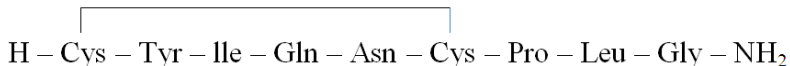


OXYTOCINC₄₃H₆₆N₁₂O₁₂S₂

P.t.l: 1007

Oxytocin là L-cysteinyl-L-tyrosyl-L-isoleucyl-L-glutamyl-L-asparaginyl-L-cysteinyl-L-prolyl-L-leucylglycinamid cyclic (1→6)-disulfid, phải chứa từ 93,0 % đến 103,0 % C₄₃H₆₆N₁₂O₁₂S₂, tính theo chế phẩm khan và không có acid acetic.

Oxytocin là một nonapeptit vòng tổng hợp có cấu trúc của hormon, được sản xuất bởi thùy sau tuyến yên, có tác dụng kích thích co bóp tử cung và tiết sữa ở động vật có vú. Tồn tại dưới dạng đồng khô thành muối acetat.

Theo quy ước, với mục đích ghi nhãn các chế phẩm chứa oxytoxin, 1 mg oxytoxin peptit (C₄₃H₆₆N₁₂O₁₂S₂) tương đương với 600 IU hoạt tính sinh học.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm. Rất tan trong nước, tan trong các dung dịch acid acetic loãng và ethanol.

Sản xuất

Phương pháp sản xuất phải được thẩm định để đảm bảo nếu được tiến hành kiểm tra thì chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử. Các acid amin sau:

Các acid amin

Dùng máy phân tích acid amin thích hợp, đã được hiệu chuẩn. Để chuẩn hóa thiết bị, dùng hỗn hợp cùng nồng độ mol của amoniac, glycine và các acid amin ở dạng đồng phân L sau: Lysin, threonine, alanine, leucine, histidine, serine, valine, tyrosine, arginine, acid glutamic, methionine, phenylalanine, acid aspartic, proline, isoleucine và một lượng L-cystine có nồng độ mol bằng 1/2 nồng độ các chất trên. Để thẩm định phương pháp, dùng chất nội chuẩn thích hợp, ví dụ DL-norleucine.

Dung dịch thử: Cân chính xác 1,0 mg chế phẩm vào trong ống thủy tinh cứng dài 100 mm và đường kính trong 6 mm, trước đó đã được làm sạch kỹ lưỡng. Thêm một lượng thích hợp dung dịch acid hydrochloric 18 % (TT). Ngâm ống thủy tinh thu được trong đá ở -5 °C, áp suất dưới 133 Pa và đóng chặt nắp ống. Đun nóng ở 110 °C đến 115 °C trong 16 h.

Để nguội, mở nắp ống và chuyển toàn bộ lượng chất trong ống vào bình dung tích 10 ml, tráng 5 lần, mỗi lần với 0,2 ml nước, làm khô tới cân bằng kali hydroxyd (TT) trong điều kiện áp suất giảm. Hòa tan cân vào nước và làm khô tới cân bằng kali hydroxyd (TT) trong điều kiện áp suất giảm, lặp lại quy trình này thêm một lần nữa. Hòa tan cân thu được vào dung dịch đệm thích hợp cho máy phân tích acid amin và pha loãng thích hợp với cùng dung môi. Thể tích tiêm phù hợp với máy phân tích.

Biểu thị hàm lượng acid amin theo mol. Tính tỷ lệ tương đối của các acid amin, quy ước rằng 1/6 của tổng số mol của các acid aspartic, acid glutamic, proline, glycine, isoleucine và leucine là bằng 1. Giá trị hàm lượng của các acid amin phải nằm trong giới hạn sau: acid aspartic; acid glutamic; proline; glycine mỗi chất đều từ 0,95 đến 1,05; leucine và isoleucine từ 0,90 đến 1,10; tyrosine từ 0,7 đến 1,05; 1/2 cystine từ 1,4 đến 2,1; các acid amin khác chỉ được có mặt ở dạng vết.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

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 oxytocin chuẩn hoặc phổ đối chiếu của oxytocin.

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

Bản mỏng: *Silica gel GF₂₅₄*.

Dung môi khai triển: *Dicloromethan - methanol - nước - acid acetic bằng (70 : 30 : 6 : 1)*.

