THUẬT TOÁN LỰA CHỌN BIẾN NGƯỢC, HỒI QUY THÀNH PHẦN CHÍNH, BÌNH PHƯƠNG TỐI THIỂU RIÊNG PHẦN: ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI RIFAMPICIN, ISONIAZID VÀ PYRAZINAMIDE TRONG THUỐC VIÊN NÉN

Nguyễn Duy Lưu^{1,3*}, Lê Văn Thuận², Nguyễn Thế Khang³, Nguyễn Hùng Nhật Duy³, Phạm Phú Quốc³, Võ Thị Thanh Trúc³, Nguyễn Đình Luyện⁴, Trần Thúc Bình^{1*}

¹ Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

² Trường THPT Huỳnh Thúc Kháng, Huyện Bến Cầu, Tỉnh Tây Ninh

³ Khoa Dược, Trường Đại học Kỹ thuật Y – Dược Đà Nẵng

⁴ Khoa Hóa học, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Huế

*Email: ttbinh@hueuni.edu.vn; ndluu@dhktyduocdn.edu.vn

Ngày nhận bài: 14/11/2024; ngày hoàn thành phản biện: 19/11/2024; ngày duyệt đăng: 20/3/2025

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, hỗn họp ba thành phần Rifampicin, Isoniazid và Pyrazinamide trong viên nén Turbezid được định lượng đồng thời bằng phương pháp phổ UV-Vis kết hợp các phương pháp hồi quy cấu tử chính (PCR), bình phương tối thiểu riêng phần (PLS). Thuật toán lựa chọn biến ngược (BVE) trong PLS được sử dụng để lựa chọn các bước sóng tối ưu cho việc xây dựng mô hình PLS, tỉ lệ bước sóng được chọn cho Rifampicin, Isoniazid và Pyrazinamide lần lượt là 68,0%, 97,6% và 93,8%. Các phương pháp có độ thu hồi trong khoảng 80-110% đối với RIF và INZ; từ 90 – 107% đối với PYR, độ lặp lại và độ tái lặp có giá trị RSD < 5,3 theo quy định của AOAC. Phần trăm hàm lượng so với hàm lượng ghi trên nhãn phù hợp với quy định của Dược điển Việt Nam V và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

Từ khóa: Bình phương tối thiểu riêng phần, Hồi quy thành phần chính, lựa chọn biến ngược, phổ hấp thụ UV-Vis.

1. GIỚI THIỆU

Kiểm soát chất lượng thuốc là công việc thường qui đảm bảo chất lượng thuốc luôn đúng thành phần, hàm lượng để đảm bảo được hiệu quả điều trị của thuốc và an toàn cho người sử dụng thuốc [1]. Chất lượng thuốc kém do nhiều nguyên nhân: thuốc giả, thuốc kém chất lượng do quá trình bảo quản. Với sự đa dạng và phức tạp của các sản phẩm dược phẩm hiện nay, nhu cầu phát triển các phương pháp phân tích nhanh chóng, chính xác và tin cậy là một nhu cầu tất yếu.

Từ năm 1972 đến nay, các phương pháp hóa học toán (chemometric) đã được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực, đặc biệt là PCR và PLS. Những phương pháp này giúp giảm số biến ban đầu, khắc phục đa cộng tuyến, và loại bỏ nhiễu, từ đó nâng cao độ chính xác trong dự đoán nồng độ và hàm lượng chất trong mẫu [2]. Với các chất có phổ chồng lấn lớn, PCR và PLS còn giúp giảm sai số dự đoán. Trong phân tích dược phẩm, các nghiên cứu đã ứng dụng PCR và PLS để dự đoán thành phần trong mẫu thuốc [3-5].

Quá trình phát triển các phương pháp phân tích liên tục đòi hỏi lựa chọn bước sóng phù hợp trong phân tích quang phổ để nâng cao độ chính xác và tin cậy của mô hình dự đoán. Nhiều nghiên cứu đã đề xuất các phương pháp chọn bước sóng đặc trưng để tăng cường khả năng dự đoán các thông số. Nghiên cứu của Tahir Mehmood tổng quan và so sánh 17 phương pháp lựa chọn bước sóng theo hồi quy bình phương tối thiểu riêng phần, chia thành ba nhóm: lọc, bọc, và nhúng. Kết quả cho thấy các phương pháp thuật toán di truyền, chọn tỉ lệ, và chọn biến ngược (BVE) đạt hiệu quả cao trong loại bỏ bước sóng và dự đoán [6]. Ngoài ra, BVE còn được chứng minh tiềm năng trong tối ưu hóa bước sóng cho định lượng hoạt chất dược phẩm [7,8].

