

phản ứng định tính của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1) với tủa vàng hình thành.

C. Lấy 10 mg cân, thêm 20 mg *phenol* (TT) và 3 giọt *acid sulfuric đậm đặc* (TT), đun đến khi hỗn hợp có màu nâu. Để nguội, thêm 20 ml *nước* và kiểm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M* (TT), có màu hồng xuất hiện (phản ứng phân biệt với *sucinylsulfathiazol*).

Sulfathiazol

Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với 7,5 mg *phthalylsulfathiazol* trong một hỗn hợp gồm 25 ml *ethanol 96 %* (TT), 6 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT) và 3,5 ml *nước* đã được làm lạnh trước đến 15 °C rồi lọc. Làm lạnh ngay dịch lọc trong nước đá và thêm vào dịch lọc 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,25 %*, trộn đều và để yên trong 3 min. Thêm 2,5 ml *dung dịch acid sulfamic 4 %*, để yên tiếp trong 5 min. Thêm 1 ml *dung dịch N-(1-naphthyl) ethylendiamin dihydrochlorid 0,4 %* và pha loãng đến vừa đủ 50 ml với *nước*. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở 550 nm không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị đồng thời, trong cùng điều kiện như sau: Dùng một hỗn hợp gồm 25 ml *ethanol 96 %* (TT), 2 ml *nước*, 6 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT) và 1,5 ml dung dịch được chuẩn bị bằng cách hòa tan 10 mg *sulfathiazol* và 0,5 ml *acid hydrochloric đậm đặc* (TT) trong *nước* vừa đủ 100 ml. Làm lạnh ngay hỗn hợp thu được trong nước đá, thêm vào hỗn hợp 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,25 %*, trộn đều và để yên trong 3 min. Tiến hành như trên, bắt đầu từ “Thêm 2,5 ml *dung dịch acid sulfamic 4 %* ...”

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,5 g *phthalylsulfathiazol*, cho vào một bình cầu nhỏ, thêm 20 ml *acid hydrochloric đậm đặc* (TT) và 10 ml *nước* rồi đun sôi dưới ống sinh hàn hồi lưu trong 1 h. Dùng 20 ml *dung dịch acid hydrochloric loãng* (TT) chuyển toàn bộ lượng chất lỏng trong bình thủy phân sang một cốc dung tích 200 ml. Tiến hành chuẩn độ bằng nitrit (Phụ lục 10.4). 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M* (CĐ) tương đương với 40,34 mg $C_{17}H_{13}N_3O_5S_2$.

Bảo quản

Đựng trong đồ đựng kín. Để nơi khô, mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

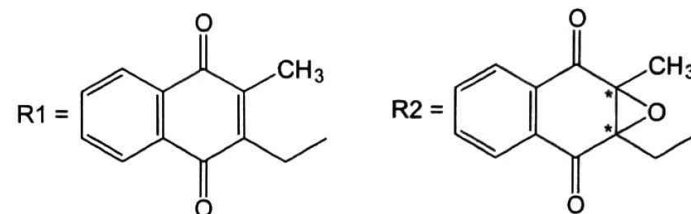
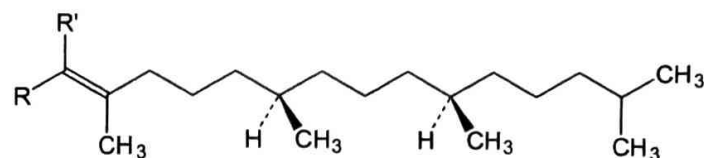
Kháng khuẩn.

Hàm lượng thường dùng

500 mg.

PHYTOMENADION

Vitamin K₁



Phytomenadion	R	R'	Công thức phân tử	Phân tử lượng
<i>trans</i>	R1	H	$C_{31}H_{46}O_2$	450,7
<i>cis</i>	H	R1	$C_{31}H_{46}O_2$	450,7
<i>trans-epoxy</i>	R2	H	$C_{31}H_{46}O_3$	466,7

