

RIBOFLAVIN

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM VI

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0	100	0
30	90	10
40	75	25
50	50	50
55	50	50
56	100	0
70	100	0

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ribavirin thu được từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch đối chiếu không lớn hơn 5,0 %.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử.

Giới hạn: Như yêu cầu đưa ra trong *Bảng 1*, bỏ qua các pic tạp chất có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Bảng 1 - Các tạp chất của ribavirin

Tạp chất	Thời gian lưu tương đối	Giới hạn (%)
Acid triazol ^b	0,35	— ^a
Acid ribavirin ^c	0,40	— ^a
Triazol amid ^d	0,64	— ^a
Ribavirin	1,0	— ^a
Ribavirin 5-isomer ^e	1,37	— ^a
Ribavirin methyl ester ^f	2,09	— ^a
Ribavirin 5'-acetyl ^g	2,43	— ^a
Ribavirin 5'-benzoyl ^h	4,83	— ^a
Tạp đơn khác	—	0,10
Tổng tạp chất	—	0,30

Ghi chú:

^a các tạp này là tạp trong quá trình sản xuất nguyên liệu và được kiểm soát trong nguyên liệu, không áp dụng tính tổng tạp trong chế phẩm.

^b Acid 1*H*-1,2,4-triazol-3-carboxylic.

^c Acid 1-β-*D*-ribofuranosyl-1*H*-1,2,4-triazol-3-carboxylic.

^d 1*H*-1,2,4-Triazol-3-carboxamid.

^e 1-β-*D*-ribofuranosyl-1*H*-1,2,4-triazol-3-carboxamid.

^f Methyl 1-β-*D*-ribofuranosyl-1*H*-1,2,4-triazol-3-carboxylat.

^g 1-(5-*O*-acetyl-β-*D*-ribofuranosyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-carboxamid.

^h 1-(5-*O*-benzoyl-β-*D*-ribofuranosyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-carboxamid.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm: Hòa tan 4,0 g natri dihydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước, điều chỉnh đến pH 5,0 ± 0,05 bằng dung dịch natri hydroxyd 5 % (TT), lọc qua màng lọc 0,45 μm.

Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm (1 : 49).

Dung môi pha mẫu: Acetonitril - nước (3 : 7).

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng

bột viên tương ứng với khoảng 120 mg ribavirin vào bình định mức 200 ml. Thêm 150 ml dung môi pha mẫu. Siêu âm trong 15 min (trong quá trình siêu âm thỉnh thoảng lắc bình). Để nguội về nhiệt độ phòng và thêm dung môi pha mẫu đến vạch, trộn đều. Ly tâm và gạn lấy dịch trong. Pha loãng 5,0 ml dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu, lọc.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 30 mg ribavirin chuẩn hòa tan trong vừa đủ 50,0 ml dung môi pha mẫu. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 207 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Thời gian chạy sắc ký: 10 min.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết tính trên pic ribavirin không nhỏ hơn 2000; hệ số đối xứng của pic ribavirin không lớn hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ribavirin thu được từ 5 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %.

Tính hàm lượng phần trăm của ribavirin, C₈H₁₂N₄O₅, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng C₈H₁₂N₄O₅ của ribavirin chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

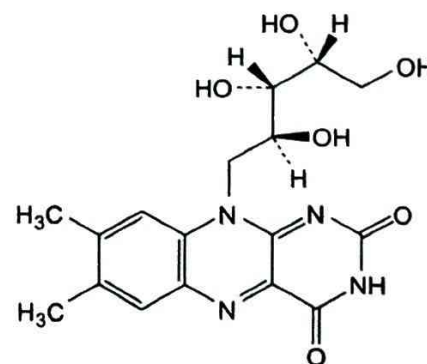
Loại thuốc

Thuốc kháng virus.

Hàm lượng thường dùng

200 mg, 400 mg.

