

Bari

Lấy 10 ml dung dịch S₁, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*. Sau 30 min, dung dịch không được đục hơn hỗn hợp chứa 10 ml dung dịch S₁ và 1 ml *nước cất*.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Pha loãng 10 ml dung dịch S₁ thành 20 ml bằng nước. Lấy 12 ml dung dịch thu được, tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 0,02 %.

Lấy 8 ml dung dịch S₂, thêm 4 ml *nước*. Trộn đều và thêm 0,05 ml *nước brom (TT)*. Để yên 5 min, loại brom dư bằng luồng khí. Thêm 3 ml *dung dịch kali thiocyanat 9,7 %*, dung dịch không được có màu đậm hơn màu dung dịch đối chiếu được chuẩn bị trong cùng điều kiện, sử dụng 4 ml *dung dịch sắt mẫu 2 phần triệu Fe (TT)* và 8 ml *dung dịch acid sulfuric 20 % (TT)*.

Định lượng

Thêm 300 ml *dung dịch thủy ngân nitrat 2 %* và 2 ml *acid nitric (TT)* vào 300 g *kẽm hạt (TT)*, lắc mạnh trong 10 min và rửa với *nước cất*. Nhồi hỗn hống kẽm vào cột thủy tinh dài khoảng 400 mm, đường kính 20 mm có khóa và đĩa lọc. Cho 100 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* qua cột, sau đó là 100 ml *nước cất*, lưu ý đảm bảo chất lỏng luôn ngập mặt hỗn hống. Cho hỗn hợp gồm 100 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và 100 ml *nước cất* sau đó là 100 ml *nước cất* lần lượt qua cột với tốc độ 3 ml/min. Dịch rửa giải thu vào bình nón 500 ml có chứa 50,0 ml *dung dịch phenyl sắt amoni sulfat 15 %* trong hỗn hợp *acid sulfuric - nước* (1 : 3). Thêm 0,1 ml *dung dịch ferroin sulfat (TT)*, chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch amoni ceri nitrat 0,1 M (CD)* đến khi dung dịch xuất hiện màu xanh lá (n₁ ml). Cho lần lượt hỗn hợp chứa 50 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và 50 ml *nước cất*, 20,0 ml dung dịch S₂, hỗn hợp chứa 50 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* và 50 ml *nước cất*, sau cùng là 100 ml *nước cất* với tốc độ 3 ml/min. Dịch rửa giải thu vào bình nón 500 ml có chứa 50 ml *dung dịch phenyl sắt amoni sulfat 15 %* trong hỗn hợp *acid sulfuric - nước* (1 : 3). Rửa phần cuối cột với *nước cất*. Thêm 0,1 ml *dung dịch ferroin sulfat (TT)*, chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch amoni ceri nitrat 0,1 M (CD)* đến khi dung dịch xuất hiện màu xanh lá (n₂ ml).

Hàm lượng phần trăm TiO₂ được tính bằng công thức:

$$3,99 (n_2 - n_1)/m$$

Trong đó, m là khối lượng (g) chế phẩm dùng để pha dung dịch S₂.

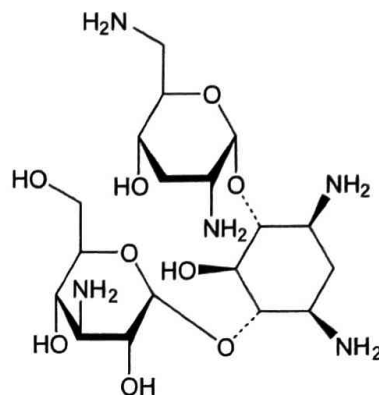
Bảo quản

Bao bì kín.

Loại thuốc

Chất bảo vệ, tá dược.

TOBRAMYCIN



C₁₈H₃₇N₅O₉

P.t.l: 467,5

Tobramycin là 4-O-(3-amino-3-deoxy-α-D-glucopyranosyl)-2-deoxy-6-O-(2,6-diamino-2,3,6-trideoxy-α-D-ribohexopyranosyl)-L-streptamin, được điều chế từ *Streptomyces tenebrarius* hoặc bằng các phương pháp khác, phải chứa không ít hơn 900 μg C₁₈H₃₇N₅O₉ trong 1 mg, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

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

Dung dịch thử: Hòa tan 30 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30 mg tobramycin chuẩn trong nước và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

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 3 μl mỗi dung dịch 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 tobramycin có màu hồng. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí 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 mục Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic tobramycin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH

Từ 9,0 đến 11,0 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *nước không có carbon dioxyl (TT)* để đo.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi triển khai: Dung dịch natri clorid 29,2 % - ethanol 96 % - nước (50 : 30 : 20).

Dung dịch hypoclorit loãng: Pha loãng 20 ml dung dịch natri hypoclorit (TT) thành 100 ml bằng nước.

Thuốc thử tinh bột - kali iodid: Hòa tan 1,1 g kali iodid (TT) trong 60 ml nước, đun sôi trong 15 min, thêm từ từ hỗn dịch của 1,5 g tinh bột (TT) trong 10 ml nước. Thêm 25 ml nước và đun sôi trong 10 min. Để nguội và pha loãng thành 100 ml bằng nước.

Dung dịch thử: Chuyển 50 mg chế phẩm vào bình định mức 10 ml, thêm 7 ml nước để hòa tan và điều chỉnh đến pH 5,5 ± 0,4 bằng dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT). Thêm nước đến vạch, trộn đều.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng dung dịch thử bằng nước để thu được dung dịch có nồng độ 0,05 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 1 µl các 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 dưới luồng không khí nóng và sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min. Phun lên bản mỏng đang nóng dung dịch hypoclorit loãng. Làm khô bản mỏng bằng luồng không khí lạnh đến khi phần bản mỏng đã phun ở dưới vạch chấm chỉ cho màu xanh lam nhạt khi nhỏ một giọt thuốc thử tinh bột - kali iodid.