$C_{31}H_{46}O_2$

P.t.l: 450,7

Phytomenadion là hỗn hợp của 2-methyl-3-[(2E,7R,11R)-3,7,11,15-tetramethylhexadec-2-enyl]naphthalen-1,4-dion (*trans*-phytomenadion), 2-methyl-3-[(2Z)-(7R,11R)-3,7,11,15-tetramethylhexadec-2-enyl]-naphthalen-1,4-dion (*cis*-phytomenadion) và 2,3-epoxy-2-methyl-3-[(2E,7R,11R)-3,7,11,15-tetramethylhexadec-2-enyl]-2,3-dihydronaphthalen-1,4-dion (*trans-epoxy*phytomenadion). Chứa không quá 4,0 % *trans-epoxy*phytomenadion và không ít hơn 75,0 % *trans*-phytomenadion. Tổng của 3 thành phần *trans*-phytomenadion, *cis*-phytomenadion và *trans-epoxy*phytomenadion phải từ 97,0 % đến 103,0 %.

Tính chất

Chất lỏng dạng dầu nhớt, trong và màu vàng đậm.

Hơi tan trong *ethanol 96 %*, thực tế không tan trong *nước*, có thể trộn lẫn với dầu béo. Bị phân hủy khi tiếp xúc với ánh sáng.

Chỉ số khúc xạ khoảng 1,526.

Định tính

Tiến hành nhanh chóng và tránh tiếp xúc với ánh sáng.

A. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong *trimethylpentan* (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ từ ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong vùng từ bước sóng 275 nm đến 340 nm cho hấp thụ cực đại ở 327 nm và cực tiểu ở 285 nm. A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại phải từ 67 đến 73.

Pha loãng tiếp 10,0 ml dung dịch trên thành 50,0 ml với *trimethylpentan* (TT). Phổ hấp thụ từ ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong vùng từ bước sóng 230 nm đến 280 nm, cho 4 hấp thụ cực đại ở 243 nm, 249 nm, 261 nm và 270 nm.

B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về thời gian lưu và kích thước với pic chính thu được trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (4).

C. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 10 ml *methanol* (TT) và thêm 1 ml dung dịch *kali hydroxyd* (TT) 20 % trong *methanol* (TT), màu xanh lục xuất hiện và trở nên đỏ tím khi đun nóng trong cách thủy ở 40 °C và sau đó chuyển sang màu nâu đỏ.

Độ trong của dung dịch

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *trimethylpentan* (TT) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2).

Chỉ số acid

Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.2).

Dùng 2,00 g chế phẩm.

Tạp chất A

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

Bản mỏng: Silica gel F₂₅₄.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - toluen (20 : 80).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,40 g chế phẩm trong *cyclohexan* (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 4,0 mg menadion (tạp chất A) trong *cyclohexan* (TT) và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 bản mỏng, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Hệ số di chuyển tương đối so với *trans*-phytomenadion (R_f khoảng 0,5): tạp chất A khoảng 0,4.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất cứ vết nào tương ứng với tạp chất A không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 2-methylnaphthalen-1,4-dion (menadion).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Các dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi sử dụng và tránh ánh sáng.

Pha động: Octanol - di-isopropyl ether - heptan (2 : 6,6 : 2000).

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg phytomenadion chuẩn trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2,0 mg *trans*-epoxyphytomenadion chuẩn trong pha động, thêm 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 25,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *silica gel hình cầu dùng cho sắc ký* (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột bằng pha động ít nhất 24 h.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2) và (3) với thời gian gấp 1,6 lần thời gian lưu của *trans*-phytomenadion.

Thời gian lưu tương đối so với *trans*-phytomenadion (thời gian lưu khoảng 30 min): *trans*-epoxyphytomenadion khoảng 0,6, *cis*-phytomenadion khoảng 0,65.

Kiểm tra tính phù hợp hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic *trans*-epoxyphytomenadion và *cis*-phytomenadion ít nhất là 1,5; độ phân giải giữa pic *cis*-phytomenadion và pic *trans*-phytomenadion ít nhất là 4,0.

Tính hàm lượng phần trăm các tạp chất dựa vào nồng độ của *trans*-phytomenadion trong dung dịch đối chiếu (3).

Giới hạn:

Những tạp chất rửa giải trước *trans*-epoxyphytomenadion: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,15 %.

Tổng tạp chất rửa giải trước *trans*-epoxyphytomenadion: Không được quá 0,2 %.

Những tạp chất rửa giải giữa *cis*-phytomenadion và *trans*-phytomenadion: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,4 %.

