

THUỐC TIÊM TOBRAMYCIN

Là dung dịch vô khuẩn của tobramycin sulfat trong nước để pha thuốc tiêm hoặc tobramycin trong nước để pha thuốc tiêm có thêm acid sulfuric.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền, thuốc cấy” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng tobramycin, $C_{18}H_{37}N_5O_9$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Methanol - cloroform - amoniac đậm đặc (60 : 25 : 30).

Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích thích hợp thuốc tiêm với nước để thu được dung dịch có nồng độ tobramycin 3 mg/ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Là dung dịch tobramycin chuẩn trong nước có nồng độ 3 mg/ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 5 μ l mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để dung môi bay hơi và sấy bản mỏng ở 105 °C trong 15 min. Ngay lập tức phun dung dịch ninhydrin (TT) 1 % trong hỗn hợp dung môi 1-butanol - pyridin (100 : 1). Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Dung dịch đối chiếu (2) chỉ cho một vết duy nhất có vị trí tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch dẫn xuất thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch dẫn xuất chuẩn.

pH

Từ 3,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Nội độ tổ vi khuẩn

Không được quá 2,0 EU/mg tobramycin.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 2,0 g tris(hydroxymethyl)aminomethan (TT) trong 800 ml nước. Thêm 20 ml dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT) vào dung dịch thu được và pha loãng thành 2000 ml bằng acetonitril (TT). Để nguội, lọc qua màng lọc 0,2 μ m. Điều chỉnh tỷ lệ dung môi nếu cần.

Thuốc thử 2,4-dinitrofluorobenzen: Pha dung dịch 2,4-dinitrofluorobenzen (TT) có nồng độ 10 mg/ml trong ethanol 96 % (TT). Dung dịch được dùng trong vòng 5 ngày sau khi pha, bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Thuốc thử tris(hydroxymethyl)aminomethan: Pha dung dịch gốc chứa tris(hydroxymethyl)aminomethan (TT) nồng độ 15 mg/ml trong nước. Dung dịch này dùng được trong vòng 1 tháng, bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C. Lấy 40 ml dung dịch này vào bình định mức 200 ml, thêm dimethyl sulfoxid (TT) và trộn đều, thêm dimethyl sulfoxid (TT) đến vạch. Thuốc thử này được dùng trong vòng 4 h. (Nếu để trong nước đá ở nhiệt độ dưới 10 °C thì có thể dùng thuốc thử này trong vòng 8 h).

Dung dịch thử: Hút chính xác 1 lượng thể tích chế phẩm, pha loãng với nước để thu được dung dịch có nồng độ tobramycin khoảng 0,2 mg/ml.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 44 mg tobramycin chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm 1 ml dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT) và thêm nước để hòa tan chế phẩm, sau đó thêm nước đến vạch. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 20 ml bằng nước.

Tạo dẫn xuất: [Chú ý: Làm nóng các dung dịch ở cùng nhiệt độ, cùng thời gian. Các bình được đặt vào, lấy ra khỏi bể cách thủy (được duy trì nhiệt độ ở 60 °C) đồng thời]. Lần lượt thêm vào 3 bình định mức dung tích 50 ml khác nhau 4,0 ml dung dịch chuẩn; 4,0 ml dung dịch thử và 4,0 ml nước. Thêm vào mỗi bình 10 ml thuốc thử 2,4-dinitrofluorobenzen và 10 ml thuốc thử tris(hydroxymethyl)aminomethan, lắc đều và đậy nắp bình. Để các bình vào bể cách thủy được duy trì ở 60 °C $\pm$ 2 °C trong 50 min $\pm$ 5 min. Lấy bình ra, để yên 10 min. Thêm acetonitril (TT) đến gần vạch (cách vạch khoảng 2 ml), để nguội về nhiệt độ phòng và thêm acetonitril (TT) đến vạch, lắc đều. Các dung dịch thu được sau khi tạo dẫn xuất lần lượt là dung dịch dẫn xuất chuẩn, dung dịch dẫn xuất thử và dung dịch mẫu trắng.

Dung dịch phân giải: Chuẩn bị dung dịch mới pha p-naphtholbenzein (TT) có nồng độ 0,24 mg/ml trong acetonitril (TT). Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng dung dịch dẫn xuất chuẩn và sử dụng ngay.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm $\times$ 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 365 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch mẫu trắng để xác định pic dung môi và thuốc thử.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của pic p-naphtholbenzein so với pic tobramycin khoảng 0,6; độ phân giải giữa pic p-naphtholbenzein và pic tobramycin ít nhất là 4,0. Trên sắc ký đồ của dung dịch dẫn xuất chuẩn,

độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký với dung dịch dẫn xuất thử và dung dịch dẫn xuất chuẩn.

Tính hàm lượng tobramycin, $C_{18}H_{37}N_5O_9$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic đáp ứng thu được từ dung dịch dẫn xuất chuẩn, dung dịch dẫn xuất thử và hàm lượng $C_{18}H_{37}N_5O_9$ của tobramycin chuẩn.

Bảo quản

Nơi mát, tránh ánh sáng.

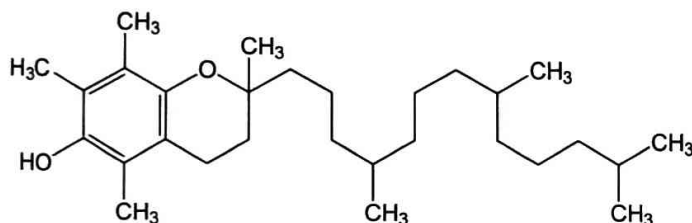
Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

20 mg/ml; 80 mg/ml.

all-*rac*-ALPHA TOCOPHEROL



$C_{29}H_{50}O_2$

P.t.l: 430,7

all-*rac*-Alpha tocopherol là all-*rac*-2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-6-ol, phải chứa từ 96,0 % đến 101,5 % $C_{29}H_{50}O_2$.

Tính chất

Chất lỏng sánh như dầu, không màu hoặc màu nâu hơi vàng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong acetone, ethanol khan, dicloromethan và trong các dầu béo.

Định tính

Có thể chọn một trong 2 nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của α -tocopherol chuẩn.

B. Góc quay cực: Từ $-0,01^\circ$ đến $+0,01^\circ$ (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong ethanol khan (TT) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

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

Bản mỏng: Silica gel F₂₅₄.

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

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 2 ml cyclohexan (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg α -tocopherol chuẩn trong 2 ml cyclohexan (TT).

Cách tiến hành: Châm riêng biệt lên bản mỏng 10 μ l mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được

15 cm. Lấy bản mỏng ra, làm khô bằng luồng không khí và quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vị trí và kích thước tương tự vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2). Dùng phương pháp chuẩn hóa diện tích pic.

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 1,0 g squalan (TT) trong cyclohexan (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 10,0 ml dung dịch chuẩn nội.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 10,0 ml cyclohexan (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,100 g α -tocopherol chuẩn trong 10,0 ml dung dịch chuẩn nội.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg chế phẩm và 10 mg α -tocopheryl acetat (TT) trong cyclohexan (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg chuẩn all-*rac*- α -tocopherol để định tính pic (chứa các tạp chất A, B và D) trong cyclohexan (TT) và pha loãng thành 1 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (2) thành 100,0 ml bằng cyclohexan (TT), sau đó lại pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng cyclohexan (TT).

Điều kiện sắc ký:

Cột mao quản, dài 30 m, đường kính 0,25 mm, pha tĩnh là poly(dimethyl)siloxan (TT) (bề dày lớp phim 0,25 μ m).

Khí mang: Heli dùng cho sắc ký khí.

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ cột là 280 $^\circ$ C, buồng tiêm và detector là 290 $^\circ$ C.

Tốc độ dòng 1 ml/min.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 100.

Thể tích tiêm: 1 μ l.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký dung dịch thử (2) và các dung dịch đối chiếu (2), (3) và (4).

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của pic all-*rac*- α -tocopherol.

Sử dụng sắc ký đồ của chuẩn all-*rac*- α -tocopherol để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định các pic do các tạp chất A, B, C và D.

Thời gian lưu tương đối so với all-*rac*- α -tocopherol (thời gian lưu khoảng 13 min): Squalan khoảng 0,5; tạp chất A khoảng 0,7; tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất C khoảng 1,05 và tạp chất D cũng khoảng 1,05.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic all-*rac*- α -tocopherol và pic α -tocopheryl acetat ít nhất là 3,5.

Giới hạn:

Tạp chất A: Tối đa 0,5 %.