

Định lượng đồng thời cefotaxime và ceftriaxone trong thuốc bột pha tiêm bằng phương pháp quang phổ hồng ngoại gần (NIR) kết hợp với bình phương tối thiểu từng phần (PLS)

Đoàn Thị Huyền^{1,*}, Nguyễn Thu Thảo², Bùi Xuân Thành², Tạ Thị Thảo²

¹Khoa Tự nhiên, Trường Cao đẳng Sư phạm Hà Tây

²Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN

Nhận ngày 08 tháng 7 năm 2016

Chỉnh sửa ngày 09 tháng 8 năm 2016; Chấp nhận đăng ngày 01 tháng 9 năm 2016

Tóm tắt: Trong phân tích hàm lượng hoạt chất trong thuốc thì phương pháp quang phổ hồng ngoại gần kết hợp với toán thống kê đa biến có ưu điểm là đơn giản, giá thành thấp, phân tích nhanh và đặc biệt là không phá hủy mẫu. Trong nghiên cứu này, hai hoạt chất cefotaxime và ceftriaxone (thuộc nhóm cephalosporin) trong thuốc bột pha tiêm được định lượng nhanh bằng phương pháp quang phổ hồng ngoại gần kết hợp với thuật toán bình phương tối thiểu từng phần (NIR-PLS). Các điều kiện tối ưu của phương pháp gồm phổ hấp thụ hồng ngoại được đo trong vùng $3600-2800\text{cm}^{-1}$, tỉ lệ trộn mẫu với KBr theo khối lượng là 2/98, lượng ép viên mẫu là 15mg. Mô hình bình phương tối thiểu từng phần (PLS) với 7 vectơ riêng được xây dựng với ma trận hàm lượng chuẩn có kích thước 24x3 (24 mẫu chuẩn và 3 thành phần gồm cefotaxime, ceftriaxone và tổng các loại tá dược) được trộn với lượng khác nhau trong mỗi mẫu. Ma trận mẫu kiểm tra gồm 16 mẫu tự tạo có thành phần biết trước được dùng để đánh giá tính phù hợp của mô hình PLS và cho thấy sai số tương đối của phương pháp từ 0,1-13%. Kết quả định lượng mẫu thực tế bằng phương pháp hồng ngoại gần kết hợp PLS có đối chứng kết quả định tính và định lượng với phương pháp LC/MS- orbitrap cho thấy 2 phương pháp chênh lệch nhau dưới 15%, nên hoàn toàn có thể sử dụng phương pháp NIR kết hợp thuật toán PLS để định lượng nhanh các hoạt chất trong mẫu được phẩm trên thị trường.

Từ khóa: Phương pháp hồng ngoại gần, hồi qui đa biến tuyến tính, bình phương tối thiểu từng phần, LC/MS- orbitrap.

1. Mở đầu

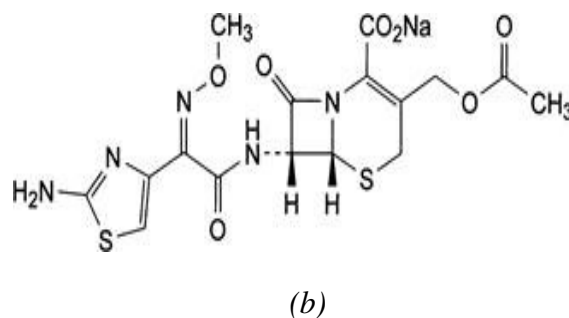
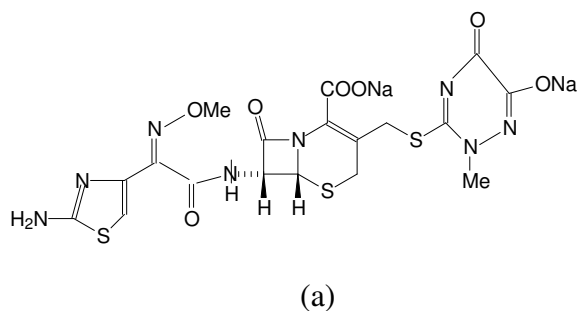
Hiện nay, kiểm nghiệm nhanh thành phần các hoạt chất trong các loại thuốc, đặc biệt là kháng sinh là vấn đề đang được quan tâm. Các

