

B. Trong phần Định lượng vitamin B<sub>12</sub>, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương đương với thời gian lưu của pic cyanocobalamin trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

**Định lượng**

**Định lượng vitamin B<sub>1</sub> và B<sub>6</sub>**

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

*Pha động:* Hòa tan 1,40 g natri 1-hexansulfonat (TT) trong 1000 ml hỗn hợp nước - methanol - acid acetic băng (73 : 27 : 1). Điều chỉnh pha động, nếu cần.

*Dung môi pha mẫu:* Hỗn hợp nước - acetonitril - acid acetic băng (94 : 5 : 1).

*Dung dịch chuẩn:* Dung dịch vitamin chuẩn trong dung môi pha mẫu có nồng độ chính xác khoảng 0,05 mg thiamin hydroclorid (hay thiamin nitrat) trong 1 ml và 0,05 mg pyridoxin hydroclorid trong 1 ml.

*Dung dịch thử:* Loại bỏ lớp vỏ bao. Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg pyridoxin hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung môi pha mẫu, lắc kỹ trong 15 min, thêm dung môi pha mẫu đến định mức, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml với dung môi pha mẫu.

*Điều kiện sắc ký:*

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

*Cách tiến hành:*

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic chính (riêng biệt) trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm lặp lại không được quá 3,0 %.

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

Tính hàm lượng thiamin hydroclorid (C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>CIN<sub>4</sub>OS.HCl), hoặc thiamin nitrat (C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>S), và pyridoxin hydroclorid (C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>.HCl) trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic thiamin và pic pyridoxin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử, nồng độ C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>CIN<sub>4</sub>OS.HCl (hay C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>S) và C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>.HCl của dung dịch chuẩn.

**Định lượng vitamin B<sub>12</sub>**

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

*Pha động:* Hỗn hợp methanol - nước (35 : 65). Điều chỉnh pha động, nếu cần.

*Dung dịch chuẩn:* Dung dịch cyanocobalamin chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 10 μg/ml.

*Dung dịch thử:* Loại bỏ lớp vỏ bao. 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 250 μg

cyanocobalamin vào bình 50 ml, thêm 25,0 ml nước, lắc kỹ trong 15 min (hay để siêu âm 5 min), lọc (hay ly tâm). Sử dụng dịch lọc (hay dịch trong ở trên).

*Điều kiện sắc ký:*

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

Detector quang phổ tử ngoại khả kiến đặt ở bước sóng 550 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

*Cách tiến hành:*

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm lặp lại không được quá 3,0 %.

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

Tính hàm lượng cyanocobalamin, C<sub>63</sub>H<sub>88</sub>CoN<sub>14</sub>O<sub>14</sub>P, trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic cyanocobalamin thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ C<sub>63</sub>H<sub>88</sub>CoN<sub>14</sub>O<sub>14</sub>P của dung dịch chuẩn.

**Bảo quản**

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

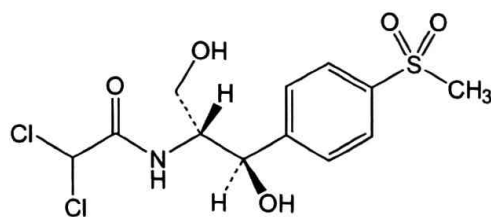
**Loại thuốc**

Vitamin.

**Hàm lượng thường dùng**

Vitamin B<sub>1</sub> 125 mg, vitamin B<sub>6</sub> 125 mg và vitamin B<sub>12</sub> 125 μg.

**THIAMPHENICOL**



C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>5</sub>S

P.t.l: 356,2

Thiamphenicol là 2,2-dicloro-N-[(1R,2R)-2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)-2-[4-(methylsulfonyl)phenyl]ethyl]acetamid, phải chứa từ 98,0% đến 100,5% C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>5</sub>S, tính theo chế phẩm đã làm khô.

**Tính chất**

Bột kết tinh hoặc tinh thể mịn, màu trắng hoặc màu trắng hơi vàng. Khó tan trong nước và ethyl acetat, rất tan trong dimethylacetamid, dễ tan trong acetonitril và dimethylformamid, tan trong methanol, hơi tan trong aceton và ethanol khan.

