

Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 1,250 g chế phẩm đã làm khô trong nước và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Dùng dung dịch thu được để đo.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - 2-methoxyethanol - methanol - nước - diethylamin (200 : 40 : 10 : 4 : 1).

Chuẩn bị các dung dịch sau ngay trước khi dùng, pha trong dung môi là methanol (TT) chứa 1 % (theo thể tích) dung dịch amoniac 2 M (TT).

Dung dịch thử: Chứa 0,5 mg chế phẩm trong 1 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Chứa 0,01 mg isoemetin hydrobromid chuẩn trong 1 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Chứa 0,01 mg cephaelin hydroclorid chuẩn trong 1 ml.

Dung dịch đối chiếu (3): Chứa 0,5 mg emetin hydroclorid chuẩn trong 1 ml.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 100 ml.

Dung dịch đối chiếu (5): Thêm 1 ml dung dịch đối chiếu (1) và 1 ml dung dịch đối chiếu (2) vào 1 ml dung dịch đối chiếu (3).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1), (2), (3), (4) và 30 µl dung dịch đối chiếu (5). Sau khi triển khai được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng để khô ngoài không khí đến khi bay hết hơi dung môi. Phun dung dịch iod 0,5 % trong cloroform, sấy bản mỏng ở 60 °C trong 15 min và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Bất kỳ vết nào tương ứng với vết của isoemetin và cephaelin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử không được đậm màu hơn các vết tương ứng trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) và (2) (2,0 %) và bất kỳ một vết phụ nào khác cũng không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (4) (1,0 %).

Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (5) có 3 vết tách riêng rõ rệt.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 15,0 % đến 19,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,00 g, 105 °C; 3 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 5,0 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT) và 50 ml ethanol 96 % (TT). Tiến hành chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), dùng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CEĐ). Đọc thể tích của dung dịch chuẩn độ đã tiêu thụ giữa hai điểm uốn.

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CEĐ) tương đương 27,68 mg $C_{29}H_{40}N_2O_4 \cdot 2HCl$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

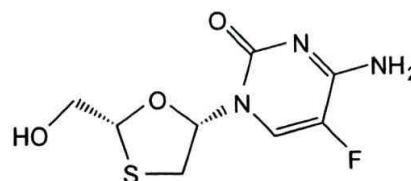
Loại thuốc

Trị giun sán.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

EMTRICITABIN



$C_8H_{10}FN_3O_3S$

P.t.l: 247,2

Emtricitabin là 5-fluoro-1-[(2R,5S)-2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolan-5-yl]cytosin, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_8H_{10}FN_3O_3S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh đa hình màu trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong methanol và nước, thực tế không tan trong methylen clorid.

Sản xuất

Quy trình sản xuất dược chất phải đảm bảo chế phẩm đáp ứng chỉ tiêu (2S, 5R)-enantiomer không quá 0,3 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C, D.

Nhóm II: A, C.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của emtricitabin chuẩn hoặc phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của emtricitabin. Nếu phổ hồng ngoại ở trạng thái rắn của chế phẩm khác với phổ hồng ngoại của emtricitabin chuẩn thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và emtricitabin chuẩn trong methanol (TT), bốc hơi tới gần rồi tiến hành ghi lại phổ mới của cần. B. Hòa tan 2 mg chế phẩm trong 100 ml nước. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 350 nm, dung dịch thu được phải cho hai cực đại hấp thụ ở bước sóng 237 nm và 281 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng 237 nm từ 325 đến 355 và ở bước sóng 281 nm từ 340 đến 370.

C. Góc quay cực riêng: Từ -105,0° đến -115,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chứa 2,5 mg/ml chế phẩm trong nước để đo.

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

Bản mỏng: Silica gel 60 F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Dicloromethan - methanol - acid acetic băng (90 : 10 : 3).

Dung dịch thử: Dung dịch chứa 5 mg/ml chế phẩm trong methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chứa 5 mg/ml emtricitabin chuẩn trong methanol (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. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, kích thước và độ đậm.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm: Hòa tan 27,22 g kali dihydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước.

Pha động A: Dung dịch đệm - nước (5 : 95).

Pha động B: Acetonitril - dung dịch đệm - nước (70 : 5 : 25).

Dung dịch thử: Dung dịch chứa 0,5 mg/ml chế phẩm trong nước.

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

Dung dịch đối chiếu (2): Trộn đều 5 ml dung dịch thử và 2 ml hỗn hợp 115 g acid phosphoric (TT) và 885 ml nước, đặt trong cách thủy sôi trong 15 min.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh base deactivated end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 µm).

Nhiệt độ cột: 35 °C.

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

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 - 9	93	7
9 - 15	93 → 0	7 → 100
15 - 19	0	100
19 - 19,1	0 → 93	100 → 7
19,1 - 30	93	7

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic emtricitabin (thời gian lưu khoảng 9 min) và pic tạp chất có thời gian lưu tương đối so với emtricitabin bằng 1,3 không nhỏ hơn 6.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Các tạp chất rửa giải ra trước pic chính: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %) và không quá 2 tạp chất có diện tích pic lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Các tạp chất rửa giải ra sau pic chính: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 7 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,7 %) và không quá 2 tạp chất có diện tích pic lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất (trừ pic chính) không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1 %).

