

Nước

Không được quá 6,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,3 g bột thuốc.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch chứa 1,454 % *dinatri hydrophosphat (TT)* và 0,353 % *kali dihydrophosphat (TT)*.

Pha động B: Acetonitril dùng cho sắc ký (TT).

Dung dịch thử: Pha dung dịch chế phẩm có nồng độ cefazolin 0,25 % 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): Hòa tan 20 mg cefazolin chuẩn trong 10 ml dung dịch natri hydroxyd 0,2 %, để yên 15 min đến 30 min. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 20 ml bằng pha động A.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 μm) (Cột Nucleosil 120-3 C18 là phù hợp).

Nhiệt độ cột: 45 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 5 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 - 2	98	2	Đẳng dòng
2 - 4	98 → 85	2 → 15	Gradient tuyến tính
4 - 10	85 → 60	15 → 40	Gradient tuyến tính
10 - 11,5	60 → 35	40 → 65	Gradient tuyến tính
11,5 - 12	35	65	Đẳng dòng
12 - 15	35 → 98	65 → 2	Gradient tuyến tính
15 - 21	98	2	Cân bằng lại cột

Tiến hành sắc ký lần lượt các dung dịch đối chiếu và dung dịch thử.

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic cefazolin và pic tạp cefazolin L (có thời gian lưu tương đối khoảng 1,1 so với cefazolin) ít nhất là 2,0.

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

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

Tổng diện tích pic của các pic phụ không được lớn hơn 3,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (3,5 %).

Bỏ qua bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Nội độc tố vi khuẩn

Hòa tan một lượng chế phẩm trong nước BET để thu được dung dịch có nồng độ cefazolin 10 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 1,5 EU/ml (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch chứa 0,277 % *dinatri hydrophosphat* và 0,186 % *acid citric* (10 : 90).

Dung dịch thử: Cân nhanh thuốc trong 10 đơn vị chế phẩm, tính khối lượng trung bình (Phụ lục 11.3). Cân chính xác và hòa tan một lượng chế phẩm trong nước để được dung dịch có nồng độ cefazolin khoảng 0,1 %.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch cefazolin natri chuẩn trong nước có nồng độ tương ứng khoảng 0,1 % cefazolin.

Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa 0,01 % cefazolin natri chuẩn và 0,005 % cefuroxim natri chuẩn trong nước.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μm) (Spherisorb ODS 1 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký dung dịch phân giải, phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic cefazolin và pic cefuroxim ít nhất là 2,0. Điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động để đạt yêu cầu trên, nếu cần.

Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng cefazolin, C₁₄H₁₄N₈O₄S₃, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng C₁₄H₁₄N₈O₄S₃ trong cefazolin natri chuẩn.

Bảo quản

Tránh ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg, 1000 mg.

BỘT PHA TIÊM CEFEPIM

Bột pha tiêm cefepim là hỗn hợp vô khuẩn của cefepim hydroclorid monohydrat và arginin, đóng trong lọ kín.

Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cefepim, $C_{19}H_{24}N_2O_5S_2$, từ 90,0 % đến 115,0 % 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: Propanol - nước - amoniac 18 M (7 : 5 : 4).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 0,4 g cefepim trong vừa đủ 10 ml nước.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,2 g L-arginin chuẩn trong vừa đủ 10 ml nước.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μ l mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, sấy bản mỏng ở 100 °C đến khi amoniac bay hơi hết. Phun bản mỏng bằng dung dịch ninhydrin 2 % (TT), sấy bản mỏng ở 105 °C trong 15 min và quan sát. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, vết màu đỏ đậm tương ứng với arginin phải có độ đậm và R_f tương tự vết arginin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Trong phần 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 cefepim trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH

Dung dịch chế phẩm chứa 100 mg/ml cefepim trong nước phải có pH từ 4,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

N-methylpyrolidin

Không được quá 1,0 %.

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Pha động: Dung dịch acid nitric 0,01 M - acetonitril (100 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 0,5 g cefepim trong dung dịch acid nitric 0,01 M (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,25 g N-methylpyrolidin (TT) thành 100,0 ml bằng nước và trộn đều. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung dịch acid nitric 0,01 M (TT).

