

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch đối chiếu, dung dịch thử. Thời gian ghi sắc ký đồ của dung dịch thử gấp 3 lần thời gian lưu của lamivudin. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào trừ pic chính đều không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,3 %), không có quá 1 pic có diện tích lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %), không có quá 2 pic có diện tích lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %) và tổng diện tích của tất cả các pic trừ pic chính không được lớn hơn 6 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,6 %). Loại bỏ các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

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: 45 min.

Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng có hấp thụ cực đại khoảng 280 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan.

Tính lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch lamivudin chuẩn có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, 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 và điều kiện sắc ký thực hiện như mô tả ở phần Tập chất liên quan.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng lamivudin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,02 %.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg lamivudin vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml pha động và lắc siêu âm để hòa tan. Pha loãng bằng pha động đến định mức và trộn đều. Lọc qua giấy lọc và bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc bằng pha động vừa đủ 25,0 ml.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic lamivudin trong 6 lần tiêm lặp lại nhỏ hơn 2,0 %.

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

Tính lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của $C_8H_{11}N_3O_3S$ trong lamivudin chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

Đề nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng virus.

Hàm lượng thường dùng

150 mg và 300 mg.

VIÊN NÉN LAMIVUDIN VÀ ZIDOVUDIN

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa lamivudin và zidovudin.

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 lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng zidovudin, $C_{10}H_{13}N_5O_4$, 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 GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Acid acetic - methanol - dicloromethan (3 : 10 : 90).

Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 0,1 g zidovudin với 50 ml methanol (TT), lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg lamivudin chuẩn trong 50 ml methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 100 mg zidovudin chuẩn trong 50 ml methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên và để khô vết. Triển khai sắc ký trong bình đã bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 bản mỏng. Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát ngay bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho hai vết chính tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và (2).

B. Trong phần Định lượng, hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic lamivudin và zidovudin 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: 75 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch amoni acetat 0,77 % (1 : 9).
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu.

Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch hỗn hợp lamivudin và zidovudin chuẩn trong môi trường hòa tan để có nồng độ tương đương với dung dịch thử, có thể dùng một lượng nhỏ methanol (TT) để hòa tan nhưng không quá 2 %.

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Trên sắc ký đồ thu được, số đĩa lý thuyết không nhỏ hơn 1500 tính trên pic lamivudin, không nhỏ hơn 3000 tính trên pic zidovudin, hệ số đối xứng của pic lamivudin và zidovudin không lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic lamivudin và zidovudin 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 lượng lamivudin và zidovudin đã hòa tan trong mỗi viên từ diện tích pic lamivudin và zidovudin trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_8H_{11}N_3O_3S$ trong lamivudin chuẩn và $C_{10}H_{13}N_5O_4$ trong zidovudin chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, và zidovudin, $C_{10}H_{13}N_5O_4$, 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).

Pha động, dung môi pha loãng, dung dịch thử, dung dịch phân giải, điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống như mô tả trong phần Định lượng.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Với điều kiện sắc ký nêu trên, các pic lần lượt rửa giải theo thứ tự và thời gian lưu tương đối như sau:

Tên chất	Thời gian lưu tương đối
Tạp lamivudin (cytosin)	0,11
Tạp lamivudin (uracil)	0,14
Tạp lamivudin (acid carboxylic)	0,17
Tạp lamivudin (S-sulfoxyd)	0,20
Tạp lamivudin (R-sulfoxyd)	0,22
Tạp chất C của zidovudin (thymine)	0,27
Lamivudin diastereomer	0,50
Lamivudin	0,52
Tạp zidovudin (thymidin)	0,60
Tạp lamivudin (dẫn chất uracil)	0,70

Tên chất

Thời gian lưu tương đối

Tạp lamivudin (acid salicylic)	0,80
Zidovudin	1,00
Tạp chất B của zidovudin	1,10

Tính hàm lượng phần trăm của mỗi tạp chất liên quan của lamivudin theo công thức sau:

$$(A_i / A_t) \times 100$$

Trong đó A_i là diện tích pic của từng tạp chất liên quan của lamivudin, A_t là tổng diện tích pic của lamivudin và các tạp chất liên quan của lamivudin.

