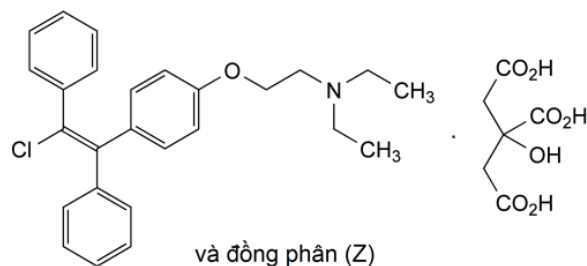


CLOMIFEN CITRATC₃₂H₃₆ClNO₈

P.t.l: 598,1

Clomifen citrat là 2-[4-[(1EZ)-2-cloro-1,2-diphenylethen-1-yl]phenoxy]-N,N-diethylethan-1-amin dihydro 2-hydroxypropan-1,2,3-tricarboxylat, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % C₃₂H₃₆ClNO₈, tính theo chế phẩm khan, trong đó đồng phân Z phải chiếm từ 30,0 % đến 50,0 %.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc vàng nhạt. Khó tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %.

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 clomifen citrat chuẩn.

B. Hòa tan 5 mg chế phẩm trong 5 ml hỗn hợp *anhydrid acetic - pyridin* (1 : 5) và làm nóng trong cách thủy. Màu đỏ đậm xuất hiện.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Chuẩn bị các dung dịch trong điều kiện tránh ánh sáng, sử dụng các bình thủy tinh màu nâu. Đảm bảo các dung dịch tiếp xúc ít nhất với ánh sáng cho đến khi tiến hành sắc ký.

Pha động: Acetonitril - nước - diethylamin (400 : 600 : 8); điều chỉnh pH hỗn hợp đến 6,2 bằng 1 ml đến 2 ml acid phosphoric (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 12,5 mg clomifen chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất A và C) trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 233 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của clomifen.

Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo clomifen chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất A và C.

Thời gian lưu tương đối so với clomifen (thời gian lưu khoảng 14 min): Citrat khoảng 0,16; tạp chất B khoảng 0,28; tạp chất D khoảng 0,34; Tạp chất C khoảng 0,5; tạp chất A khoảng 0,9; tạp chất G và H có thứ tự rửa giải chưa xác định rõ khoảng 1,44 và 1,49.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 15; 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 clomifen.

Tính hàm lượng phần trăm tạp chất A dựa vào nồng độ của clomifen citrat trong dung dịch đối chiếu (2) và tính hàm lượng phần trăm của các tạp chất khác dựa vào nồng độ của clomifen citrat trong dung dịch đối chiếu (3); nhân diện tích tạp chất B với hệ số hiệu chỉnh là 1,9.

Giới hạn:

Tạp chất A: Không được quá 1,0 %.

Tạp chất C và D: Mỗi tạp chất không được quá 0,3 %.

Tạp chất B: Không được quá 0,2 %.

Tạp chất G và H: Tổng hai tạp chất không được quá 0,15 %.

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,10 %.

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

Bỏ qua pic citrat và các tạp chất có hàm lượng dưới 0,05 %.

Ghi chú:

Tạp chất A: 2-[4-[(1*EZ*)-1,2-diphenylethen-1-yl]phenoxy]-*N,N*-diethylethan-1-amin.

Tạp chất B: [4-[2-(diethylamino)ethoxy]phenyl]phenylmethanon.

Tạp chất C: (2*RS*)-2-[4-[2-(diethylamino)ethoxy]phenyl]-1,2-diphenylethan-1-on.

Tạp chất D: 2,2-bis[4-[2-(diethylamino)ethoxy]phenyl]-1,2-diphenylethan-1-on.

Tạp chất G và H: 2-[2-cloro-4-[(1*E*)-2-cloro-1,2-diphenylethen-1-yl]phenoxy]-*N,N*-diethylethan-1-amin (Tạp chất G là đồng phân có nhiệt độ nóng chảy cao hơn, tạp chất H có nhiệt độ nóng chảy thấp hơn).

Nước

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,000 g chế phẩm.

Định lượng

Clomifen citrat

Hòa tan khoảng 0,500 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan* (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ). Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid perchloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 59,81 mg $C_{32}H_{36}ClNO_8$.

Đồng phân Z

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). *Chuẩn bị các dung dịch trong điều kiện tránh ánh sáng, sử dụng các bình thủy tinh màu nâu. Đảm bảo các dung dịch tiếp xúc ít nhất với ánh sáng cho đến khi tiến hành sắc ký.*

Pha động: Methanol - nước - triethylamin (55 : 45 : 0,3), điều chỉnh pH hỗn hợp đến 2,5 bằng acid phosphoric (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động.

Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25,0 mg clomifen citrat chuẩn (chứa đồng phân *E* và *Z*) trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 233 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của đồng phân *Z* của clomifen.

Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo clomifen citrat chuẩn và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu để xác định pic của từng đồng phân *E* và *Z*.

Thời gian lưu tương đối so với đồng phân *Z* của clomifen (thời gian lưu khoảng 13 min) của đồng phân *E* khoảng 1,2.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, độ phân giải giữa pic đồng phân *E* và pic đồng phân *Z* ít nhất là 1,5.

Tính hàm lượng phần trăm của đồng phân *Z* trong chế phẩm dựa vào diện tích pic đồng phân *Z* thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu và hàm lượng đồng phân *Z* trong clomifen citrat chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ phòng có điều nhiệt.

Loại thuốc

Thuốc kháng estrogen/thuốc gây phóng noãn.

Chế phẩm

Viên nén.

