

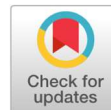


ISSN : 1859-1779

Nghiên cứu Dược học

Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh - Dược học;29(2):42-51

<https://doi.org/10.32895/hcjm.p.2026.02.05>



Tổng hợp và thiết lập chất đối chiếu benazeprilat (tạp C) của benazepril hydroclorid

Nguyễn Hòa Giang¹, Đỗ Gia Huy¹, Nguyễn Tuấn Anh¹, Mai Hoài Thu¹, Nguyễn Thị Ngọc Dung^{1,*}

¹Trường Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Benazepril hydroclorid là một thuốc tim mạch thuộc nhóm thuốc ức chế men chuyển (angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors), dùng trong điều trị tăng huyết áp. Tạp C, benazeprilat, được xác định là tạp quá trình và tạp phân hủy cần xác định trong nguyên liệu và thành phẩm theo Dược điển Mỹ (USP) 2025. Nghiên cứu nhằm tổng hợp tạp liên quan C và thiết lập chất đối chiếu sử dụng trong kiểm tinh khiết benazepril, bổ sung vào danh mục chất chuẩn tại Việt Nam.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Tạp C của benazepril hydroclorid được tổng hợp bằng phản ứng thủy phân nhóm ester của benazepril trong môi trường kiềm và xác nhận cấu trúc bằng các dữ liệu phổ. Độ tinh khiết của tạp C được xác định bằng sắc ký lớp mỏng, đo điểm chảy và sắc ký lỏng hiệu năng cao. Tạp C sau đó được đánh giá và thiết lập chuẩn đối chiếu.

Kết quả: Tạp C được tổng hợp thành công và tinh chế với hiệu suất 63,3% (1,51 g). Độ tinh khiết của tạp C, tính trên nguyên trạng, đạt trên 98%. Do đó, tạp C thích hợp để thiết lập chất đối chiếu. Tạp C có giá trị ấn định là 99,63%. Quy trình định lượng tạp C được thực hiện bằng phương pháp HPLC theo USP 43.

Kết luận: Tạp C đã được tổng hợp và tinh chế thành công và được tiêu chuẩn hóa làm chất đối chiếu cho kiểm tinh khiết benazepril.

Từ khóa: benazeprilat; benazepril hydroclorid; tạp C

Abstract

SYNTHESIS AND ESTABLISHMENT OF THE BENAZEPRILAT REFERENCE STANDARD (IMPURITY C) OF BENAZEPRIL HYDROCHLORIDE

Nguyen Hoa Giang, Do Gia Huy, Nguyen Tuan Anh, Mai Hoai Thu, Nguyen Thi Ngoc Dung

Introduction: Benazepril hydrochloride is a cardiovascular drug belonging to the class of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors, used in the treatment of hypertension. Impurity C, known as benazeprilat, is identified as a process-related and degradation impurity whose presence must be determined in raw materials and finished products, in accordance with the United States Pharmacopeia (USP) 2025. This study aims to synthesize impurity C and establish a reference standard for impurities test of benazepril, supporting its inclusion in the list of reference substances in Vietnam.

Objectives and methods: impurity C of benazepril hydrochloride was synthesized by hydrolysis of the benazepril ester group in an alkaline

Ngày nhận bài: 15-12-2025 / Ngày chấp nhận đăng bài: 30-01-2026 / Ngày đăng bài: 28-02-2026

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Ngọc Dung. Trường Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam.

E-mail: ntndung@ump.edu.vn

© 2026 Bản quyền thuộc về Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh.

medium, and its structure was confirmed by spectroscopic data. The purity of impurity C was determined by thin-layer chromatography, melting point measurement, and high-performance liquid chromatography (HPLC). Impurity C was then accessed and established as a reference substance.

Results: Impurity C was successfully synthesized and purified, with a yield of 63.3% (1.51 g). Its chromatographic purity calculated as assayed as such, was determined over 98.0%. Therefore, it is suitable for establishing a reference substance. The assigned value of impurity C is 99.63%. The impurity C was quantified by HPLC according to USP43.

Conclusion: Impurity C was successfully synthesized, purified, and standardized as a reference substance for impurities test of benazepril.

Keywords: benazeprilat; benazepril hydrochloride; impurity C

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tăng huyết áp là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trong số tất cả các bệnh lý tim mạch và là căn bệnh được xem như “kẻ giết người thầm lặng”. Nhóm thuốc ức chế men chuyển (ACEi) được khuyến cáo điều trị đầu tay với bằng chứng mang lại lợi ích trong việc giảm nguy cơ tim mạch và tử vong ở bệnh nhân tăng huyết áp [1], trong đó có benazepril, với 19 chế phẩm được cấp phép lưu hành trên thị trường Việt Nam. Theo USP 2025 [2], BP 2025 [3], EP 11.0 [4], tạp chất C của benazepril vừa là tạp quá trình, tạp phân hủy và là chất chuyển hóa có hoạt tính cần phải kiểm soát nằm trong giới hạn cho phép và được báo cáo ở mức độ cảnh báo theo hệ thống phân loại GHS, nghi ngờ gây tổn hại đến khả năng sinh sản [5]. Các nghiên cứu trước đây không công bố quy trình tổng hợp benazeprilat mà chủ yếu dừng lại ở việc đánh giá sự xuất hiện sản phẩm phân hủy của benazepril khi xây dựng quy trình định lượng hoạt chất này [6,7]. Tạp C sử dụng trong xác định tạp liên quan của benazepril có giá thành cao, phải nhập từ nước ngoài. Do đó, đề tài tổng hợp và thiết lập chất đối chiếu tạp C của benazepril là cần thiết góp phần đánh giá hàm lượng tạp trong các chế phẩm trên thị trường và bổ sung vào danh mục chất chuẩn đối chiếu tại Việt Nam.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Tạp C của benazepril hydroclorid: acid (2S)-2-[[[(3S)-1-(carboxymethyl)-2-oxo-4,5-dihydro-3H-1-benzazepin-3-yl]amino]-4-phenyl]butanoic.

