

Phương pháp đo động học: Chuyển hỗn hợp phản ứng vào cốc đo semi-micro, xác định sự thay đổi độ hấp thụ trong vòng 1 min ở bước sóng 405 nm (Phụ lục 4.1).

Phương pháp đo điểm cuối: Sau chính xác 4 min, dừng phản ứng bằng cách thêm 50 μ l *dung dịch acid acetic 20 % (tt/tt)*. Đánh giá thời gian ủ 4 min với dung dịch cơ chất màu đã cho độ hấp thụ phù hợp chưa, có thể điều chỉnh thời gian ủ với dung dịch cơ chất màu để thu được đáp ứng tuyến tính tốt nhất giữa độ hấp thụ với log nồng độ. Sau đó chuyển hỗn hợp phản ứng vào cốc đo semi-micro rồi đo độ hấp thụ ở bước sóng 405 nm (Phụ lục 4.1).

Xác định hoạt tính phân cắt liên kết peptit của dung dịch mẫu trắng ở đầu và cuối thử nghiệm được tiến hành theo quy trình tương tự ở trên nhưng thay dung dịch chuẩn hoặc dung dịch thử bằng *dung dịch đệm tris (hydroxymethyl) aminomethan pH 8,4-EDTA*. Yêu cầu: giá trị thu được của 2 mẫu trắng khác nhau không đáng kể.

Xây dựng đường hồi quy tuyến tính giữa độ hấp thụ và log nồng độ dung dịch thử và dung dịch chuẩn heparin natri. Xác định hoạt tính kháng yếu tố IIa của chế phẩm theo đơn vị IU/ml sử dụng mô hình đường thẳng song song (Phụ lục 13.10).

Hoạt tính kháng yếu tố Xa

Dung dịch chuẩn và dung dịch thử: Chuẩn bị 4 dãy độc lập, mỗi dãy gồm 4 độ pha loãng của dung dịch chuẩn heparin natri và dung dịch chế phẩm có nồng độ trong khoảng từ 0,03 IU/ml đến 0,375 IU/ml trong *dung dịch đệm tris (hydroxymethyl)aminomethan-EDTA pH 8,4*. Độ pha loãng lựa chọn phải cho đáp ứng tuyến tính giữa độ hấp thụ với log nồng độ.

Cách tiến hành:

Sử dụng 16 ống nghiệm cho các dung dịch thử và 16 ống nghiệm cho các dung dịch chuẩn, đánh dấu T1, T2, T3, T4 tương ứng với 4 độ pha loãng của dung dịch thử và S1, S2, S3, S4 tương ứng với 4 độ pha loãng của dung dịch chuẩn. Thêm vào mỗi ống 50 μ l *dung dịch antithrombin III-2*, lắc đều. Thêm 50 μ l các dung dịch chuẩn hoặc dung dịch thử, lắc đều tránh tạo bọt. Thiết kế thử nghiệm với 2 dãy liên tiếp nhau, thứ tự phản ứng các ống nghiệm ở mỗi dãy là S1, S2, S3, S4, T1, T2, T3, T4, T1, T2, T3, T4, S1, S2, S3, S4, để ổn nhiệt ở 37 °C trong 1 min. Thêm vào mỗi ống nghiệm 100 μ l *dung dịch yếu tố Xa bò*. Ủ chính xác trong 2 min, thêm 100 μ l dung dịch cơ chất màu đặc trưng cho yếu tố Xa ở nồng độ phù hợp cho định lượng (ví dụ: dung dịch chứa *N- α -benzyloxycarbonyl-D-arginyl-L-glycyl-L-arginin-4-nitroanilid dihydroclorid 1 mM trong nước*).

Phương pháp đo động học: Chuyển hỗn hợp phản ứng vào cốc đo semi-micro, xác định sự thay đổi độ hấp thụ trong vòng 1 min ở bước sóng 405 nm (Phụ lục 4.1).

Phương pháp đo điểm cuối: Sau chính xác 4 min, thêm 50 μ l *dung dịch acid acetic bằng 20 % (tt/tt)*. Đánh giá thời gian ủ 4 min với dung dịch cơ chất màu đã cho độ hấp thụ phù hợp chưa, có thể điều chỉnh thời gian ủ với dung

dịch cơ chất màu để thu được đáp ứng tuyến tính tốt nhất giữa độ hấp thụ với log nồng độ. Sau đó chuyển hỗn hợp phản ứng vào cốc đo semi-micro rồi đo độ hấp thụ ở bước sóng 405 nm (Phụ lục 4.1).

