

XÂY DỰNG QUY TRÌNH PHÂN TÍCH ĐỒNG THỜI DƯỢC CHẤT QUANG HOẠT CITALOPRAM VÀ MIRTAZAPIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI MAO QUẢN

Lê Thị Thu Cúc^{1*}, Nguyễn Đan Vy², Nguyễn Đức Tuấn³

¹Khoa Dược - Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

²Viện Kiểm nghiệm thuốc TP. Hồ Chí Minh

³Trường Dược - Trường Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Phương pháp điện di mao quản (CE) tách đồng thời các đồng phân quang học của citalopram và mirtazapin đã được xây dựng với điều kiện điện di là: Cột mao quản silica nung chảy, đường kính trong 50 μm , chiều dài tổng cộng 52 cm, chiều dài hiệu quả 43,5 cm, bước sóng phát hiện 205 nm, tiêm mẫu bằng chương trình áp suất 50 mbar trong 10 giây; dung dịch điện ly nền là dung dịch đệm phosphat (25 mmol/l; pH 2,5) chứa 1,25% sulfat- β -cyclodextrin (S- β -CD); điện thế -20 kV; nhiệt độ mao quản 25 °C. Ảnh hưởng của pH và nồng độ đệm, cũng như nồng độ S- β -CD, lên quá trình tách đã được nghiên cứu. Khoảng định lượng của cả hai đồng phân quang học là 2,5 - 125 $\mu\text{g/ml}$ (citalopram) và 4 - 188 $\mu\text{g/ml}$ (mirtazapin). Độ lệch chuẩn tương đối trong ngày (RSD; n = 6) < 3%. Tỷ lệ phục hồi nằm trong khoảng 98% - 102%. Phương pháp này có thể được áp dụng để xác định các đồng phân quang học của citalopram và mirtazapin trong chế phẩm dược phẩm và tạp chất quang học trong nguyên liệu citalopram và mirtazapin.

Từ khóa: Điện di mao quản, citalopram, mirtazapin, (S)-citalopram.

DEVELOPING CITALOPRAM AND MIRTAZAPINE ISOMER SIMULTANEOUS ANALYSIS PROCEDURE BY CE METHOD

SUMMARY

A capillary electrophoretic method for separation simultaneous enantiomers of citalopram and mirtazapine has been established and validated. The enantiomers were separated in a fused-silica capillary with phosphate running buffer (25 mmol L⁻¹, pH 2.5) containing 1.25% sulfated- β -cyclodextrin (S- β -CD). The effects on the separation of buffer pH and concentration, and concentration of S- β -CD were investigated. The range of quantitation for both enantiomers at 205 nm was 2.5 - 125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (citalopram) and 4 - 188 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (mirtazapine).

Chịu trách nhiệm: Lê Thị Thu Cúc

Email: thucuc_vkn@yahoo.com.vn

Ngày nhận: 03/6/2025

Ngày phản biện: 16/6/2025

Ngày duyệt bài: 30/6/2025

Intra-day relative standard deviation (RSD; n = 6) was < 3%. Recovery was in the range of 98% - 102%. The method can be applied for quantitative determination of the enantiomers of citalopram and mirtazapine in pharmaceutical preparations and chiral impurities in citalopram and mirtazapine raw materials.

Keywords: CE, citalopram, mirtazapine, (S)-citalopram, chiral separation, enantiomers.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Citalopram (CIT) là thuốc ức chế tái hấp thu chọn lọc serotonin thuộc dẫn chất phthalen vòng đôi. Mirtazapin (MIR) là thuốc chống trầm cảm không điển hình thuộc nhóm piperazinoazepin. Cả hai dược chất đều được sử dụng trong điều trị trầm cảm. Trên thị trường hiện nay đã có nhiều thành phẩm chứa hoạt chất dưới cả hai dạng racemic và đồng phân riêng lẻ. Tuy nhiên, các đồng phân quang học khác nhau về hoạt tính sinh học và tác dụng dược lý. Vì vậy phát triển các kỹ thuật phân tích để phân biệt các đồng phân quang học có vai trò rất quan trọng trong kiểm tra chất lượng thuốc trong hệ thống kiểm nghiệm.