2.2. Nguyên liệu, dung môi, hóa chất, trang thiết bị

2.2.1. Nguyên liệu

Benazepril hydroclorid có số lô 5141-20-059M, độ tinh khiết 99,7% tính trên chế phẩm khan, độ ẩm 0,2%, được cung cấp bởi công ty TNHH Zhejiang Huahai Pharmaceutical, Trung Quốc.

Benazeprilat có số lô 1-JQW-132-1, độ tinh khiết 99,28% tính trên chế phẩm nguyên trạng, được cung cấp bởi công ty Toronto Research Chemicals, Canada.

2.2.2. Dung môi, hóa chất

Acetonitril (ACN), methanol (MeOH), acid trifluoroacetic (TFA) đạt tiêu chuẩn dùng cho sắc ký lỏng được cung cấp bởi Merck, USA. Acid hydrocloric (HCl), natri hydroxyd (NaOH), *n*-butanol (*n*-BuOH), ethyl acetat (EA), methanol (MeOH), amoniac (NH₄OH) đạt tiêu chuẩn phân tích được cung cấp bởi Chemsol, Việt Nam.

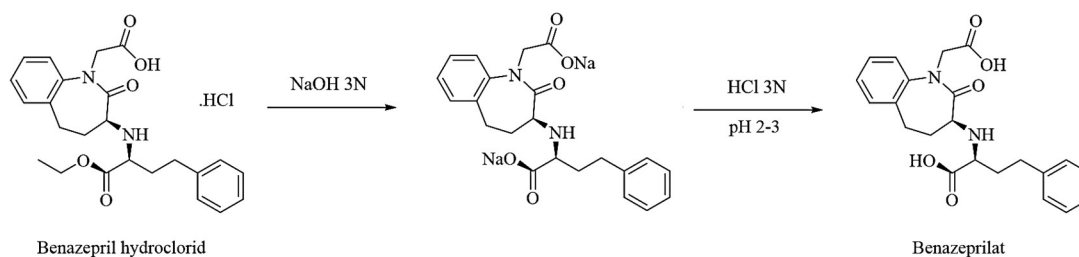
2.2.3. Trang thiết bị

Nhiệt độ nóng chảy được đo bằng máy Stuart SMP-10. Phổ IR được ghi lại trên máy Shimadzu IRAffinity-1S. Phổ khối lượng được ghi lại trên máy Shimadzu LCMS-IT-TOF. Phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR được ghi lại trên máy cộng hưởng từ hạt nhân Bruker Advance II. Sắc ký lỏng được thực hiện trên hệ thống ACQUITY Arc (Waters) ghép nối đầu dò PDA. Ngoài ra, còn sử dụng tủ sấy, bản mỏng silica gel F254, cột sắc ký C18 và một số dụng cụ thủy tinh thông thường trong phòng thí nghiệm.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Tổng hợp và tinh chế

Tạp C được tổng hợp từ benazepril hydroclorid bằng phản ứng thủy phân ester trong môi trường kiềm natri hydroxyd (NaOH) [6] theo Hình 1.



Hình 1. Quy trình tổng hợp tạp C của benazepril

Benazepril hydroclorid (0,925 g, 2 mmol) được hòa tan trong dung dịch NaOH 3 N (2 mL, 6 mmol, tỉ lệ 1:3) và 10 ml MeOH trong bình cầu 50 ml. Đun hồi lưu hỗn hợp trên bếp cách thủy có khuấy từ, ở nhiệt độ 60 °C trong 4 giờ. Theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng silicagel F254 (10 x 2 cm), phát hiện vết dưới đèn UV ở bước sóng 254 nm, hệ dung môi khai triển là *n*-buthanol - methanol - amoniac (5:5:2) đến khi không còn xuất hiện vết nguyên liệu trên sắc ký đồ. Để nguội, làm lạnh bình phản ứng trong nước đá. Thêm từ từ từng giọt dung dịch HCl 3 N vào bình cầu để acid hóa dịch phản ứng đến pH 2 - 3, xuất hiện kết tủa trắng, mịn. Làm lạnh dịch chứa sản phẩm thô trong nước đá trong 2 giờ để sản phẩm kết tinh hoàn toàn. Lọc dịch tủa qua giấy lọc và rửa tủa với 20 ml nước cất lạnh. Sấy tủa ở nhiệt độ 60 °C trong 3 giờ, thu được sản phẩm thô.

Sản phẩm thô được tinh chế bằng cách rửa dưới áp suất giảm với các dung môi có độ phân cực giảm dần: nước, ethyl acetat và *n*-hexan, thực hiện 2 lần với mỗi dung môi, mỗi lần rửa với 20 ml. Sấy sản phẩm ở nhiệt độ 60 °C trong 4 giờ, thu được sản phẩm tinh chế.

Sản phẩm tinh chế được thử tinh khiết bằng phương pháp đo nhiệt độ nóng chảy và phương pháp sắc ký lớp mỏng trên ba hệ dung môi với độ phân cực và khả năng rửa giải phù hợp (Hệ 1: *n*-Bu - MeOH - NH₃ (7:3:2), Hệ 2: *n*-Bu - MeOH - NH₃ (5:5:2), Hệ 3: EA - MeOH - NH₃ (3:7:2)), phát hiện bằng cách soi đèn UV 254 nm.

2.3.2. Xác định cấu trúc

Sản phẩm sau khi tinh chế và thử tinh khiết được xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ nghiệm UV-Vis, FT-IR, MS và NMR.

