

Đo độ hấp thụ sau mỗi 30 s trong ít nhất 5 min. Lặp lại thí nghiệm cùng độ pha loãng ít nhất một lần. Giá trị tuyệt đối của độ hấp thụ không quan trọng bằng tốc độ suy giảm hằng định của độ hấp thụ. Nếu tốc độ suy giảm hằng định của độ hấp thụ này không duy trì được trong khoảng thời gian ít nhất là 3 min, phải làm lại thí nghiệm, nếu cần, sử dụng dung dịch thử có nồng độ thích hợp. Khi xác định lại lần thứ hai các dung dịch thử có cùng độ pha loãng phải có tốc độ suy giảm của độ hấp thụ như lần đầu.

Để xác định sự thay đổi độ hấp thụ trung bình trong mỗi phút, chỉ sử dụng các giá trị nằm trên đường biểu diễn sự suy giảm độ hấp thụ theo thời gian, đoạn có tốc độ suy giảm độ hấp thụ hằng định trong 3 min.

Một đơn vị chymotrypsin là hoạt tính làm thay đổi độ hấp thụ là 0,0075 trong mỗi phút với các điều kiện quy định của phương pháp định lượng này.

Tính hàm lượng (%) chymotrypsin trong viên so với hàm lượng ghi trên nhãn theo công thức:

$$\frac{(A_1 - A_2) \times D \times M \times 100}{T \times 0,0075 \times W \times 0,2 \times L}$$

Trong đó:

A_1 là độ hấp thụ ở thời điểm đầu trong khoảng biến thiên độ hấp thụ tuyến tính;

A_2 là độ hấp thụ ở thời điểm cuối trong khoảng biến thiên độ hấp thụ tuyến tính;

T là khoảng thời gian giữa lần đọc đầu và lần đọc cuối (phút);

D là độ pha loãng của dung dịch thử;

W là khối lượng bột viên mẫu thử (mg);

M là khối lượng trung bình viên (mg).

L là hàm lượng ghi nhãn (đơn vị chymotrypsin).

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

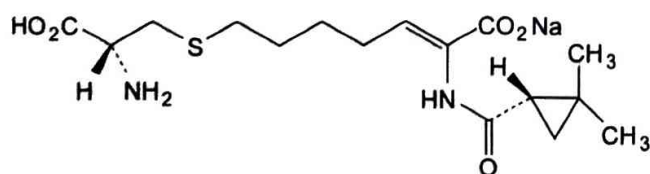
Loại thuốc

Enzym thủy phân protein.

Hàm lượng thường dùng

4,2 mg, 6,3 mg, 8,4 mg (tương đương với 4200, 6300, 8400 đơn vị chymotrypsin).

CILASTATIN NATRI



$C_{16}H_{25}N_2NaO_5S$

P.t.l: 380,4

Cilastatin natri là natri(Z)-7-[[[(R)-2-amino-2-carboxyethyl] sulfanyl]-2-[[[(1S)-2,2-dimethylcyclopropyl]carbonyl]

amino]hept-2-enoat, phải chứa từ 98,0 % đến 101,5 % $C_{16}H_{25}N_2NaO_5S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột vô định hình màu trắng hay hơi vàng, hút ẩm. Rất dễ tan trong nước và methanol, khó tan trong ethanol khan, rất khó tan trong dimethyl sulfoxid, thực tế không tan trong aceton và methylen clorid.

Định tính

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

B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Góc quay cực riêng.

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong nước không có carbon dioxyl (TT) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Từ 6,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Dùng dung dịch S để thử.

Góc quay cực riêng

Từ +41,5° đến +44,5°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 thể tích acid hydrocloric (TT) và 120 thể tích methanol (TT), sau đó pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch đệm phosphat pH 3,25 (TT).

Pha động B: Acetonitril (TT) - pha động A (50 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 32,0 mg chế phẩm trong nước và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với nước. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với nước.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 3 mg cilastatin chuẩn dùng kiểm tra tính phù hợp của hệ thống 1 {có chứa tạp chất A, B, E, F, G (epimer 2) và H} trong nước và pha loãng thành 2,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 3 mg cilastatin chuẩn dùng kiểm tra tính phù hợp của hệ thống 2 {có chứa tạp chất C và G (epimer 1)} trong nước và pha loãng thành 2,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 32 mg mesityl oxyd (TT) (tạp chất D) trong 100,0 ml nước. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng nước.

