

Tổng tất cả các tạp chất không được quá 0,8 %.

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

*Ghi chú:*

Tạp chất A: 5-cloro-2-methoxy-N-[2-(4-sulfamoylphenyl)ethyl]benzamid.

Tạp chất B: Methyl [[4-[2-[(5-cloro-2-methoxybenzoyl)amino]ethyl]phenyl]sulfonyl]carbamat.

Tạp chất C: 1-cyclohexyl-3-[[4-[2-[(cyclohexylcarbamoyl)amino]ethyl]phenyl]sulfonyl]ure.

Tạp chất D: 1-butyl-3-[[4-[2-[(5-cloro-2-methoxybenzoyl)amino]ethyl]phenyl]sulfonyl]ure.

Tạp chất E: 1-cyclohexyl-3-[[4-[2-[(3,5-dicloro-2-methoxybenzoyl)amino]ethyl]phenyl]sulfonyl]ure.

**Mất khối lượng do làm khô**

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).  
(1,000 g; 105 °C).

**Tro sulfat**

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9).  
Dùng 1,0 g chế phẩm.

**Định lượng**

Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 100 ml ethanol 96 % (TT) bằng cách làm nóng. Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD). Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD) tương ứng với 49,40 mg C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S.

**Bảo quản**

Trong đồ đựng kín.

**Loại thuốc**

Thuốc chống đái tháo đường.

**Chế phẩm**

Viên nén.

**VIÊN NÉN GLIBENCLAMID VÀ METFORMIN**

**Viên nén glyburid và metformin**

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa glibenclamid và metformin hydroclorid.

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 glibenclamid**, C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

**Hàm lượng metformin hydroclorid**, C<sub>4</sub>H<sub>11</sub>N<sub>5</sub>.HCl, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

**Định tính**

A. Trong mục Định lượng glibenclamid, pic chính thu

được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn glibenclamid.

B. Trong mục Định lượng metformin hydroclorid, pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn metformin hydroclorid.

**Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)**

**Glibenclamid**

*Thiết bị:* Kiểu cánh khuấy.

*Môi trường hòa tan:* 500 ml dung dịch acid boric và kali clorid 0,05 M được chuẩn bị bằng cách hòa tan 3,09 g acid boric (TT) và 3,73 g kali clorid (TT) trong khoảng 250 ml nước. Chính pH đến 9,5 bằng dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT), thêm nước vừa đủ 1000 ml.

*Tốc độ quay:* 75 r/min.

*Thời gian:* 30 min.

Xác định lượng glibenclamid hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

*Pha động:* Dung dịch đệm amoni phosphat - acetonitril (50 : 50), điều chỉnh đến pH 5,3 bằng dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT). Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.

*Dung dịch đệm amoni phosphat:* Hòa tan 28,8 g amoni dihydrophosphat (TT) trong nước và pha loãng với nước vừa đủ 1000 ml.

*Dung dịch thử:* Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Lọc lại qua màng lọc 0,45 µm.

*Dung dịch chuẩn:* Cân chính xác khoảng 25 mg glibenclamid chuẩn vào bình định mức 100 ml. Thêm 20 ml acetonitril (TT), lắc siêu âm để hòa tan. Thêm môi trường hòa tan vừa đủ, lắc đều. Pha loãng dung dịch này với môi trường hòa tan để có nồng độ tương đương dung dịch thử.

*Điều kiện sắc ký:*

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

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 200 µl.

*Cách tiến hành:*

Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn. Trên sắc ký đồ thu được, số đĩa lý thuyết xác định trên pic glibenclamid không nhỏ hơn 5000. Hệ số đối xứng của pic từ 0,8 đến 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2 %.

Tiến hành sắc ký các dung dịch thử. Từ diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S của glibenclamid chuẩn, tính hàm lượng glibenclamid đã hòa tan trong mỗi viên.

*Yêu cầu:* Không ít hơn 85 % (Q) glibenclamid, C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

**Metformin hydroclorid**

*Thiết bị:* Kiểu cánh khuấy.

*Môi trường hòa tan:* 1000 ml dung dịch đệm phosphat 0,05 M pH 6,8.

*Dung dịch đệm phosphat 0,05 M pH 6,8:* Hòa tan 6,8 g kali dihydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước, chỉnh pH đến  $6,8 \pm 0,1$  bằng dung dịch natri hydroxyd (TT) 0,2 M.