2.3.3. Xây dựng và thẩm định quy trình xác định độ tinh khiết tạp C bằng phương pháp HPLC-PDA

Độ tinh khiết tạp C được xác định bằng phương pháp HPLC-PDA quy về 100% diện tích pic. Quy trình xác định

độ tinh khiết tạp C được thẩm định theo hướng dẫn của ICH [8] với các chỉ tiêu tính phù hợp hệ thống, độ đặc hiệu, khoảng tuyến tính và độ chính xác.

Điều kiện sắc ký:

Hệ thống ACQUITY Arc (Waters) UHPLC-PDA-QDa.

Cột sắc ký: InertSustain C18 (250 × 4,6 mm; 5 μm).

Bước sóng quan sát 238,1 nm. Tốc độ dòng: 1,0 ml/phút. Thể tích tiêm: 10 μL. Nhiệt độ cột: 35 °C. Nhiệt độ buồng mẫu: 25 °C.

Dung môi pha mẫu: Methanol.

Pha động: Acetonitril - dung dịch TFA 0,08%.

Chương trình rửa giải: Chế độ gradient như Bảng 1.

Bảng 1. Chương trình gradient xác định độ tinh khiết tạp C

Thời gian (phút)	ACN	TFA 0,08%
0	10	90
5	30	70
10	30	70
25	70	30

2.3.4. Đánh giá tạp C

Tạp C được đánh giá dựa trên các đặc tính: cảm quan, độ tan, nhiệt độ nóng chảy, độ ẩm, định tính bằng phổ UV, IR, MS và NMR, và xác định độ tinh khiết bằng HPLC.

2.3.5. Thiết lập chất đối chiếu tạp C

Đánh giá độ đồng nhất của quá trình đóng lọ

Sau khi đóng lọ, mẫu được đánh giá độ đồng nhất của quá trình đóng lọ theo hướng dẫn của ISO 17034:2016 [9]. Mẫu được lấy ngẫu nhiên theo công thức $\sqrt{N} + 1$, trong đó N là tổng số lọ. Độ tinh khiết của tạp C trong mỗi lọ được xác định bằng phương pháp HPLC đã thẩm định.

Yêu cầu: RSD% về độ tinh khiết của tạp C được tính từ các lọ đã lấy không vượt quá 1%.

Đánh giá độ đồng nhất lọ liên phòng thí nghiệm

Sau khi độ đồng nhất của quá trình đóng lọ được xác nhận đạt yêu cầu, tiến hành đánh giá độ đồng nhất lọ liên phòng thí nghiệm. Mẫu được lấy ngẫu nhiên (18 mẫu) và được gửi đến ba phòng thí nghiệm độc lập (đạt chuẩn GLP) để xác định độ tinh khiết, cùng với các tài liệu liên quan. Trước khi phân tích, mỗi phòng thí nghiệm sẽ kiểm tra tính phù hợp hệ thống sắc ký, với yêu cầu hệ số đối xứng đỉnh tạp chất (As) nằm trong khoảng 0,8-1,5 và RSD% giữa các lần đo không quá 2%. Các phòng thí nghiệm được chọn để phân tích mẫu gồm: Trung tâm Nghiên cứu và Sản xuất chất chuẩn, chất đối chiếu (PTN1), Khoa Kiểm nghiệm mỹ phẩm (PTN2) và Khoa Đông dược - Dược liệu (PTN3) thuộc Viện kiểm nghiệm thuốc TP. Hồ Chí Minh. Áp dụng thống kê ANOVA một yếu tố để đánh giá độ đồng nhất lọ liên phòng thí nghiệm.

Xác định giá trị ấn định và độ không đảm bảo đo

Giá trị ấn định trên phiếu kiểm nghiệm và độ không đảm bảo đo được tính toán dựa trên 18 kết quả xác định độ tinh khiết (thu thập từ ba phòng thí nghiệm), tuân theo hướng dẫn trong ISO 13528:2015 [10].

3. KẾT QUẢ

3.1. Tổng hợp và tinh chế

Từ 2,7 g (6 mmol) benazepril hydroclorid, tiến hành tổng hợp theo quy trình mô tả ở mục 2.3, thu được 1,96 g sản phẩm thô. Sau khi rửa bằng dung môi thích hợp và sấy khô, thu được 1,51 g (3,8 mmol) bột kết tinh màu trắng. Hiệu suất của toàn bộ quá trình khoảng 63,3%.

Nhiệt độ nóng chảy của sản phẩm được đo ba lần. Khoảng nhiệt độ nóng chảy đo được của sản phẩm C là 268 - 269 °C, phù hợp với nhiệt độ nóng chảy của benazeprilat theo tài liệu [11]. Kết quả phân tích sắc ký lớp mỏng trên ba hệ dung môi cho thấy sản phẩm C chỉ xuất hiện một vết duy nhất trên sắc ký đồ (R_f lần lượt là 0,2; 0,5 và 0,8). Từ đó, sơ bộ kết luận sản phẩm C tinh khiết.

3.2. Xác định cấu trúc

3.2.1. Phổ UV (dung môi MeOH)

Ở khoảng bước sóng 600 – 200 nm, sản phẩm C cho hai bước sóng hấp thụ cực đại ở 204 nm và 242 nm, phù hợp với phổ UV-Vis của benazeprilat theo tài liệu [11].

3.2.2. Phổ IR (KBr, cm^{-1})

Đỉnh 3167 (-OH) và 1731 (C=O) của nhóm carboxylic, 1683 (-N-C=O) của nhóm amid, phù hợp với cấu trúc phân tử của benazeprilat và tương đồng với phổ IR đối chiếu của tạp C (benazeprilat) [5].

