

Thành phần cấu trúc

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Sử dụng phương pháp chuẩn hóa.

Dung dịch A: Hòa tan 4,46 g *natri sulfat khan* (TT) trong 900 ml nước dùng cho sắc ký (TT), điều chỉnh đến pH 2,3 bằng dung dịch acid phosphoric 10 % (TT) và pha loãng thành 1000 ml bằng nước dùng cho sắc ký (TT).

Pha động: Acetonitril TT₁ - dung dịch A (20 : 80).

Dung môi pha mẫu: Acetonitril - nước (20 : 80).

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan lượng polymyxin B sulfat chuẩn có trong một lọ chuẩn (khoảng 26,62 mg) trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100 ml bằng dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,4 lần thời gian lưu của pic polymyxin B1.

Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo polymyxin B sulfat chuẩn và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định các pic của polymyxin B1, polymyxin B2, polymyxin B3 và polymyxin B1-I.

Thời gian lưu tương đối so với polymyxin B1 (thời gian lưu khoảng 35 min): Polymyxin B2 khoảng 0,5; polymyxin B3 khoảng 0,6; polymyxin B1-I khoảng 0,8.

Kiểm tra tính thích hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic polymyxin B2 và pic polymyxin B3 không nhỏ hơn 3,0. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 20 đối với pic polymyxin B1.

Giới hạn:

Polymyxin B1-I: Không được quá 15,0 %.

Polymyxin B3: Không được quá 6,0 %.

Tổng polymyxin B1, polymyxin B2, polymyxin B3 và polymyxin B1-I: Không nhỏ hơn 80,0 %.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) như mô tả trong phần Thành phần cấu trúc.

Giới hạn:

Tạp đơn bất kỳ: Với mỗi tạp chất, không được quá 3,0 %.

Tổng tạp chất không được quá 17,0 %.

Bỏ qua các tạp chất có hàm lượng nhỏ hơn hoặc bằng 0,40 %.

Sulfat

Từ 15,5 % đến 17,5 %, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 100 ml nước và điều chỉnh đến pH 11 bằng amoniac (TT). Thêm 10,0 ml dung dịch bari clorid 0,1 M (CD) và khoảng 0,5 mg đỏ tía phthalein (TT). Chuẩn độ bằng dung dịch trilon B 0,1 M (CD), khi dung dịch bắt đầu chuyển màu thêm 50 ml ethanol 96 % (TT), tiếp tục chuẩn độ tới khi màu xanh tím biến mất.

1 ml dung dịch bari clorid 0,1 M (CD) tương ứng với 9,606 mg SO₄.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 6,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 60 °C; chân không; áp suất không quá 0,7 kPa; 3 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,75 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Chất gây sốt

Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có thêm một quy trình thích hợp nào nhằm loại bỏ chất gây sốt, thì phải đáp ứng yêu cầu về chất gây sốt (Phụ lục 13.4). Với mỗi kilogram thể trọng thỏ, tiêm 1 ml dung dịch có chứa 1,5 mg chế phẩm trong 1 ml nước cất pha tiêm.

Định lượng

Tiến hành định lượng kháng sinh bằng phương pháp vi sinh vật (Phụ lục 13.9). Dùng polymyxin B sulfat chuẩn dùng cho định lượng vi sinh làm chất đối chiếu.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn, bảo quản trong đồ đựng kín và vô khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Mỡ tra mắt polymyxin và bacitracin.

POLYSORBAT 20

Polyoxyethylen

Polysorbat 20 là hỗn hợp các ester từng phần của các acid béo, chủ yếu của acid lauric (dodecanoic) với sorbitol (sorbital monolaurerat) và các anhydrid của sorbitol đã được ethoxyl hóa với khoảng 20 phân tử ethylen oxyd cho mỗi phân tử sorbitol và các anhydrid của sorbitol.

Tính chất

Chất lỏng dạng dầu màu vàng hoặc vàng nâu, trong hoặc hơi đục. Tan trong nước, ethanol khan, ethyl acetat và methanol, thực tế không tan trong các dầu béo và parafin lỏng.

Tỷ trọng tương đối khoảng 1,10.

