

**ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC**

HUỲNH VĂN CHUNG

**NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN PHƯƠNG PHÁP
VON - AMPE HÒA TAN ĐỂ XÁC ĐỊNH
PARACETAMOL VÀ CHLORPHENIRAMINE
MALEATE TRONG CHẾ PHẨM CÓ NGUỒN
GỐC TỪ DƯỢC LIỆU**

**Ngành: Hóa phân tích
Mã số: 9440118**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA PHÂN TÍCH

**Người hướng dẫn khoa học
1. PGS.TS. Nguyễn Hải Phong
2. TS. Đào Thị Cẩm Minh**

THÀNH PHỐ HUẾ, NĂM 2026

Công trình được hoàn thành tại khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế.

Người hướng dẫn Khoa học:

1. PGS.TS. Nguyễn Hải Phong, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế
2. TS. Đào Thị Cẩm Minh, Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế

Phản biện 1: PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Thường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

Phản biện 2: PGS.TS. Võ Thắng Nguyên, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Đà Nẵng.

Phản biện 3: PGS.TS. Trần Thị Ái Mỹ, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế.

Luận án sẽ được bảo vệ tại Hội đồng chấm luận án cấp Đại học Huế họp tại: Đại học Huế

Vào lúc:

Có thể tìm hiểu luận án tại thư viện:

- 1.
- 2.

MỞ ĐẦU

Xu hướng sử dụng thuốc dược liệu và thực phẩm chức năng (TPCN) có nguồn gốc tự nhiên ngày càng phổ biến do được cho là an toàn và ít tác dụng phụ. Tuy nhiên, nhằm tạo hiệu quả nhanh và tăng khả năng cạnh tranh, nhiều cơ sở đã pha trộn trái phép thuốc tân dược vào các sản phẩm này mà không công bố thành phần, gây nguy cơ nghiêm trọng cho sức khỏe cộng đồng. Tình trạng này được ghi nhận không chỉ tại các quốc gia đang phát triển mà cả ở Hoa Kỳ và Liên minh châu Âu [26]. Các sản phẩm pha trộn thường lưu hành không cần kê đơn, làm gia tăng nguy cơ tác dụng phụ, ngộ độc và tương tác thuốc khi sử dụng kéo dài hoặc không kiểm soát. Hiện tượng pha trộn có thể liên quan đến một hoặc nhiều hoạt chất, bao gồm các thuốc có cơ chế tương tự [121] hoặc phối hợp các thuốc có tác dụng khác nhau nhưng cùng cải thiện triệu chứng, điển hình là thuốc giảm đau và kháng histamin [179].

Tại Việt Nam, các chế phẩm dược liệu hỗ trợ điều trị cảm lạnh, viêm mũi dị ứng và tăng cường miễn dịch có nguy cơ cao bị pha trộn thuốc tân dược, đặc biệt tại khu vực miền Bắc và miền Trung – nơi các bệnh hô hấp theo mùa phổ biến [120].

Trong số các hoạt chất bị pha trộn, paracetamol (PAR) và chlorpheniramine maleate (CPM) là phổ biến nhất. Việc sử dụng không kiểm soát PAR có thể gây tổn thương gan nghiêm trọng, trong khi CPM có thể gây nhiều tác dụng không mong muốn lên hệ thần kinh và tim mạch, đặc biệt khi dùng kéo dài hoặc quá liều [2].

Nhiều phương pháp phân tích hiện đại như LC-MS, LC-MS/MS và GC-MS đã được phát triển để phát hiện các hoạt chất pha trộn với độ nhạy cao [32, 88, 90, 106], nhưng đòi hỏi thiết bị đắt tiền và kỹ thuật phức tạp. Phương pháp UV-Vis có chi phí thấp hơn song dễ bị nhiễu nên được liệu [39, 86, 144], trong khi các nghiên cứu hiện nay chủ yếu tập trung vào xác định đơn chất. Phương pháp phân tích điện hóa, đặc biệt là von-ampe hòa tan (SV), có tiềm năng nhờ độ nhạy cao và chi phí thấp. Tuy nhiên, SV chủ yếu được áp dụng để xác định riêng lẻ PAR [59, 161] hoặc CPM [87, 123], còn các nghiên cứu xác định đồng thời hai hoạt chất này vẫn hạn chế [57, 153]. Sự kết hợp giữa graphene oxide khử (rGO) và vàng nano được kỳ vọng nâng cao độ nhạy của phương pháp von-ampe hòa tan anode (ASV) [41, 58, 77, 167]. Do đó, luận án này tập trung xây dựng và thẩm định quy trình ASV nhằm xác định đồng thời PAR và CPM pha trộn trong chế phẩm dược liệu, phục vụ công tác sàng lọc và kiểm chứng ban đầu trước khi phân tích bằng các phương pháp sắc ký như HPLC. Xuất phát từ những lý do

trên, chúng tôi thực hiện đề tài luận án: " Nghiên cứu phát triển phương pháp von - ampe hòa tan để xác định paracetamol và chlorpheniramine maleate trong chế phẩm có nguồn gốc từ dược liệu ".

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. THỰC TRẠNG PHÁT TRIỂN CHẾ PHẨM CÓ NGUỒN GỐC TỪ DƯỢC LIỆU

1.1.1. Tình hình phát triển chế phẩm từ dược liệu trên thế giới

1.1.2. Tình hình phát triển chế phẩm có nguồn gốc từ dược liệu ở Việt Nam

1.2. THỰC TRẠNG TRỘN LẤN THUỐC HÓA DƯỢC VÀO THUỐC CÓ NGUỒN GỐC TỪ DƯỢC LIỆU

1.2.1. Nhóm kháng histamin H1

1.2.2. Thuốc giảm đau

1.3. SƠ LƯỢC PARACETAMOL VÀ CHLORPHENIRAMINE MALEATE

1.3.1. Paracetamol

1.3.2. Chlorpheniramine maleate

1.4. MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH THUỐC HÓA DƯỢC TRỘN LẤN TRONG CHẾ PHẨM CÓ NGUỒN GỐC TỪ DƯỢC LIỆU

1.4.1. Phương pháp sắc ký

1.4.2. Phương pháp phổ

1.4.3. Phương pháp điện hóa

1.5. GIỚI THIỆU CHUNG VỀ GRAPHITE, GRAPHENE, GRAPHITE OXIDE VÀ GRAPHENE OXIDE.

1.5.1. Graphite

1.5.2. Graphene

1.5.3. Graphite oxide và graphene oxide

1.5.4. Graphene oxide dạng khử

1.6. ỨNG DỤNG NANO VÀNG TRONG CẢM BIẾN ĐIỆN HÓA VÀ TIỀM NĂNG

CHƯƠNG 2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

Để thực hiện được mục tiêu của luận án đặt ra, các nội dung nghiên cứu chính như sau:

- Nghiên cứu xác định đồng thời paracetamol và chlorpheniramine maleate bằng phương pháp von-ampe hòa tan anode sóng vuông sử dụng điện cực biến tính AuNPs/ErGO-GCE;

- Nghiên cứu xác định đồng thời paracetamol, chlorpheniramine maleate trong chế phẩm có nguồn gốc từ dược liệu bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao..

2.2. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1. Phương pháp tổng hợp graphite oxide

2.3.2. Phương pháp chuẩn bị điện cực phân tích

2.3.3. Phương pháp nghiên cứu đặc trưng vật liệu

2.3.4. Phương pháp von-ampe hòa tan

2.3.5. Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao

2.3.6. Phương pháp mô hình hóa thực nghiệm

2.3.7. Phương pháp chuẩn bị mẫu phân tích

2.3.8. Phương pháp thống kê

2.4. HÓA CHẤT, THIẾT BỊ

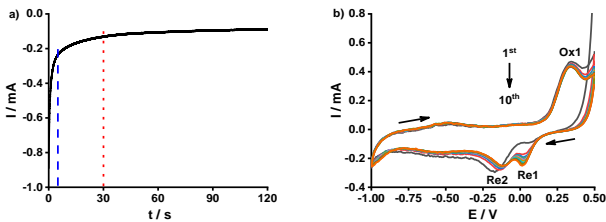
2.4.1. Hóa chất

2.4.2. Thiết bị

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH ĐỒNG THỜI PARACETAMOL VÀ CHLORPHENIRAMINE MALEATE BẰNG PHƯƠNG PHÁP VON-AMPE HÒA TAN ANODE SÓNG VUÔNG SỬ DỤNG ĐIỆN CỰC BIẾN TÍNH AuNPs/ErGO-GCE

3.1.1. Tổng hợp vật liệu ErGO và AuNPs/ErGO trên điện cực nền than thủy tinh



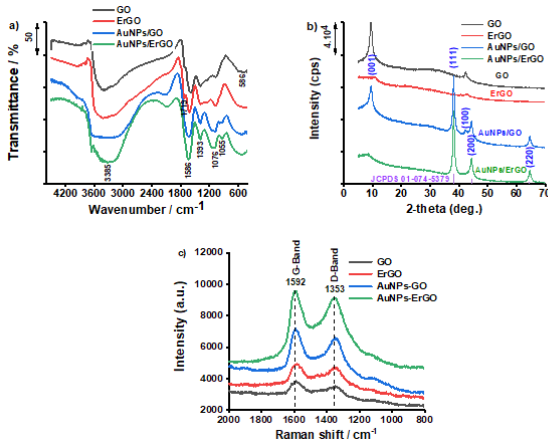
Hình 3.1. Đường chronoamperometry khử GO về ErGO (a) và các đường cyclic voltammetry khử ion Au(III) thành AuNPs trên bề mặt GCE (b).

Kết quả của quá trình tổng hợp điện cực biến tính AuNPs/ErGO-GCE cho thấy các hạt vàng nano phân bố

đều trên bề mặt điện cực (xem hình mapping và HR-TEM). Quá trình tổng hợp vật liệu ErGO trên điện cực nền GCE, được tiến hành tương tự như bước thứ nhất của quá trình tổng hợp vật AuNPs/ErGO để so sánh.