3.2.3. Phổ MS (MS^2 -ESI(+))

Cho tín hiệu mảnh ion $[M+H]^+$ có m/z thực tế là 397,1751 (lý thuyết là 396,1679), sai số 1,51 ppm, phù hợp với cấu trúc phân tử $C_{22}H_{24}N_2O_5$ của benazeprilat.

3.2.4. Phổ 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm)

7,31 - 7,24 (m, 4H, H_{8-11}), 7,20 - 7,16 (m, 5H, H_{19-23}), 4,55 (d, $J=14,5$ Hz, 1H, H_{12}), 4,40 (d, $J=15,0$ Hz, 1H, H_{12}), 3,26 (dd, $J=9,0; 6,5$ Hz, 1H, H_3), 3,02 (t, $J=5,5$ Hz, 1H, H_{15}), 3,12 và 2,62 – 1,78 (m, 8H, H_4, H_5, H_{16}, H_{17}) (Hình 2).

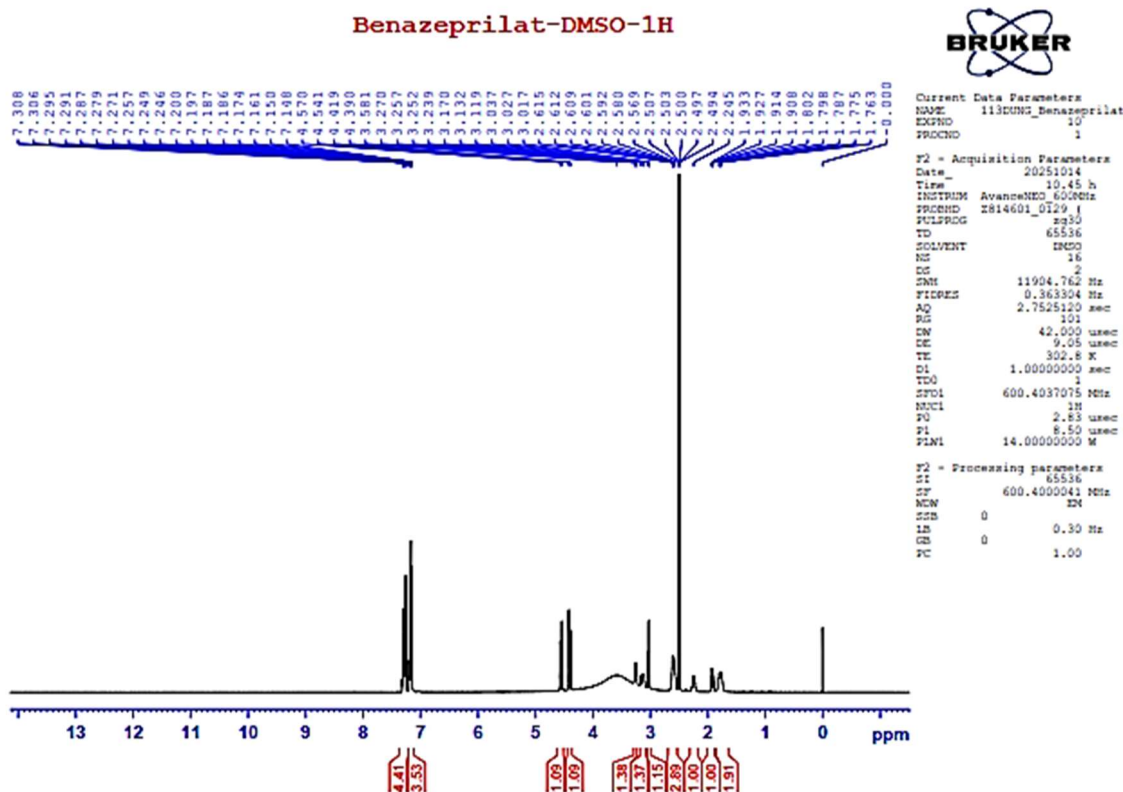
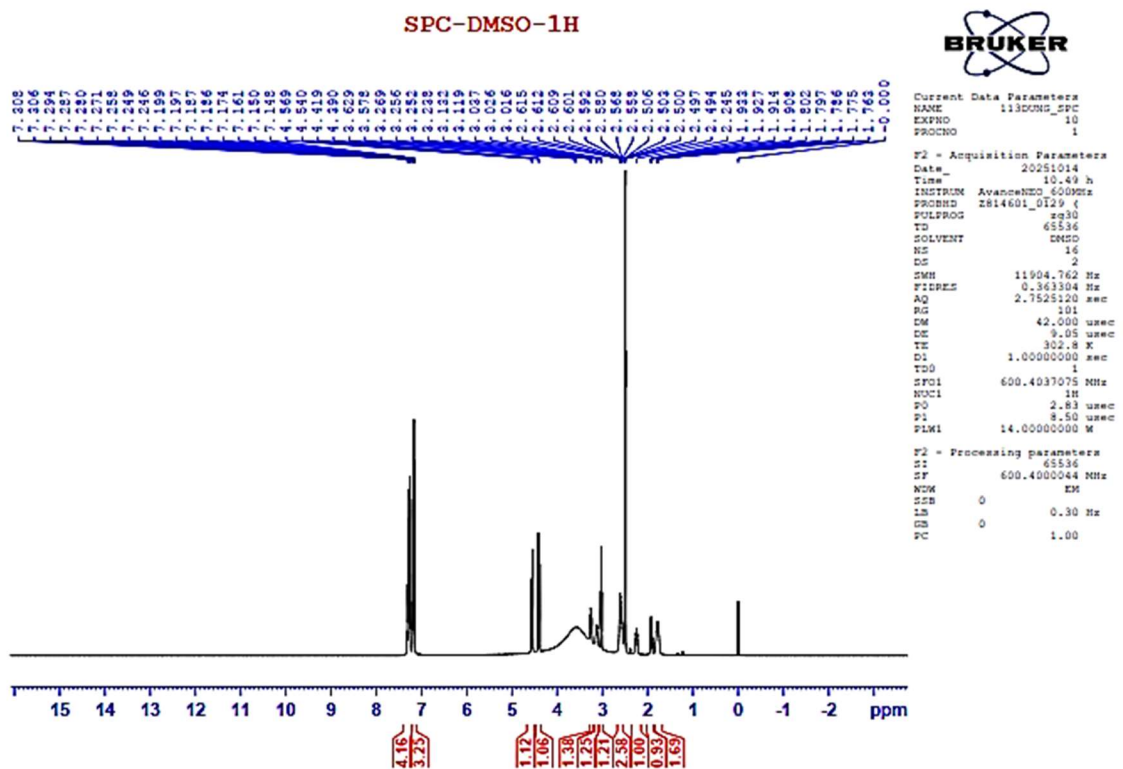
3.2.5. Phổ ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6 , δ ppm)

