p > 0,05$) giữa phương pháp quang phổ được xây dựng và phương pháp HPLC đã được công bố [7].

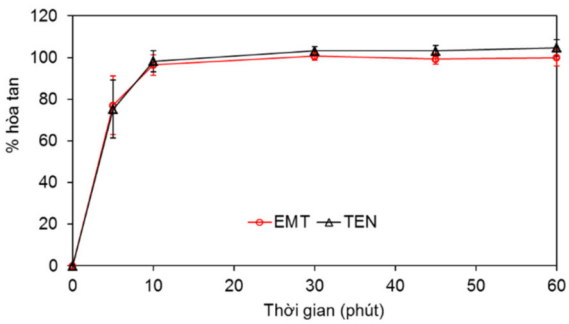
Đường cong hòa tan (hình 4) cho thấy hơn 90% cả hai hoạt chất (so với hàm lượng ghi trên nhãn) được giải phóng sau 10 phút với chế phẩm được thử.



Hình 2: Phổ hấp thụ UV của các dung dịch TEN 24,5 mg/L, EMT 20 mg/L, TEN 24,5 mg/L + EMT 20 mg/L và mẫu thử



Hình 3. Đạo hàm bậc nhất phổ hấp thụ UV bằng thuật toán FFT của: (A) các dung dịch TEN 24,5 mg/L, EMT 20 mg/L trước và sau khi làm trơn, (B) dãy dung dịch chuẩn 4 – 52 mg/L và mẫu thử, và bằng thuật toán Savitzky-Golay (C) các dung dịch TEN và EMT 52 mg/L



Hình 4. Đường cong hòa tan của mẫu thử (trung bình ± độ lệch chuẩn, n = 6)

Bảng 1. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính của phép định lượng TEN và EMT bằng quang phổ

Hoạt chất	Bước sóng (nm)	Phương trình hồi quy*	R^2
TEN	230	y = – 0,0143x – 0,00004	0,9990
EMT	246	y = 0,0128x + 0,0118	0,9993

** hệ số chắn khác 0 không có ý nghĩa thống kê (p > 0,05)*

Bảng 2. Hàm lượng % so với nhãn của TEN và EMT trong mẫu thử (viên nén Emtricitabine/Tenofovir disoproxil) (trung bình ± độ lệch chuẩn, n = 6)

TEN		EMT	
HPLC	Quang phổ	HPLC	Quang phổ
98,8 ± 1,3	99,5 ± 2,1	100,7 ± 1,8	101,6 ± 2,7
$t_{tính}$ = 0,694 $F_{tính}$ = 2,609		$t_{tính}$ = 0,679 $F_{tính}$ = 2,250	

Bàn luận

Trong nghiên cứu này, dung môi hòa tan mẫu đo quang là acid hydrocloric 0,1M vì nó mô phỏng điều kiện hoà tan trong dạ dày (pH = 1,5 – 3,5) của viên nén TEN-EMT. Sự lựa chọn này cũng phù hợp vì cả hai chất đều có tính base yếu (pKa = 3,75 với TEN và 2,65 với EMT [12]) nên chúng có khả năng hoà tan tốt trong môi trường acid. Hình 2 cho thấy TEN và EMT (ở nồng độ định lượng) có tính cộng tính ánh sáng trong khoảng bước sóng 200 – 320 nm

và không có sự khác biệt đáng kể về hình dạng phổ giữa dung dịch hỗn hợp chuẩn (TEN 24,5 mg/L + EMT 20 mg/L) và mẫu đo có nồng độ tương đương. Cực đại hấp thụ quan sát được trên phổ UV là quá trình chuyển dạng điện tử $n \rightarrow \pi^*$ và $\pi \rightarrow \pi^*$ do sự có mặt của các chromophore -nhóm mang mầu [carbonyl, carboxyl, purine (TEN); carbonyl và pyrimidine (EMT)] và các auxochrome - nhóm trợ mầu (methyl, alkoxy, amino, fluoro, và phosphoryl) trong phân tử của hai chất. Ngoài ra, sự đan xen các dải phổ của TEN và EMT cho thấy không thể trực tiếp định lượng từng thành phần trong hỗn hợp bằng quang phổ UV truyền thống. Đánh giá hình dạng phổ, đặc biệt là sự khác biệt ở các bước sóng cực trị, chúng tôi đã sử dụng phép lấy đạo hàm bậc nhất phổ tử ngoại bằng thuật toán biến đổi Fourier nhanh để có thể định lượng đồng thời TEN và EMT trong hỗn hợp. Nguyên tắc của phép định lượng này dựa vào việc xác định bước sóng để định lượng một chất mà tại đó tín hiệu đạo hàm của chất còn lại bị triệt tiêu.