loại kháng sinh giả kháng sinh hoặc không đạt hàm lượng bán trên thị trường gây nguy hiểm đến sức khỏe bệnh nhân khi điều trị. Ceftriaxone (CTR) và cefotaxime (CTX) là những kháng sinh thế hệ 3 của kháng sinh họ cephalosporin, thuộc nhóm beta lactam, được sử dụng phổ biến hiện nay. Cefotaxim có phổ kháng khuẩn rộng, có hiệu quả trong điều trị

*Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-989308169
Email: doanhuonghuyen@gmail.com

các bệnh do các vi khuẩn gram âm kháng lại các kháng sinh khác gây ra, đáp ứng điều trị tốt bệnh do vi khuẩn mũ xanh gây nên. Cefotaxime cũng có phổ kháng sinh rộng, chống lại các vi khuẩn gram dương và các vi

khuẩn gram âm kể cả khí và yếu khí. Cefotaxime đặc biệt có hiệu quả trong điều trị các bệnh viêm màng não [2]. Công thức cấu tạo của Ceftriaxone và cefotaxime như ở hình 1.



Hình 1. Công thức cấu tạo của Ceftriaxon (a) và cefotaxim (b).

Dạng thành phẩm hai kháng sinh này thường là dạng bột pha tiêm. Để phân tích hai kháng sinh này, dược điển Việt Nam quy định phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC, detector UV [1]. Phương pháp này và phương pháp kết hợp với detector MS cũng được dùng phổ biến trong các nghiên cứu xác định hai chất này trong các đối tượng khác nhau [2-6]. Các phương pháp khác đơn giản hơn nhưng chỉ xác định được một loại hoạt chất riêng rẽ như UV-VIS trên cơ sở hình thành phức của các kháng sinh với hỗn hợp Fe^{3+} và ion hexacyanoferrat [8] hoặc với Crom(VI), được oxi hóa bằng kalidicromat trong môi trường axit [9], hay dựa trên việc thủy phân vòng β -lactam các cephalosporin với NaOH, sau đó cho phản ứng với iodat để giải phóng iod trong môi trường axit [10]. Điểm chung của các phương pháp phân tích trên là phải qua quá trình phân hủy mẫu thành dung dịch tách các yếu tố ảnh hưởng nếu cần sau đó mới xác định nên mất thời gian. So với các phương pháp trên, định lượng chất hữu cơ trong thuốc bằng phổ hồng ngoại gần (NIR) có ưu điểm nổi trội do không phải xử lý

mẫu, phân tích nhanh, giá thành rẻ do không tốn dung môi và nếu kết hợp với thuật toán hồi qui đa biến không phải tách riêng các chất ra khỏi nền mẫu chứa tá dược và có thể phân tích đồng thời các hoạt chất trong cùng nhóm thuốc [11]. Gần đây, phương pháp NIR cũng được sử dụng để định lượng riêng rẽ từng kháng sinh nhóm cephalosporin trong thuốc do trong phân tử chúng có các liên kết có hấp thụ hồng ngoại gần [12, 13, 14].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi xây dựng phương pháp kiểm tra nhanh và đồng thời chất lượng thuốc bột pha tiêm chứa các hoạt chất.

Ceftriaxone (CTR) và cefotaxime (CTX) thuộc họ cephalosporin bằng phương pháp quang phổ kế hồng ngoại gần truyền qua kết hợp với hồi qui đa biến tuyến tính (MRL) mà không cần phân hủy mẫu. Với duy nhất một mô hình đường chuẩn đa biến được xây dựng từ bộ mẫu chuẩn rắn tự tạo chứa 2 hoạt chất và 3 tá dược, bằng thuật toán PLS sẽ cho phép định

lượng được thuốc chứa 1 trong số 2 hoạt chất này đang lưu thông trên thị trường.