CILASTATIN NATRI

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel* dùng cho sắc ký tương hợp với pha động 100 % là dung dịch nước (5 μm).

Nhiệt độ cột: 50 °C.

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

Tốc độ dòng: 2,0 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)
0 - 3	100	0
3 - 28	100 → 90	0 → 10
28 - 38	90	10
38 - 63	90 → 50	10 → 50
63 - 78	50 → 30	50 → 70
78 - 88	30	70

Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo cilastatin chuẩn dùng kiểm tra tính phù hợp của hệ thống 1 và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic các tạp chất A, B, E, F, G (epimer 2) và H. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp cùng với cilastatin chuẩn dùng kiểm tra tính phù hợp của hệ thống 2 và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic các tạp chất C và G (epimer 1); sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic tạp chất D. Thời gian lưu tương đối so với cilastatin (thời gian lưu khoảng 50 min): Tạp chất E khoảng 0,2; tạp chất A (epimer 1) khoảng 0,60; tạp chất A (epimer 2) khoảng 0,62; tạp chất D khoảng 0,9; tạp chất F khoảng 0,98; tạp chất G (epimer 1) khoảng 1,02; tạp chất G (epimer 2) khoảng 1,05; tạp chất H khoảng 1,06; tạp chất B khoảng 1,17; tạp chất C khoảng 1,23.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 10; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất F so với đường nền và H_v là chiều cao tính từ đường nền lên đến điểm thấp nhất của đường cong tách pic tạp chất F khỏi pic cilastatin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 2,5; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất G (epimer 1) so với đường nền và H_v là chiều cao tính từ đường nền lên đến điểm thấp nhất của đường cong tách pic tạp chất G (epimer 1) khỏi pic cilastatin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

Tính hàm lượng phần trăm các tạp chất dựa vào nồng độ của cilastatin trong dung dịch đối chiếu (1). Nhân hàm lượng của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: tạp chất C là 1,3; tạp chất E là 3,3; tạp chất G (epimer 1) là 1,6; tạp chất G (epimer 2) là 1,6.

Giới hạn:

Tạp chất A (tổng các epimer): Không được quá 0,5 %.

Tạp chất C: Không được quá 0,4 %.

Tạp chất E: Không được quá 0,3 %.

DUỐC ĐIỀU VIỆT NAM VI

Tạp chất B, F, H: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,1 %.

Tạp chất G (đối với mỗi epimer): Không được quá 0,1 %.

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,05 %.

Tổng các tạp chất: Không được quá 1,0 %.

Bỏ qua các tạp chất có hàm lượng bằng hoặc dưới 0,03 %.

Bỏ qua pic tạp chất D có thời gian lưu tương ứng với pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (Z)-7-[(RS)-[(R)-2-amino-2-carboxyethyl]sulfinyl]-2-[[[(1S)-2,2-dimethylcyclopropyl] carbonyl]-amino]hept-2-enoic.

Tạp chất B: Acid (Z)-7-[(R)-2-[[[(1S)-1-methyl-3-oxobutyl]amino]2-carboxyethyl]sulfinyl]-2-[[[(1S)-2,2-dimethylcyclopropyl]carbonyl]amino]hept-2-enoic.

Tạp chất C: Acid (Z)-7-[(R)-2-[(1,1-dimethyl-3-oxobutyl)amino]2-carboxyethyl]sulfinyl]-2-[[[(1S)-2,2-dimethylcyclopropyl]carbonyl]amino]hept-2-enoic.

Tạp chất D: 4-methylpent-3-en-2-on (mesityl oxyd).

Tạp chất E: Acid 7-[(2R)-2-amino-2-carboxyethyl]sulfinyl]-2-oxoheptanoic.

Tạp chất F: Acid (Z)-7-[(2R)-2-amino-2-carboxyethyl]sulfinyl]-2-[(2,3-dimethylbut-3-enoyl)amino]hept-2-enoic.

Tạp chất G: Acid (E)-(2RS)-7-[[[(2R)-2-amino-2-carboxyethyl]sulfinyl]-2-[[[(1S)-2,2-methylcyclopropyl]carbonyl]amino]hept-3-enoic.

Tạp chất H: Acid (Z)-7-[(2-aminoethyl)sulfinyl]-2-[[[(1S)-2,2-dimethylcyclopropyl]carbonyl]amino]hept-2-enoic.