3.1.2. Đặc trưng vật liệu

3.1.2.1. Phổ FTIR, XRD, Raman



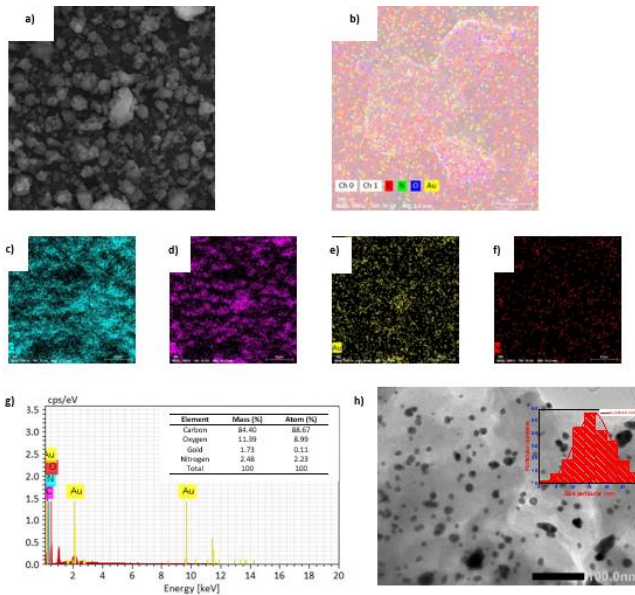
Hình 3.2. Phổ FT-IR (a), XRD (b) và Raman (c) của bốn loại vật liệu GO, ErGO, AuNPs/GO và AuNPs/ErGO.

Sự xuất hiện tín hiệu tại 586 cm^{-1} trên phổ của AuNPs/GO và AuNPs/ErGO cho thấy AuNPs đã được tích hợp vào vật liệu composite (Hình 3.2a). Phổ XRD của GO với các peak tại $2\theta = 9,46^\circ$ và $42,36^\circ$ xác nhận quá trình oxy hóa graphite; sau khi khử điện hóa, các peak suy giảm và dịch chuyển, cho thấy loại bỏ các nhóm oxy, trong khi các peak đặc trưng của AuNPs chi phối phổ của AuNPs/ErGO (Hình 3.2b). Phổ Raman cho thấy tỷ lệ I_D/I_G tăng sau khử GO và

giảm nhẹ khi gắn AuNPs, chứng tỏ cấu trúc carbon được ổn định hơn (Hình 3.2c).

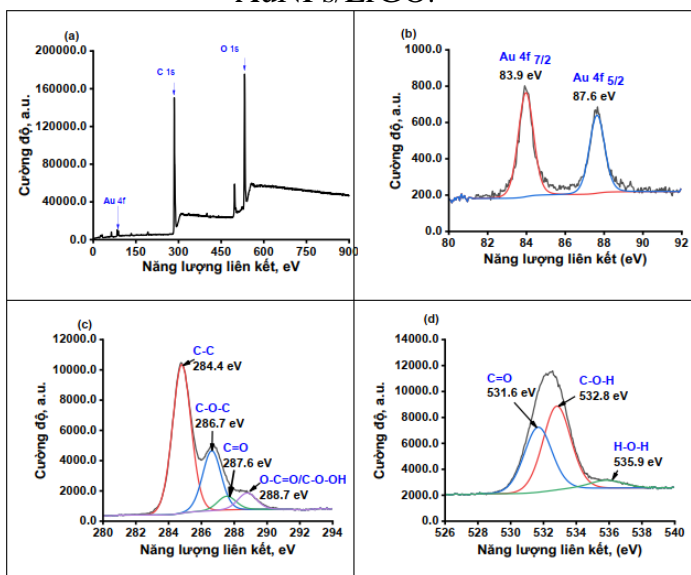
3.1.2.2. Phổ SEM, EDX, HR-TEM, XPS

AuNPs/ErGO được tổng hợp trực tiếp trên điện cực GCE bằng chronoamperometry và cyclic voltammetry. Các kết quả EDX, HR-TEM và XPS xác nhận quá trình khử GO hiệu quả, sự hình thành và phân bố đồng đều của nano vàng trên nền ErGO, cũng như trạng thái Au(0) và các liên kết đặc trưng của ErGO. Vật liệu AuNPs/ErGO có cấu trúc và thành phần phù hợp, được sử dụng cho nghiên cứu xác định đồng thời paracetamol và chlorpheniramine maleate.



Hình 3.3. Ảnh SEM (a), mapping hỗn hợp (b), carbon (c), oxygen (d), vàng (e), nitrogen (f), phổ EDX (g) và ảnh

HR-TEM – phân bố kích thước hạt (h) của vật liệu AuNPs/ErGO.



Hình 3.4. Phổ XPS: AuNPs-ErGO (a), Au 4f (b), C 1s (c) và O 1s (d)

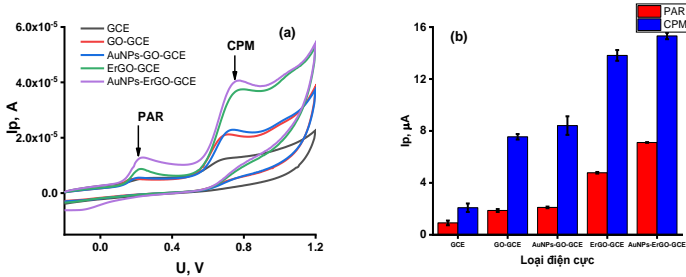
3.1.3. Khảo sát và lựa chọn kiểu điện cực biến tính

Các điện cực khảo sát đều thể hiện hệ giả thuận nghịch ($I_{PA}/I_{PC} \approx 1$). Trong đó, AuNPs/ErGO-GCE có diện tích hoạt hóa lớn nhất và điện trở chuyển điện tích nhỏ nhất, cho thấy khả năng dẫn điện và trao đổi điện tử vượt trội. Kết quả này chứng tỏ sự kết hợp ErGO–AuNPs giúp tăng cường tín hiệu dòng, do đó AuNPs/ErGO-GCE được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 3.1. Diện tích hoạt tính điện hóa, tỷ số $I_{p,a}/I_{p,c}$ và trở kháng điện hóa của 5 kiểu điện cực GCE, GO-GCE, ErGO-GCE, AuNPs/GO-GCE và AuNPs/ErGO-GCE.

Các loại điện cực	A_{TB} (cm^2) (a)	$I_{p,a}/I_{p,c}$ ($\mu\text{A}/\mu\text{A}$)	ΔE_P	R_{ct} (Ohm)
GCE	0,0358	$1,05 \pm 0,03$	$0,49 \pm 0,09$	109,8
GO-GCE	0,0173	$1,00 \pm 0,01$	$0,20 \pm 0,01$	1537,4
ErGO-GCE	0,0431	$0,96 \pm 0,04$	$0,12 \pm 0,01$	170,8
AuNPs/GO-GCE	0,0476	$0,98 \pm 0,02$	$0,13 \pm 0,01$	527,3
AuNPs/ErGO-GCE	0,0574	$0,98 \pm 0,02$	$0,12 \pm 0,01$	122,3

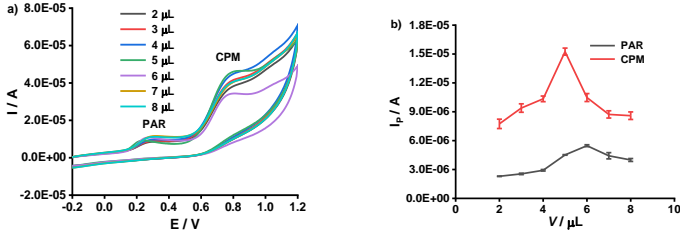
(a): A_{TB} là diện tích hoạt tính điện hóa trung bình anodic và cathodic.



Hình 3.6. Các đường CV (b) và sự biến thiên IP của PAR và CPM với các kiểu điện cực biến tính khác nhau trên điện cực nền glassy carbon (b).

3.1.4. Ảnh hưởng của thể tích huyền phù graphene oxide để biến tính điện cực

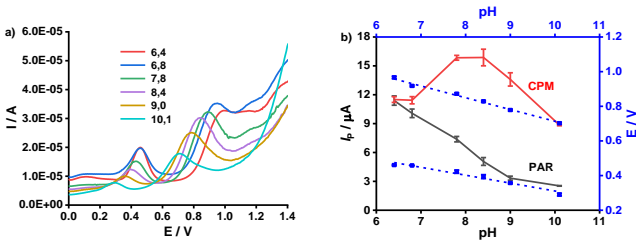
Thể tích 5,0 μL được chọn cho nghiên cứu tiếp theo.



Hình 3.7. Các đường CVs (a) và sự biến thiên I_p của PAR và CPM (b) với các với các thể tích vật liệu GO 1,0 mg/mL khác nhau khi sử dụng điện cực biến tính AuNPs/ErGO-GCE.

3.1.5. Ảnh hưởng của pH

Nghiên cứu dùng SqW-ASV khảo sát pH 6,4–10,1 (đệm Britton–Robinson). I_p của PAR giảm khi pH tăng, còn CPM tăng và đạt cực đại tại pH 7,8 ($I_{PCPM} = 15,84 \mu\text{A}$; $I_{PPAR} = 7,383 \mu\text{A}$). E_p của cả hai dịch chuyển âm khi pH tăng, tuyến tính với pH và có hệ số góc $\approx 0,059 \text{ V/pH}$, cho thấy số electron và proton trao đổi bằng nhau.



Hình 3.8. Các đường SqW-ASV (a), sự biến thiên I_p (b) và hai đường hồi quy tuyến tính giữa E_p và pH của PAR và CPM (b) tại các giá trị pH khác nhau.

$$E_{PAR} = (0,830 \pm 0,065) + (-0,053 \pm 0,008) \text{ pH}$$

$$E_{CPM} = (1,402 \pm 0,070) + (-0,069 \pm 0,009) \text{ pH}$$

3.1.6. Ảnh hưởng của tốc độ quét thế

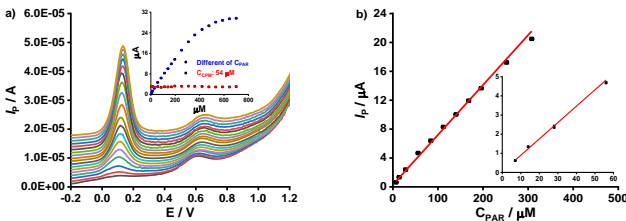
Khảo sát CV cho PAR và CPM trên AuNPs/ErGO-GCE ($v = 0,020\text{--}0,400 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$) chỉ xuất hiện peak anode, chứng tỏ phản ứng bất thuận nghịch và chi phối bởi hấp phụ (theo Randles–Sevcik). I_P tỉ lệ chặt chẽ với \sqrt{v} và $\ln(v)$ ($R^2 > 0,96$), tính được $\Gamma_{\text{PAR}} = 4,753 \times 10^{-6} \text{ mol/cm}^2$, $\Gamma_{\text{CPM}} = 5,549 \times 10^{-6} \text{ mol/cm}^2$ (lớn hơn nhiều nghiên cứu trước). Quan hệ $E_p\text{--}\ln(v^{1/2})$ cho $\alpha_{\text{PAR}} = 0,434$, $\alpha_{\text{CPM}} = 0,449$ ($\approx 0,5$, phù hợp lý thuyết hệ bất thuận nghịch). Ngoại suy E_p khi $v \rightarrow 0$ cho $E^{\circ}_{\text{PAR}} = +0,191 \text{ V}$, $E^{\circ}_{\text{CPM}} = +0,721 \text{ V}$; tính được $k^{\circ}_{\text{PAR}} = 235,6 \text{ s}^{-1}$, $k^{\circ}_{\text{CPM}} = 142,0 \text{ s}^{-1}$, xác nhận bản chất bất thuận nghịch của cả hai hệ.

