

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐH KHOA HỌC TỰ NHIÊN

ĐỀ THI
KẾT THÚC HỌC KỲ II, NĂM HỌC 2018-2019

MÔN THI: CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH CÔNG CỤ

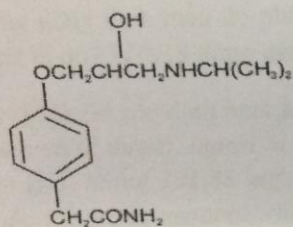
Mã học phần: CHE 1086
Đề thi gồm 05 trang

SỐ TÍN CHỈ: 03
Thời gian làm bài: 90 phút (không kể thời gian phát đề)

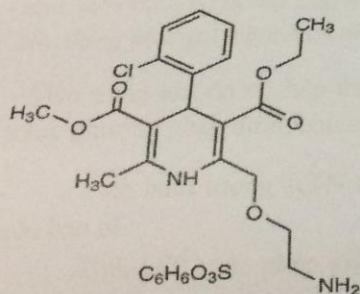
ĐỀ SỐ 1

Ghi chú: - Sinh viên chỉ được sử dụng máy tính (không có tính năng soạn thảo văn bản, không có thẻ nhớ), ngoài ra không sử dụng bất kỳ tài liệu hoặc thiết bị điện tử nào khác.

- Bài thi có nhiều câu hỏi nhỏ trong câu hỏi lớn. Điểm của mỗi câu hỏi (tính theo thang điểm 100) được cho trước trong ngoặc. Sinh viên có thể trả lời bất kỳ ý nào trong câu hỏi mà không cần theo thứ tự.
- Cán bộ coi thi không giải thích gì thêm!



(A) ATENOLOL



(B) AMLODIPINE BESYLATE

Atenolol (viết tắt **ATN**, $M = 266,336 \text{ g/mol}$) là một loại thuốc chẹn beta tác động chọn lọc trên tim còn **Amlodipine besylate** (viết tắt **AML**, $M = 408,879 \text{ g/mol}$) là thuốc chẹn canxi nhóm dihydropyridine, có chức năng ngăn chặn dòng ion canxi xuyên màng chảy vào cơ mềm mạch máu và cơ tim. Hai thuốc này có thể được sử dụng riêng hoặc kết hợp cả hai loại trong điều trị tăng huyết áp hiệp đồng, ngăn ngừa đột quỵ, đau tim và các bệnh về thận.

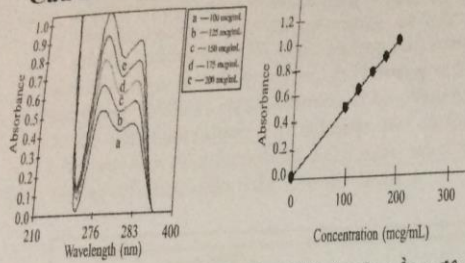
Để kiểm tra hàm lượng hai hoạt chất này trong thuốc ở dạng riêng rẽ hoặc kết hợp hoặc nồng độ của chúng trong máu bệnh nhân đang điều trị, tùy theo yêu cầu của Dược điển Việt Nam hoặc điều kiện phòng thí nghiệm có sẵn thiết bị hay không mà có thể lựa chọn các phương pháp phân tích như quang phổ, điện hóa hay sắc ký, điện di... cho phù hợp.

*Các câu hỏi của bài thi có liên quan trực tiếp đến các phương pháp phân tích công cụ (mà Anh/Chị đã học) và các qui trình phân tích hai hoạt chất trên đã được công bố trong các tạp chí khoa học.

