

giọt một cho đến hết 1 ml dung dịch natri tetrphenylborat 1 % (TT). Tạo tủa trắng. Lọc. Hòa tan tủa trong một hỗn hợp gồm 1 ml aceton (TT) và 5 ml ethanol 96 % (TT) bằng cách đun nóng không quá 70 °C. Thêm nước từng giọt một vào dung dịch đang nóng cho đến khi dung dịch hơi đục. Đun nóng nhẹ cho đến khi dung dịch trong và để nguội. Tạo tủa tinh thể trắng. Lọc. Rửa các tinh thể này 3 lần, mỗi lần 10 ml nước và làm khô trong chân không trên diphosphor pentoxyd (TT) hoặc silica gel khan (TT) ở nhiệt độ không quá 50 °C. Các tinh thể này nóng chảy ở 127 °C đến 133 °C (Phụ lục 6.7).

C. Lấy 5 ml dung dịch natri hydroxyd loãng (TT), thêm 0,1 ml dung dịch xanh bromophenol (TT) và 5 ml cloroform (TT). Lắc. Lọc cloroform không màu. Thêm 0,1 ml dung dịch S và lắc. Lọc cloroform có màu xanh.

D. Lấy 2 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch), thêm 1 ml dung dịch acid nitric 12,5 % (TT). Tạo tủa trắng, thêm 5 ml ethanol 96 % (TT), tủa tan. Dung dịch này cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 50 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml dung dịch đỏ tia bromocresol (TT). Lượng dung dịch acid hydrochloric 0,1 N (CD) hoặc dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD) để làm thay đổi màu của chỉ thị không quá 0,1 ml.

Amin và các muối amin

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 20 ml hỗn hợp gồm 3 thể tích dung dịch acid hydrochloric 1 N và 97 thể tích methanol (TT) bằng cách đun nóng. Thêm 100 ml 2-propanol (TT). Cho khí nitơ sục chậm qua dung dịch. Thêm từ từ 12,0 ml dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M (CD) và ghi đường cong chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Nếu đường cong chuẩn độ có hai điểm uốn thì thể tích dung dịch chuẩn độ thêm vào giữa hai điểm uốn không được lớn hơn 5,0 ml. Nếu đường cong chuẩn độ không có điểm uốn nào, có nghĩa chế phẩm không đạt yêu cầu của phép thử. Nếu đường cong chuẩn độ có một điểm uốn, làm lại phép thử, nhưng thêm 3,0 ml dung dịch dimethyldecylamin 2,5 % trong 2-propanol trước khi chuẩn độ. Nếu sau khi thêm 12,0 ml dung dịch chuẩn độ mà đường cong chuẩn độ chỉ có một điểm uốn thì chế phẩm không đạt yêu cầu của phép thử.

Nước

Không được quá 10 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

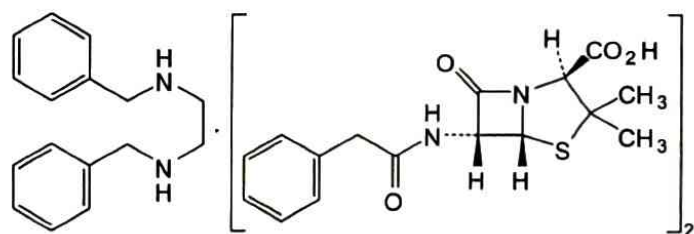
Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong nước và pha loãng bằng nước thành 100,0 ml. Lấy 25 ml dung dịch thu được cho vào một bình gạn, thêm 25 ml cloroform (TT), 10 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N và 10,0 ml dung dịch kali iodid 5,0 % vừa mới pha. Lắc kỹ. Để yên phân lớp, bỏ lớp cloroform. Lắc lớp nước với cloroform (TT) 3 lần, mỗi lần 10 ml. Loại bỏ các lớp cloroform. Cho vào lớp nước 40 ml acid hydrochloric (TT). Để nguội và chuẩn độ bằng dung dịch kali iodat 0,05 M (CD) cho đến khi màu nâu đậm gần như biến mất. Thêm 2 ml cloroform (TT) và tiếp tục vừa lắc mạnh vừa chuẩn độ cho đến khi lớp cloroform không có thay đổi màu. Tiến hành chuẩn độ mẫu trắng [hỗn hợp gồm 10,0 ml dung dịch kali iodid 5,0 % vừa mới pha, 20 ml nước và 40 ml acid hydrochloric (TT)].

1 ml dung dịch kali iodat 0,05 M (CD) tương đương với 35,4 mg $C_{22}H_{40}ClN$.

Loại thuốc

Tẩy rửa sát trùng.

BENZATHIN BENZYL PENICILIN



$(C_{16}H_{18}N_2O_4S)_2 \cdot C_{16}H_{20}N_2$

P.t.l: 909,0

Benzathin benzylpenicilin là phức hợp theo tỷ lệ (1 : 2) của N,N' -dibenzylethan-1,2-diamin với acid (2S,5R,6R)-3,3-dimethyl-7-oxo-6-[(phenylacetyl)amino]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $(C_{16}H_{18}N_2O_4S)_2 \cdot C_{16}H_{20}N_2$ và từ 24,0 % đến 27,0 % N,N' -dibenzylethylendiamin (benzathin $C_{16}H_{20}N_2$; p.t.l. 240,3) tính theo chế phẩm khan.

Chế phẩm có chứa hàm lượng nước thay đổi và có thể chứa các tác nhân phân tán hoặc tác nhân tạo hỗn dịch.

Tính chất

Bột màu trắng.

Rất khó tan trong nước, dễ tan trong dimethylformamid và formamid, khó tan trong ethanol 96 %.

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 benzathin benzylpenicilin chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel đã được silan hóa.

Dung môi khai triển: Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % (30 : 70), được điều chỉnh đến pH 7,0 bằng amoniac (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 5 ml methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg benzathin benzylpenicilin chuẩn trong 5 ml methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl các dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, để bản mỏng trong hơi iod đến khi các vết xuất hiện. Kiểm tra dưới ánh sáng tự nhiên, hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, kích thước và màu sắc với hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu cho hai vết tách ra rõ ràng.

C. Cho khoảng 2 mg chế phẩm vào một ống nghiệm có chiều dài 150 mm và đường kính 15 mm. Làm ẩm với 0,05 ml nước và thêm 2 ml dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT). Lắc đều trộn đều, dung dịch không màu. Đặt ống nghiệm vào trong cách thủy trong 1 min, màu nâu đỏ xuất hiện.

D. Thêm vào 0,1 g chế phẩm 2 ml dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT), lắc đều trong 2 min. Lắc hỗn hợp trên hai lần, mỗi lần với 3 ml ether (TT), lấy lớp ether. Gộp các dịch ether, bay hơi đến khô và hòa tan cân trong 1 ml ethanol 50 % (TT). Thêm 5 ml dung dịch acid picric (TT), đun nóng ở 90 °C trong 5 min và làm nguội từ từ. Lọc lấy tinh thể thu được, kết tinh lại trong ethanol 25 % có chứa 1 % acid picric (TT). Nhiệt độ nóng chảy của tinh thể thu được khoảng 214 °C (Phụ lục 6.7).

Giới hạn acid - kiềm

Cân 0,50 g chế phẩm, thêm 100 ml nước không có carbon dioxyd (TT) và lắc trong 5 min. Lọc qua phễu lọc xốp. Thêm vào 20 ml dịch lọc 0,1 ml dung dịch xanh bromothymol (TT). Dung dịch có màu xanh lá hoặc vàng. Lượng dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CD) để chuyển màu của chỉ thị sang màu xanh da trời không quá 0,2 ml.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Các dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi dùng. Dùng máy lắc siêu âm để hòa tan mẫu thử (khoảng 2 min), tránh để tăng nhiệt độ của mẫu thử.

Pha động A: Hỗn hợp dung dịch kali dihydrophosphat 3,4 % đã được chỉnh đến pH 3,5 bằng acid phosphoric - methanol - nước (10 : 30 : 60).

Pha động B: Hỗn hợp dung dịch kali dihydrophosphat 3,4 % đã được chỉnh đến pH 3,5 bằng acid phosphoric - nước - methanol (10 : 30 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 70,0 mg chế phẩm trong 25 ml methanol (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng dung dịch có chứa kali dihydrophosphat 0,68 % và dinatri hydrophosphat 0,102 %.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 70,0 mg benzathin benzylpenicilin chuẩn trong 25 ml methanol (TT) và pha loãng thành 50,0 ml bằng dung dịch có chứa kali dihydrophosphat 0,68 % và dinatri hydrophosphat 0,102 %.

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

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh là end-capped octadecylsilyl silica gel (5 µm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 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 - 10	75	25
10 - 20	75 → 0	25 → 100
20 - 55	0	100
55 - 70	75	25

Tiến hành sắc ký dung dịch thử, các dung dịch đối chiếu. Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), thời gian lưu tương đối so với benzylpenicilin của benzathin khoảng 0,3 đến 0,4 và của tạp chất C (acid benzylpeniciloic benzathid) khoảng 2,4. Điều chỉnh tỷ lệ methanol trong pha động nếu cần thiết.

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

Diện tích của pic tương ứng với tạp chất C không được lớn hơn hai lần tổng diện tích hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %).

Bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn tổng diện tích hai pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,05 lần tổng diện tích hai pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Nước

Từ 5,0 % đến 8,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không tiến hành tiệt khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn

Lắc 20 mg chế phẩm với 20 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT) đã được pha loãng 1 thành 100, lắc kỹ và ly tâm. Lấy dịch trong tiến hành thử (Phụ lục 13.2, phương pháp E).

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM VI

Nội độc tố vi khuẩn phải ít hơn 0,13 EU/ml. Nếu chế phẩm dự định dùng để pha thuốc tiêm mà không tiến hành các biện pháp loại nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu này.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và cột sắc ký như mô tả trong phần Tập chất liên quan.

Pha động: Hỗn hợp *dung dịch đệm phosphat pH 3,5 - methanol - nước* (10 : 35 : 55).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

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

Dựa vào diện tích pic đáp ứng, tính toán hàm lượng của benzathin và benzathin benzylpenicilin. Hàm lượng benzathin benzylpenicilin bằng hàm lượng của benzylpenicilin nhân với hệ số 1,36.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

Nếu là nguyên liệu vô khuẩn: Trong đồ đựng kín, vô khuẩn và tránh sự xâm nhập của vi khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm penicilin.

Chế phẩm

Bột pha tiêm.

BỘT PHA TIÊM BENZATHIN BENZYL PENICILIN

Là bột vô khuẩn của benzathin benzylpenicilin đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chế phẩm có thể chứa một lượng thích hợp chất đệm, chất tạo hỗn dịch và các tá dược khác.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền, thuốc cấy” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng benzathin benzylpenicilin,

(C₁₆H₁₈N₂O₄S)₂.C₁₆H₂₀N₂, phải từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, hầu như không mùi.

Định tính

A. Cân khoảng 0,1 g chế phẩm, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, lắc kỹ khoảng 2 min. Thêm 2 ml *ether (TT)*, lắc trong 1 min và để yên để tách lớp. Bay hơi 1 ml dịch chiết ether đến khô và hòa tan cần thu được trong 2 ml *acid acetic băng (TT)*. Thêm 1 ml *dung dịch kali dicromat 5 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng.

BỘT PHA TIÊM BENZATHIN BENZYL PENICILIN

B. Cân khoảng 0,1 g chế phẩm, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, lắc kỹ khoảng 2 min. Chiết 2 lần, mỗi lần với 3 ml *ether (TT)*. Tập hợp dịch chiết thu được, bay hơi đến cạn. Hòa tan cần thu được trong 1 ml *ethanol 50 % (TT)*. Thêm 5 ml *dung dịch bão hòa acid picric (TT)*, đun nóng ở 90 °C trong 5 min. Để nguội, xuất hiện các tinh thể. Kết tinh lại bằng *ethanol 25 %* có chứa một lượng nhỏ *acid picric (TT)*. Điểm chảy của tinh thể thu được ở khoảng 214 °C (Phụ lục 6.7).

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

pH

Từ 5,0 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Đo pH của hỗn dịch sau khi pha như hướng dẫn ghi trên nhãn.

Nước

Từ 5,0 % đến 8,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,3 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)

Không được quá 0,13 EU trong 1 ml dung dịch được chuẩn bị như sau: Lắc 20 mg chế phẩm trong 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M đã được pha loãng 100 lần*. Lắc mạnh và li tâm. Sử dụng dịch trong.

Tập chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Chuẩn bị dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu ngay trước khi sử dụng. Chú ý tránh làm nóng trong quá trình chuẩn bị mẫu.

Dung dịch đệm phosphat pH 3,5: Hòa tan 34,0 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 1000 ml với *nước*. Điều chỉnh đến pH 3,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Dung môi pha mẫu: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 1,02 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*.

Pha động A: *Dung dịch đệm phosphat pH 3,5 - methanol - nước* (10 : 30 : 60).

Pha động B: *Dung dịch đệm phosphat pH 3,5 - methanol - nước* (10 : 60 : 30).

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 70 mg benzathin benzylpenicilin vào bình định mức 50 ml, thêm 25 ml *methanol (TT)* và lắc siêu âm khoảng 2 min để hòa tan. Pha loãng vừa đủ đến vạch với dung môi pha mẫu, lắc đều.

Dung dịch đối chiếu (1): Cân chính xác khoảng 70 mg benzathin benzylpenicilin chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm 25 ml *methanol (TT)* và lắc siêu âm khoảng 2 min để hòa tan. Pha loãng vừa đủ đến vạch với dung môi pha mẫu, lắc đều.

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

Điều kiện sắc ký:

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