

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 1 mg thymin chuẩn (tạp chất C của zidovudin), trong 10 ml pha động. Hút 1,0 ml dung dịch này vào bình định mức 10 ml đã chứa sẵn 5 mg zidovudin chuẩn, hòa tan và thêm vừa đủ đến định mức bằng pha động.

Dung dịch giả dược (thực hiện khi có đủ điều kiện): Hòa tan tất cả các thành phần tá dược (bao gồm cả các parahydroxy benzoat) bằng dung môi thích hợp (dung môi sử dụng trong công thức bào chế) để thu được dung dịch có nồng độ các chất này giống như chế phẩm. Pha loãng dung dịch thu được với pha động như cách pha dung dịch thử.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, các dung dịch đối chiếu và dung dịch giả dược. Thời gian chạy sắc ký dung dịch thử gấp 4 lần thời gian lưu của zidovudin. Với chế phẩm chứa các chất bảo quản parahydroxybenzoat, tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 8 lần thời gian lưu của zidovudin để rửa giải hết các tá dược này ra khỏi cột sắc ký.

Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2), thời gian lưu tương đối của các pic thu được so với pic zidovudin (thời gian lưu khoảng 12 min) như sau: Tạp chất C (thymin) khoảng 0,3, tạp chất A (stavudin) khoảng 0,4 và tạp chất B khoảng 1,2. Độ phân giải giữa pic tạp chất C và pic zidovudin không nhỏ hơn 5,0; giữa pic zidovudin và tạp chất B không nhỏ hơn 2,0; hệ số đối xứng của pic zidovudin không lớn hơn 2,0.

Giới hạn: Đáp ứng yêu cầu A và B dưới đây. Nếu không có đầy đủ các thông tin về tá dược hoặc sắc ký đồ của dung dịch giả dược cho pic có thời gian lưu trùng với bất cứ pic nào trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), hoặc có bất cứ ảnh hưởng nào do tá dược thì chỉ áp dụng yêu cầu A.

A. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của pic tạp chất C, sau khi nhân với hệ số hiệu chỉnh 0,6, không lớn hơn 6 lần diện tích pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu 1 (3,0 %).

B. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của bất cứ pic phụ nào đều không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu 1 (1,0 %) và không nhiều hơn 1 pic phụ có diện tích lớn hơn diện tích pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu 1 (0,5 %). Tổng diện tích pic tạp chất C (sau khi nhân với hệ số đáp ứng 0,6) và diện tích của tất cả các pic phụ khác ngoài pic chính không lớn hơn 12 lần diện tích pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu 1 (6,0 %). Bỏ qua các pic có thời gian lưu trùng với các pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch giả dược, các pic có thời gian lưu tương đối so với zidovudin lớn hơn 2,0 (tương ứng với các pic parahydroxybenzoat) và bất cứ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu 1 (0,1 %).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol* - *Dung dịch đệm pH 5,3* (20 : 80).

Dung dịch đệm pH 5,3: *Dung dịch natri acetat 0,045 M*, điều chỉnh đến pH 5,3 với *acid acetic băng (TT)*.

Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch của zidovudin chuẩn trong pha động có nồng độ chính xác khoảng 0,2 mg/ml.

Dung dịch thử: Xác định khối lượng riêng của dung dịch thuốc (Phụ lục 6.5). Cân một lượng dung dịch thuốc tương ứng với 20 mg zidovudin vào bình định mức 100 ml, thêm pha động vừa đủ đến định mức, lắc đều, lọc.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 2 mg thymin chuẩn trong 10 ml *methanol (TT)*. Hút 1,0 ml dung dịch thu được vào bình định mức dung tích 50 ml và thêm dung dịch thử vừa đủ đến định mức.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải. Trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối của pic thymin so với pic zidovudin (thời gian lưu khoảng 12 min) là 0,3. Độ phân giải giữa pic thymin và pic zidovudin không nhỏ hơn 5,0; hệ số đối xứng của pic zidovudin không lớn hơn 2,0.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Từ diện tích pic của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{10}H_{13}N_5O_4$ trong zidovudin chuẩn và khối lượng riêng của dung dịch thuốc, tính hàm lượng zidovudin trong dung dịch thuốc so với lượng ghi trên nhãn.

Bảo quản

Trong bao bì kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng virus.

Hàm lượng thường dùng

50 mg/5 ml.

VIÊN NÉN ZIDOVUDIN

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa 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 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 quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1).