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 (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (2RS,5SR)-5-(4-amino-5-fluoro-2-oxopyrimidin-1(2H)-yl)-1,3-oxathiolan-2-carboxylic.

Tạp chất B: 4-Amino-5-fluoro-1-[(2RS,5RS)-2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolan-5-yl]pyrimidin-2(1H)-on (racemic trans-emtricitabin).

Tạp chất C: 4-Amino-1-[(2R,5S)-2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolan-5-yl]pyrimidin-2(1H)-on (lamivudin).

Tạp chất D: 4-Amino-5-fluoro-1-[(2S,5R)-2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolan-5-yl]pyrimidin-2(1H)-on (emtricitabin enantiomer).

Tạp chất E: 4-Amino-5-fluoropyrimidin-2(1H)-on (5-fluorocytosin).

Tạp chất F: 5-Fluoropyrimidin-2,4(1H,3H)-dion (5-fluorouracil).

Tạp chất G: 4-Amino-5-fluoro-1-[(2R,3S,5S)-2-(hydroxymethyl)-3-oxo-1,3-oxa-λ4-thiolan-5-yl]pyrimidin-2(1H)-on (emtricitabin S-oxid (S)-epimer).

Tạp chất H: 4-Amino-5-fluoro-1-[(2R,3R,5S)-2-(hydroxymethyl)-3-oxo-1,3-oxa-λ4-thiolan-5-yl]pyrimidin-2(1H)-on (emtricitabin S-oxid (R)-epimer).

Tạp chất I: 1,1'-[Disulfanediy]bis(methylen-(2R,5S)-1,3-oxathiolan-2,5-diy)]bis(4-amino-5-fluoropyrimidin-2(1H)-on).

Tạp chất J: 4-Amino-5-fluoro-1-[(2S,4S)-2-(hydroxymethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]pyrimidin-2(1H)-on.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 20 ml nước. Lấy 12,0 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo Phương pháp 1. Dùng 10,0 ml dung dịch chỉ mẫu 1 phần triệu Pb (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

*Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 3 h).*

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 40 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 24,73 mg $C_8H_{10}FN_3O_3S$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc

Thuốc kháng retrovirus.

Chế phẩm

Viên nén, nang.

NANG EMTRICITABIN

Là nang cứng chứa emtricitabin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng emtricitabin, $C_8H_{10}FN_3O_3S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

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

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan và lọc qua màng lọc 0,45 μm , bỏ vài mililit dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc bằng môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ emtricitabin tương đương nồng độ dung dịch chuẩn.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa 10 $\mu g/ml$ emtricitabin chuẩn trong môi trường hòa tan.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng 280 nm. Mẫu trắng là môi trường hòa tan, dùng cốc đo 1 cm.

Tính lượng emtricitabin, $C_8H_{10}FN_3O_3S$, đã hòa tan dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của $C_8H_{10}FN_3O_3S$ trong emtricitabin chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng emtricitabin, $C_8H_{10}FN_3O_3S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm: Hòa tan 27,2 g *kali dihydrophosphat* (TT) trong 1000 ml nước.

Pha động A: *Dung dịch đệm - nước* (5 : 95).

Pha động B: *Acetonitril - dung dịch đệm - nước* (70 : 5 : 25).

Dung môi pha mẫu: *Acetonitril - nước* (20 : 80).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột thuốc trong nang tương đương với khoảng 50 mg emtricitabin trong 80 ml dung môi pha mẫu và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng dung dịch thử bằng dung môi pha mẫu để thu được dung dịch chứa 0,50 $\mu g/ml$ emtricitabin.

Dung dịch phù hợp hệ thống: Trộn đều 5 ml dung dịch thử và 2 ml dung dịch *acid phosphoric* (TT) 12 %, đặt trong cách thủy sôi trong 15 min.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 μm).

Nhiệt độ cột: 35 °C.

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl .

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 - 9	93	7
9 - 15	93 $\rightarrow$ 0	7 $\rightarrow$ 100
15 - 19	0	100
19 - 19,1	0 $\rightarrow$ 93	100 $\rightarrow$ 7
19,1 - 30	93	7

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu và dung dịch phù hợp hệ thống.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phù hợp hệ thống, độ phân giải giữa pic emtricitabin (thời gian lưu khoảng 9 min) và pic tạp chất có thời gian lưu tương đối so với emtricitabin bằng 1,3 không nhỏ hơn 6.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Các tạp chất rửa giải ra trước pic chính: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %) và không quá 2 tạp chất có diện tích pic lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %).

Các tạp chất rửa giải ra sau pic chính: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 8 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,8 %) và không quá 2 tạp chất có diện tích pic lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %).