



Application Note AN-C-198

Định lượng calcium acetate trong viên nang calcium acetate

Xác nhận phương pháp theo Dược điển Hoa Kỳ (USP)

Calcium acetate hoạt động như một chất kết dính phosphate trong đường tiêu hóa, giúp giảm mức phosphate cao ở những người mắc bệnh thận đang được điều trị lọc máu [1,2]. Để đáp ứng các tiêu chuẩn chất lượng nghiêm ngặt cho các sản phẩm dược phẩm, các nhà sản xuất và phòng thí nghiệm phải sử dụng các phương pháp đã được xác nhận từ USP-NF. Trước đây, các phương pháp này bao gồm chuẩn độ hoặc sắc ký lỏng (LC) với phát hiện UV. Như một phần trong nỗ lực hiện đại hóa, USP đã cập nhật chuyên khảo về calcium để bao gồm phân tích sắc ký ion (IC), đơn giản hơn và nhạy hơn so với các phương pháp

trước đây. Đối với định lượng calcium acetate, USP quy định sắc ký ion sử dụng cột trao đổi cation với vật liệu L76 và phát hiện độ dẫn không bị triệt tiêu để định lượng ion calcium trong viên nang calcium acetate [3]. Phương pháp IC hiện tại sử dụng cột Metrosep C 6 - 150/4.0 (L76) để tách calcium khỏi các ion khác trong viên nang calcium acetate. Phương pháp này đã được xác nhận theo các chương chung của USP <621> Sắc ký [4] và <1225> Xác nhận Quy trình Bào chế [5]. Tất cả các tiêu chí chấp nhận cho định lượng calcium acetate trong chuyên khảo USP «Viên nang Calcium Acetate» đều được đáp ứng.

MẪU VÀ CHUẨN BỊ MẪU

Dung dịch chuẩn chứa 0,08 mg/mL Tiêu chuẩn Tham chiếu Calcium Acetate của USP (Mã số Cat# 1086334) trong nước. Dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách cân chính xác 80.0 mg Tiêu chuẩn Tham chiếu Calcium Acetate của USP và chuyển vào bình định mức sạch 1000 mL. Sau đó, dung dịch được hòa tan và thêm nước siêu sạch (UPW) đến vạch định mức. Đối với dung dịch mẫu gốc chứa 6.7 mg/mL calcium acetate, một phần thích hợp từ ít nhất 20 viên nang được chuyển vào bình định mức 2000 mL. UPW được thêm vào khoảng 40% thể tích cuối của bình định

mức, sau đó dung dịch được siêu âm trong 30 phút với lắc gián đoạn. Sau đó, dung dịch được thêm nước đến vạch định mức với UPW và lọc qua giấy lọc 0.2 µm. Đối với dung dịch mẫu chứa 0.08 mg/mL calcium acetate, 5.97 mL dung dịch mẫu gốc được chuyển vào bình định mức sạch 500 mL. Sau đó dung dịch được pha loãng và thêm nước đến vạch định mức với UPW. Tất cả các dung dịch được siêu âm trong 5 phút trước khi tiêm mẫu.

THÍ NGHIỆM

Các mẫu được tiêm trực tiếp vào hệ thống IC bằng 919 IC Autosampler plus (Hình 1). Các cation được tách bằng cột Metrosep C 6 -150/4.0 (L76) và phát hiện bằng độ dẫn không khử (**Bảng 1**). Thời gian chạy là 40 phút, đáp ứng yêu cầu USP là 1,5 lần thời gian lưu của đỉnh calcium (ở đây là 24 phút). Hiệu chuẩn một điểm với dung dịch chuẩn chứa 0.08 mg/mL calcium acetate của USP được sử dụng để định lượng. Các mẫu được đánh giá ba lần lặp lại. Các nghiên cứu độ lặp lại được thực hiện với 6 lần tiêm.



Hình 1. Cấu hình thiết bị bao gồm 930 Compact IC Flex Oven/Deg và 919 IC Autosampler plus.

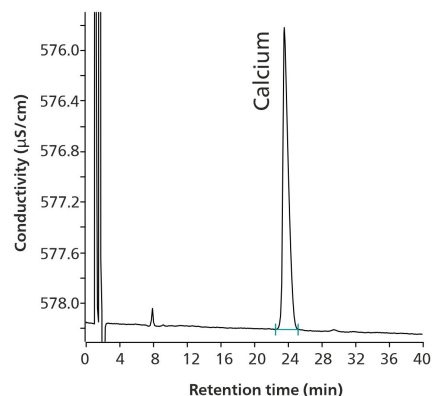
Bảng 1. Các thông số cho phương pháp IC theo chuyên luận USP «Calcium Acetate Capsules» [3].