Rifampicin (RIF), Isoniazid (INZ) và Pyrazinamid (PYR) là ba thành phần chính được sử dụng trong phác đồ điều điều trị lao hiện nay. Một số nghiên cứu trước đây đã áp dụng các phương pháp HPLC [9,10], LC-MS/MS [11], UV-Vis [12] để xác định các thành phần RIF, INZ và PYR có mặt trong một số thành phần khác hoặc phân tích trong các mẫu huyết tương. Việc xác định đồng thời RIF, INZ và PYR trong thuốc sử dụng phương pháp phổ UV-Vis kết hợp các phương pháp PCR, PLS, BVE-PLS là chưa được thực hiện. Vì vậy, nghiên cứu này chúng tôi định lượng đồng thời RIF, INZ và PYR trong viên nén sử dung phổ UV-Vis kết hợp với các phương pháp PCR, PLS và BVE-PLS với mục tiêu: (1) Xây dựng được mô hình hiệu chuẩn phù hợp, (2) lựa chọn bước sóng bằng phương pháp BVE và (3) đánh giá phương pháp đã xây dựng để định lượng đồng thời RIF, INZ và PYR trong viên nén Turbezid.

2. THỰC NGHIỆM

2.1 Hóa chất, dụng cụ và phần mềm

Thiết bị: máy quang phổ UV-Vis UH5300 (Hitachi, Nhật Bản), cân điện tử Sartorius (độ chính xác 0,0001 g), bể siêu âm Elma (Đức), máy cất nước 2 lần Bibby Scientific A400D (Anh), các loại Micropipet Boeco – Đức 20-200 μ L , 100 – 1000 μ L. **Chất chuẩn**: Rifampicin (96,0%) , Isoniazid (99,63%), Pyrazynamid (100,00%) được mua từ Viện kiểm nghiệm thuốc trung ương. **Dung môi:** Methanol (MeOH) (Fisher),

Nước cất. **Phần mềm:** các chương trình tính toán và xử lý số liệu được thực hiện trên phần mềm RStudio 2023.03.0, R4.3.0.

2.2 Chuẩn bị các dung dịch chuẩn và mẫu

2.2.1 Chuẩn bị dung dịch chuẩn

Dung dịch chuẩn gốc 1000 μ g/mL: Cân chính xác chất chuẩn (0,0521 g đối với RIF; 0,0502 g đối với INZ và 0,0500 g đối với PYR) vào bình định mức 50,0 mL, thêm 30 mL MeOH, siêu âm 5 phút rồi thêm MeOH đủ thể tích. Bảo quản dung dịch trong lọ tối màu, đặt ở ngăn đông. Các dung dịch làm việc hàng ngày được pha từ dung dịch chuẩn gốc theo tỉ lệ thể tích. Lưu ý, để dung dịch chuẩn gốc cân bằng nhiệt độ phòng trước khi pha.

2.2.2 Chuẩn bị mẫu thuốc

Cân chính xác 20 viên Turbezid (tổng khối lượng 18,9724 g, trung bình 1 viên là 0,9486 g). Cân 0,4743 g vào bình nón 100 mL, thêm 50 mL MeOH, siêu âm 5 phút, để yên 10 phút rồi lọc qua màng 0,45 µm để lấy khoảng 3-5 mL. Hút 60 µL dịch lọc vào bình định mức 10 mL, thêm dung môi đủ thể tích. Dung dịch cuối có nồng độ RIF, INZ, PYR lần lượt là 9 µg/mL, 4,5 µg/mL, và 24 µg/mL.

2.3 Phương pháp hồi quy thành phần chính và phương pháp bình phương tối thiểu riêng phần

Phương pháp hồi quy thành phần chính (PCR) và bình phương tối thiểu riêng phần (PLS) là các phương pháp giảm chiều dữ liệu bằng cách chiếu dữ liệu gốc vào không gian các thành phần chính (PCR) hoặc biến tiềm ẩn (PLS). Cả hai phương pháp tổ hợp dữ liệu ban đầu thành các biến đại diện, giúp đơn giản hóa và tăng độ chính xác trong mô hình hóa.

Hồi quy thành phần chính (PCR) kết hợp phân tích thành phần chính và hồi quy tuyến tính. Bước đầu PCR giảm số chiều bằng cách chuyển các biến gốc thành "thành phần chính" không tương quan, sau đó thực hiện hồi quy trên chúng. Các bước PCR gồm: (1) phân tích thành phần chính, (2) chọn số lượng thành phần tối ưu, và (3) hồi quy với các thành phần này.

Bình phương tối thiểu riêng phần (PLS) là phương pháp xử lý dữ liệu có nhiều biến dự đoán tương quan, tối ưu hóa dự đoán bằng cách tìm các thành phần tối đa hóa tương quan giữa biến đầu vào và biến đầu ra. Các bước PLS: (1) tìm biến tiềm ẩn tối đa hóa tương quan giữa phổ hiệu chuẩn và nồng độ, (2) chiếu biến đầu vào và đầu ra lên các thành phần này, (3) lặp lại để đạt số thành phần tối ưu, và (4) xây dựng mô hình hồi quy trên các thành phần này.

PCR và PLS có khả năng loại bỏ nhiễu, xử lý dữ liệu đa cộng tuyến và đơn giản hóa tính toán. Đặc biệt, PLS1 có thể xác định một thành phần trong mẫu mà không cần

biết nồng độ của các thành phần khác, miễn là chúng đã có trong giai đoạn hiệu chuẩn [13,14].

