

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy với chiều dài 50 m và đường kính 0,32 mm được phủ pha tĩnh là *poly(dimethyl)siloxan* (phim dày 5 µm).

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí*.

Tốc độ dòng: 37 cm/s.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 10.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
	0 - 7	70
Cột	7 - 13	70 → 160
	13 - 15	160
Buồng tiêm		200
Detector		250

Thể tích tiêm: 1 µl.

Cách tiến hành:

Thời gian lưu tương đối so với propanol (thời gian lưu khoảng 7 min) của ethanol khoảng 0,6.

Tính hàm lượng ethanol dựa vào tỷ số diện tích pic ethanol và pic chuẩn nội thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Khối lượng riêng của ethanol ở 20 °C là 0,790 g/ml.

Nước

Phải từ 1,4 % đến 2,8 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,20 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,4 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Phải ít hơn 1,14 EU/mg (Phụ lục 13.2) nếu chế phẩm dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không có biện pháp hữu hiệu nào loại bỏ được nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký và các dung dịch như mô tả trong phần Tạp chất liên quan. Tiến hành sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng phần trăm của $C_{22}H_{25}ClN_2O_8$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{22}H_{25}ClN_2O_8$ trong doxycyclin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn, bảo quản trong đồ đựng vô khuẩn và kín.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm tetracyclin.

Chế phẩm

Nang.

NANG DOXYCYCLIN

Là nang cứng chứa doxycyclin hydroclorid (doxycyclin hyclat).

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 doxycyclin, $C_{22}H_{24}N_2O_8$, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel H*. Sau khi tráng bản mỏng, phun đều lên lớp mỏng *dung dịch natri edetat 10 %* đã chỉnh đến pH 9,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* (khoảng 10 ml cho một bản 100 × 200 mm). Để khô ở vị trí nằm ngang trong ít nhất 1 h. Trước khi sử dụng, hoạt hóa bản mỏng ở 110 °C trong 1 h.

Dung môi khai triển: *Nước - methanol - dicloromethan* (6 : 35 : 59).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc tương ứng 50 mg doxycyclin với 100 ml *methanol (TT)* trong 1 min đến 2 min, ly tâm lấy phần dung dịch trong ở trên.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan một lượng doxycyclin hydroclorid chuẩn tương ứng với 50 mg doxycyclin trong 100 ml *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50 mg tetracyclin hydroclorid chuẩn và 50 mg doxycyclin hydroclorid trong 100 ml *methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 1 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Sau khi triển khai dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách biệt rõ rệt.

B. Lấy một lượng bột thuốc tương ứng với 0,5 mg doxycyclin, thêm 2 ml *acid sulfuric (TT)*, màu vàng tạo thành.

C. Lấy một lượng bột thuốc tương ứng với 10 mg doxycyclin, lắc kỹ với 10 ml *nước*, lọc, dịch lọc cho phản ứng (A) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dịch môi trường, lọc và pha loãng, nếu cần, với *nước*. Đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng cực đại 276 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. Tiến hành so sánh với dung dịch doxycyclin hydroclorid chuẩn trong *nước* có nồng độ tương đương. Tính lượng doxycyclin, $C_{22}H_{24}N_2O_8$, đã hòa tan dựa vào hàm lượng của $C_{22}H_{24}N_2O_8$ trong doxycyclin hydroclorid chuẩn.

ĐỒNG SULFAT

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM VI

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng doxycyclin, $C_{22}H_{24}N_2O_8$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Nước

Không được quá 8,5 % (Phụ lục 10.3).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động: Chuyển 2,72 g kali dihydrophosphat (TT), 0,74 g natri hydroxyd (TT), 0,5 g tetrabutylamoni hydrosulfat (TT) và 0,4 g natri edetat (TT) vào bình định mức dung tích 1000 ml. Thêm khoảng 850 ml nước và lắc kỹ để hòa tan. Thêm 60 g tert-butanol (TT), lắc trộn đều. Thêm nước vừa đủ đến vạch, và điều chỉnh tới pH $8,0 \pm 0,1$ bằng dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT). Lọc qua màng lọc 0,5 μ m. Điều chỉnh tỷ lệ pha động nếu cần. Giảm nồng độ tert-butanol (TT) để có thời gian lưu của doxycyclin dài hơn và cải thiện sự tách biệt của doxycyclin với các tạp chất liên quan khác.