3.1.7. Ảnh hưởng của các thông số trong phương pháp SqW-ASV

Thế làm giàu, thời gian làm giàu, tần số và biên độ xung được tối ưu hóa ở $-0,9 \text{ V}$, 30 s , 20 Hz và 30 mV .

3.1.8. Khoảng tuyến tính

3.3.8.1. Đối với riêng PAR



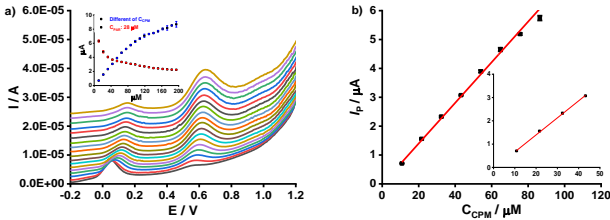
Hình 3.18. Các đường SqW-ASV ở các nồng độ PAR khác nhau (a), đường hồi quy tuyến tính của PAR với

nồng độ từ $7,0 \mu\text{M}$ đến $360 \mu\text{M}$ (hình chèn: $7,0 \mu\text{M} \div 56 \mu\text{M}$) (b).

Như vậy, trong điều kiện cố định nồng độ CPM ở mức $54 \mu\text{M}$, khoảng tuyến tính của PAR được xác định trong phạm vi từ $8,85 \mu\text{M}$ đến $308 \mu\text{M}$.

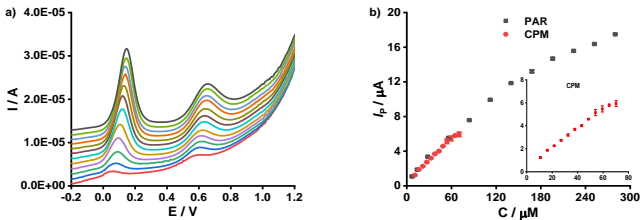
3.3.8.2. Đối với riêng CPM

Khi cố định nồng độ PAR thì khoảng tuyến tính của CPM từ $5,44 \mu\text{M}$ đến $97,2 \mu\text{M}$.



Hình 3.19. Các đường SqW-ASV ở các nồng độ CPM khác nhau (a), đường hồi quy tuyến tính CPM với nồng độ $10,8 \mu\text{M}$ đến $97,2 \mu\text{M}$ (hình chèn: $10,8 \mu\text{M} \div 43,2 \mu\text{M}$) (b).

3.3.8.3. Đối với hỗn hợp PAR và CPM



Hình 3.20. Các đường SqW-ASV (a) và sự biến thiên I_p của PAR và CPM ở các nồng độ thêm chuẩn khác nhau (hình chèn: sự biến thiên I_p CPM ở các nồng độ thêm chuẩn khác nhau) (b).

Khoảng tuyến tính đối với PAR từ 7,0 μM đến 196 μM và CPM từ 10,8 μM đến 97,2 μM .

3.1.9. Độ lặp lại

Thử nghiệm với 4 cặp nồng độ PAR và CPM cho thấy RSD thực nghiệm đều nhỏ hơn nhiều so với $1/2\text{RSD}_H$ và thấp hơn giới hạn AOAC (7,3% và 5,3%), chứng tỏ IP lặp lại tốt và tương quan tuyến tính cao ở cả hai chất.

3.1.10. Độ tái lập của điện cực biến tính

sau 9 lần biến tính, E_P của PAR và CPM thay đổi không quy luật do sai số điện cực so sánh hoặc biến tính không đồng nhất, nhưng I_P ổn định (PAR: 5,043 μA , RSD 4,092%; CPM: 2,942 μA , RSD 6,277%), đều nhỏ hơn $2/3\text{RSD}_H$ và giới hạn AOAC chứng tỏ độ tái lập của AuNPs/ErGO-GCE đạt yêu cầu.

3.1.11. Ảnh hưởng của các chất cản trở

Khảo sát 16 chất cản trở gồm muối kim loại, hợp chất hữu cơ cho thấy AA, UA, CAF ($\geq 4-10$ lần) gây chông/dịch chuyển peak, làm RSD_{Ex} vượt $1/2-2/3\text{RSD}_H$, không thể định lượng PAR và CPM; D-Glu, PG, SOB không ảnh hưởng. Trong muối vô cơ, NaCl, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ ảnh hưởng I_P của PAR; $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, CuCl_2 ảnh hưởng I_P của CPM; các muối khác không tác động và không xuất hiện peak hòa tan kim loại.

3.1.12. Độ thu hồi

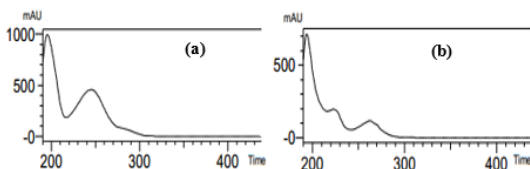
Ba mẫu thực (TD1: chỉ PAR, TD2: chỉ CPM, DT3: âm tính) được phân tích bằng SqW-ASV (AuNPs/ErGO-GCE).

% thu hồi ở ba mức thêm chuẩn đạt 95,86–104,9% (tân dược) và 96,15–104,3% (đông dược), đáp ứng tiêu chuẩn AOAC, chứng tỏ độ đúng phương pháp đạt yêu cầu.

3.2. NGHIÊN CỨU ĐỊNH LƯỢNG PARACETAMOL VÀ CHLORPHENIRAMINE MALEATE BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

3.2.1. Khảo sát điều kiện sắc ký

3.2.1.1. Bước sóng phát hiện

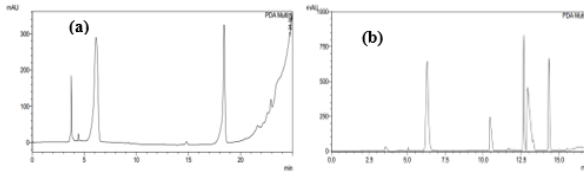


Hình 3.27. Phổ UV của PAR (a) và CPM (b) với nồng độ 15 µg/mL.

Bước sóng phát hiện được lựa chọn căn cứ vào phổ tử ngoại (UV) của 5 chất: PAR, CPM lần lượt đạt cực đại hấp thụ tại 245 nm, 225 nm

3.2.1.2. Lựa chọn cột sắc ký

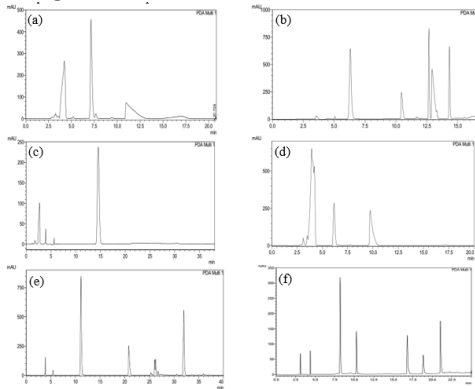
Cột InertSustain™ C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm) được chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 3.28. Sắc ký đồ PAR và CPM với cột sắc ký Agilent Eclipse C18 (150 mm × 4,6 mm, 5 μm) (a), InertSustain™ C18 (250 mm × 4,6 mm, 5 μm) (b).

3.2.1.3. Ảnh hưởng của pha động

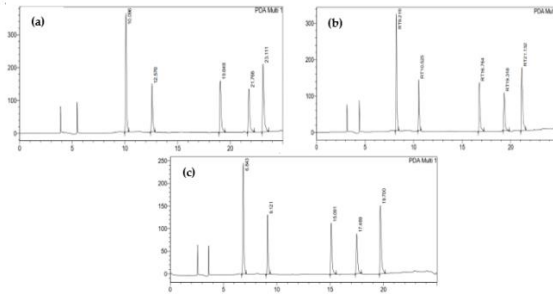
Hệ dung môi số (6) là được lựa chọn cho việc phân tích định lượng đồng thời PAR và CPM.



Hình 3.29. Sắc ký đồ của PAR và CPM ở các hệ dung môi (1) – (6).

3.2.1.4. Ảnh hưởng của tốc độ dòng pha động

Tốc độ dòng trong sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) ảnh hưởng trực tiếp đến thời gian lưu, độ phân giải



Hình 3.30 Sắc ký đồ của mẫu chuẩn PAR và CPM ở các tốc độ dòng pha động khác nhau: 0,8 mL/ phút (a); 1,0 mL/phút (b); 1,2 mL/phút (c).

Tốc độ dòng 1,0 mL/phút là được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.

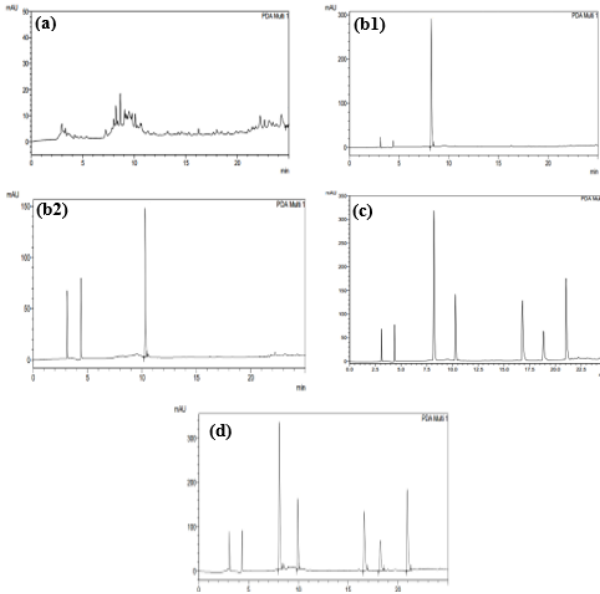
3.2.2. Thẩm định phương pháp phân tích

3.2.2.1. Tính tương thích hệ thống

Nhận thấy rằng thời gian lưu và diện tích peak đều có RSD $\leq 2\%$, số đĩa lý thuyết $N > 2000$ và hệ số kéo đuôi $T_f \leq 2$ cho thấy hệ thống và các điều kiện sắc ký đã chọn là tương thích cho việc phân tích định lượng đồng thời PAR, CPM.

