

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng levonorgestrel chuẩn pha trong pha động, lắc, siêu âm nếu cần để có dung dịch gốc có nồng độ levonorgestrel chuẩn chính xác khoảng 300 µg/ml. Pha loãng dung dịch thu được với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ levonorgestrel khoảng 0,06 µg/ml.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ levonorgestrel khoảng 0,06 µg/ml.

Với viên hàm lượng levonorgestrel lớn hơn hoặc bằng 100 µg

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 500 ml dung dịch acid hydrochloric 0,1 M có chứa 0,1 % natri lauryl sulfat.

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Pha động và điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Độ đồng đều hàm lượng với thể tích tiêm mẫu là 100 µl.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng levonorgestrel chuẩn pha trong pha động, lắc, siêu âm nếu cần để có dung dịch gốc có nồng độ levonorgestrel chuẩn chính xác khoảng 300 µg/ml. Pha loãng dung dịch thu được với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ levonorgestrel khoảng 1,5 µg/ml.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ levonorgestrel khoảng 1,5 µg/ml.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng levonorgestrel, $C_{21}H_{28}O_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Độ đồng đều hàm lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - nước (50 : 50).

Dung dịch thử: Thêm 5,0 ml pha động vào một viên chế phẩm, hòa tan bằng siêu âm trong 45 min (cách khoảng 15 min lại lắc trộn đều), ly tâm và dùng lớp dung dịch phía trên. Nếu cần, pha loãng dung dịch thu được để có nồng độ levonorgestrel 6 µg/ml.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa 6 µg/ml levonorgestrel chuẩn pha trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Cột Hypersil ODS là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.

Thể tích tiêm: 25 µl.

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 levonorgestrel trên một mét chiều dài cột không nhỏ hơn 5000.

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

Tính hàm lượng levonorgestrel, $C_{21}H_{28}O_2$, trong viên dựa vào diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{21}H_{28}O_2$ trong levonorgestrel chuẩn.

Định lượng

Sử dụng kết quả trung bình của 10 lần định lượng trong phép thử Độ đồng đều hàm lượng.

Bảo quản

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

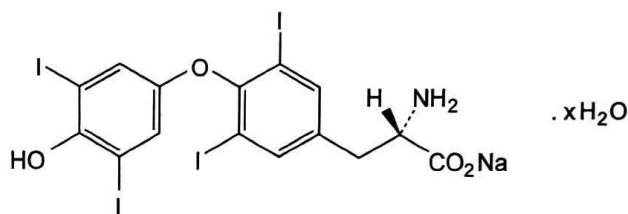
Loại thuốc

Progestogen.

Hàm lượng thường dùng

0,030 mg; 0,75 mg; 1,5 mg.

LEVOTHYROXIN NATRI



$C_{15}H_{10}I_4NNaO_4 \cdot xH_2O$ (với $x \approx 5$) P.t.l: 798,9 (dạng khan)

Levothyroxin natri là natri (2S)-2-amino-3-[4-(4-hydroxy-3,5-diiodophenoxy)-3,5-diiodophenyl]propanoat, chế phẩm thường chứa lượng nước thay đổi, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu gần như trắng hoặc vàng nâu nhạt, mịn, khó hút ẩm.

Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, tan được trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của levothyroxin natri chuẩn.

B. Thêm 2 ml dung dịch acid sulfuric 10 % (TT) vào 200 mg chế phẩm. Đun nóng trên cách thủy rồi sau đó đốt cẩn thận trên ngọn lửa, tăng dần nhiệt độ cho tới khoảng $600^\circ C \pm 50^\circ C$. Tiếp tục nung cho tới khi hầu như không còn các tiểu phân màu đen. Hòa tan cẩn trong 2 ml nước. Dung dịch thu được phải cho phản ứng (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

Màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 23 ml hỗn hợp dung môi *dung dịch acid hydrochloric 1 M - ethanol 96 %* (1 : 4) đang sôi nhẹ. Để nguội và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch S mới pha không được có màu đậm hơn màu mẫu VN₃ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ +16° đến +20°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S mới pha để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Thực hiện trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động A: Hòa tan 1,97 g *acid phosphoric* (TT) trong nước và pha loãng thành 2 L với cùng dung môi.

Pha động B: Hòa tan 1,97 g *acid phosphoric* (TT) trong *acetonitril* (TT₁) và pha loãng thành 2 L với cùng dung môi.

Hỗn hợp dung môi: *Pha động A - ethanol 96 %* (1 : 2).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2,5 mg levothyroxin natri chuẩn và 2,5 mg liothyronin natri chuẩn (tạp chất A) trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 25,0 mg levothyroxin natri chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 2,0 mg levothyroxin chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất F và G) trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi và siêu âm trong 10 min.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel* dùng cho sắc ký (3 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 25 μl dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1), (2), (4).

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 - 10	70	30
10 - 40	70 → 20	30 → 80
40 - 50	20	80

Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo levothyroxin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất F và G.

Thời gian lưu tương đối so với levothyroxin (thời gian lưu khoảng 11 min): Tạp chất A khoảng 0,5; tạp chất F khoảng 2,0; tạp chất G khoảng 2,4.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất A với pic của levothyroxin ít nhất là 5,0.

Giới hạn:

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

Tạp chất F: Diện tích pic tạp chất F không được lớn hơn 5 lần diện tích pic levothyroxin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Tạp chất G: Diện tích pic tạp chất G không được lớn hơn 3 lần diện tích pic levothyroxin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic levothyroxin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Tổng các tạp chất: Không được quá 2,0 %.

