

# Định lượng đồng thời ibuprofen, naproxen, diclofenac và bezafibrate trong nước tiểu bằng phương pháp điện di mao quản vùng kết hợp chiết pha rắn

Nguyễn Duy Chiến, Nguyễn Mạnh Huy, Nguyễn Văn Quân,  
Nguyễn Thanh Đàm, Dương Hồng Anh, Phạm Hùng Việt\*

*Trung tâm Công nghệ Môi trường và Phát triển Bền vững (CETASD),  
Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN, 334 Nguyễn Trãi, Hà Nội, Việt Nam*

Nhận ngày 15 tháng 6 năm 2015

Chỉnh sửa ngày 18 tháng 8 năm 2015; Chấp nhận đăng ngày 18 tháng 3 năm 2016

**Tóm tắt:** Trong nghiên cứu này, phương pháp điện di mao quản vùng sử dụng detector độ dẫn không tiếp xúc kết hợp với xử lý mẫu bằng chiết pha rắn đã được áp dụng để phân tích hàm lượng ibuprofen, naproxen, diclofenac và bezafibrate trong nước tiểu. Mẫu được nạp vào cột chiết pha rắn LiChrolut RP-18 sau đó được rửa giải bằng 10 mL hỗn hợp etyl axetat/hexan (v/v = 40/60). Dịch chiết sau khi chuyển dung môi được phân tích điện di với detector độ dẫn không tiếp xúc sử dụng pha động là dung dịch tris-(hidroxymetyl)aminometan 12 mM, hidroxypopyl- $\beta$ -cyclodextrin 1 mM được thêm axit lactic để điều chỉnh về pH 8,0. Giới hạn phát hiện của phương pháp đối với các chất trong nền nước tiểu trong khoảng 2,5 tới 6,0  $\mu\text{g/L}$ ; giá trị độ lệch chuẩn tương đối về diện tích pic và thời gian di chuyển trong các phép đo độ lặp lại và độ tái lặp đều < 5,5%; hiệu suất thu hồi khi phân tích mẫu thêm chuẩn đạt được từ 86% tới 101%.

*Từ khóa:* Thuốc giảm đau không steroid, ibuprofen, nước tiểu, điện di mao quản, chiết pha rắn.

## 1. Đặt vấn đề

Ibuprofen (IBP), diclofenac (DCF) và naproxen (NPX) là các dược phẩm thuộc nhóm thuốc chống viêm không steroid (NSAIDs) có tác dụng kháng viêm, giảm đau và hạ sốt. Bezafibrate (BZF) là thuốc hạ lipid máu, thuộc nhóm fibrat. Đây đều là các tân dược trong danh mục thuốc chữa bệnh chủ yếu và thuộc phạm vi thanh toán của quỹ bảo hiểm y tế [1], do đó được sử dụng rất rộng rãi tại Việt Nam,

đặc biệt là trong điều trị viêm khớp, bệnh gút, đau đầu,... Trong 24 giờ từ khi đi vào cơ thể, các chất này được hấp thu, biến đổi và thải trừ chủ yếu qua nước tiểu, trong đó phần lớn đã chuyển hóa thành các hoạt chất khác, dạng ban đầu chỉ chiếm lượng nhỏ hơn 10%. Việc đánh giá khả năng thải trừ qua nước tiểu của các loại thuốc này trên các khách thể khác nhau có ý nghĩa lớn trong nghiên cứu dược động học, góp phần nâng cao hiệu quả sử dụng thuốc và điều trị.