Dung môi pha mẫu: *Methanol* - *nước* (75 : 25).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch zidovudin chuẩn trong dung môi pha mẫu có nồng độ khoảng 15 µg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên (đã bỏ lớp bao phim nếu cần) tương đương với khoảng 150 mg zidovudin vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm khoảng 70 ml dung môi pha mẫu. Siêu âm khoảng 5 min để hòa tan, pha loãng với dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch. Lắc đều. Lọc hoặc ly tâm. Hút 1 ml dung dịch trong và pha loãng thành 100 ml với dung môi pha mẫu.

Đo phổ hấp thụ từ ngoại của dung dịch đối chiếu và dung dịch thử ở trong khoảng bước sóng từ 200 nm đến 400 nm. Sử dụng cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là dung môi pha mẫu. Phổ hấp thụ từ ngoại của dung dịch thử phải cho các bước sóng cực đại và cực tiểu hấp thụ tương tự như dung dịch đối chiếu.

B. Trong mục Định lượng, sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic zidovudin thu được từ 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 nước.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Tiến hành định lượng zidovudin bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với *pha động*, *dung dịch chuẩn* và *các điều kiện sắc ký* như ở mục định lượng.

Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, hút một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với nước để thu được dung dịch có nồng độ zidovudin khoảng 0,12 mg/ml.

Yêu cầu: Không ít hơn 75% (Q) lượng zidovudin, C₁₀H₁₃N₅O₄, 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) với *pha động*, *dung dịch chuẩn*, *dung dịch thử*, các điều kiện sắc ký và cách tiến hành như mô tả ở mục Định lượng.

Hàm lượng mỗi tạp chất nếu có được tính theo công thức sau:

$$100(1/F)(S_i/S_s)$$

Trong đó:

F: Hệ số đáp ứng tương đối, hệ số này là 1,7 cho tạp chất C của zidovudin và 1,0 cho các tạp khác.

S_i: Diện tích pic của từng tạp chất trên sắc ký đồ của dung dịch thử.

S_s: Diện tích pic zidovudin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Yêu cầu:

Tạp chất C của zidovudin: Không được quá 1,5 %.

Tạp đơn khác: Không được quá 0,2 %.

Tổng tạp: Không được quá 2,0 %.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 3,0 g *natri acetat (TT)* và 1,3 g *natri octansulfonat (TT)* trong 900 ml nước. Thêm 90 ml *methanol (TT)* và 40 ml *acetonitril (TT)*, trộn đều. Điều chỉnh với *acid acetic băng (TT)* đến pH 5,3. Lọc và đuổi khí. Điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.

Dung dịch tạp chất B chuẩn (dung dịch gốc): Cân chính xác một lượng tạp chất B chuẩn của zidovudin, hòa tan và pha loãng bằng *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,1 mg/ml.

Dung dịch tạp chất C chuẩn (dung dịch gốc): Cân chính xác một lượng tạp chất C chuẩn của zidovudin, hòa tan và pha loãng bằng *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,2 mg/ml.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 30 mg zidovudin chuẩn và chuyển vào bình định mức dung tích 250 ml, thêm 3 ml *methanol (TT)* lắc để hòa tan. Thêm 2,5 ml dung dịch tạp chất B chuẩn, thêm 5 ml dung dịch tạp chất C chuẩn, lắc đều và thêm nước vừa đủ đến định mức. Dung dịch thu được có chứa zidovudin nồng độ 0,12 mg/ml, tạp chất B của zidovudin nồng độ 0,001 mg/ml, tạp chất C của zidovudin nồng độ 0,004 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên (đã bỏ lớp bao phim, nếu cần), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 300 mg zidovudin vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm khoảng 10 ml nước, lắc đều để phân tán bột viên, thêm 30 ml *methanol (TT)* và lắc siêu âm 10 min để hòa tan. Pha loãng với nước vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lọc. Pha loãng 4,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml bằng nước.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C. Detector quang phổ từ ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.

Tốc độ dòng: 1,3 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, thời gian lưu tương đối của tạp chất C là 0,17, zidovudin là 1,0, tạp chất B là 1,2. Độ phân giải giữa pic zidovudin và pic tạp chất B không nhỏ hơn 2,5. Hệ số đối xứng của pic zidovudin không lớn hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic zidovudin từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Từ diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng C₁₀H₁₃N₅O₄ trong zidovudin chuẩn, tính hàm lượng zidovudin trong viên so với lượng ghi trên nhãn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng virus.

Hàm lượng thường dùng

200 mg; 300 mg.