2.4 Phương pháp lựa chọn biến ngược

Thuật toán loại bỏ biến ngược (BVE) bắt đầu với toàn bộ dữ liệu gốc để xây dựng mô hình hồi quy PLS và tính sai số dự đoán (RMSE). Sau đó, lần lượt loại bỏ từng biến, xây dựng lại mô hình và tính RMSE mới. Nếu loại bỏ biến nào giúp giảm sai số, biến đó sẽ được loại bỏ vì không có lợi cho mô hình. Quá trình này lặp lại đến khi RMSE không còn thay đổi đáng kể giữa các lần lặp hoặc đạt ngưỡng đặt trước [15,16]. Ưu điểm của BVE là đánh giá được toàn bộ biến ảnh hưởng đến mô hình hồi quy. Nhược điểm là khi biến bị loại khỏi mô hình sẽ không được đưa lại, có thể dẫn đến mất mát thông tin trong hiệu chuẩn tiếp theo.

2.5 Đánh giá phương pháp phân tích

2.5.1 Độ đúng

Độ đúng thể hiện mức độ gần giữa giá trị trung bình của kết quả thử nghiệm và giá trị thực [17]. Độ đúng được đánh giá qua độ thu hồi bằng cách thêm chất chuẩn vào mẫu trắng ở ba mức nồng độ (thấp, trung bình, cao) trong khoảng nồng độ đã xây dựng, lặp lại ba lần ở mỗi mức. Theo AOAC, độ thu hồi cho RIF và INZ trong khoảng 80–110%, PYR từ 90–107%. Độ thu hồi được tính bằng công thức:

$$R\% = \frac{C_{tt}}{C_c} \times 100\%$$

Trong đó, R% là độ thu hồi; C^{tt} và C_c là nồng độ tìm lại và nồng độ chuẩn thêm vào mẫu trắng.

2.5.2 Độ lặp lại và độ tái lặp

Độ lặp lại và độ tái lặp được thực hiện lặp lại 6 lần trên cùng một mẫu, mỗi lần bắt đầu từ cân mẫu như trong phần chuẩn bị mẫu. Trong phần này, do INZ có độ hấp thụ thấp nên để xác định nồng độ trong mẫu phân tích chúng tôi thực hiện phương pháp thêm chuẩn. Cân m gam thuốc bằng 1/2 khối lượng của 1 viên, hòa tan trong 50 mL MeOH, siêu âm 5 phút, để yên 10 phút, lọc qua màng lọc 0,45 µm. Hút 0,06 mL dịch lọc, thêm tiếp 45 µL dung dịch chuẩn INZ 1000 µg/mL, cuối cùng thêm dung môi vừa đủ 10 mL. Đo phổ hấp thụ của dung dịch thu được.

Độ lặp lại được thực hiện 6 lần trong 1 ngày, độ tái lặp được thực hiện tương tự độ lặp lại nhưng ở một ngày khác, do một người khác thực hiện. Kết quả được đánh giá thông qua giá trị RSD, theo AOAC độ lặp lại tốt khi giá trị RSD nhỏ hơn 5,3 [18].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Phổ hấp thụ UV của Pyrazinamide, Isoniazid và Rifampicin



Hình 1. Phổ hấp thụ UV-Vis của các mẫu đơn INZ 10 μg/mL, RIF 12 μg/mL và PYR 24 μg/mL được đo trong khoảng bước sóng 200 – 550 nm, khoảng quét 0,5 nm.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi quét phổ UV của RIF, INZ và PYR trong khoảng 200 – 550 nm ở các mức nồng độ tứng ứng là 12 µg/mL, 10 µg/mL và 24 µg/mL. Phổ hấp thụ của các mẫu đơn được thể hiện trong hình 1, kết quả cho thấy ở khoảng bước sóng 200 – 300 nm phổ hấp thụ của các chất hoàn toàn chồng lên nhau, riêng đối với RIF có hấp thụ trong khoảng 300 – 550 nm trong khi INZ và PYR không hấp thụ.

Trong phân tích đa biến, việc tạo mẫu hiệu chuẩn phải đảm bảo tổng độ hấp thụ của các chất không vượt ngưỡng đo của thiết bị. Để xây dựng tập hiệu chuẩn phù hợp, chúng tôi xác định khoảng tuyến tính của các chất. Hình 1 cho thấy PYR hấp thụ mạnh ở 260 nm, nên khoảng nồng độ của các mẫu hiệu chuẩn được chọn sao cho độ hấp thụ tại bước sóng này vừa đủ. Khoảng tuyến tính đo tại 260 nm có nồng độ cho INZ và RIF từ 2–30 µg/mL, PYR từ 5–40 µg/mL. Kết quả cho thấy cả ba chất tuyến tính tốt trong khoảng nồng độ này, với phương trình hồi quy lần lượt cho RIF, INZ, và PYR là y = 0,0492x - 0,0095; y = 0,0310x + 0,0192 và y = 0,0419x + 0,0148, giá trị R² lần lượt 0,9995; 0,9988; 0,9980.