Độ nhớt khoảng 400 mPa·s ở 25 °C.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của polysorbat 20 chuẩn.

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Chỉ số hydroxyl.

C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Chỉ số xà phòng hóa.

D. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Thành phần acid béo.

E. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *methylen clorid* (TT), thêm 0,1 g *kali thiocyanat* (TT) và 0,1 g *cobalt nitrat* (TT). Khuấy bằng đũa thủy tinh. Dung dịch phải có màu xanh lam.

Chỉ số acid

Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.2).

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 50 ml hỗn hợp dung môi như đã được mô tả trong phụ lục 7.2.

Chỉ số hydroxyl

Từ 96 đến 108 (Phụ lục 7.4, phương pháp A).

Chỉ số xà phòng hóa

Từ 40 đến 50 (Phụ lục 7.7).

Dùng 4,0 g chế phẩm, thêm 15,0 ml *dung dịch kali hydroxyd* 0,5 M trong *ethanol* (CĐ). Đun hồi lưu trong 60 min. Thêm 50 ml *ethanol* 96 % (TT) trước khi chuẩn độ.

Chỉ số peroxyd

Không được quá 10,0.

Cân 10,0 g chế phẩm cho vào cốc dung tích 100 ml, hòa tan bằng 20 ml *acid acetic băng* (TT). Thêm 1 ml *dung dịch kali iodid bão hòa* (TT) trộn đều và để yên 1 min, thêm 50 ml *nước không có carbon dioxyd* (TT) và dùng khuấy từ. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat* 0,01 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành một mẫu trắng, nếu kết quả chuẩn độ mẫu trắng vượt quá 0,1 ml *dung dịch natri thiosulfat* 0,01 N (CĐ) thì đổi hóa chất và chuẩn độ lại.

Chỉ số peroxyd của chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$\frac{(n_1 - n_2) \times M \times 1000}{m}$$

Trong đó:

n_1 là số ml *dung dịch natri thiosulfat* 0,01 N (CĐ) đã dùng trong mẫu thử.

n_2 là số ml *dung dịch natri thiosulfat* 0,01 N (CĐ) đã dùng trong mẫu trắng.

M là nồng độ mol của *dung dịch natri thiosulfat* (M).

m là lượng chế phẩm đem thử (g).

Thành phần acid béo (Phụ lục 12.9, phương pháp C)

Sử dụng hỗn hợp chuẩn như mô tả ở Bảng 12.9.2 để chuẩn bị dung dịch đối chiếu (a).

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy, kích thước (30 m × 0,32 mm), được phủ *macrogol* 20.000 (độ dày phim 0,5 μm).

Khí mang: *Heli* dùng cho sắc ký khí.

Tốc độ: 50 cm/s.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 14 14 - 54	80 → 220 220
Buồng tiêm		250
Detector		250

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1 μl.

Giới hạn:

Thành phần của các acid béo trong chế phẩm:

Acid caproic: Không được quá 1,0 %.

Acid caprylic: Không được quá 10,0 %.

Acid capric: Không được quá 10,0 %.

Acid lauric: Từ 40,0 % đến 60,0 %.

Acid myristic: Từ 14,0 % đến 25,0 %.

Acid palmitic: Từ 7,0 % đến 15,0 %.

Acid stearic: Không được quá 7,0 %.

Acid oleic: Không được quá 11,0 %.

Acid linoleic: Không được quá 3,0 %.

Ethylen oxyd và dioxan (Phụ lục 10.15, phương pháp 1).

Ethylen oxyd: Không được quá 1 phần triệu.

Dioxan: Không được quá 10 phần triệu.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Dùng 2,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu* 10 phần triệu Pb (TT) để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Nước

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,00 g chế phẩm.

Tro toàn phần

Không được quá 0,25 % (Phụ lục 9.8, phương pháp 2).

Dùng 2,0 g chế phẩm.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chất diện hoạt không ion hóa.

POLYSORBAT 60

Polysorbat 60 là hỗn hợp các ester từng phần của các acid béo, chủ yếu của acid stearic 50 với sorbitol (sorbital monolaurerat) và các anhydrid của sorbitol đã được