Hình 3A cho thấy sự khác biệt giữa phổ đạo hàm bậc nhất trước và sau khi làm trơn. Khi $\Delta\lambda$ tăng, phép lấy đạo hàm bằng biến đổi Fourier nhanh sẽ tạo ra tín hiệu ít nhiễu hơn nhưng cường độ của tín hiệu cũng bị giảm đi. Khảo sát cho thấy tín hiệu đạo hàm tối ưu có thể đạt được với $\Delta\lambda = 1$ nm kết hợp với làm trơn phổ 3 lần bằng thuật toán tam giác với cửa sổ phổ 17 điểm. Mục đích chính của quá trình làm trơn phổ là giảm nhiễu. Với nhiễu phân bố đều ở mọi bước sóng với độ lệch chuẩn *D*, sau khi làm trơn một lần với thuật toán tam giác (với cửa sổ phổ có m điểm) lượng nhiễu còn lại trong tín hiệu sẽ là $D \times 0{,}8/\sqrt{m}$ [11]. Làm trơn nhiều lần sẽ giảm nhiễu hiệu quả hơn so với làm trơn một lần bằng thuật toán hình hộp chữ nhật, mặc dù tín hiệu thu được sẽ có đáp ứng bước nhảy chậm hơn.

Để so sánh, phép lấy đạo hàm bậc nhất phổ tử ngoại cũng được thực hiện với bộ lọc Savitzky-Golay với $\Delta\lambda = 4$ nm (có sẵn trong phần mềm Shimadzu UV Probe). Ở chế độ mặc định, bộ lọc kỹ thuật số này tính giá trị đạo bậc n ($n \geq 0$, $n = 0$ tương ứng với làm trơn phổ) tại điểm giữa của một cửa sổ phổ có 17 điểm. Nó dựa trên phép toán tích chập (convolution) để giảm thiểu sai số bình phương nhỏ nhất khi biểu diễn dữ liệu phổ ban đầu bằng một hàm đa thức (polynomial). Không thể phủ nhận rằng ứng dụng bộ lọc Savitzky-Golay là bước ngoặt có tính đột phá trong phân tích phổ. Tuy nhiên, nó vẫn còn một số hạn chế: (i) chỉ áp dụng được với cửa sổ phổ có số lẻ các điểm dữ liệu, (ii) không thể tính giá trị đạo hàm cho các điểm quá gần với điểm cuối của dải phổ, (iii) sự kết hợp của các tham số (bậc đạo hàm, bậc đa thức và số điểm dữ liệu) chỉ có sẵn trong bảng Savitzky – Golay/Steinier, (iv) đây chỉ là phép tính gần đúng giá trị đạo hàm, (v) lấy đạo hàm hai lần hoặc nhiều lần liên tiếp không tạo ra một bộ các hệ số tích chập như đã được trình bày trong bảng Savitzky-Golay [13].

Hình 3B và C cho thấy phép lấy đạo hàm bằng biến đổi Fourier nhanh kết hợp với làm trơn (3 lần bằng thuật toán làm trơn tam giác với cửa sổ phổ có 17 điểm) có ưu điểm nổi bật so với bộ lọc Savitzky-Golay khi tạo ra tín hiệu đạo hàm cao hơn 15 lần (giúp cải thiện độ nhạy của phép đo).

Phương pháp quang phổ của chúng tôi được thẩm định các tiêu chí về độ lặp và độ đúng theo hướng dẫn ICH Q2R1 [14]. Tương quan chặt chẽ giữa tín hiệu đạo hàm và nồng độ của TEN và EMT trong khoảng 4 ÷ 52 mg/L đã được ghi nhận tại các bước sóng làm việc ($R^2 > 0{,}990$) (bảng 1). Khoảng tuyến tính được khảo sát đã đáp ứng tiêu chí cho phép định lượng (80 – 120 %) và thử độ hoà tan (40 – 120 %) so với nồng độ làm việc TEN 24,5 mg/L và EMT 20 mg/L. Kết quả khảo sát độ đúng và định lượng mẫu thực cho thấy sự có mặt của tá dược trong viên nén không có ảnh hưởng đáng kể đến độ lặp (RSD < 2 %) và độ đúng (% tìm lại với kỹ thuật thêm chuẩn: 98,8 – 101,6 %) của phép đo (bảng 2). Ngoài ra, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa phương pháp quang phổ được xây dựng và phương pháp HPLC đã được công bố ($p > 0{,}05$). Phương pháp quang phổ này cũng chứng minh được được khả năng ứng dụng cho phép thử độ hòa tan của viên nén Emtricitabine/Tenofovir disoproxil trong môi trường hòa tan là dung dịch HCl 0,1M (hình 3).