Đối tượng phân tích trong nghiên cứu này là thuốc Turbezid với hàm lượng ghi trên nhãn lần lượt là 150 gam, 75 gam và 400 gam tương ứng với RIF, INZ và PYR, tỉ lệ tối giản tương ứng là 6:3:16. Căn cứ này chúng tôi xây dựng tập hiệu chuẩn để xây dựng các mô hình phân tích với nồng độ tâm tương ứng là 9:4,5:24. Tập hiệu chuẩn và tập mẫu kiểm tra được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Nồng độ RIF, INZ và PYR trong tập hiệu chuẩn và tập kiểm tra																
Mẫu		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Tập	RIF	7,5	10,5	7,5	10,5	7,5	10,5	7,5	10,5	6,5	11,5	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
hiệu chuẩn	INZ	7,5	7,5	10,5	10,5	7,5	7,5	10,5	10,5	9,0	9,0	6,3	11,5	9,0	9,0	9,0
(µg/mL)	PYR	20,0	20,0	20,0	20,0	28,0	28,0	28,0	28,0	24,0	24,0	24,0	24,0	17,3	30,7	24
Tập	RIF	8,3	9,8	8,3	9,8	8,3	9,8	8,3	9,8	7,8	10,3	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
kiểm	INZ	8,3	8,3	9,8	9,8	8,3	8,3	9,8	9,8	9,0	9,0	7,8	10,3	9,0	9,0	9,0
tra (µg/mL)	PYR	22,0	22,0	22,0	22,0	26,0	26,0	26,0	26,0	24,0	24,0	24,0	24,0	20,5	27,5	24,0

Thuật toán lựa chọn biến ngược, hồi quy thành phần chính, bình phương tối thiểu riêng phần: ...

3.2 Lựa chọn khoảng bước sóng định lượng

Để chọn khoảng bước sóng định lượng, nghiên cứu giảm dần bước sóng từ 550 nm đến 220 nm với mỗi lần giảm 10 nm. Với mỗi khoảng, mô hình PLS được xây dựng để tìm mối tương quan giữa bước sóng và nồng độ trong tập hiệu chuẩn, sau đó dùng để xác định nồng độ các thành phần trong mẫu tự tạo. Khoảng bước sóng tối ưu có giá trị RMSEP nhỏ nhất trên tập kiểm tra. Kết quả cho thấy bước sóng tối ưu để định lượng RIF, INZ và PYR lần lượt là 220–440 nm (221:661), 220–425 nm (251:661), và 220–300 nm (501:661). Thuật toán loại bỏ biến ngược được sử dụng để lựa chọn bước sóng trong khoảng bước sóng mà phương pháp PLS đã lựa chọn sơ bộ. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.

0			
Thành phần	Số bước sóng ban đầu	Số bước sóng được chọn	Tỉ lệ
RIF	441	300	68,0%
INZ	411	401	97,6%
PYR	161	151	93,8%

Bảng 2. Số lượng các bước sóng được chọn bằng phương pháp BVE

3.3 Xây dựng phương pháp

Trong phân tích PCR và PLS, việc chọn đúng số thành phần chính là rất quan trọng. Quá nhiều thành phần sẽ gây hiện tượng quá khớp (overfitting), làm mô hình dự đoán tốt trên tập hiệu chuẩn nhưng kém chính xác trên mẫu độc lập, do không loại bỏ được nhiễu và thiếu thông tin đại diện. Ngược lại, chọn quá ít thành phần gây mất mát thông tin, cũng dẫn đến dự đoán không chính xác.

			0				
	Thành				Shapir		
Phương pháp	phần chất	n	RMSECV	RMSEC	Shapiro test RMSEC W p 0,1021 0,9825 0,888 0,1482 0,9816 0,866 0,3173 0,9452 0,125 0,1069 0,9772 0,888 0,1835 0,9616 0,866 0,3173 0,9452 0,125 0,1093 0,9681 0,485 0,1792 0,9824 0,885 0,3175 0,9457 0,130	р	R ²
PCR	RIF	4	0,1293	0,1021	0,9825	0,888	0,9849
	INZ	5	0,2120	0,1482	0,9816	0,866	0,9892
	PYR	3	0,3802	0,3173	0,9452	0,125	0,9929
	RIF	3	0,1423	0,1069	0,9772	0,888	0,9944
PLS	INZ	4	0,2326	0,1835	0,9616	0,866	0,9834
	PYR	3	0,3802	0,3173	0,9452	0,125	0,9929
	RIF	3	0,1414	0,1093	0,9681	0,489	0,9941
BVE-PLS	INZ	4	0,2227	0,1792	0,9824	0,885	0,9842
	PYR	3	0,3824	0,3175	0,9457	0,130	0,9929

Bảng 3. Các thông số thống kê của các mô hình PCR, PLS, BVE-PLS đã xây dựng để xác định đồng thời RIF, INZ, PYR