Cho đến nay vẫn chưa có nghiên cứu nào ứng dụng phương pháp điện di mao quản (CE) để phân tích đồng thời cả hai dược chất quang hoạt CIT và MIR. Bên cạnh đó, chúng tôi cũng mong muốn phát triển được phương pháp mà có thể ứng dụng để phân tích đồng thời được đồng phân của một nhóm dược chất quang hoạt nhằm có thể đáp ứng kịp thời vào lĩnh vực kiểm tra chất lượng trong điều kiện hạn chế về cơ sở vật chất của các phòng thí nghiệm

Do đó, tiếp theo công trình nghiên cứu về lĩnh vực tách đồng phân quang học, trong bài báo này, chúng tôi giới thiệu kết quả phân tích đồng thời đồng phân quang học CIT và MIR bằng phương pháp điện di mao quản.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Chất đối chiếu, trang thiết bị, dung môi và hóa chất

Chất đối chiếu

Bảng 1. Các chất đối chiếu

Chất đối chiếu	Hàm lượng / chế phẩm NT (%)	Số lô	Nguồn gốc/ Nơi cung cấp
<i>Citalopram HBr</i>	99,8	R115CO	USP
<i>(S)-citalopram oxalat</i>	99,2	R09760	USP
<i>Mirtazapin</i>	100,0	R099J0	USP
<i>(S)-mirtazapin</i>	100,0	5-MKM-26-1	TLC Pharmaceutical Standards Ltd (Canada)

Trang thiết bị

- Máy điện di mao quản Agilent CE 7100, Detector Diod Array.
- Cân phân tích điện tử Mettler Toledo AT200, bể siêu âm Hwashin, bình định mức, pipet chính xác, ống đong, cốc có mỏ,...

Các thiết bị phân tích và dụng cụ phân tích đã được hiệu chuẩn đạt quy định theo GLP và ISO/IEC 17025.

2.2. Dung môi và hóa chất

Bảng 2. Hóa chất, dung môi sử dụng

Hóa chất – dung môi	Tiêu chuẩn	Nguồn gốc
β -cyclodextrin (β -CD)	Phân tích	Carbosynth (Mỹ)
Carboxymethyl β -cyclodextrin (CM- β -CD)	Phân tích	Carbosynth (Mỹ)
Sulfated- β -cyclodextrin (S- β -CD)	Phân tích	Carbosynth (Mỹ)
Methyl- β -cyclodextrin (M- β -CD)	Phân tích	Carbosynth (Mỹ)
Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD)	Phân tích	Carbosynth (Mỹ)
Acid ortho-phosphoric 85%	Phân tích	Merck (Đức)
Natri hydroxyd	Phân tích	Merck (Đức)
Methanol	Sắc ký lỏng	J. T. Baker (Mỹ)
Acetonitril	Sắc ký lỏng	J. T. Baker (Mỹ)
Nước tinh khiết	Sắc ký lỏng	VKN thuốc TP. HCM

2.3. Đối tượng nghiên cứu

Viên nén citalopram 20 mg, viên nén mirtazapin 30 mg, viên nén escitalopram 10 mg.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

- Quá trình điện di được tiến hành trên cột mao quản silica nung chảy, đường kính trong 50 μ m, chiều dài tổng cộng 52 cm, chiều dài hiệu quả 43,5 cm, bước sóng phát hiện 205 nm, tiêm mẫu bằng chương trình áp suất 50 mbar trong 10 giây.

Dựa vào các công trình nghiên cứu [3,5,6], trong quá trình thực nghiệm, các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình điện di như pH của dung dịch điện ly nền, bản chất và nồng độ của tác nhân đối quang, nồng độ mol của dung dịch điện ly nền đã được khảo sát, cụ thể như sau:

+ Tác nhân đối quang: β -CD, CM- β -CD, S- β -CD.

+ pH của dung dịch điện ly nền: Dung dịch đệm phosphat 25 mM được điều chỉnh pH đến 2,5; 3,5; 4,5 và 5,5.

+ Nồng độ của tác nhân đối quang: 0,25%; 0,5%; 1%; 1,25% và 1,5%.

+ Nồng độ của dung dịch điện ly nền: 10 mM, 25 mM, 35 mM, 55 mM, 70 mM.

Điều kiện điện di thích hợp được lựa chọn sao cho các pic đồng phân tách nhau hoàn toàn với độ phân giải $R_S \geq 1,5$

- Sau khi tìm được điều kiện phân tích thích hợp, tiến hành thẩm định quy trình phân tích thẩm theo hướng dẫn của ICH [4] bao gồm: khảo sát tính phù hợp của hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính, giới hạn phát hiện, độ chính xác và độ đúng:

+ Tính phù hợp hệ thống: Quy trình đạt tính phù hợp hệ thống khi độ lệch chuẩn tương đối của 6 lần tiêm dung dịch chuẩn của diện tích pic và thời gian lưu có $RSD \leq 3\%$. Độ phân giải giữa hai pic đồng phân có $R_S \geq 1,5$.

