

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 205 nm.

Tốc độ dòng: 1,1 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 - 32	75 → 40	25 → 60
32 - 34	40	60
34 - 36	40 → 75	60 → 25
36 - 42	75	25

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

Dùng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất G và H.

Thời gian lưu tương đối so với clarithromycin (thời gian lưu khoảng 11 min): Tạp chất I khoảng 0,38; của tạp chất A khoảng 0,42; của tạp chất J khoảng 0,63; tạp chất L khoảng 0,74; tạp chất B khoảng 0,79; tạp chất M khoảng 0,81; tạp chất C khoảng 0,89; của tạp chất D khoảng 0,96; của tạp chất N khoảng 1,15; của tạp chất E khoảng 1,27; tạp chất F khoảng 1,33; tạp chất P khoảng 1,35; tạp chất O khoảng 1,41; tạp chất K khoảng 1,59; tạp chất G khoảng 1,72 và tạp chất H khoảng 1,82.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), hệ số đối xứng không được quá 1,7 đối với pic của clarithromycin. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất bằng 3,0, trong đó H_p là chiều cao tính từ đường nền của pic tạp chất D và H_v là chiều cao tính từ đường nền đến điểm thấp nhất của đường cong phân tách giữa pic tạp chất D và pic của clarithromycin.

Giới hạn:

Đề tính toán hàm lượng các tạp chất, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng. Tạp chất G là 0,27; tạp chất H là 0,15.

Từng tạp chất có diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %) và không được có quá 4 pic tạp chất lớn hơn 0,8 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (0,4 %).

Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 7 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (3,5 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,2 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %). Bỏ qua các pic rửa giải ra trước tạp chất I và các pic rửa giải ra sau tạp chất H.

Ghi chú:

Tạp chất A: Clarithromycin F.

Tạp chất B: 6-O-methyl-15-norerythromycin A.

Tạp chất C: 6-O-methylerythromycin A (E)-9-oxim.

Tạp chất D: 3''-N-demethyl-6-O-methylerythromycin A.

Tạp chất E: 6,11-di-O-methylerythromycin A.

Tạp chất F: 6,12-di-O-methylerythromycin A.

Tạp chất G: (6-O-methylerythromycin A (E)-9-(O-methyloxim).

Tạp chất H: 3''-N-demethyl-3'-N-formyl-6-O-methylerythromycin A.

Tạp chất I: 3-O-decladinosyl-6-O-methylerythromycin A.

Tạp chất J: Erythromycin A (E)-9-oxim.

Tạp chất K: (1S,2R,5R,6S,7S,8R,9R,11Z)-2-ethyl-6-hydroxy-9-methoxy-1,5,7,9,11,13-hexamethyl-8-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-β-D-xyl-o-hexopy-ranosyl]-oxy]-3,15-dioxabicyclo[10.2.1]pentadeca-11,13-dien-4-on(3-O-decladinosyl-8,9:10,11-dianhydro-6-O-methyl-erythromycin A-9,12-hemiketal).

Tạp chất L: 6-O-methylerythromycin A (Z)-9-oxim.

Tạp chất M: 3''-N-demethyl-6-O-methylerythromycin A (E)-9-oxim.

Tạp chất N: (10E)-10,11-didehydro-11-deoxy-6-O-methylerythromycin A.

Tạp chất O: 6-O-methylerythromycin A (Z)-9-(O-methyloxim).

Tạp chất P: 4',6-di-O-methylerythromycin A.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp nước - dioxan (15 : 85), pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 2. Dùng dung dịch chỉ mẫu 100 phần triệu Pb (TT) pha loãng với hỗn hợp nước - dioxan (15 : 85) để chuẩn bị mẫu đối chiếu 1 phần triệu.

Nước

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 0,5 g chế phẩm.

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 phần trăm của $C_{38}H_{69}NO_{13}$ dựa vào diện tích pic đáp ứng của clarithromycin trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm macrolid.

Chế phẩm

Viên nén, nang, bột pha hỗn dịch uống.

NANG CLARITHROMYCIN

Là nang cứng chứa clarithromycin.

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 clarithromycin, $C_{38}H_{69}NO_{13}$, phải từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

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 clarithromycin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hoà tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hoà tan: 900 ml dung dịch đệm natri acetat 0,1 M.

Dung dịch đệm natri acetat 0,1 M: Hoà tan 13,61 g natri acetat trihydrat (TT) trong 1000 ml nước, điều chỉnh đến pH 5,0 bằng dung dịch acid acetic 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

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

Dung dịch thử: Sau thời gian quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng dịch lọc với pha động để thu được dung dịch có nồng độ clarithromycin khoảng 125 µg/ml.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng clarithromycin, $C_{38}H_{69}NO_{13}$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Hòa tan 4,76 g kalidihydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước, điều chỉnh đến pH 4,4 bằng dung dịch acid phosphoric loãng (TT) hoặc bằng dung dịch kali hydroxyd (TT) 4,5 %.

Pha động B: Acetonitril (TT).

Dung môi pha mẫu: Acetonitril - nước (1 : 1).

