

Định tính

A. Hòa tan 2,5 mg chế phẩm trong dung dịch có chứa 0,8 % (tt/tt) *acid acetic khan (TT)* và 1,09 % *natri acetat (TT)* rồi pha loãng đến 100 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ từ ngoại - khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên trong khoảng bước sóng 260 nm đến 610 nm có ba hấp thụ cực đại ở các bước sóng 274 nm, 351 nm và 525 nm. Tỷ số độ hấp thụ ở bước sóng 274 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng 351 nm từ 0,75 đến 0,83. Tỷ số độ hấp thụ ở bước sóng 525 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng 351 nm từ 0,31 đến 0,35.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 10 % - methanol (25 : 75).

Dung dịch thử: Hòa tan 2 mg chế phẩm trong 1 ml dung dịch đồng thể tích ethanol 96 % (TT) và nước.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 2 mg hydroxocobalamin sulfat chuẩn trong 1 ml dung dịch đồng thể tích ethanol 96 % (TT) và nước.

Cách tiến hành: Tiến hành tránh ánh sáng.

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình sắc ký không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được 12 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

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

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Sử dụng các dung dịch mới pha và trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: 19,5 thể tích methanol (TT) và 80,5 thể tích dung dịch có chứa 1,5 % acid citric (TT) và 0,81 % dinatri hydrophosphat (TT) trong nước.

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 10 ml nước, làm nóng nếu cần thiết. Để nguội và thêm 1 ml dung dịch cloramin T 2 % (TT), 0,5 ml dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT). Pha loãng thành 25 ml bằng nước. Lắc, để yên trong 5 min và tiêm ngay.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 351 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm riêng biệt mỗi dung dịch trên và tiếp tục chạy sắc ký trong khoảng thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải có 3 pic chính và độ phân giải giữa hai pic liền kề ít nhất là 3,0; sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 1 pic chính và tỷ số tín hiệu của pic này so với độ nhiễu đường nền ít nhất là 5.

Giới hạn: Trong sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích của các pic trừ pic chính không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (5 %). Bỏ qua tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Mất khối lượng do làm khô

Từ 8,0 % đến 16,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,400 g; 100 °C đến 105 °C; áp suất không quá 0,7 kPa).

Định lượng

Cần phải tránh ánh sáng trong quá trình định lượng.

Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong dung dịch có chứa 0,8 % (tt/tt) *acid acetic khan (TT)* và 1,09 % *natri acetat (TT)* rồi pha loãng đến 1000,0 ml với cùng dung môi. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên ở bước sóng cực đại 351 nm. Tính hàm lượng $C_{124}H_{178}Co_2N_{26}O_{30}P_2 \cdot H_2SO_4$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 188 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 351 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin B₁₂.

THUỐC TIÊM HYDROXOCOBALAMIN

Là dung dịch vô khuẩn của hydroxocobalamin acetat, hydroxocobalamin clorid hay hydroxocobalamin sulfat trong nước để pha thuốc tiêm có chứa acid acetic, acid hydrocloric hay acid sulfuric đủ để chỉnh pH đến khoảng 4,0.

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 hydroxocobalamin, $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P$, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn của hydroxocobalamin khan.

Tính chất

Dung dịch trong, màu đỏ.

Định tính

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử ở phần định lượng tại bước sóng 351 nm và 361 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ ở 361 nm và 351 nm là khoảng 0,65.

pH

3,8 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch chứa 1,5 % acid citric và 0,81 % dinatri hydrophosphat (19,5 : 80,5).

Các dung dịch dưới đây phải được tiêm ngay sau khi pha và phải được tránh ánh sáng.

Dung dịch thử: Pha loãng chính xác một thể tích chế phẩm trong pha động để được dung dịch có nồng độ hydroxocobalamin là 0,10 %.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng dung dịch thử trong pha động để được dung dịch có nồng độ hydroxocobalamin là 0,005 %.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng dung dịch đối chiếu (1) trong pha động để được dung dịch có nồng độ hydroxocobalamin là 0,0001 %.

Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng muối hydroxocobalamin chuẩn tương ứng với 5 mg hydroxocobalamin trong nước, thêm 0,2 ml dung dịch cloramin T 2 % (TT) mới pha và 0,1 ml dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT). Pha loãng thành 10 ml bằng nước. Lắc và để yên 5 min, rồi tiêm ngay.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 μm) (Cột Lichrosorb 100 CH8/11 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 351 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải có 3 pic chính và độ phân giải giữa các cặp pic liên kề phải không được nhỏ hơn 3,0; sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 1 pic chính với tỷ số tín hiệu trên nhiễu không nhỏ hơn 5.

Giới hạn:

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích của các pic trừ pic chính không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (10 %). Bỏ qua tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,4 EU/μg hydroxocobalamin (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng

Hút chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với 2,5 mg hydroxocobalamin khan vào bình định mức 100 ml, pha loãng đến định mức bằng dung dịch có chứa 0,8 % (t/tt) acid acetic băng và 1,09 % natri acetat. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 351 nm.

Tính hàm lượng hydroxocobalamin, $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P$,

trong chế phẩm theo A (1 %, 1 cm). Lấy 195 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 351 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin.

Hàm lượng thường dùng

Ống tiêm 1 mg/ml, 1 mg/4 ml, 500 μg/ml, 2 μg/ml.

HYDROXYETHYLCELULOSE

Hydroxyethylcellulose là cellulose được O-(2-hydroxyethyl) hóa một phần.

Tính chất

Hạt hay bột trắng, trắng ngà hay trắng xám. Tan trong nước nóng và nước lạnh tạo dung dịch keo, thực tế không tan trong acetone, ethanol 96 % và toluen.

Định tính

Dung dịch S: Phân tán một lượng chế phẩm tương đương 1,0 g đã làm khô trong 50 ml nước không có carbon dioxyl (TT). Sau 10 min, pha loãng thành 100 ml bằng nước không có carbon dioxyl (TT) và khuấy cho đến khi tan hoàn toàn.

A. Đun 10 ml dung dịch S đến sôi, dung dịch vẫn phải trong.
B. Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,3 ml dung dịch acid acetic loãng (TT) và 2,5 ml dung dịch acid tannic 10 %. Xuất hiện tủa bông màu trắng ngà, tủa này tan trong dung dịch amoniac loãng (TT).

C. Trong ống nghiệm có chiều dài khoảng 160 mm, trộn đều 1 g chế phẩm với 2 g bột mịn mangan sulfat (TT). Đặt mẫu giấy lọc đã được tẩm hỗn hợp mới pha gồm 1 thể tích dung dịch diethanolamin 20 % và 11 thể tích dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT) được điều chỉnh pH đến khoảng 9,8 bằng dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT) vào phần trên của ống nghiệm sâu khoảng 2 cm. Đun ống nghiệm trong dầu silicon ở nhiệt độ 190 °C đến 200 °C sao cho phần ngập trong dầu khoảng 8 cm. Trong vòng 10 min, giấy lọc sẽ có màu xanh lam. Tiến hành song song mẫu trắng trong cùng điều kiện.

D. Hòa tan hoàn toàn 0,2 g chế phẩm, không đun nóng, trong 15 ml dung dịch acid sulfuric 70 %. Đổ dung dịch vào 100 ml nước đá, vừa đổ vừa khuấy đều, pha loãng thành 250 ml bằng nước đá. Lấy 1 ml dung dịch thu được vào ống nghiệm, làm lạnh ống nghiệm trong nước đá, thêm bằng cách nhỏ giọt 8 ml acid sulfuric (TT) và trộn đều. Đun trên cách thủy trong chính xác 3 min, sau đó làm lạnh trong nước đá ngay lập tức. Khi hỗn hợp nguội, thêm cẩn thận 0,6 ml dung dịch ninhydrin (TT₂) và trộn đều. Để yên ở 25 °C. Màu hồng xuất hiện ngay lập tức và không chuyển thành màu tím trong vòng 100 min.