Dung dịch phân giải: Pha loãng 0,25 g pyrolidin (TT) thành 100,0 ml bằng nước và trộn đều. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung dịch acid nitric 0,01 M (TT). Trộn đều 5,0 ml dung dịch thu được với 5,0 ml dung dịch đối chiếu.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (5 cm \times 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là nhựa trao đổi cation mạnh (5 μ m).

Detector điện dẫn.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 100 μ l.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, hệ số đối xứng của pic N-methyl-

pyrolidin không lớn hơn 2,5 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 5,0 %. Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, tỷ số đỉnh-hõm (H_p/H_v) giữa pic pyrolidin và pic N-methylpyrolidin không nhỏ hơn 3.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 1,1 lần thời gian lưu của cefepim (thời gian lưu khoảng 50 min). Tính hàm lượng của N-methylpyrolidin trong chế phẩm dựa vào dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Pha động A: Acetonitril - dung dịch A (10 : 90).

Pha động B: Acetonitril - dung dịch A (50 : 50).

Dung dịch A: Hòa tan 0,68 g kali dihydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước, điều chỉnh đến pH 5,0 bằng dung dịch kali hydroxyd 0,5 M (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 50 mg cefepim trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch chứa 0,14 % cefepim hydroclorid monohydrat chuẩn trong pha động A.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động A.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm \times 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 μ m).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μ l.

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 - 10	100	0
10 - 30	100 \rightarrow 50	0 \rightarrow 50
30 - 35	50	50
35 - 36	50 \rightarrow 100	50 \rightarrow 0
36 - 45	100	0

Thời gian lưu tương đối so với cefepim: Tạp chất A khoảng 2,5; tạp chất B khoảng 4,1.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), số đĩa lý thuyết tính trên pic cefepim không được nhỏ hơn 4000 và hệ số đối xứng không lớn hơn 1,5.

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

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 7,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Nước

Không được quá 4,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,5 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,06 EU/mg cefepim (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Pha động, điều kiện sắc ký, cách tiến hành như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Dung dịch thử: Lấy 10 đơn vị đóng gói, xác định khối lượng trung bình của bột thuốc. Trộn đều bột thuốc và cân một lượng bột thuốc tương đương với 50 mg cefepim vào bình định mức 50 ml. Thêm 30 ml pha động A, lắc kỹ để hòa tan, thêm pha động A đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 70 mg cefepim hydroclorid monohydrat chuẩn vào bình định mức 50 ml. Thêm 30 ml pha động A, lắc kỹ để hòa tan, thêm pha động A đến vạch, lắc đều.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic cefepim không lớn hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefepim từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %.

Tính hàm lượng phần trăm cefepim, $C_{19}H_{24}N_6O_5S_2$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{19}H_{24}N_6O_5S_2$ của cefepim hydroclorid monohydrat chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng

0,25 g; 0,5 g; 1 g.

VIÊN NÉN CEFIXIM

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa cefixim.

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

Hàm lượng cefixim khan, $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. 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 cefixim trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Cân một lượng bột viên và hòa tan bằng dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (xem mục Định lượng) để tạo thành dung dịch có chứa khoảng 10 µg cefixim trong 1 ml, lọc. Phổ hấp thụ ánh sáng của dịch lọc thu được phải có cực đại ở bước sóng 288 nm (Phụ lục 4.1).

Nước

Không được quá 10,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,3 g bột viên đã nghiền mịn.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung dịch đệm phosphat pH 7,0, dung dịch phân giải, điều kiện sắc ký và kiểm tra tính phù hợp của hệ thống như mô tả ở mục Định lượng.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g cefixim vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng dung dịch đệm phosphat pH 7,0 vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với dung dịch đệm phosphat pH 7,0.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ thu được ít nhất là 50 % thang đo.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic chính.

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

Diện tích của bất kỳ pic nào, ngoại trừ pic chính, không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Tổng diện tích của tất cả các pic, ngoại trừ pic chính, không được lớn hơn 6 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6,0 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm phosphat 0,05 M pH 7,2 được chuẩn bị như sau: Hòa tan 6,8 g kali dihydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước và điều chỉnh đến pH 7,2 bằng dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc thu được với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ cefixim 10 µg/ml.