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc tương đương với 75 mg clarithromycin vào bình định mức 50 ml, thêm 25 ml acetonitril (TT) để hòa tan, pha loãng và vừa đủ thể tích bằng nước, trộn đều, lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 10,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 15 mg clarithromycin chuẩn dùng để định tính pic trong 5 ml acetonitril (TT). Thêm nước vừa đủ 10 ml, trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3,5 µm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 205 nm.

Tốc độ dòng: 1,1 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 (% t/t)	Pha động B (% t/t)
0 - 32	75 → 40	25 → 60
32 - 34	40	60
34 - 36	40 → 75	60 → 25
36 - 42	75	25

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1), (2) và (3).

Thời gian lưu tương đối so với clarithromycin (thời gian lưu khoảng 11 min): Tạp chất I khoảng 0,38; tạp chất A khoảng 0,42; tạp chất J khoảng 0,63; tạp chất L khoảng 0,74; tạp chất B khoảng 0,79; tạp chất M khoảng 0,81; tạp chất C khoảng 0,89; tạp chất D khoảng 0,96; tạp chất N khoảng 1,15; tạp chất E khoảng 1,27; tạp chất F khoảng 1,33; tạp chất P khoảng 1,35; tạp chất O khoảng 1,41; tạp chất K khoảng 1,59; tạp chất G khoảng 1,72; tạp chất H khoảng 1,82.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1), hệ số đối xứng của pic clarithromycin không lớn hơn 1,75. Trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất bằng 3,0; trong đó H_p là chiều cao tính từ đường nền của pic tạp chất D và H_v là chiều cao tính từ đường nền đến điểm thấp nhất của đường cong phân tách giữa pic tạp chất D và pic clarithromycin. Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất G là 0,27; tạp chất H là 0,15.

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

Diện tích của mỗi tạp chất không lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %) và không có quá 4 pic tạp chất lớn hơn 0,8 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,4 %). Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 7 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (3,5 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %). Bỏ qua các pic rửa giải ra trước tạp chất I và các pic rửa giải ra sau tạp chất H.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 6,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,25 g bột thuốc, chân không dưới áp suất không quá 5 mmHg, 110 °C, 3 h).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp của methanol (TT) và dung dịch kali dihydrophosphat 0,067 M (65 : 35), điều chỉnh đến pH 4,0 bằng acid phosphoric (TT). Điều chỉnh tỷ lệ dung môi nếu cần.

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM VI

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 0,2 g clarithromycin vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 35 ml *methanol* (TT), lắc trong 30 min rồi thêm *methanol* (TT) vừa đủ, để lắng. Lấy 3,0 ml dịch ở trên thêm pha động vừa đủ 100,0 ml, trộn đều.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan chính xác một lượng clarithromycin chuẩn trong *methanol* (TT), lắc, siêu âm nếu cần để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 625 µg/ml (dung dịch chuẩn gốc). Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng pha động, trộn đều.

Dung dịch phân giải: Hòa tan tạp chất E chuẩn của clarithromycin (6,11-di-*O*-methylerythromycin A) trong *methanol* (TT) để được dung dịch có nồng độ khoảng 625 µg/ml. Lấy 10,0 ml dung dịch này và 10,0 ml dung dịch chuẩn gốc vào bình định mức 50 ml, thêm pha động đến vạch và trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: 50 °C.

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của clarithromycin khoảng 0,75 và của tạp chất E là 1,0; độ phân giải giữa pic clarithromycin và pic tạp chất E ít nhất là 2,0. Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic clarithromycin không nhỏ hơn 0,9 và không lớn hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic clarithromycin thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng clarithromycin, $C_{38}H_{69}NO_{13}$, trong nang dựa vào diện tích pic clarithromycin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{38}H_{69}NO_{13}$ trong clarithromycin chuẩn.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm macrolid.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg.

VIÊN NÉN CLARITHROMYCIN

Là viên nén bao phim chứa clarithromycin.

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

VIÊN NÉN CLARITHROMYCIN

Hàm lượng clarithromycin, $C_{38}H_{69}NO_{13}$, phải từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

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 clarithromycin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hoà tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hoà tan: 900 ml dung dịch đệm natri acetat 0,1 M.

Dung dịch đệm natri acetat 0,1 M: Hoà tan 13,61 g natri acetat trihydrat (TT) trong 1000 ml nước, điều chỉnh đến pH 5,0 bằng dung dịch acid acetic 0,1 M (TT).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

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

Dung dịch thử: Sau thời gian quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng dịch lọc với pha động để thu được dung dịch có nồng độ clarithromycin khoảng 125 µg/ml.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng clarithromycin, $C_{38}H_{69}NO_{13}$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Hòa tan 4,76 g kalidihydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước, điều chỉnh đến pH 4,4 bằng dung dịch acid phosphoric loãng (TT) hoặc bằng dung dịch kali hydroxyd (TT) 4,5 %.

Pha động B: Acetonitril (TT).

Dung môi pha mẫu: Acetonitril - nước (1 : 1).

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc tương đương với 75 mg clarithromycin vào bình định mức 50 ml, thêm 25 ml acetonitril (TT) để hòa tan, pha loãng và vừa đủ thể tích bằng nước, trộn đều, lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 10,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 15 mg clarithromycin chuẩn dùng để định tính pic trong 5 ml acetonitril (TT). Thêm nước vừa đủ 10 ml, trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3,5 µm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 205 nm.

Tốc độ dòng: 1,1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.