3.2.2.2. Độ đặc hiệu

Phương pháp có độ đặc hiệu cao để phát hiện PAR, CPM trên các chế phẩm đồng được khảo sát.



Hình 3.31. Sắc ký đồ đánh giá độ đặc hiệu: mẫu nền (a); mẫu chuẩn đơn thành phần: PAR (b1), CPM (b2); mẫu chuẩn đa thành phần (c); mẫu chuẩn đa thành phần trên mẫu nền (d).

3.2.2.3. Xây dựng đường chuẩn

Từ kết quả xây dựng đường chuẩn nhận thấy rằng $t_{\text{tính}} > t_{\text{bảng}}$, $p < 0,05$ và $R^2 > 0,99$ vì vậy có thể kết luận rằng giữa diện tích peak và nồng độ chất phân tích có mối tương quan tuyến tính tốt trong khoảng nồng độ khảo sát từ 10 $\mu\text{g/mL}$ đến 40 $\mu\text{g/mL}$ [20, 119].

3.2.2.4. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng

Kết quả giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của PAR và CPM lần lượt là: $LOD_{PAR} = 2,00 \mu\text{g/mL}$ (với $S/N = 3,2$), $LOQ_{PAR} = 6,60 \mu\text{g/mL}$; $LOD_{CPM} = 2,00 \mu\text{g/mL}$ (với $S/N = 3,9$), $LOQ_{CPM} = 6,60 \mu\text{g/mL}$.

3.2.2.5. Độ đúng

Chuẩn bị nền mẫu, thêm chuẩn PAR và CPM ở 3 mức (15, 25, 35 $\mu\text{g/mL}$), xử lý và phân tích HPLC lặp 3 lần. % thu hồi đạt 94,27–104,80%, đáp ứng tiêu chuẩn AOAC, chứng tỏ phương pháp đạt yêu cầu độ đúng.

3.2.2.6. Độ lặp lại

Kết quả thể hiện độ lặp lại trong ngày và khác ngày của 5 chất phân tích có $RSD \% < 3 \%$, đáp ứng theo yêu cầu của AOAC 2016

3.3. TỐI ƯU HÓA ĐIỀU KIỆN CHIẾT XUẤT PARACETAMOL VÀ CHLORPHENIRAMINE MALEATE TRỘN LẤN TRONG CHẾ PHẨM TỪ DƯỢC LIỆU

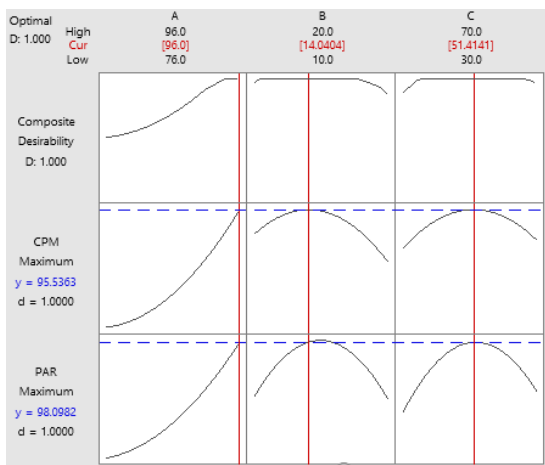
3.3.1. Xây dựng đường chuẩn

Dựa vào hai kết quả này có thể kết luận rằng giữa diện tích peak và nồng độ PAR, CPM có mối tương quan tuyến tính tốt với $R^2_{PAR} = 0,9947$ và $R^2_{CPM} = 0,9980$. [119].

3.3.2. Tối ưu hóa quy trình chiết xuất

Điều kiện tối ưu như sau: nồng độ ethanol 96%; thời gian chiết 14 phút; 50,00 mL/g Nghiên cứu xác định đồng thời paracetamol và chlorpheniramine bằng phương pháp

von-ampe hóa tan anode sóng vuông sử dụng điện cực biến tính AuNPs/ErGO-GCE



Hình 3.36. Đồ thị biểu diễn điều kiện tối ưu của 3 yếu tố A, B và C

3.4. ÁP DỤNG PHÂN TÍCH MẪU THẬT

Bảng 3.8. Hàm lượng của PAR và CPM trong 07 mẫu Đông dược bằng hai phương pháp SqW-ASV và HPLC-DAD.

Mẫu	Chất phân tích	Hàm lượng (*)		Hàm lượng (mg/liều) TB ± SD (n = 3)
		SqW-ASV (mg/g)	HPLC-DAD (mg/g)	
BNH093	PAR	198,2 ± 2,319	197,2 ± 0,045	215,7 ± 0,049
	CPM	16,46 ± 0,054	16,74 ± 0,061	18,31 ± 0,066
HCH04	PAR	141,5 ± 7,146	141,0 ± 0,02	307,1 ± 0,005
	CPM	0,757 ± 0,004	0,792 ± 0,004	1,725 ± 0,008
HCH164	PAR	34,00 ± 0,838	34,17 ± 0,022	87,41 ± 0,056

	CPM	$0,478 \pm 0,017$	$0,461 \pm 0,000$	$1,180 \pm 0,001$
VNA01	CPM	$5,764 \pm 0,387$	$5,831 \pm 0,017$	$4,553 \pm 0,013$
VNA03	CPM	$6,761 \pm 0,136$	$6,952 \pm 0,030$	$4,533 \pm 0,013$
VNA04	CPM	$7,300 \pm 0,844$	$7,573 \pm 0,003$	$3,547 \pm 0,002$
VNA05	CPM	$2,118 \pm 0,182$	$2,146 \pm 0,002$	$1,530 \pm 0,001$

* các giá trị được biểu diễn TB \pm SD ($n = 3$)

Kết quả cho thấy giá trị $t_{\text{tính}} = 0,37 < t_{\text{bảng}} (0,05; 9) = 2,26$, do vậy có thể kết luận rằng kết quả phân tích của hai phương pháp không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Thêm vào đó, giá trị độ tin cậy $p = 0,07$ lớn hơn $0,05$. Điều này chứng tỏ phương pháp SqW-ASV sử dụng điện cực biến tính AuNPs/ErGO-GCE hoàn toàn khả thi, có độ tin cậy cao và có thể được ứng dụng như một phương pháp thay thế hiệu quả cho HPLC-DAD trong kiểm soát chất lượng dược liệu và thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN

Qua kết quả thực nghiệm luận án chúng tôi đưa ra một số kết luận như sau:

1. Đã chế tạo thành công vật liệu nano vàng/graphene oxide dạng khử thông qua quy trình khử điện hóa nhằm xác định đồng thời paracetamol (PAR) và chlorpheniramine maleate (CPM). Vật liệu AuNPs/ErGO được đặc trưng bởi các phương pháp hóa lý hiện đại như: XRD, SEM, FTIR, Raman, EDX, HR-TEM, EIS và XPS.

Đã xác định được một số đặc tính điện hóa của PAR và CPM trên bề mặt điện cực như số proton và số electron trao đổi bằng nhau và bằng 4 đối với CPM và bằng 2 đối với PAR, đã tính toán được một số thông số như Γ_{PAR} : $4,753 \times 10^{-6}$ mol cm^{-2} và Γ_{CPM} : $5,549 \times 10^{-6}$ mol cm^{-2} ; $\alpha_{\text{PAR}} = 0,434$ và $\alpha_{\text{CPM}} = 0,449$; Khảo sát được một số thông số ảnh hưởng trong phương pháp SqW-ASV như $E_{\text{acc}} = -0,9$ V; $t_{\text{acc}} = 30$ s; $f = 20$ Hz và $\Delta E = 30$ mV. Đã khảo sát được khoảng tuyến tính của PAR và CPM bằng phương pháp SqW-ASV từ 23,7 μM đến 196 μM đối với PAR và từ 8,5 μM đến 97,2 μM đối với CPM. Giới hạn phát hiện được xác định lần lượt là 7,12 μM và 2,54 μM đối với PAR và CPM.

2. Đã xây dựng được quy trình định lượng đồng thời PAR và CPM trong các chế phẩm có nguồn gốc từ dược liệu bằng phương pháp HPLC-DAD. Đường chuẩn của 02 hợp chất đối với phương pháp HPLC-DAD được xây dựng trong khoảng từ 10 $\mu\text{g/mL}$ đến 40 $\mu\text{g/mL}$, với hệ số xác định (R^2) đều lớn hơn 0,99. Độ chính xác của phương pháp được chứng minh qua độ thu hồi trung bình dao động từ 90 % đến 105 % và độ lặp lại cao, với độ lệch chuẩn tương đối (RSD, %) trong ngày và giữa các ngày dao động từ 0,71 % đến 2,94 %. Giới hạn phát hiện (LOD) đối với các hoạt chất PAR và CPM đều là 2,00 $\mu\text{g/mL}$.

3. Đã tiến hành tối ưu hóa quy trình chiết paracetamol và chlorpheniramine maleate bằng phương

pháp đáp ứng bề mặt với mô hình Box-Behnken với các yếu tố ảnh hưởng bao gồm: nồng độ ethanol, thời gian chiết và tỉ lệ dung môi/nguyên liệu. Điều kiện tối ưu cho quá trình chiết xuất paracetamol và chlorpheniramine maleate trộn lẫn trong dược liệu bao gồm: nồng độ ethanol 96 %; thời gian chiết 14,04 phút và tỉ lệ dung môi/nguyên liệu là 51,41 mL/g. Với các điều kiện tối ưu, hiệu suất chiết đối với paracetamol và chlorpheniramine maleate lần lượt là 98,10 % và 95,64 %. Kết quả tối ưu hóa đã được kiểm chứng bằng thực nghiệm và rất tương đồng với kết quả của mô hình Box-Behnken, cụ thể là $97,61 \pm 1,76$ % ($n = 3$) đối với paracetamol và $96,50 \pm 2,14$ % ($n = 3$) đối với chlorpheniramine maleate. Đã ứng dụng quy trình định lượng SqW-ASV và HPLC-DAD để phân tích các mẫu thực tế trên thị trường và phát hiện được một số mẫu dương tính với CPM, đồng thời cả CPM và PAR; kết quả phân tích các mẫu bằng 2 phương pháp SqW-ASV và HPLC-DAD không khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA LUẬN ÁN

I. Tạp chí trong nước

1. **Huỳnh Văn Chung**, Đào Thị Cẩm Minh, Trần Thị Thu Thủy, Nguyễn Hải Phong (2025), xác định đồng thời paracetamol, chlorpheniramine maleate, cinarizine, loratadine và cetirizine hydrochloride trong chế phẩm có

nguồn gốc từ dược liệu bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao, *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên*, Tập 134, Số 1A, 89–101. DOI: 10.26459/hueunijns.v134i1A.7601.