Kết luận

Dựa vào kết quả nghiên cứu của đề tài, chúng tôi đã xây dựng được phép định lượng trực tiếp, đồng thời TEN và EMT trong hỗn hợp hai thành phần bằng phép biến đổi đạo hàm phổ tử ngoại nhờ biến đổi Fourier nhanh có độ chính xác (độ lặp lại và độ đúng) cao. Phương pháp quang phổ đã nêu có khả năng ứng dụng vào công tác kiểm nghiệm thuốc (định lượng, thử độ hòa tan) do có yêu cầu kỹ thuật đơn giản, tiết kiệm thời gian và chỉ sử dụng các dung môi thông thường. Phương pháp này có thể được sử dụng để giám sát hàm lượng thuốc trong quá trình sản xuất, đặc biệt khi số lượng mẫu lớn không thể thực hiện được phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Maenza J., Flexner C. (1998), "Combination antiretroviral therapy for HIV infection," *American Family Physician*, vol. 57, no. 11, 2789.
2. Wassner C., Bradley N., Lee Y. (2020), "A review and clinical understanding of tenofovir: Tenofovir disoproxil fumarate versus tenofovir alafenamide," *Journal of the International Association of Providers of AIDS Care,* vol. 19, 2325958220919231
3. Frampton J.E., Perry C.M. (2005), "Emtricitabine: a review of its use in the management of HIV infection," *Drugs, vol.* 65, pp. 1427-1448.
4. Aschenbrenner D.S. (2012), "Truvada: the first drug approved to prevent HIV infection," *The American Journal of Nursing,* vol. 112, no. 11, pp. 20-21.
5. Draft proposal for The International Pharmacopoeia (2010), "Emtricitabine and Tenofovir tablets", https://www.who.int/medicines/services/expertcommittees/pharmprep/Emtricitabine-TDF-tabs-mono-QAS10-351_Sept10.pdf (accessed on 17 February 2022)
6. Joshi M., Nikalje A.P., Shahed M., Dehghan M. (2009), "HPTLC method for the simultaneous estimation of emtricitabine and tenofovir in tablet dosage form," I*ndian Journal of Pharmaceutical Sciences,* vol. 71, no. 1, pp. 95-97.
7. Viswanath V., Shanmugasundaram P., Ravichandiran V. (2013), "RP-HPLC method for the simultaneous estimation of tenofovir disoproxil fumerate and emtricitabine in combined tablet dosage form," *International Journal of PharmTech Research,* vol. 5, no. 3, pp. 1186-1195.
8. Ashour H.K., Belal T.S. (2017), "New simple spectrophotometric method for determination of the antiviral mixture of emtricitabine and tenofovir disoproxil fumarate," *Arabian Journal of Chemistry,* vol. 10, pp. S1741-S1747
9. Choudhari V.P., Ingale S., Gite S.R., Tajane D.D., Modak V.G., Ambekar A. (2011), "Spectrophotometric simultaneous determination of Tenofovir disoproxil fumarate and Emtricitabine in combined tablet dosage form by ratio derivative, first order derivative and absorbance corrected methods and its application to dissolution study," *Pharmaceutical Methods*, vol. 2, no. 1, pp. 47-52.
10. Johnson S.G. (2011), "Notes on FFT-based differentiation," *MIT Applied Mathematics, Techical Report*, pp. 1-11. https://math.mit.edu/~stevenj/fft-deriv.pdf (accessed on 10 February 2022).
11. O'Haver, T. (2022), "A pragmatic introduction to signal processing with applications in scientific measurement", https://terpconnect.umd.edu/~toh/spectrum/ (accessed on 10 February 2022).
12. VIREAD® (tenofovir disoproxil fumarate) Tablets, https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2007/021356s021,021752s011lbl.pdf (accessed on 10 February 2022).
13. Mark H., Jerome Jr. W. (2013), "Derivatives in spectroscopy, Part III: Computing the derivative," *Spectroscopy*, vol. 18, no. 12, pp. 106-111.
14. ICH Harmonised Tripartite Guideline (2005), "Validation of analytical procedures: Text and Methodology Q2(R1)," *International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use.*