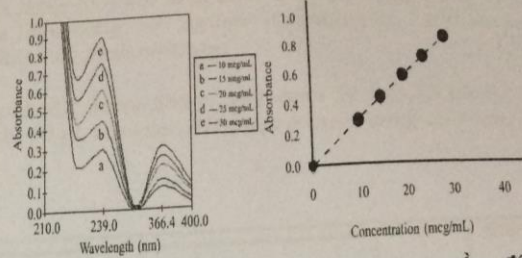
*Nguồn tài liệu tham khảo:

- 1) Fábio de Souza Barbosa et al.. (2017), *Drug Anal Res*, Vol. **01**, No.2, 24-29
- 2) S. Gayathri et el. (2010)., *Asian Journal of Chemistry*, Vol. 22, No. 8, 5824-5834
- 3) Blessen Philip et al. (2011);, *IJPSR*, Vol. 2(8): 2156-2161
- 4) Jaqueline T. Moraes et al. (2016). *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol.27(7) ,1-9

Câu hỏi 1 (40 đ): Phương pháp UV/VIS



Hình 1: Phổ hấp thụ phân tử của ATN ở các nồng độ khác nhau và đường chuẩn xác định ATN.
($A = 0,005 + 0,0052.C$ với C là nồng độ ATN trong bình định mức 25 ml (microgam-mcg/mL)



Hình 2: Phổ hấp thụ phân tử của AML ở các nồng độ khác nhau và đường chuẩn xác định AML.
($A = 0,003 + 0,031.C$ với C là nồng độ AML trong bình định mức 25 ml (microgam-mcg/mL)

a) (5đ) Dựa trên đặc điểm cấu tạo của ATN và AML, hãy giải thích vì sao hai chất này có khả năng hấp thụ ánh sáng trong vùng 230-400 nm

b) (10đ) Nguồn sáng kích thích của thiết bị UV/VIS trong phép phân tích này là đèn gì? Cuvet đựng dung dịch mẫu đo phải được chế tạo từ loại vật liệu nào? Vẽ sơ đồ khối điển hình của thiết bị đo UV/VIS dùng detector nhân quang điện (PMT).

c) (15đ) Để xác định hàm lượng ATN trong thuốc viên nén 1 hoạt chất (chứa *Atenolol 100mg/viên và tá dược*), người ta lấy 10 viên thuốc, cân khối lượng 10 viên và tính trung bình 1 viên có khối lượng **221,85 mg**. Nghiền nhỏ cả 10 viên thuốc, trộn đều, cân **100,23 mg** bột thuốc, hòa tan trong metanol, rung siêu âm và lọc vào bình định mức 25,00 ml, định mức đến vạch bằng metanol được dung dịch A. Lấy 1,50 ml dung dịch A vào bình định mức 25,00 ml, định mức đến vạch và đo độ hấp thụ quang của dung dịch này được $A = 0,580$. Đường chuẩn được xây dựng như qui trình trên nhưng pha từ chất chuẩn ATN dạng bột.

- Mẫu trắng khi đo độ hấp thụ quang của dãy dung dịch chuẩn được chuẩn bị thể nào? Mẫu trắng phương pháp được chuẩn bị thể nào?

- Tính hàm lượng ATN trong 1 viên thuốc (mg/viên) và độ chệch tương đối (%) so với trên bao bì.

- Tính LOD của phép xác định ATN (mg/viên) thông qua độ lệch chuẩn của tín hiệu đo theo phương trình đường chuẩn $S = 0,0035$.