2. **Huỳnh Văn Chung**, Nguyễn Hải Phong, Nguyễn Đăng Thùy Anh, Đào Thị Cẩm Minh (2025), Tối ưu hóa quy trình chiết xuất paracetamol và chlorpheniramine maleate trộn lẫn trong chế phẩm có nguồn gốc từ dược liệu, *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên*, Tập 134, Số 1A, 113–121. DOI: 10.26459/hueunijns.v134i1A.7618.

3. **Huỳnh Văn Chung**, Nguyễn Hải Phong, Đào Thị Cẩm Minh, Vũ Thị Hồng Nhung (2025), Tổng hợp vật liệu vàng nano/graphene oxide dạng khử và khảo sát đặc tính điện hóa xác định đồng thời paracetamol và chlorpheniramine maleate, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế*, Tập 29, Số 2, 13-26. DOI: 10.64302/joshusc.v29n2.1226.

II. Tạp chí quốc tế (WoS/ Scopus)

4. Dao Thi Cam Minh, Le Anh Thi, Tran Thi Thu Thuy, Nguyen Thi Kieu Anh, Pham Thi Thanh Ha, Tran Thuy Hanh, Nguyen Hai Phong, **Huỳnh Văn Chung** (2024), Green HPLC–DAD method for the analysis of analgesic and antihistamine drugs adulterated in herbal mixtures, *Green Analytical Chemistry*, Volume 9, 100116. <https://doi.org/10.1016/j.greeac.2024.100116>. (ESCI, Q1, IF = 6,2).

5. **Huynh Van Chung**, Nguyen Hai Phong, Dao Thi Cam Minh, Ho Xuan Anh Vu, Pham Khac Lieu, Nguyen Thi Thanh Huyen, Trinh Ngoc Dat, Doan Manh Dung, Do Thi Duyen, Dinh Quang Khieu (2025), Electrochemical determination of paracetamol and chlorpheniramine using gold nanoparticles/reduced graphene oxide modified glassy carbon electrode, *Journal of Electrochemical Science and Engineering* 2841, <https://doi.org/10.5599/jese.2841> (ESCI, Q2, IF = 2,6).

**HUE UNIVERSITY
UNIVERSITY OF SCIENCES**

HUYNH VAN CHUNG

**RESEARCH ON DEVELOPING A STRIPPING
VOLTAMMETRY METHOD FOR THE
DETERMINATION OF PARACETAMOL AND
CHLORPHENIRAMINE MALEATE IN HERBAL-
BASED PREPARATIONS**

Major: Analytical Chemistry

Code: 9440118

**SUMMARY OF THE DOCTORAL DISSERTATION
ANALYTICAL CHEMISTRY**

Scientific Supervisor

1. Assoc. Prof. Dr. Nguyen Hai Phong

2. Dr. Dao Thi Cam Minh

HUE, 2026

The project was completed at the Faculty of Chemistry,
University of Science, Hue University.

Scientific supervisors:

1. Assoc. Prof. Dr. Nguyen Hai Phong, University of Sciences, Hue University
2. Dr. Dao Thi Cam Minh, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Reviewer 1: Assoc. Prof. Dr. Nguyen Thi Kim Thuong,
University of Science, Vietnam National University, Ha Noi.

Reviewer 2: Assoc. Prof. Dr. Vo Thang Nguyen, University of Education, University of Da Nang.

Reviewer 3: Assoc. Prof. Dr. Tran Thi Ai My, University of Science, Hue University.

The dissertation was defended in front of the dissertation committee of: Hue University

At:

The dissertation will be found at the libraries:

- 1.
- 2.

INTRODUCTION

The use of herbal medicines and natural product-based dietary supplements has become increasingly popular due to the perception that they are safe and associated with fewer side effects. However, in order to achieve rapid therapeutic effects and enhance market competitiveness, many manufacturers have illegally adulterated these products with synthetic pharmaceuticals without declaring their presence, posing serious risks to public health. This practice has been reported not only in developing countries but also in the United States and the European Union [26]. Such adulterated products are often distributed without prescription, increasing the risk of adverse effects, poisoning, and drug–drug interactions when used for prolonged periods or without proper control. Adulteration may involve one or multiple active ingredients, including drugs with similar mechanisms of action [121] or combinations of drugs with different pharmacological effects but shared symptomatic relief, typically analgesics and antihistamines [179].

In Vietnam, herbal formulations used to support the treatment of common cold, allergic rhinitis, and immune enhancement are at particularly high risk of pharmaceutical adulteration, especially in the Northern and Central regions, where seasonal respiratory diseases are prevalent [120].

Among the adulterated active ingredients, paracetamol (PAR) and chlorpheniramine maleate (CPM) are the most commonly encountered. Uncontrolled use of PAR can

cause severe liver damage, while CPM may induce various adverse effects on the nervous and cardiovascular systems, particularly when used long-term or at excessive doses [2]. Numerous advanced analytical methods, such as LC–MS, LC–MS/MS, and GC–MS, have been developed to detect adulterated active ingredients with high sensitivity [32, 88, 90, 106]; however, these techniques require expensive instrumentation and complex operation. UV–Vis spectrophotometry offers lower cost but is highly susceptible to interference from herbal matrices [39, 86, 144], and existing studies mainly focus on the determination of single compounds. Electrochemical methods, particularly stripping voltammetry (SV), show considerable potential due to their high sensitivity and low cost. Nevertheless, SV has mainly been applied to the individual determination of PAR [59, 161] or CPM [87, 123], while studies on the simultaneous determination of both compounds remain limited [57, 153]. The combination of reduced graphene oxide (rGO) and gold nanoparticles is expected to enhance the sensitivity of anodic stripping voltammetry (ASV) [41, 58, 77, 167].

Therefore, this dissertation focuses on the development and validation of an ASV procedure for the simultaneous determination of PAR and CPM adulterated in herbal-based products, serving as a rapid screening and preliminary confirmation tool prior to chromatographic analysis such as HPLC. Based on the above considerations, the present doctoral dissertation entitled **“Research on developing a**

stripping voltammetry method for the determination of paracetamol and chlorpheniramine maleate in herbal-based preparations” was conducted.

CHAPTER 1. LITERATURE REVIEW

1.1. CURRENT STATUS OF THE DEVELOPMENT OF HERBAL-BASED PREPARATIONS

1.1.1. Development of herbal preparations worldwide

1.1.2. Development of herbal-based preparations in Vietnam

1.2. CURRENT STATUS OF SYNTHETIC PHARMACEUTICAL ADULTERATION IN HERBALBASED MEDICINES

1.2.1. H1 antihistamine group

1.2.2. Analgesic drugs

1.3. OVERVIEW OF PARACETAMOL AND CHLORPHENIRAMINE MALEATE

1.3.1. Paracetamol

1.3.2. Chlorpheniramine maleate

1.4. METHODS FOR DETERMINING SYNTHETIC DRUGS ADULTERATED IN HERBALBASED PREPARATIONS

1.4.1. Chromatographic methods

1.4.2. Spectroscopic methods

1.4.3. Electrochemical methods

1.5. GENERAL INTRODUCTION TO GRAPHITE, GRAPHENE, GRAPHITE OXIDE, AND GRAPHENE OXIDE

1.5.1. Graphite

1.5.2. Graphene

1.5.3. Graphite oxide and graphene oxide

1.5.4. Reduced graphene oxide

1.6. APPLICATIONS OF GOLD NANOPARTICLES IN ELECTROCHEMICAL SENSORS AND THEIR POTENTIAL

CHAPTER 2. RESEARCH CONTENTS AND METHODS

2.1. RESEARCH CONTENTS

To accomplish the objectives of the thesis, the main research contents are as follows:

- Investigating the simultaneous determination of paracetamol and chlorpheniramine maleate by square-wave anodic stripping voltammetry (SqW-ASV) using an AuNPs/ErGO-GCE modified electrode;
- Investigating the simultaneous determination of paracetamol and chlorpheniramine maleate in herbal-based preparations by high-performance liquid chromatography (HPLC).

2.2. RESEARCH SUBJECTS

2.3. RESEARCH METHODS

2.3.1. Method for synthesizing graphite oxide

2.3.2. Method for preparing the analytical electrode

2.3.3. Methods for material characterization

2.3.4. Stripping voltammetry method

2.3.5. High-performance liquid chromatography method

2.3.6. Experimental modeling method

2.3.7. Method for preparing analytical samples

2.3.8. Statistical methods

2.4. CHEMICALS AND INSTRUMENTS

2.4.1. Chemicals

2.4.2. Instruments

CHAPTER 3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. MULTANEOUS DETERMINATION OF PARACETAMOL AND CHLORPHENIRAMINE MALEATE BY SQUARE-WAVE ANODIC STRIPPING VOLTAMMETRY USING AN AuNPs/ErGO-GCE MODIFIED GLASSY CARBON ELECTRODE

3.1.1. Synthesis of ErGO and AuNPs/ErGO materials on a glassy carbon substrate electrode

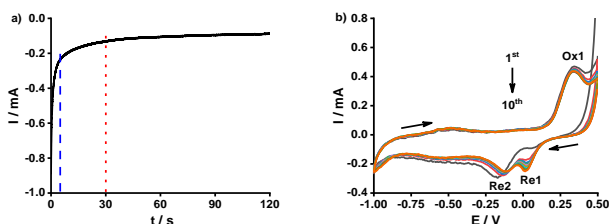


Figure 3.1. Chronoamperometric curve for the electrochemical reduction of GO to ErGO (a) and cyclic voltammety curves for the reduction of Au(III) ions to AuNPs on the GCE surface (b).

