

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch chuẩn và dung dịch thử ở bước sóng 276 nm.

Tính lượng gemfibrozil đã hòa tan trong một viên từ độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{15}H_{22}O_3$ của gemfibrozil chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng gemfibrozil, $C_{15}H_{22}O_3$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký, pha động, dung dịch phân giải như mô tả trong phần Định lượng.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 500 mg gemfibrozil vào bình định mức 50 ml. Thêm 40 ml pha động, siêu âm và lắc 20 min. Pha loãng đến vạch bằng pha động và lọc.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg gemfibrozil chuẩn hòa tan trong vừa đủ 50,0 ml *methanol* (TT). Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được bằng pha động thành 100,0 ml, dung dịch thu được có nồng độ gemfibrozil 0,05 mg/ml.

Dung dịch thử độ nhạy: Pha loãng 10 lần dung dịch chuẩn bằng pha động, dung dịch thu được có nồng độ gemfibrozil 0,005 mg/ml.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của gemfibrozil.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic gemfibrozil và pic *p*-xilenol ít nhất là 8,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic gemfibrozil thu được từ 5 lần tiêm lặp lại dung dịch phân giải không được quá 2,0 %. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử độ nhạy, tỷ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 10.

Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính phần trăm mỗi tạp đơn trong chế phẩm, nếu có, dựa vào diện tích pic tạp đơn trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích pic gemfibrozil trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{15}H_{22}O_3$ của gemfibrozil chuẩn.

Giới hạn: Mỗi tạp đơn không được quá 0,17 %. Tổng các tạp chất không được quá 1,0 %.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Thêm 10 ml *acid acetic* băng (TT) vào 800 ml *methanol* (TT) trong bình định mức 1000 ml. Sau đó thêm nước vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch thử: 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 100 mg gemfibrozil vào bình định mức 100 ml. Thêm 80 ml *methanol* (TT) và lắc để hòa tan. Thêm *methanol* (TT) vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc bằng pha động thành 50,0 ml.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg gemfibrozil

chuẩn hòa tan trong vừa đủ 50,0 ml *methanol* (TT). Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được bằng pha động thành 50,0 ml.

Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa gemfibrozil 0,2 mg/ml và *p*-xilenol 0,05 mg/ml trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 276 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic gemfibrozil và pic *p*-xilenol ít nhất là 8,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic gemfibrozil thu được từ 5 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được quá 2,0 %.

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

Tính hàm lượng gemfibrozil, $C_{15}H_{22}O_3$, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{15}H_{22}O_3$ của gemfibrozil chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

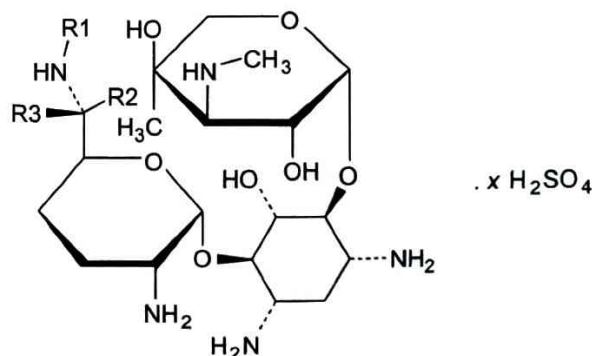
Loại thuốc

Điều hòa lipid máu.

Hàm lượng thường dùng

300 mg, 600 mg.

GENTAMICIN SULFAT



Gentamicin	R ₁	R ₂	R ₃
C ₁	CH ₃	CH ₃	H
C ₂	H	CH ₃	H
C _{1a}	H	H	H
C _{2a}	H	H	CH ₃

Gentamicin sulfat là muối sulfat hoặc hỗn hợp muối sulfat của kháng sinh được sản xuất bởi *Micromonospora purpurea*. Hàm lượng không được ít hơn 590 μg gentamicin trong 1 mg, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

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 gentamicin sulfat chuẩn.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).

pH

Từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxide (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng

Từ +107° đến +121°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chế phẩm nồng độ 10 mg/ml trong nước để đo.