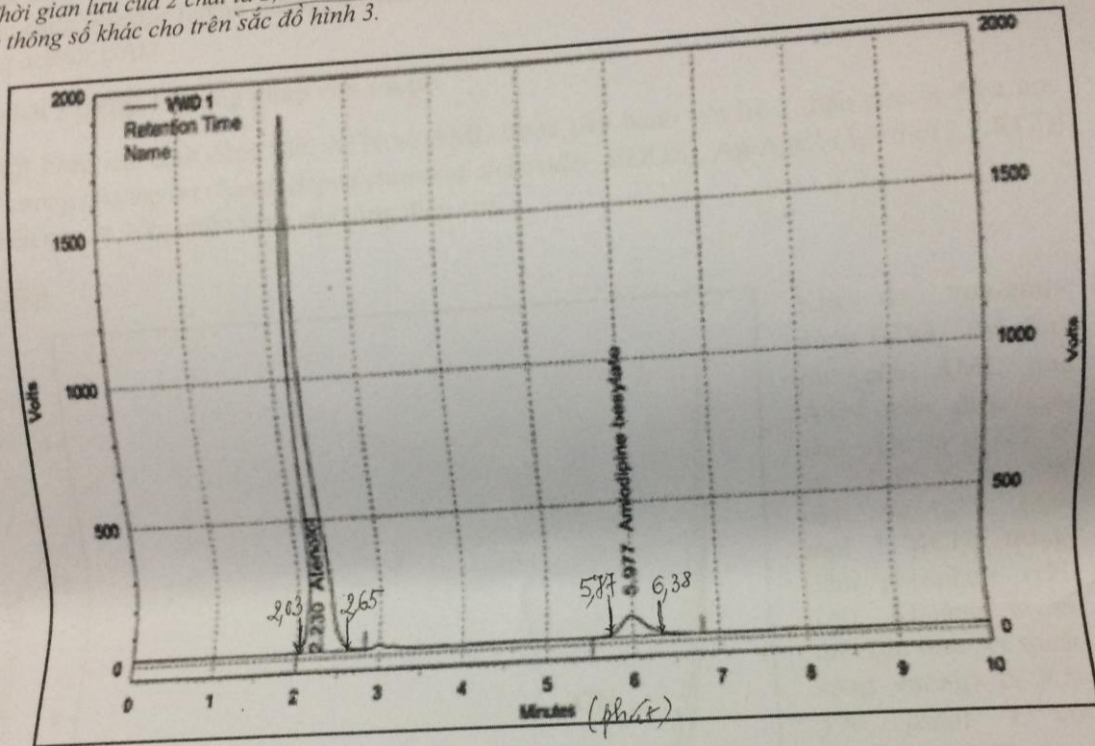
d)(10đ) Trong một loại thuốc điều trị huyết áp khác (*Lodimax plus Atenolol*) dạng viên nén, có cả hai thành phần (ghi trên bao bì là *Atenolol 50mg, Amlodipine 5mg* (dưới dạng amlodipine benseylate).

- Bằng phương pháp UV/VIS có thể xác định đồng thời hai chất này trong vùng phổ 220- 400 nm hay không? Vì sao? Hãy giải thích chi tiết nguyên nhân và cách tiến hành nếu xác định được.

- Dựa trên dữ kiện của đường chuẩn từng chất, hãy tính gần đúng hệ số hấp thụ mol phân tử (ϵ) của từng chất phân tích, biết phép đo độ hấp thụ quang được thực hiện với cuvet 1 cm.

Câu hỏi 2 (35đ): Phương pháp sắc ký

- a) (25đ) Trong một nghiên cứu khác, để xác định đồng thời hai hoạt chất nói trên trong cùng viên thuốc, các tác giả đã sử dụng hệ sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent technologies 1200 series HPLC, detector UV. Các thông số chính của phép xác định như sau:
- + Cột tách: Inertsil C18, 5 μ m, 250 mm x 4.6 mm
 - + Pha động: Đệm (Triethylamine-Phosphoric Acid, pH=3): Acetonitrile: Methanol (4:3,5:2,5 v/v/v).
 - + Tốc độ dòng pha động 1,0 ml/min, thể tích tiêm mẫu 10 μ l, detector PDA đặt ở bước sóng 225 nm.
 - + Thời gian lưu của 2 chất là 2,23 min. và 5,97 min.
- Các thông số khác cho trên sắc đồ hình 3.