Các tín hiệu -C=O (C_2, C_{13}, C_{24}) tại 174,2, 172,3, 170,3, C_{1V} (C_6, C_7, C_{18}) tại 141,6, 140,9, 135,6, -CH= (C_{8-11}, C_{19-23}) tại 129,0, 128,2, 128,2, 127,6, 126,3, 125,7, 122,5, -CH (C_3, C_{15}) tại 59,1, 56,2, -CH₂- (C_4, C_5, C_{12}, C_{17}) tại 49,9, 36,45, 34,4, 31,3, 27,5 (Hình 3).

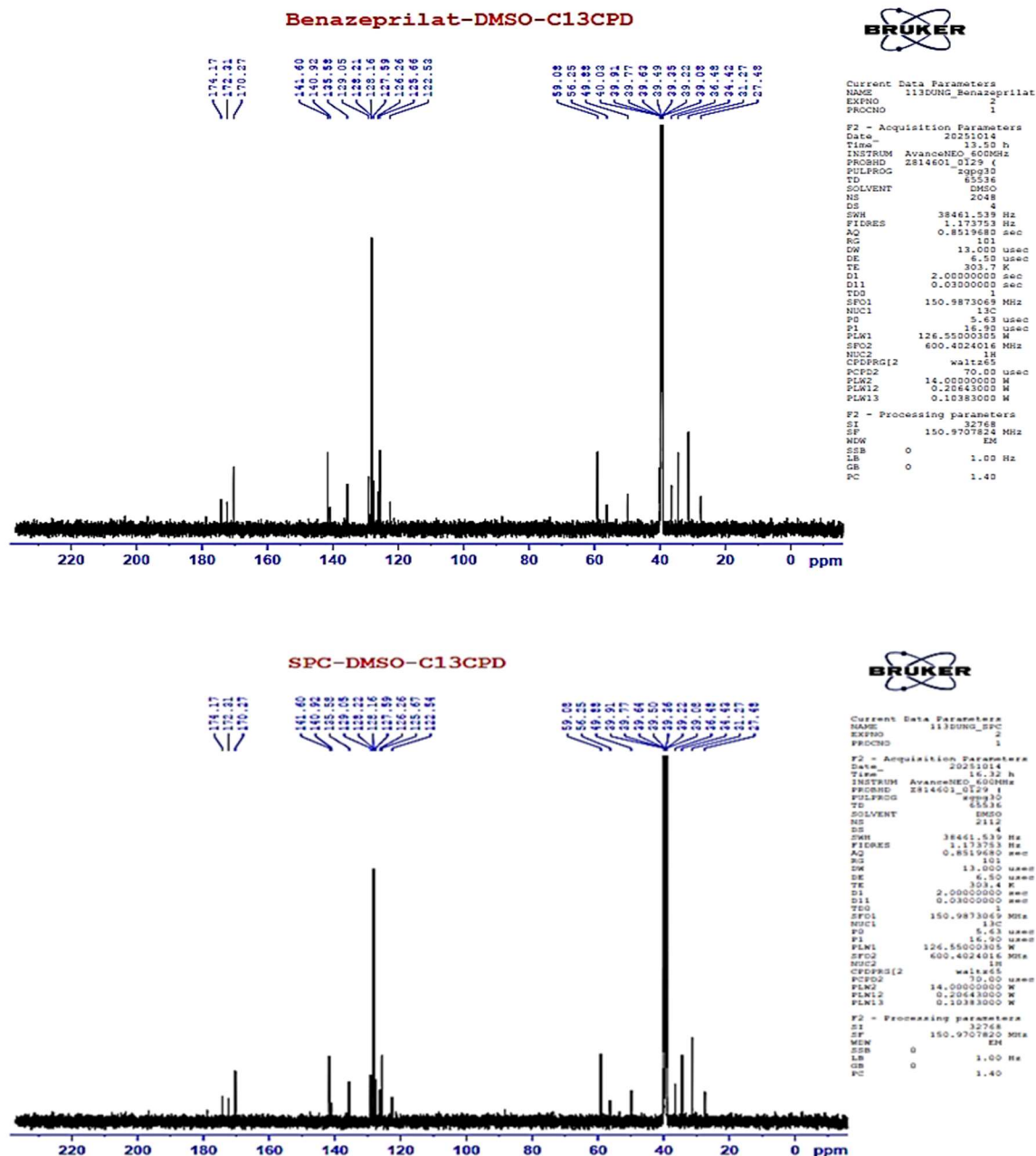
Từ các dữ liệu phổ thu được và so sánh dữ liệu phổ NMR của sản phẩm C và dữ liệu phổ NMR của benazeprilat, có thể kết luận sản phẩm tổng hợp và tinh chế là benazeprilat, tạp C của benazepril với công thức phân tử $C_{22}H_{24}N_2O_5$ (Hình 4).