2. Thực nghiệm

2.1. Hóa chất, dụng cụ, thiết bị

Chất chuẩn ceftriaxone natri $C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3$ có hàm lượng nguyên trạng 98,6%. Viện kiểm nghiệm trung ương (chuẩn phòng thí nghiệm) số kiểm soát: 0104011

- Chất chuẩn Cefotaxime $C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$ có hàm lượng nguyên trạng 94,33% Viện kiểm nghiệm trung ương (chuẩn phòng thí nghiệm) số kiểm soát: 0108041

- Các tá dược:

+ Magie stearat (Peter Greven Asia SDN. BHD), đạt tiêu chuẩn đã kiểm tra theo USP34.

+ Bột Talc (Công ty cổ phần hóa dược Việt Nam), đạt tiêu chuẩn đã kiểm tra theo ĐĐVN 4

+ Bột lactose (Công ty cổ phần hóa dược Việt Nam), đạt tiêu chuẩn đã kiểm tra theo ĐĐVN 4

- Hóa chất tinh khiết phân tích (P.A.) gồm KBr (dùng cho phép đo hồng ngoại) và axit axetic, NaOH, axetonitrin, triethylamin, methanol (Merck) (dùng cho HPLC)

- Cân phân tích ES 225 SM-DR độ chính xác $\pm 000001g$.

- Bộ dụng cụ ép viên: Agilent Technologies standard sampling kit (part no: Pike - 162 - 1000).

- Máy quang phổ hồng ngoại Agilent Technologies Cary 600 Series FTIR spectrometer, dải số sóng đo $7500-2800\text{ cm}^{-1}$. Detector nhiệt DTGS. Thiết bị được đặt trong phòng đo duy trì độ ẩm dưới 30%.

- Thư viện phổ chuẩn: ST- Japan spectral libraries (part no: K8159 - 1000)

- Phần mềm Matlab 7.6 hoặc 2012: Chương trình bình phương tối thiểu từng phần (PLS) để phân tích đồng thời các cấu tử trong cùng hỗn hợp.

- Hệ thống sắc ký lỏng khối phổ (LC/MS-Orbitrap) của hãng Thermo Fisher Scientific để định tính và đối chứng định lượng với pha tĩnh là cột: C18, 2.1 mm ID x 50mm x $1.9\ \mu\text{m}$.

2.2. Quy trình định lượng nhanh và đồng thời cefotaxime, ceftriaxone trong thuốc bột pha tiêm bằng phương pháp NIR

1. Chuẩn bị 24 mẫu chuẩn 16 mẫu kiểm tra chứa đồng thời hai hoạt chất gồm cefotaxime natri ceftriaxone natri với ba tá dược gồm magie stearate, lactose và talc; có hàm lượng thay đổi sao cho hàm lượng % từng chất trong hỗn hợp thay đổi trong khoảng rộng.

2. Nghiền và trộn từng mẫu trong vòng 10 phút để thu được hỗn hợp đồng nhất.

3. Lấy 2 mg hỗn hợp chất vừa đồng nhất trên trộn với 98 mg KBr rồi tiến hành nghiền mịn đồng nhất mẫu trong cối mã não trong 10 phút.

4. Lấy khoảng 15 mg bột vừa nghiền được cho vào bộ ép viên để thu được viên mẫu và đo phổ hồng ngoại trong vùng số sóng nghiên cứu từ $3600-2800\text{ cm}^{-1}$ ghi lại phổ hấp thụ quang của từng mẫu xuất số liệu thu được dưới dạng ASCII và chuyển toàn bộ dữ liệu vào phần mềm Matlab 2012 để tính toán.