*Tốc độ quay:* 50 r/min.

*Thời gian:* 30 min.

*Cách tiến hành:*

*Dung dịch thử:* Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Lọc lại qua màng lọc 0,45  $\mu\text{m}$  hoặc 1  $\mu\text{m}$ . Pha loãng (nếu cần) bằng môi trường hòa tan.

*Dung dịch chuẩn:* Dung dịch metformin hydroclorid chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương nồng độ của dung dịch thử.

Đo độ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của các dung dịch trên ở bước sóng cực đại khoảng 232 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Từ độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng  $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{N}_5\cdot\text{HCl}$  của metformin hydroclorid chuẩn, tính lượng metformin hydroclorid đã hòa tan trong mỗi viên.

*Yêu cầu:* Không ít hơn 85 % (Q) metformin hydroclorid  $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{N}_5\cdot\text{HCl}$ , so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

**Tạp chất liên quan của glibenclamid**

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, điều kiện sắc ký, dung môi pha mẫu, dung dịch thử, dung dịch thích hợp hệ thống như mô tả ở mục Định lượng glibenclamid.

*Dung dịch chuẩn:* Pha loãng 1,0 ml dung dịch chuẩn ở phần Định lượng glibenclamid thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Đề tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất A với hệ số hiệu chỉnh là 0,83.

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

Diện tích của pic tạp chất A đã hiệu chỉnh không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn (1,0 %).

Diện tích của các pic tạp chất khác không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn (0,2 %).

Tổng diện tích các pic tạp chất khác không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn (0,5 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn (0,05 %).

*Ghi chú:*

Tạp chất A của glibenclamid: 5-cloro-2-methoxy-N-[2-(4-sulphamoylphenyl)ethyl]benzamid.

**Tạp chất liên quan của metformin hydroclorid**

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, điều kiện sắc ký, dung môi pha mẫu, dung dịch thử, dung dịch thích hợp hệ thống thực hiện như mô tả ở mục Định lượng metformin hydroclorid.

*Cách tiến hành:*

Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp ít nhất là 3 lần thời gian lưu của pic metformin.

Tính phần trăm của mỗi tạp chất (nếu có) dựa vào diện tích pic của mỗi tạp chất và tổng diện tích của tất cả các pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử.

*Giới hạn:*

Từng tạp chất: Không được quá 0,1 %.

Tổng tạp chất: Không được quá 0,5 %.

Bỏ qua các pic có trong mẫu trắng và các pic nhỏ hơn 0,05 %.

*Ghi chú:*

Tạp chất B của metformin: 1-methylbiguanid hydroclorid.

**Độ đồng đều hàm lượng glibenclamid (Phụ lục 11.2)**

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung môi pha mẫu, dung dịch đệm amoni phosphat, dung dịch chuẩn, pha động và điều kiện sắc ký như mô tả ở mục Định lượng glibenclamid.

*Dung dịch thử:* Cho 1 viên vào bình định mức 100 ml, thêm 2 ml nước, lắc cho viên rã hoàn toàn. Thêm 70 ml dung môi pha mẫu và lắc siêu âm khoảng 30 min. Để nguội và thêm dung môi pha mẫu vừa đủ, lắc đều. Ly tâm với tốc độ 3000 r/min trong 10 min, sử dụng lớp dịch trong phía trên. Pha loãng dung dịch thu được (nếu cần) với dung môi pha mẫu để có nồng độ glibenclamid khoảng 0,025 mg/ml. Tiến hành lặp lại với 9 viên nữa.

*Cách tiến hành:*

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

Tính hàm lượng glibenclamid,  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{ClN}_3\text{O}_5\text{S}$ , trong mỗi viên dựa vào diện tích pic thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{ClN}_3\text{O}_5\text{S}$  của glibenclamid chuẩn.

**Định lượng**

**Glibenclamid**

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

*Dung môi pha mẫu:* Acetonitril - nước (1 : 1).

*Dung dịch đệm amoni phosphat:* Hòa tan 28,8 g amoni dihydrophosphat (TT) trong nước và pha loãng với nước vừa đủ 1000 ml.

*Pha động:* Dung dịch đệm amoni phosphat - acetonitril (60 : 40), điều chỉnh đến pH 5,3 bằng dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT). Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.