3.3. Xây dựng và thẩm định quy trình xác định độ tinh khiết tạp C bằng phương pháp HPLC-PDA

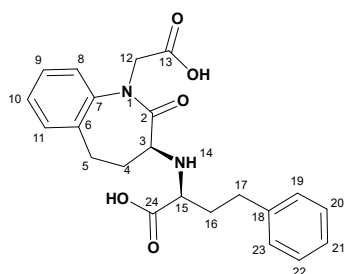
Quy trình xác định độ tinh khiết được thẩm định theo hướng dẫn của ICH [8] bao gồm các chỉ tiêu: khảo sát tính phù hợp hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính và miền giá trị, độ lặp lại và độ chính xác trung gian.



Hình 2. Phổ ^1H -NMR của benazeprilat (trái) và sản phẩm C (phải)



Hình 3. Phổ ^{13}C -NMR của benazeprilat (trái) và sản phẩm C (phải)



Hình 4. Cấu trúc benazeprilat, tạp C của benazepril

3.3.1. Tính phù hợp hệ thống

Thực hiện tiêm 6 lần liên tiếp dung dịch mẫu chuẩn có nồng độ 300 $\mu\text{g/ml}$. Kết quả được thể hiện ở Bảng 2.

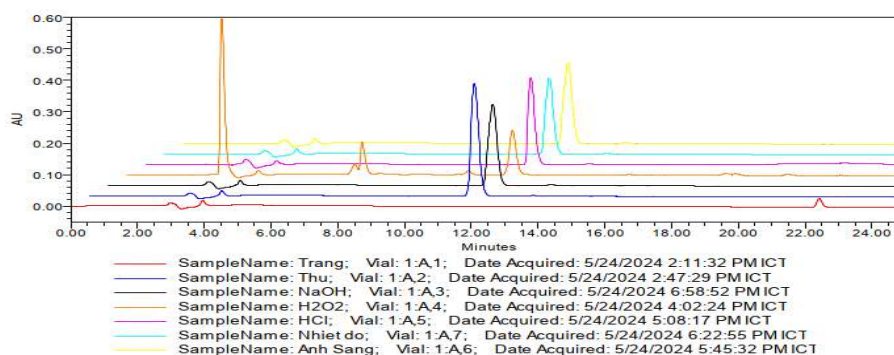
Giá trị RSD% của thời gian lưu (t_R) và diện tích pic (S) đều nhỏ hơn 2%, hệ số kéo đuôi (T) của pic tạp C nằm trong khoảng 0,8 - 1,5, số đĩa lý thuyết (N) lớn hơn 2000. Do đó, quy trình đạt tính phù hợp hệ thống.

Bảng 2. Kết quả khảo sát tính phù hợp hệ thống (n=6)

Giá trị thống kê	t _R (phút)	S (μV x giây)	N	T
TB	11,465	5391786	11844	1,21
RSD%	0,08	1,06	1,50	

Độ đặc hiệu

Kết quả khảo sát độ đặc hiệu (Hình 5) cho thấy: sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện pic có thời gian lưu tương đương với thời gian lưu của pic tạp C trong sắc ký đồ mẫu thử. Các mẫu phân hủy được xử lý ở điều kiện NaOH 0,5N; HCl 0,5N; H₂O₂ 3%, nhiệt độ 80 °C, ánh sáng mặt trời trong 24 giờ. Sắc ký đồ các mẫu phân hủy có xuất hiện các pic phân hủy, các pic này đều tách hoàn toàn với pic tạp C. Pic tạp C



Hình 5. Sắc ký đồ mẫu trắng, mẫu thử và các mẫu phân hủy trong khảo sát độ đặc hiệu

3.4. Đánh giá tạp C

Bảng 3 trình bày kết quả đánh giá tạp C. Với độ tinh khiết trên 98%, tạp C đủ điều kiện để được thiết lập làm chất đối chiếu.

3.5. Thiết lập chất đối chiếu tạp C

300 mg tạp C được đóng gói vào 50 lọ, mỗi lọ chứa 5 mg, và 10 lọ được chọn ngẫu nhiên 17, 23, 02, 09, 13, 10, 05, 35,

trong sắc ký đồ của các mẫu phân hủy đều tinh khiết theo phổ UV-Vis. Do đó, quy trình đạt độ đặc hiệu.

3.3.2. Tính tuyến tính và miền giá trị

Quy trình xác định độ tinh khiết tạp C đạt tính tuyến tính với phương trình hồi quy là $\hat{y} = 15817x$ trong khoảng nồng độ 200 - 400 μg/ml. Hệ số tương quan R đạt 0,9993.

Độ chính xác

Quy trình đạt độ lặp lại với độ tinh khiết sắc ký của tạp C đạt 99,31%, giá trị RSD là 0,01% (n=6).

Độ chính xác trung gian trong 2 ngày thực hiện bởi 2 kiểm nghiệm viên là 99,31%, RSD là 0,03% (n=12). Quy trình xác định độ tinh khiết tạp C đạt độ chính xác trung gian.

17, 26 được đánh giá độ đồng nhất lọ (Bảng 4). 18 lọ ngẫu nhiên được đánh giá tính đồng nhất lọ giữa các phòng thí nghiệm (Bảng 5).

Kết quả về độ tinh khiết của tạp C giữa ba phòng thí nghiệm không có sự khác biệt đáng kể về mặt thống kê, do đó quy trình phân tích có độ tái lập cao và độ tinh khiết của tạp C không phụ thuộc vào phòng thí nghiệm tham gia.

