

**Ghi chú:**

Tạp chất A: Acid (2S)-2-amino-3-(2,4,5-trihydroxyphenyl)propanoic.

Tạp chất B: Acid (2S)-2-amino-3-(4-hydroxyphenyl)propanoic (tyrosin).

Tạp chất C: Acid (2RS)-2-amino-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propanoic (3-methoxy-DL-tyrosin).

**Tạp chất đồng phân đối quang**

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

**Pha động:** Hòa tan riêng biệt 200 mg *đồng acetat (TT)* và 387 mg *N,N-dimethyl-L-phenylalanin (TT)* trong 250 ml nước; trộn hai dung dịch và điều chỉnh ngay đến pH 4,0 bằng *acid acetic (TT)*, thêm 50 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng nước. Trộn đều và lọc.

**Dung dịch thử:** Hòa tan 25 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

**Dung dịch đối chiếu (1):** Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 20,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với pha động.

**Dung dịch đối chiếu (2):** Hòa tan 10 mg *D-dopa (TT)* (tạp chất D) trong 10 ml dung dịch thử. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 100 ml với pha động.

**Điều kiện sắc ký:**

Cột kích thước (15 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel* hình cầu dùng cho sắc ký (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

**Cách tiến hành:**

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của levodopa.

Thời gian lưu tương đối so với levodopa (thời gian lưu khoảng 7 min) của tạp chất D khoảng 0,4.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic tạp chất D và pic levodopa ít nhất là 5.

**Giới hạn:**

Diện tích pic của tạp chất D không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

**Ghi chú:**

Tạp chất D: Acid (2R)-2-amino-3-(3,4-dihydroxyphenyl)propanoic (D-dopa).

**Mất khối lượng do làm khô**

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).  
(0,500 g; 105 °C).

**Tro sulfat**

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).  
Dùng 1,0 g chế phẩm.

**Định lượng**

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 5 ml *acid formic khan (TT)*, đun nóng nếu cần. Thêm 50 ml *acid acetic khan (TT)*.

Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD), xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD) tương đương với 19,72 mg C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>.

**Bảo quản**

Tránh ánh sáng.

**Loại thuốc**

Điều trị bệnh Parkinson.

**Chế phẩm**

Nang, viên nén.

**VIÊN NÉN LEVODOPA**

Là viên nén chứa levodopa.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

**Hàm lượng levodopa**, C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

**Định tính**

A. Cân một lượng bột viên tương ứng với 500 mg levodopa, thêm 25 ml dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT). Lắc kỹ, lọc. Điều chỉnh đến pH 3 bằng cách thêm từng giọt dung dịch amoniac 5 M (TT) kết hợp với khuấy, sau đó để lắng trong vài giờ, tránh ánh sáng. Lọc, rửa tủa với nước và sấy khô ở 105 °C. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của levodopa.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

**Bản mỏng:** Silica gel G.

**Dung môi khai triển:** n-Butanol - acid acetic băng - nước (50 : 25 : 25).

**Dung dịch thử:** Lắc một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g levodopa với 10 ml dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT), lọc.

**Dung dịch đối chiếu:** Dung dịch levodopa chuẩn 1 % trong dung dịch acid hydrochloric 1 M (TT).

**Cách tiến hành:** Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra và làm khô bằng không khí nóng, sau đó phun hỗn hợp đồng thể tích dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT) và dung dịch kali fericyanid 5 % (TT), quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày.

Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Cân một lượng bột viên tương ứng với 20 mg levodopa, thêm 5 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT), lắc kỹ để hòa tan. Thêm 0,1 ml dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT), dung dịch xuất hiện màu xanh lục. Chia đôi dung dịch vào 2 ống nghiệm, một ống nghiệm thêm một lượng

thừa dung dịch amoniac 5 M (TT), xuất hiện màu tím; một ống nghiệm thêm một lượng thừa dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT), xuất hiện màu đỏ.