Trong nghiên cứu này, phương pháp thẩm định chéo loại bỏ từng phần được dùng để đánh giá độ chính xác của mô hình. Tập hiệu chuẩn chia thành 10 phần ngẫu nhiên, mỗi lần bỏ ra một phần và xây dựng mô hình trên 9 phần còn lại để dự đoán phần bị loại. Tổng sai số (RMSECV) từ các lần thực hiện được dùng để đánh giá khả năng dự đoán của các thành phần chính, và thành phần chính có RMSECV nhỏ nhất được chọn. Kết quả mô hình PCR, PLS và BVE-PLS được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3 trình bày các thông số xây dựng mô hình. Kết quả cho thấy phương pháp PCR thường cần nhiều thành phần chính hơn PLS. Các giá trị RMSECV và RMSEC nhỏ phản ánh độ đúng và độ chính xác của mô hình; theo Olivieri [19], nếu giá trị này <2% là rất tốt, 2-5% tốt, 5-10% chấp nhận được, >10% không tốt. Trong bảng 4, giá trị RMSECV và RMSEC lớn nhất là 0,1414 (1,6%) cho RIF, 0,2326 (2,6%) cho INZ, và 1,6% cho PYR, cho thấy mô hình có khả năng dự đoán rất tốt (RIF, PYR) và tốt (INZ). Hệ số xác định R^2 gần bằng 1 cho thấy khả năng dự đoán cao. Kiểm định Shapiro-Wilk cho thấy sai số giữa nồng độ tìm lại và ban đầu có phân phối chuẩn (p > 0,05). Nhìn chung, các mô hình PCR, PLS, và BVE-PLS đáp ứng yêu cầu dự đoán nồng độ RIF, INZ, và PYR. Ngoài ra, mô hình BVE-PLS với lựa chọn bước sóng tối ưu cho kết quả tốt hơn PLS, dù mức cải thiện không lớn.

Sau khi xây dựng các mô hình phân tích đa biến, chúng tôi sử dụng các mô hình để dự đoán nồng độ các mẫu có nồng độ khác nhau nằm trong tập kiểm tra. Đối với RIF, độ tìm lại của các phương pháp PCR, PLS, BVE-PLS nằm trong khoảng: 94,3 –

104,8%; 94,7 – 105,1%; 96,5 – 106,5%. Đối với INZ, độ tìm lại là 98,7 – 108,0%; 96,0 – 105,9%; 95,3 – 105,3% cho các phướng pháp PCR, PLS, BVE-PLS. Đối với PYR, độ tìm lại trong khoảng 97,3 – 102,8% cho cả ba phương pháp PCR, PLS và BVE-PLS. Giá trị RMSEP nhỏ, với RIF và INZ nằm trong khoảng 2-5%, với PYR <2%.

3.4 Thẩm định phương pháp

3.4.1 Đánh giá độ đúng

Độ thu hồi

Độ đúng được xác định bằng cách thêm chuẩn ở ba mức nồng độ khác nhau: mức thấp, trung bình và cao vào trong mẫu trắng. Phân tích lặp lại ba lần ở mỗi mức nồng độ, độ đúng được đánh giá thông qua độ thu hồi, kết quả độ thu hồi khi phân tích RIF, INZ, PYR được trình bày trong bảng 4. Kết quả độ thu hồi đều nằm trong khoảng 90 – 110% theo AOAC [18].

Ст	RIF, độ thu hồi		ði (%)	Ст	INZ, ở	Z, độ thu hồi (%)		Ст	PYR, đ	tộ thu hà	ôi (%)
(µg/mL)	PLS	PCR	BVE	(µg/mL)	PLS	PCR	BVE	(µg/mL)	PLS	PCR	BVE
7,7	100,7	99,9	102,6	7,7	97,5	100,2	96,9	20,4	101,8	101,9	101,9
7,7	98,9	98,6	99,8	7,7	107,3	109,1	107,0	20,4	100,1	100,1	100,1
7,7	97,6	96,9	99,4	7,7	100	102,6	99,4	20,4	96,4	96,4	96,5
9,0	100,3	99,7	102,4	9,0	95,4	98,1	94,8	24,0	95,9	95,9	96,0
9,0	100,4	100,1	102,0	9,0	101,2	103,4	100,7	24,0	98,0	98,1	98,1
9,0	100,3	100,2	101,2	9,0	108,2	109,5	107,8	24,0	100,1	100,1	100,0
10,4	100,0	100,0	101,1	10,4	104,2	105,5	103,9	27,6	98,6	98,6	98,6
10,4	102,4	102,1	104,2	10,4	99,8	101,8	99,3	27,6	100,1	100,1	100,2
10,4	100,9	100,9	102,2	10,4	106,6	108,2	106,3	27,6	102,1	102,2	102,1
Trung bình	100,2	99,8	101,7		102,2	104,3	101,8		99,2	99,3	99,3

Bảng 4. Kết quả đánh giá độ thu hồi RIF, INZ và PYR bằng các phương pháp PLS, PCR và BVE-PLS

Độ lặp lại và độ tái lặp

Độ lặp lại và độ tái lặp được xác định bằng cách tiến hành phân tích 6 mẫu độc lập bắt đầu từ cân mẫu thuốc. Riêng đối với INZ, chúng tôi sử dụng phương pháp thêm chuẩn để xác định hàm lượng INZ có trong mẫu. Kết quả được trình bày trong bảng 5.