Bảng 3. Kết quả đánh giá tạp C

Chỉ tiêu	Phương pháp	Mức chất lượng	Kết quả
Tính chất	Cảm quan	Bột kết tinh màu trắng	Đạt
	Độ tan	Tan trong methanol, DMSO, ethanol, ít tan trong nước	
Điểm chảy	Máy đo điểm chảy	268 – 269 °C	Đạt (268,5 °C)
Độ ẩm	Sấy ở 60 °C trong 4 giờ	≤ 0,1%	Đạt (0,05%)
Định tính	UV	λ _{max} (MeOH) 204 nm, 242 nm	Đúng
	IR	(KBr, cm ⁻¹): 3167 (-OH), 1731 (-C=O), 1683 (-N-C=O)	
	MS	MS ² -ESI(+): [M+H] ⁺ m/z = 397,1751	
	NMR	Phổ ¹³ C-NMR; ¹ H-NMR: xem Hình 2, Hình 3	
Độ tinh khiết	HPLC	≥ 98%	Đạt (99,31%)

Bảng 4. Kết quả đánh giá độ đồng nhất lô

STT	Độ tinh khiết sắc ký (%)
1	99,53
2	99,42
3	99,59
4	99,92
5	99,80
6	99,53
7	99,57
8	99,35
9	99,41
10	99,56
Trung bình	99,57
RSD (%)	0,18

Bảng 5. Kết quả đánh giá độ đồng nhất liên PTN

STT	Độ tinh khiết sắc ký (%)		
	PTN1	PTN2	PTN3
1	99,74	99,73	99,62
2	99,68	99,23	99,73
3	99,63	99,97	99,83
4	99,51	99,50	99,69
5	99,65	99,30	99,43
6	99,82	99,61	99,60
Trung bình	99,67	99,56	99,65
RSD (%)	0,11	0,28	0,14

PTN1: Trung tâm NC&SX chất chuẩn, chất đối chiếu; PTN2: Khoa Kiểm nghiệm Mỹ phẩm; PTN3: Khoa Đông dược -Dược liệu

Kết quả xác định giá trị ấn định của tạp C được trình bày trong Bảng 6.

Kết quả cho thấy không có sự thay đổi nào về giá trị của s^* ($=0,17$), khi đó x^* được chọn là 99,63%. Vì vậy, giá trị ấn định lô chất đối chiếu tạp C là 99,63% và độ không đảm bảo đo $u = 1,25s^*/\sqrt{p} = 1,25s^*/\sqrt{18} = 0,05$. Trên cơ sở đó, hồ sơ chất chuẩn tạp C được thành lập, các lọ chuẩn được dán nhãn, đính kèm chứng nhận phân tích. Lọ chuẩn được bảo quản ở 2 - 8 °C và tránh ánh sáng.

Bảng 6. Kết quả xác định giá trị ấn định trigonelline

Số lần thay đổi	Tạp C				
	0	x_i^*1	x_i^*2	x_i^*3	x_i^*4
$\delta = 1,5s^*$	-	0,23	0,24	0,25	0,25
$x^* - \delta$	-	99,41	99,39	99,39	99,38
$x^* + \delta$	-	99,87	99,88	99,88	99,89
Trung bình	99,64	99,64	99,64	99,64	99,64
Độ lệch s	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
x^* mới	99,64	99,64	99,64	99,64	99,63
s^* mới	0,14	0,15	0,16	0,17	0,17

4. BÀN LUẬN

Benazeprilat, tạp C của benazepril, vừa là tạp quá trình, tạp phân hủy và là chất chuyển hóa có hoạt tính cần phải kiểm soát. Phương pháp tổng hợp benazeprilat từ benazepril chủ yếu thông qua phản ứng thủy phân nhóm chức ester ở mạch nhánh homophenylalanine trong môi trường acid hoặc môi trường kiềm [12]. Tuy nhiên, môi trường acid thủy phân ester thuận nghịch, do đó, lựa chọn dung dịch natri hydroxyd loãng trong hỗn hợp nước - methanol làm tác nhân phản ứng. Phản ứng thủy phân thực hiện ở nhiệt độ thấp để tránh ảnh hưởng đến liên kết amid trong vòng benzazepin. Mặt khác, sản phẩm sau phản ứng dưới dạng muối được trung hòa và điều chỉnh về pH đẳng điện bằng dung dịch acid hydroclorid để thu được tủa benazeprilat.

Các nghiên cứu trước đây chủ yếu dừng lại ở việc đánh giá sự xuất hiện sản phẩm phân hủy của benazepril khi xây dựng quy trình định lượng hoạt chất này [6,7]. Quy trình tổng hợp benazeprilat ở quy mô phòng thí nghiệm và hiệu suất phản ứng chưa được đề cập. Trong phạm vi đề tài, benazeprilat đã được tổng hợp thành công (1,51 g, hiệu suất 63,3%). Phổ $^1\text{H-NMR}$ và $^{13}\text{C-NMR}$ của benazeprilat từ sản phẩm tổng hợp và chuẩn thương mại lần đầu tiên được công bố, qua so sánh cho thấy sự phù hợp. Bên cạnh đó, quy trình xác định độ tinh khiết tạp C được xây dựng và thẩm định theo hướng dẫn của ICH [8] đạt các chỉ tiêu tính phù hợp hệ thống, độ đặc hiệu, độ lặp lại cao ($\text{RSD} = 0,03\%$), phương trình tuyến tính: $\hat{y} = 15817x$ trong khoảng 200 - 400 $\mu\text{g/ml}$ ($R = 0,9993$). Mặt khác, benazeprilat (300 mg) đã được sử dụng để thiết lập chất đối chiếu, đóng vào 50 lọ (5 mg/ lọ) và

được đánh giá độ đồng nhất đồng lọ, độ đồng nhất liên phòng thí nghiệm theo hướng dẫn ISO 17034:2016 [9], giá trị ấn định và độ không đảm bảo đo được xác định theo hướng dẫn ISO 13528:2015 [10]. cần thiết góp phần đánh giá hàm lượng tạp trong các chế phẩm trên thị trường và bổ sung vào danh mục chất chuẩn đối chiếu tại Việt Nam.