*Dung dịch chuẩn:* Cân chính xác khoảng 25 mg glibenclamid chuẩn vào bình định mức 100 ml. Thêm 50 ml acetonitril (TT), lắc siêu âm để hòa tan. Thêm nước vừa

VIÊN NÉN GLIBENCLAMID

đủ, lắc đều. Pha loãng dung dịch này với dung môi pha mẫu để có nồng độ chính xác khoảng 0,025 mg/ml.

**Dung dịch thích hợp hệ thống (1):** Chuẩn bị dung dịch chứa 0,025 mg/ml tạp chất A chuẩn của glibenclamid trong dung môi pha mẫu. Pha loãng 50 µl dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng dung dịch chuẩn.

**Dung dịch thích hợp hệ thống (2):** Chuẩn bị dung dịch chứa 5,0 mg/ml metformin hydroclorid chuẩn trong dung dịch thích hợp hệ thống (1).

**Dung dịch thử:** Hòa tan không ít hơn 5 viên trong dung môi pha mẫu bằng cách khuấy từ trong ít nhất 1 h. Pha loãng bằng dung môi pha mẫu để thu được dung dịch có nồng độ 0,025 mg/ml glibenclamid. Đem ly tâm dung dịch thu được ở 3000 r/min trong 10 min.

**Điều kiện sắc ký:**

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

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 100 µl.

**Cách tiến hành:**

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch thích hợp hệ thống (2) (Thời gian lưu tương đối của pic tạp chất A so với glibenclamid khoảng 0,3). Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic glibenclamid từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 1,5 %; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tạp chất A từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 10 %.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian rửa giải bằng 1,25 lần thời gian lưu của pic glibenclamid.

Tính hàm lượng glibenclamid,  $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ , trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng  $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$  của glibenclamid chuẩn.

**Metformin hydroclorid**

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

**Dung môi pha mẫu:** Acetonitril - nước (1 : 40).

**Dung dịch đệm:** Hòa tan 1,0 g natri heptansulfonat (TT) và 1,0 g natri clorid (TT) trong 1800 ml nước. Chính pH đến 3,85 bằng dung dịch acid phosphoric (TT) 0,06 M. Thêm nước vừa đủ 2000 ml, trộn đều.

**Pha động:** Dung dịch đệm - acetonitril (90 : 10).

Để đạt độ phân giải, có thể điều chỉnh pha động như sau: Dung dịch đệm - acetonitril (95 : 5).

**Dung dịch chuẩn:** Pha dung dịch metformin hydroclorid chuẩn trong dung môi pha mẫu có nồng độ chính xác khoảng 0,25 mg/ml (lắc siêu âm để hòa tan, nếu cần).

**Dung dịch thích hợp hệ thống:** Chuẩn bị dung dịch chứa 0,025 mg/ml tạp chất B chuẩn của metformin trong dung môi pha mẫu. Hút 0,5 ml dung dịch này vào bình định mức 50 ml, thêm dung dịch chuẩn vừa đủ thể tích.

**Dung dịch thử:** Pha loãng dung dịch thử ở mục Định lượng glibenclamid với nước để thu được dung dịch có nồng độ metformin hydroclorid khoảng 0,25 mg/ml.

**Điều kiện sắc ký:**

Cột kích thước (30 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 218 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 5 µl.

**Cách tiến hành:**

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch thích hợp hệ thống. Thời gian lưu tương đối của pic tạp chất B so với metformin khoảng 0,86. Độ phân giải giữa pic tạp chất B và pic metformin không nhỏ hơn 1,5; hệ số đối xứng của pic metformin từ 0,8 đến 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic metformin từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 1,5 %; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tạp chất B từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 10 %.

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

Tính hàm lượng metformin hydroclorid,  $C_4H_{11}N_5.HCl$ , trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng  $C_4H_{11}N_5.HCl$  của metformin chuẩn.

**Bảo quản**

Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

**Loại thuốc**

Chống đái tháo đường.

**Hàm lượng thường dùng**

Metformin hydroclorid 500 mg và glibenclamid 5 mg.

Metformin hydroclorid 500 mg và glibenclamid 2,5 mg.

VIÊN NÉN GLIBENCLAMID

**Viên nén glyburid**

Là viên nén chứa glibenclamid.

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 glibenclamid,**  $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ , từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

**Định tính**

A. 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 chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.

B. Trong phép thử Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có vị trí, kích thước