5. Đường chuẩn đa biến và các bộ dữ liệu dự đoán được xây dựng trên ma trận độ hấp thụ quang của các mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra đã chuẩn bị ở phần trên. Nhập số liệu ma trận hàm lượng các mẫu chuẩn, ma trận hàm lượng các mẫu kiểm tra và ma trận tín hiệu đo độ hấp

thụ quang tương ứng vào phần mềm Matlab, chạy chương trình tính toán ma trận hệ số hồi qui theo phương pháp PLS trên phần mềm matlab, từ đó xác định được hàm lượng mỗi hoạt chất trong từng mẫu. Độ đúng của phép đo được xác định qua sai số tương đối của phương pháp từ đó lựa chọn ra phương pháp tối ưu nhất để tiến hành định lượng các mẫu thuốc thực tế.

6. Tiến hành định lượng các mẫu thuốc thực tế bằng cách trộn một lượng bột mẫu với tá dược để giảm nồng độ hàm lượng hoạt chất sao cho hàm lượng nằm trong khoảng hàm lượng được xây dựng ở ma trận chuẩn, đo tín hiệu đo độ hấp thụ quang của các mẫu này, lưu phổ và chuyển các ma trận hàm lượng mẫu đo và ma trận tín hiệu đo vào phần mềm Matlab để tính toán theo mô hình hồi qui cấu đa biến PLS. Từ đó tính toán được hàm lượng các hoạt chất trong các mẫu thuốc bột pha tiêm theo công thức dưới đây:

$$HL(mg / viên) = \frac{X \times m_{tb}}{m_t}$$

Trong đó: X: Khối lượng của hoạt chất tìm được từ mô hình hồi qui đa biến tuyến tính (g)

m_{tb} là khối lượng trung bình của một lọ thuốc

m_t : khối lượng của mẫu thử (mg)

2.3. Phân tích đối chứng LC/MS

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 0,00500 g mỗi chất chuẩn CTR, CTX trên cân phân tích. Cho vào bình định mức 25,00 ml hòa tan chất bằng metanol và định mức bằng đệm amoni axetat, pH=5. Được dung dịch chuẩn 200 ppm. Rung siêu âm và lọc qua màng lọc 0,45 μ m trước khi bơm vào hệ thống LC/MS-Orbitrap.

Dung dịch thử: Cân 3 lọ thuốc bột pha tiêm CTR và 3 lọ CTX và tính khối lượng trung bình lọ. Cân chính xác lượng bột chế phẩm rồi cho vào bình định mức 25,00 ml. Hòa tan bằng methanol, rung siêu âm sau đó để nguội và định mức đến vạch bằng amoni axetat lọc qua màng lọc 0,45 μ m và pha loãng nồng độ mẫu 20 lần rồi phân tích trên hệ thống LC/MS-Orbitrap.

* Điều kiện LC/MS

Pha tĩnh là cột: C18, 2.1 mm ID x 50mm x 1.9 μ m

Pha động gồm: kênh A là đệm CH₃COONH₄ 12,50 mM, kênh B: ACN với tỉ lệ thể tích là 30A/70B. Thể tích mẫu bơm là 10 μ l, tốc độ pha động là 200 μ l/phút.

Giá trị LOD, LOQ của phương pháp LC/MS xác định CTR và CTX: CTR: LOD: 5,840ppb, LOQ: 17,50ppb; CTX: 9,250ppb, LOQ: 27,80ppb.