#### Góc quay cực riêng

Từ  $-38,5^\circ$  đến  $-41,5^\circ$  (Phụ lục 6.4).

Xác định theo cách sau: Lắc một lượng bột viên chứa 1,25 g levodopa với 25 ml dung dịch acid hydrochloric 0,5 M (TT) trong 30 min, ly tâm và lọc, bỏ 5 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 10 ml dịch lọc cho vào bình định mức 50 ml, thêm 10 ml dung dịch nhôm sulfat 21,5 % và 20 ml dung dịch natri acetat 21,8 %, thêm nước vừa đủ, lắc đều, đo năng suất quay cực.

Lấy chính xác 5 ml dịch lọc trên cho vào bình định mức 200 ml, thêm dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều. Pha loãng 10 ml dung dịch này thành 200 ml với dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT). Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử ở bước sóng 280 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) làm mẫu trắng. Tính nồng độ của levodopa,  $C_9H_{11}NO_4$ , trong dịch lọc, lấy 142 là giá trị A (1 %, 1 cm) của levodopa ở bước sóng 280 nm, từ đó tính góc quay cực riêng.

#### Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: n-Butanol - acid acetic băng - nước (50 : 25 : 25).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g levodopa với 10 ml hỗn hợp đồng thể tích acid formic khan (TT) và methanol (TT), lọc, sử dụng ngay.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích bằng methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Là hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch thử và của một dung dịch được chuẩn bị như sau: Hòa tan 30 mg L-tyrosin trong 1 ml acid formic (TT) sau đó thêm methanol (TT) vừa đủ 100 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10  $\mu$ l dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1), 20  $\mu$ l dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra và làm khô bằng không khí nóng, sau đó phun hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT) và dung dịch kali fericyanid 5 % (TT), quan sát ngay lập tức sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có một vết tách rõ rệt có giá trị  $R_f$  lớn hơn giá trị  $R_f$  của vết chính và có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

#### Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giò quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Đối với viên chứa hàm lượng levodopa nhỏ hơn hoặc bằng 250 mg, hút chính xác 2 ml dịch lọc vào bình định mức 10 ml, thêm dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều. Đối với viên chứa hàm lượng levodopa lớn hơn 250 mg, hút chính xác 1 ml dịch lọc vào bình định mức 10 ml, thêm dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử ở bước sóng 280 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) làm mẫu trắng.

Tính lượng levodopa,  $C_9H_{11}NO_4$ , đã hòa tan trong mỗi viên từ độ hấp thụ đo được của dung dịch thử, lấy 142 là giá trị A (1 %, 1 cm) của levodopa ở bước sóng 280 nm.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng levodopa,  $C_9H_{11}NO_4$ , so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

#### Định lượng

Cân 20 viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 30 mg levodopa cho vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 70 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) lắc kỹ để hòa tan, thêm dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) vừa đủ đến vạch. Lắc đều, lọc, loại bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Hút chính xác 10 ml dịch lọc vào bình định mức 100 ml, thêm dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử ở bước sóng 280 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng dung dịch acid hydrochloric 0,1 M (TT) làm mẫu trắng. Tiến hành song song với chuẩn trong cùng điều kiện hoặc tính hàm lượng levodopa,  $C_9H_{11}NO_4$ , theo A (1 %, 1 cm), lấy 142 là giá trị A (1 %, 1 cm) của levodopa ở bước sóng 280 nm.

#### Bảo quản

Trong đồ đựng kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

#### Loại thuốc

Thuốc trị bệnh Parkinson.

#### Hàm lượng thường dùng

50 mg, 125 mg, 250 mg, 500 mg.

#### VIÊN NÉN LEVODOPA VÀ CARBIDOPA

Là viên nén hoặc viên nén bao chứa levodopa và carbidopa. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng carbidopa khan,  $C_{10}H_{14}N_2O_4$ , từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.