

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 - 7	86	14
7 - 9	86 → 82	14 → 18
9 - 16	82	18
16 - 45	82 → 60	18 → 40
45 - 50	60	40
50 - 55	60 → 86	40 → 14
55 - 60	86	14

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu (2), (3), (4).

Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo cefotaxim chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất A, B, C, E và F.

Thời gian lưu tương đối so với cefotaxim (thời gian lưu khoảng 13 min): Tạp chất B khoảng 0,3; tạp chất A khoảng 0,5; tạp chất E khoảng 0,6; tạp chất C khoảng 1,9; tạp chất D khoảng 2,3; tạp chất F khoảng 2,4; tạp chất G khoảng 3,1. Kiểm tra tính thích hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất E và pic của cefotaxim ít nhất là 3,5; hệ số đối xứng của pic cefotaxim không quá 2,0.

Giới hạn:

Tạp chất A, B, C, D, E, F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

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

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (3,0 %).

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

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[[(2*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (deacetoxycefotaxim).

Tạp chất B: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[[(2*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetyl]amino]-3-(hydroxymethyl)-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (deacetylcefotaxim).

Tạp chất C: Acid (6*R*,7*R*)-3-[(acetyloxy)methyl]-7-[[[(2*Z*)-2-[(formylamino)thiazol-4-yl]-2-(methoxyimino)acetyl]amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (*N*-formylcefotaxim).

Tạp chất D: Acid (6*R*,7*R*)-3-[(acetyloxy)methyl]-7-[[[(2*E*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetyl]amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (*E*-cefotaxim).

Tạp chất E: (5*aR*,6*R*)-6-[[[(2*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetyl]amino]-5*a*,6-dihydro-3*H*,7*H*-azeto[2,1-*b*]furo[3,4-*d*][1,3]thiazin-1,7(4*H*)-dion (deacetylcefotaxim lacton).

Tạp chất F: Acid (6*R*,7*R*)-3-[(acetyloxy)methyl]-7-[[[(2*Z*)-2-[[[(6*R*,7*R*)-7-[[[(2*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetyl]amino]-2-carboxy-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-yl]methyl]amino]thiazol-4-yl]-2-(methoxyimino)acetyl]amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (cefotaxim dimer).

Tạp chất G: Acid (6*R*,7*R*)-3-[(acetyloxy)methyl]-7-[[[(2*Z*)-2-[[[(2*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetyl]amino]thiazol-4-yl]-2-(methoxyimino)acetyl]amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (ATA cefotaxim).

Ethanol

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 10.14, hệ sắc ký A).

***N,N*-Dimethylanilin**

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-ethylhexanoic

Không được quá 0,5 % (kl/kl) (Phụ lục 10.17).

Nước

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,05 EU/mg (Phụ lục 13.2), nếu chế phẩm dùng trong sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu để loại bỏ nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

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

Tính hàm lượng của cefotaxim dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của cefotaxim chuẩn.

Hàm lượng của C₁₆H₁₆N₃NaO₇S₂ trong chế phẩm bằng hàm lượng của cefotaxim nhân với 1,048.

Bảo quản

Trong bao bì kín và tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn thì bảo quản trong bao bì kín vô khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm

Bột pha tiêm.

BỘT PHA TIÊM CEFOTAXIM

Bột pha tiêm cefotaxim là bột thuốc vô khuẩn chứa cefotaxim natri, có thể có tá dược và đóng trong đồ đựng kín. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền, thuốc cấy” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cefotaxim, $C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc vàng nhạt, đồng nhất, không bị ẩm, không vón.

Định tính

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

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 chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid

Dung dịch S: Dung dịch chế phẩm chứa cefotaxim 10,0 % pha trong nước không có carbon dioxyl (TT).

Dung dịch S phải có pH từ 4,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ của dung dịch S ở bước sóng 430 nm không được lớn hơn 0,60 (Phụ lục 4.1).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động và điều kiện sắc ký được thực hiện như mô tả ở phần Định lượng.

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ cefotaxim 0,1 %.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cefotaxim natri chuẩn 0,0011 % trong pha động.

Lưu ý: Sử dụng các dung dịch ngay sau khi chuẩn bị.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp 8 lần thời gian lưu của pic cefotaxim (khoảng 6 min).

Giới hạn:

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào cũng không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %) và tổng diện tích của tất cả các pic phụ đó không được lớn hơn 4 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4,0 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).

Cân chính xác khoảng 1,0 g bột thuốc, sấy ở 100 °C đến 105 °C.

Nội độc tố vi khuẩn

Hòa tan một lượng chế phẩm trong nước BET (TT) để thu được dung dịch có nồng độ 10 mg/ml cefotaxim (dung dịch A).

Giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 0,5 EU/ml (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 3,5 g kali dihydrophosphat (TT) và 11,6 g dinatri hydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước pH 7,0, thêm 375 ml methanol (TT).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng thích hợp cefotaxim natri chuẩn và hòa tan trong pha động để được dung dịch có nồng độ cefotaxim khoảng 0,01 %.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm sau đó hòa tan trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ cefotaxim khoảng 0,01 %.

Dung dịch phân giải: Thêm 1 ml dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT) vào 4 ml dung dịch thử, làm nóng dung dịch ở 40 °C trong 2 h. Thêm 5 ml dung dịch đệm phosphat pH 6,6 (TT) và 1 ml dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT) và trộn đều.

Lưu ý: Sử dụng các dung dịch ngay sau khi chuẩn bị.

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 235 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn và dung dịch phân giải. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của các pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải ít nhất bằng 50 % thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi cefotaxim được rửa giải là pic thứ hai và độ phân giải giữa hai pic chính không nhỏ hơn 3,5. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic cefotaxim trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn nhỏ hơn 2,0.

Trong điều kiện sắc ký nêu trên, thời gian lưu của pic cefotaxim khoảng 6 min. Nếu cần có thể sử dụng pha tĩnh khác hoặc điều chỉnh nồng độ của methanol trong pha động. Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng cefotaxim, $C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic của cefotaxim thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của $C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$ trong cefotaxim natri chuẩn. 1 mg cefotaxim natri, $C_{16}H_{16}N_5NaO_7S_2$, tương ứng với 0,9539 mg cefotaxim, $C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng

1 g.