Hình 3: Sắc đồ khi phân tích đồng thời ATN và AML trên hệ HPLC bằng detector UV

- Hãy cho biết các thông số đi kèm của cột tách là gì? Đây là hệ tách HPLC pha thường hay pha đảo? Tại sao trong HPLC lại nên định mức các dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu bằng dung môi pha động?
- Sự giống và khác nhau về vị trí detector mảng diot quang (PDA) và PMT trong sơ đồ khối của thiết bị là gì? Với phép xác định hai chất này thì nên dùng detector nào?
- Tính hệ số bất đối xứng (A_s) từng pic, độ phân giải giữa hai pic, số đĩa lý thuyết và chiều cao đĩa lý thuyết khi tách ATN và AML.
 $R = 6,6155$ $N = \frac{207}{2,92} = 71$
- Trình bày phương trình Van Deemter (kèm ý nghĩa các đại lượng) và hãy cho biết nếu thay cột tách nêu trên bằng cột UPLC Cortecs C18+ 1,6 μ m, 150 mm x 2,1 mm thì thời gian lưu và tốc độ dòng pha động dự kiến thay đổi thế nào?
- Có thể xác định hai chất này bằng phương pháp sắc ký khí hoặc điện di mao quản được không? Nếu phân tích được thì hãy cho biết các thành phần chính của hệ thống phân tích là gì.

b) (10đ) Để xác định nồng độ ATN trong huyết tương bệnh nhân, người ta dùng phương pháp HPLC với detector huỳnh quang, hai bước sóng ánh sáng sử dụng trong thiết bị đo là 276 nm và 296 nm, khoảng tuyến tính 5–150 ng/mL.

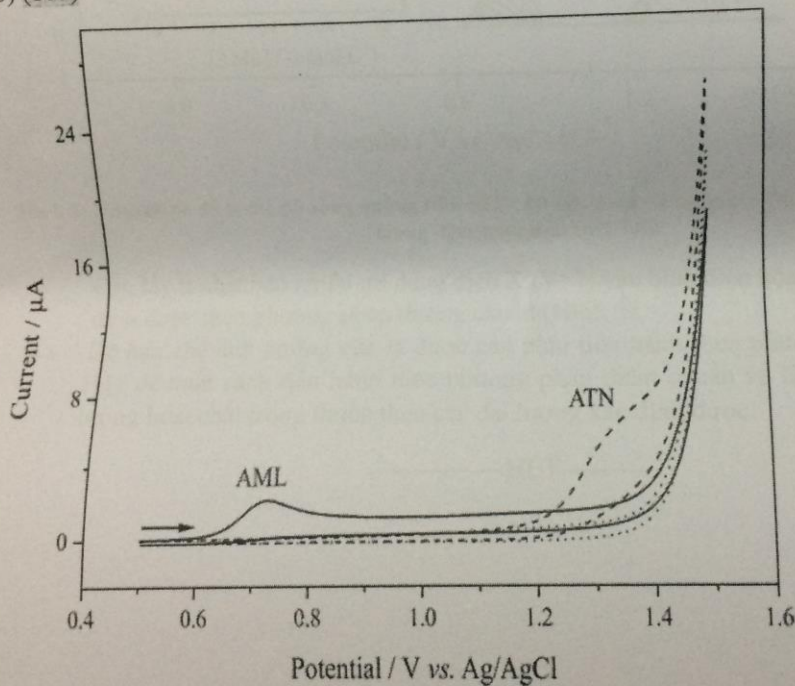
-Hãy giải thích cơ chế xuất hiện phổ huỳnh quang, vai trò của hai bước sóng nói trên là gì? phương trình định lượng và sơ đồ khối phép xác định.

- Đặc điểm cấu tạo nào của phân tử ATN và AML quyết định hai hợp chất này có thể xác định được bằng detector huỳnh quang, tại sao phương pháp này lại nhạy hơn phương pháp HPLC dùng detector DAD.

Câu hỏi 3 (25đ): Phương pháp von-ampe

a) (5đ) Phép xác định đồng thời ATN và AML được tiến hành với hệ 3 điện cực là điện cực kim cương pha tạp bo (*boron-doped diamond electrode*- BDDE), Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹ KCl)) và điện cực Pt. Nêu chức năng của từng điện cực.

b) (10đ)