+ Tính đặc hiệu: Trên sắc ký đồ của dung dịch racemic xuất hiện hai pic đồng phân. Khi thêm vào dung dịch racemic dung dịch của một đồng phân riêng lẻ thì diện tích pic của đồng phân đó sẽ tăng cao. Dung dịch mẫu trắng và dung dịch mẫu giả dược không có pic trùng với pic chất phân tích. Thời gian di chuyển của pic chính trong mẫu thử tương ứng với thời gian di chuyển của pic chính trong mẫu chuẩn. Phổ tử ngoại tại thời gian di chuyển của các pic trong mẫu thử giống phổ tử ngoại của mẫu chuẩn. Độ tinh

khiết của các pic lớn hơn 99%. Hai pic của hai dạng đồng phân có phổ UV giống nhau.

+ Tính tuyến tính: $r = 0,999$.

+ Độ lặp lại, độ chính xác trung gian: Tiến hành sắc ký 6 dung dịch mẫu thử ở điều kiện đã xác định. Phương pháp phân tích đạt độ lặp lại ($n = 6$) và độ chính xác ($n = 12$) khi $RSD \leq 3\%$.

+ Độ đúng: Thực hiện bằng cách thêm vào mẫu placebo một lượng chất chuẩn tương ứng với 3 mức nồng độ 80%, 100%, 120% so với mức nồng độ định lượng.

Phương pháp phân tích đạt độ đúng khi tỉ lệ phục hồi từ 98-102% với $RSD \leq 2\%$.

Chuẩn bị mẫu

- *Dung dịch chuẩn citalopram*: Cân chính xác khoảng 12,5 mg citalopram HBr chuẩn (tương đương với 10 mg citalopram), cho vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 35 ml methanol, siêu âm 10 phút, thêm methanol vừa đủ thể tích, lắc đều, thu được dung dịch có nồng độ citalopram khoảng 200 $\mu\text{g/ml}$. Lấy chính xác 3 ml dung dịch này pha loãng với nước vừa đủ 10 ml (dung dịch 60 $\mu\text{g/ml}$).

- *Dung dịch mẫu chuẩn mirtazapin*: Cân chính xác khoảng 15 mg mirtazapin chuẩn, cho vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 35 ml methanol, siêu âm 10 phút, thêm methanol vừa đủ thể tích, lắc đều, thu được dung dịch có nồng độ mirtazapin khoảng 300 $\mu\text{g/ml}$. Lấy chính xác 3 ml dung dịch này pha loãng với nước vừa đủ 10 ml (dung dịch 90 $\mu\text{g/ml}$).

- *Dung dịch hỗn hợp chuẩn citalopram 60 $\mu\text{g/ml}$ và mirtazapin 90 $\mu\text{g/ml}$* : Lấy chính xác 3 ml dung dịch citalopram nồng độ 200 $\mu\text{g/ml}$ và lấy chính xác 3 ml dung dịch mirtazapin nồng độ 300 $\mu\text{g/ml}$ cho vào bình định mức 10 ml, thêm nước vừa đủ thể tích, lắc đều.

- *Dung dịch mẫu chuẩn (S)-citalopram*: Cân chính xác khoảng 12,77 mg (S)-citalopram oxalat chuẩn (tương đương với 10 mg (S)-citalopram), cho vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 70 ml methanol, siêu âm 10 phút, thêm methanol vừa đủ thể tích, lắc đều, thu được dung dịch có nồng độ (S)-citalopram khoảng 100 $\mu\text{g/ml}$. Lấy chính xác 3 ml dung dịch này pha loãng với nước vừa đủ 10 ml (dung dịch 30 $\mu\text{g/ml}$).

- *Dung dịch mẫu chuẩn (S)-mirtazapin*: Cân chính xác khoảng 0,75mg (S)-mirtazapin, cho vào bình định mức 5 ml, thêm khoảng 3 ml methanol, siêu âm 10 phút, thêm methanol vừa đủ thể tích, lắc đều, thu được dung dịch có nồng độ (S)-mirtazapin khoảng 150 $\mu\text{g/ml}$. Lấy chính xác 3 ml dung dịch này pha loãng với nước vừa đủ 10 ml (dung dịch 45 $\mu\text{g/ml}$).

- *Dung dịch hỗn hợp chuẩn (S)-citalopram 30 $\mu\text{g/ml}$ và (S)-mirtazapin 45 $\mu\text{g/ml}$* : Lấy chính xác 3 ml dung dịch (S)-citalopram nồng độ 100 $\mu\text{g/ml}$ và lấy chính xác 3 ml dung dịch (S)-mirtazapin nồng độ 150 $\mu\text{g/ml}$ cho vào bình định mức 10 ml, thêm nước vừa đủ thể tích, lắc đều.

