

khoảng 11 % (tt/tt) cho mỗi phút. Cuối cùng, rửa giải cột trong 4 min, bằng pha động B.

Tiêm dung dịch thử (3). Phép thử chỉ có giá trị khi pic chính trong sắc ký đồ thu được có giá trị tỷ số giữa tín hiệu và nhiễu đường nền nhỏ nhất là 5. Tiêm dung dịch thử (2). Phép thử này chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic vancomycin tối đa là 1,6. Tiêm dung dịch đối chiếu. Phép thử này chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa 2 pic chính ít nhất là 5,0. Tiêm dung dịch thử (1).

Tính kết quả hàm lượng phần trăm vancomycin B hydroclorid theo công thức sau:

$$\frac{A_b \times 100}{A_b + (A_i/25)}$$

Trong đó:

$A_b$  là diện tích pic vancomycin B trong sắc ký đồ của dung dịch thử (2).

$A_i$  là tổng diện tích tất cả các pic tạp chất trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1).

#### Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), như mô tả trong phần Vancomycin B.

Tiêm riêng rẽ dung dịch thử (1), dung dịch thử (2) và dung dịch thử (3).

Tính hàm lượng phần trăm cho mỗi tạp chất bằng công thức sau:

$$\frac{(A_i/25) \times 100}{A_b + (A_i/25)}$$

Trong đó:

$A_i$  là diện tích pic của tạp chất trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1);

$A_b$  là diện tích pic vancomycin B trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2);

$A_i$  là tổng diện tích tất cả các pic tạp chất trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1).

*Giới hạn:*

Mỗi tạp đơn: Không quá 4,0 %.

Tổng tạp chất: Không quá 7,0 %.

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (3).

#### Kim loại nặng

Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Dùng 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3. Dùng 3,0 ml dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

#### Nước

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,5 g chế phẩm.

#### Tro sulfat

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.9).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

#### Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định dùng làm nguyên liệu để bào chế thuốc tiêm mà không có giai đoạn tiệt khuẩn trong quy trình sản xuất, chế phẩm phải đạt chỉ tiêu về độ vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

#### Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,25 EU/mg (Phụ lục 13.2). Nếu dự định dùng làm nguyên liệu để bào chế thuốc tiêm phân liều mà không có giai đoạn loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thích hợp trong quy trình sản xuất, chế phẩm phải đạt chỉ tiêu về nội độc tố vi khuẩn.

#### Định lượng

Tiến hành theo phương pháp xác định hoạt lực kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật (Phụ lục 13.9). Dùng vancomycin hydroclorid chuẩn làm chất đối chiếu.

#### Bảo quản

Trong chai lọ kín, tránh ánh sáng. Nếu đã được tiệt trùng trước, phải bảo quản trong chai lọ kín và vô trùng.

#### Nhãn

Nhãn ghi rõ chế phẩm đã được tiệt trùng, không có nội độc tố vi khuẩn.

#### Loại thuốc

Kháng sinh.

#### Chế phẩm

Bột pha tiêm, nang.

### BỘT PHA TIÊM VANCOMYCIN

Là bột vô khuẩn của vancomycin hydroclorid có thể có thêm các tá dược và được đóng trong lọ nút kín.

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

**Hàm lượng vancomycin**, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

#### Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng.

#### Định tính

A. Trong mục Vancomycin B, pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Chế phẩm cho phản ứng định tính (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

#### Độ trong của dung dịch

Dung dịch 10,0 % chế phẩm phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch này ở bước sóng 450 nm không được lớn hơn 0,10.

**pH**

Dung dịch 5 % chế phẩm trong nước không có carbon dioxide (TT) có pH từ 2,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

**Vancomycin B**

Không ít hơn 88,0 %.

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

*Dung dịch A:* Thêm 1996 ml nước vào 4,0 ml triethylamin (TT) và chỉnh đến pH 3,2 với acid phosphoric (TT).

*Pha động A:* Dung dịch A - acetonitril - tetrahydrofuran (920 : 70 : 10).

*Pha động B:* Dung dịch A - acetonitril - tetrahydrofuran (700 : 290 : 10).

*Dung dịch thử (1):* Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương 50 000 IU vancomycin trong pha động A và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

*Dung dịch thử (2):* Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng pha động A.

*Dung dịch thử (3):* Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử (2) thành 20,0 ml bằng pha động A.

*Dung dịch đối chiếu:* Hòa tan 5,0 mg vancomycin hydroclorid chuẩn trong 10 ml nước. Đun nóng ở 65 °C trong 24 h, để nguội.

Dùng các dung dịch này trong vòng 4 h sau khi pha chế.

*Điều kiện sắc ký:*

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

*Cách tiến hành:*

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0 - 13	100	0	Đẳng dòng
13 - 21	100 → 0	0 → 100	Gradient tuyến tính
21 - 25	0	100	Đẳng dòng
25 - 35	100	0	Cân bằng lại cột

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm dung dịch thử (3), phép thử chỉ có giá trị khi pic chính thu được trên sắc ký đồ có tỷ số giữa tín hiệu và nhiễu đường nền ít nhất là 5. Tiêm dung dịch thử (2), phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic vancomycin không lớn hơn 1,6.

Tiêm dung dịch đối chiếu, phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa 2 pic chính ít nhất là 5,0.

Tiêm dung dịch thử (1).

Tính hàm lượng phần trăm vancomycin B theo công thức sau:

$$\frac{(A_b \times 100)}{A_b + (A_t / 25)}$$

Trong đó:

$A_b$  là diện tích pic vancomycin B trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2);

$A_t$  là tổng diện tích tất cả các pic tạp chất trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1).

**Tạp chất liên quan**

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) như mô tả trong mục Vancomycin B.

Tiêm riêng rẽ dung dịch thử (1), dung dịch thử (2) và dung dịch thử (3).

Tính hàm lượng phần trăm cho mỗi tạp chất bằng công thức sau:

$$\frac{(A_i / 25) \times 100}{A_b + (A_t / 25)}$$

Trong đó:

$A_i$  là diện tích pic của từng tạp đơn trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1);

$A_b$  là diện tích pic vancomycin B trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2);

$A_t$  là tổng diện tích tất cả các pic tạp chất trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1).

Hàm lượng của từng tạp đơn không được lớn hơn 4,0 % và tổng hàm lượng của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 12,0 %. Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (3) (0,1%).

**Nước**

Không quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,5 g chế phẩm.

**Nội độc tố vi khuẩn**

Hòa tan một lượng chế phẩm với dung dịch đệm tris-clorid pH 7,4 pha trong nước BET để thu được dung dịch có nồng độ vancomycin 1000 IU/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 2,5 EU/ml. Tiến hành thử nghiệm sử dụng độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử (Phụ lục 13.2).

**Định lượng**

Cân 20 lọ, xác định khối lượng trung bình của bột thuốc trong lọ và trộn đều. Tiến hành định lượng hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật (Phụ lục 13.9).

**Bảo quản**

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

**Loại thuốc**

Kháng sinh.

**Hàm lượng thường dùng**

0,5 g; 1 g.