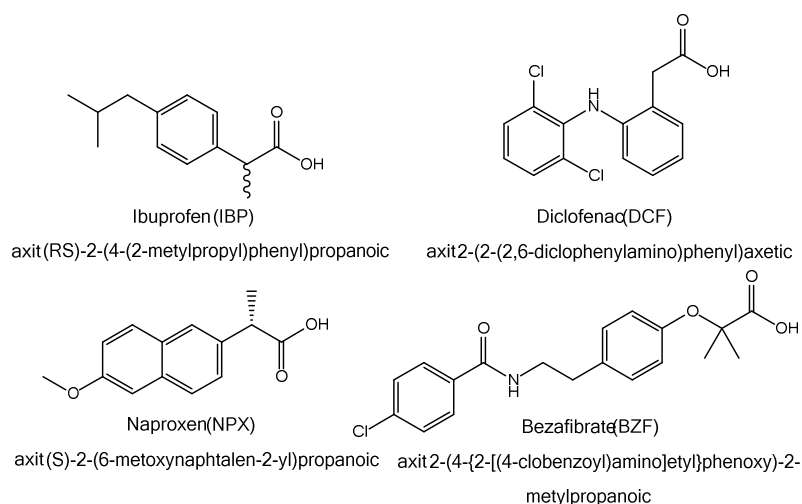
Mặc dù đã có nhiều phương pháp phân tích được sử dụng để xác định hàm lượng IBP, DCF, NPX và BZF trong dược phẩm và nước

\* Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-913572589  
Email: phamhungviet@hus.edu.vn

thải, số công trình ứng dụng với nước tiểu còn chưa nhiều và đa phần đều sử dụng phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao (HPLC). Toshio Hirai và cộng sự [2] đã định lượng được IBP, DCF, NPX và một số NSAIDs khác trong nước tiểu bằng HPLC sử dụng detector UV tại bước sóng 230 hoặc 320 nm kết hợp với chiết pha rắn (SPE). María Ramos Payán và cộng sự [3] cũng sử dụng HPLC và detector mảng diode (DAD) ở 230 nm để phân tích IBP, DCF và axit salicylic. Các kết quả thu được đều có độ ổn định và độ nhạy cao, tuy nhiên đòi hỏi chi phí tương đối lớn. Một số nghiên cứu khác tập trung vào từng đối tượng riêng lẻ [4-7], dù điều này là phù hợp với thực tế do người bệnh thường chỉ sử dụng một loại thuốc nhưng lại gặp khó khăn trong việc áp dụng quy trình phân tích chất này cho một chất khác.

Phương pháp điện di mao quản (CE), đặc biệt là điện di mao quản vùng (CZE) là một phương pháp nhiều tiềm năng trong việc phân

tích các đối tượng dược phẩm trong mẫu môi trường cũng như y sinh với các ưu điểm như thời gian phân tích ngắn, lượng mẫu và dung môi tiêu tốn nhỏ, pha động ít độc hại. Điều đáng tiếc là cũng giống các phương pháp khác, việc ứng dụng CE để phân tích đồng thời IBP, DCF, NPX và BZF mới chỉ tập trung vào đối tượng mẫu nước môi trường [8]. Đối với nước tiểu, các nghiên cứu chủ yếu thường xác định từng chất [9-10], đưa đến hạn chế như đã nói ở trên. Hiện nay, Dược điển Việt Nam đã có chuyên luận chung về CE [11], tuy vậy với đối tượng dược phẩm, đây còn là phương pháp khá mới, chưa được ứng dụng nhiều. Với mong muốn đóng góp thêm một công trình áp dụng CE vào lĩnh vực y sinh, nghiên cứu này tiến hành xây dựng quy trình phân tích đồng thời bốn hoạt chất IBP, DCF, NPX và BZF trong nước tiểu bằng CZE kết hợp với quá trình làm giàu mẫu bằng SPE.



Hình 1. Cấu trúc của các chất phân tích

## 2. Thục nghiệm

### 2.1. Hóa chất

Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu đều có độ tinh khiết phân tích và được đặt mua từ Merck (Đức), Sigma-Alrich (Đức) hoặc Fluka

(Thục Sĩ), bao gồm các chất phân tích (Hình 1); etyl axetat và hexan được sử dụng làm dung môi chiết; tris-(hidroxymetyl)aminometan (Tris), axit lactic (Lac), 2-hidroxipropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HP- $\beta$ -CD) được sử dụng làm pha động trên CE; axetonitrin, axit fomic sử dụng làm pha động trên HPLC.

## 2.2. Thiết bị

Hệ thiết bị CE tự chế tạo với detector đo độ dẫn không tiếp xúc (eDAQ, Úc). Mao quản fused-silica 60 cm với chiều dài hiệu dụng 50 cm, đường kính trong 50  $\mu\text{m}$  được sử dụng trong suốt quá trình nghiên cứu. Điện thế tách được giữ ở -15 kV. Mẫu được bơm kiểu xiphong với chiều cao bơm mẫu 20 cm trong 60 giây. Hệ thiết bị HPLC được sử dụng là LC20AB với cột C18 và detector DAD của Shimadzu (Nhật Bản).