RIBOFLAVIN



C₁₇H₂₀N₄O₆

P.t.l: 376,4

Riboflavin là 7,8-dimethyl-10-[(2S,3S,4R)-2,3,4,5-tetrahydroxypentyl]benzo[g]pteridin-2,4(3H,10H)-dion, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{17}H_{20}N_4O_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tiêu chuẩn này áp dụng cho riboflavin được sản xuất bằng phương pháp lên men.

Tính chất

Bột tinh thể màu vàng đến vàng cam, đa hình. Rất khó tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Dung dịch chế phẩm bị hỏng khi tiếp xúc với ánh sáng đặc biệt khi có mặt kiềm.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel (đày 2 μ m - 10 μ m).

Dung môi khai triển: Nước.

Dung dịch thử: Phân tán 25 mg chế phẩm trong 10 ml nước, lắc 5 min và lọc hỗn dịch để loại bỏ các thành phần không tan.

Dung dịch đối chiếu: Phân tán 25 mg riboflavin chuẩn trong 10 ml nước, lắc 5 min và lọc hỗn dịch để loại bỏ các thành phần không tan.

Cách tiến hành:

Sau mỗi lần chấm, làm khô bằng không khí mát rồi chấm tiếp. Vết 1: Chấm 2 μ l methylen clorid (TT) rồi chấm tiếp 2 μ l dung dịch thử. Vết 2: Chấm 2 μ l methylen clorid (TT) rồi chấm tiếp 2 μ l dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 6 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Góc quay cực riêng.

C. Hòa tan 1 mg chế phẩm trong 100 ml nước. Dung dịch có màu vàng xanh nhạt khi có ánh sáng truyền qua và có huỳnh quang xanh vàng đậm khi có ánh sáng phản chiếu. Huỳnh quang mất đi khi thêm acid vô cơ hay kiềm.

Góc quay cực riêng

Từ -115° đến -135° , tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chế phẩm 0,5 % trong dung dịch natri hydroxyd 0,05 M không có carbonat và đo trong vòng 30 min sau khi pha.

Độ hấp thụ ánh sáng

Pha loãng 25 ml dung dịch cuối cùng trong phần Định lượng với 25 ml nước.

Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được có cực đại hấp thụ ở bước sóng 223 nm, 267 nm, 373 nm và 444 nm. Tỷ lệ giữa độ hấp thụ ở bước sóng 373 nm và 267 nm phải từ 0,31 đến 0,33 và tỷ lệ giữa độ hấp thụ ở bước sóng 444 nm và 267 nm phải từ 0,36 đến 0,39.

Tạp chất liên quan

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

Pha động A: Acid phosphoric - nước (1 : 1000).

Pha động B: Acetonitril (TT).

Dung dịch A: Dung dịch natri acetat (TT) 1,36 %.

Dung dịch thử: Siêu âm hòa tan 0,120 g chế phẩm trong 10 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT) và pha loãng thành 100 ml bằng dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng dung dịch A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu (2): Siêu âm hòa tan riboflavin chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất C và D) có trong một lọ chuẩn trong 1,0 ml hỗn hợp pha động B - pha động A (1 : 9).

Dung dịch đối chiếu (3): Để tạo thành tạp chất A và B, hòa tan 10 mg chế phẩm trong 1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,5 M (TT). Để dưới ánh sáng ban ngày 1,5 h. Thêm 0,5 ml acid acetic (TT) và pha loãng thành 100 ml bằng nước.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 267 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μ l.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	90	10
5 - 20	90 $\rightarrow$ 80	10 $\rightarrow$ 20
20 - 25	80	20
25 - 35	80 $\rightarrow$ 50	20 $\rightarrow$ 50
35 - 45	50	50

Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo riboflavin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất C và D.

Thời gian lưu tương đối so với riboflavin (thời gian lưu khoảng 16 min): Tạp chất C khoảng 0,2; tạp chất D khoảng 0,5; tạp chất A khoảng 1,4; tạp chất B khoảng 1,9.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của tạp chất B ít nhất là 5. Sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) phải giống với sắc ký đồ được cung cấp kèm theo riboflavin chuẩn dùng để định tính pic.