Tạp chất D, acetone và methanol

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 0,5 ml *propanol* (TT) trong nước và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong nước, thêm 2,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 10,0 ml với nước.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 2,0 ml *acetone* (TT), 0,5 ml *methanol* (TT) và 0,5 ml *mesityl oxyd* (TT) (tạp chất D) trong nước và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi. Lấy 2,0 ml dung dịch thu được, thêm 2,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 10,0 ml với nước. Dung dịch này có chứa 316 μg acetone, 79 μg methanol và 86 μg tạp chất D trong 1 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy (30 m × 0,53 mm) được phủ pha tĩnh *macrogol 20.000* (TT) (lớp phim dày 1,0 μm).

Khí mang: *Heli* dùng cho sắc ký khí.

Tốc độ dòng: 9 ml/min.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
	0 - 2,5	50
Cột	2,5 - 5	50 → 70
	5 - 5,5	70
Buồng tiêm		160
Detector		220

Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1 µl.

Cách tiến hành:

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

Tính hàm lượng % của aceton, methanol và tạp chất D theo công thức:

$$\left(\frac{C}{W}\right) \times \left(\frac{R_u}{R_s}\right)$$

Trong đó:

C là nồng độ của dung môi hữu cơ có trong dung dịch đối chiếu (µg/ml).

W là lượng cistatin natri (mg) có trong dung dịch thử.

R_u: tỷ lệ diện tích pic dung môi hữu cơ tương ứng và diện tích pic propanol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử.

R_s: tỷ lệ diện tích pic dung môi hữu cơ tương ứng và diện tích pic propanol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

Giới hạn:

Aceton: Không được quá 1,0 % (kl/kl).

Methanol: Không được quá 0,5 % (kl/kl).

Tạp chất D: Không được quá 0,4 % (kl/kl).

Nước

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,50 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,17 EU/mg (Phụ lục 13.2)

Nếu chế phẩm được dùng để sản xuất các dạng thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử này.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 30 ml methanol (TT), thêm 5 ml nước. Thêm dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CD) đến khoảng pH 3,0. Tiến hành định lượng theo phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), dùng dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD). Quá trình chuẩn độ trải qua ba bước nhảy điện thế. Chuẩn độ đến điểm tương đương thứ ba. Tính thể tích thuốc thử tiêu thụ giữa điểm uốn thứ nhất và thứ ba.

1 ml dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD) tương đương với 19,02 mg của C₁₆H₂₅N₂NaO₅S.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C. Nếu chế phẩm vô khuẩn thì phải bảo quản trong đồ đựng kín, vô khuẩn.

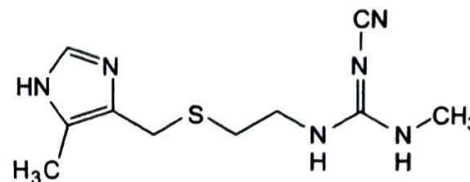
Loại thuốc

Ức chế men dehydropeptidase-I, ức chế chuyển hóa imipenem ở thận.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

CIMETIDIN



C₁₀H₁₆N₆S

P.t.l: 252,3

Cimetidin là 2-cyano-1-methyl-3-[2-[[[(5-methyl-1H-imidazol-4-yl)-methyl]sulfanyl]ethyl]guanidin, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % C₁₀H₁₆N₆S, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột đa hình màu trắng hoặc gần như trắng. Tan trong ethanol 96 %, khó tan trong nước và thực tế không tan trong methylen clorid. Tan trong các acid vô cơ loãng.

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 cimetidin chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm có sự khác nhau so với phổ của cimetidin chuẩn thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chuẩn trong 2-propanol (TT), bốc hơi đến khô và ghi lại phổ.

B. Điểm chảy (Phụ lục 6.7) từ 139 °C đến 144 °C. Nếu cần thiết, hòa tan chế phẩm trong 2-propanol (TT), bốc hơi đến khô và xác định lại điểm chảy.

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

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Amoniack - methanol - ethyl acetat (15 : 20 : 65).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg cimetidin chuẩn trong methanol (TT) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

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 3/4 bản mỏng. Làm khô bản mỏng dưới luồng không khí lạnh và đặt bản mỏng trong bình chứa iod đến khi vết tương phản tối đa và đem 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 và kích thước

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 3,0 g chế phẩm trong 12 ml dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT) và pha loãng thành 20 ml bằng nước. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V₅ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).