- *Dung dịch hỗn hợp chuẩn citalopram 60 $\mu\text{g/ml}$ và (S)-citalopram 30 $\mu\text{g/ml}$* : Lấy chính xác 3 ml dung dịch citalopram nồng độ 200 $\mu\text{g/ml}$ và lấy chính xác 3 ml dung dịch (S)-citalopram nồng độ 100 $\mu\text{g/ml}$ cho vào bình định mức 10 ml, thêm nước vừa đủ thể tích, lắc đều.

- *Dung dịch hỗn hợp chuẩn mirtazapin 90 $\mu\text{g/ml}$ và (S)-mirtazapin 45 $\mu\text{g/ml}$* : Lấy chính xác 0,3 ml dung dịch mirtazapin nồng độ 300 $\mu\text{g/ml}$ và lấy chính xác 0,3 ml dung dịch (S)-mirtazapin nồng độ 150 $\mu\text{g/ml}$ pha loãng với nước thành 1 ml.

- *Dung dịch mẫu thử citalopram*: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, cho vào

cối, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 5 mg citalopram, cho vào bình định mức 25 ml, thêm khoảng 15 ml methanol, siêu âm 10 phút, thêm methanol vừa đủ thể tích, lắc đều, lọc (Dung dịch có nồng độ citalopram 200 $\mu\text{g/ml}$).

Lấy chính xác 3 ml dịch lọc, cho vào bình định mức 10 ml, thêm nước cất vừa đủ thể tích, lắc đều, thu được dung dịch có nồng độ citalopram khoảng 60 $\mu\text{g/ml}$.

- *Dung dịch mẫu thử mirtazapin*: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, cho vào cối, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 7,5 mg citalopram, cho vào bình định mức 25 ml, thêm khoảng 15 ml methanol, siêu âm 10 phút, thêm methanol vừa đủ thể tích, lắc đều, lọc (dung dịch có nồng độ mirtazapin 300 $\mu\text{g/ml}$).

Lấy chính xác 3 ml dịch lọc, cho vào bình định mức 10 ml, thêm nước cất vừa đủ thể tích, lắc đều, thu được dung dịch có nồng độ mirtazapin khoảng 90 $\mu\text{g/ml}$.

Dung dịch hỗn hợp mẫu thử citalopram 60 $\mu\text{g/ml}$ và mirtazapin 90 $\mu\text{g/ml}$: Lấy chính xác 3 ml dung dịch thử citalopram nồng độ 200 $\mu\text{g/ml}$ và lấy chính xác 3 ml dung dịch thử mirtazapin nồng độ 300 $\mu\text{g/ml}$ cho vào

bình định mức 10 ml, thêm nước vừa đủ thể tích, lắc đều.

Dung dịch mẫu thử (S)-citalopram: Chuẩn bị tương tự như mẫu thử citalopram để thu được dung dịch (S)-citalopram 30 $\mu\text{g/ml}$

Dung dịch mẫu giả dược: Được chuẩn bị như dung dịch mẫu thử nhưng thay lượng bột thuốc bằng lượng tá dược tương ứng trong mẫu thử.

Dung dịch mẫu trắng: Nước cất.

Tất cả các mẫu đều được lọc qua màng lọc Millipore 0,22 μm trước khi điện di.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

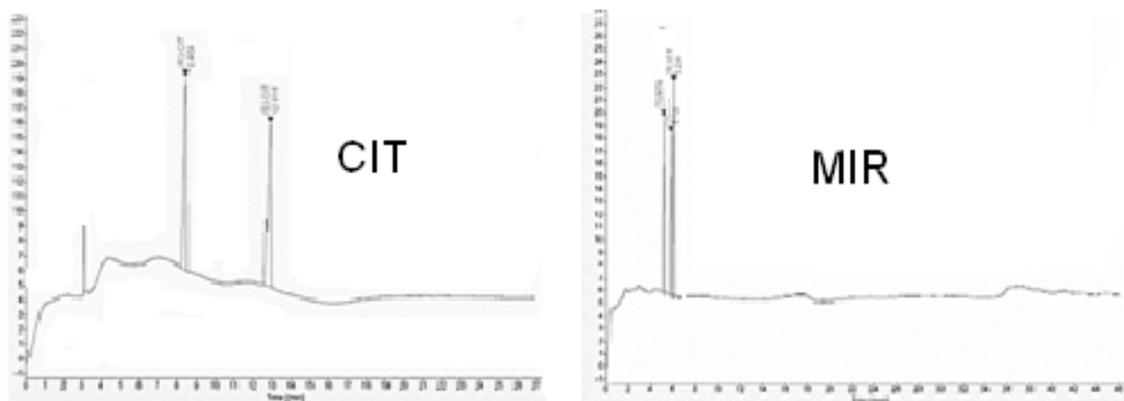
3.1. Khảo sát điều kiện tách

Điều kiện điện di cố định: cột mao quản silica nung chảy, đường kính trong 50 μm , chiều dài tổng cộng 52 cm, chiều dài hiệu quả 43,5 cm, bước sóng phát hiện 205 nm, tiêm mẫu bằng chương trình áp suất 50 mbar trong 10 giây.