3. Kết quả và thảo luận

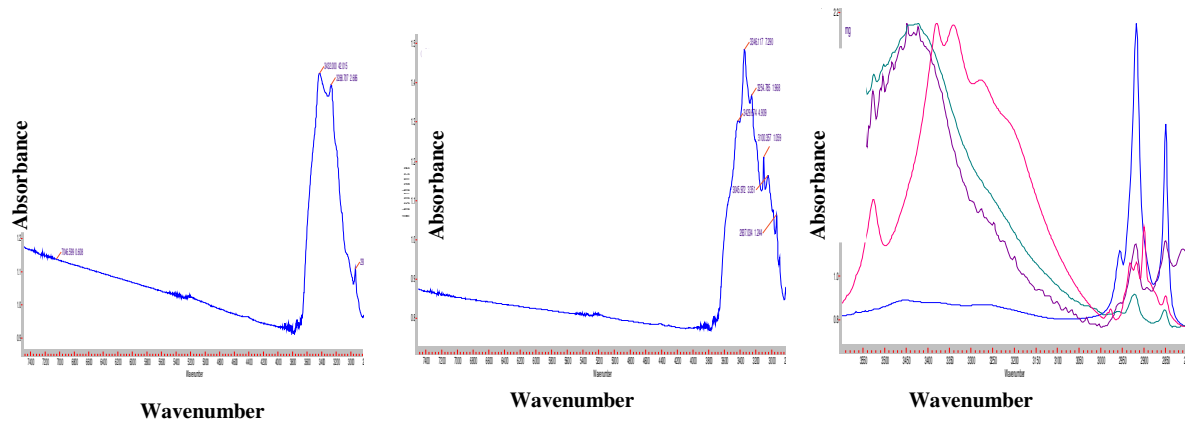
3.1. Khảo sát điều kiện tối ưu xác định đồng thời cefotaxime, ceftriaxone trong cùg hỗn hợp

3.1.1. Phổ hấp thụ vùng NIR của các hoạt chất và tá dược

Phổ hấp thụ vùng NIR khảo sát (7500-2800 cm^{-1}) của 2 hoạt chất nghiên cứu thu được ở hình 2 cho thấy các hoạt chất này đều hấp thụ mạnh tia IR trong vùng phổ 3600-2800 cm^{-1} . Kết quả khảo sát ảnh hưởng của một số loại tá dược thường được sử dụng để sản xuất các kháng sinh cũng cho thấy mẫu bột talc hấp thụ mạnh trong vùng hồng ngoại 3750-3650 cm^{-1} , mẫu bột magie stearat hấp thụ mạnh trong vùng phổ hồng ngoại từ 2950-2800 cm^{-1} và lactose đều hấp thụ bức xạ hồng ngoại từ 3600- 2800 cm^{-1} . Do đó, không thể

xác định riêng rẽ các hoạt chất này trong viên thuốc khi có mặt của các loại tá dược trên bằng phương pháp đo độ hấp thụ quang đơn

thuần mà phải sử dụng thuật toán hồi qui đa biến có tính đến việc trích thông tin từ tập số liệu thô ban đầu [15].



Hình 2. Phổ hấp thụ vùng NIR của các chất CTR, CTX và các tá dược (từ trái qua phải).

3.1.2. Ảnh hưởng của lượng KBr khi ép viên và độ lặp lại phép đo

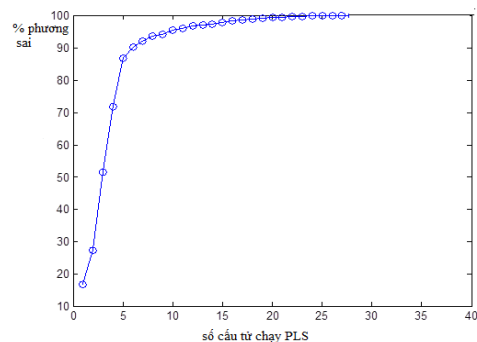
Khi trộn bột của mẫu thuốc bột pha thêm cefotaxime, ceftriaxone với KBr theo tỷ lệ khối lượng khác nhau, kết quả cho thấy khi tỷ lệ khối lượng mẫu/ KBr tăng thì độ hấp thụ quang của các mẫu viên cũng tăng lên nhưng độ lặp lại của phép đo càng kém. Còn nếu lượng mẫu đưa vào quá nhỏ thì dễ gây sai số trong quá trình cân, do đó tỷ lệ khối lượng mẫu/ KBr là 2/98 là phù hợp.