Giới hạn:

Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: tạp chất A với 0,7; tạp chất B với 1,4; tạp chất C với 2,3; tạp chất D với 1,4.

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 0,25 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,025 %).

Tạp chất B, C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Bỏ qua những pic (trừ pic tạp chất A) có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 7,8,10-trimethylbenzo[g]pteridin-2,4(3H,10H)-dion (lumiflavin).

Tạp chất B: 7,8-dimethylbenzo[g]pteridin-2,4(1H,3H)-dion.

Tạp chất C: 6,7-dimethyl-8-[(2S,3S,4R)-2,3,4,5-tetrahydroxypentyl]pteridin-2,4(3H,8H)-dion.

Tạp chất D: 8-(hydroxymethyl)-7-methyl-10-[(2S,3S,4R)-2,3,4,5-tetrahydroxypentyl]benzo[g]pteridin-2,4(3H,10H)-dion.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng lượng chế phẩm sau khi thử chỉ tiêu Mất khối lượng do làm khô.

Định lượng

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Chuyển 65,0 mg chế phẩm vào bình định mức 500 ml màu nâu, thêm nước để chế phẩm hoàn toàn bằng 5 ml nước, thêm 5 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT), lắc để hòa tan. Ngay sau khi chế phẩm tan hoàn toàn, thêm 100 ml nước và 2,5 ml acid acetic băng (TT), thêm nước vừa đủ 500,0 ml. Hút 20,0 ml dung dịch thu được, thêm 3,5 ml dung dịch natri acetat (TT) 1,4 % và thêm nước vừa đủ 200,0 ml. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 444 nm.

Tính hàm lượng riboflavin, $C_{17}H_{20}N_4O_6$, theo A (1 %, 1 cm), lấy 328 là giá trị A (1 %, 1 cm) của riboflavin ở bước sóng 444 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin nhóm B.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN RIBOFLAVIN

Viên nén vitamin B₂

Là viên nén chứa riboflavin.

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 riboflavin, $C_{17}H_{20}N_4O_6$, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 1 mg riboflavin, thêm 100 ml nước, lắc kỹ, lọc. Dịch lọc có màu lục vàng nhạt và có huỳnh quang lục vàng đậm. Huỳnh quang mất đi khi thêm dung dịch kiềm hay acid vô cơ.

Định lượng

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg riboflavin, thêm hỗn hợp gồm 5 ml acid acetic băng (TT) và 100 ml nước, đun cách thủy 1 h, lắc liên tục. Thêm 50 ml nước, để nguội, thêm 30 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT) và lắc liên tục, pha loãng với nước thành 1000,0 ml, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc ở bước sóng cực đại khoảng 444 nm, trong cốc đo dày 1 cm. Tính hàm lượng riboflavin, $C_{17}H_{20}N_4O_6$, trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 328 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 444 nm.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

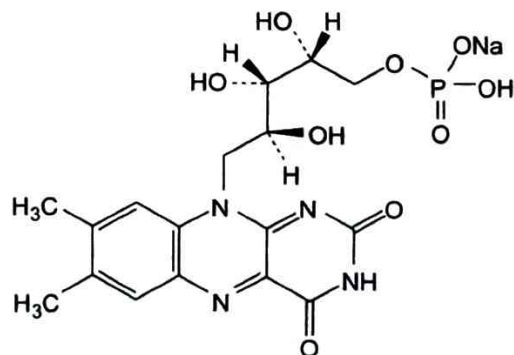
Loại thuốc

Vitamin nhóm B.

Hàm lượng thường dùng

2 mg.

RIBOFLAVIN NATRI PHOSPHAT



$C_{17}H_{20}N_4NaO_9P$

P.t.l: 478,3

Riboflavin natri phosphat là một hỗn hợp chứa thành phần chủ yếu là riboflavin 5'-(natri hydrophosphat) và các riboflavin natri monophosphat khác, phải chứa từ 73,0 %