3.1.1. Ảnh hưởng của tác nhân đối quang

Khảo sát ảnh hưởng của các tác nhân đối quang (nồng độ 1,25% trong dung dịch điện ly nền đệm phosphat 25 mM, pH 2,5): β -CD, CM- β -CD và S- β -CD

Kết quả khảo sát cho thấy chỉ có tác nhân S- β -CD là tách được các đồng phân của CIT và MIR.



Hình 1. Điện di đồ phân tích đồng phân CIR và MIR bằng tác nhân S- β -CD

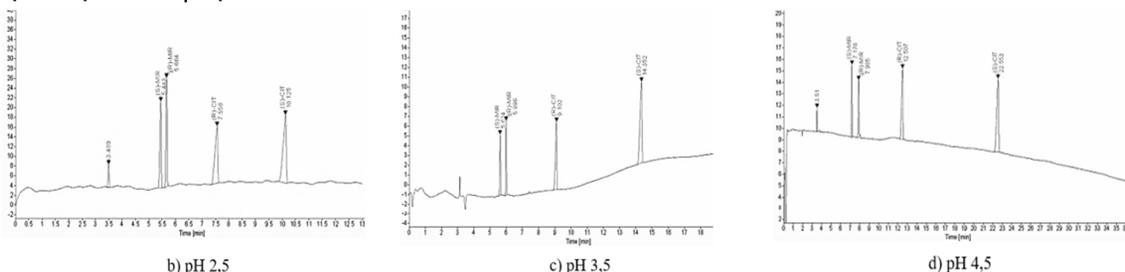
3.1.2. Ảnh hưởng pH của dung dịch điện ly nền

Khảo sát khả năng tách đồng phân CIT và MIR với S- β -CD 1,25% trong dung dịch điện ly nền đệm phosphat 25 mM ở các điều kiện pH khác nhau: 2,5; 3,5; 4,5 và 5,5.

Bảng 1. Kết quả khảo sát pH của dung dịch điện ly nền

Hoạt chất	Thông số điện di	pH			
		pH 2,5	pH 3,5	pH 4,5	pH 5,5
(S)-MIR	Thời gian di chuyển (phút)	5,443	5,624	7,178	Không xuất hiện pic
(R)-MIR	Thời gian di chuyển (phút)	5,664	5,996	7,905	
	Độ phân giải	2,42	4,33	5,41	
(R)-CIT	Thời gian di chuyển (phút)	7,558	9,102	12,507	
	Độ phân giải	13,41	24,88	23,00	
(S)-CIT	Thời gian di chuyển (phút)	10,125	14,352	22,553	
	Độ phân giải	12,17	27,29	33,08	

Nhận xét: Từ pH 2,5 đến 4,5 các đồng phân tách hoàn toàn. Tuy nhiên, ở pH 2,5 thời gian di chuyển của các đồng phân ngắn nhất và vẫn đạt độ phân giải. Do đó, pH 2,5 được lựa chọn để tiếp tục khảo sát.



Hình 2. Điện di đồ phân tích đồng phân CIR và MIR ở các pH: 2,5; 3,5 và 4,5

3.1.3. Ảnh hưởng của nồng độ tác nhân S- β -CD

Khảo sát ảnh hưởng của dung dịch điện ly nền đệm phosphat 25 mM pH 2,5 chứa S- β -CD ở các nồng độ khác nhau: 0,25%; 0,5%; 1,0%; 1,25% và 1,5%.

