

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 đựng mẫu tiêm: 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

**Cách tiến hành:**

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:

Tiến hành sắc ký dung dịch phân giải, phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic epitetracyclin và tetracyclin ít nhất là 2,5; hệ số phân giải giữa pic anhydrotetracyclin và 4-epianhydrotetracyclin ít nhất là 2,5.

Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic tetracyclin không lớn hơn 1,5. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic 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,  $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ , trong nang dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng  $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$  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).

### VIÊN NÉN TETRACYCLIN HYDROCLORID

Là viên nén chứa tetracyclin hydroclorid.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) 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 trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic tetracyclin trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

### Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).

(Dùng 1,0 g bột viên, 60 °C, áp suất không quá 5 mmHg, 3 h).

### Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

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

**Môi trường hòa tan:** 900 ml nước.

**Tốc độ quay:** 75 r/min.

**Thời gian:** 60 min.

**Cách tiến hành:** Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan chế phẩm, 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 hàm lượng tetracyclin hydroclorid,  $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ , được hòa tan từ viên 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 được 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 60 min.

### 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: Tiến hành như mục 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: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic epitetracyclin và tetracyclin ít nhất là 2,5; hệ số phân giải giữa pic anhydrotetracyclin và

4-epianhydrotetracyclin ít nhất là 2,5.

Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic 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<sub>i</sub>: Diện tích pic tạp thu được từ dung dịch thử.

S<sub>c</sub>: Diện tích pic tạp chuẩn tương ứng thu được từ dung dịch đối chiếu.

C<sub>c</sub>: Nồng độ tạp chuẩn tương ứng trong dung dịch đối chiếu (µg/ml).

C<sub>i</sub>: Nồng độ lý thuyết (nồng độ danh định) của tetracyclin hydroclorid trong dung dịch thử (µg/ml).

Tính phần trăm tạp khác theo công thức:

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

Trong đó:

S<sub>i</sub>: Diện tích pic tạp thu được từ dung dịch thử.

S<sub>c</sub>: Diện tích pic tetracyclin thu được từ dung dịch đối chiếu.

C<sub>c</sub>: Nồng độ tetracyclin hydroclorid chuẩn trong dung dịch đối chiếu (µg/ml).

C<sub>i</sub>: Nồng độ lý thuyết (nồng độ danh định) của tetracyclin hydroclorid trong dung dịch thử (µg/ml).

Giới hạn: Xem Bảng 1.

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 khác		0,1

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

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

### 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 viên, tính khối lượng trung bình viên và 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 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 đựng mẫu tiêm: 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

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic epitetracyclin và tetracyclin ít nhất là 2,5; độ phân giải giữa pic anhydrotetracyclin và 4-epianhydrotetracyclin ít nhất là 2,5.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Hệ số đối xứng pic không lớn hơn 1,5. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic 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, C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>.HCl, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>.HCl trong tetracyclin hydroclorid chuẩn.

### Bảo quản

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

### Loại thuốc

Kháng sinh.

### Hàm lượng thường dùng

125 mg (125 000 IU); 250 mg (250 000 IU).