Tiếp tục phun bản mỏng bằng thuốc thử tinh bột - kali iodid, các vết có màu đỏ tím hơi xanh xuất hiện ngay. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử không được có màu đậm hơn màu của vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Nước

Không được quá 8,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,3 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,3 % (Phụ lục 9.9; phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 2,00 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.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 2,0 g tris(hydroxymethyl)aminoethan (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 µm. Điều chỉnh 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 dùng trong vòng 5 ngày sau khi pha, bảo quản trong tủ lạnh.

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. Lấy 40 ml dung dịch chuẩn gốc 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 nhúng chìm trong nước đá ở nhiệt độ dưới 10 °C thì có thể dùng thuốc thử này trong vòng 8 h).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 55 mg chế phẩm 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 10,0 ml dung dịch thu được thành 50 ml bằng nước.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 55 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 10,0 ml dung dịch thu được thành 50 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 và 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 ± 2 °C trong 50 min ± 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 các 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-naphtholbenzen (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.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (30 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C.

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

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

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

Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của pic p-naphtholbenzen so với pic tobramycin khoảng 0,6. Độ phân giải giữa pic p-naphtholbenzen và pic tobramycin ít nhất là 4,0.

Tiến hành sắc ký với dung dịch dẫn xuất chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được 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

Nếu chế phẩm vô khuẩn, phải bảo quản trong bao bì kín, vô khuẩn.

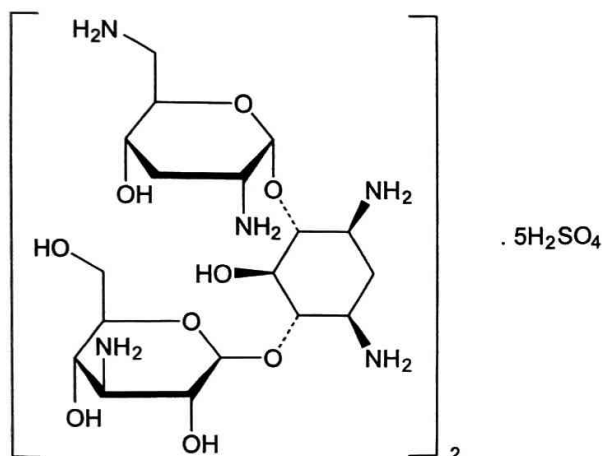
Loại thuốc

Kháng sinh nhóm aminoglycosid.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, thuốc nhỏ mắt.

TOBRAMYCIN SULFAT



$(C_{18}H_{37}N_5O_9)_2 \cdot 5H_2SO_4$

P.t.l: 1425,42

Tobramycin sulfat là 4-O-(3-amino-3-deoxy-α-D-glucopyranosyl)-2-deoxy-6-O-(2,6-diamino-2,3,6-trideoxy-α-D-ribo-hexopyranosyl)-L-streptamin sulfat, được điều chế từ *Streptomyces tenebrarius* hoặc các phương pháp khác, phải chứa từ 634 μg/mg đến 739 μg/mg tobramycin ($C_{18}H_{37}N_5O_9$).

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng, tan trong nước.

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 (60 : 25 : 30).

Dung dịch thử: Hòa tan chế phẩm trong nước để thu được dung dịch nồng độ tobramycin 6 mg/ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch chứa 6 mg/ml tobramycin chuẩn trong nước.

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 rẽ lên bản mỏng 3 μl mỗi

dung dịch trên. 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 110 °C trong 15 min. Ngay lập tức phun dung dịch ninhydrin (TT) 10 mg/ml trong hỗn hợp dung môi butanol - pyridin (100 : 1).

Vết tobramycin thu được có màu hồng. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí 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, pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch dẫn xuất thử phải có thời gian lưu tương ứng với pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch dẫn xuất chuẩn.

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

pH

pH của dung dịch 4,0 % phải từ 6,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Dung dịch natri clorid 29,2 % - ethanol 96 % - nước (50 : 30 : 20).

Dung dịch hypoclorit loãng: Pha loãng 20 ml dung dịch natri hypoclorit (TT) thành 100 ml bằng nước.

Thuốc thử tinh bột - kali iodid: Hòa tan 1,1 g kali iodid (TT) trong 60 ml nước, đun sôi trong 15 min, thêm từ từ hỗn dịch của 1,5 g tinh bột (TT) trong 10 ml nước. Thêm 25 ml nước và đun sôi trong 10 min. Để nguội và pha loãng thành 100 ml bằng nước.

Dung dịch thử: Chuyển 50 mg chế phẩm vào bình định mức 10 ml, thêm 7 ml nước để hòa tan và điều chỉnh đến pH 5,5 ± 0,4 bằng dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT). Thêm nước đến vạch, trộn đều.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng dung dịch thử bằng nước để thu được dung dịch có nồng độ tobramycin sulfat 0,05 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 1 μl các dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để dung môi bay hơi dưới luồng không khí nóng và sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min. Phun lên bản mỏng đang nóng dung dịch hypoclorit loãng. Làm khô bản mỏng bằng luồng không khí lạnh đến khi phần bản mỏng đã phun ở dưới vạch chấm chỉ cho màu xanh lam nhạt khi nhỏ một giọt thuốc thử tinh bột - kali iodid.

Tiếp tục phun bản mỏng bằng thuốc thử tinh bột - kali iodid, các vết có màu đỏ tím hơi xanh xuất hiện ngay. Bắt kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử không được có màu đậm hơn màu của vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1,0 %).