TẠP CHÍ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ, Trường Đại học Khoa học, ĐH Huế

Bang 5. Ket	qua dann gia dọ	lập lậi và độ tải	iập kir, inz và	a P i K trong vien ner	i Turbezia.
		Độ lặp	lại	Độ tái	lặp
Phương pháp	Thành phần	TB, g	RSD, %	TB, g	RSD, %
	RIF	152,18	1,91	151,71	2,03
PLS	INZ	76,08	4,10	76,60	3,89
	PYR	408,78	3,47	406,83	3,77
	RIF	150,71	1,94	150,32	2,09
PCR	INZ	75,21	4,40	75,60	3,47
	PYR	408,96	3,47	407,01	3,77
	RIF	155,9	1,73	155,29	1,85
BVE	INZ	74,42	4,11	74,93	3,98
	PYR	409,39	3,46	407,42	3,75

Bảng 5 Kất quả đánh giá độ lặp lại và độ tái lặp RIE INZ và PVR trong viên nón Turbezid

Kết quả ở bảng 5 cho thấy độ lặp lại và độ tái lặp của ba chất phân tích với các phương pháp PLS, PCR và BVE-PLS đều có RSD < 5,3, đáp ứng theo yêu cầu của AOAC [18].

3.5 Định lượng

Bảng 6. Kết quả định lượng RIF, INZ và PYR trong viên nén Turbezid bằng phương pháp PLS, PCR, BVE-PLS và HPLC

Phương pháp	Thành phần	Q1 (gam)	Q2 (gam)	Q₃(gam)	TB (gam)	RSD	%HLGTN
	RIF	151,17	155,33	155,83	154,11	1,66	102,7
PLS	INZ	76,17	78,33	77,67	77,39	1,43	103,2
	PYR	412,67	405,33	405,5	407,83	1,03	102,0
	RIF	149,67	153,67	154,17	152,5	1,62	101,7
PCR	INZ	74,83	77,67	77,17	76,56	1,98	102,1
	PYR	412,83	405,5	405,67	408,00	1,03	102,0
	RIF	154,67	159,67	160	158,11	1,89	105,4
BVE-PLS	INZ	74,5	76,33	75,83	75,55	1,25	100,7
	PYR	413,17	406	406,17	408,45	1,00	102,1
	RIF	156,48	154,95	154,83	155,42	0,59	103,6
HPLC	INZ	76,86	76,62	76,39	76,62	0,31	102,2
	PYR	402,86	403,95	402,69	403,17	0,17	100,8

Thuật toán lựa chọn biến ngược, hồi quy thành phần chính, bình phương tối thiểu riêng phần: ...

Áp dụng quy trình đã xây dựng để định lượng đồng thời RIF, INZ và PYR trong viên nén Turbezid của Công ty Dược Nam Hà. Kết quả được trình bày trong bảng 6.

Kết quả định lượng cho thấy, các phương pháp đã xây dựng cho phép xác định đúng hàm lượng của RIF, INZ và PYR so với hàm lượng ghi trên nhãn (HLGTN) đều nằm trong khoảng 90 – 110% theo quy định của Dược điển Việt Nam V. Các mẫu thuốc cũng được gửi đến Trung tâm Kiểm nghiệm thuốc, Mỹ phẩm,Thực phẩm Thừa Thiên Huế, phân tích ANOVA để so sánh kết quả trung bình giữa các nhóm cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các phương pháp đã xây dựng và phương pháp HPLC (bảng 7)

Nguồng biến thiên	Tổng bình phương	Bậc tự do	Trung bình bình phương	F tính	р	Ftra bảng
ANOVA (RIF)						
Khác biệt giữa các nhóm	25,13	2	12,57	1,61	0,253	4,257
Khác biệt trong từng nhóm	70,32	9	7,81			
Tổng	95,46	11				
ANOVA (INZ)						
Khác biệt giữa các nhóm	5,76	2	2,88	3,122	0,0933	4,257
Khác biệt trong từng nhóm	8,30	9	0,92			
Tổng	14,06	11				
ANOVA (PYR)						
Khác biệt giữa các nhóm	74,45	2	37,22	3,928	0,0594	4,257
Khác biệt trong từng nhóm	85,29	9	9,48			
Tổng	159,74	11				

Bảng 7. Phân tích ANOVA so sánh kết quả trung bình giữa các nhóm của các phương pháp PLS, PCR, BVE-PLS và HPLC