## 2.3. Dung dịch

Dung dịch gốc 1000  $\mu\text{g/mL}$  của từng chất phân tích được pha trong metanol, các dung dịch này bền trong 1 tháng khi bảo quản ở 4°C. Dung dịch làm việc 1 sử dụng trong quá trình nghiên cứu điều kiện chiết chứa 20  $\mu\text{g/mL}$  mỗi chất, thu được bằng cách trộn những lượng xác định của dung dịch gốc bốn chất phân tích, sau đó pha loãng bằng nước deion. Dung dịch làm việc 2 được sử dụng để xây dựng đường chuẩn và các đánh giá khác cũng được chuẩn bị theo cách tương tự nhưng trong dung dịch đệm điện di pha loãng 10 lần thay vì nước deion. Các dung dịch này được pha mới mỗi tuần và bảo quản ở 4°C. Pha động trong quá trình phân tích CE được pha trong nước deion, chứa tris 36 mM, HP- $\beta$ -CD 1 mM và điều chỉnh đến pH 8 bằng axit lactic (đệm Tris/Lac). Dung dịch này chỉ sử dụng trong ngày.

## 2.4. Xử lý mẫu

Cột chiết pha rắn được sử dụng là cột LiChrolut RP-18 loại 3 mL chứa 500 mg chất hấp phụ (Merck). Trước khi xử lý mẫu cột chiết pha rắn được hoạt hóa bằng 5 mL dung môi rửa giải, tiếp theo là 5 mL H<sub>2</sub>O. Mẫu nước tiểu sau khi lấy được axit hóa tới pH 2 bằng HCl 8 M, sau đó lọc qua màng lọc 0,45  $\mu\text{m}$ . Một thể tích mẫu cố định (100 mL) được nạp qua cột chiết. Rửa lại cột bằng 5 mL H<sub>2</sub>O rồi bằng dung môi rửa giải. Cô đuổi dung môi sau chiết bằng N<sub>2</sub> đến cạn, sau đó thêm 1 mL dung dịch đệm Tris/Lac pha loãng 10 lần. Dung dịch thu được

chia thành hai phần: phần 1 phân tích trên CE, phần 2 phân tích bằng HPLC. Mẫu sử dụng trong quá trình khảo sát điều kiện chiết được chuẩn bị như sau: thêm 500  $\mu\text{L}$  dung dịch làm việc 1 vào 100 mL mẫu nước tiểu đã axit hóa, sau đó tiến hành chiết pha rắn như trên. Nồng độ mỗi chất phân tích trong mẫu thêm chuẩn là 100  $\mu\text{g/L}$ .

## 3. Kết quả và thảo luận

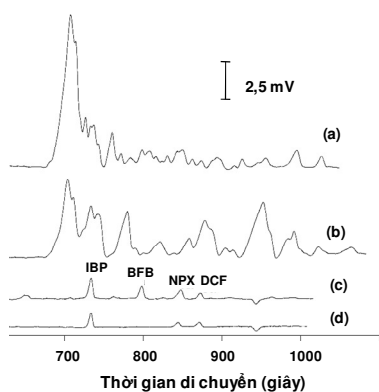
### 3.1. Tối ưu hóa điều kiện chiết

Theo được động học, lượng hoạt chất nguyên gốc được thải trừ theo đường nước tiểu thường không vượt quá 10%, đồng thời sự thải trừ này diễn ra trong một thời gian dài trong khi lượng thuốc sử dụng là không cao. Chính vì vậy, lượng thuốc trong nước tiểu là không lớn. Ngoài ra, nước tiểu là một nền mẫu phức tạp nên quá trình phân tích có thể gặp nhiều khó khăn. Trước thực tế đó, cần thiết phải có quá trình làm giàu và làm sạch mẫu trước khi phân tích. Đối với phương pháp CE, chiết pha rắn là phương pháp xử lý mẫu thông dụng nhất [12]. Nghiên cứu này sử dụng chiết pha rắn thông qua việc khảo sát lần lượt các yếu tố: loại dung môi rửa giải, thành phần dung môi rửa giải, thể tích dung môi rửa giải.