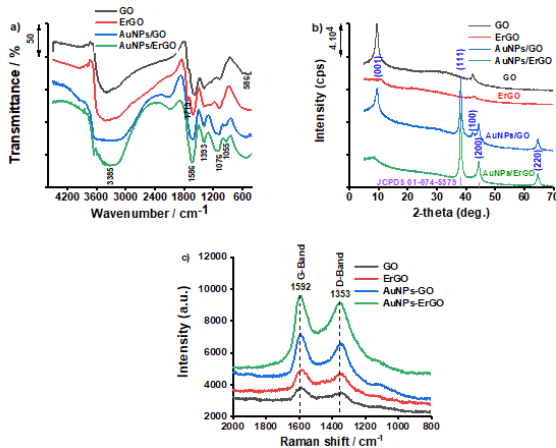
The results of the AuNPs/ErGO-GCE electrode fabrication show that gold nanoparticles are uniformly distributed over the electrode surface (see the mapping images and HR-TEM). The ErGO material was synthesized

on the bare GCE using the same procedure as the first step in preparing the AuNPs/ErGO material for comparison.

3.1.2. Material characterization

3.1.2.1. FTIR, XRD, Raman

The appearance of a signal at 586 cm^{-1} in the spectra of AuNPs/GO and AuNPs/ErGO indicates the successful incorporation of AuNPs into the composite materials (Figure 3.2a). The XRD pattern of GO, with characteristic peaks at $2\theta = 9.46^\circ$ and 42.36° , confirms the oxidation of graphite; after electrochemical reduction, these peaks decrease in intensity and shift, indicating the removal of oxygen-containing groups, while the characteristic peaks of AuNPs dominate the XRD pattern of AuNPs/ErGO (Figure 3.2b).



Hình 3.2. FT-IR spectra (a), XRD patterns (b), and Raman spectra (c) of four materials: GO, ErGO, AuNPs/GO, and AuNPs/ErGO.

Raman spectra show that the I_D/I_G ratio increases after GO reduction and slightly decreases upon AuNPs decoration, demonstrating a more stabilized carbon structure (Figure 3.2c).

3.1.2.2. SEM, EDX, HR-TEM, XPS

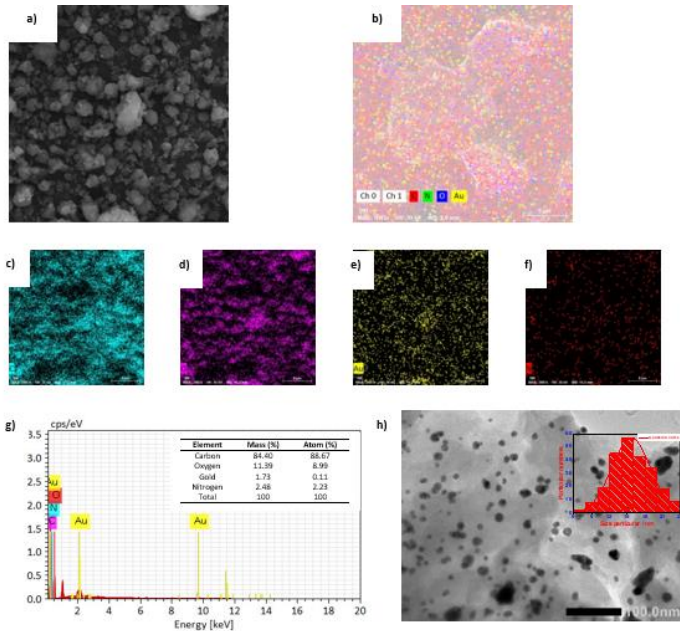


Figure 3.3. SEM image (a); composite mapping image (b); elemental maps of carbon (c), oxygen (d), gold (e), and nitrogen (f); EDX spectrum (g); and HR-TEM image with particle size distribution (h) of the AuNPs/ErGO material.

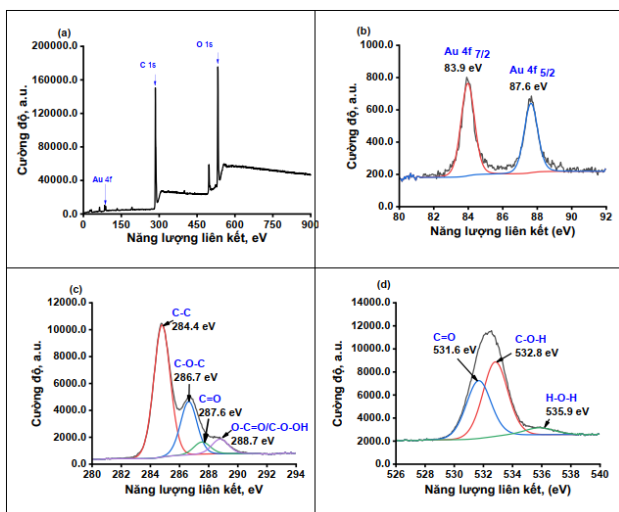


Figure 3.4. XPS spectra: AuNPs-ErGO (d), Au 4f (b), C 1s (c) and O 1s (d).

AuNPs/ErGO was directly synthesized on the GCE using chronoamperometry and cyclic voltammetry. EDX, HR-TEM, and XPS results confirmed the effective reduction of GO, the formation and uniform distribution of gold nanoparticles on the ErGO surface, as well as the presence of Au(0) and characteristic bonding features of ErGO. The AuNPs/ErGO material exhibited suitable structure and composition and was applied for the simultaneous determination of paracetamol and chlorpheniramine maleate.

3.1.3. Investigation and selection of the modified-electrode configuration

All investigated electrodes exhibited a quasi-reversible system ($I_{PA}/I_{PC} \approx 1$). Among them, the

AuNPs/ErGO-GCE showed the largest electroactive surface area and the lowest charge-transfer resistance, indicating superior electrical conductivity and electron-transfer capability. These results demonstrate that the ErGO–AuNPs combination enhances the current response; therefore, AuNPs/ErGO-GCE was selected for subsequent studies.

Table 3.1. Electroactive surface area, $I_{p,a}$, $I_{p,c}$ ratio, and electrochemical impedance of five electrode types: GCE, GO-GCE, ErGO-GCE, AuNPs/GO-GCE, and AuNPs/ErGO-GCE.

Các loại điện cực	A_{TB} (cm^2) (a)	$I_{p,a}/I_{p,c}$ ($\mu\text{A}/\mu\text{A}$)	ΔE_P	R_{ct} (Ohm)
GCE	0,0358	$1,05 \pm 0,03$	$0,49 \pm 0,09$	109,8
GO-GCE	0,0173	$1,00 \pm 0,01$	$0,20 \pm 0,01$	1537,4
ErGO-GCE	0,0431	$0,96 \pm 0,04$	$0,12 \pm 0,01$	170,8
AuNPs/GO-GCE	0,0476	$0,98 \pm 0,02$	$0,13 \pm 0,01$	527,3
AuNPs/ErGO-GCE	0,0574	$0,98 \pm 0,02$	$0,12 \pm 0,01$	122,3

^(a): A_{TB} is the average electrochemically active area for anodic and cathodic processes

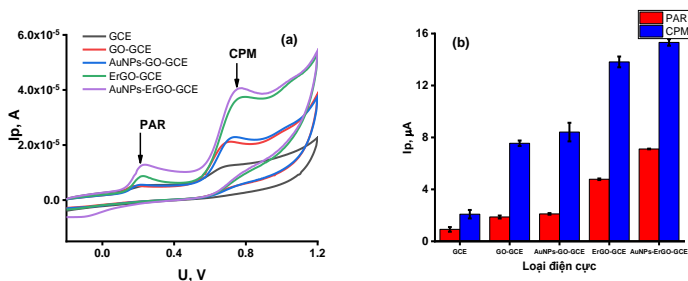


Figure 3.6. CV curves (a) and the variation of I_P of PAR and CPM with different modified electrodes on the glassy carbon electrode (b).

3.1.4. Effect of the graphene oxide suspension volume on electrode modification

The volume of 5.0 μL was selected for subsequent studies.

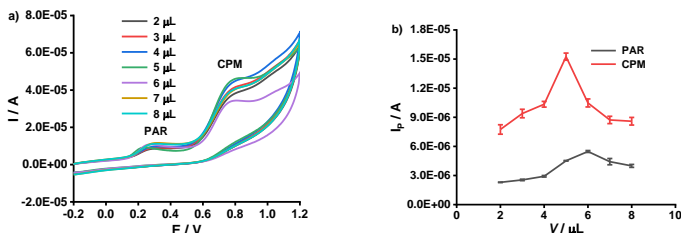


Figure 3.7. CV curves (a) and the variation of I_P of PAR and CPM (b) with different volumes of GO material (1.0 mg/mL) using the AuNPs/ErGO-modified GCE.

3.1.5. Effect of pH

The effect of pH was investigated by SqW-ASV over the pH range 6.4–10.1 using Britton–Robinson buffer. The I_P of PAR decreased with increasing pH, whereas that of CPM increased and reached a maximum at pH 7.8 ($I_{PCPM} = 15.84 \mu\text{A}$; $I_{PPAR} = 7.383 \mu\text{A}$). The E_P values of both analytes shifted negatively with increasing pH and showed

a linear relationship with pH, with slopes of approximately 0.059 V/pH, indicating that equal numbers of electrons and protons were involved in the electrochemical processes.

$$E_{\text{PAR}} = (0,830 \pm 0,065) + (-0,053 \pm 0,008) \text{ pH}$$

$$E_{\text{CPM}} = (1,402 \pm 0,070) + (-0,069 \pm 0,009) \text{ pH}$$

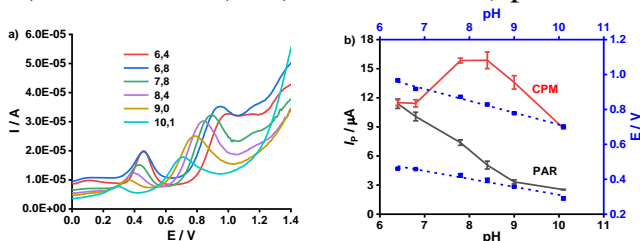


Figure 3.8. SqW-ASV curves (a), variation of I_p (b), and the linear regression plots of E_p versus pH for PAR and CPM at different pH values.