Kết quả khảo sát được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả khảo sát nồng độ tác nhân S- β -CD

Hoạt chất	Thông số điện di	Nồng độ S- β -CD				
		0,25%	0,5%	1,0%	1,25%	1,5%
(S)-MIR	Thời gian di chuyển (phút)	4,917	5,090	4,984	5,489	5,582
(R)-MIR	Thời gian di chuyển (phút)	5,223	5,332	5,239	5,711	5,805
	Độ phân giải	2,69	3,05	3,43	2,40	2,46
(R)-CIT	Thời gian di chuyển (phút)	11,669	9,438	7,663	7,631	7,696
	Độ phân giải	28,77	28,76	26,21	13,12	14,03
(S)-CIT	Thời gian di chuyển (phút)	23,792	15,889	11,188	10,234	10,290
	Độ phân giải	29,19	26,49	29,09	12,00	13,43

Nhận xét: Khi tăng nồng độ S- β -CD từ 0,25% đến 1,25% độ phân giải giữa các pic đồng phân đều lớn hơn 1,5; trong đó thời gian di chuyển của các đồng phân ngắn nhất ở nồng độ

S- β -CD 1,25%. Khi tăng nồng độ S- β -CD lên đến 1,5% độ phân giải và thời gian điện di gần như không thay đổi. Do đó, nồng độ tác nhân đối quang S- β -CD 1,25% được lựa chọn để tiếp tục khảo sát.

3.1.4. Ảnh hưởng của nồng độ dung dịch điện ly nền

Khảo sát ảnh hưởng của dung dịch điện ly nền đệm phosphat (pH 2,5 chứa S- β -CD 1,25%) ở các nồng độ khác nhau: 10 mM, 25 mM, 35 mM, 55 mM và 70 mM

Bảng 3. Kết quả khảo sát nồng độ của dung dịch điện ly nền

Hoạt chất	Thông số điện di	Nồng độ dung dịch đệm phosphat			
		25 mM	35 mM	55 mM	70 mM
(S)-MIR	Thời gian di chuyển (phút)	4,908	5,265	5,491	5,602
(R)-MIR	Thời gian di chuyển (phút)	5,126	5,552	5,835	6,021
	Độ phân giải	3,00	3,56	4,42	3,97
(R)-CIT	Thời gian di chuyển (phút)	6,864	7,991	8,768	9,455
	Độ phân giải	19,43	22,23	26,98	24,15
(S)-CIT	Thời gian di chuyển (phút)	9,302	11,729	13,414	15,171
	Độ phân giải	21,81	24,03	28,89	32,15

Nhận xét: Khi nồng độ dung dịch điện ly nền 10 mM, các chất phân tích vẫn chưa được phát hiện sau hơn 30 phút điện di. Khi nồng độ dung dịch điện ly nền tăng từ 25 mM đến 70 mM, các đồng phân tách hoàn toàn, trong đó thời gian di chuyển của các chất phân tích ngắn nhất ở nồng độ 25 mM. Do đó, nồng độ dung dịch điện ly nền 25 mM được lựa chọn.

Từ các kết quả khảo sát, điều kiện điện di thích hợp để phân tích đồng phân citalopram và mirtazapin là: cột mao quản silica nung chảy, đường kính trong 50 μ m, chiều dài hiệu quả 43,5 cm; dung dịch điện ly nền: dung dịch đệm phosphat 25 mM pH 2,5 có S- β -CD 1,25%; điện thế -20 kV; nhiệt độ mao quản 25 $^{\circ}$ C; đầu dò DAD, bước sóng phát hiện 205 nm; thể tích tiêm 50 mbar x 10 giây.