Thành phần gentamicin

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 5,5 g natri heptansulfonat (TT) trong hỗn hợp gồm 50 ml acid acetic băng (TT), 250 ml nước và 700 ml methanol (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Hút 10,0 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml methanol (TT) và 4 ml thuốc thử phthalaldehyd (TT); trộn đều và pha loãng thành 25,0 ml với methanol (TT). Đun nóng hỗn hợp thu được trong cách thủy ở 60 °C trong 15 min, làm nguội đến nhiệt độ phòng. Nếu dung dịch thử không dùng ngay, làm lạnh ở nhiệt độ 0 °C và sử dụng trong vòng 4 h kể từ khi chuẩn bị dung dịch.

Dung dịch đối chiếu: Cân 0,10 g gentamicin sulfat chuẩn, tiến hành tương tự như phần chuẩn bị dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm đến 12,5 cm × 4,6 mm đến 5 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 330 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Thứ tự rửa giải: Gentamicin C₁, gentamicin C_{1a}, gentamicin C_{2a}, gentamicin C₂.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, độ phân giải giữa hai pic bất kỳ ít nhất là 1,25. Hệ số phân bố khối lượng của pic gentamicin C₁ từ 2 đến 7. Số đĩa lý thuyết tính trên pic gentamicin C₂ không được nhỏ hơn 1200 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.

Tính hàm lượng phần trăm của gentamicin C₁, gentamicin C_{1a}, gentamicin C_{2a}, gentamicin C₂ trong chế phẩm theo công thức sau:

$$100 \times r_f / r_s$$

Trong đó: r_f là diện tích pic của từng loại gentamicin trên sắc ký đồ của dung dịch thử.

r_s là tổng diện tích pic của 4 loại gentamicin.

Giới hạn:

Gentamicin C₁: Từ 25,0 % đến 50,0 %.

Gentamicin C_{1a}: Từ 10,0 % đến 35,0 %.

Tổng hàm lượng gentamicin C_{2a} và gentamicin C₂: Từ 25,0 % đến 55,0 %.

Methanol

Không được quá 1,0 %.

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Pha loãng 2,5 ml n-propanol (TT) thành 500 ml bằng nước và trộn đều. Dung dịch chuẩn nội chứa 0,50 % (tt/tt) n-propanol.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng hỗn hợp 1,25 ml methanol (TT) và 1,25 ml n-propanol (TT) thành 500 ml bằng nước và trộn đều. Dung dịch chứa 0,25 % (tt/tt) methanol và 0,25 % (tt/tt) n-propanol.

Dung dịch kiểm tra: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 2,0 ml nước.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 1,0 ml dung dịch chuẩn nội và thêm 1,0 ml nước, trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (1,5 m × 4 mm) được nhồi các hạt copolymer ethylvinylbenzen-divinylbenzen, có diện tích bề mặt từ 500 m²/g đến 600 m²/g và đường kính lỗ xốp trung bình 0,0075 μm.

Khí mang: Nitrogen dùng cho sắc ký.

Tốc độ dòng: Từ 30 đến 40 ml/min.

Nhiệt độ cột: Duy trì ở nhiệt độ không đổi từ 120 °C đến 140 °C.

Nhiệt độ buồng tiêm và detector: Duy trì ở nhiệt độ không đổi và cao hơn nhiệt độ cột ít nhất 50 °C.

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 2 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu, độ phân giải giữa hai pic n-propanol và pic methanol ít nhất là 1,0.

Tiến hành sắc ký với dung dịch kiểm tra, nếu xuất hiện pic tương ứng với n-propanol, đo diện tích pic đáp ứng để hiệu chỉnh diện tích pic n-propanol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, ghi lại diện tích pic của n-propanol và methanol. Tính hàm lượng phần trăm methanol trong chế phẩm theo công thức sau:

$$(R_u/R_s) \times (C_s/C_u) \times D \times F$$

Trong đó:

R_u là tỷ lệ diện tích pic methanol và diện tích pic n-propanol (đã hiệu chỉnh, nếu cần, bằng cách trừ đi diện tích của pic tương ứng với n-propanol quan sát được trên sắc ký đồ của dung dịch kiểm tra) thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử.

