

Thời gian lưu tương đối so với prednisolon (thời gian lưu khoảng 12 min): Tạp chất F khoảng 0,7; tạp chất B khoảng 0,9; tạp chất A khoảng 1,05; tạp chất J khoảng 1,5; tạp chất C khoảng 1,7.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 3; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất A so với đường nền và H_v là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm giữa pic tạp chất A và pic prednisolon.

Giới hạn:

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).

Tạp chất F: Diện tích pic tạp chất F không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).

Tạp chất B, C, J: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,3 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 15 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,5 %).

Bỏ qua những pic 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 (3) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 11 β ,17,21-trihydroxypregna-4-en-3,20-dion (hydrocortison).

Tạp chất B: 17,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,11,20-trion (prednison).

Tạp chất C: 11 β ,17-dihydroxy-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl acetat (prednisolon acetat).

Tạp chất D: 6 β ,11 β ,17,21-tetrahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion (6 β -hydroxyprednisolon).

Tạp chất E: 11 β ,14 α ,17,21-tetrahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion (14 α -hydroxyprednisolon).

Tạp chất F: 11 α ,17,21-trihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion (11-*epi*-prednisolon).

Tạp chất G: 11 β ,17,20 β ,21-tetrahydroxypregna-1,4-dien-3-on (20 β -hydroxyprednisolon).

Tạp chất H: 11 β ,17,21-trihydroxypregna-1,4,6-trien-3,20-dion (Δ^6 -prednisolon).

Tạp chất I: 11 β ,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion (17-deoxyprednisolon).

Tạp chất J: 17,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion (11-deoxyprednisolon).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 105 °C).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (4).

Tính hàm lượng phần trăm của $C_{21}H_{28}O_5$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (4) và hàm lượng của $C_{21}H_{28}O_5$ trong prednisolon chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Corticosteroid.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN PREDNISOLON

Là viên nén chứa prednisolon.

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 của prednisolon, $C_{21}H_{28}O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Lắc một lượng bột viên với *aceton* (TT), lọc và bay hơi dịch lọc đến khô. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của prednisolon.

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

Bản mỏng: *Kieselguhr G* được xử lý bằng cách đặt bản mỏng khô vào bình có chứa hỗn hợp *formamid* - *aceton* (1 : 9). Để dung môi chạy hết chiều dài bản mỏng, lấy bản mỏng ra và để bay hơi hết dung môi. Sử dụng bản mỏng trong vòng 2 h.

Dung môi khai triển: *Cloroform*.

Dung môi hòa tan: *Cloroform* - *methanol* (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 25 mg cặn thu được ở phép thử A hòa tan trong 10 ml dung môi hòa tan.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg prednisolon chuẩn trong 10 ml dung môi hòa tan.

Dung dịch đối chiếu (2): Hỗn hợp đồng thể tích dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cùng chiều chạy dung môi như khi xử lý bản mỏng đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và sấy bản mỏng 15 min ở 120 °C, phun lên bản mỏng nóng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol* (TT). Sấy tiếp bản mỏng ở 120 °C thêm 10 min. Để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh

sáng từ ngoại ở 365 nm, và kích thước với vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) chỉ cho 1 vết.

Tập chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trong bình định mức 1000 ml, trộn 220 ml *tetrahydrofuran* (TT) với 700 ml nước, trộn đều cẩn thận và để cho cân bằng. Pha loãng thành 1000,0 ml bằng nước và trộn đều.

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng 10 mg prednisolon với 25 ml *methanol* (TT) trong 10 min và lắc siêu âm trong 2 min. Lọc và rửa phễu lọc 2 lần, mỗi lần bằng 10 ml *methanol* (TT). Tập trung dịch lọc và dịch rửa, bốc hơi đến khô bằng cất quay trong cách thủy ẩm. Hòa tan cẩn thận được trong 10 ml *tetrahydrofuran* (TT) và pha loãng thành 20,0 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng dung dịch *tetrahydrofuran* (TT) 50 % (tt/tt).

Dung dịch phân giải: Hòa tan 2 mg prednisolon chuẩn và 2 mg hydrocortison chuẩn trong pha động để được 100,0 ml.

Mẫu trắng: Dung dịch *tetrahydrofuran* (TT) 50 % (tt/tt).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm), Cột Alltima C18 là thích hợp.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Nhiệt độ cột: 45 °C.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột bằng pha động khoảng 30 min.

Tiêm dung dịch phân giải. Khi sắc ký đồ ghi được trong điều kiện trên thì thời gian lưu của prednisolon khoảng 14 min và của hydrocortison khoảng 15,5 min. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic prednisolon và pic hydrocortison ít nhất là 2,2. Nếu cần thiết, có thể điều chỉnh tỷ lệ của *tetrahydrofuran* trong pha động.

Tiêm lần lượt theo thứ tự mẫu trắng, dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp 4,5 lần thời gian lưu của pic chính.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1 %). Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3 %). Bỏ qua các pic phụ có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,05 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu và các pic có thời gian lưu là 3 min hoặc nhỏ hơn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:

Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc.

Tiến hành xác định lượng prednisolon hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, điều kiện sắc ký như mô tả ở phần Định lượng. So sánh với dung dịch chuẩn prednisolon pha trong nước có nồng độ tương đương, có thể dùng một lượng nhỏ *methanol* (TT) (không quá 5 % thể tích) để hòa tan chuẩn trước khi hòa loãng với nước.

Yêu cầu:

Không ít hơn 75 % (Q) lượng prednisolon, C₂₁H₂₈O₅, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol* - nước (58 : 42).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa 0,005 % prednisolon chuẩn và 0,0075 % dexamethason chuẩn (nội chuẩn) trong hỗn hợp *methanol* - nước (58 : 42).

Dung dịch thử (1): Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 5 mg prednisolon vào bình định mức 100 ml, thêm 58 ml *methanol* (TT) lắc trong 10 min, thêm nước đến định mức, lắc đều, lọc.

Dung dịch thử (2): Tiến hành như dung dịch thử (1) nhưng thêm 10 ml dung dịch dexamethason 0,075 % trong *methanol* (TT) (nội chuẩn) và 48 ml *methanol* (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ phân giải giữa hai pic prednisolon và dexamethason phải lớn hơn 2,5. Số đĩa lý thuyết tính trên pic prednisolon, phải lớn hơn 15.000/m.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và các dung dịch thử.

Tính hàm lượng prednisolon, C₂₁H₂₈O₅, có trong viên dựa vào tỷ lệ diện tích pic prednisolon và dexamethason thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử (2) và hàm lượng C₂₁H₂₈O₅ của prednisolon chuẩn.

Bảo quản

Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Corticosteroid.

Hàm lượng thường dùng

5 mg.