Xác định hoạt tính phân cắt liên kết peptit của dung dịch mẫu trắng ở đầu và cuối thử nghiệm được tiến hành theo quy trình tương tự ở trên nhưng thay dung dịch chuẩn hoặc dung dịch thử bằng *dung dịch đệm tris (hydroxymethyl) aminomethan pH 8,4-EDTA*. Yêu cầu: Giá trị thu được của 2 mẫu trắng khác nhau không đáng kể.

Xây dựng đường hồi quy tuyến tính giữa độ hấp thụ và log nồng độ dung dịch thử và dung dịch chuẩn heparin natri. Xác định hoạt tính kháng yếu tố Xa của chế phẩm theo đơn vị IU/ml sử dụng mô hình đường thẳng song song (Phụ lục 13.10).

Yêu cầu: Hoạt tính kháng yếu tố IIa của heparin ước tính được phải đạt từ 90 % đến 111 % so với hoạt tính công bố. Giới hạn tin cậy của giá trị hoạt tính ước tính này (với p = 0,95) phải đạt từ 80 % đến 125 % so với hoạt tính công bố.

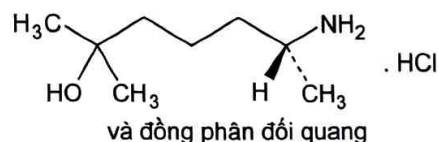
Bảo quản

Trong đồ đựng kín. Nếu chế phẩm vô khuẩn, bảo quản trong đồ đựng vô khuẩn và đảm bảo ngăn được sự xâm nhập của vi sinh vật.

Loại thuốc

Thuốc chống đông máu.

HEPTAMINOL HYDROCLORID



$C_8H_{19}NO.HCl$

P.t.l.: 181,7

Heptaminol hydroclorid là (6*RS*)-6-amino-2-methylheptan-2-ol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_8H_{19}NO.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.

Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phở hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phở hấp thụ hồng ngoại của heptaminol hydroclorid chuẩn.

B. Ở mục Tạt chất liên quan, quan sát dưới ánh sáng ban ngày, dung dịch thử (2) phải cho vết chính có vị trí, màu

sắc và kích thước tương ứng với vết chính của dung dịch đối chiếu (2).

C. Thêm 4 ml nước và 2 ml dung dịch amoni ceri nitrat 20 % trong dung dịch acid nitric 4 M vào 1 ml dung dịch S, màu nâu da cam xuất hiện.

D. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu mẫu VN₆ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,1 ml dung dịch đỏ methyl (TT) và 0,3 ml dung dịch acid hydroclorid 0,01 N (CĐ) vào 10 ml dung dịch S, dung dịch phải có màu đỏ. Thêm 0,6 ml dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ) dung dịch phải có màu vàng.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac - dioxan - 2-propanol (10 : 50 : 50).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml với methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 3,0 ml dung dịch thử (1) thành 10,0 ml với methanol (TT). Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 0,10 g heptaminol hydroclorid chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10,0 mg tạp chất A chuẩn của heptaminol [(2RS)-6-methylhept-5-en-2-amin)] trong methanol (TT) và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 10,0 ml với methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu (5): Lấy 2,5 ml dung dịch đối chiếu (3), thêm 0,5 ml dung dịch thử (2) và pha loãng thành 5 ml với methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch thử (1), thử (2), đối chiếu (1), (2), (4) và (5). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Đặt bản mỏng trong bình bão hòa hơi iod ít nhất 15 h.

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) cho 2 vết chính tách nhau rõ ràng và dung dịch đối chiếu (1) cho 1 vết chính.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1): Vết tương ứng với vết tạp chất A không được có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,2 %); bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính và vết tạp chất A không được

có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,6 %).

Kim loại nặng

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

Lấy 12 ml dung dịch S thử theo phương pháp 1. Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,140 g chế phẩm trong 50 ml ethanol 96 % (TT) và thêm 5,0 ml dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ). Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích đã tiêu thụ giữa 2 điểm uốn.

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ) tương ứng với 18,17 mg C₈H₁₉NO.HCl.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc

Thuốc điều trị hạ huyết áp.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN HEPTAMINOL

Là viên nén chứa heptaminol hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc viên nén” (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng heptaminol hydroclorid, C₈H₁₉NO.HCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Dioxan - 2-propanol - amoniac (50 : 50 : 10).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 100 mg heptaminol hydroclorid với 10 ml methanol (TT), lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch heptaminol hydroclorid chuẩn nồng độ 10 mg/ml trong methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được