3.1.6. Effect of scan rate

CV studies of PAR and CPM on AuNPs/ErGO-GCE ($v = 0.020\text{--}0.400 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$) showed only anodic peaks, indicating irreversible reactions dominated by adsorption (according to Randles–Sevcik behavior). The I_p values were strongly correlated with \sqrt{v} and $\ln(v)$ ($R^2 > 0.96$), yielding surface coverages of $\Gamma_{\text{PAR}} = 4.753 \times 10^{-6} \text{ mol/cm}^2$, $\Gamma_{\text{CPM}} = 5.549 \times 10^{-6} \text{ mol/cm}^2$ (which are significantly higher than those reported in previous studies). From the $E_p\text{--}\ln(v^{1/2})$ relationship, the charge transfer coefficients were calculated as $\alpha_{\text{PAR}} = 0.434$, $\alpha_{\text{CPM}} = 0.449$ (≈ 0.5 consistent with irreversible electrochemical systems). Extrapolation of E_p to $v \rightarrow 0$ gave $E^\circ_{\text{PAR}} = +0.191 \text{ V}$, $E^\circ_{\text{CPM}} = +0.721 \text{ V}$ the standard heterogeneous rate constants were calculated as

$k^0_{\text{PAR}} = 235.6 \text{ s}^{-1}$, $k^0_{\text{CPM}} = 142.0 \text{ s}^{-1}$, further confirming the irreversible nature of both processes.

3.1.7. Effect of parameters in the SqW-ASV method

The accumulation potential, accumulation time, frequency, and pulse amplitude were optimized at -0.9 V , 30 s, 20 Hz, and 30 mV, respectively.

3.1.8. Linear range

3.3.8.1. For PAR only

Thus, at a fixed CPM concentration of $54 \mu\text{M}$, the linear range of PAR was determined to be from $8.85 \mu\text{M}$ to $308 \mu\text{M}$

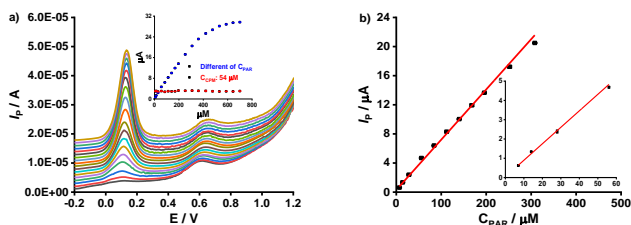


Figure 3.18. SqW-ASV curves at different PAR concentrations (a) and the linear regression plot of PAR over the concentration range of $7.0 \mu\text{M}$ to $360 \mu\text{M}$ (inset: $7.0 \mu\text{M}$ – $56 \mu\text{M}$) (b).

3.3.8.2. For CPM only

When the PAR concentration was fixed, the linear range of CPM was determined to be from $5.44 \mu\text{M}$ to $97.2 \mu\text{M}$.

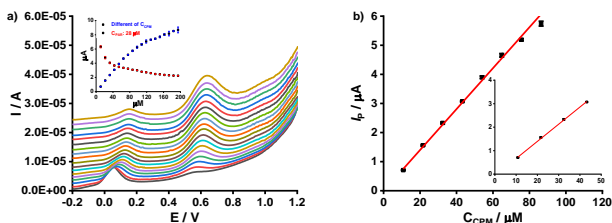


Figure 3.19. SqW-ASV curves at different CPM concentrations (a) and the linear regression plot of CPM over the concentration range of 10.8 μM to 97.2 μM (inset: 10.8 μM –43.2 μM) (b).

3.3.8.3. For the PAR–CPM mixture

The linear range was from 7.0 μM to 196 μM for PAR and from 10.8 μM to 97.2 μM for CPM

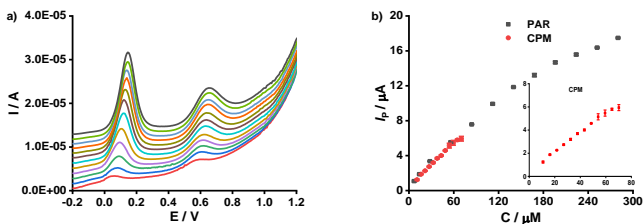


Figure 3.20. SqW-ASV curves (a) and the variation of I_p of PAR and CPM at different standard addition concentrations (b).

3.1.9. Repeatability

Tests using three PAR–CPM concentration pairs showed that the experimental RSD values were much lower than $1/2\text{RSD}_H$ and also below the AOAC limits (7.3% and 5.3%), demonstrating good repeatability of the I_p response.

3.1.10. Reproducibility

After nine electrode modifications, the E_P values of PAR and CPM varied irregularly, likely due to reference electrode error or non-uniform modification; however, the IP responses remained stable (PAR: 5.043 μA , RSD 4.092%; CPM: 2.942 μA , RSD 6.277%). These RSD values were lower than $2/3\text{RSD}_H$ and the AOAC limits, demonstrating that the reproducibility of the AuNPs/ErGO-GCE was satisfactory.

3.1.11. Effect of interfering substances

A study of 16 interfering substances, including metal salts and organic compounds, showed that AA, UA, and CAF (≥ 4 –10-fold) caused peak overlapping/shifting, resulting in RSDE_x exceeding $1/2$ – $2/3$ of RSD_H , making it impossible to quantify PAR and CPM. D-Glucose, PG, and SOB had no effect. Among inorganic salts, NaCl and $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ affected the I_p of PAR, while $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ and CuCl_2 affected the I_p of CPM. Other salts had no influence, and no metal dissolution peaks were observed

3.1.12. Recovery

Three real samples (TD1: containing only PAR, TD2: containing only CPM, and TD3: blank) were analyzed using SqW-ASV (AuNPs/ErGO-GCE). The recoveries at three spiking levels ranged from 95.86–104.9 % for synthetic drugs and 96.15–104.3 % for herbal drugs, meeting AOAC standards, indicating that the method accuracy is satisfactory.

3.2. QUANTITATIVE DETERMINATION OF PARACETAMOL AND CHLORPHENIRAMINE

MALEATE BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

3.2.1. Optimization of chromatographic conditions

3.2.1.1. Detection wavelength

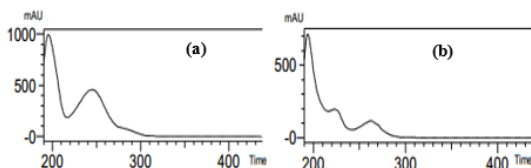


Figure 3.27. UV spectra of PAR (a) and CPM (b) at a concentration of 15 $\mu\text{g/mL}$.

The detection wavelength was selected based on the UV spectra of the five compounds: PAR and CPM exhibited maximum absorbance at 245 nm and 225 nm, respectively

3.2.1.2. Selection of the chromatographic column

An InertSustain™ C18 column (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm) was selected for the subsequent studies.

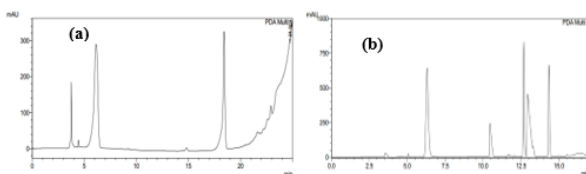


Figure 3.28. Chromatograms of PAR and CPM using Agilent Eclipse C18 column (150 mm \times 4.6 mm, 5 μm) (a) and InertSustain™ C18 column (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm) (b)

3.2.1.3. Effect of the mobile phase

Mobile phase system No.6 was selected for the simultaneous quantitative analysis of PAR and CPM.

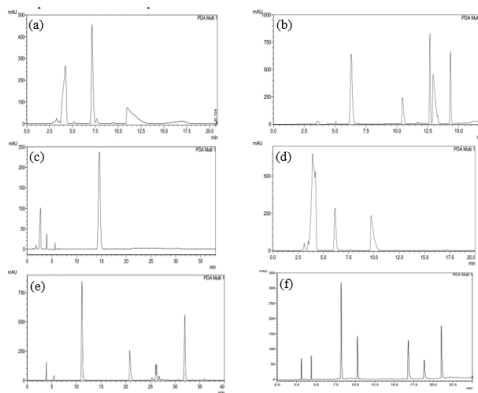
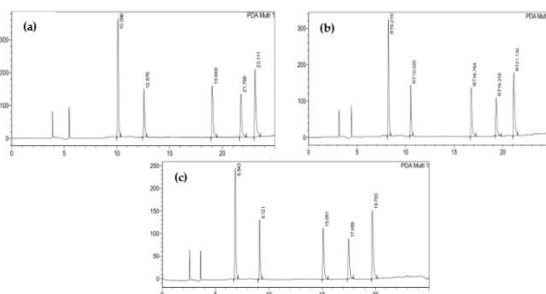


Figure 3.29. Chromatograms of PAR and CPM using mobile phase systems (1)–(6).

3.2.1.4. Effect of the mobile phase flow rate

The flow rate in high-performance liquid chromatography (HPLC) directly affects the retention time and resolution.



It was observed that the retention time and peak area had $RSD \leq 2\%$, the number of theoretical plates (N) > 2000 , and the tailing factor (T_f) ≤ 2 , indicating that the system and the selected chromatographic conditions are suitable for the simultaneous quantitative analysis of PAR and CPM.

3.2.2.2. *Selectivity*

The method exhibited high specificity for the detection of PAR and CPM in the investigated herbal formulations.

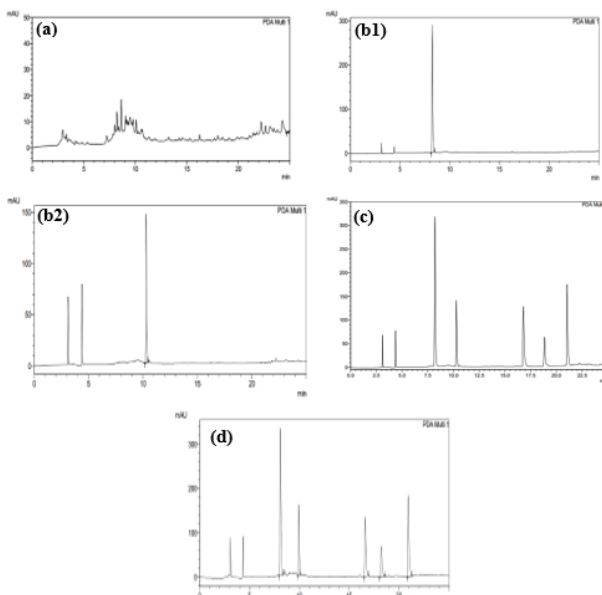


Figure 3.31. Chromatograms for specificity assessment: blank sample (a); single-component standard samples: PAR (b1), CPM (b2); multi-component standard sample (c); multi-component standard sample spiked into blank matrix (d).

3.2.2.3. Calibration curve construction

From the results of the calibration curve construction, it was observed that $t_{\text{calculated}} > t_{\text{table}}$, $p < 0.05$ and $R^2 > 0.99$ herefore, it can be concluded that there is a good linear correlation between peak area and analyte concentration within the investigated range of 10–40 $\mu\text{g/mL}$ [20, 119].