3.2. Thẩm định phương pháp

3.2.1. Khảo sát tính phù hợp của hệ thống

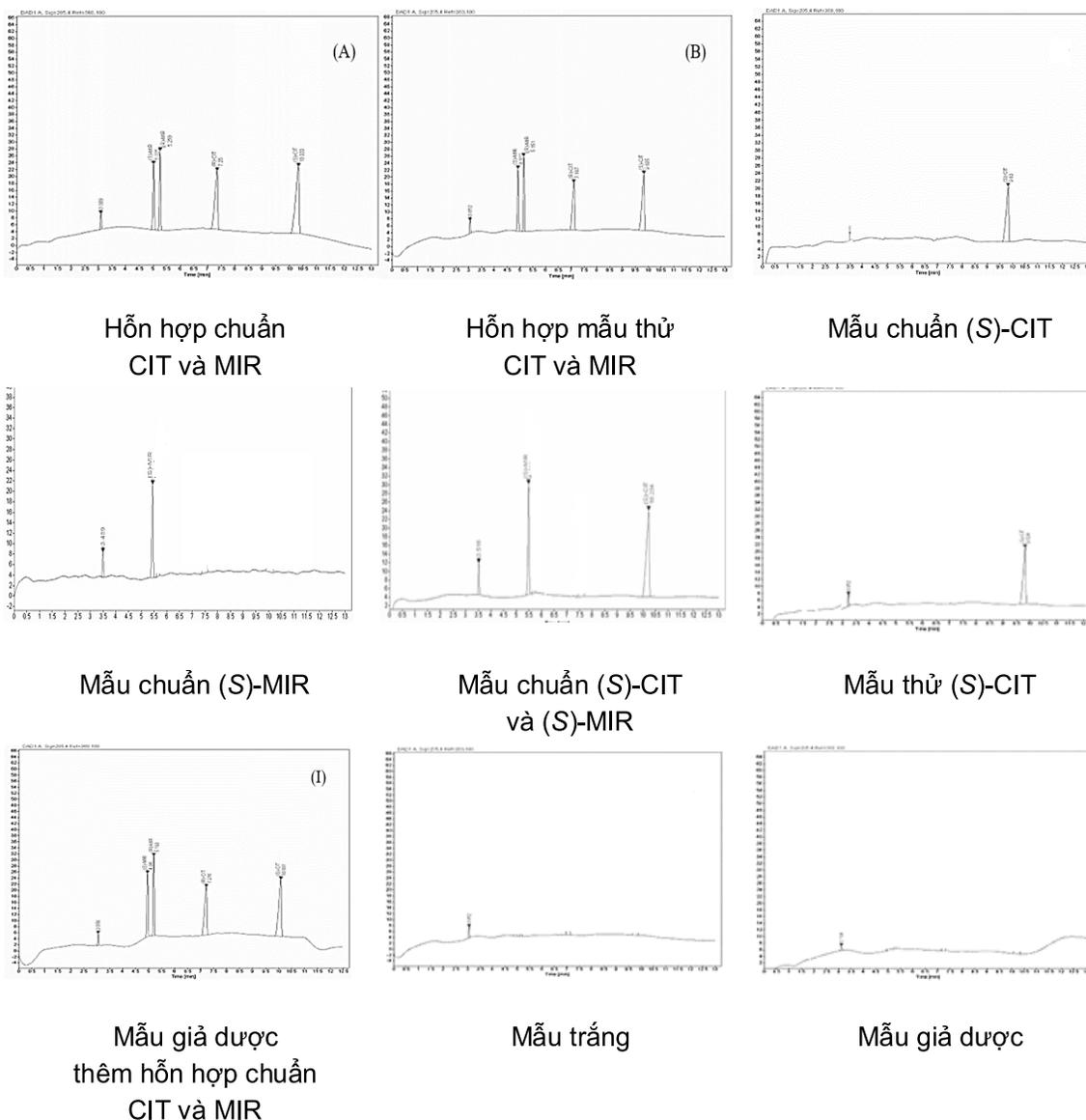
Bảng 4. Kết quả khảo sát tính phù hợp hệ thống của phương pháp (n = 6)

Mẫu	Hoạt chất	Giá trị thống kê	Thời di chuyển (phút)	CorrArea	R_s	
Hỗn hợp chuẩn	(S)-MIR	TB	5,563	$2,260922 \times 10^{-2}$	2,43	
		RSD (%)	2,92	1,47		
	(R)-MIR	TB	5,786	$2,283576 \times 10^{-2}$		
		RSD (%)	2,86	0,99		
	(R)-CIT	TB	7,648	$2,105321 \times 10^{-2}$		13,06
		RSD (%)	2,22	2,32		
	(S)-CIT	TB	10,223	$1,981711 \times 10^{-2}$		12,10
		RSD (%)	1,79	2,70		
Chuẩn (S)-CIT	TB	9,767	$2,005977 \times 10^{-2}$			
	RSD (%)	1,58	2,53			

Nhận xét: Giá trị RSD của thời gian di chuyển, CorrArea tương ứng với các pic đồng phân nằm trong khoảng 0,8 - 1,5. Vậy phương pháp đạt tính phù hợp của hệ thống.

3.2.2. Tính đặc hiệu

Tiến hành sắc ký mẫu trắng, mẫu giả dược, các mẫu đối chiếu và các mẫu thử.



Hình 4. Sắc ký đồ khảo sát tính đặc hiệu

Nhận xét: Dung dịch mẫu trắng và dung dịch mẫu giả được không có pic trùng với pic chất phân tích. Thời gian di chuyển của pic chính trong mẫu thử tương ứng với thời gian di chuyển của pic chính trong mẫu chuẩn. Khi thêm chuẩn (S)-CIR vào mẫu CIT thì pic có thời gian di chuyển dài hơn (khoảng 10,237 phút) và có diện tích tăng cao là pic tương ứng với pic đồng phân (S)-CIT. Tương tự, khi thêm chuẩn (S)-MIR vào mẫu

MIR thì pic có thời gian di chuyển ngắn hơn (khoảng 5,493 phút) và có diện tích tăng cao là pic tương ứng với pic đồng phân (S)-MIR.

Phổ tử ngoại tại thời gian di chuyển của các pic trong mẫu thử giống phổ tử ngoại của mẫu chuẩn. Độ tinh khiết của các pic lớn hơn 99%. Hai pic của hai dạng đồng phân có phổ UV giống nhau. Vậy phương pháp có tính đặc hiệu.

3.2.3. Khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

Bảng 5. Phương trình hồi quy, khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện

	Citalopram (CIT)			Mirtazapin (MIR)	
	Mẫu chuẩn CIT		Mẫu chuẩn	Mẫu chuẩn MIR	
	(R)-CIT	(S)-CIT	(S)-CIT	(R)-MIR	(S)-MIR
Phương trình hồi quy	$\hat{y} = 0,0105x$ $r = 0,9991$	$\hat{y} = 0,0112x$ $r = 0,9994$	$\hat{y} = 0,0073x$ $r = 0,9998$	$\hat{y} = 0,008x$ $r = 0,9990$	$\hat{y} = 0,008x$ $r = 0,9989$
Khoảng tuyến tính ($\mu\text{g/ml}$)	5 – 250		2,5 - 125	8 – 376	
LOD ($\mu\text{g/ml}$)	0,5	0,5	0,5	0,75	0,75
LOQ ($\mu\text{g/ml}$)	1,5	1,5	1,5	2,3	2,3

Nhận xét: Kết quả thống kê cho thấy quy trình phân tích có khoảng tuyến tính rộng với hệ số tương quan cao

3.2.4. Độ lặp lại, độ chính xác trung gian và độ đúng

Bảng 6. Kết quả khảo sát độ lặp lại, độ chính xác trung gian và độ đúng

		Mẫu thử Citalopram		Mẫu thử Escitalopram	Mẫu thử Mirtazapin	
		(R)-CIT	(S)-CIT		(R)-MIR	(S)-MIR
Độ lặp lại (n = 6) (%RSD)		1,60	0,97	0,79	1,24	1,25
Độ chính xác trung gian (n = 12) (%RSD)		1,14	1,25	1,00	1,03	1,39
Độ đúng (n = 9)	Tỷ lệ phục hồi (%)	99,80	100,12	101,04	101,11	100,48
	RSD (%)	1,07	1,48	1,05	0,77	1,00

Nhận xét: Phương pháp phân tích đạt độ đúng với tỷ lệ phục hồi nằm trong khoảng cho phép 98% - 102%.

4. KẾT LUẬN

Bằng phương pháp CE, chúng tôi đã tiến hành xây dựng và thẩm định quy trình phân tích đồng thời đồng phân quang học của citalopram và mirtazapin, với các điều kiện như sau: cột mao quản silica nung chảy, đường kính trong 50 μm , chiều dài hiệu quả 43,5 cm; dung dịch điện ly nền: dung dịch đệm phosphat 25 mM pH 2,5 có S- β -CD 1,25%; điện thế -20 kV; nhiệt độ mao quản 25°C; đầu dò DAD, bước sóng phát hiện 205 nm; thể tích tiêm 50 mbar x 10 giây. Quy trình này có tính đặc hiệu, độ chính xác và độ lặp cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bryan D. Hayes, Wendy Klein-Schwartz (2010), "Comparison of toxicity of acute overdoses with Citalopram and Escitalopram", *Journal of Emergency Medicine*, 39, pp. 44 - 48.
2. Bunleu Chankvetadze B., Blaschke G. (2001), "Enantioseparations in capillary electromigration techniques: recent developments and future trends", *Journal of Chromatography A*, 906, pp. 309 - 363.
3. Bunleu Sungthong, Pavel Jac, Gerhard K.E. Sciba (2008), "Development and validation of a capillary electrophoresis method for the simultaneous determination of impurities of escitalopram including the R-enantiomer", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 46, pp. 959 - 965.
4. ICH Harmonised tripartite guideline (2005), *Validation of analytical procedures: text and methodology*, pp. 1 - 13.
5. Juan Jose Berzas Nevado, Carmen Guiberteu Cabanillas, Maria Jeus Villase nor Llerena, Virginia Rodríguez Robledo (2005), "Enantiomeric determination, validation and robustness studies of racemic citalopram in pharmaceutical formulations by capillary electrophoresis", *Journal of Chromatography A*, 1072, pp. 249 - 257.
6. Jun Wen, Wen-Ting Zhang, Wei-Qun Cao, Ji Li, Fang-Yuan Gao, Nan Yang, et al. (2014), "Enantioselective Separation of Mirtazapin and Its Metabolites by Capillary Electrophoresis with Acetonitrile Field-Amplified Sample Stacking and Its Application", *Molecules*, 19, pp. 4907 - 4923.