4. KẾT LUẬN

Lần đầu tiên các hoạt chất RIF, INZ và PYR được xác định đồng thời bằng phương pháp quang phổ UV – Vis sử dụng các phương pháp PLS, PCR, BVE-PLS để xử lý các dữ liệu thu được. Nghiên cứu đã xây dựng được các tập hiệu chuẩn dựa trên thiết kế thí nghiệm cấu trúc có tâm với 15 mẫu. Trong nghiên cứu này cũng đã áp dụng phương pháp lựa chọn biến ngược (BVE) dựa trên thuật toán bình phương tối thiểu riêng phần để loại bỏ một số bước sóng so với việc sử dụng số lượng bước sóng đầy đủ trong phương pháp PLS, một số bước sóng đã được loại bỏ ra khỏi khi xây dựng mô hình và cho kết quả tốt hơn phương pháp PLS. Nghiên cứu cũng đã đánh giá độ đúng, độ lặp lại và độ tái lặp của các phương pháp cho kết quả phù hợp với quy định của AOAC. Kết quả định lượng RIF, INZ và PYR trong viên nén Turbezit cho kết quả so với với hàm lượng ghi trên nhãn phù hợp với quy định của Dược điển Việt Nam V. So sánh với phương pháp HPLC không có sự khác biệt đáng kể.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. M.K Olson (2014). Regulation of Safety, Efficacy, and Quanlity, *Encyclopedia of Health Economics*, pp. 240 – 248. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375678-7.01202-5
- [2] Cadet, F., Pérez-Guaita, D., Garrigues, S., & de la Guardia, M. (2006). Quantitative analysis, infrared. *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation*, 1-49
- [3]. Shahrokhi, Z., Sohrabi, M. R., & Nik, S. M. (2020). The application of artificial intelligence system and regression methods based on the spectrophotometric method for fast simultaneous determination of naphazoline and antazoline in ophthalmic formulation. *Optik*, 203, 164010.
- [4]. Patel, M. M., Shah, U. H., Goswami, K., Bhavsar, S., & Patel, S. G. (2020). Application of chemometric methods for the determination of ciprofloxacin hydrochloride and phenazopyridine hydrochloride in their pharmaceutical dosage form. *Rasayan Journal of Chemistry*, 13(4).
- [5] Sayed, R. A., Ibrahim, A. E., & Sharaf, Y. A. (2021). Chemometry-assisted UVspectrophotmetric methods for the simultaneous determination of paritaprevir, ritonavir, and ombitasvir in their combined tablet dosage forms: A comparative study. *Journal of Chemometrics*, 35(5), e3339.
- [6]. [Mehmood, T., Sæbø, S., & Liland, K. H. (2020). Comparison of variable selection methods in partial least squares regression. *Journal of Chemometrics*, 34(6), e3226.
- [7]. Ibrahim, A. M., Hendawy, H. A., Hassan, W. S., Shalaby, A., & ElMasry, M. S. (2020). Determination of terazosin in the presence of prazosin: Different state-of-the-art machine learning algorithms with UV spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 236, 118349..
- [8]. Yip, W. L., Soosainather, T. C., Dyrstad, K., & Sande, S. A. (2014). Classification of structurally related commercial contrast media by near infrared spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 90, 148-160.,
- [9]. [Zhou, Z., Chen, L., Liu, P., Shen, M., & Zou, F. (2010). Simultaneous determination of isoniazid, pyrazinamide, rifampicin and acetylisoniazid in human plasma by highperformance liquid chromatography. *Analytical Sciences*, 26(11), 1133-1138
- [10]. Zhou, Z., Chen, L., Liu, P., Shen, M., & Zou, F. (2010). Simultaneous determination of isoniazid, pyrazinamide, rifampicin and acetylisoniazid in human plasma by highperformance liquid chromatography. *Analytical Sciences*, 26(11), 1133-1138

Thuật toán lựa chọn biến ngược, hồi quy thành phần chính, bình phương tối thiểu riêng phần: ...

- [11]. Hung, T. M., Huong, D. T. L., Van Duc, H., & Tung, B. T. (2018). Simultaneous determination of pyrazinamide, rifampicin, ethambutol, isoniazid and acetyl isoniazid in human plasma by LC-MS/MS method. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(9), 061-073.
- [12]. Asadpour-Zeynali, K., & Saeb, E. (2016). Simultaneous spectrophotometric determination of rifampicin, isoniazid and pyrazinamide in a single step. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 15(4), 713.
- [13]. Cadet, F., Pérez-Guaita, D., Garrigues, S., & de la Guardia, M. (2006). Quantitative analysis, infrared. *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation*, 1-49.
- [14]. Rosipal, R., & Krämer, N. (2005, February). Overview and recent advances in partial least squares. In International Statistical and Optimization Perspectives Workshop" Subspace, Latent Structure and Feature Selection" (pp. 34-51). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. DOI: https://doi.org/10.1007/11752790_2
- [15]. Pierna, J. A. F., Abbas, O., Baeten, V., & Dardenne, P. (2009). A Backward Variable Selection method for PLS regression (BVSPLS). *Analytica chimica acta*, 642(1-2), 89-93.
- [16]. Merola, G. M. (2015). Least squares sparse principal component analysis: A backward elimination approach to attain large loadings. *Australian & New Zealand Journal of Statistics*, 57(3), 391-429.
- [17]. Trần Cao Sơn, Phạm Xuân Đà, Lê Thị Hồng Hảo, Nguyễn Thành Trung (2010). "Thẩm định phương pháp phân tích hóa học", Thẩm định phương pháp trong phân tích hóa học và vi sinh vật, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, tr 16-59.
- [18]. AOAC International. (2016). Appendix F: guidelines for standard method performance requirements. AOAC Official Method Anal. AOAC Int., 1-18.
- [19]. Olivieri, A. (2018). "Chemometrics and Multivariate Calibration", *Introduction to multivariate calibration: A practical approach*. Springer Nature, p. 9-11.

