

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 20	95 → 40	5 → 60
20 - 25	40	60

Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo hỗn hợp tạp chất chuẩn của enalapril và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của các tạp chất B, C, D, E và H. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A.

Thời gian lưu tương đối so với enalapril (thời gian lưu khoảng 11 min): Tạp chất C khoảng 0,2; tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất A khoảng 1,1; tạp chất H khoảng 1,3; tạp chất E khoảng 1,5; tạp chất D khoảng 2,1.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 10; 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 enalapril.

Giới hạn:

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

Tạp chất B, C, D, E, H: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

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

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

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %) và pic của acid maleic.

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (2S)-1-[(2S)-2-[(1R)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]pyrrolidin-2-carboxylic.

Tạp chất B: Acid (2S)-2-[(1S)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoic.

Tạp chất C: Acid (2S)-1-[(2S)-2-[(1S)-1-carboxy-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]pyrrolidin-2-carboxylic.

Tạp chất D: Ethyl (2S)-2-[(3S,8aS)-3-methyl-1,4-dioxo-octahydropyrido[1,2-a]pyrazin-2-yl]-4-phenylbutanoat.

Tạp chất E: Acid (2S)-1-[(2S)-2-[(1S)-3-phenyl-1-[(2-phenylethoxy)carbonyl]propyl]amino]propanoyl]pyrrolidin-2-carboxylic.

Tạp chất F: Acid (2S)-1-[(2S)-2-[(1S)-1-(butoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]pyrrolidin-2-carboxylic.

Tạp chất G: Acid (2S)-2-[(1S)-3-cyclohexyl-1-(ethoxycarbonyl)propyl]amino]propanoic.

Tạp chất H: Acid (2S)-1-[(2S)-2-[(1S)-3-cyclohexyl-1-(ethoxycarbonyl)propyl]amino]propanoyl]pyrrolidin-2-carboxylic.

Tạp chất I: 1H-imidazol.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu Pb (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (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 0,100 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 30 ml với cùng dung môi. Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Lấy điểm kết thúc của phép chuẩn độ tại bước nhảy thứ hai trên đường cong chuẩn độ.

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ) tương đương với 16,42 mg $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Tác nhân ức chế men chuyển angiotensin.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN ENALAPRIL

Là viên nén chứa enalapril maleat.

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 enalapril maleat, $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Butan-1-ol - nước - acid acetic băng (60 : 25 : 15).

Dung dịch hiện màu: Hòa tan 0,85 g bismuth nitrat base (TT) trong hỗn hợp 10 ml acid acetic băng (TT) và 40 ml nước. Trộn đồng thể tích của dung dịch thu được và dung dịch kali iodid 40 %. Pha loãng 10 thể tích hỗn hợp này với 20 thể tích acid acetic băng (TT) và 70 thể tích nước ngay trước khi dùng.

Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với 20 mg enalapril maleat, thêm 10 ml ethanol 90 % (TT), lắc trong 10 min, ly tâm. Sử dụng dịch trong ở trên.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch enalapril maleat chuẩn 0,2 % trong ethanol 90 % (TT).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun dung dịch hiện màu, rồi phun tiếp *dung dịch hydrogen peroxyl loãng (TT)*. Vết chính 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.

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

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch A, pha động, dung dịch thử, dung dịch phân giải và các điều kiện sắc ký: Thực hiện như mô tả trong mục Định lượng.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với dung dịch A.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống như mục Định lượng. Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với enalaprilat không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu; diện tích của pic tương ứng với enalapril diketopiperazin không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu.

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: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ enalapril maleat khoảng 0,00028 %. Pha dung dịch enalapril maleat chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ chính xác khoảng 0,00028 %.

Tiến hành sắc ký như mô tả trong mục Định lượng.

Tính lượng enalapril maleat, $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$, đã hòa tan trong mỗi viên.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng enalapril maleat, $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$, so với hàm lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Dung dịch A: Hòa tan 1,56 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong 800 ml nước, điều chỉnh pH tới 2,2 với *acid phosphoric (TT)* và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Pha động: Acetonitril - dung dịch A (25 : 75).

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

viên tương ứng với khoảng 10 mg enalapril maleat, thêm 50 ml dung dịch A, lắc siêu âm trong 15 min, lắc cơ học thêm 30 min nữa và thêm dung dịch A vừa đủ 100 ml. Tiếp tục lắc siêu âm dung dịch thu được thêm 15 min nữa, sau đó lọc qua màng lọc 0,45 μ m.

Dung dịch chuẩn gốc enalaprilat: Dung dịch enalaprilat chuẩn nồng độ 0,1 mg/ml trong nước.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 10 mg enalapril chuẩn, chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml dung dịch A, lắc siêu âm 15 min. Để nguội, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn gốc enalaprilat và thêm dung dịch A vừa đủ đến định mức. Dung dịch thu được có nồng độ enalapril maleat 0,1 mg/ml và enalaprilat 0,001 mg/ml.

Dung dịch enalapril diketopiperazin: Cho khoảng 20 mg enalapril maleat chuẩn vào cốc dung tích 100 ml sao cho tạo thành khối ở đáy cốc. Đặt cốc lên bếp đun nóng đến khi mẫu có màu vàng, lấy cốc ra để nguội (chú ý không để mẫu có màu nâu). Thêm 50 ml *acetonitril (TT)*, lắc siêu âm để hòa tan.

Dung dịch phân giải: Pha loãng 1 ml dung dịch enalapril diketopiperazin thành 50 ml với dung dịch chuẩn.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 μ m).

Nhiệt độ cột: 50 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 μ l.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối của các pic lần lượt như sau: acid maleic 0,3; enalaprilat 0,5; enalapril 1,0 và enalapril diketopiperazin là 1,5. Độ phân giải giữa pic enalapril và pic enalapril diketopiperazin không dưới 2,0.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng tính trên pic enalapril không lớn hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic enalapril từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0.

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

Tính hàm lượng enalapril maleat, $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$, trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic enalapril thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{28}N_2O_5 \cdot C_4H_4O_4$ của enalapril maleat chuẩn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng

5 mg; 10 mg; 20 mg.