\* **Lựa chọn dung môi rửa giải:** Dựa vào cấu trúc trên Hình 1, có thể nhận thấy các chất phân tích đều bao gồm một đầu phân cực (nhóm cacboxylic) và một đầu không phân cực (gốc hidrocarbon cồng kềnh). Chính vì vậy, trong quá trình chiết pha rắn có thể dùng cả các dung môi phân cực lẫn kém phân cực để thu hồi các chất này từ cột chiết C18. Đối với nghiên cứu này, bốn hệ dung môi rửa giải được sử dụng, bao gồm: a) axetonitrin; b) etyl axetat; c) hexan và d) hỗn hợp etyl axetat và hexan (v/v = 50/50). Điện di đồ thu được sau khi sử dụng các hệ dung môi khác nhau trình bày ở Hình 2 cho thấy, các dung môi phân cực lớn như axetonitrin và etyl axetat tỏ ra không phù hợp khi khả năng làm sạch là không tốt. Điều này có thể là do, các hợp chất hữu cơ có nhiều trong nước tiểu như creatinine, axit uric, các axit

amin,... dễ bị rửa giải trong các dung môi phân cực và trở thành các chất gây nhiễu, cản trở quá trình phân tích điện di. Ngược lại, hexan mặc dù có khả năng làm sạch rất tốt nhưng khả năng rửa giải chất thấp hơn, thể hiện ở độ lớn tín hiệu thu được thấp hơn so với hệ etyl axetat/hexan. Dựa trên kết quả này, dung môi rửa giải được lựa chọn là hỗn hợp etyl axetat/hexan.

**\* Xác định thành phần dung môi rửa giải:** Yếu tố tiếp theo được khảo sát là tỉ lệ của etyl axetat và hexan trong dung môi rửa giải, trong đó, tỉ lệ của etyl axetat được thay đổi từ 30 – 70% (về thể tích). Kết quả thu được một lần nữa khẳng định lại xu hướng đã nói ở trên:

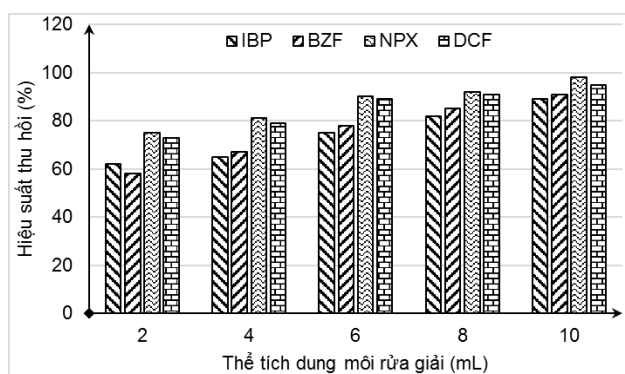


Hình 2. Điện di đồ phân tích sử dụng các dung môi rửa giải khác nhau

a) axetonitrin; b) etyl axetat; c) hỗn hợp etyl axetat và hexan (v/v : 50/50) và d) hexan.

**\* Khảo sát thể tích dung môi rửa giải:** Thể tích dung môi rửa giải là yếu tố quan trọng có ảnh hưởng tới khả năng thu hồi chất. Trong nghiên cứu này, thể tích dung môi được khảo sát lần lượt: 2, 4, 6, 8, 10 mL; hiệu suất thu hồi tương ứng được thể hiện trên Hình 3. Các kết quả chỉ ra rằng, khi tăng thể tích dung môi rửa giải, hiệu suất thu hồi của các chất phân tích cũng tăng dần. Điều này là phù hợp, do lượng dung môi tăng sẽ hòa tan các chất phân tích nhiều hơn. Ở thể tích dung môi rửa giải bằng 10 mL, hiệu suất thu hồi đạt được là rất tốt (IBP: 89%, BZF: 91%; NPX: 98%, DCF: 95%). Do đó, thể tích dung môi rửa giải là 10 mL được lựa chọn là điều kiện tối ưu. Lưu ý rằng,