Mặt khác, thực nghiệm cũng cho thấy, độ lặp lại (đánh giá qua độ lớn của độ hấp thụ quang trong mỗi lần ép viên) khi đo với cùng mẫu ban đầu rất kém vì đây là phép đo mẫu rắn. Do vậy, không thể dùng phương pháp định lượng thông thường trong phân tích công cụ dựa trên mối quan hệ tuyến tính giữa độ hấp thụ quang và nồng độ để định lượng chất phân tích mà phải kết hợp phương pháp này với các công cụ toán thống kê đa biến (chemometrics). Ưu điểm của chemometrics là trích xuất thông tin về chất theo mối quan hệ giữa hàm lượng các chất với nhau và mối tương quan tín hiệu thu được giữa các mẫu

chứ không phải theo giá trị tuyệt đối của tín hiệu đo, nên hoàn toàn có thể sử dụng để định lượng các hoạt chất cần phân tích.

3.2. Xác định đồng thời CTR và CTX sử dụng cùng mô hình PLS

3.2.1. Xây dựng phương trình đường chuẩn đa biến



Hình 3. Sự phụ thuộc của % phương sai vào số PC.

Phương trình đường chuẩn đa biến theo phương pháp PLS xác định đồng thời CTR, CTX và tổng hàm lượng tá dược được xây

dựng dựa trên ma trận hàm lượng của 24 mẫu chuẩn dạng bột chứa đồng thời CTR có khối lượng trong các mẫu trong khoảng từ 10g đến 68g; CTX có khối lượng trong các mẫu trong khoảng từ 7g đến 57g và 3 tá dược là lactose có khối lượng trong các mẫu trong khoảng từ 0 g đến 30g, magie stearat có khối lượng trong các mẫu trong khoảng từ 5g đến 48g và talc có khối lượng trong các mẫu trong khoảng từ 8g đến 31g. Ma trận tín hiệu đo của 24 mẫu tại 417 số sóng là độ hấp thụ quang trong vùng phổ từ 3600-2800 cm^{-1} . Dùng câu lệnh tìm số cấu tử chính trong phần mềm Matlab thì thấy rằng số cấu tử chính (PC) là 7 chiếm đến 98,65% lượng thông tin của tập số liệu (hình 2) và được dùng để tính toán trong PLS với không gian mới của tập số liệu và ma trận nồng độ đã xây dựng.

3.2.2. Đánh giá tính phù hợp của phương trình hồi quy đa biến PLS

Một ma trận gồm 16 mẫu kiểm tra với hàm lượng các hoạt chất và tá dược biết trước nằm trong khoảng đường chuẩn đã xây dựng được dùng để kiểm chứng tính phù hợp của mô hình hồi quy. Kết quả cho thấy có sự phù hợp rất

tốt giữa hàm lượng hai hoạt chất có trong mẫu tự tạo (synthesis (S) với nền tá dược với hàm lượng hai hoạt chất tìm lại được (found (F) bằng mô hình. Các giá trị sai số mắc phải chỉ từ 0,5% đến 15,46%. Do đó, hoàn toàn có thể áp dụng phương pháp này để xác định đồng thời các hoạt chất trên trong cùng một hỗn hợp mà không cần tách loại.

3.3. Ứng dụng phân tích mẫu thuốc bột pha tiêm

Trong các phép phân tích, mỗi mẫu thuốc viên nén của các nhà sản xuất khác nhau được thu thập trên thị trường. Cân 20 viên thuốc, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột mẫu (m_t) ứng với một viên và làm như qui trình ở mục 2.2. Các kết quả phân tích mẫu thực tế chỉ chứa một hoạt chất trong hai hoạt chất trong thuốc bột pha tiêm bằng chính ma trận chứa đồng thời 2 hoạt chất cho thấy phù hợp với phép phân tích đối chứng với sai số chỉ khoảng dưới 15%, kết quả trong các mẫu cụ thể thu được ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả phân tích hàm lượng (g/lọ) CTR và CTX trong các mẫu thuốc viên

| Ký hiệu mẫu | Tên thuốc | Nhà sản xuất | SDK | Lô sản xuất | Hạn sử dụng | Hàm lượng hoạt chất (g/lọ) | |
|-------------|-----------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|----------------------------|---------------------|
| | | | | | | PP NIR | PP đối chứng LC- MS |
| CTR 1 | ceftriaxone UNION 1 g | PANPH ARMAR | VN-14834-12 | 303107 | 09/07/18 | 1,003 | 1,012 |
| CTX 2 | Cefotaxime 1g | BHARAT | VD-18400-13 | 500615 | 01/06/18 | 1,058 | 1,060 |