Tính hàm lượng phần trăm của mỗi tạp chất liên quan của zidovudin hoặc của bất kỳ tạp chất chưa xác định nào khác (không có tên trong bảng trên) theo công thức sau:

$$(A_i / A_t) \times 100$$

Trong đó A_i là diện tích pic của từng tạp chất liên quan của zidovudin hoặc của tạp chất chưa xác định, A_t là tổng diện tích pic zidovudin, các tạp chất liên quan của zidovudin và các tạp chất chưa xác định. Để tính hàm lượng phần trăm tạp chất C của zidovudin, nhân diện tích pic tương ứng với 0,6.

Giới hạn:

Tạp chất A của lamivudin (acid carboxylic): Không được quá 0,3 %.

Lamivudin diastereomer: Không được quá 0,2 %.

Tổng các tạp chất của lamivudin: Không được quá 0,6 %.

Tạp chất C của zidovudin: Không được quá 2,0 %.

Bất kỳ tạp đơn chưa xác định nào: Không được quá 0,1 %.

Tổng các tạp chất của zidovudin và các tạp chất chưa xác định: Không được quá 3,0 %.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch amoni acetat 0,025 M, điều chỉnh pH 4,0 bằng acid acetic băng (TT).

Pha động B: Methanol (TT).

Pha động C: Acetonitril (TT).

Dung môi pha loãng: Pha động A - Pha động B (95 : 5)

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 15 mg lamivudin chuẩn và 30 mg zidovudin chuẩn, hòa tan bằng dung môi pha loãng và thêm dung môi pha loãng vừa đủ 100,0 ml, lắc đều.

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 300 mg zidovudin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml nước và lắc siêu âm 20 min, thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều và lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml bằng dung môi pha loãng.

Dung dịch phân giải: Hòa tan hỗn hợp thử độ phân giải B của lamivudin (chứa lamivudin và lamivudin diastereomer) trong dung môi pha loãng để thu được dung dịch nồng độ 0,17 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 3 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.

Tốc độ dòng: 0,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 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)	Pha động C (% tt/tt)
0,0	95	5	0
15,0	95	5	0
30,0	70	30	0
38,0	70	30	0
38,1	0	0	100
45,0	0	0	100
45,1	95	5	0
60,0	95	5	0

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch phân giải.

Thời gian lưu tương đối so với zidovudin: của lamivudin diastereomer khoảng 0,5, của lamivudin khoảng 0,52. Độ phân giải giữa lamivudin diastereomer và lamivudin không nhỏ hơn 1,5. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic lamivudin và zidovudin từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Tính hàm lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, và zidovudin, $C_{10}H_{13}N_5O_4$, có trong viên dựa vào diện tích pic lamivudin và zidovudin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_{11}N_3O_3S$ và $C_{10}H_{13}N_5O_4$ trong lamivudin và zidovudin chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

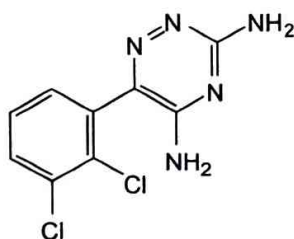
Loại thuốc

Thuốc kháng virus.

Hàm lượng thường dùng

Lamivudin 150 mg và zidovudin 300 mg.

LAMOTRIGIN



$C_9H_7Cl_2N_5$

P.t.l: 256,1

Lamotrigin là 6-(2,3-diclorophenyl)-1,2,4-triazin-3,5-diamin, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_9H_7Cl_2N_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng. Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol khan.

Định tính

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

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Trộn đều 1 thể tích triethylamin (TT) và 150 thể tích dung dịch kali dihydrophosphat (TT) 0,27 %, điều chỉnh đến pH 2,0 bằng acid phosphoric (TT).

Pha động B: Acetonitril (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 5 ml methanol (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg lamotrigin chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất G) trong 2,5 ml methanol (TT) và pha loãng thành 25,0 ml bằng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT). Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg tạp chất E chuẩn của lamotrigin trong hỗn hợp 0,25 ml acid hydrocloric (TT) và 45 ml methanol (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng methanol (TT). Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT). Lấy 4,0 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml methanol (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 10 mg lamotrigin chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất A, E và F) trong 2,5 ml methanol (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).

Dung dịch mẫu trắng: Trộn đều 5 thể tích methanol (TT) và 95 thể tích dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 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 270 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 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 - 4	85	15
4 - 14	85 → 20	15 → 80

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1), (2), (4) và dung dịch mẫu trắng.