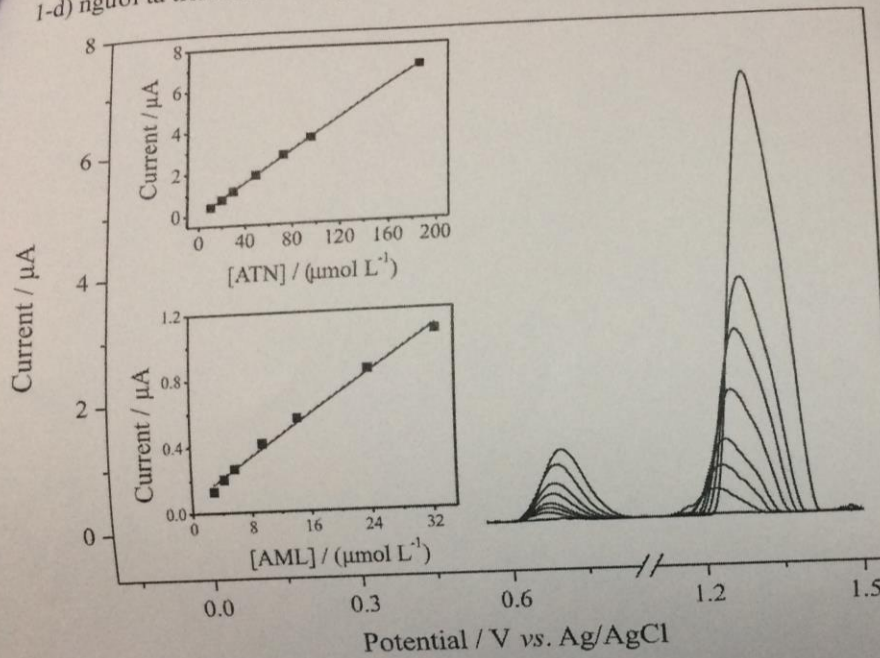
Khi đo von-ampe vòng (CV), thế đỉnh pic của AML and ATN trên điện cực làm việc là 0,727 V và 1,32 V (so với cực Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹KCl)) trong đệm phosphate (pH 7,0). Khoảng tuyến tính (đo theo kỹ thuật sóng vuông) là 9,8-190 µmol L⁻¹ với ATN và 2,9-33 µmol L⁻¹ với AML. LOD của phép xác định ATN và AML lần lượt là 0,22 µmol L⁻¹ và 0,17 µmol L⁻¹.

Hình 4 : Đường Von-ampe vòng của ATN và AML

-Tính thế của điện cực Ag/AgCl và thế của điện cực BDDE tại đỉnh pic của AML. Biết tích số tan K_{sp} của AgCl là $1,77 \times 10^{-10}$ và $E^0_{Ag^+/Ag} = 0,799 V$. $\approx 0,1955$

- Từ đường CV hãy cho biết quá trình hóa học trên điện cực làm việc là thuận nghịch hay bất thuận nghịch. Pic xuất hiện là trên điện cực này là pic của quá trình oxi hóa hay khử?

c) (10d) Để xác định đồng thời ATN và AML trong mẫu thuốc *Lodimaxplus Atenolol* (câu 1-d) người ta tiến hành theo phương pháp sau:



Cân lượng bột thuốc tương ứng với 1 viên thuốc, chuyển vào bình định mức dung tích 25 mL có chứa sẵn 10 mL methanol, siêu âm 5 min và định mức đến vạch bằng nước cất được dung dịch X. Lấy V (ml) dung dịch X vào bình điện hóa chứa 10,0 mL đệm phosphate (pH 7,0), và ghi đo đường von-ampe.

Hình 5: Von-ampe đồ ở chế độ sóng vuông (tần số $f = 20$ Hz, biên độ xung $a = 70$ mV trên điện cực BDDE trong đệm photphat (pH 7,0).

- Cần lấy ít nhất bao nhiêu ml dung dịch X (V=?) vào bình điện hóa nói trên để có thể xác định được theo phương pháp đường chuẩn (Hình 5).
- Để hạn chế ảnh hưởng của tá dược cần phải tiến hành theo phương pháp thêm chuẩn. Hãy đề xuất cách tiến hành theo phương pháp thêm chuẩn và lập công thức tính hàm lượng hoạt chất trong thuốc theo các đại lượng xác định được.

-----HẾT-----