Các kết quả thu được cho thấy hàm lượng các hoạt chất thu được theo phương pháp NIR-PLS so với phương pháp đối chứng LC-MS có sự khác nhau nhưng sự khác nhau giữa chúng là không có ý nghĩa thống kê. Độ chệch tương

đối hàm lượng 2 hoạt chất phân tích với giá trị xác định theo phương pháp đối chứng LC-MS đều dưới 15%.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, các thuốc viên nén chứa một hoặc hai trong số 2 hoạt chất ceftriaxone và cefotaxime được định lượng nhanh bằng cùng mô hình PLS có chứa cả 2 cấu tử và tá dược (chứa 5 thành phần). Thuật toán PLS với ưu điểm là tính toán trên toàn tập số liệu nhưng kết quả thu được từ mô hình này lại không phụ thuộc vào tập số liệu thô ban đầu (độ hấp thụ quang theo số sóng) mà phụ thuộc vào các mô hình trung gian lựa chọn. Phương pháp này cho phép loại bỏ sai số nhiễu phổ và sai số ngẫu nhiên trong quá trình đo nhờ lựa chọn được số PC phù hợp. Áp dụng phương pháp PLS với 2 cấu tử chính để phân tích các mẫu kiểm chứng đều cho kết quả khá tốt, với sai số nằm trong ngưỡng cho phép. Phương pháp NIR kết hợp với PLS tỏ ra khá ưu việt khi áp dụng vào phân tích một số hoạt chất nhóm cephalosporin và hoạt chất khác đi kèm. Đây là một kỹ thuật phân tích rất nhanh, chuẩn bị mẫu đơn giản, lượng mẫu phân tích ít, không cần phá hủy mẫu phân tích, chi phí thấp do không tốn dung môi hóa chất (như phương pháp phân tích truyền thống HPLC), hạn chế được các sai số trong quá trình chuẩn bị mẫu nên có thể mở rộng để phân tích nhanh hàm lượng hoạt chất trong các mẫu thuốc ngoài thị trường.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được thực hiện nhờ hỗ trợ kinh phí và thiết bị đo hồng ngoại gần Agilent Technologies Cary 600 Series FTIR spectrometer của đề tài nghị định thư với Cộng hòa Pháp Lotus 2014 - 2016, mã số 39/2014/HD- NĐT.