khi tăng tỉ lệ etyl axetat, đồng nghĩa với việc tăng độ phân cực của dung môi rửa giải thì khả năng làm sạch mẫu giảm; trong khi theo chiều ngược lại, tỉ lệ hexan cao sẽ làm giảm hiệu suất thu hồi của các chất phân tích. Với các hệ dung môi có tỉ lệ etyl axetat từ 60% trở lên, điện di đồ thu được đã xuất hiện những tín hiệu lạ, ảnh hưởng tới khả năng phát hiện và phân tích chất. Theo một chiều hướng khác, tỉ lệ etyl axetat dưới 50% cho đường nền ổn định hơn hẳn và hiệu suất thu hồi đạt giá trị lớn nhất đối với cả 4 chất ở hệ có 40% etyl axetat (72 – 90%). Đây cũng là hệ dung môi rửa giải tối ưu được lựa chọn trong nghiên cứu.



Hình 3. Ảnh hưởng của thể tích dung môi rửa giải đến hiệu suất thu hồi.

thể tích rửa giải cao hơn không được khảo sát do sẽ kéo dài thời gian cô đuổi dung môi, trong khi hiệu suất thu hồi không thật sự khác biệt.

### 3.2. Lựa chọn pha động điện di

Sau quá trình chiết pha rắn, cô đuổi dung môi rửa giải, các dược phẩm chiết ra được hòa tan trở lại trong pha nước trước khi bơm vào hệ CE. Đối với việc phân tích các chất này trong pha nước, hệ đệm 12 mM Tris/Lac có pH 8,0 được bổ sung HP- $\beta$ -CD 1 mM tỏ ra là thích hợp hơn cả [13]. Vì vậy, hệ đệm nói trên được sử dụng làm pha động điện di trong nghiên cứu này.

### 3.3. Đánh giá phương pháp

Sau khi tối ưu hóa quy trình phân tích, các thông số đặc trưng của như đường chuẩn, giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ) của thiết bị, giới hạn phát hiện của phương pháp phân tích (MDL), độ chụm, độ đúng đã được xác định, đánh giá.

Các thông số đường chuẩn, giá trị LOD (S/N = 3) và LOQ (S/N = 10) được chỉ ra trong Bảng 1. Kết quả cho thấy, đối với tất cả các chất phân tích, hệ số tương quan  $R^2$  của đường

chuẩn đều lớn hơn 0,999. Giá trị LOD cao nhất là 0,60  $\mu\text{g/mL}$  đối với DCF, nếu kê tới hệ số làm giàu (100 lần) thì MDL trong mẫu thật đạt 6  $\mu\text{g/L}$ , phù hợp để phân tích các dược phẩm này trong nước tiểu.

Độ chụm được đánh giá thông qua độ lặp lại (trong ngày) và độ tái lặp (trong 7 ngày). Độ lệch chuẩn tương đối (RSD) đối với diện tích pic và thời gian di chuyển của cả 3 chất phân tích đều tốt hơn 5,5% cho thấy phương pháp có độ chụm tốt. Các kết quả được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 1. Giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, hệ số tương quan ( $R^2$ ) của các đường chuẩn đối với các chất trong dịch chiết và giới hạn phát hiện của phương pháp phân tích (MDL) đối với các chất trong nước tiểu

| Chất phân tích | Phương trình đường chuẩn   | Hệ số $R^2$ | Khoảng đường chuẩn ( $\mu\text{g/mL}$ ) | LOD ( $\mu\text{g/mL}$ ) | LOQ ( $\mu\text{g/mL}$ ) | MDL ( $\mu\text{g/L}$ ) |
|----------------|--|-------------|---|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| Ibuprofen      | $y = (1,15 \pm 0,04) \cdot 10^{-3}x - (0,62 \pm 0,49) \cdot 10^{-3}$ | 0,999       | 2,0 – 20                                | 0,25                     | 0,75                     | 2,5                     |
| Bezafibrate    | $y = (7,05 \pm 0,25) \cdot 10^{-4}x - (1,09 \pm 2,80) \cdot 10^{-4}$ | 0,999       | 2,0 – 20                                | 0,41                     | 1,23                     | 4,1                     |
| Naproxen       | $y = (6,99 \pm 0,08) \cdot 10^{-4}x - (1,54 \pm 0,97) \cdot 10^{-4}$ | 0,999       | 2,0 – 20                                | 0,55                     | 1,65                     | 5,5                     |
| Diclofenac     | $y = (5,55 \pm 0,25) \cdot 10^{-4}x - (0,53 \pm 2,69) \cdot 10^{-4}$ | 0,999       | 2,0 – 20                                | 0,60                     | 1,80                     | 6,0                     |

