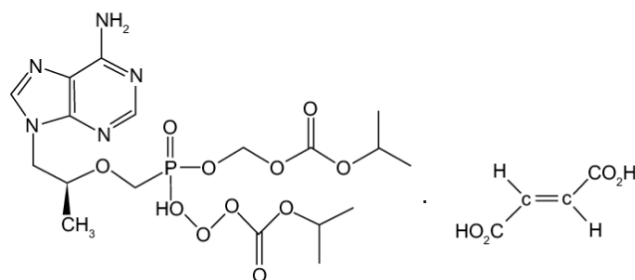


TENOFOVIR DISOPROXIL FUMARAT
 $C_{19}H_{30}N_5O_{10}P \cdot C_4H_4O_4$

P.t.l: 635,5

Tenofovir disoproxil fumarat là muối của bis({[(1-methylethoxy)carbonyl]oxy}methyl){[(1*R*)-2-(6-amino-9*H*-purin-9-yl)-1-methylethoxy]methyl}phosphonat (ester) và acid fumaric, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{19}H_{30}N_5O_{10}P \cdot C_4H_4O_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, có thể ở dạng đa hình. Tan trong methanol, khó tan trong nước và rất khó tan trong dicloromethan.

Sản xuất

Phương pháp sản xuất phải được thẩm định để đảm bảo nếu được tiến hành kiểm tra thì chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu sau:

Tạp chất K (9-propenyladenin): Không được quá 5 ppm, dùng phương pháp thích hợp.

Tạp chất G (đồng phân đối quang S của tenofovir disoproxil): Không được quá 1,0 %, dùng phương pháp sắc ký sử dụng cột tách đồng phân đối quang.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của tenofovir disoproxil fumarat chuẩn hoặc phổ đối chiếu của tenofovir disoproxil fumarat.

Nếu phổ không phù hợp thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chuẩn trong một lượng nhỏ *methanol* (TT), bốc hơi đến cạn, dùng cân thu được để ghi lại phổ mới.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Dicloromethan - acetonitril - methanol - amoniac (67 : 20 : 10 : 3).

Dung dịch thử: Dung dịch chứa 10 mg/ml chế phẩm trong methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chứa 10 mg/ml tenofovir disoproxil fumarat chuẩn trong methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô hoàn toàn và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, hình dạng và độ đậm.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Heptan - acid acetic băng - dicloromethan (50 : 30 : 20).

Dung dịch thử: Dung dịch chứa 10 mg/ml chế phẩm trong ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chứa 2 mg/ml acid fumaric (TT) chuẩn trong ethanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được 10 cm. Lấy bản mỏng ra để khô hoàn toàn và quan

sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Một trong các vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, hình dạng và độ đậm.

D. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chứa 25 µg/ml chế phẩm trong nước khi đo ở dải bước sóng từ 220 nm đến 320 nm phải cho một cực đại hấp thụ ở 261 nm và độ hấp thụ riêng tại bước sóng này phải từ 230 đến 250.

Góc quay cực riêng

Từ -15° đến -20°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chứa 10,0 mg/ml trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Tiến hành phép thử ngay khi chuẩn bị dung dịch xong.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat pH 6,0: Hòa tan 3,50 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 1,70 g *tetrabutylamoni hydrosulfat (TT)* trong 800 ml nước, điều chỉnh đến pH 6,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Pha động A: Acetonitril - *dung dịch đệm phosphat pH 6,0 - nước* (2 : 20 : 78).

Pha động B: Acetonitril - *dung dịch đệm phosphat pH 6,0 - nước* (65 : 20 : 15).

Dung dịch thử: Dung dịch chứa 1,0 mg/ml chế phẩm trong nước.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng dung dịch thử trong nước để thu được dung dịch chứa 5 µg/ml tenofovir disoproxil fumarat.

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa 0,2 mg/ml *acid fumaric (TT)* trong nước.

Dung dịch đối chiếu (3): Đun nóng cẩn thận dung dịch thử trong cách thủy sôi trong 20 min.

Bảo quản các dung dịch ở 6 °C hoặc sử dụng buồng tiêm có làm lạnh.

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 260 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 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 - 5	81	19
5 - 40	81 → 49	19 → 51
40 - 60	49 → 0	51 → 100
60 - 65	0	100
65 - 70	0 → 81	100 → 19
70 - 80	81	19

Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu (3).

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic chính (thời gian lưu khoảng 40 min) và pic tạp chất A (có thời gian lưu tương đối so với pic chính khoảng 0,5) không nhỏ hơn 25.

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

Thời gian lưu tương đối so với tenofovir disoproxil (thời gian lưu khoảng 40 min) của fumarat khoảng 0,15.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Diện tích của tạp chất A không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).

Diện tích của bất kỳ pic tạp chất khác không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %) và không có quá 2 pic tạp chất có diện tích lớn hơn 0,4 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (2,5 %).

Bỏ qua bất kỳ pic nào tương ứng với pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) và bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: (1-methylethyl) (8*R*)-9-(6-amino-9*H*-purin-9-yl)-5-hydroxy-8-methyl-5-oxo-2,4,7-trioxa-5-λ⁵-phosphanonanoat (tenofovir monosoproxil).

Nước

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Dùng 1,0 g chế phẩm trong 30 ml *methanol* (TT) để chuẩn bị mẫu thử và tiến hành thử theo Phương pháp 2. Dùng 10,0 ml *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb* (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Định lượng

Hòa tan khoảng 0,40 g chế phẩm trong 30 ml *acid acetic băng* (TT₁). 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 63,55 mg tenofovir disoproxil fumarat (C₁₉H₃₀N₅O₁₀P.C₄H₄O₄).

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc

Thuốc kháng retrovirus.

Chế phẩm

Viên nén.