Column with L76 packing	Metrosep C 6 - 150/4.0
Pha động	0.75 mmol/L dipicolinic acid + 1.7 mmol/L nitric acid
Tốc độ dòng	0.9 mL/min
Nhiệt độ	35 °C
Thể tích tiêm	10 µL
Phát hiện	Độ dẫn điện trực tiếp

KẾT QUẢ

Các thông số phương pháp IC tuân thủ các yêu cầu của USP đối với phép thử calcium acetate (**Bảng 2**). Sắc ký đồ không cho thấy bất kỳ sự nhiễu hoặc nhiễm bẩn nào, và đỉnh calcium xuất hiện sau 24 phút (**Hình 2**).

Tất cả các kết quả kiểm tra thẩm định đều nằm trong các yêu cầu của USP. Hiệu suất cột rất tốt với >5900 đĩa lý thuyết. Độ lệch chuẩn tương đối của 6 lần tiêm chuẩn là 0.4% (yêu cầu USP <2.0%). Hàm lượng calcium acetate đo được trong viên nang tương quan tốt với hàm lượng ghi trên nhãn, ví dụ, tỷ lệ tính toán là 102,6% so với hàm lượng ghi nhãn (90,0–110,0% là chấp nhận được) (**Bảng 2**). Do đó, phương pháp IC phù hợp để xác định calcium trong viên nang calcium acetate.



Hình 2. Sắc ký đồ của đỉnh calcium từ mẫu viên nang calcium acetate, chứa 0.082 mg/mL calcium acetate (phục hồi 102%).

Bảng 2. Kết quả ví dụ và yêu cầu USP từ thẩm định phương pháp IC đối với calcium acetate trong viên nang calcium acetate theo USP [3].

Tham số	Kết quả	USP yêu cầu
Đĩa lý thuyết	5909	NLT 1000
RSD % (n = 6)	0.406%	NMT 2.0%
Phần trăm lượng ghi trên nhãn	102.6%	90.0–110.0%

KẾT LUẬN

Theo chuyên luận USP về viên nang calcium acetate [3], phép thử calcium acetate bao gồm việc xác định hàm lượng calcium bằng sắc ký ion (IC) trên cột tách có vật liệu đóng gói L76 (ở đây là Metrosep C 6). Các kết quả thẩm định đáp ứng tất cả các yêu cầu của

chuyên luận và tuân theo các hướng dẫn được nêu trong Chương Tổng quát USP <621> Sắc ký và <1225> Thẩm định Phương pháp Tham chiếu [4,5]. Phương pháp IC được mô tả phù hợp để định lượng calcium trong viên nang calcium acetate.

TÀI LIỆU

1. Biruete, A.; Gallant, K. M. H.; Lindemann, S. R.; et al. Phosphate Binders and Nonphosphate Effects in the Gastrointestinal Tract. *Journal of Renal Nutrition* **2020**, 30 (1), 4–10.
[DOI:10.1053/j.jrn.2019.01.004](https://doi.org/10.1053/j.jrn.2019.01.004)
2. Sekar, A.; Kaur, T.; Nally, J. V.; et al. Phosphorus Binders: The New and the Old, and How to Choose. *CCJM* **2018**, 85 (8), 629–638.
[DOI:10.3949/ccjm.85a.17054](https://doi.org/10.3949/ccjm.85a.17054)
3. U.S. Pharmacopeia. USP-NF Calcium Acetate Capsules. *Monograph*.
[DOI:10.31003/USPNF_M11403_08_01](https://doi.org/10.31003/USPNF_M11403_08_01)
4. <621> Chromatography, General Chapter; U.S. Pharmacopeia/National Formulary: Rockville, MD.
5. 1225 Validation of Compendial Procedures; General Chapter; U.S. Pharmacopeia/National Formulary: Rockville, MD.
[DOI:10.31003/USPNF_M99945_04_01](https://doi.org/10.31003/USPNF_M99945_04_01)

CONTACT

CÔNG TY TNHH METROHM
VIỆT NAM

Tòa nhà Park IX, số 08
Đường Phan Đình Giót,
Phường Tân Sơn Hòa
null Thành phố Hồ Chí Minh

info@metrohm.vn

CẤU HÌNH



Metrosep C 6 - 150/4.0

The high-capacity C 6 material makes the Metrosep C 6 - 150/4.0 separation column the optimum solution for separating standard cations with high differences in concentration in conjunction with reasonable retention times. Drinking water with low ammonium contents can be determined with this column.



930 Compact IC Flex Oven/Deg

The 930 Compact IC Flex Oven/Deg is the intelligent Compact IC instrument with **column oven**, **without suppression** and with built-in **degasser**. The instrument can be used with any separation and detection methods.

Typical areas of application:

- Anion and cation determinations without suppression with conductivity detection
- Simple applications with UV/VIS or amperometric detection



919 IC Autosampler plus

The 919 IC Autosampler plus fulfills the requirements of laboratories with medium sample numbers. It enables automation of the full range of Metrohm IC instruments.



IC Conductivity Detector

Compact and intelligent high performance conductivity detector for intelligent IC instruments. Outstanding temperature stability, the complete signal processing within the protected detector block and the latest generation of DSP – Digital Signal Processing – guarantee the highest precision of the measurement. No change of measuring ranges (not even automatic ones) is required, due to the dynamic working range.