

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.

THUỐC TIÊM GENTAMICIN

Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic của gentamicin C_{2a} và C_2 không nhỏ hơn 1,3.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử, tính tỷ lệ các thành phần C_1 , C_{1a} , C_{2a} và C_2 trong chế phẩm thử bằng phương pháp chuẩn hóa diện tích pic (xem mục Thành phần gentamicin trong chuyên luận Gentamicin sulfat).

Các tỷ lệ phải nằm trong giới hạn sau:

Gentamicin C_1 : 25,0 % đến 50,0 %.

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

Gentamicin $C_2 + C_{2a}$: 25,0 % đến 55,0 %.

Định lượng

Theo phương pháp “Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật” (Phụ lục 13.9).

Tính hàm lượng gentamicin trong thuốc nhỏ mắt, 1 mg gentamicin base tương ứng với 1000 UI.

Bảo quản

Nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

0,3 %.

THUỐC TIÊM GENTAMICIN

Thuốc tiêm gentamicin là dung dịch vô khuẩn chứa gentamicin sulfat trong nước để pha thuốc tiêm.

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:

Hàm lượng gentamicin, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

pH

3,0 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

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

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg gentamicin sulfat chuẩn trong 10 ml nước.

Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm với nước để được dung dịch chứa khoảng 1 mg gentamicin sulfat trong 1 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 20 μ l mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Sau khi triển khai dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy ra để khô ngoài không khí. Phát hiện vết trong hơi iod hoặc phun dung dịch ninhydrin trong ethanol (TT)

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM VI

và sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 min. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có ba vết chính có cùng giá trị R_f và màu sắc với ba vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

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

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: Methanol - nước - acid acetic băng (70 : 25 : 5).

Dung dịch chuẩn: Thêm 5 ml methanol (TT) vào 10 ml dung dịch gentamicin sulfat chuẩn có nồng độ 0,065 %, lắc đều và thêm 4 ml thuốc thử phthalaldehyd (TT), lắc đều và thêm methanol (TT) vừa đủ 25 ml. Đun trong cách thủy ở 60 °C, trong 15 min, để nguội. Nếu dung dịch không dùng ngay, để lạnh ở 0 °C và sử dụng trong vòng 4 h.

Dung dịch thử: Cũng chuẩn bị như trên nhưng thay 10 ml dung dịch gentamicin sulfat chuẩn bằng 10 ml dung dịch thử có nồng độ khoảng 0,045 % gentamicin.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm đến 12,5 cm $\times$ 4,6 mm đến 5 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m) (cột ODS Hypersil là thích hợp). Detector quang phổ tử ngoại 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 đến 20 min và các pic được tách hoàn toàn với các thời gian lưu tương đối (so với 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.

Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic của gentamicin C_{2a} và C_2 không nhỏ hơn 1,3.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử, tính tỷ lệ các thành phần C_1 , C_{1a} , C_{2a} , C_2 trong chế phẩm thử bằng phương pháp chuẩn hóa diện tích pic (xem ở mục Thành phần gentamicin trong chuyên luận Gentamicin sulfat).

Các tỷ lệ phải nằm trong giới hạn sau:

Gentamicin C_1 : 25,0 % đến 50,0 %.

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

Gentamicin $C_2 + C_{2a}$: 25,0 % đến 55,0 %.

Nội độc tố vi khuẩn

Tiến hành theo chuyên luận “Phép thử nội độc tố vi khuẩn” (Phụ lục 13.2).

Pha loãng dung dịch tiêm nếu cần thiết với nước BET để có nồng độ tương đương khoảng 10 mg gentamicin/ml (Dung dịch A). Giới hạn nồng độ nội độc tố vi khuẩn của dung dịch A là 16,7 EU trong 1 ml. Tiến hành phép thử sử dụng giá trị pha loãng cực đại của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.