R_s là tỷ lệ diện tích pic methanol và diện tích pic n-propanol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C_s là nồng độ phần trăm methanol trong dung dịch đối chiếu.
 C_u là nồng độ chế phẩm trong dung dịch thử (mg/ml).
 D là khối lượng riêng của methanol (g/ml).
 F là hệ số chuyển đổi, 1000 mg/g.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 18,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,0 g; 110 °C, trong chân không áp suất không quá 5 mmHg, 3 h).

Tro sulfat

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 0,50 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,71 EU/mg (Phụ lục 13.2).
Nếu chế phẩm dùng để sản xuất thuốc tiêm mà trong quy trình không có giai đoạn tiến hành loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử này.

Thử vô khuẩn

Tiến hành thử theo phương pháp màng lọc (Phụ lục 13.7).
Nếu trên nhãn ghi vô khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử này.

Định lượng

Tiến hành xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp vi sinh vật (Phụ lục 13.9).

Bảo quản

Trong bao bì kín. Nếu chế phẩm vô khuẩn, đựng trong đồ bao gói kín và đảm bảo vô khuẩn.

Nhãn

Phải ghi rõ nếu chế phẩm vô khuẩn và không có nội độc tố vi khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm aminoglycosid.

Chế phẩm

Thuốc nhỏ mắt, thuốc tiêm, thuốc kem, thuốc mỡ.

THUỐC NHỎ MẮT GENTAMICIN

Thuốc nhỏ mắt gentamicin là dung dịch vô khuẩn của gentamicin sulfat trong nước, có thể có thêm tá dược thích hợp. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc dùng tại mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng gentamicin từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

pH

6,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Định tính

A. Sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Sau khi lắc đều và để tách lớp, lấy lớp dưới của hỗn hợp đồng thể tích *cloroform - amoniac - methanol*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan gentamicin sulfat trong nước để thu được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.

Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích chế phẩm với nước để thu được dung dịch có nồng độ gentamicin sulfat khoảng 1 mg/ml.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt 20 μ l mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Để khô vết chấm. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều cao của bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phát hiện vết trên hơi iod hoặc phun *dung dịch ninhydrin 0,3 % trong ethanol (TT)* và sấy bản mỏng ở nhiệt độ 105 °C trong 5 min. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 3 vết chính tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với 3 vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Trong mục Thành phần của gentamicin sulfat, trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, thời gian lưu của 4 pic chính phải tương đương với thời gian lưu của 4 pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.

Thành phần của gentamicin sulfat

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Pha dung dịch *natri heptansulfonat monohydrat* 0,025 M trong hỗn hợp dung môi: *Methanol - nước - acid acetic băng* (70 : 25 : 5).

Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch gentamicin sulfat chuẩn 0,065 % trong nước. Lấy 10 ml dung dịch thu được cho vào bình định mức dung tích 25 ml, thêm 5 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ. Thêm vào hỗn hợp 4 ml *thuốc thử phthalaldehyd (TT)*, trộn đều. Bỏ sung *methanol (TT)* tới định mức. Đun nóng 60 °C trong cách thủy 15 min, để nguội. Nếu dung dịch không dùng ngay, cần bảo quản lạnh ở 0 °C và sử dụng trong vòng 4 h.

Dung dịch thử: Chuẩn bị như dung dịch chuẩn, nhưng thay 10 ml dung dịch gentamicin sulfat chuẩn bằng 10 ml chế phẩm thử đã được pha loãng với nước để thu được dung dịch có nồng độ tương đương 0,045 % gentamicin.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm đến 12,5 cm $\times$ 4,6 mm đến 5,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 330 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, thời gian lưu của gentamicin C_2 từ 10 min đến 20 min và các pic được tách hoàn toàn với các thời gian lưu tương đối so với gentamicin C_2 (gentamicin C_2 : 1,00) như sau: Thuốc thử: 0,13; gentamicin C_1 : 0,27; gentamicin C_{1a} : 0,65; gentamicin C_{2a} : 0,85.