Bảng 2. Độ lặp lại và độ tái lặp đối với các chất phân tích trong mẫu dụng chuẩn

| Chất                      | Ibuprofen        |                  | Bezafibrate      |                  | Naproxen         |                  | Diclofenac       |                  |
|---------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|                           | RSD <sup>a</sup> | RSD <sup>b</sup> | RSD <sup>a</sup> | RSD <sup>b</sup> | RSD <sup>a</sup> | RSD <sup>b</sup> | RSD <sup>a</sup> | RSD <sup>b</sup> |
| Độ lặp lại (n = 7, RSD %) | 2,7              | 3,7              | 4,1              | 3,8              | 3,9              | 3,8              | 5,3              | 3,8              |
| Độ tái lặp (n = 7, RSD %) | 3,3              | 3,8              | 5,5              | 3,9              | 2,1              | 4,0              | 3,9              | 4,0              |

RSD<sup>a</sup>: độ lệch chuẩn tương đối về diện tích pic  
RSD<sup>b</sup>: độ lệch chuẩn tương đối về thời gian di chuyển

Độ đúng của phương pháp phân tích, bao gồm cả quá trình xử lý mẫu và đo mẫu, được xác định bằng hiệu suất thu hồi của một lượng chất phân tích biết trước được thêm vào mẫu nước tiểu. Khoảng thu hồi đạt trong Bảng 3 từ 86 tới 101% đối với cả 3 chất phân tích, phù hợp tốt so với yêu cầu đặt ra (80 – 110%).

Bảng 3. Hiệu suất thu hồi đối với các mẫu thêm chuẩn

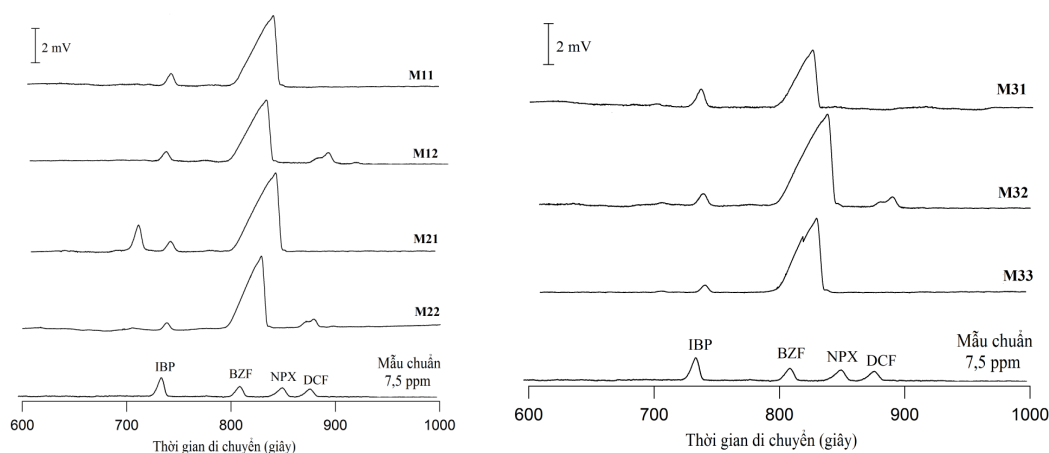
| Mẫu   | C <sup>a</sup> ( $\mu\text{g/L}$ ) | Ibuprofen                          |       | Bezafibrate                        |       | Naproxen                           |       | Diclofenac                         |       |
|-------|------------------------------------|------------------------------------|-------|------------------------------------|-------|------------------------------------|-------|------------------------------------|-------|
|       |                                    | C <sup>b</sup> ( $\mu\text{g/L}$ ) | H (%) | C <sup>b</sup> ( $\mu\text{g/L}$ ) | H (%) | C <sup>b</sup> ( $\mu\text{g/L}$ ) | H (%) | C <sup>b</sup> ( $\mu\text{g/L}$ ) | H (%) |
| Mẫu 1 | 40,0                               | 40,3                               | 100,6 | 42,3                               | 105,6 | 38,1                               | 95,3  | 38,1                               | 95,2  |
| Mẫu 2 | 75,0                               | 75,2                               | 100,3 | 64,5                               | 86,0  | 73,6                               | 98,1  | 66,8                               | 89,0  |