BACKWARD VARIABLE ELIMINATION, PRINCIPAL COMPONENT REGRESSION, PARTIAL LEAST SQUARE: SIMULTANEOUS DETERMINATION RIFAMPICIN, ISONIAZID AND PYRAZINAMIDE IN TABLET

Nguyen Duy Luu^{1,3*}, Le Van Thuan², Nguyen The Khang³, Nguyen Hung Nhat Duy³, Pham Phu Quoc³, Võ Thị Thanh Truc³, Nguyen Dinh Luyen⁴, Tran Thuc Binh^{1*}

¹ Faculty of Chemistry, University of Sciences, Hue University
² Huynh Thuc Khang High School, Ben Cau District, Tay Ninh Province
³ Faculty of Pharmacy, Danang University of Medical Technology and Pharmacy
⁴ Faculty of Chemistry, University of Education, Hue University
*Email: ttbinh@hueuni.edu.vn; ndluu@dhktyduocdn.edu.vn

ABSTRACT

In this study, a mixture of three components-Rifampicin, Isoniazid, and Pyrazinamide-in Turbezid tablets was simultaneously determined using UV-Vis spectrophotometry combined with principal component regression (PCR) and partial least squares (PLS) methods. The backward variable elimination (BVE) algorithm in PLS was employed to select optimal wavelengths for constructing the PLS model, with the proportion of selected wavelengths being 68.0%, 97.6%, and 93.8% for Rifampicin, Isoniazid, and Pyrazinamide, respectively. The methods showed recovery rates ranging from 80 to 110% for RIF and INZ, and from 90 to 107% for PYR, with repeatability and reproducibility yielding RSD values of <5.3, as per AOAC standards. The percentage content relative to label values complied with Vietnamese Pharmacopoeia V standards and showed no statistically significant difference when compared high-performance with liquid chromatography (HPLC) results.

Keywords: Partial least squares, Principal component regression, backward variable elimination, UV-Vis absorption spectroscopy.

Thuật toán lựa chọn biến ngược, hồi quy thành phần chính, bình phương tối thiểu riêng phần: ...



Trần Thúc Bình sinh năm 1962 tại Hà Tĩnh. Ông tốt nghiệp Đại học ngành Hóa học năm 1988, nhận học vị Tiến sĩ năm 2003 tại Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – Đại học Quốc gia Hà Nội. Hiện đangcông tác tại Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: Hóa học phân tích, Chemometrics, Thống kê ứng dụng.



Nguyễn Đình Luyện sinh năm 1965 tại Quảng Bình. Ông tốt nghiệp Đại học ngành Hóa học năm 1986, Thạc sĩ chuyên ngành Hóa phân tích năm 1991, nhận học vị tiến sĩ năm 1998 tại Trường Đại học Sư phạm Hà Nội. Hiện đang công tác tại Khoa Học học, Trường Đại học Sư phạm Huế.

Lĩnh vực nghiên cứu: Hóa phân tích.



Nguyễn Duy Lưu sinh ngày 14/5/1982 tại Quảng Trị. Ông tốt nghiệp đại học ngành Hóa học năm 2004 và thạc sĩ chuyên ngành Hóa phân tích năm 2008 tại Trường Đại học Sư phạm Huế, ĐH Huế. Hiện đang công tác tại Khoa Dược, Trường Đại học Kỹ thuật Y – Dược Đà Nẵng

Lĩnh vực nghiên cứ: Chemometrics, thống kê và ứng dụng, Ứng dụng AI trong xử lý dữ liệu và phân tích.



Lê Văn Thuận sinh ngày 20/02/1991 tại Đắk Lắk. Ông tốt nghiệp Đại học ngành Hóa học năm 2013 tại Đại học Tây Nguyên. Hiện đang công tác tại trường THPT Huỳnh Thúc Kháng, tỉnh Tây Ninh.

Lĩnh vực nghiên cứ: Chemometrics



Nguyễn Thế Khang sinh ngày 27/2/2004 tại Nghệ An. Hiện đang là sinh viên tại Khoa Dược, Trường Đại học Kỹ thuật Y – Dược Đà Nẵng.

Lĩnh vực nghiên cứu: Chemometric, thống kê và ứng dụng.



Nguyễn Hùng Nhật Duy sinh ngày 9/10/2004 tại Quảng Nam. Hiện đang là sinh viên tại Khoa Dược, Trường Đại học Kỹ thuật Y – Dược Đà Nẵng. *Lĩnh vực nghiên cứu:* Chemometric, thống kê và ứng dụng.



Võ Thị Thanh Trúc sinh ngày 10/9/2003 tại Kon Tum. Hiện đang là sinh viên tại Khoa Dược, Trường Đại học Kỹ thuật Y – Dược Đà Nẵng.

Lĩnh vực nghiên cứu: Chemometric, thống kê và ứng dụng.



Phạm Phú Quốc sinh ngày 5/3/2004 tại Đắk Lăk. Hiện đang là sinh viên tại Khoa Dược, Trường Đại học Kỹ thuật Y – Dược Đà Nẵng.

Lĩnh vực nghiên cứu: Chemometric, thống kê và ứng dụng.