

Kiểm tra tính phù hợp hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5), độ phân giải giữa pic của tạp chất A (4-epitetracyclin, pic thứ nhất) và tetracyclin (pic thứ hai) ít nhất là 2,5; độ phân giải giữa pic tetracyclin và pic của tạp chất D (4-epianhydrotetracyclin, pic thứ ba) ít nhất là 8,0. Điều chỉnh nồng độ của *tert*-butanol trong pha động nếu cần thiết. Tỷ số tín hiệu/nhiều: Ít nhất phải bằng 3 đối với pic chính của dung dịch đối chiếu (7). Hệ số đối xứng: Không được lớn hơn 1,25 đối với pic của tetracyclin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5).

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

Diện tích pic của tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic của tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (3,0 %).

Diện tích pic của tạp chất B (nằm ở đuôi của pic chính) không được lớn hơn một nửa diện tích pic của tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (1,5 %).

Diện tích của pic tương ứng với tạp chất C (anhydrotetracyclin) không được lớn hơn diện tích pic của tạp chất C trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (0,5 %).

Diện tích của pic tương ứng với tạp chất D không được lớn hơn diện tích pic của tạp chất D trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (0,5 %).

Kim loại nặng

Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 0,5 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2,5 ml dung dịch chỉ mẫu 10 phần triệu Pb (TT) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 60 °C, phosphor pentoxyd, áp suất không quá 670 Pa, 3 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Phải ít hơn 0,5 EU/mg (Phụ lục 13.2), nếu chế phẩm dùng để pha thuốc tiêm mà không áp dụng các biện pháp loại bỏ nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Các điều kiện sắc ký giống như phần Tạp chất liên quan.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$, dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và nồng độ tetracyclin hydroclorid trong dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản

Tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn, bảo quản trong bao bì vô khuẩn.

Nhãn

Phải ghi rõ nếu chế phẩm không có nội độc tố vi khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Nang, viên nén, mỡ tra mắt.

NANG TETRACYCLIN HYDROCLORID

Là nang cứng chứa tetracyclin hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

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

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy. Giữ cho khoảng cách giữa cánh khuấy và đáy bình là (45 ± 5) mm.

Môi trường hòa tan: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 60 min đối với viên dưới 500 mg, 90 min đối với viên từ 500 mg trở lên.

Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ thích hợp nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được ở bước sóng cực đại 276 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng dung dịch môi trường hòa tan làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch tetracyclin hydroclorid chuẩn có nồng độ tương đương với dung dịch thử pha trong môi trường hòa tan.

Tính lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$, đã hòa tan từ nang dựa vào các độ hấp thụ đo được và hàm lượng $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ của tetracyclin hydroclorid chuẩn. **Yêu cầu:** Không ít hơn 80 % (Q) lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong thời gian thử quy định.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Pha động, dung dịch thử, dung dịch phân giải và điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chứa 0,5 µg/ml chuẩn anhydrotetracyclin hydroclorid, 3 µg/ml chuẩn 4-epianhydrotetracyclin hydroclorid, 3 µg/ml chuẩn epitetracyclin hydroclorid và 0,1 µg/ml chuẩn tetracyclin hydroclorid trong pha động A.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic epitetracyclin và pic tetracyclin ít nhất là 2,5; độ phân giải giữa pic anhydrotetracyclin và pic 4-epianhydrotetracyclin ít nhất là 2,5. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Tính phần trăm mỗi tạp anhydrotetracyclin, epitetracyclin và 4-epianhydrotetracyclin theo công thức:

$$(S_i/S_c) \times (C_c/C_i) \times 100$$

Trong đó:

- S_i: Diện tích pic tạp thu được từ dung dịch thử.
 - S_c: Diện tích pic tạp chuẩn tương ứng thu được từ dung dịch đối chiếu.
 - C_c: Nồng độ tạp chuẩn tương ứng trong dung dịch đối chiếu (µg/ml).
 - C_i: Nồng độ lý thuyết (nồng độ danh định) của tetracyclin hydroclorid trong dung dịch thử (µg/ml).
- Tính phần trăm tạp đơn khác theo công thức:

$$(S_i/S_c) \times (C_c/C_i) \times 100$$

Trong đó:

- S_i: Diện tích pic tạp đơn thu được từ dung dịch thử.
 - S_c: Diện tích pic tetracyclin thu được từ dung dịch đối chiếu.
 - C_c: Nồng độ tetracyclin hydroclorid chuẩn trong dung dịch đối chiếu (µg/ml).
 - C_i: Nồng độ lý thuyết (nồng độ danh định) của tetracyclin hydroclorid trong dung dịch thử (µg/ml).
- Giới hạn: Xem Bảng 1.

Bỏ qua các tạp chất có hàm lượng nhỏ hơn hoặc bằng 0,05 %.

Bảng 1

Tên chất	Thời gian lưu tương đối	Giới hạn (%)
Epitetracyclin	0,9	3,0
Tetracyclin	1,0	-
2-Acetyl analog	1,3	-
4-Epianhydrotetracyclin	1,7	3,0
Anhydrotetracyclin	1,8	0,5
Tạp đơn khác		0,1

Ghi chú:

Tạp 2-acetyl analog là tạp trong quá trình sản xuất nguyên liệu và được kiểm soát trong nguyên liệu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).
(Dùng 1,0 g bột thuốc trong nang, 60 °C, dưới áp suất không quá 5 mmHg, 3 h).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Pha loãng 1 ml acid phosphoric (TT) vừa đủ với nước thành 1000 ml.

Pha động B: Acetonitril (TT).

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 25 mg tetracyclin hydroclorid vào bình định mức 250 ml, thêm khoảng 200 ml pha động A, lắc siêu âm để hòa tan. Để nguội, thêm cùng dung môi đến định mức, lọc.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan và pha loãng một lượng chính xác chất chuẩn tetracyclin hydroclorid trong pha động A để thu được dung dịch có nồng độ 0,1 mg/ml.

Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa hỗn hợp chuẩn anhydrotetracyclin hydroclorid, 4-epianhydrotetracyclin hydroclorid, epitetracyclin hydroclorid và tetracyclin hydroclorid có cùng nồng độ 25 µg/ml trong pha động A.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm).

Nhiệt độ cột: 50 °C.

Nhiệt độ buồng tiêm mẫu: 4 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 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 - 7,5	85 → 60	15 → 40
7,5 - 7,6	60 → 85	40 → 15
7,6 - 10	85	15

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic epitetracyclin và pic tetracyclin ít nhất là 2,5; độ phân giải giữa pic anhydrotetracyclin và pic 4-epianhydrotetracyclin ít nhất là 2,5. Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic tetracyclin không lớn hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tetracyclin thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 1,0 %.

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

Tính hàm lượng tetracyclin hydroclorid, C₂₂H₂₄N₂O₈.HCl, trong nang dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng C₂₂H₂₄N₂O₈.HCl của tetracyclin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, để nơi khô, mát và tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg (250.000 IU); 500 mg (500.000 IU).