C<sup>a</sup>: nồng độ thêm chuẩn; C<sup>b</sup>: nồng độ đo được

### 3.4. Phân tích mẫu thật

Các mẫu nước tiểu được lấy theo giờ từ ba tình nguyện viên (2 nam, 1 nữ) trong độ tuổi 20 – 45, có sử dụng thuốc IBP (400 mg). Mẫu được xử lý theo quy trình đã xây dựng và đo đồng thời trên thiết bị CE – C<sup>4</sup>D và HPLC – DAD. Điện di đồ CE thu được như Hình 4, nồng độ IBP trong mẫu cho trong Bảng 4. Độ

lệch của kết quả thu được giữa phương pháp CE và HPLC nhỏ hơn 10% đối với tất cả các mẫu cho thấy phương pháp CE đã phát triển là tin cậy và hoàn toàn có thể sử dụng để phân tích các đối tượng được phẩm trong các mẫu nước tiểu. Ngoài ra, lượng IBP đào thải dưới dạng không đối đối với tất cả các tình nguyện viên đều nhỏ hơn 1%. Điều này là phù hợp với dược động học của thuốc.



Hình 4. Điện di đồ phân tích mẫu thật

Bảng 4. Kết quả phân tích hàm lượng IBP trong mẫu thật

| Mẫu | Thời gian (giờ) | Thể tích (mL) | Nồng độ CE (µg/L) | Nồng độ HPLC (µg/L) | Độ lệch (%) | Lượng đào thải (µg) | Tổng lượng đào thải (µg) | Phần trăm đào thải (%) |
|-----|-----------------|---------------|-------------------|---------------------|-------------|---------------------|--------------------------|------------------------|
| M11 | 0 – 4           | 250           | 356 ± 9,52        | 390                 | -8,75       | 89                  | 129                      | 0,03                   |
| M12 | 4 – 10          | 120           | 336 ± 8,84        | 370                 | -9,35       | 40                  |                          |                        |
| M21 | 0 – 4           | 100           | 342 ± 14,5        | 311                 | 9,90        | 34                  | 68                       | 0,02                   |
| M22 | 4 – 6           | 255           | 132 ± 6,83        | 141                 | -7,05       | 34                  |                          |                        |
| M31 | 0 – 1           | 210           | 394 ± 11,4        | 365                 | 7,84        | 83                  | 150                      | 0,04                   |
| M32 | 1 – 4           | 176           | 264 ± 9,14        | 263                 | 0,30        | 46                  |                          |                        |
| M33 | 4 – 10          | 130           | 159 ± 11,8        | 154                 | 3,51        | 21                  |                          |                        |

### 4. Kết luận

Phương pháp điện di mao quản vùng sử dụng detector độ dẫn không tiếp xúc kết hợp với xử lý mẫu bằng chiết pha rắn đã được phát triển thành công để ứng dụng xác định hàm lượng IBP, DCF, NPX và BZF trong nước tiểu.

Các thông số đánh giá cho thấy, phương pháp là ổn định và đáng tin cậy với giới hạn phát hiện đủ tốt để phân tích các dược phẩm trên. Kết quả phân tích mẫu thật đối chứng với phương pháp HPLC đều cho sai số < 10%.