Dung môi pha loãng: Dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT).

Dung dịch chuẩn: Chuyển khoảng 60 mg doxycyclin hydroclorid chuẩn, cân chính xác, vào bình định mức dung tích 50 ml, thêm 30 ml dung môi pha loãng, lắc siêu âm cho tới khi hòa tan hoàn toàn (khoảng 5 min), thêm dung môi pha loãng tới vạch và trộn đều.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột tương ứng với khoảng 0,12 g doxycyclin hydroclorid chuyển vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm khoảng 75 ml dung môi pha loãng, trộn đều và lắc siêu âm trong khoảng 5 min, sau đó tiếp tục lắc cơ học trong 15 min. Để nguội, thêm dung môi pha loãng vừa đủ đến vạch và trộn đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu.

Dung dịch phân giải: Chuẩn bị dung dịch doxycyclin hydroclorid chuẩn trong dung môi pha loãng để được dung dịch có chứa 6 mg doxycyclin trong 1 ml. Chuyển 5 ml dung dịch này vào bình định mức dung tích 25 ml, đun nóng trên nồi cách thủy trong 60 min và làm bay hơi tới khô trên một đĩa nóng, chú ý tránh để cặn cháy thành than. Hòa tan cặn trong dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT), pha loãng với dung môi pha loãng tới vạch và trộn, lọc dung dịch qua màng lọc 0,5 μ m hoặc kích thước nhỏ hơn. Sử dụng dung dịch này làm dung dịch phân giải. Dung dịch này có chứa hỗn hợp của 4-epidoxycyclin, 6-epidoxycyclin và doxycyclin. Nếu bảo quản trong tủ lạnh, dung dịch này có thể sử dụng trong vòng 14 ngày.

Chú ý: Bảo vệ các dung dịch chuẩn và thử khỏi tác động của ánh sáng.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (250 × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh styren-divinylbenzen copolymer (5 - 10 μ m).

Nhiệt độ cột: 60 ± 1 °C.

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

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 μ l.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của 4-epidoxycyclin (sản phẩm phân hủy chính) là 0,4; 6-epidoxycyclin là 0,7 và doxycyclin là 1,0. Độ phân giải giữa pic 4-epidoxycyclin và pic doxycyclin không nhỏ hơn 3,0 và hệ số đối xứng cho pic doxycyclin là không quá 2,0. Tiến hành sắc ký 6 lần với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic doxycyclin không quá 2,0 %. Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Ghi lại sắc ký đồ trong khoảng thời gian bằng 1,7 lần thời gian lưu của doxycyclin và xác định diện tích các pic chính.

Tính hàm lượng doxycyclin, $C_{22}H_{24}N_2O_8$, có trong viên dựa vào diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng doxycyclin, $C_{22}H_{24}N_2O_8$, trong doxycyclin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Đựng trong lọ kín hay ép trong vỉ bấm, để nơi mát, tránh ánh sáng trực tiếp.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

100 mg.

ĐỒNG SULFAT

$CuSO_4 \cdot 5H_2O$

P.t.l: 249,7

Chế phẩm phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $CuSO_4 \cdot 5H_2O$

Tính chất

Bột kết tinh màu xanh lam hay tinh thể trong màu xanh lam. Dễ tan trong nước, tan trong methanol, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Thêm vài giọt dung dịch amoniac 2 M (TT) vào 1 ml dung dịch S (xem Độ trong của dung dịch), tủa màu xanh lam tạo thành. Tủa này tan khi cho thêm dung dịch amoniac 2 M (TT) và dung dịch có màu xanh lam đậm.

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Mất khối lượng do làm khô.

C. Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 5 ml bằng nước, thêm 1 ml dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT) và vài giọt dung dịch bari clorid 5 % (TT), tủa trắng xuất hiện.

Độ trong của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2).