5. KẾT LUẬN

Tạp C của benazepril đã được tổng hợp với hiệu suất toàn quy trình đạt 63,3% và đạt độ tinh khiết trên 99% tính theo chế phẩm nguyên trạng. Tạp C được thiết lập chất đối chiếu với giá trị ấn định được xác định là 99,63% và độ không đảm bảo đo 0,05. Có thể tiến hành đánh giá độ ổn định tạp C theo quy định, góp phần bổ sung vào danh mục chất đối chiếu quốc gia và ứng dụng đánh giá chỉ tiêu tạp liên quan trong các chế phẩm chứa benazepril.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này cảm ơn Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh đã tài trợ kinh phí thực hiện đề tài theo hợp đồng số 197/2024/HĐ-ĐHYD, ngày 22 tháng 8 năm 2024 và Phụ lục hợp đồng số 21/2025/PLHĐ-ĐHYD, ngày 22/04/2025.

Nguồn tài trợ

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí bởi Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh theo Hợp đồng số 197/2024/HĐ-ĐHYD, ngày 22 tháng 08 năm 2024 và Phụ lục hợp đồng số 21/2025/PLHĐ-ĐHYD, ngày 22/04/2025.

Xung đột lợi ích

Không có xung đột lợi ích nào liên quan đến nghiên cứu này.

ORCID

Nguyễn Thị Ngọc Dung.

<https://orcid.org/0009-0002-3094-8612>

Đóng góp của các tác giả

Ý tưởng nghiên cứu: Nguyễn Thị Ngọc Dung.

Đề cương và phương pháp nghiên cứu: Nguyễn Hòa Giang.

Thu thập dữ liệu: Nguyễn Hòa Giang, Đỗ Gia Huy, Nguyễn Tuấn Anh, Mai Hoài Thu.

Giám sát nghiên cứu: Nguyễn Thị Ngọc Dung.

Nhập dữ liệu: Nguyễn Hòa Giang.

Quản lý dữ liệu: Nguyễn Hòa Giang.

Phân tích dữ liệu: Nguyễn Hòa Giang, Nguyễn Thị Ngọc Dung.

Viết bản thảo đầu tiên: Nguyễn Hòa Giang.

Góp ý bản thảo và đồng ý cho đăng bài: Nguyễn Hòa Giang, Đỗ Gia Huy, Nguyễn Tuấn Anh, Mai Hoài Thu, Nguyễn Thị Ngọc Dung.

Cung cấp dữ liệu và thông tin nghiên cứu

Tác giả liên hệ sẽ cung cấp dữ liệu nếu có yêu cầu từ Ban biên tập.

Chấp thuận của Hội đồng Đạo đức

Nghiên cứu này miễn trừ Hội đồng Đạo đức.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Volpe M, Gallo G, Battistoni A, Tocci G. Highlights of ESC/ESH 2018 guidelines on the management of hypertension: what every doctor should know. High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention. 2019;26(1):1-8.
- United States Pharmacopeial Convention. Monograph: benazepril hydrochloride. The United States Pharmacopeia. 46th ed. USA: United States Pharmacopeial Convention; 2023: p488-490.
- British Pharmacopoeia Commission. Monograph: benazepril hydrochloride. British Pharmacopoeia 2025 - Volume I. London: The Stationery Office;2024: p264-266.
- European Pharmacopoeia Commission. Monograph: Benazepril hydrochloride. European Pharmacopoeia. 11th ed. Strasbourg: Council of Europe; 2022: p2052-2053.
- Benazeprilat [Internet]. Lgcstandards.com. 2025 [cited 2025 Dec 4]. <https://www.lgcstandards.com/GB/en/p/TRC-B119760>
- Eranki RJV, Inti G, Jayaraman V, Pannala RPKP, Vidiyala SR, Ramulu JSJAJoAC. New stability indicating method for quantification of impurities in amlodipine and benazepril capsules by validated HPLC.

- American Journal of Analytical Chemistry. 2013;04(12):715-724.
7. Hemdan A, Michael AM. Kinetic profiling of the hydrolytic reaction of benazepril: metabolic pathway simulation. Journal of AOAC International. 2018;101(4):1009-1013.
 8. International Council for Harmonisation (ICH). Validation of analytical procedures: text and methodology. Q2 (R1). Geneva: ICH; 2005. p.1-13.
 9. International Organization for Standardization. ISO 17034:2016: General requirements for the competence of reference material producers. Geneva: ISO;2016. [cited 2025 Dec 10]. <https://www.iso.org/standard/29357.html>
 10. International Organization for Standardization. ISO 13528:2015: Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons. Geneva: ISO; 2015. [cited 2025 Dec 10]. <https://www.iso.org/standard/56125.html>
 11. Belal F, Abdine HH, Al-Badr AA. Benazepril Hydrochloride: Comprehensive Profile. In: Brittain HG ed. Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology. Vol.32. USA: Academic Press; 2005. p117-161.
 12. Watthey JWH, Stanton JL, Desai M, Babiarz JE, Finn B. Synthesis and biological properties of (carboxyalkyl)amino-substituted bicyclic lactam inhibitors of angiotensin converting enzyme. Journal of Medicinal Chemistry. 1985;28(10):1511-1516.