### Lời cảm ơn:

Các tác giả chân thành cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài TN.15.30 (chủ trì: Nguyễn Duy Chiến) – trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

### Tài liệu tham khảo

- [1] Bộ Y tế (2014). Thông tư số 40/2014/TT-BYT về Ban hành và hướng dẫn thực hiện danh mục thuốc tân dược thuộc phạm vi thanh toán của quỹ bảo hiểm y tế. Hà Nội.
- [2] Hirai, T., Matsumoto, S., & Kishi, I. (1997). Simultaneous analysis of several non-steroidal anti-inflammatory drugs in human urine by high-performance liquid chromatography with normal solid-phase extraction. *Journal of Chromatography B* 692(2), 375-388.
- [3] Payán, M. R., López, M. Á., Fernández-Torres, R., Bernal, J. L., & Mochón, M. C. (2009). HPLC determination of ibuprofen, diclofenac and salicylic acid using hollow fiber-based liquid phase microextraction. *Analytica Chimica Acta*, 653(2), 184-190.
- [4] Oliveira, A. R., Cesarino, E. J., & Bonato, P. S. (2005). Solid-phase microextraction and chiral HPLC analysis of ibuprofen in urine. *Journal of Chromatography B* 818(2), 285-291.
- [5] Sun, Y., Zhang, Z., Xi, Z., & Shi, Z. (2009). Determination of naproxen in human urine by high-performance liquid chromatography with direct electrogenerated chemiluminescence detection. *Talanta* 79(3), 676-680.
- [6] Kole, P. L., Millership, J., & McElnay, J. C. (2011). Determination of diclofenac from paediatric urine samples by stir bar sorptive extraction (SBSE)-HPLC-UV technique. *Talanta* 85(4), 1948-1958.
- [7] D. Castoldi, V. M. (1985). Determination of bezafibrate in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 334, 259-265.
- [8] Mai, T. D., Bomastyk, B., Duong, H. A., Pham, H. V., & Hauser, P. C. (2012). Automated capillary electrophoresis with on-line preconcentration by solid phase extraction using a sequential injection manifold and contactless conductivity detection. *Analytica Chimica Acta*, 272, 1-7.
- [9] Franciszek K. Głowka, M. K. (2005). High performance capillary electrophoresis method for determination of ibuprofen enantiomers in human serum and urine. *Analytica Chimica Acta* 540(1), 95-102.
- [10] Rafifa Hamoudová, M. P. (2006). Determination of ibuprofen and flurbiprofen in pharmaceuticals by capillary zone electrophoresis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41(4), 1463-1467.
- [11] Bộ Y tế (2009). Dược điển Việt Nam xuất bản lần thứ tư. NXB Y học. Hà Nội.
- [12] Quirino, R. T. (2014). Capillary Electrophoresis: Preconcentration Techniques. In *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Elsevier.
- [13] Lê Minh Đức, Phạm Mạnh Hùng, Dương Hồng Anh, Phạm Hùng Việt (2015). Phát triển quy trình xác định lượng vết một số thuốc giảm đau trong nước thải bằng hệ thiết bị điện di mao quản xách tay điều khiển tự động. *Tạp chí hóa học* 53(6), 790-794.

## Simultaneous Determination of Ibuprofen, Naproxen, Diclofenac and Bezafibrate in Urine Samples Using Capillary Electrophoresis Method Combined with Solid Phase Extraction

Nguyễn Duy Chiển, Nguyễn Mạnh Huy, Nguyễn Văn Quân,  
Nguyễn Thanh Đàm, Dương Hồng Anh, Phạm Hùng Việt

*Centre for Environmental Technology and Sustainable Development,  
VNU University of Science, 334 Nguyễn Trãi, Hanoi, Vietnam*

**Abstract:** In this research, capillary electrophoresis (CE) zone method using capacitively coupled contactless conductivity detector (C<sup>4</sup>D), combined with the sample pretreatment using solid phase extraction, and was applied to determine ibuprofen, naproxen, diclofenac and bezafibrate in urine samples. Sample was loaded into LiChrolut RP-18 cartridge and was eluted by 10 mL of the mixture of ethyl acetate/hexane (40/60 by volume). The elution was further concentrated, solvent changed and analyzed by CE-C<sup>4</sup>D using mixture of Tris/Lactic 12 mM with pH=8.0/ hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin 1 mM as the background electrolyte. The method detection limits of all compounds in urine samples were in range of 2,5 - 6,0  $\mu$ g/L; the residue standard deviation RSD for peak area and migration time in the repeated measurements and reproducibility were lower than 5.5%; recovery values ranged between 86 – 101%.

**Keywords:** non-steroidal anti-inflammatory drugs, ibuprofen, urine, capillary electrophoresis, solid phase extraction.