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,5 lần diện tích pic levothyroxin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: (2S)-2-amino-3-[4-(4-hydroxy-3-iodophenoxy)-3,5-diiodophenyl]propanoic (liothyronin).

Tạp chất B: Acid (2S)-2-amino-3-[4-(3-cloro-4-hydroxy-5-iodophenoxy)-3,5-diiodophenyl]propanoic.

Tạp chất C: Acid [4-(4-hydroxy-3-iodophenoxy)-3,5-diiodophenyl] acetic (triiodothyroacetic).

Tạp chất D: Acid [4-(4-hydroxy-3,5-diiodophenoxy)-3,5-diiodophenyl] acetic (tetraiodothyroacetic).

Tạp chất E: Acid (2S)-2-amino-3-[4-(4-hydroxyphenoxy)-3,5-diiodophenyl] propanoic (diiodothyronin).

Tạp chất F: Acid (2S)-2-amino-3-[4-[4-(4-hydroxy-3,5-diiodophenoxy)-3,5-diiodophenoxy]-3,5-diiodophenyl]propanoic.

Tạp chất G: Chưa biết cấu trúc.

Tạp chất H: Acid 4-(4-hydroxy-3,5-diiodophenoxy)-3,5-diiodobenzoic.

Tạp chất I: 4-(4-hydroxy-3,5-diiodophenoxy)-3,5-diiodobenzaldehyd.

Tạp chất J: Acid (2S)-2-amino-3-[4-(4-hydroxy-3-iodophenoxy)-3-iodophenyl]propanoic.

Tạp chất K: Acid (2S)-2-amino-3-[4-(4-hydroxy-3,5-diiodophenoxy)-3-iodophenyl]propanoic.

Nước

Từ 6,0 % đến 12,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,100 g chế phẩm.

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 và dung dịch đối chiếu (3). Tính hàm lượng của C₁₅H₁₀I₄NNaO₄ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng của C₁₅H₁₀I₄NNaO₄ trong levothyroxin natri chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc

Hormon tuyến giáp.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN LEVOTHYROXIN

Là viên nén chứa levothyroxin natri.

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

Hàm lượng levothyroxin natri, $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. 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 levothyroxin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 0,5 mg levothyroxin natri khan, thêm hỗn hợp 3 ml *ethanol* 50 % (TT) và 0,2 ml *acid hydrochloric* (TT), đun sôi nhẹ trong 30 s. Để nguội, lọc, thêm vào dịch lọc 0,1 ml *dung dịch natri nitrit* 10 % (TT) và đun sôi, xuất hiện màu vàng. Để nguội và kiểm hóa bằng *dung dịch amoniac* 5 M (TT), dung dịch có màu cam.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 500 ml *dung dịch acid hydrochloric* 0,01 M có chứa 0,2 % *natri laury sulfat*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Với viên hàm lượng levothyroxin natri nhỏ hơn hoặc bằng 50 µg: Cho 2 viên vào một cốc hòa tan.

Với viên hàm lượng levothyroxin natri lớn hơn 50 µg: Cho 1 viên vào một cốc hòa tan.

Cách tiến hành:

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước - acetonitril - acid phosphoric (700 : 300 : 5).

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc qua màng lọc 0,45 µm, bỏ dịch lọc đầu. (Chú ý: Trước khi dùng màng lọc phải kiểm tra sự hấp thụ được chất của màng lọc).

Dung dịch chuẩn gốc: Dung dịch chứa 0,1 mg/ml levothyroxin natri chuẩn trong *methanol* (TT).

Dung dịch chuẩn: Pha loãng dung dịch chuẩn gốc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ levothyroxin natri chuẩn tương đương nồng độ dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *nitril silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm) (cột Spherisorb S5 CN là thích hợp).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 500 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic levothyroxin thu được từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 4,0 %.

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

Tính lượng levothyroxin natri, $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$, đã hòa tan dựa vào diện tích các pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ trong levothyroxin natri chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng levothyroxin natri, $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Pha động, điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.

Dung dịch thử: Lấy một viên, thêm *dung dịch natri hydroxyd* 0,05 M (TT) để thu được dung dịch có nồng độ levothyroxin natri khan khoảng 6 µg/ml, lắc siêu âm đến khi viên phân tán hoàn toàn. Để nguội và lắc 2 min, thêm *dung dịch natri hydroxyd* 0,05 M (TT) vừa đủ để có nồng độ khoảng 0,0004 % levothyroxin natri khan.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa 0,0004 % levothyroxin natri chuẩn trong *dung dịch natri hydroxyd* 0,05 M (TT).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước - acetonitril - acid phosphoric (700 : 300 : 5).

Dung môi pha mẫu: Hỗn hợp đồng thể tích *methanol* (TT) và *dung dịch natri hydroxyd* 0,1 M (TT).

Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên. Phân tán một lượng bột viên tương đương 0,1 mg levothyroxin natri khan bằng cách lắc siêu âm 10 min với 8 ml dung môi pha mẫu. Tiếp tục lắc 2 min, để nguội và thêm dung môi pha mẫu vừa đủ 10,0 ml, lọc.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa 0,001 % levothyroxin natri chuẩn trong dung môi pha mẫu.

Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa 0,0005 % liothyronin chuẩn và 0,0005 % levothyroxin natri chuẩn trong dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *nitril silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm) (cột Nucleosil 5 CN là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.