Tài liệu tham khảo

- [1] Bộ Y Tế (2009), Dược điển Việt Nam tái bản lần thứ 4, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
- [2] Lê Minh Trí, Huỳnh Thị Ngọc Phương (2010), Hóa dược tập 1, NXB Giáo dục Việt Nam, Hà Nội.
- [3] Penghua Wang, Tao Yuan, Jiangyong Hu, Youming Tan (2011), "Determination of cephalosporin antibiotics in water samples by optimised solid phase extraction and high performance liquid chromatography with ultraviolet detector" International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 91(13), 1287- 1261.
- [4] E. Benito-Denta, A.I.Dar Ful- Rodera, M.E.Leon - Gonzalez, M.C.Mereno- Rondi (2005) "Evaluation of mixed mode solid phase extraction cartridges for the preconcentration of beta lactam antibiotics in wastewater using liquid chromatography with UV-DAD detection", Analytical chimica acta.556(2), 415-422.
- [5] Ajit R. Wankhede, Prashant Y. Mali, Vikram Karne, Anubha R. Khale, C. S. Magdum (2010). "Development and Validation of RP-HPLC Method For Simultaneous Estimation of Cefixime and Cloxacillin in Tablet Dosage Form". International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives, 1(2), 317 – 320.
- [6] Hyo-Eon Jin , Su-Eon Jin and Han-Joo Maeng (2014)"Recent bioanalytical methods for quantification of third-generation cephalosporins using HPLC and LC-MS/MS) and their applications in pharmacokinetic studies" Biomedica chromatography, 28(11),pp 1565-1587.
- [7] C.Y.W.Yang, W.H.Luo ,E.B. Hansen, j.p .freeman, H, C. Thompson (1996), "Rapid determination of Ampicillin in bovine milk by liquid chromatography with fluorescence detection" , Journal of AOAC International, 80(1), 107-190.
- [8] Nkeoma N. OkoyeGodwin, I. C. Nwokedi Nkechinyere, N. Ukwueze and Festus B. C. Okoye (2007)" Spectrophotometric determination of some Cephalosporin antibiotics using Prussian blue reaction "Academic Journals.2(8), 348-352.
- [9] Amin AS ragab GH (2004). "Spectrophotometric determination of certain cephalosporins in pure form and in pharmaceutical formulations." Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 60(12), 2831-2835.
- [10] C. Pasha and B. Narayana(2008) "Asimple method for the spectrophotometric determination

- of cephalosporins in pharmaceuticals using variamine blue”, 33(2), 41-46.
- [11] Emil W.Ciurczak, *Pharmaceutical and Medical Applications of Near- Infrared Spectroscopy*, Marcel Dekker, 2002.
- [12] Yan-Chun Feng, Zhen Ni and Chang-Qin Hu (2014) “Variable selection in near infrared spectroscopy for quantitative models of homologous analogs of cephalosporins” *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 7(4),145005(10 pages).
- [13] A.H.Moreno, H.R.N. Salgado (2012), “Development and Validation of the Quantitative Analysis of Ceftazidime in Powder for Injection by Infrared Spectroscopy”, *Physical Chemistry*, 2(1), pp. 6-11
- [14] Mafalda Cruz Sarraguc a, Sandra Oliveira Soares, João Almeida Lopes (2011), “A near-infrared spectroscopy method to determine aminoglycosides in pharmaceutical formulations”, *Vibrational Spectroscopy*, 56, pp. 184-192.
- [15] J. Luypaert, D.L. Massart, Y. Vander Heyden (2006), “Review Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis”, *Talanta*, 72, pp. 865-883.

Simultaneous Determination of Cefotaxime and Ceftriaxone in Powder for Injection Using Near Infrared (NIR) Spectroscopy Combined with Partial Least Squared Method (PLS)

Doan Thi Huyen¹, Nguyen Thu Thao², Bui Xuan Thanh², Ta Thi Thao²

¹*Ha Tay Teacher Training College*

²*Department of Chemistry, VNU University of Science*

Abstract: Quantitative analysis of active ingredients in pharmaceutical formulations using near-infrared spectroscopy (NIR) states a variety of advantages such as a simple easy, low-cost analysis, less solvent method. The experimental conditions for analyzing *cefotaxime and ceftriaxone in pharmaceutical powder form* including a spectrum of 3600-2800 cm⁻¹; mass ratio of sample and KBr was 2: 98; 14mg of pellet form. A partial least squares (PLS) models of 7 PLS components was built with a matrix content of standard samples 24x3 (24 samples containing cefotaxime, ceftriaxone and excipient are selected with different amount. A matrix of 16 synthesized test samples was used to assess the accuracy of PLS model and give the results of 0.1 to 13%. The quantitative analysis of real samples by means of near-infrared combination PLS was compared with LC/MS - Orbitrap had relative bias less than 15%. It is possible to use NIR method combining algorithm PLS for rapid determination of pharmaceutical samples in the market.

Keywords: *Cefotaxime and ceftriaxone, NIR- PLS, rapid determination, LC/MS- orbitrap.*