Dung dịch trong ethanol khan có góc quay cực hữu tuyến và dung dịch trong dimethylformamid có góc quay cực tả tuyến.

**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 thiamphenicol chuẩn. Sấy chế phẩm và chất chuẩn ở 100 °C đến 105 °C trong 2 h và chuẩn bị mẫu theo phương pháp viên nén (đĩa halid), dùng *kali bromid tinh khiết IR (TT)*.

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

*Bản mỏng: Silica gel GF<sub>254</sub>.*

*Dung môi khai triển: Methanol - ethyl acetat (3 : 97).*

*Dung dịch thử:* Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

*Dung dịch đối chiếu:* Hòa tan 0,1 g thiamphenicol chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

*Cách tiến hành:* Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. 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 về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Cho 50 mg chế phẩm vào chén nung sứ, thêm 0,5 g *natri carbonat khan (TT)*. Đốt trên ngọn lửa trong 10 min. Để nguội. Hòa lẫn bằng 5 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và lọc. Thêm 1 ml *nước* vào 1 ml dịch lọc, dung dịch phải cho phản ứng định tính (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

**Giới hạn acid - kiềm**

Lắc 0,1 g chế phẩm với 20 ml *nước không có carbon dioxid (TT)* và thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Lượng *dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* cần để chuyển màu của chỉ thị không được quá 0,1 ml.

**Góc quay cực riêng**

Từ -21° đến -24°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4) Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

**Điểm chảy**

Từ 163 °C đến 167 °C (Phụ lục 6.7).

**Độ hấp thụ ánh sáng**

*Dung dịch thử (1):* Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *nước*, đun nóng đến khoảng 40 °C, pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

*Dung dịch thử (2):* Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml với *nước*.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử (1) ở khoảng bước sóng từ 240 nm đến 300 nm, dung dịch có 2 cực đại hấp thụ, ở bước sóng 266 nm và 273 nm. Độ hấp thụ riêng ở các bước sóng cực đại này lần lượt phải từ 25 đến 28 và từ 21,5 đến 23,5. Đo độ hấp thụ của dung dịch thử (2) ở khoảng bước sóng từ 200 nm đến 240 nm, dung dịch có cực đại hấp thụ ở bước sóng 224 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng cực đại hấp thụ này phải từ 370 đến 400.

**Clorid**

Không được quá 200 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Lắc 0,5 g chế phẩm với 30 ml *nước* trong 5 min và lọc.

**Kim loại nặng**

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.

Dùng 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

**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, phương pháp 2).

Dùng 2,0 g chế phẩm.

**Định lượng**

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 30 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 20 ml *dung dịch kali hydroxyd 50 % (TT)*, lắc đều và đun hồi lưu trong 4 h. Làm lạnh, thêm 100 ml *nước*, trung hòa bằng *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và thêm dư 5 ml acid. Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), sử dụng điện cực chỉ thị bạc và điện cực so sánh thủy ngân sulfat hoặc điện cực thích hợp khác. Tiến hành mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 17,81 mg C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>5</sub>S.

**Bảo quản**

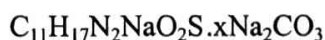
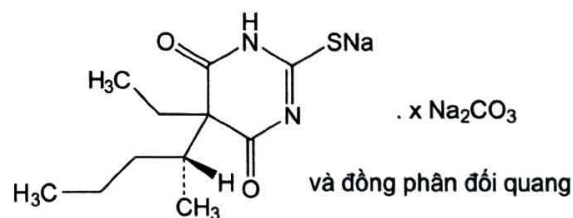
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

**Loại thuốc**

Kháng sinh nhóm cloramphenicol.

**THIOPENTAL NATRI**

**Thiopental natri và natri carbonat**



P.t.l: 264,3

Thiopental natri là hỗn hợp của natri 5-ethyl-5-[(1*RS*)-1-methylbutyl]-4,6-dioxo-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-thiolat và natri carbonat khan, phải chứa từ 84,0 % đến 87,0 % C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S và từ 10,2 % đến 11,2 % Na, cả hai đều tính theo chế phẩm đã làm khô.

**Tính chất**

Bột trắng hơi vàng, hút ẩm. Dễ tan trong nước, tan một phần trong ethanol khan.