3.2.2.4. Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantification (LOQ)

The limits of detection and quantification for PAR and CPM were as follows: $\text{LOD}_{\text{PAR}} = 2.00 \mu\text{g/mL}$ ($\text{S/N} = 3.2$), $\text{LOQ}_{\text{PAR}} = 6.60 \mu\text{g/mL}$; $\text{LOD}_{\text{CPM}} = 2.00 \mu\text{g/mL}$ ($\text{S/N} = 3.9$), $\text{LOQ}_{\text{CPM}} = 6.60 \mu\text{g/mL}$.

3.2.2.5. Accuracy

The blank matrix was prepared, and PAR and CPM standards were spiked at three levels (15, 25, 35 $\mu\text{g/mL}$). The samples were processed and analyzed by HPLC in triplicate. The recoveries ranged from 94.27–104.80 %, meeting AOAC standards, indicating that the method possesses satisfactory accuracy.

3.2.2.6. Repeatability

The results showed that the intraday and interday repeatability of the five analytes had RSD values $< 3\%$, meeting the requirements of AOAC 2016.

3.3. OPTIMIZATION OF EXTRACTION CONDITIONS FOR PARACETAMOL AND CHLORPHENIRAMINE MALEATE MIXED IN HERBAL FORMULATIONS

3.3.1. Calibration curve construction

Based on these results, it can be concluded that there is a good linear correlation between peak area and the concentration of PAR and CPM, with $R^2_{\text{PAR}} = 0.9947$ and $R^2_{\text{CPM}} = 0.9980$. [119].

3.3.2. Optimization of the extraction process

The optimal extraction conditions were as follows: 96 % ethanol as the solvent, an extraction time of 14 minutes, and a solvent-to-sample ratio of 50.00 mL/g. The study focused on the simultaneous determination of paracetamol and chlorpheniramine using square-wave anodic stripping voltammetry (SqW-ASV) with a AuNPs/ErGO-modified glassy carbon electrode (GCE).

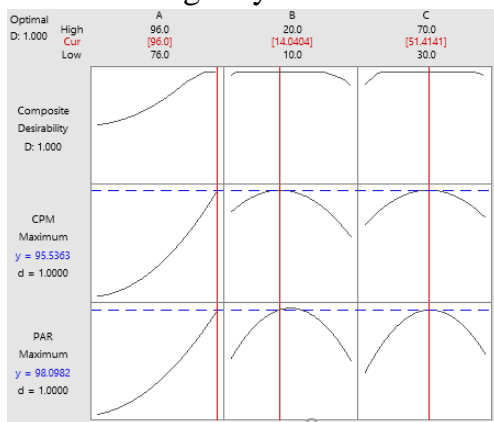


Figure 3.36. Graph illustrating the optimal conditions of the three factors A, B, and C.

3.4. APPLICATION TO REAL SAMPLE ANALYSIS

Table 3.8. Contents of PAR and CPM in seven herbal samples determined by SqW-ASV and HPLC-DAD methods.

Sample	Analyte	Content (*)		Content (mg/dose) TB \pm SD (n = 3)
		SqW-ASV (mg/g)	HPLC-DAD (mg/g)	
BNH093	PAR	198,2 \pm 2,319	197,2 \pm 0,045	215,7 \pm 0,049
	CPM	16,46 \pm 0,054	16,74 \pm 0,061	18,31 \pm 0,066
HCH04	PAR	141,5 \pm 7,146	141,0 \pm 0,02	307,1 \pm 0,005
	CPM	0,757 \pm 0,004	0,792 \pm 0,004	1,725 \pm 0,008
HCH164	PAR	34,00 \pm 0,838	34,17 \pm 0,022	87,41 \pm 0,056
	CPM	0,478 \pm 0,017	0,461 \pm 0,000	1,180 \pm 0,001
VNA01	CPM	5,764 \pm 0,387	5,831 \pm 0,017	4,553 \pm 0,013
VNA03	CPM	6,761 \pm 0,136	6,952 \pm 0,030	4,533 \pm 0,013
VNA04	CPM	7,300 \pm 0,844	7,573 \pm 0,003	3,547 \pm 0,002
VNA05	CPM	2,118 \pm 0,182	2,146 \pm 0,002	1,530 \pm 0,001

* The values are expressed as $TB \pm SD$ ($n = 3$)

The results showed that the calculated t-value ($t_{\text{calculated}} = 0.37$) was less than the tabulated t-value ($t_{\text{table}}(0.05; 9) = 2.26$), indicating that there is no statistically significant difference between the two methods. In addition, the confidence level $p = 0.07$ is greater than 0.05. This demonstrates that the SqW-ASV method using a AuNPs/ErGO-modified GCE is entirely feasible, highly reliable, and can be applied as an effective alternative to

HPLC-DAD for quality control of herbal medicines and health supplements.

CHAPTER 4. CONCLUSIONS

Based on the experimental results of this dissertation, the following conclusions can be drawn:

1. Development and characterization of AuNPs/ErGO-modified electrode for simultaneous determination of PAR and CPM: A gold nanoparticle/reduced graphene oxide (AuNPs/ErGO) material was successfully fabricated via an electrochemical reduction process for the simultaneous determination of paracetamol (PAR) and chlorpheniramine maleate (CPM). The AuNPs/ErGO material was characterized using modern physicochemical techniques, including XRD, SEM, FTIR, Raman, EDX, HR-TEM, EIS, and XPS. Several electrochemical properties of PAR and CPM at the electrode surface were determined, including the number of protons and electrons exchanged, which were equal and calculated as 4 for CPM and 2 for PAR. Key parameters were calculated, such as $\Gamma_{\text{PAR}} = 4.753 \times 10^{-6} \text{ mol cm}^{-2}$ and $\Gamma_{\text{CPM}} = 5.549 \times 10^{-6} \text{ mol cm}^{-2}$; $\alpha_{\text{PAR}} = 0.434$ and $\alpha_{\text{CPM}} = 0.449$. The effects of several parameters in the SqW-ASV method were investigated, including $E_{\text{acc}} = -0.9 \text{ V}$, $t_{\text{acc}} = 30 \text{ s}$, $f = 20 \text{ Hz}$, and $\Delta E = 30 \text{ mV}$. The linear ranges of PAR and CPM were determined by SqW-ASV to be 23.7–196 μM for PAR and 8.5–97.2 μM for CPM. The limits of detection (LOD) were 7.12 μM for PAR and 2.54 μM for CPM.

2. Simultaneous quantification of PAR and CPM in herbal formulations by HPLC-DAD: A procedure for the simultaneous quantification of PAR and CPM in herbal-based formulations was established using HPLC-DAD. Calibration curves for both compounds were constructed over the range of 10–40 $\mu\text{g/mL}$, with coefficients of determination (R^2) exceeding 0.99. Method accuracy was demonstrated through average recoveries ranging from 90 % to 105 %, and high repeatability, with relative standard deviations (RSD, %) within-day and between-day ranging from 0.71 % to 2.94 %. The LOD for both PAR and CPM was 2.00 $\mu\text{g/mL}$.

3. Optimization of extraction process for PAR and CPM: The extraction of paracetamol and chlorpheniramine maleate was optimized using response surface methodology with a Box–Behnken design. The investigated factors included ethanol concentration, extraction time, and solvent-to-sample ratio. The optimal extraction conditions were 96 % ethanol, 14.04 min extraction time, and a solvent-to-sample ratio of 51.41 mL/g. Under these conditions, the extraction efficiencies were 98.10 % for paracetamol and 95.64 % for chlorpheniramine maleate. The optimized results were verified experimentally and were in close agreement with the Box–Behnken model predictions: 97.61 ± 1.76 % ($n = 3$) for paracetamol and 96.50 ± 2.14 % ($n = 3$) for chlorpheniramine maleate. Finally, the developed SqW-ASV and HPLC-DAD procedures were applied to the

analysis of real market samples. Some samples were found positive for CPM alone, while others contained both CPM and PAR. Statistical analysis showed no significant difference between the results obtained by the two methods, demonstrating the reliability and applicability of the SqW-ASV method as an effective alternative to HPLC-DAD for quality control of herbal medicines and health supplements.

LIST OF PUBLICATIONS ARISING FROM THE DISSERTATION RESEARCH

1. **Huynh Van Chung**, Dao Thi Cam Minh, Tran Thi Thu Thuy, Nguyen Hai Phong (2025), Simultaneous detection of paracetamol, chlorpheniramine maleate, cinnarizine, loratadine, and cetirizine hydrochloride in preparations derived from medicinal herbs by using high-performance liquid chromatography, *Hue University Journal of Science: Natural Science*, vol. 134, No 1A, 89–101. DOI: 10.26459/hueunijns.v134i1A.7601
2. **Huynh Van Chung**, Nguyen Hai Phong, Nguyen Đang Thuy Anh, Dao Thi Cam Minh (2025), Optimizing the extraction process of paracetamol and chlorpheniramine maleate mixed in herb products, *Hue University Journal of Science: Natural Science*, vol. 134, No 1A, 113–121. DOI: 10.26459/hueunijns.v134i1A.7618
3. **Huynh Van Chung**, Nguyen Hai Phong, Dao Thi Cam Minh, Vu Thi Hong Nhung (2025), synthesis of nano gold/reduced graphene oxide and electrochemical properties for simultaneous determination of paracetamol and chlorpheniramine maleate, *Journal of Science and*

Technology, University of Sciences, Hue University, vol. 29, No 2, 13-26. DOI: 10.64302/joshusc.v29n2.1226

4. Dao Thi Cam Minh, Le Anh Thi, Tran Thi Thu Thuy, Nguyen Thi Kieu Anh, Pham Thi Thanh Ha, Tran Thuy Hanh, Nguyen Hai Phong, **Huynh Van Chung** (2024), Green HPLC–DAD method for the analysis of analgesic and antihistamine drugs adulterated in herbal mixtures, *Green Analytical Chemistry*, Volume 9, 100116. <https://doi.org/10.1016/j.greeac.2024.100116>. (ESCI, Q1, IF = 6.2).

5. **Huynh Van Chung**, Nguyen Hai Phong, Dao Thi Cam Minh, Ho Xuan Anh Vu, Pham Khac Lieu, Nguyen Thi Thanh Huyen, Trinh Ngoc Dat, Doan Manh Dung, Do Thi Duyen, Dinh Quang Khieu (2025), Electrochemical determination of paracetamol and chlorpheniramine using gold nanoparticles/reduced graphene oxide modified glassy carbon electrode, *Journal of Electrochemical Science and Engineering* 2841, <https://doi.org/10.5599/jese.2841> (ESCI, Q2, IF = 2.6).