Dung dịch thử: Dung dịch chứa 5 mg/ml chế phẩm trong *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chứa 5 mg/ml oxytocin chuẩn trong *methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng dưới luồng không khí lạnh và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, kích thước và độ đậm.

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

Góc quay cực riêng

Từ -24,0° đến -28,0°, tính theo chế phẩm khan và không có acid acetic (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chứa 5,0 mg/ml trong *nước*.

pH

Từ 3,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Dùng dung dịch chứa 20 mg/ml trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* để đo.

Hàm lượng acid acetic

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Pha loãng 0,7 ml *acid phosphoric (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Pha động B: *Methanol (TT)*.

Dung môi pha mẫu: *Pha động A - pha động B (95 : 5)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 15,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chứa 0,10 g/L *acid acetic bằng (TT)* trong dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm),

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 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)
0 - 5	95	5
5 - 10	95 → 50	5 → 50
10 - 20	50	50
20 - 22	50 → 95	50 → 5
22 - 30	95	5

Thời gian lưu của pic acid acetic khoảng 3 min đến 4 min.

Giới hạn:

Acid acetic: Từ 6,0 % đến 10,0 %.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat: Hòa tan 31,2 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*.

Pha động A: Acetonitril - dung dịch đệm phosphat - *nước* (15 : 15 : 70).

Pha động B: Acetonitril - dung dịch đệm phosphat - *nước* (70 : 15 : 15).

Dung dịch thử: Dung dịch chứa 0,50 mg/ml chế phẩm trong pha động A.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 3,0 ml dung dịch thử, thêm 2,0 ml *dung dịch acid sulfuric 1 % (TT)*, đun cẩn thận trong cách thủy sôi trong 20 min.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 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)
0 - 5	100	0
5 - 20	100 → 94	0 → 6
20 - 50	94 → 60	6 → 40
50 - 51	60 → 100	40 → 0
51 - 65	100	0

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (2).

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic oxytocin (thời gian lưu khoảng 25 min) và pic có thời gian lưu tương đối so với oxytocin khoảng 0,9 không nhỏ hơn 1,4.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Diện tích của bất kỳ pic nào, trừ pic chính, không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,5 %).

Tổng diện tích của tất cả các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: N-(L-cysteinyl-L-tyrosyl-L-isoleucyl-L-glutaminy-L-asparaginy-L-cysteinyl-L-prolyl-L-leucylglycyl)urea cyclic-(1→6)-disulfid (carbimido oxytocin).

Tạp chất B: Acetyl-L-cysteinyl-L-tyrosyl-L-isoleucyl-L-glutaminy-L-asparaginy-L-cysteinyl-L-prolyl-L-leucylglycinamid cyclic-(1→6)-disulfid (acetyloxycytocin).

Tạp chất C: L-cysteinyl-L-tyrosyl-L-isoleucyl-L-glutaminy-L-asparaginy-L-cysteinyl-L-prolyl-L-leucylglycinamid dimer (1→1':6→6')-bisdisulfid (α-oxytocin dimer).

Tạp chất D: L-cysteinyl-L-tyrosyl-L-isoleucyl-L-glutaminy-L-asparaginy-L-cysteinyl-L-prolyl-L-leucylglycinamid dimer (1→6':1'→6)-bisdisulfid (β-oxytocin dimer).

Nước

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,10 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Nếu chế phẩm được dùng để pha chế các dạng thuốc tiêm thì nội độc vi khuẩn không được quá 300 EU/mg (Phụ lục 13.2).

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không tiến hành tiệt khuẩn nữa thì phải đạt yêu cầu Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Điều kiện sắc ký, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2) được mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa 0,50 mg/ml oxytocin chuẩn trong pha động A.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2) và dung dịch chuẩn.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic oxytocin (thời gian lưu khoảng 25 min) và pic có thời gian lưu tương đối so với oxytocin khoảng 0,9 không nhỏ hơn 1,4.

Tính hàm lượng phần trăm của oxytocin, $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$ trong oxytocin chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng, ở 2 °C đến 8 °C. Nếu là loại vô khuẩn thì bảo quản trong đồ đựng kín, chống nhiễm khuẩn.

Loại thuốc

Thuốc thúc đẻ - Hormon thụ sau tuyến yên.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.