**Идентификация тетрациклинов ОФС**

**Вводится впервые**

Настоящая общая фармакопейная статья предусматривает подтверждение подлинности фармацевтических субстанций группы тетрациклинов, таких как доксициклин, окситетрациклин и тетрациклин, как индивидуально, так и в составе соответствующих лекарственных препаратов.

Определение проводят методом бумажной хроматографии (метод 1) или методом тонкослойной хроматографии (метод 2). Если в фармакопейной статье не указано иначе, подлежит использованию метод 1.

*Испытуемый раствор.* Готовят как указано в фармакопейной статье.

*Раствор стандартного образца*. Если в фармакопейной статье не указано иначе, то раствор стандартного образца соответствующего тетрациклина готовят в том же растворителе и в той же концентрации, что и испытуемый раствор.

***Метод 1***

Определение проводят методом бумажной хроматографии (ОФС «Хроматография на бумаге».

*Хроматографический лист.* Лист хроматографической бумаги размером 20 см × 20 см пропитывают буферным раствором рН 3,5 путём проведения листа через жёлоб, наполненный названным раствором и удаляют избыток раствора путём крепкого сжатия листа между листами нефлуоресцирующей хроматографической бумаги.

*Буферный раствор рН 3,5.* В мерную колбу вместимостью 1 л помещают 13,4 г лимонной кислоты безводной и 16,3 г динатрия гидрофосфата, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Пиридин—хлороформ—нитрометан 3:10:20.

*Раствор сравнения.* Смешивают равные объёмы испытуемого раствора и раствора стандартного образца.

На линию старта хроматографического листа наносят по 2 мкл испытуемого раствора, раствора стандартного образца и раствора сравнения. Частично подсушивают лист и в ещё влажном состоянии помещают в хроматографическую камеру. Когда фронт ПФ пройдет около 80–90 % длины листа от линии старта, его вынимают из камеры и обрабатывают парами аммиака и просматривают в УФ-свете при 365 нм. Фиксируют положение наибольших зон адсорбции с жёлтой флуоресценцией.

Значения *Rf* зон адсорбции, полученных на хроматограммах испытуемого раствора и раствора сравнения, должны соответствовать таковой, полученной на хроматограмме раствора стандартного образца.

***Метод 2***

Определение проводят методом тонкослойной хроматографии (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля октилсилильного толщиной 0,25 мм. Пластинку выдерживают в течение 20 мин при 130 °С, охлаждают и используют в тёплом состоянии.

*Буферный раствор рН 2,0*. Щавелевой кислоты раствор 0,5  М доводят аммиака растворомдо рН 2,0.

*Подвижная фаза (ПФ).* Ацетонитрил—метанол—буферный раствор рН 2,0 20:20:80.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* Если в фармакопейной статье не указано иначе, готовят раствор, содержащий по 0,5 мг/мл стандартных образцов хлортетрациклина гидрохлорида, доксициклина хиклата, окситетрациклина и тетрациклина гидрохлорида.

На линию старта пластинки наносят по 1 мкл испытуемого раствора, раствора стандартного образца и раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе в течение 5 мин, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдет около 80–90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, фиксируют линию фронта ПФ, сушат до удаления следов растворителей, выдерживают в парах аммиака в течение 5 мин и немедленно фиксируют зоны адсорбции, просматривая в УФ-свете при 365 нм.

Хроматографическая система считается пригодной, если на хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы чётко видны четыре зоны адсорбции.

Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора, по положению, интенсивности поглощения и величине должна соответствовать основной зоне адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца.