

Cloramphenicol và cloramphenicol dinatri disuccinat

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước - methanol - dung dịch acid phosphoric 2 % (55 : 40 : 5).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột chế phẩm trong pha động để được dung dịch có nồng độ cloramphenicol 0,018 %.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch cloramphenicol dinatri disuccinat chuẩn 0,0005 % trong pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch cloramphenicol chuẩn 0,0005 % trong pha động.

Dung dịch phân giải: Chứa 0,0005 % cloramphenicol dinatri disuccinat chuẩn và 0,0005 % cloramphenicol chuẩn và 0,025 % chế phẩm trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 275 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký đối với các dung dịch trên. Phép thử chỉ có giá trị khi 2 pic trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải tương ứng với các pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và (2) được tách rõ ràng khỏi các pic tương ứng với hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử. Điều chỉnh nồng độ methanol trong pha động để đạt yêu cầu trên, nếu cần.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với cloramphenicol và cloramphenicol dinatri disuccinat không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) và (1) tương ứng (2 % cho mỗi tạp chất).

Nước

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,5 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Tiến hành theo Phép thử nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2). Hòa tan một lượng chế phẩm trong nước BET để thu được dung dịch có nồng độ 10 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 2,0 đơn vị trong 1 ml. Giá trị độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

Định lượng

Cân nhanh thuốc trong 10 đơn vị chế phẩm, tính khối lượng trung bình. Trộn đều nhanh, cân một lượng bột chế phẩm tương ứng khoảng 0,200 g cloramphenicol hòa tan trong nước vừa đủ 500,0 ml. Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch trên pha loãng với nước thành 100,0 ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 276 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Tính hàm lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, trong một đơn vị chế phẩm theo A (1 %, 1 cm). Lấy 297 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cloramphenicol ở bước sóng 276 nm.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

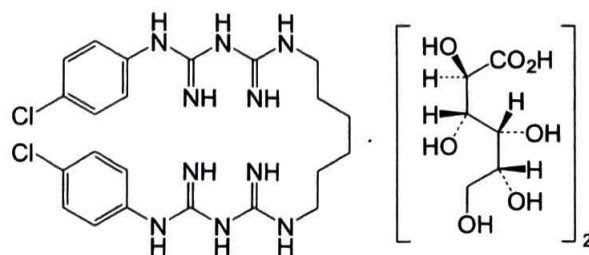
Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

1000 mg, tính theo cloramphenicol.

DUNG DỊCH CLORHEXIDIN GLUCONAT



$C_{34}H_{54}Cl_2N_{10}O_{14}$

P.t.l: 898

Dung dịch clorhexidin gluconat là dung dịch trong nước của $N^1,N^{1'}-(\text{hexan-1,6-diyl})\text{bis}[N^3-(4\text{-chloro-phenyl})\text{imido-dicarbonimidic diamid}]di\text{-D-gluconat}$, phải chứa từ 19,0 % đến 21,0 % (kl/tt) $C_{34}H_{54}Cl_2N_{10}O_{14}$.

Tính chất

Chất lỏng gần như không màu hoặc có màu vàng nhạt. Có thể trộn lẫn với nước, với không quá 3 phần acetone và với không quá 5 phần ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2).

Lấy 1 ml chế phẩm, thêm 40 ml nước, làm lạnh trong nước đá, kiểm tra bằng cách vừa khuấy vừa thêm từng giọt dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT), chỉ thị là giấy vàng titan (TT), sau đó thêm dư 1 ml dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT). Lọc, rửa tủa thu được với nước tới khi dịch rửa hết tính kiềm, kết tinh lại tủa bằng ethanol 70 % (tt/tt) rồi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C. Phổ hấp thụ hồng ngoại của tủa thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của clorhexidin chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac - ethyl acetat - nước - ethanol 96 % (10 : 10 : 30 : 50).

Dung dịch thử: Pha loãng 10,0 ml chế phẩm thành 50 ml bằng nước.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg calci gluconat chuẩn trong 1 ml nước.

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l các dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được hơn 1/2 chiều dài bản mỏng. Sấy khô bản mỏng ở 100 °C trong 20 min, để nguội. Phun dung dịch chứa 2,5 % *amoni molybdat* (TT) và 1 % *ceri sulfat* (TT) trong dung dịch *acid sulfuric loãng* (TT) và sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vị trí, màu sắc và kích thước giống với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Lấy 1 ml chế phẩm, thêm 40 ml nước, làm lạnh trong nước đá, kiểm hóa bằng cách vừa khuấy vừa thêm từng giọt dung dịch *natri hydroxyd 10 M* (TT), với chỉ thị là giấy vàng titan (TT), sau đó thêm dư 1 ml dung dịch *natri hydroxyd 10 M* (TT). Lọc, rửa tù thu được với nước tới khi dịch rửa hết tính kiềm, kết tinh lại tù bằng *ethanol 70 %* (tt/tt) rồi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C. Tù thu được nóng chảy (Phụ lục 6.7) trong khoảng từ 132 °C đến 136 °C.

D. Lấy 0,05 ml chế phẩm, thêm 5 ml dung dịch *cetrimid* (TT) 1 %, 1 ml dung dịch *natri hydroxyd 10 M* (TT) và 1 ml nước *brom* (TT), màu đỏ thẫm được tạo thành.

Tỷ trọng tương đối

1,06 đến 1,07 (Phụ lục 6.5).

pH

Từ 5,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Pha loãng 5,0 ml chế phẩm thành 100 ml bằng nước không có carbon dioxyd (TT).

Tạp chất P (Cloroanilin)

Không được quá 500 phần triệu, tính theo dung dịch clorhexidin gluconat.

Dung dịch thử: Pha loãng 0,20 g chế phẩm thành 30 ml bằng nước. Lần lượt thêm nhanh và khuấy mạnh sau mỗi lần thêm các dung dịch sau: 5 ml dung dịch *acid hydrocloric 1 M* (TT), 0,35 ml dung dịch *natri nitrit 10 %* (TT), 2 ml dung dịch *amoni sulfamat* (TT) 5 %, 5 ml dung dịch *N-(1-naphthyl)-ethylendiamin dihydroclorid* (TT) 0,1 % và 1 ml *ethanol 96 %* (TT). Chuyển dung dịch thu được sang bình định mức 50 ml và thêm nước đến vạch, để yên 30 min.

Các dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị dãy các dung dịch đối chiếu có chứa 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 500 ppm và 600 ppm cloroanilin (tạp chất P) như sau: Pha loãng lần lượt 1,0 ml; 2,0 ml; 4,0 ml; 10,0 ml và 12,0 ml dung dịch chứa 0,010 g/l cloroanilin (TT) trong dung dịch *acid hydrocloric loãng* (TT) thành 20 ml bằng nước. Thêm 10 ml nước. Thêm nhanh và khuấy mạnh sau mỗi lần thêm các dung dịch sau: 5 ml dung dịch *acid hydrocloric 1 M* (TT), 0,35 ml dung dịch *natri nitrit 10 %* (TT) và 2 ml dung dịch *amoni sulfamat* (TT) 5 %, 5 ml dung dịch *N-(1-naphthyl)-ethylendiamin dihydroclorid* (TT) 0,1 % và 1 ml *ethanol 96 %* (TT). Chuyển từng dung dịch thu được sang bình định mức 50 ml và thêm nước đến vạch, để yên 30 min.

Đo độ hấp thụ của các dung dịch đối chiếu ở 556 nm và thiết lập đường chuẩn.

Đo độ hấp thụ của dung dịch thử ở 556 nm, xác định nồng độ của cloroanilin trong dung dịch thử dựa vào đường chuẩn.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Bảo quản các dung dịch ở nhiệt độ không quá 12 °C.

Pha động A: Dung dịch *acid trifluoroacetic 0,1 %* (tt/tt) trong acetonitril - dung dịch *acid trifluoroacetic 0,1 %* (tt/tt) trong nước (20 : 80).

Pha động B: Dung dịch *acid trifluoroacetic 0,1 %* (tt/tt) trong acetonitril - dung dịch *acid trifluoroacetic 0,1 %* (tt/tt) trong nước (90 : 10).

Dung dịch thử: Pha loãng 1,0 ml dung dịch chế phẩm thành 100,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg clorhexidin chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất A, B, F, G, H, I, J, K, L, N và O) trong 1,0 ml pha động A.

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

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm $\times$ 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 μ m).

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μ l.

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 - 2	100	0
2 - 32	100 $\rightarrow$ 80	0 $\rightarrow$ 20
32 - 37	80	20
37 - 47	80 $\rightarrow$ 70	20 $\rightarrow$ 30
47 - 54	70	30

Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo clorhexidin 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, B, F, G, H, I, J, K, L, N và O.

Thời gian lưu tương đối so với clorhexidin (thời gian lưu khoảng 35 min): Tạp chất L khoảng 0,23; tạp chất Q khoảng 0,24; tạp chất G khoảng 0,25; tạp chất N khoảng 0,35; tạp chất B khoảng 0,36; tạp chất F khoảng 0,5; tạp chất A khoảng 0,6; tạp chất H khoảng 0,85; tạp chất O khoảng 0,90; tạp chất I khoảng 0,91; tạp chất J khoảng 0,96; tạp chất K khoảng 1,4.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất L và pic của tạp chất G ít nhất là 3,0; tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v).

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM VI

ít nhất là 2,0; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất B so với đường nền và H_v là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm giữa pic tạp chất B và pic tạp chất N.

Giới hạn:

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

Tạp chất H: Diện tích pic tạp chất H không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Tạp chất A, J, K: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,4 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,4 %).

Tổng diện tích pic của tạp chất I và O không được lớn hơn 0,4 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,4 %).

Tạp chất G: Diện tích pic tạp chất G không được lớn hơn 0,3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Tạp chất B, F, L, Q: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

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

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (3,0 %).

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

Ghi chú:

Tạp chất A: N^1 -(4-clorophenyl)- N^3 -[6-[(N-cyanocarbamimidoyl)amino]hexyl]imidodicarbonimidic diamid.

Tạp chất B: N -[N-[6-[[N-[N-(4-clorophenyl)carbamidoyl]amino]hexyl]carbamidoyl]ure.

Tạp chất E: N -(4-clorophenyl)guanidin.

Tạp chất F: N -(4-clorophenyl)ure.

Tạp chất G: N^1 -(6-aminoheptyl)- N^3 -(4-clorophenyl)imidodicarbonimidic diamid.

Tạp chất H: $N^1, N^{1'}$ -[azanediylbis(carbonimidoyl)azanediylhexan-6,1-diyl]bis[N^3 -(4-clorophenyl)imidodicarbonimidic diamid].

Tạp chất I: Chưa biết cấu trúc.

Tạp chất J: 1-(4-clorophenyl)-5-[6-[[4-[(4-clorophenyl)amino]-6-[(1S,2R,3R,4R)-1,2,3,4,5-pentahydroxypentyl]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]hexyl]biguanid.

Tạp chất K: N -(4-clorophenyl)- N' -[N-[6-[[N-[N-(4-clorophenyl)carbamidoyl]carbamidoyl]amino]hexyl]carbamidoyl]ure.

Tạp chất L: (5R,6S)-2-[(4-clorophenyl)amino]-5-hydroxy-6-[(1R,2R)-1,2,3-trihydroxypropyl]-5,6-dihydro-4H-1,3-oxazin-4-on.

Tạp chất M: N^1 -[6-[[N-[N-(4-clorophenyl)carbamidoyl]carbamidoyl]amino]hexyl]- N^3 -phenylimidodicarbonimidic diamid.

Tạp chất N: N^1 -[6-(carbamidoylamino)hexyl]- N^3 -(4-clorophenyl)imidodicarbonimidic diamid.

CLOROFORM

Tạp chất O: N^1 -[6-[[N-[N-(2-clorophenyl)carbamidoyl]carbamidoyl]amino]hexyl]- N^3 -(4-clorophenyl)imidodicarbonimidic diamid.

Tạp chất P: 4-Cloroanilin.

Tạp chất Q: Chưa biết cấu trúc.

Định lượng

Xác định khối lượng riêng (g/ml) của chế phẩm (Phụ lục 6.5).

Cân 1,00 g chế phẩm vào cốc có mỏ dung tích 250 ml và thêm 50 ml acid acetic khan (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml dung dịch acid perchloric 0,1 N (CD) tương đương với 22,44 mg $C_{34}H_{54}Cl_2N_{10}O_{14}$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Sát trùng.

Chế phẩm

Dung dịch rửa, dung dịch súc miệng, gel hỗn hợp clorhexidin và lidocain.

CLOROFORM

Tricloromethan

$CHCl_3$

P.t.l: 119,4

Cloroform là trichloromethan có thể chứa 1,0 % đến 2,0 % ethanol hoặc 50 mg amylen trong một lít.

Tính chất

Chất lỏng không màu, dễ bay hơi. Khó tan trong nước, trộn lẫn được với ethanol, ether, các dầu béo, tinh dầu và đa số các dung môi hữu cơ theo mọi tỷ lệ.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm được xác định sau khi đã rửa chế phẩm với nước và làm khan bằng natri sulfat khan (TT) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của cloroform.

Khoảng chưng cất

Không được quá 5,0 % (tt/tt) chưng cất được dưới 60 °C và phần còn lại chưng cất được ở nhiệt độ 60 °C đến 62 °C (Phụ lục 6.8).

Khối lượng riêng

Từ 1,474 g/ml đến 1,479 g/ml (Phụ lục 6.5).

Giới hạn acid - kiềm

Dung dịch S: Lắc 10,0 ml chế phẩm với 20,0 ml nước vừa đun sôi để nguội trong 3 min. Để phân lớp, lấy lớp nước.

Lấy 5,0 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml dung dịch quỳ (TT)