Tổng tạp chất rửa giải giữa *cis*-phytomenadion và *trans*-phytomenadion: Không được quá 0,5 %.

Những tạp chất rửa giải sau *trans*-phytomenadion: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,25 %.

Tổng tạp chất rửa giải sau *trans*-phytomenadion: Không được quá 0,5 %.

Tổng tạp chất: Không được quá 1,2 %.

Bỏ qua những tạp chất có hàm lượng nhỏ hơn hoặc bằng 0,05 %.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (4), Kiểm tra tính phù hợp hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic *trans*-phytomenadion thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 1,0 %.

Tính hàm lượng *trans*-phytomenadion, *cis*-phytomenadion và *trans*-epoxyphytomenadion dựa vào diện tích các pic

tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (4) và hàm lượng của trans-phytomenadion, cis-phytomenadion, trans-epoxyphytomenadion trong phytomenadion chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Tương tự vitamin K.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, viên nén.

VIÊN NÉN PHYTOMENADION

Là viên nén nhai hay ngậm chứa phytomenadion.

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 phytomenadion, $C_{31}H_{46}O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

Lắc một lượng bột viên tương ứng với 50 mg phytomenadion với 50 ml *ethanol* (TT), khoảng 1 h, để lắng. Lấy 5 ml dịch trong cho vào bình định mức 50 ml, thêm *ethanol* (TT) đến định mức, lắc đều (dung dịch A). Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch A trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm, phải có cực đại ở bước sóng 328 nm và cực tiểu ở bước sóng 292 nm.

Tiếp tục pha loãng một thể tích thích hợp dung dịch A với lượng *ethanol* (TT) vừa đủ để được dung dịch phytomenadion 0,001 %. Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm, phải có cực đại ở các bước sóng 245 nm, 249 nm, 263 nm và 271 nm, cực tiểu ở các bước sóng 256 nm và 266 nm.

Độ rã

Yêu cầu về độ rã không áp dụng cho viên nén phytomenadion.

Menadion

Không được quá 1,0 %

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Methanol - ether - cyclohexan (1 : 20 : 80).

Dung dịch thử: Phân tán một lượng bột viên tương ứng với 50 mg phytomenadion trong 5 ml *ethanol* (TT) bằng cách lắc siêu âm khoảng 5 min, thêm 15 ml 2,2,4-trimethylpentan (TT), lắc khoảng 1 min, ly tâm và lấy lớp dung dịch trong ở trên.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 0,0025 % menadion trong 2,2,4-trimethylpentan (TT).

Cách tiến hành: Chấm 50 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc

ký ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất cứ vết phụ nào tương ứng với vết của menadion không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp nước - *ethanol* 96 % (5 : 95).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch phytomenadion chuẩn 0,01 % trong pha động.

Dung dịch thử: Lấy 20 viên, loại bỏ lớp bao (nếu cần), cân tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg phytomenadion, thêm 5 ml *dung dịch amoniac* 0,5 M (TT), lắc siêu âm khoảng 5 min. Thêm 90 ml *ethanol* 96 % (TT), lắc siêu âm khoảng 10 min, lắc cơ học khoảng 10 min và thêm *ethanol* 96 % (TT) vừa đủ 100,0 ml, ly tâm và lấy lớp dung dịch trong ở trên.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (20 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 1,5 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, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2 %. Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng phytomenadion, $C_{31}H_{46}O_2$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{31}H_{46}O_2$ của phytomenadion chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín và tránh ánh sáng.

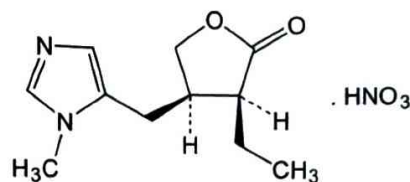
Loại thuốc

Vitamin (nhóm K).

Hàm lượng thường dùng

2 mg, 5 mg, 10 mg.

PILOCARPIN NITRAT



$C_{11}H_{16}N_2O_2 \cdot HNO_3$

P.t.l: 271,3

Pilocarpin nitrat là (3*S*,4*R*)-3-ethyl-4-[(1-methyl-1*H*-imidazol-5-yl)methyl]-dihydrofuran-2(3*H*)-on nitrat, phải chứa từ